

مروری بر تشکیل بیوفیلم و کوئوروم سنسینگ در باکتری سودوموناس آئروژینوزا

راضیه بهزاد مهر^۱، مریم بیگمی^۲، سعیده سعیدی^{۳*}

۱- دانشیار، گروه رادیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران

۲- استادیار، گروه صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

۳- کارشناسی ارشد، پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

* نویسنده مسئول: s.saeedi12@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۱۱/۲، پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۱۱/۲۶

چکیده

سودوموناس آئروژینوزا یک پاتوژن فرصت طلب و عامل ۱۰ الی ۱۵ درصد از عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد. وجود ژن‌های بیماری‌زا یکی از مهمترین مکانیسم‌های تهاجمی سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد و این موضوع از نظر پزشکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بیان بسیاری از ژن‌های بیماری‌زای باکتری سودوموناس آئروژینوزا به وسیله یک سیستم ژنی به نام سیستم Quorum Sensing (QS) کنترل و تنظیم می‌گردند. کوئوروم سنسینگ سیستم ارتباطی سلول به سلول با استفاده از مولکول‌های کوچک (SMS) در ارگانیسم‌های تک‌سلولی است. هدف از تحقیق بررسی تشکیل بیوفیلم در سیستم کوئوروم سنسینگ در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد. مطالعه مروری حاضر با کمک مقالات نمایه شده در پایگاه‌های علمی فارسی Magiran و SID و پایگاه‌های علمی انگلیسی Scopus، Google scholar، Ebscohost و Science Direct بدست آمد. ژن‌های سیستم QS فراوانی بالایی در بین سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از منابع انسانی دارند. همچنین این باکتری به عنوان یک باکتری عفونت‌زا با مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالا می‌باشد. نتایج مطالعه نشان داد که گیاهان دارویی در رقت‌های مختلف مهار کننده کوئوروم سنسینگ و بیوفیلم در باکتری‌ها می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: کوئوروم سنسینگ، سودوموناس آئروژینوزا، بیوفیلم

مقدمه

سودوموناس آئروژینوزا^۱ یک پاتوژن فرصت طلب در انسان‌ها، جانوران و گیاهان محسوب می‌شود و یکی از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی در سراسر جهان می‌باشد. این ارگانیسم یک باکتری گرم منفی، هوازی و متحرک است. عفونت‌های سودوموناس معمولاً در مواردی همچون سوختگی‌ها، جراحی‌ها، استفاده از انواع کاتترها، مبتلایان به بیماری‌های ریوی همچون سیستیک فیبروزیس و افرادی که سیستم ایمنی آن‌ها سرکوب شده است مانند بیماران ایدزی دیده می‌شود.

برخی از عوامل دخیل در بیماری‌زایی سودوموناس آئروژینوزا

عفونت‌های سودوموناس آئروژینوزا ناشی از تولید فاکتورهای بیماری‌زایی متصل به سلول و خارج سلولی همچون فسفولیپاز C، اگزوتوکسین A، پیوسیانین، تاژک، پیل‌تایپ IV، الاستاز، پروتئازها، فیمبریه، لیپوپلی- ساکارید، پیووردین، سیستم ترشحی تایپ III، رامنولیپید، پمپ افلاکس^۲، بیوفیلم و کوئوروم سنسینگ^۳ می‌باشد (۱).

بیماری‌های سودوموناس آئروژینوزا

بیشتر عفونت‌های سودوموناس آئروژینوزا در بیماران بستری یا افرادی که نقص سیستم ایمنی دارند دیده می‌شود. این باکتری یک عامل عفونی شایع در بخش مراقبت‌های ویژه می‌باشد. بیماران آلوده به HIV، به‌ویژه بیماران در مراحل پیشرفته و بیماران مبتلا به سیستیک

² Efflux pump

³ Quorum sensing

¹ Pseudomonas aeruginosa

باکتری‌هایی که نقص در مقاومت ذاتی دارند و فاقد جهش‌های حفاظت شده هستند حساسیت کم‌تری در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها از خود نشان می‌دهند به عنوان مثال در سویه‌های کلبسیلا نمونیا^۳ ناقص در تولید بتالاکتاماز، به حداقل غلظت مهارکنندگی بیشتری و نفوذپذیری کم‌تری از آمپی‌سیلین و سیپروفلوکساسین نسبت به سویه‌های پلانکتونی از خود نشان می‌دهند. مکانیسم‌های عمومی مقاومت به واسطه آنتی‌بیوتیک‌ها شامل جلوگیری از جذب آنتی‌بیوتیک‌ها و کاهش متابولیسم و رشد سلول‌ها در بیوفیلم می‌باشد (۴).

راهکارهای درمانی جدید در درمان سودوموناس آئروژینوزا

مصرف بیش از حد آنتی‌بیوتیک باعث افزایش نگرانی‌های در خصوص بهداشت عمومی شده و می‌تواند باعث توسعه سویه‌های باکتریایی مقاوم به چندین دارو شود. با این حال توسعه آنتی‌بیوتیک‌های جدید بسیار محدود و زمان‌بر می‌باشد. بنابراین در دهه‌های گذشته توسعه راهکارهای درمانی جدید در درمان سودوموناس آئروژینوزا بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. این استراتژی‌های می‌تواند به تنهایی و بصورت ترکیبی با آنتی‌بیوتیک‌های رایج در مبارزه با عفونت‌های سودوموناس آئروژینوزا عمل کند و شامل مهار کوئوروم سنسینگ و لکتین‌های باکتریایی، استفاده از شلاته‌کننده‌های آهن، فاژ درمانی، واکسن، استفاده از نانوذرات، پپتیدهای ضد میکروبی، داربست‌های الکتروشیمیایی و استفاده از ترکیبات خالص شده گیاهی باشد (۲، ۳، ۵).

بیوفیلم‌های باکتریایی

بیوفیلم‌ها اجتماعات پیچیده‌ای از میکروارگانیسم‌های قرار گرفته در ماتریکس تولیدی و متصل به سطوح بی‌جان یا زنده هستند که در مرکز آن آگزوپولی‌ساکارید جاذب را بوجود می‌آورند. بیوفیلم در پزشکی دارای اهمیت بسیاری می‌باشد و باعث عفونت‌های خطرناکی در محل ورود

فیبروزیس در معرض خطر به عفونت‌های سودوموناس آئروژینوزا به دست آمده از جامعه هستند. عفونت‌های سودوموناس می‌تواند در بسیاری از نقاط آناتومیک از جمله پوست، بافت زیر جلدی، استخوان، گوش، چشم، مجاری ادراری، ریه‌ها و دریچه‌های قلب ایجاد شود. این عفونت‌ها بستگی به محل ورود و آسیب‌پذیری بیمار دارد (۲).

مکانیسم‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سودوموناس آئروژینوزا

سودوموناس آئروژینوزا ژنوم نسبتاً بزرگی (۵ Mbp) - (۵/۷) نسبت به سایر باکتری‌ها از قبیل باسیلیوس سویتیلوس^۱ (۴/۲ Mbp)، مایکو باکتریوم توبرکلوروزیس (۴/۴ Mbp) و اشریشیاکلی (۴/۶ Mbp) دارد. ژنوم این باکتری بخش بزرگی از آنزیم‌های متابولیسمی، انتقال‌دهنده‌ها و انتشاردهنده‌های ترکیبات آلی را کد می‌کند. قابلیت بالای کد شدن ژنوم سودوموناس آئروژینوزا امکان تطبیق‌پذیری و سازگاری بالا در شرایط محیطی مختلف را به آن می‌دهد. بطور کلی مکانیسم‌های مهم سودوموناس آئروژینوزا در مقابله با حمله آنتی‌بیوتیکی شامل مقاومت ذاتی، اکتسابی و انطباقی^۲ می‌باشد. مقاومت ذاتی شامل نفوذپذیری کم غشای خارجی، بیان پمپ افلاکس (منجر به خروج آنتی‌بیوتیک از سلول می‌شود) و تولید آنزیم‌های غیرفعال‌کننده آنتی‌بیوتیک می‌باشد. مقاومت اکتسابی سودوموناس آئروژینوزا می‌تواند در اثر انتقال افقی ژن‌های مقاومت یا در اثر جهش به وجود آید. مقاومت انطباقی سودوموناس آئروژینوزا شامل تشکیل بیوفیلم در بیماران ریوی آلوده به باکتری می‌باشد و بیوفیلم به عنوان سدی برای رسیدن آنتی‌بیوتیک به باکتری عمل می‌کند (۳).

مقاومت به واسطه تشکیل بیوفیلم

سلول‌های میکروبی تکثیر شده در بیوفیلم حساسیت کم‌تری نسبت به مواد ضد میکروبی و پاسخ‌های ایمنی میزبان نسبت به سلول‌های پلانکتونی دارد. حتی برخی از

^۱ *Bacillus subtilis*

^۲ *Adaptive*

^۳ *Klebsiella pneumoniae*

توانایی منحصر بفردی در تشکیل بیوفیلیم از طریق دو سیستم کوئوروم سنسینگ Las/Rhl دارد. این دو سیستم به ترتیب باعث تولید خود القاگرهای آسیل هموسرین لاکتون (3co12-homoserin lactone) و C4-homoserin lactone می‌شود (۷).

یکی از ترکیبات مهمی که باعث کاهش تشکیل بیوفیلیم می‌شود عصاره سیر تازه می‌باشد. ارزیابی‌های صورت گرفته از عصاره سیر، مهار تشکیل بیوفیلیم در مدل موش و در عفونت‌های ادراری در بیمارانی که سوندهای بیمارستانی گذاشته‌اند را نشان داد. عصاره سیر تازه همچنین باعث کاهش تولید خود القاگر آسیل هموسرین لاکتون می‌شود که این نشان‌دهنده تاثیر سیر بر روی سیستم کوئوروم سنسینگ می‌باشد (۸). در سال ۲۰۱۲ در سیر ترکیبی به نام اجوینه^۱ به عنوان مهار کننده کوئوروم سنسینگ شناسایی شد این ترکیب غنی از سولفور و دارای خاصیت ضد پاتوژنی بود. مطالعات صورت گرفته با استفاده از ریزآرایه DNA^۲ بر روی سودوموناس آئروژینوزا تحت تاثیر اجوینه کاهش چندین فاکتور ویروانس از جمله رامنولیبید را نشان داد. زمانی که این ترکیب همراه با توپرامایسین در محیط آزمایشگاهی استفاده شد بطور قابل توجهی باعث از بین رفتن بیوفیلیم شد. در عفونت ریوی موش نیز این ترکیب بطور قابل توجهی باعث پاک‌سازی سودوموناس آئروژینوزا در مقایسه با گروهی شد که تحت تاثیر این ترکیب قرار نگرفته‌اند شد (۸، ۹). اثرات ضد بیوفیلیمی مشتقات سولفیدی، دی-سولفیدی و سیستئین سولفواکسید موجود در سیر مورد ارزیابی قرار گرفت. از این ترکیبات تنها S-phenyl-l-cysteinesulfoxide و diphenyl disulfide در غلظت یک میلی‌مولار اثر مهاری بر روی بیوفیلیم تشکیل شده در سودوموناس آئروژینوزا را داشت (۹).

کاترها، پیوندها و در برخی موارد باعث برگشت عفونت و مژمن شدن آن می‌شود. مرکز بیوفیلیم‌ها از عمل آنتی-بادی‌ها، فاگوسیت‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها محافظت می‌شود به دلیل اینکه بیوفیلیم‌ها باعث رشد کند میکروارگانیزم‌ها و محدودیت در جذب مواد غذایی می‌شود (۵).

مراحل تشکیل بیوفیلیم

اولین مرحله تشکیل بیوفیلیم اتصال اولیه می‌باشد که این اتصال می‌تواند برگشت‌پذیر باشد بعد از اتصال اولیه سلول باکتریایی شروع به تولید پلیمرها، چسبنده‌ها و تشکیل ماتریکس خارج سلولی می‌کند. تغییرات فنوتیپی بیوفیلیم نقش مهمی در مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها دارد. این تغییرات شامل تولید لایه آگزوپلی‌ساکارید، پورین‌ها و پمپ‌های فلاکس می‌باشد. علاوه بر این‌ها در کمپلکس سه بعدی بیوفیلیم مشخص شد باکتری‌ها از نظر متابولیکی در شرایط مختلفی در آن قرار دارند و از بین بردن اینگونه بیوفیلیم‌ها نیازمند استفاده دوز بالای آنتی‌بیوتیک یا نیاز به عمل جراحی برای ریشه کردن آن دارد. از دیگر خطرات ایجاد بیوفیلیم همراه شدن آن با جریان خون و قرار گرفتن در ناحیه جدید می‌باشد (۵).

مکانیسم‌های مولکولی تنظیم بیوفیلیم‌ها

رفتار باکتری‌های درون بیوفیلیم توسط پدیده کوئوروم سنسینگ تنظیم می‌شود. کوئوروم سنسینگ باکتریایی از طریق انتشار سیگنال‌های شیمیایی و بیان ژن‌های ویروانس در تراکم جمعیتی عمل می‌کند. آنالیزهای ژنتیکی تشکیل بیوفیلیم، منجر به فرضیه سیگنال‌های خارج سلولی و سیستم تنظیم کوئوروم سنسینگ شد. کوئوروم سنسینگ برای تمایز بیوفیلیم‌ها ضروری می‌باشد. تلاش برای بهم زدن بیوفیلیم‌ها و شناسایی مولکول‌های پروکاریوتی یا یوکاریوتی سیستم کوئوروم سنسینگ اصطلاحی به نام خاموش کننده کوئوروم یا Quorum quenching را به وجود آورد. مهار کننده‌های کوئوروم سنسینگ می‌توانند بصورت رقابتی سیستم ارتباطی کوئوروم سنسینگ را قطع و فرصتی را برای ایجاد داروهای ضد بیوفیلیمی را به وجود بیاورد (۶). سودوموناس آئروژینوزا

¹ Ajoene

² DNA microarray

کوئوروم سنسینگ در سودوموناس آئروژینوزا

Hastings و همکاران در سال ۱۹۶۶، زمانی که بر روی باکتری درخشان *Vibrio fischeri* کار می‌کردند متوجه شدند این باکتری‌ها در درون یک جمعیت، مولکول‌هایی به نام خود القاگر^۱ تولید و در محیط آزاد می‌کنند. زمانی که تعداد باکتری‌ها متعاقب تکثیر زیاد می‌شود در سطح خارجی خود این مولکول‌ها را افزایش و به حداکثر می‌رسانند. این پروسه سبب درخشندگی زیستی در ماهی‌ها مرکب هواوایی به نام *Euprymna scolopes* می‌شود. ماهی‌ها مرکب از این ویژگی برای ترساندن دشمن استفاده می‌کنند. فایده آن برای باکتری استفاده از مواد غذایی و تکثیر بر روی سطح ماهی می‌باشد. این سیگنال مولکول‌ها باعث فعال شدن برخی از ژن‌ها و یا در مواردی باعث غیر فعال شدن برخی دیگر از ژن‌ها می‌شوند. این اتفاق به وسیله یک سیستم تنظیمی حسی به نام QS رخ می‌دهد (۵).

سیستم کوئوروم سنسینگ برای عفونت‌های مزمن تنفسی در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا به دلیل چسبندگی، تشکیل بیوفیلم و بیان فاکتورهای بیماری‌زایی ضروری می‌باشد. سیستم کوئوروم سنسینگ در این باکتری همانند ویبریو فیشری دو جزئی و شامل سیستم Las و Rhl می‌باشد. سیستم Las شامل دو پروتئین LasI و LasR می‌باشد. خود القاگر *lasI* (3co12-homoserin lactone) را تولید می‌کند. این خود القاگر با اتصال به گیرنده خود LasR باعث بیان بیشتر خود القاگر هموسرین لاکتون و بیان ژن‌های سیستم *rhIR* می‌شود. *rhII* خود القاگر C4-homoserin lactone را کد می‌کند این خود القاگر با اتصال به پروتئین *rhIR* و تشکیل کمپلکس با آن باعث بیان ژن‌های تحت کنترل خود می‌شود (۱۰).

فواید پروسه QS برای باکتری‌ها

۱- باعث مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود.

- ۲- باعث مقاومت نسبت به بیوساید‌ها می‌شود.
- ۳- باعث محافظت باکتری در برابر استرس‌های محیطی از جمله تهاجم به وسیله سیستم ایمنی (باعث بلوکه شدن PMNs) می‌شود (۵).
- ۴- امکان انتقال ژن بصورت افقی را آسان می‌کند.
- ۵- در تشکیل بیوفیلم نقش دارد.
- ۶- در تنظیم فاکتورهای بیماری‌زایی، همزیستی و درخشندگی زیستی نقش دارد (۱۱).
- ۷- در کانون‌گشایی نقش دارد.
- ۸- در حرکت و سوآرمینگ دخالت دارد.
- ۹- در تولید متابولیت‌های ثانویه نقش دارد.
- ۱۰- در رقابت بین باکتری‌ها نقش دارد.

دلایل مناسب بودن سودوموناس آئروژینوزا برای مطالعه دو پدیده QS و تشکیل بیوفیلم

داشتن سیستم Las: این سیستم شامل پروتئین‌های فعال کننده رونویسی LasR و LasI می‌باشد که این خود القاگر بطور مستقیم توسط PAI-1 سنتز می‌شود و آن - آسپیل هموسرین لاکتون را تولید می‌کند (۱۱-۱۲). سیستم Las برای بلوغ و تمایز بیوفیلم‌ها نیز ضروری می‌باشد. سویه‌های Las مثبت دارای ساختارهای ساقه مانند و مقاوم به SDS و سویه‌های Las منفی بیوفیلم‌های صاف را ایجاد می‌کند که به وسیله SDS از بین می‌رود این امر نشان دهنده ارتباط بین سیستم QS و تشکیل بیوفیلم می‌باشد. همچنین بیوفیلم‌های که Las منفی‌اند دارای عملکردی ناقص در مقابل بیوساید‌ها می‌باشند. سیستم Las بصورت مستقیم باعث بیان ژن‌های *toxA*، *agz* و توکسین، آلکالین پروتئاز، پیوسیانین، لکتیناز و بصورت غیر مستقیم باعث راه‌اندازی سیستم QS و سیستم Rhl می‌شود. سیستم PQS نیز به وسیله *lasR* فعال شده و باعث تولید الاستاز می‌شود (۱۳).

داشتن سیستم Rhl: این سیستم شامل پروتئین‌های فعال کننده رونویسی RhlR و RhlI می‌باشد. این خود القاگر بطور مستقیم توسط PAI-2^۲ تولید می‌شود (۱۲) و

^۲ Biocide

^۱ Pathogenicity island-II

^۱ Autoinducer

پیوسیانین و رامنولپید در سودوموناس *آئروژینوزا* می‌شود. ترکیب مصنوعی دیگری به نام مشتق فورانون هالوژنه تولید شده گیاه *Delisea pulchra* باعث مهار بیان ژن-های ویرولانسی، قادر به نفوذ به میکروکلنی‌ها، تخریب ساختارهای بیوفیلم و جداسازی باکتری‌های سودوموناس *آئروژینوزا* از سطح می‌شود. ترکیب بنزآمید-بنزیمیدازول، M16 بصورت شیمیایی باعث مهار MvfR در سودوموناس *آئروژینوزا* می‌شود و باعث کاهش تشکیل بیوفیلم و افزایش حساسیت سودوموناس *آئروژینوزا* به مروپنم و توپرامایسین می‌شود. علاوه بر این M16 به عنوان یک آنتاگونیست رقابتی در اتصال MvfR به لیگاند عمل می‌کند و باعث کاهش اتصال MvfR به DNA می‌شود (۱۳).

مهار لکتین

لکتین‌ها پروتئین‌های غشای خارجی باکتریایی هستند که به باکتری اجازه اتصال به بافت‌های میزبان را می‌دهد. اتصال سودوموناس *آئروژینوزا* به سطح سلول‌های اپی‌تلیال ریه به واسطه دو لکتین اختصاصی LecA و LecB به ترتیب به گیرنده‌های گالاکتوز و فوکوز صورت می‌گیرد. علاوه بر این لکتین‌های سودوموناس *آئروژینوزا* در تشکیل بیوفیلم نقش دارد و در تعامل با گلیکوکونژوگه‌های سلول میزبان هستند. مهار اتصال لکتین ممکن است برای پیشگیری و درمان عفونت‌های سودوموناس *آئروژینوزا* به دلیل پایداری و خطر کم توسعه مقاومت آنتی‌بیوتیکی مفید باشد. اتصال لکتین به سطوح سلولی میزبان ممکن است به وسیله مهار کننده‌های لکتین بلاک شود این مهار کننده‌ها شامل گلیکوسترها، گلیکوپلیمرها، گلیکودندریمرها هستند که تمایل به اتصال بالایی به لکتین‌ها را دارند و باعث مهار عملکرد آن‌ها می‌شود. دندریمر بتا- فنیل گالاکتوزیل پپتید (GalAG2) یک دندریمر گلیکوپپتیدی است که میل اتصال بالایی به LecA سودوموناس *آئروژینوزا* و مهار تشکیل بیوفیلم در شرایط آزمایشگاهی را دارد (۱۴).

و ان - بوتانویل ال - هموسرین لاکتون را کد می‌کند (۱۱). سیستم Rhl باعث بیان ژن‌های RhlAB می‌شود که یک اپران کد کننده رامنوزیل ترانسفراز برای تولید بیوسورفاکتانت رامنولپید می‌باشد. این ترکیب با کاهش کشش سطحی به سلول‌های سودوموناس *آئروژینوزا* اجازه خزیدن بر روی سطوح نیمه جامد را می‌دهد. همچنین این سیستم باعث فعال شدن رونویسی از سیگما فاکتور عمومی RpoS می‌شود (۵).

مهار کوئوروم سنسینگ

کوئوروم سنسینگ یک مکانیسمی است که به باکتری‌ها اجازه می‌دهد بیان ژن‌های خود را از طریق تراکم سلولی کنترل کند. سودوموناس *آئروژینوزا* از مکانیسم کوئوروم سنسینگ برای تنظیم ویرولانسی و تشکیل بیوفیلم استفاده می‌کند. این استراتژی طیف کم‌تری از باکتری‌ها را درگیر می‌کند و به نظر می‌رسد اثرات مهاری ناخواسته‌ای بر روی باکتری‌های مفید نداشته باشد. مهار کننده‌های کوئوروم سنسینگ سیستم‌های Las و Rhl می‌تواند طبیعی یا مصنوعی و توانایی کاهش فعالیت AHL، مهار تولید AHL تخریب AHL یا رقابت در اتصال به گیرنده‌های AHL باشد. استفاده از مهار کننده‌های کوئوروم سنسینگ در سال‌های اخیر برای درمان عفونت‌های سودوموناس *آئروژینوزا* به شدت مورد مطالعه قرار گرفته است. برای مثال کاراتنوئید زاگزانترین که معمولاً در گیاهان، جلبک و گل‌سنگ‌ها یافت می‌شود باعث کاهش تشکیل بیوفیلم در سودوموناس *آئروژینوزا* با اتصال به گیرنده‌های کوئوروم سنسینگ از قبیل LasR و RhlR و بلاک کننده بیان ژن‌های *lasB* و *rhlA* می‌شود. فلاونوئیدها خانواده‌ای از متابولیت‌های گیاهی هستند که به طور طبیعی تولید و به عنوان آنتاگونیست LasR و RhlR عمل می‌کند. مهار کننده مصنوعی کوئوروم سنسینگ ان - دکانویل سیکلوپنتیل آمید (C10-CPA)، باعث تداخل سیستم‌های Las و Rhl از طریق اتصال به 3OC12-HSL و C4-HSL و مانع کانونج شدن با گیرنده‌های خود (Rhl و LsR) منجر به اختلال در تشکیل بیوفیلم و فاکتورهای ویرولانسی از قبیل الاستاز،

شلاته کردن آهن

آهن برای رشد باکتری‌ها ضروری می‌باشد و در انواع فرآیندهای سلولی از قبیل تولید انرژی، همانندسازی DNA و انتقال الکترون نقش دارد. مقدار آهن در خلط انسان به طور قابل توجهی در بیماران سیستمیک فیبروزیس نسبت به افراد سالم افزایش می‌یابد و افزایش میزان آهن باعث مزمن شدن عفونت در مبتلایان به سیستمیک فیبروزیس می‌شود. سودوموناس آئروژینوزا از سیدروفور پیووردین و پیوچلین برای بدست آوردن آهن از محیط خارج سلولی استفاده می‌کند. بنابراین محدود کردن غلظت آهن خارج سلولی یا مختل شدن جذب آهن توسط سودوموناس آئروژینوزا یک استراتژی برای مقابله با عفونت‌های سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد. شلاته کننده‌های آهن شامل EDTA، DTPA، 2DP و رشد سودوموناس آئروژینوزا و تشکیل بیوفیلیم را مختل می‌کند و در شرایط بی‌هوازی نیز تاثیر بیشتری دارد. گالیوم یک آنالوگ آهن III غیر احیا شونده که باعث اختلال متابولیسم آهن می‌شود و به عنوان جایگزین مناسب آهن در فرآیندهای بیولوژیکی عمل می‌کند مورد تایید FDA در درمان سرطان مرتبط با هایپرکالسمیا می‌باشد. گالیوم همچنین توانایی مهار رشد، جلوگیری از تشکیل بیوفیلیم و فعالیت کشندگی در شرایط آزمایشگاهی با کاهش جذب آهن و سرکوب تنظیم کننده رونویسی PvdS (واسطه سنتز پیووردین) را دارا می‌باشد. گالیوم بصورت موثری باعث از بین بردن سودوموناس آئروژینوزا در مدل‌های عفونی موش می‌شود. متاسفانه بیماران دریافت کننده ترکیبات گالیوم همچون گالیوم نترات و گالیوم آرسنید^۱ برای درمان‌های بالینی عوارضی همچون سرکوب سیستم ایمنی و سمیت اندام‌های مختلف مانند کلیه، ریه و بیضه-ها را در پی داشت. با این حال از شلاته کننده‌های آهن می‌توان در کنار آنتی‌بیوتیک‌های رایج استفاده کرد. از این لحاظ ترکیب توبرامایسین با شلاته کننده‌های آهن مانند دفروکسامین^۲ و دفراسیروکس^۳ بطور موثری باعث کاهش

زیست توده بیوفیلیم سودوموناس آئروژینوزا در شرایط آزمایشگاهی شده و در سلول‌های اپی‌تلیال راه‌های هوای بیماران CF نیز باعث افزایش مرگ سودوموناس آئروژینوزا می‌شود. از آنجائیکه شلاته کننده‌های آهن از قبیل دفرآگزامین، دفراسیروکس و دفریپرون^۴ مورد تایید FDA است نسبت به سایر گزینه‌های درمانی بی‌خطر در نظر گرفته می‌شود و باید در شرایط بالینی بیشتر مورد بررسی قرار گیرد (۱۵).

پپتیدهای ضد میکروبی

پپتیدهای ضد میکروبی^۵ (AMPs) که به آن‌ها پپتیدهای دفاعی میزبان نیز گفته می‌شود توسط ارگانسیم‌های مختلفی، از باکتری‌ها گرفته تا حیوانات تولید می‌شود و در برابر طیف وسیعی از میکروارگانسیم‌ها فعال هستند. عملکرد AMP به طور کامل مطالعه نشده اما بطور کلی AMP غشای سیتوپلاسمی را مورد هدف قرار می‌دهد و منجر به مرگ سلولی می‌شود. علاوه بر فعالیت ضد میکروبی AMP، دارای خواص ضد بیوفیلیمی و تعدیل کننده سیستم ایمنی نیز می‌باشد. پپتیدهای ضد میکروبی شامل NLF20، T9W، LL-37، GL13K، سپروپین P1، ایندولیسیدین، ماگائینین II، نایسین، رانالکسین، میلیتین و دفنسین، پتانسیل ضد میکروبی در سودوموناس آئروژینوزا از طریق اثرات باکتریسیدالی مستقیم یا تخریب بیوفیلیم را دارد (۱۶).

داربست‌های الکتروشیمیایی

اخیراً یک استراتژی جایگزین برای از بین بردن عفونت باکتری‌ها پیشنهاد شده است آن هم استفاده از داربست-های الکتروشیمیایی برای تولید کم و غلظت‌های پایدار H₂O₂ برای از بین بردن بیوفیلیم باکتریایی و اجازه به نفوذ بهتر آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. ایستانبولو و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان دادند تولید H₂O₂ به وسیله سطح استیلی تا حد زیادی تشکیل بیوفیلیم در سودوموناس آئروژینوزا را کاهش می‌دهد (۱۷). داربست‌های

¹ Gallium arsenide

² Deferoxamine

³ Deferasirox

⁴ Deferiprone

⁵ Antimicrobial peptides (AMPs)

سودوموناس آئروژینوزا PAO1 و P14 می‌شود اما در کشت‌های اشرفیاکلی و استافیلوکوکوس تاثیری نداشت (۲۲).

Bala و همکاران در سال ۲۰۱۱ مهار کوئوروم سنسینگ در سودوموناس آئروژینوزا را به وسیله آزیترومايسين و اثر بخشی آن را در عفونت‌های ادراری مورد بررسی قرار دادند. غلظت‌های زیر حد MIC آزیترومايسين بطور قابل توجهی باعث تولید سیگنال مولکول‌های کوئوروم سنسینگ، توانایی حرکت و تشکیل بیوفیلم در شرایط آزمایشگاهی شد. در ارزیابی‌های مدل بالینی نیز باعث پاک‌سازی این ارگانسیم در عفونت کلیه موش شد و در نتیجه آزیترومايسين داروی موثر در تضعیف فاکتورهای بیماری‌زایی و درمان عفونت‌های ادراری می‌باشد (۲۳).

Ghafoor و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان دادند تشکیل ساختارهای قارچ مانند، Psl، آلزینات و Pel در تراکم بیوفیلم باکتریایی نقش دارد و جهش در هر سه ژن باعث از دست رفتن توانایی باکتری در تولید بیوفیلم می‌شود. عملکرد Psl در اتصال مستقل از آلزینات و Pel بود. بطور کلی نتایج آن‌ها نشان‌دهنده این موضوع بود اگزوپلی‌ساکاریدهای مختلف به همراه DNA خارج سلولی در ساختار و معماری بیوفیلم در سودوموناس آئروژینوزا نقش دارد (۲۴).

Nguyen و همکاران در سال ۲۰۱۱ مشخص کردند تحمل آنتی‌بیوتیکی و محدودیت مواد غذایی در بیوفیلم توسط پاسخ در شرایط سخت کنترل می‌شود و توسط اثرات غیر فعال شدن رشد، کنترل نمی‌شود. بنابراین غیر فعال کردن این مکانیسم محافظ بیوفیلم، بطور قابل توجهی اثربخشی درمان‌های آنتی‌بیوتیکی را افزایش می‌دهد (۲۵).

Jakobsen و همکاران در سال ۲۰۱۲ بر روی اجونه یک مولکول غنی از سولفور در سیر کار کردند نتایج آن‌ها نشان‌دهنده کاهش بیان رامنولپید بود و زمانی که این ترکیب را همراه با توبرامایسین استفاده کردند باعث از بین رفتن بیوفیلم و توقف نکروز نوتروفیل‌ها در موش می‌شد (۲۶).

الکتروشیمیایی همچنین باعث افزایش حساسیت نسبت توبرامایسین در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا PAO1 و بطور موثری باعث حذف سلول‌های پایدار در بیوفیلم می‌شود. تا به امروز داربست‌های الکتروشیمیایی در بدن بیماران قرار داده نشده و اثرات بالینی آن هنوز نامشخص می‌باشد (۱۸).

مروری بر فعالیت گیاهان بر تشکیل بیوفیلم و کوئوروم سنسینگ

Hay و همکاران در سال ۲۰۰۹ نقش افزایش تولید بیش از حد آلزینات در اتصال و معماری بیوفیلم در سویه‌های سوپرموکوئید سودوموناس آئروژینوزا را مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان‌دهنده این موضوع بود که افزایش بیش از حد آلزینات باعث اختلال در اتصال می‌شود و همچنین نقش اساسی در تشکیل ساختار میکروکلنی دارد (۱۹).

Ma و همکاران در ۲۰۰۹ مونتاژ و توسعه ماتریکس بیوفیلم در سودوموناس آئروژینوزا را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها نشان دادند در طول اتصال، Psl با الگوی مارپیچی به سطح سلول متصل می‌شود. با پیشرفت واکنش‌های سلول به سلول و تولید ماتریکس، باکتری را در بیوفیلم و روی سطح آن نگه می‌دارد. در حین بلوغ، Psl در حاشیه ساختار سه بعدی میکروکلنی تجمع پیدا می‌کند و در نتیجه یک حفره بدون Psl در مرکز میکروکلنی ایجاد می‌کند. در انتها مرگ سلول‌ها و DNA خارج سلولی مرکز این ماتریکس را پر می‌کند (۲۰).

Bjarnsholt و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان دادند جهش در ژن‌های lasR و rhIR باعث نقص در سیستم کوئوروم سنسینگ و کاهش تولید رامنولپید و الاستاز می‌شود. آن‌ها همچنین به این نتیجه رسیدند سویه‌های موکوئیدی آن‌اسیل هموسرین لاکتون و رامنولپید بیشتری نسبت به سویه‌های غیر موکوئیدی تولید می‌کنند (۲۱).

Moker و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان دادند پیوسیانین فنازین و آسیل هموسرین لاکتون باعث افزایش سلول‌های persister در فاز لگاریتمی محیط کشت

آئروژینوزا PAOI شد. شواهد آن‌ها ارتباط معکوس بین مقاومت ایمی‌پنم و تشکیل بیوفیلیم بود و سویه‌های که قادر به تشکیل بیوفیلیم قویتری بودند به غلظت ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ایمی‌پنم حساس بودند (۳۰).

Dosler و Karaaslan در سال ۲۰۱۴ بر روی مهار و تخریب بیوفیلیم‌ها به وسیله آنتی‌بیوتیک‌ها (سفتازیدیم، توبرامایسین، سیپروفلوکساسین، دوری‌پنم، پپراسیلین و کلیستین) و پپتیدهای ضد میکروبی (LL-37، cecropin (1-7)-melittin A(2-9) amide، defensin، magainin-II) کار کردند. حداقل غلظت ریشه‌کنی بیوفیلیم‌ها برای آنتی‌بیوتیک‌ها و پپتیدهای ضد میکروبی $5120\text{mg/L} > 80$ و $640 > 640\text{mg/L}$ به ترتیب بود و همه آنتی‌بیوتیک‌ها و پپتیدهای ضد میکروبی توانایی مهار اتصال باکتری در حداقل غلظت مهارکنندگی $1/10$ را داشتند. اثر هم‌افزایی زمانی که آنتی‌بیوتیک‌ها به همراه پپتیدهای ضد میکروبی استفاده کردند مشاهده شد (۳۱).

Kalia و همکاران در سال ۲۰۱۴ اثرات روغن دارچین را بر روی کنترل QS، فاکتورهای ویروالانس و تشکیل بیوفیلیم در سودوموناس آئروژینوزا مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها برای تعیین اثرات ضد بیوفیلیمی و ضد QS بر روی فاکتورهای ویروالانسی همچون پیوسیانین، رامنولیپید، پروتئاز، تولید آلرژینات و خزیدن باکتری کار کردند. در پایان برای نشان دادن اثرات مهارری روغن دارچین بر روی تشکیل بیوفیلیم سودوموناس آئروژینوزا از میکروسکوپ نوری و الکترونی استفاده کردند. آن‌ها همچنین مشخص کردند روغن دارچین بر روی فاکتورهای مختلف بیماری‌زایی و تشکیل بیوفیلیم موثر می‌باشد (۳۲).

Rahman و همکاران در سال ۲۰۱۵ عصاره Amomum tsao-ko (دارچین معرف به هل سیاه)، از لحاظ فعالیت ضد بیوفیلیمی و ضد QS مورد بررسی قرار دادند و در پایان به این نتیجه رسیدند که غلظت mg/ml ۴ از عصاره، بالاترین اثر مهارری بیوفیلیم را بر روی سالمونلا تایفی‌موریوم ۵۱/۹۶٪ دارد و بعد از آن استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب ۴۷/۰۶٪ و ۴۵/۲۸٪ داشت (۳۳).

Saviuc و همکاران در سال ۲۰۱۳ روغن‌های ضروری گیاهان مختلف را ارزیابی کردند نتایج آن‌ها نشان‌دهنده تأثیر روغن‌های ضروری گونه‌های مختلف گیاهی آنژیواسپرم و ژیمواسپرم و اجزای اصلی آن‌ها، در مهار بیان ۶ فاکتور ویروالانس محلول (همولایزین‌ها، ژلاتیناز، DNA آزا، لیپاز، آمیلاز و اسکولین هیدرولایز) در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس همراه بود. روغن‌های ضروری استخراج شده Salvia Alba، Rosmarinus officinalis، Abies و Eugenia caryophyllata و برخی از ترکیبات اصلی آن‌ها (eugenol، limonene و eucalyptol) باعث مهار کوئوروم سنسینگ در استافیلوکوکوس اورئوس و تنها روغن ضروری E. caryophyllata باعث مهار بیان ژن‌های دخیل در کوئوروم سنسینگ ژن las و rhl در سودوموناس آئروژینوزا شد (۲۷).

O'Loughlin و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند ترکیب متابرومو تیولاکتون نه تنها مانع بیان فاکتورهای ویروالانس نمی‌شود بلکه از نابود شدن Caenorhabditis elegans و سلول‌های اپی‌تلالیال انسانی A549 به واسطه کوئوروم سنسینگ سودوموناس آئروژینوزا جلوگیری می‌کند. این مولکول همچنین توانایی تأثیرگذاری در مدل‌های حیوانی و کشت بافت را نیز داشت (۲۸).

Ponsoni و همکاران در سال ۲۰۱۳ اثرات سایتوتوکسیک سولامارجین^۱، سولاسودین^۲ و متابولیت‌های بدست آمده از آنها را در محیط *in vitro* بر روی قطعه S9 آنزیم‌های کبدی با استفاده از بیوترانسفورماسیون قطعه مذکور مورد بررسی قرار دادند و احتمال دادند سرکوب قطعه S9 به وسیله اثرات سایتوتوکسیک این آکالوئیدها صورت می‌گیرد (۲۹).

Musafer و همکاران در سال ۲۰۱۴ ارتباط بین مقاومت ایمی‌پنم و تشکیل بیوفیلیم به وسیله سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا را مورد بررسی قرار دادند. جهش در ژن oprD عامل مقاومت به ایمی‌پنم و باعث کاهش متوسط تشکیل بیوفیلیم در سویه‌های سودوموناس

¹ Somalargine

² Solasodine

زمانی که با آنتی‌بیوتیک‌های معمولی استفاده می‌شد را نشان می‌داد بطوریکه میزان غلظت آنتی‌بیوتیک مورد استفاده برای ریشه‌کنی آن‌ها تا ۶۴ برابر کاهش می‌یافت. پپتیدهای D-Enantiomeric پپتیدهای مقاوم به پروتئاز قابلیت ریشه‌کنی بیوفیلیم هم در شرایط آزمایشگاهی و هم در شرایط بالینی با اثر بر روی پاسخ سیگنالی درون سلولی در شرایط سخت (pppGpp) را داشت (۳۹).

Bahar و همکاران در سال ۲۰۱۵ تیرازین-۵ (TN-) را شناسایی کردند. این ترکیب حداقل غلظت مهاری آن ۱۲/۸ میکرومولار در سوبه‌های پلانکتونی سودوموناس آئروژینوزا و اشرشیاکلی بود. همچنین بر روی سلول‌های Persister این دو گونه باکتریایی موثر بود و مرگ سلول-های بیوفیلیم مخاطی سودوموناس آئروژینوزا PDO300 توسط آلزینات‌لیاز را افزایش می‌داد (۴۰).

Berditsch و همکاران در سال ۲۰۱۵ اثرات پپتیدهای ضد میکروبی پلی‌میکسین B (PMB) و گرامیسیدین S (GS) بر روی سوبه‌های مقاوم به چندین دارو و بیوفیلیم سودوموناس آئروژینوزا را مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها علاوه بر اثر هم‌افزایی بر روی سلول‌های پلانکتونی، کاهش معنی‌داری در مهار رشد سلول‌های بیوفیلیم نسبت به زمانی که جداگانه استفاده می‌شد از خود نشان می‌داد. بنابراین ترکیب دارویی PGS به GS می‌تواند ترکیب دارویی مناسبی برای درمان عفونت‌های حاد و مزمن ناشی از مقاومت چند دارویی یا تشکیل بیوفیلیم باشد (۴۱).

Lebeaux در سال ۲۰۱۵ در شرایط آزمایشگاهی ترکیب آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، ونکومایسین و آمیکاسین با EDTA و ال-آرژنین در برابر سوبه‌های بالینی تشکیل‌دهنده بیوفیلیم در عفونت‌های مرتبط با کاتترها را بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان می‌داد EDTA باعث افزایش فعالیت آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، ونکومایسین و آمیکاسین در برابر سوبه‌های بالینی تشکیل‌دهنده بیوفیلیم در عفونت‌های مرتبط با کاتترها می‌شود (۴۲).

Boulangier و همکاران در سال ۲۰۱۵ اثر باکتریوسیدالی توماتیدین-توبرامایسین را بر روی کشت همزمان استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین و سودوموناس آئروژینوزا مورد بررسی قرار دادند و آن‌ها به این نتیجه رسیدند، ترکیب توماتیدین-توبرامایسین می‌تواند یک رویکرد درمانی جدید در درمان بیماران مبتلا به سیستمیک فیبروزیس باشد (۳۴).

Sepahi و همکاران در سال ۲۰۱۵ بر روی روغن‌های ضروری گیاهی ferula و Dorema از خانواده Apiaceae کار کردند نتایج آن‌ها نشان‌دهنده کاهش اثرات ضد کوئوروم سنسینگ در غلظت ۲۵ mg/ml بود (۳۵).

Berrazeg و همکاران در سال ۲۰۱۵ مشخص کردند سودوموناس آئروژینوزا قدرت سازگاری با مؤثرترین بتالاکتامازها از قبیل سفالوسپورین جدید سفتولوزان از طریق جهش‌های متنوع در AmpC را دارد. داده‌های آن‌ها نشان‌دهنده این بود که این جهش بیش از ۱/۵٪ در سوبه‌های بالینی بیشتر بود (۳۶).

Kumar و همکاران در سال ۲۰۱۵ با بررسی اثرات زنجبیل بر روی گیرنده‌های RhlR, LasR, TraR و PqsR مشخص کردند این ترکیب فیتوشیمیایی فعالیت ضد کوئوروم سنسینگ خود را از طریق تداخل با لیگاند-گیرنده اعمال می‌کند از این رو زنجبیل می‌تواند کاندید دارویی مناسبی بر علیه عفونت‌های سودوموناس آئروژینوزا باشد (۳۷).

Bouffartigues و همکاران در سال ۲۰۱۵ بر روی پروتئین OprF در سودوموناس آئروژینوزا کار کردند و نتایج آن‌ها نشان‌دهنده این موضوع بود که عدم وجود این پروتئین باعث افزایش تشکیل بیوفیلیم و تولید اگزوپلی-ساکارید (Pel) از طریق افزایش سطح c-di-GMP که یک پیام‌آور ثانویه کلیدی در کنترل بیوفیلیم بود می‌شد (۳۸).

De La Fuente-Núñez و همکاران در سال ۲۰۱۵ از پپتیدهای D-Enantiomeric برای ریشه‌کنی بیوفیلیم در سوبه‌های وحشی و مقاوم به چند دارویی استفاده کردند نتایج آن‌ها اثر هم‌افزایی این پپتیدها در

سودوموناس آئروژینوزا PAO1 را مورد بررسی قرار دادند و آن‌ها به این نتیجه رسیدند که این باکتری در حضور عصاره برگ Piper betle توانایی تولید بیوفیلیم، پیوسیانین و حرکت را کاهش می‌دهد. همچنین این عصاره تأثیری بر روی رشد باکتری ندارد (۴۷).

Abd El-Aziz و همکاران در سال ۲۰۱۷ مطالعه‌ای بر روی همبستگی بیان ژن فزاین (phz) و ژن‌های دخیل در کوئوروم سنسینگ انجام دادند در این مطالعه مشخص گردید ارتباط بین آنها مثبت می‌باشد (۴۸).

Hossain و همکاران در ۲۰۱۷ بر روی ۵ ترکیب فنلی متیل گالات، پیروگالول، پیروکتکول، زورسینول و فلوروگلوکینول کار کردند این ترکیبات باعث کاهش بیان ژن‌های *lasR*، *lasI*، *rhlR*، *rhlI* و *pqsA* در سودوموناس شد و در محیط آزمایشگاهی نیز فعالیت سمی از خود نشان نداد (۴۹).

Grassi و همکاران در سال ۲۰۱۷ دو آنتی‌بیوتیک پتیدی کلیستین و داپتومایسین را بر روی سلول‌های *Persister* سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس، مورد استفاده قرار دادند. فعالیت اصلی آن‌ها اختلال در کار غشای باکتری بود. از سیانید ام- کلروفیل هیدرازون برای تولید سلول‌های *Persister* با راندمان بالا و فوتوپهای مقاوم به آنتی‌بیوتیک نسبت به گروه‌های مختلف آنتی‌بیوتیک استفاده کردند. نتایج آن‌ها نشان داد کلیستین در برابر سلول‌های *Persister* سودوموناس آئروژینوزا فعال بود در حالی که داپتومایسین در برابر سلول‌های *Persister* استافیلوکوکوس اورئوس ۳۲ تا ۶۴ برابر بیشتر از پتیدهای ضد میکروبی آزمایش شده مورد نیاز بود (۵۰).

Høyland-Kroghsbo و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان دادند فعالیت CRISPR-Cas و کسب مقاومت می‌تواند با استفاده از ترکیبات ضد کوئوروم سنسینگ تعدیل یابد و باعث سرکوب سیستم ایمنی انطباقی CRISPR-Cas و افزایش کاربردهای پزشکی از جمله فاژ درمانی شود (۵۱).

Gokalsin و همکاران در سال ۲۰۱۷ به دنبال یک روش درمانی جایگزین با استفاده از زیگزانتین کاروتنوئید

Rudilla و همکاران در سال ۲۰۱۶ اثرات هم‌افزایی ایمی پنم با پتید ضد میکروبی ساخته شده AMP38 در برابر سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمی پنم را مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد حداقل غلظت ریشه‌کنی بیوفیلیم ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر زمانی که به صورت هم‌زمان استفاده می‌شد بود و زمانی که بصورت مجزا استفاده شد ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. علاوه بر این اثرات کشندگی AMP38 همراه با ایمی-پنم بسیار بیشتر نسبت به کلیستین همراه با ایمی-پنم بود (۴۳).

Field و همکاران در سال ۲۰۱۶ فعالیت ضد میکروبی پتیدنایسین همراه با پلی‌میکسین و کلیستین در سویه‌های تشکیل‌دهنده بیوفیلیم را مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان می‌داد زمانی که پلی‌میکسین‌ها همراه با نایسین بکار می‌رفت به غلظت کم‌تری از آن‌ها جهت مهار بیوفیلیم لازم بود و باعث افزایش حساسیت بیوفیلیم نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شد. همچنین استفاده درمان‌های ترکیبی سمیت پلی‌میکسین‌ها را نیز کاهش می‌داد (۴۴).

El-Shaer و همکاران در سال ۲۰۱۶ اثر فنیل‌آلانین آرژنیل‌بتا- نفتیل آمید (PAβN) بر روی فاکتورهای ویروولانس و کوئوروم سنسینگ باکتری سودوموناس آئروژینوزا را بررسی کردند. PAβN کاهش تولید خود القاگرها ان-۳-اکسو- دو دکانویل-ال-هموسرین لاکتون و ان- بوتیریل-ال-هموسرین لاکتون و بدون تأثیر بر روی بقای باکتری را نشان داد. علاوه بر این PAβN باعث حذف فاکتورهای ویروولانسی همچون الاستاز، پیوسیانین و حرکت باکتری شد (۴۵).

Gokalsin و همکاران در سال ۲۰۱۶ بر روی متابولیت‌های ثانویه گل‌سنگ جهت مهار کوئوروم سنسینگ کار کردند نتایج آن‌ها نشان‌دهنده این موضوع بود که اسید ایورنیک^۱ متابولیت ثانویه گل‌سنگ قادر به مهار کوئوروم سنسینگ در سودوموناس آئروژینوزا می‌شود (۴۶).

Datta و همکاران در سال ۲۰۱۶ اثرات عصاره برگ Piper betle بر روی QS و فاکتورهای ویروولانس سویه

¹ Evernic acid

سودوموناس آئروژینوزا PAO1 مورد بررسی قرار دادند نتایج آن‌ها نشان‌دهنده این موضوع بود ترانس سینامالدئید بیان ژن‌های *lasI* و *lasR* را به ترتیب ۱۳ و ۷ برابر و اسید سالیسیلیک ۲ تا ۳ برابر در طی فاز ثابت رشد کاهش می‌دهد. همچنین ترانس سینامالدئید کاهش تولید فاکتورهای ویروالانس خارج سلولی پروتئاز، الاستاز و پیوسیانین به ترتیب ۲۲٪، ۳۲٪ و ۶۵٪ نشان می‌داد. این مهار کننده‌ها بطور قابل توجهی کاهش تشکیل بیوفیلم با سرکوب بیان ژن‌های رامنولپید را نشان داد (۵۵).

Nair و *Malgaonkar* در سال ۲۰۱۹ کوئوروم سنسینگ سودوموناس آئروژینوزا را مورد بررسی قرار دادند نتایج آن‌ها با افزایش *PhrD*، افزایش بیان ژن *rhlR* تولید بیوسورفاکتانت رامنولپید و رنگدانه فعال پیوسیانین همراه بود (۵۶).

Salih و *Ahmed* در سال ۲۰۱۹ نشان دادند غلظت کم عسل باعث کاهش بیان ژن *exoA* و بیان ژن‌های *las* و *rhl* در سویه‌های مقاوم به دارو سودوموناس آئروژینوزا و بهبود زخم‌های سوختگی آلوده به این باکتری می‌شود (۵۷).

Kamali و همکاران در سال ۲۰۲۰ مقاومت ضد میکروبی، پتانسیل تشکیل بیوفیلم و حضور ژن‌های مرتبط با بیوفیلم در ایزوله‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آن‌ها مقاومت ۱۲/۵ درصد به آمیکاسین و پپراسیلین/تازوباکتام و ۲۳/۷۵ درصد مقاومت به لووفلوکساسین را نشان داد. مقاومت چند دارویی در ۲۰ درصد نمونه‌ها و ۸۳/۷۲ درصد از نمونه‌ها قادر به تشکیل بیوفیلم بودند. در ۸۷/۵ درصد از نمونه‌ها سه ژن (*pelF* و *pslD*، *algD*) مرتبط با تشکیل بیوفیلم وجود داشت (۵۸).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعات نشان داد که گیاهان دارویی در رقت‌های مختلف و در گونه‌های مختلف مهار کننده تشکیل بیوفیلم و کوئوروم سنسینگ می‌باشد که می‌توان برای مهار بیوفیلم و کنترل عفونت از گیاهان دارویی و یا مواد مؤثره آنها استفاده کرد.

برای کاهش بیان فاکتورهای ویروالانس و مهار کوئوروم سنسینگ بودند. نتایج آن‌ها نشان‌دهنده این بود زیگزانتین کاروتنوئید یک مهار کننده بهتری نسبت به اسید ایورنیک (متابولیت ثانویه گل‌سنگ) بود. این نتایج را با استفاده از آنالیزهای غربالگری سیلیکو و آزمایشات qRT-PCR بدست آوردند (۴۶).

Paczkowski و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان دادند فلاونوئیدها اثرات آنتاگونیسمی بر روی گیرنده‌های *LasR* و *RhlR* دارد و باعث مهار کوئوروم سنسینگ می‌شود. آنالیز رابطه ساختار و فعالیت نشان‌دهنده حضور دو بخش هیدروکسیل در ستون اصلی فلاونوئیدها برای مهار قدرتمند گیرنده‌های *LasR* و *RhlR* می‌باشد. آنالیزهای بیوشیمیایی نیز نشان‌دهنده این بود که فلاونوئیدها عملکرد غیر رقابتی جهت جلوگیری اتصال *LasR/RhlR* با اتصال به DNA دارد. تجویز فلاونوئیدها باعث تغییر رونویسی از پروموتورهای مورد هدف کوئوروم سنسینگ و سرکوب تولید فاکتورهای ویروالانس می‌شود. فلاونوئیدها پتانسیل ضد عفونی دارند که با مکانیسم‌های رایج باکتری‌سیدالی و باکتریواستاتیکی متفاوت است (۵۲).

Fong و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان دادند یک دوز از فازها، بطور قابل توجهی توانایی تشکیل بیوفیلم‌ها در سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیماران رینوسینوزیت مزمن در شرایط آزمایشگاهی را کاهش می‌دهد و استفاده از فازها برای از بین بردن بیوفیلم‌های سودوموناس آئروژینوزا به چندین دارو می‌تواند یک درمان هدفمند باشد (۵۳).

Shah و همکاران در سال ۲۰۱۹ در تحقیقات خود به این نتیجه رسیدند که پتاسیم ۲- متواکسی-۴-ونیل فنولات، پتانسیل بالایی جهت مهار کوئوروم سنسینگ و فاکتورهای ویروالانسی مانند بیوفیلم، *LasA* پروتئاز، *LasB* الاستاز، پیوسیانین و حرکت دارد (۵۴).

Ahmed و همکاران در سال ۲۰۱۹ تأثیر ترکیبات طبیعی ترانس سینامالدئید^۱ و اسید سالیسیلیک را بر روی بیان ژن‌های کوئوروم سنسینگ و ژن‌های ویروالانس

¹ Cinnamaldehyde

erichia coli and *Proteus mirabilis*. *Clinical microbiology reviews*. 2008;21(1):26-59.

9- Cady NC, McKean KA, Behnke J, Kubec R, Mosier AP, Kasper SH, Musah RA. Inhibition of biofilm formation, quorum sensing and infection in *Pseudomonas aeruginosa* by natural products-inspired organosulfur compounds. *PloS one*. 2012;7(6):e38492.

10- McDougald D, Rice SA, Kjelleberg S. Bacterial quorum sensing and interference by naturally occurring biomimics. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2007;387(2):445-453.

11- Skindersoe ME, Alhede M, Phipps R, Yang L, Jensen PO, Rasmussen TB, Givskov M. Effects of antibiotics on quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2008;52(10):3648-3663.

12- Bjarnsholt T, Jensen PØ, Jakobsen TH, Phipps R, Nielsen AK, Rybtke MT, Ciofu O. Quorum sensing and virulence of *Pseudomonas aeruginosa* during lung infection of cystic fibrosis patients. *PloS one*. 2010;5(4).

13- Rasmussen TB, Bjarnsholt T, Skindersoe ME, Hentzer M, Kristoffersen P, Kôte M, Givskov M. Screening for quorum-sensing inhibitors (QSI) by use of a novel genetic system, the QSI selector. *Journal of bacteriology*. 2005;187(5):1799-1814.

14- Susilowati H, Murakami K, Yumot H, Amoh T, Hirao K, Hirota K, Miyake Y. Royal jelly inhibits *Pseudomonas aeruginosa* adherence and reduces excessive inflammatory responses in human epithelial cells. *BioMed research international*, 2017.

15- Moreau-Marquis S, O'Toole GA, Stanton BA. Tobramycin and FDA-approved

References

1- Kalia V C. Quorum sensing inhibitors: an overview. *Biotechnology advances*. 2013;31(2):224-245.

2- Moradali MF, Ghods S, Rehm B H. *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle: a paradigm for adaptation, survival, and persistence. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2017;7:39.

3- Klockgether J, Cramer N, Wiehlmann L, Davenport CF, Tümmler B. *Pseudomonas aeruginosa* genomic structure and diversity. *Frontiers in microbiology*. 2011;2:150.

4- Anderl JN, Franklin M J, Stewart P S. Role of antibiotic penetration limitation in *Klebsiella pneumoniae* biofilm resistance to ampicillin and ciprofloxacin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2000;44(7):1818-1824.

5- Jiménez-Gómez P, Pozuelo de Felipe M, Llinares Pinell F, García de los Ríos J. Quorum-sensing in *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella*: Active natural compounds as antagonists. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*. 2007;1:41-51.

6- Kalia VC, Wood TK, Kumar P. Evolution of resistance to quorum-sensing inhibitors. *Microbial ecology*. 2004;68(1):13-23.

7- Pesci EC, Pearson JP, Seed PC, Iglewski B H. Regulation of *las* and *rhl* quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of bacteriology*. 1997;179(10):312-73132.

8- Jacobsen S, Stickler D, Mobley H, Shirliff M. Complicated catheter-associated urinary tract infections due to *Esch-*

- multidrug-tolerant persister cells in response to quorum-sensing signaling molecules. *Journal of bacteriology*. 2010; 192(7):1946-1955.
- 23- Bala A, Kumar R, Harjai K. Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* by azithromycin and its effectiveness in urinary tract infections. *Journal of medical microbiology*. 2011;60(3):300-306.
- 24- Ghafoor A, Hay ID, Rehm BH. Role of exopolysaccharides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and architecture. *Applied and environmental microbiology*. 2011;77(15):5238-5246
- 25- Nguyen D, Joshi-Datar A, Lepine F, Bauerle E, Olakanmi O, Beer K, Wang Y. Active starvation responses mediate antibiotic tolerance in biofilms and nutrient-limited bacteria. *Science*. 2011;334(6058): 982-986.
- 26- Jacobsen S, Stickler D, Mobley H, Shirliff M. Complicated catheter-associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clinical microbiology reviews*. 2008;21(1): 26-59.
- 27- Saviuc C, Cotar AI, Holban A ,Banu O, Grumezescu A, Chifiriuc M. Phenotypic and molecular evaluation of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* virulence patterns in the presence of some essential oils and their major compounds. *Letters in Applied NanoBioScience*. 2013;2(1):91-96.
- 28- O'Loughlin CT, Miller LC, Siryaporn A, Drescher K, Semmelhack MF, Bassler BL. A quorum-sensing inhibitor blocks *Pseudomonas aeruginosa* virulence and biofilm formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013;110(44): 17981-17986.
- iron chelators eliminate *Pseudomonas aeruginosa* biofilms on cystic fibrosis cells. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 2009;41(3):305-313.
- 16- Papareddy P, Kasetty G, Kalle M, Bhongir RK, Mörgelin M, Schmidtchen A, Malmsten M. NLF20: an antimicrobial peptide with therapeutic potential against invasive *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2016;71(1):170-180.
- 17- Istanbulu O, Babauta J, Duc Nguyen H, Beyenal H. Electrochemical biofilm control: mechanism of action. *Biofouling*. 2012;28(8):769-778.
- 18- Sultana ST, Call DR, Beyenal H. Eradication of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms and persister cells using an electrochemical scaffold and enhanced antibiotic susceptibility. *NPJ biofilms and microbiomes*. 2016;2(1):1-8.
- 19- Hay ID, Gatland K, Campisano A, Jordens JZ, Rehm BH. Impact of alginate overproduction on attachment and biofilm architecture of a supermuroid *Pseudomonas aeruginosa* strain. *Applied and environmental microbiology*. 2009;75(18):6022-6025.
- 20- Ma L, Conover M, Lu H, Parsek MR, Bayles K, Wozniak DJ. Assembly and development of the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm matrix. *PLoS Pathogens*. 2009;5(3):e1000354.
- 21- Bjarnsholt T, Jensen PØ, Rasmussen TB, Christophersen L, Calum H, Hentzer M, Eberl L. Garlic blocks quorum sensing and promotes rapid clearing of pulmonary *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Microbiology*. 2005;151(12):3873-3880.
- 22- Möker N, Dean CR, Tao J. *Pseudomonas aeruginosa* increases formation of

- 36- Berrazeg M, Jeannot K, Enguéné VYN, Broutin I, Loeffert S, Fournier D, Plésiat P. Mutations in β -lactamase AmpC increase resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolates to antipseudomonal cephalosporins. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2015;59(10):6248-6255.
- 37- Kumar L, Chhibber S, Kumar R, Kumar M, Harjai K. Zingerone silences quorum sensing and attenuates virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Fitoterapia*. 2015;102:84-95.
- 38- Bouffartigues E, Moscoso JA, Duchesne R, Rosay T, Fito-Boncompagni L, Gicquel G, Brenner-Weiss G. The absence of the *Pseudomonas aeruginosa* OprF protein leads to increased biofilm formation through variation in c-di-GMP level. *Frontiers in microbiology*. 2015;6:630.
- 39- De La Fuente-Núñez C, Reffuveille F, Mansour SC, Reckseidler-Zenteno SL, Hernández D, Brackman G, Hancock RE. D-enantiomeric peptides that eradicate wild-type and multidrug-resistant biofilms and protect against lethal *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Chemistry & biology*. 2015;22(2):196-205.
- 40- Bahar AA, Liu Z, Garafalo M, Kallenbach N, Ren D. Controlling persisters and biofilm cells of Gram-negative bacteria with a new 1, 3, 5-triazine derivative. *Pharmaceuticals*. 2015;8(4):696-710.
- 41- Berditsch M, Jäger T, Stempel N, Schwartz T, Overhage J, Ulrich AS. Synergistic effect of membrane-active peptides polymyxin B and gramicidin S on multidrug-resistant strains and biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2015;59(9):5288-5296.
- 42- Lebeaux D, Leflon-Guibout V, Ghigo JM, Beloin C. In vitro activity of
- 29- Ponsoni K, Raddi MSG, de Almeida DV, Almeida AE, Alécio AC. Effects of liver S9 enzymes on somalargine and solasodine cytotoxicity and mass spectrometric fragmentation. *European Food Research and Technology*. 2013;237(2):179-184.
- 30- Musafir HK, Kuchma SL, Naimie AA, Schwartzman JD, AL-Mathkhury HJF, O'Toole, GA. Investigating the link between imipenem resistance and biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbial ecology*. 2014;68(1):111-120.
- 31- Dosler S, Karaaslan E. Inhibition and destruction of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by antibiotics and antimicrobial peptides. *Peptides*. 2014;62:32-37.
- 32- Kalia VC, Wood TK, Kumar P. Evolution of resistance to quorum-sensing inhibitors. *Microbial ecology*. 2014;68(1):13-23.
- 33- Rahman MRT, Lou Z, Yu F, Wang P, Wang H. Anti-quorum sensing and anti-biofilm activity of *Amomum tsaoko* (*Amomum tsao-ko* Crevost et Lemarie) on foodborne pathogens. *Saudi journal of biological sciences*. 2017;24(2):324-330.
- 34- Boulanger S, Mitchell G, Bouarab K, Marsault É, Cantin A, Frost EH, Malouin F. Bactericidal effect of tomatidine-tobramycin combination against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* is enhanced by interspecific small-molecule interactions. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2015;59(12):7458-7464.
- 35- Sepahi E, Tarighi S, Ahmadi FS, Bagheri A. Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* by two herbal essential oils from Apiaceae family. *Journal of microbiology*. 2015;53(2):176-180.

- 49- Hossain MA, Lee SJ, Park NH, Mechesso AF, Birhanu BT, Kang J, Park SC. Impact of phenolic compounds in the acyl homoserine lactone-mediated quorum sensing regulatory pathways. *Scientific reports*. 2017;7(1):1-16.
- 50- Grassi L, Maisetta G, Esin S, Batoni G. Combination strategies to enhance the efficacy of antimicrobial peptides against bacterial biofilms. *Frontiers in microbiology*. 2017;8:2409.
- 51- Høyland-Kroghsbo NM, Paczkowski J, Mukherjee S, Broniewski J, Westra E, Bondy-Denomy J, Bassler BL. Quorum sensing controls the *Pseudomonas aeruginosa* CRISPR-Cas adaptive immune system. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017;114(1):131-135.
- 52- Paczkowski JE, Mukherjee S, McCready AR, Cong JP, Aquino CJ, Kim H, Bassler BL. Flavonoids suppress *Pseudomonas aeruginosa* virulence through allosteric inhibition of quorum-sensing receptors. *Journal of Biological Chemistry*. 2017;292(10):4064-4076.
- 53- Fong SA, Drilling A, Morales S, Cornet ME, Woodworth BA, Fokkens WJ, Wormald PJ. Activity of bacteriophages in removing biofilms of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from chronic rhinosinusitis patients. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2017;7:418.
- 54- Shah MD, Kharkar PS, Sahu NU, Peerzada Z, Desai KB. Potassium 2-methoxy-4-vinylphenolate: a novel hit exhibiting quorum-sensing inhibition in *Pseudomonas aeruginosa* via LasIR/RhlIR circuitry. *RSC Advances*. 2019;9(69):40228-40239.
- 55- Ahmed SA, Rudden M, Smyth TJ, Dooley JS, Marchant R, Banat IM. Natural quorum sensing inhibitors effectively down-
- gentamicin, vancomycin or amikacin combined with EDTA or l-arginine as lock therapy against a wide spectrum of biofilm-forming clinical strains isolated from catheter-related infections. *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2015;70(6):1704-1712.
- 43- Rudilla H, Fusté E, Cajal Y, Rabanal F, Vinuesa T, Viñas M. Synergistic anti-pseudomonal effects of synthetic peptide AMP38 and carbapenems. *Molecules*. 2016;21(9):1223.
- 44- Field D, Seisling N, Cotter PD, Ross RP, Hill C. Synergistic nisin-polymyxin combinations for the control of *Pseudomonas* biofilm formation. *Frontiers in microbiology*. 2016;7:1713.
- 45- El-Shaer S, Shaaban M, Barwa R, Hassan R. Control of quorum sensing and virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* using phenylalanine arginyl β -naphthylamide. *Journal of medical microbiology*. 2016;65(10):1194-1204.
- 46- Gökalsın B, Sesal NC. Lichen secondary metabolite evernic acid as potential quorum sensing inhibitor against *Pseudomonas aeruginosa*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2016;32(9):150.
- 47- Datta S, Jana D, Maity TR, Samanta A, Banerjee R. Piper betle leaf extract affects the quorum sensing and hence virulence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *3 Biotech*. 2016;6(1):18.
- 48- Abd El-Aziz NK, Abd El-Hamid MI, El-Naenaeey EY. A complex hierarchical quorum-sensing circuitry modulates phenazine gene expression in *Pseudomonas aeruginosa*. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 2017;11(12):919-925.

virulence in drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* recovered from infected burn wounds. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2019;22(5):568.

58- Kamali E, Jamali A, Ardebili A, Ezadi F, Mohebbi A. Evaluation of antimicrobial resistance, biofilm forming potential, and the presence of biofilm-related genes among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Research Notes*. 2020; 13(1):27.

nregulate gene expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors. *Applied microbiology and biotechnology*. 2019;103(8): 3521-3535.

56- Malgaonkar A, Nair M. Quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* mediated by RhlR is regulated by a small RNA PhrD. *Scientific reports*. 2019;9(1):1-11.

57- Ahmed AA, Salih FA. Low concentrations of local honey modulate Exotoxin A expression, and quorum sensing related

A Review of Biofilm Formation and Quorum Sensing in *Pseudomonas Aeruginosa*

Razieh Behzad Mehr¹, Maryam Beigomi², Saeide Saeidi^{*3}

1- Associate Professor, Department of Radiology, School of Medicine, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran

2- Assistant Professor of Nutritional Sciences & Food Technology, School of Medicine, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

3- M.S, Agricultural Biotechnology Institute, University of Zabol, Zabol, Iran

* Corresponding Author: s.saeedi12@yahoo.com

Received: 22/1/2022, Accepted: 15/2/2022

Abstract

Pseudomonas aeruginosa is an opportunistic pathogen and causes 10 to 15% of nosocomial infections. The presence of virulence genes is one of the most important invasive mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* and this issue is of special medical importance. The expression of many *Pseudomonas aeruginosa* pathogenic genes is controlled by a gene system called the Quorum Sensing (QS) system. Quorum sensing is a cell-to-cell communication system using small molecules in single-celled organisms. The present review study was obtained with the help of articles indexed in Magiran and SID Persian scientific databases and Scopus, Google scholar, Ebscohost and Science Direct English databases. The QS system genes are highly abundant among human-derived *Pseudomonas aeruginosa* strains. It is also known as an infectious bacterium with high antibiotic resistance. The results showed that medicinal plants in different dilutions inhibit quorum sensing and biofilm in bacteria.

Keywords: Quorum Sensing, *Pseudomonas Aeruginosa*, Biofilm