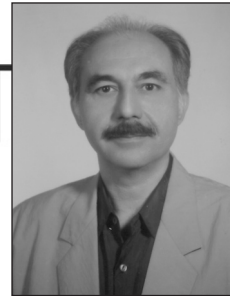


روماتیسم و عفونت‌های تحت بالینی مزمن فعال

(قسمت هفتم)

چگونگی مزمن شدن عفونت‌های باکتریال

بخش چهارم: جوامع باکتریال داخل سلولی



دکتر محمدرضا صادقیان

متخصص بیماری‌های داخلی و روماتولوژیست

Abstract:

Recent studies have indicated, bacterial constituents, as immunogens, can induce and perpetuate synovial inflammations in patients suffering from certain types of rheumatic syndromes.

Since in my personal clinical experiences, I have observed, that suppression of chronic active subclinical infectious processes in many patients (almost all patients who have been monitored for sufficient period of time) with various kinds of rheumatic conditions, have led to regressions of inflammatory processes, therefore the roles of infections in inducing and perpetuating the inflammatory reactions can not be ignored, in these patients.

Thus it would be appropriate to review the underlying mechanisms of chronicities in these infectious processes, such as:

- Infections with L forms bacteria
- Biofilms and persister cells
- Intracellular bacterial communities

چکیده

در سال‌های اخیر، مطالعات متعددی دلالت بر این دارند که قطعاتی از ملکول‌های اجزاء باکتری‌ها (bacterial constituents) به‌عنوان ایمنوژن، در ایجاد و تداوم التهاب مفاصل در بیماران مبتلا به برخی از سندرم‌های روماتیسمی نقش دارند که در مقالات قبلی به تعدادی از آنان اشاره شده است.

از آنجایی که همواره در تجرب با بالینی شخصی مشاهده می‌گردد که متعاقب سرکوب روندهای عفونی تحت بالینی مزمن فعال در بسیاری از بیماران مبتلا به این سندرم‌ها، واکنش‌های التهابی نیز فروکش می‌کنند، نمی‌توان نقش این روندهای عفونی را در پاتوژنز سندرم‌های روماتیسمی نادیده گرفت. بنابراین جا دارد مروری به قرار زیر، بر چگونگی مزمن شدن عفونت‌های باکتریال داشته باشیم:

الف- عفونت‌ها با باکتری‌های ال فرم

ب- بیوفیلم و عفونت‌ها با باکتری‌های سمج

ج- جوامع باکتریال داخل سلولی

احتمال عود عفونت ادراری در خانم‌ها ۶ ماه بعد از اولین عفونت ۲۷-۴۴ درصد است. گاه‌گاه عود عفونت باعث فعال شدن **کائون عفونی سمج** در مخاط مثانه است. در اغلب موارد عفونت توسط انواعی از باکتری‌ها که همواره در فلور میکروبی مدفوع وجود دارند، برقرار می‌شوند. باکتری‌هایی که در عود عفونت‌های ادراری نقش دارند، به نظر می‌رسد به لحاظ فونوتیپی و ژنتیکی کاملاً شبیه اولین عفونت ادراری هستند.

ثابت شده است که UPEC ها به طور کاملاً بی سروصدا و بی علامت، علی‌رغم واکنش‌های قوی دستگاه ایمنی سرشتی باعث عفونت مجاری ادراری می‌شوند. به طوری‌که این باکتری‌ها از طریق ارگانل‌های چسبنده به سطح مخاط مجاری ادراری متصل می‌شوند در میان این ارگانل‌های چسبنده P pili و pili تیپ ۱ بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند.

P pili و pili تیپ ۱ در انتهای دیستال خود دارای ملکول‌های چسبنده (adhesion molecules) هستند و P pili با داشتن PapG adhesin از طریق چسبیدن به گلوبوزاید (globoside)

موجود روی سلول‌های کلیه باعث پیلونفریت می‌شوند.

Pili تیپ ۱، دارای Fim H adhesin است بطوری‌که قابلیت چسبیدن به مانوز را دارد و در مثانه با چسبیدن به رزیلوی مانوزیله یوروپلاکین (Uroplakin) به سلول اپیتلیال سطحی اولین قدم آبشاره وقایعی که اتفاق می‌افتد که باعث تظاهرات یا علائم گوناگون عفونت حاد مجاری ادراری و احتمالاً باعث تداوم وجود UPEC در مجاری ادراری می‌گردد.

عوامل تعیین کننده ویرولانز UPEC

علاوه بر P pili و pili تیپ ۱، UPEC فاکتورهای دیگری تولید می‌کند که به پیشرفت بیماری کمک می‌نمایند برخی از این تعیین کننده‌های ویرولانز روی یکی از چندین جزیره وابسته به پاتوژنیسیتی اختصاصی UPEC قرار دارند و عبارتند از:

۱- انواع دیگر پیلائی

۲- Sat، یکی از توکسین‌های UPEC است که اثر سمی روی مجاری ادراری دارد. انکو بایسون UPEC هایی که Sat تولید می‌کنند با سلول‌های مثانه و کلیه باعث واکنش‌شدن شدید در سیتوپلاسم سلول‌های میزبان می‌گردد و به انسجام اتصالات سلولی آسیب می‌رساند. در موش‌هایی که به عنوان

عفونت‌های ادراری - تناسلی از جمله شایع‌ترین عفونت‌های تحت بالینی مزمن در خانم‌های مبتلا به سندرم‌های روماتیسمی هستند. Gregory G. Anderson و همکاران در مطالعات خود دریافتند که یوروپاتوژنیک ایشریشیاکولی از طریق ورود به داخل سلول‌های سطحی اپیتلیال مخاط مثانه و تشکیل جوامع باکتریال داخل سلولی، مزمن و عود کننده می‌شوند.

G.G. Anderson و همکاران در مقاله‌ای با عنوان زیر که در سال ۲۰۰۴ در مجله *TRENDS in Microbiology* به چاپ رسید، به شرح جزئیات پرداختند که ترجمه آن تقدیم علاقه‌مندان می‌گردد.

Intracellular bacterial communities of uropathogenic *Escherichia coli* in urinary tract pathogenesis

مقدمه:

عفونت‌های مجاری ادراری از جمله شایع‌ترین عفونت‌های باکتریال هستند که تعداد زیادی از افراد جهان به آن مبتلا می‌باشند. اغلب بیماران را خانم‌های جوان سالمی که از نظر جنسی فعال هستند، تشکیل می‌دهند. در ایالات متحده در سال ۱۹۹۵ یازده میلیون نفر حداقل یکبار دچار عفونت ادراری شدند که آنتی‌بیوتیک دریافت کردند و هزینه‌ای معادل ۱/۶ میلیارد دلار جهت تشخیص و درمان دربرداشته بود. شصت درصد خانم‌ها در طول عمر خود عفونت ادراری را تجربه می‌کنند. شایع‌ترین میکروبی که باعث عفونت ادراری می‌شود (*Uropathogenic Escherichia coli* (UPEC) است که ۸۰ درصد موارد را شامل می‌گردد. بقیه موارد باعث سایر باکتری‌های یوروپاتوژن هستند که شایع‌ترین آن‌ها **استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس** است. در بیماران که دچار دیابت یا آسیب نخاع کمری هستند، یا کاتترهای ادراری مصرف می‌کنند و بیماران بستری در بیمارستان‌ها، عامل عفونت ادراری می‌تواند، **کلبسیلا پنومونیه**، **پروتئوس میرابیلیس**، **انتروکوکوس فیکالیس**، **پسودوموناس ایروژینوزا**، **سراشیا مارسستر** و **استرپتوکوکوس** **گروپ B** باشند.

واکنش میزبان نسبت به عفونت با UPEC

سلول‌های مخاط مثانه در مقابله با اثرات سوء UPEC واکنش‌های شدیدی از خود نشان می‌دهند بطوری‌که سلول‌های اپیتلیال سطحی (TLR-4) toll-like receptor 4 را روی ممبران خود ظاهر می‌نمایند و توسط گیرنده‌های CD14، لیپوپلی ساکارید باکتری‌ها را شناسایی می‌کنند و باعث پاسخ ایمنی سرشتی می‌گردد، بطوری‌که سیتوکاین‌های پروانفلاماتوار تولید می‌شوند که موجب انفیلتراسیون شدید نوتروفیل‌ها می‌گردند تا با عفونت مقابله نمایند. نوتروفیل‌ها و سلول‌های اپیتلیال با ترشح مقادیر زیاد نیتریک اکساید و محصولات حاصل از تجزیه آن‌ها اثرات توکسیک را بر باکتری‌ها اعمال می‌کنند. سلول‌های سطحی اپیتلیوم مخاط مثانه بعلت عفونی شدن پوسته پوسته شده و کنده می‌شوند. بدین ترتیب به برطرف شدن عفونت کمک می‌شود، سپس سلول‌های اپیتلیال زیر آن تکثیر یافته و متمایز می‌گردند و جای سلول‌های دفع شده را پر می‌کنند. علی‌رغم دفاع نسبتاً خوب مخاط مثانه در مقابله با عفونت در موش آزمایشگاهی، UPEC ها در مخاط مثانه کلونیزه می‌شوند و تا چندین ماه باقی می‌ماند. به رغم درمان با آنتی‌بیوتیک، بطور دوره‌ای باکتری‌ها از مخزن (reservoir) خارج می‌گردند و وارد ادرار می‌شوند. این حالت در مخاط مثانه انسان هم اتفاق می‌افتد، در عین حال که علائم عفونت ادراری وجود ندارد باکتری‌ها از مخاط مثانه وارد ادرار می‌شود. بنابراین UPEC ها می‌توانند جای پای محکمی برای خود برقرار نمایند و مدت‌ها در مخاط مثانه باقی بمانند.

جوامع باکتریال داخل سلولی (IBCs)

(Intracellular bacterial communities)

اخیراً مشخص شده که UPEC ها پس از یک سری فعل و انفعالات آبشاره‌ای وارد سلول‌های سطحی مخاط مثانه می‌گردند. بطوری‌که در مراحل ابتدایی باکتری‌ها به سلول‌های سطحی مخاط مثانه حمله می‌کنند و به سرعت تکثیر می‌یابند. با رشد، تکثیر و تغییرات فنوتیپیکی چشم‌گیری، باکتری‌ها در داخل سلول‌های فوق، جوامع باکتریال داخل سلولی را تشکیل می‌دهند. طی مراحل به صورت شبه بیو فیلم تکامل پیدا می‌کنند. نهایتاً باکتری‌ها از بیو فیلم جدا می‌شوند و وارد حفره مثانه می‌گردند. این باکتری‌ها به نوبه خود به سلول‌های اپیتلیال

مدل، عفونت ادراری در آنان ایجاد شده است Sat باعث می‌گردد که سیتوپلاسم سلول‌های کلیه آنان دچار واکتولیشن (vacuolation) شوند و تخریب هیستولوژیک شدید در کلیه‌های آنان پدید آید.

۳- انواعی از UPEC ها، پروتئین‌هایی تولید می‌کنند به نام‌های Tsh و Pic که به نظر می‌رسد این نوع باکتری‌ها باعث ایجاد پیلونفریت می‌شوند.

۴- RTX (repeat in toxin) توکسین بنام آلفا-همولیزین (HlyA) که غالباً با اپرون P pilus ارتباط دارد، باعث سوراخ شدن ممبران سلول‌های میزبان می‌شود و نیز باعث نوسانات کلسیم در توبول‌های پروکسیمال در کلیه عفونی شده موش می‌گردد.

۵- cytotoxic necrotizing factor 1 (CNF-1)، در *in vitro* نشان داده شده است که باعث مرگ سلول‌های اپیتلیال مثانه انسان می‌شود و از فاگوسیتوز باکتری توسط پلی مورفونوکلترها ممانعت بعمل می‌آورد.

۶- سیستم‌های حاوی آهن که شامل سیستم‌های aerobactin و Iron است، بقاء باکتری‌ها را در محیط مثانه بیشتر می‌نماید.

۷- بیشتر انواع UPEC دارای کپسول پلی ساکاریدی اسیدی هستند که باکتری‌ها را در مقابل پلی مورفونوکلترها محافظت می‌نماید و مانع فعال شدن کمپلمان می‌گردند.

عوامل تعیین کننده ویروانس UPEC

Factor	
Adhesins	P pili Type 1 Ppili S Pili Dr Adhesins
Toxin	HlyA CNF-1 Sat
Siderophores	Aerobaetin IroN IreA
proteases	pic Tsh
other	Capsule LPS

رسش مراحل ابتدایی IBC به مرحله میانی است که بسیاری از خصوصیات بیوفیلم را دارند.

بیوفیلم عبار تست از تجمع باکتری‌ها، اتصال آنها به یکدیگر یا به برخی از سطوح که خصوصیات اجتماعی پیدا می‌کنند اولین واقعه در تشکیل بیوفیلم اتصال باکتری‌های شناور (planktonic bacteria) به سطوح و تشکیل توده کوچکی است بنام میکروکلونی‌ها. به تدریج که میکروکلونی‌ها رشد می‌کنند و به مرحله رسش یا بلوغ می‌رسند، باکتری‌ها از نظر فنوتیپی تغییرات واضحی پیدا می‌کنند، متمایز می‌گردند و توسط پلی‌ساکارید خارج سلولی پوشانیده می‌شوند. این تغییرات منجر به ایجاد یک ساختمان سه بعدی بزرگی می‌گردد. در نقاط مختلف این مجموعه، زیر مجموعه‌ای از باکتری‌ها که از نظر ژنتیک تغییراتی در آنها ایجاد می‌شود و نوعی تقسیم کار در آنها پدید می‌آید که در مجموع به نفع تمام جامعه میکروبی است.

در سلول‌های مخاط مثانه به تدریج که بیوفیلم‌ها مسن‌تر می‌شوند زیر مجموعه‌ای از باکتری‌ها از بیوفیلم جدا می‌شوند و به وضعیت پلانکتونیک رجعت می‌نمایند، به طوری که این باکتری‌ها قادرند در نقاط دیگر مخاط جای پای محکمی برای خود ایجاد کنند و دوره‌های جدیدی را آغاز نمایند.

به دلایل زیر مقاومت باکتری‌ها در بیوفیلم نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها زیاد است:

- ۱- عدم نفوذ آنتی‌بیوتیک‌ها به ماتریکس بیوفیلم
- ۲- رشد کند باکتری‌ها در بیوفیلم
- ۳- در وضعیت بیوفیلم باکتری‌ها تغییرات فیزیولوژیکی می‌یابند که قادرند موادی بسازند که مانع فعالیت آنتی‌بیوتیک‌ها شوند.

باکتری‌های موجود در بیوفیلم بعلت مخفی شدن در ماتریکس بیوفیلم از دسترس دستگاه ایمنی نیز در امان هستند و آنتی‌بادی‌ها نمی‌توانند آنان را اپسونیزه کنند. تغییرات فنوتیپیک و تمایز آنان هم ممکن است مقاومت آنها را در مقابل نوتروفیل‌ها و ملکول‌های موثر دستگاه ایمنی بیشتر کند. بنابراین مقاومت باکتری‌ها در *in vivo* در مقابل دستگاه ایمنی و آنتی‌بیوتیک‌ها در بیوفیلم بیشتر است و بقای آنها طولانی‌تر می‌باشد، به عنوان مثال: **آندوکاردیت در یچه‌های قلب، اوتیت میانی، پروستاتیت مزمن باکتریال، پریدونیتیت، و بیماری**

دیگر متصل می‌شوند و یک دوره جدید تشکیل باکتری‌های داخل سلولی را آغاز می‌کنند. در شرایطی که این باکتری‌ها داخل سلول قرار گیرند به علت عدم دستیابی دستگاه ایمنی، عفونت مخاط مثانه تداوم می‌یابد.

الف- اتصال و مرحله ابتدایی تشکیل IBC (Binding and early IBC formation)

پیلای تیپ ۱ از طریق اده‌سین FimH که در انتهای دیستال پیلای قرار دارند، از طریق یوروپلاکین مانوزیلیند به اپیتلیوم متصل می‌گردند. (یوروپلاکین [Uroplakin] ماده‌ای است که با پوشاندن سلول‌های سطحی مثانه مانع آسیب دیدن مخاط مثانه در اثر تماس با ملکول‌های سمی غلیظ شده ادرار می‌شود). بعد از اتصال UPEC به سلول‌های مخاط مثانه باکتری‌ها به سرعت وارد سلول‌های اپیتلیال می‌شوند. این وقایع ۱-۳ ساعت بعد از تلقیح باکتری‌ها به داخل مخاط مثانه موش اتفاق می‌افتد. باکتری‌ها بعد از ورود به داخل سلول، به سرعت رشد می‌کنند، تقسیم می‌گردند و توده کوچکی از باکتری‌ها را تشکیل می‌دهند، که به این مرحله early IBCs اطلاق می‌گردد. در واقع سلول‌های اپیتلیال به کارخانه‌ای جهت تولید باکتری تبدیل می‌شوند. اجتماع باکتری‌ها در داخل سلول باعث می‌گردد که در مقابل اثرات آنتی‌بیوتیک‌ها و دستگاه ایمنی مصون بمانند. بدین ترتیب باکتری‌ها در داخل سلول پنهان می‌شوند و بقاء می‌یابند.

در این مرحله (early IBC) سرعت تکثیر باکتری‌ها در سیتوپلاسم سلول‌های میزبان در ۶-۸ ساعت اول زیاد است بطوری که هر ۳۵-۳۰ دقیقه تعدادشان ۲ برابر می‌گردد و به شکل باسیل هستند به طول ۳ میکرومتر.

ب- مراحل میانی و رسش IBC (IBC maturation and middle IBCs)

بین ۶-۸ ساعت پس از مرحله اول تغییرات فنوتیپیکی واضحی در باکتری‌های جامعه داخل سلولی پدید می‌آید، زمان ۲ برابر شدن باکتری‌ها به بیش از ۶۰ دقیقه می‌رسد و طول باکتری‌ها کوتاه می‌گردد و به ۰/۷ میکرومتر می‌رسد. در این زمان توده‌های بی‌شکل باکتری‌ها متراکم‌تر می‌گردند، به طوری که در داخل سلول تبدیل به توده ارگانیزه کروی شکلی می‌شوند. این حالت معرف

را اشغال می‌نمایند. سطح این podها توسط یوروپلاکین نفوذناپذیر پوشانید شده است. باکتری‌های داخل podها شدیداً ارگانیزه هستند که توسط فیبرهای بیشماری که منبعث از سطح باکتری‌ها هستند، احاطه شده‌اند. این فیبرها در تماس وسیع با ماتریکس، برای هر یک از باکتری‌ها یک اتاقک مجزا در IBC ایجاد می‌کنند. پلی‌ساکاریدها در تمام دوره مرحله میانی IBC وجود دارند.

در وضعیت بیوفیلم داخل سلولی میکروب‌ها از گزند دستگاه ایمنی در امان هستند. پلی‌مورفونوکلترها که به مثانه فراخوانده می‌شوند نیز عمدتاً نمی‌توانند به این میکروب‌ها دسترسی پیدا کنند. پوسته یورپلاکین نیز مانع دیگری برای پلی‌مورفونوکلترها در دسترسی به این میکروب‌ها است. ساختمان podها به گونه‌ای است که آنتی‌بیوتیک‌ها هم نمی‌توانند به این باکتری‌ها آسیبی برسانند. ماتریکسی که باکتری‌ها را احاطه کرده‌اند، باکتری‌ها را در مقابل دستگاه ایمنی و آنتی‌بیوتیک‌ها محفوظ نگه می‌دارند. جالب این است که در *in vitro* هم در مرحله بیوفیلم UPEC‌ها علی‌رغم رسیدن آنتی‌بیوتیک‌ها به آنها مقاوم هستند. این یافته بیانگر این است که باکتری‌ها در بیوفیلم بعلت داشتن وضعیت خاص فیزیولوژیکی بقاء بیشتری دارند. در این شرایط UPEC توانایی تکثیر زیاد را دارند و در عین حال تحت تاثیر عوامل دفاعی بدن نیز قرار نمی‌گیرند و فعالیت‌های آنها مختل نمی‌گردد.

ج- مرحله نهایی رشد IBCs و سیلان

Late IBCs and fluxing

۱۲ ساعت بعد از تلقیح، باکتری‌های حاشیه‌ای بیوفیلم داخل سلولی از گروه باکتری‌های بیوفیلم جدا شده و به صورت مورفولوژی عادی باسیل متمایز می‌گردند، با طول متوسط ۲ میکرومتر. در این مرحله از تکامل، باکتری‌ها بسیار متحرک هستند. این باکتری‌های متحرک به جدار سلول نزدیک شده و از آن عبور می‌نمایند و وارد حفره مثانه می‌گردند (fluxing) و روی اپیتلیوم منتشر می‌شوند. برخی اوقات تمام باکتری‌های بیوفیلم داخل سلولی یک‌جا از سلول خارج می‌شوند ولی ممکن است خروج باکتری‌ها از سلول ابتدا با چند باکتری

سیستیک فایبروزیس.

بیوفیلم‌های باکتریال همچنان در ابزارهای پزشکی ثابت مانند موارد زیر توصیف شده‌اند:
روی دریچه‌های مصنوعی قلب، کاتاترهای وریدهای مرکزی، عدسی‌های تماسی، ابزارهای داخل رحمی، کاتاترهای ادراری و لوله‌های آب یونیت‌های دندان پزشکی.
وجود بیوفیلم در بیماری‌ها و ابزارهای پزشکی باعث بروز علایمی می‌گردند که به درمان آنتی‌بیوتیک‌ها پاسخ نمی‌دهند.

عوامل موثر در تشکیل بیوفیلم ایشیریشاکولی:

۱- پیلائی تیپ ۱، که باعث اتصال باکتری به سطوح می‌شود.
۲- فلاژیلا، که باعث اتصال اولیه و خفیف باکتری به سطوح می‌گردد و موجب گسترش بیوفیلم روی آن سطوح می‌شود، نیز کمک به شکل‌گیری بیوفیلم می‌نماید.

۳- آنتی ژن ۴۳، یکی پروتئین‌های اتوتانسپورتر غشاء خارجی باکتری است که به ایجاد اتواگرگاسیون باکتری‌ها و واکنش متقابل اینترباکتریال در جریان تشکیل میکروکلونی‌ها کمک می‌کند.

۴- ترشح فیبرهای آمیلوئید (curli) از باکتری‌ها و سایر فاکتورهای متابولیک از قبیل ترشح کولانیک اسید

۵- کولانیک اسید (colanic acid) متعاقب اتصال باکتری‌ها و شکل‌گیری میکروکلونی‌ها کولانیک اسید از باکتری‌ها ترشح می‌شود که نوعی آگروپلی‌ساکارید است و ماتریکس پلی‌ساکارید بیوفیلم‌ها را می‌سازد.

تشکیلات شگفت‌آور و ساختاری که توسط UPEC در مراحل میانی IBC ایجاد می‌شود یادآور بیوفیلم باکتریال است. در مراحل پیشرفته‌تر middle IBCs توده باکتریال به جدار سلول‌های اپیتلیال فشار وارد می‌کند و باعث بوجود آمدن برآمدگی pod like در سلول‌های مخاط مثانه می‌گردند. در مراحل میانی IBC باکتری‌ها با تشکیل توده‌ای کروی در سیتوپلاسم سلول‌های اپیتلیال بیشتر فضای داخل سلول

سلول‌های اپیتلیال علت پدید آمدن دوره‌ای تعداد زیادی میکرو ارگانسیم در ادرار است.

اثرات بالینی Clinical impact

کشف آبشاره تکامل IBCs حاکی از آن است که UPEC‌ها قادراند از سدهای دفاعی ایمنی سرشتی عبور کنند. پلی مورفونوکلئرها می‌توانند باکتری‌های خارج سلولی را به راحتی از بین ببرند ولی با تشکیل IBCs در داخل سلول‌های سطحی اپیتلیوم مثانه باکتری‌ها بقاء می‌یابند. IBCs این امکان را بوجود می‌آورد که UPEC‌ها در مقابل حملات بی‌امان دستگاه ایمنی مصون بمانند. در این پناهگاه باکتری‌ها می‌توانند به راحتی تکثیر یافته و مجددا وارد ادرار شوند. بدین ترتیب مخاط مثانه بطور مزمن عفونی می‌شود و مخزن مزمن باکتریال ایجاد می‌گردد. ولی ممکن است راه‌های دیگری جهت مزمن شدن عفونت وجود داشته باشد.

توصیف چگونگی بوجود آمدن IBC از طریق تجارب روی مدل موش (با روش‌های زیر) صورت گرفته است ولی در انسان هم، اتصال، حمله و تکثیر UPEC در سلول‌های اپیتلیوم در *in vitro* گزارش شده است.

پا نوشت

روش‌های بکارگرفته شده در این مطالعه:

Scanning and transmission electron microscopy, immunohistochemistry and time-lapse videomicroscopy.

For videomicroscopy, mouse bladder infected with green fluorescence protein-expressing UPEC were stretched in an incubation chamber and placed in a epifluorescence microscope.

Images were captured every 30 seconds to two minutes, and multiple overlapping time frames were examined to piece together a timeline of UTI progression.

شروع شود. به تدریج که انسجام جدار سلول کمتر می‌شود، باکتری‌های باقی مانده یک‌جا خارج می‌گردند. با در نظر گرفتن حجم IBCs رسیده (بالغ) و به نظر می‌رسد سلول‌های عفونی شده حداکثر حاوی ۱۰^۵ میکروارگانسیم هستند. با هر بار پاره شدن یا سوراخ شدن جدار سلول‌های حاوی IBC، صدها، هزاران و یا میلیون‌ها UPEC وارد مثانه می‌گردد. مکررا مشاهده می‌گردد که برخی از باکتری‌ها به صورت فیلامان هستند، به طول ۷۰ میکرو متر. مکانیسم و هدف از فیلامانتاسیون مشخص نیست. پلی مورفونوکلئرها اثر کمی بر فیلامان‌ها دارند. بدین ترتیب UPEC‌ها مدت‌های طولانی در جدار مثانه ملتهب باقی می‌مانند تا مجدداً به اپیتلیوم متصل گردند.

تداوم وجود UPEC در مثانه

UPEC Persistence in the bladder

دوره دوم تشکیل IBC موقعی به وقوع می‌پیوندد که باکتری‌های آزاد شده به سلول‌های سطحی به چسبند و به داخل آنها نفوذ کنند. در این دور روند فعل و انفعالات میکروبی کندتر است، به طوری که زمان ۲ برابر شدن ۲ برابر می‌گردد و به ۶۰ دقیقه می‌رسد. در فواصل زمانی بین ۲ دوره توده‌های باکتریال داخل سلولی به حالت خاموش به صورت رزروآر یا مخزن در مخاط مثانه باقی می‌مانند. در این مرحله که سلول‌های اپیتلیوم حاوی باکتری‌ها هستند، علی‌رغم کوچکتز بودن از حد طبیعی به ظاهر سالم به نظر می‌رسند. این سلول‌ها از متمایز شدن سلول‌های زیر اپیتلیوم متعاقب پوسته پوسته شدن سلول‌های اپیتلیوم بوجود می‌آیند. به تدریج که روند عفونی پیشرفت می‌کند تعداد بیشتری UPEC آزاد می‌شود و سلول‌های زیر اپیتلیوم را در جریان پوسته پوسته شدن سلول‌های سطحی آلوده می‌کنند. تاکنون IBCs در سلول‌های زیر سلول‌های سطحی مشاهده نشده‌اند. علت این حالت را به علت تفاوت‌های فیزیولوژیک بین سلول‌های سطحی و عمقی دانسته‌اند. در جریان وضعیت رزروآر فعل و انفعالی از طرف بدن یا باکتری‌ها به وقوع نمی‌پیوندد. در این شرایط UPEC‌ها می‌توانند ماه‌ها بعد از عفونت اولیه در مثانه بقاء داشته باشند. تصور می‌شود که فعالیت مجدد UPEC از حالت رزروآر غیر فعال، متعاقب تکثیر در داخل