Archive of SID



# بررسی اثر ضد قارچی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و تأثیر بر مهار تولید جرم تیوب در جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس

نکیسا سهرابی‌حق‌دوست[۱]، تقی زهرایی‌صالحی[۲]، عقیل شریف‌زاده[۱]، علیرضا خسروی*[۱]


## چکیده

کاندیدا آلبیکنس مخمری فرصت‌طلب می‌باشد که در افراد مستعد از قبیل مصرف‌کنندگان آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف ایجاد عفونت می‌کند. افزایش روز افزون گزارش‌های مبنی بر بروز مقاومت سویه‌های کاندیدا نسبت به عوامل ضد قارچی معمول، به یک نگرانی بهداشتی تبدیل شده است. امروزه مشخص‌شده که باکتری‌های اسید لاکتیک می‌توانند ترکیبات ضد میکروبی با قابلیت مهار رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا تولید کنند. در مطالعه حاضر اثر ضد قارچی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و تأثیر بر مهار تولید جرم تیوب در جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس مقاوم به فلوکونازول با منشاء ضایعات دهانی، واژینال و ناخن مورد بررسی قرار گرفت. کلیه جدایه های بالینی مورد مطالعه از گنجینه قارچی مرکز تحقیقات قارچ شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه گردید. در این مطالعه اثر ضد قارچی سوپرناتانت‌های اسیدی و خنثی لاکتوباسیلوس پلانتاروم با استفاده از روش آگار دایلوشن مورد بررسی قرار گرفت. اثر سوپرناتانت‌ها (اسیدی و خنثی) بر روی تولید جرم تیوب در جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس همراه با شاهد (بدون تیمار) با دو مرتبه تکرار در محیط مایع در زمان‌های ۱، ۲ و ۳ ساعت انکوباسیون بررسی گردید. میانگین میزان ژرمیناسیون جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس ناخن، واژن و دهان تیمار شده با سوپرناتانت اسیدی به ترتیب ۰/۸۷±۳/۴۸، ۰ و ۰ بود. میزان ژرمیناسیون جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس تیمار شده با سوپرناتانت اسیدی در مقایسه با گروه شاهد (بدون تیمار) به‌طور کاملاً معناداری کاهش پیدا کرد. سوپرناتانت اسیدی نسبت به سوپرناتانت خنثی لاکتوباسیلوس پلانتاروم، دارای اثر ضد قارچی بسیار قابل‌توجهی علیه کاندیدا آلبیکنس می‌باشد. بنابراین، استفاده از لاکتوباسیلوس پلانتاروم جهت پیشگیری و درمان عفونت‌های ناشی از کاندیدا آلبیکنس توصیه می‌شود.


***واژگان کلیدی:*** *کاندیدا آلبیکنس، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، اثر ضد قارچی، جرم تیوب.*

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱/۲۹

## مقدمه

کاندیدا آلبیکنس (*Candida albicans*) ارگانیسمی پلی‌مورفیسم می‌باشد که به‌صورت مخمر، سودوهایف و هایف بلند تغییر شکل پیدا می‌کند. این ارگانیسم به‌طور معمول در بافت‌های مخاطی (از قبیل دهان، واژن و دستگاه گوارش)، پوست، ناخن انسان و سایر حیوانات کلونیزه می‌شود (۱۰). با این وجود کاندیدا به‌عنوان یک مخمر فرصت‌طلب در افراد مستعد از قبیل مبتلایان به ایدز و مصرف‌کنندگان آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف و همچنین افرادی (۱۱ و ۲). کاندیدیازیس یکی از مهمترین و شایع‌ترین عفونت‌های که پیوند عضو شده‌اند، ایجاد عفونت می‌کند قارچ فرصت‌طلب در انسان که به‌وسیله برخی گونه‌های مخمری کاندیدا به‌ویژه کاندیدا آلبیکنس ایجاد می‌شود. در سال‌های اخیر گزارش‌های متعددی مبنی بر شکست درمانی مبتلایان به عفونت‌های ناشی از کاندیدا آلبیکنس ارائه شده است (۱۸ و ۸).

افزایش روز افزون گزارش‌های مبنی بر بروز مقاومت سویه‌های کاندیدا نسبت به عوامل ضد قارچی معمول، امروزه به‌عنوان یک نگرانی بالقوه بهداشتی در نظر گرفته می‌شود (۱۰). استفاده از بسیاری از داروهای ضد قارچی متداول برای درمان انواع عفونت‌های ناشی از کاندیدا آلبیکنس مشکلات متعددی از جمله عوارض جانبی نامطلوب، توسعه سریع مقاومت دارویی و عدم کارایی در برابر گونه‌های کاندیدا به همراه دارد. از این رو، نیاز به درمان ضد قارچی جایگزین بیش از پیش احساس می‌شود (۷ و ٦). ترکیبات طبیعی با فعالیت ضد ویرولانسی ممکن است تولید فاکتورهای ویرولانس و مقاومت به داروها را در دوزهای پایین کاهش دهند (٤).

باکتری‌های اسید لاکتیک(Lactic acid bacteria [LAB])، گروهی از باکتری‌های گرم مثبت، بدون اسپور، کوکسی یا باسیل‌هایی هستند که اسیدلاکتیک را به عنوان محصول نهایی تخمیر کربوهیدرات‌ها تولید می‌کنند(١٦). اکثر میکروارگانیسم‌های

* ۱- مرکز تحقیقات قارچ شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران khosravi@ut.ac.ir
۲- دپارتمان میکروبیولوژی و ایمونولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.



www.SID.ir

Archive of SID



مورد استفاده به عنوان پروبیوتیک متعلق به باکتری‌های اسید لاکتیک و بیفیدوباکتریوم‌ها هستند (۵). باکتری‌های اسید لاکتیک ترکیبات ضد میکروبی مانند اسیدهای آلی (اسیدلاکتیک و اسید استیک)، دی استیل، استون، هیدروژن پراکسید، روتروسایکلین، پپتیدهای ضد قارچی و باکتریوسین تولید می‌کنند. از جمله باکتری‌های اسید لاکتیک می‌توان به لاکتوباسیلوس پلانتاروم اشاره نمود. فنیل لاکتیک اسید و همچنین ترکیب دی پپتید Cyclo (-L-Leu-L-Pro) از جمله ترکیبات ضد قارچی جداشده از این باکتری می‌باشد (۱۲).

عفونت کاندیدایی یکی از رایج‌ترین عفونت‌های انسانی بوده و امروزه در بیشتر موارد عامل عفونت در اثر گونه‌های مقاوم به دارو ایجاد می‌شود و بدین سبب یافتن درمان‌های جایگزین جهت حذف ایجاد مقاومت، عوارض جانبی مصرف داروهای شیمیایی و سنتتیک و جلوگیری از عودهای مکرر عفونت ضروری به نظر می‌رسد (۱۹ و ۵). از این رو، در مطالعه حاضر اثر ضد قارچی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و تأثیر بر مهار تولید جرم تیوب در جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش کار

### *جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس*

تعداد ۳۸ جدایه کاندیدا آلبیکنس مقاوم به فلوکونازول شامل جدایه‌های جداشده از ضایعات دهانی (۱۵ جدایه)، واژن (۱۵ جدایه) و ناخن (۸ جدایه) بیماران، و سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس ATCC 90028 به عنوان کنترل از. مرکز قارچ‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه گردید.

### اثر ضد قارچی

سویه لاکتوباسیلوس پلانتاروم (PTCC 1058) از بخش باکتری شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه گردید. سپس باکتری مورد مطالعه بر روی محیط (de Man, Rogosa and MRS agar Sharpe) (Merck Co., Germany) به مدت ۴۸ ساعت در دمای $37^{oC}$ کشت داده شد. مایع رویی فاقد سلول با کشت باکتری در محیط MRS broth (Merck Co., Germany) و سانتریفوژ با دور g × ۱۱۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه در دمای $4^{oC}$ به‌منظور حذف سلول‌های باکتریایی تهیه گردید. بخشی از این مایع رویی با همان pH اسیدی باقی ماند و بخشی از آن با استفاده از NaOH ۵ mol/L به‌منظور حذف اثر اسیدهای آلی تولیدشده خنثی (pH=۵ /۵ ) گردید. سپس مایع رویی با استفاده از فیلتر ۰/۴۵ میکرون استریل شدند(۱۷).

در این مطالعه اثر ضد قارچی مایع رویی اسیدی و خنثی باکتری با استفاده از روش انتشار چاهک (Well Diffusion Agar) مورد بررسی قرار گرفت. جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس روی محیط سابورو دکستروز آگار به مدت ۲۴ ساعت و در دمای $37^{oC}$ کشت داده شد. سوسپانسیون جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس ($1\times10^{6}$ سلول در میلی‌لیتر) با استفاده از سواب استریل به محیط سابورو دکستروز آگار (Merck Co., Germany) تلقیح گردید. سپس چاهک‌هایی به قطر ۸ میلی‌متر در آگار ایجاد و ۱۰۰ میکرولیتر از مایع رویی به چاهک‌ها اضافه گردید. پس از انکوباسیون پلیت‌ها در دمای $37^{oC}$ به مدت یک شب، هاله عدم رشد (میلی‌متر) اندازه‌گیری گردید(۱۷). فعالیت ضد قارچی هر یک از مایع رویی علیه جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس با استفاده از فرمول زیر تعیین گردید:

$$FI\ (\%) = (IR / GR) \times 100$$

FI= Fungal Inhibition (مهار قارچی)

IR= Inhibition Radius (شعاع مهاری)

GR= Growth Radius (شعاع رشد)

### اثر بر تولید جرم تیوب

جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس روی محیط سابوراد گلوکز آگار (Merck Co., Germany) در دمای $30^{oC}$ کشت داده شد. استاندارد تلقیحی برای تولید جرم تیوب با کشت کلنی تک کاندیدا آلبیکنس در محیط YNB (۰/۶۷٪ yeast nitrogen, amino acids ,base w/o ۲٪ dextrose) در دمای $27^{oC}$ به مدت ۱۸ ساعت متناسب با مرحله سکون رشد، تهیه گردید. سلول‌ها توسط سانتریفوژ جمع‌آوری و دو مرتبه با PBS (pH= ۷/۲)



www.SID.ir

Archive of SID



شستشو داده شدند و سپس به میزان $۱\times۱۰^{۷}$ سلول در میلی‌لیتر رقیق گردیدند. محیط RPMI ۱٦٤۰ (Roswell park memorial institute medium) همراه با ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS, Jahad Daneshgahi, Iran) برای تولید جرم تیوب (GTF [Germ Tube Formation]) استفاده شد(۲۱).

در این مطالعه اثر مایع رویی اسیدی و خنثی بر روی تولید جرم تیوب در جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس همراه با شاهد (بدون تیمار) با دو مرتبه تکرار در محیط مایع در زمان‌های ۱، ۲ و ۳ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور سوسپانسیون استاندارد جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس در محیط RPMI ۱٦٤۰ همراه با ۱۰ درصد FBS با و بدون مایع رویی اسیدی و خنثی باکتری در انکوباتور شیکردار (۲۵۰ rpm) در دمای $۳۷^{o}C$ انکوبه گردید. سپس تولید جرم تیوب و شمارش سلول‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری (× magnification, ZEISS primo Star, ٤۰۰Germany) و لام نئوبار مورد بررسی قرار گرفت. درصد مهار ژرمیناسیون (GRP [Germination Reduction Percent]) با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید. علاوه بر این به‌منظور بررسی مورفولوژی کلنی‌های کاندیدا آلبیکنس پس از مواجه با مایع رویی اسیدی و خنثی باکتری بر روی محیط جامد، ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون‌های جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس با و بدون مایع رویی اسیدی و خنثی کشت داده‌شده فوق بر روی محیط Yeast extract peptone dextrose agar medium (Merck Co., Germany)(YPD) حاوی ۱۰ درصد FBS به‌صورت لکه‌ای کشت داده شد(۲۱).

GRP = GTF% control – GTF% test × 100.

GRP = Germination Reduction Percent (درصد کاهش ژرمیناسیون)

GTF= Germ Tube Formation (تولید جرم تیوب)

### آنالیز آماری

در این مطالعه اغلب معیارها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار ارزیابی گردید. رابطه معنادار متغیرها با استفاده از تست One Way ANOVA و نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ تعیین شد. P-Value کمتر از ۰/۰۵ به‌عنوان رابطه معنادار در نظر گرفته شد.

## نتایج

### اثر ضد قارچی

در مطالعه حاضر اثر ضد قارچی مایع رویی اسیدی و خنثی لاکتوباسیلوس پلانتاروم با استفاده از روش انتشار چاهک (Well Diffusion Agar) مورد بررسی قرار گرفت و میزان فعالیت ضد قارچی (FI) آن‌ها تعیین گردید. میانگین درصد فعالیت ضد قارچی جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس جداشده از ناخن، واژن و دهان تحت تیمار با مایع رویی اسیدی باکتری به ترتیب ٤٦/٥±٤/٥٥، ٤٨±٦/٨٢ و ٤٨/٣±٥/٢٩ بود و اختلاف معنی‌داری بین میانگین درصد FI جدایه‌های مختلف کاندیدا آلبیکنس تیمار شده مایع رویی اسیدی مشاهده نگردید (P=۰/۷۵). علاوه بر این میانگین درصد FI جدایه‌های ناخن، واژن و دهان تحت تیمار با مایع رویی خنثی به ترتیب ۲۹/۸۸±۲/٤۲، ۲۹/۳٦±۲/۹۱ و ۳۱/۲٦±۲/۷۳ بود که اختلاف معنی‌داری بین میانگین FI جدایه‌های مختلف کاندیدا آلبیکنس تیمار شده مایع رویی خنثی وجود نداشت (P = ۰/۱٦٦). با این وجود بین میانگین درصد FI جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس ناخن، واژن و دهان که با مایع رویی اسیدی و خنثی لاکتوباسیلوس پلانتاروم تیمار شده بودند، اختلاف معنی‌دار قابل‌توجهی وجود داشت و اثر ضد قارچی مایع رویی اسیدی به‌طور معناداری نسبت به مایع رویی خنثی بیشتر بود (P=۰/۰۰۰) (جدول ۱).

جدول ۱- فعالیت ضد قارچی مایع رویی لاکتوباسیلوس پلانتاروم علیه جدایه‌های مختلف کاندیدا آلبیکنس برحسب میانگین درصد FI.

| کاندیدا آلبیکنس | مایع رویی خنثی | مایع رویی اسیدی | P-Value |
|---|---|---|---|
| ناخن | ۲۹/۸۸±۲/٤۲ | ٤٦/٥±٤/٥٥ | ۰/۰۰۰ |
| واژن | ۲۹/۳٦±۲/۹۱ | ٤٨±٦/٨٢ | |
| دهان | ۳۱/۲٦±۲/۷۳ | ٤٨/٣±٥/٢٩ | |
| P-Value | ۰/۱٦٦ | ۰/۷۵ | |

FI: Fungal Inhibition



www.SID.ir

Archive of SID

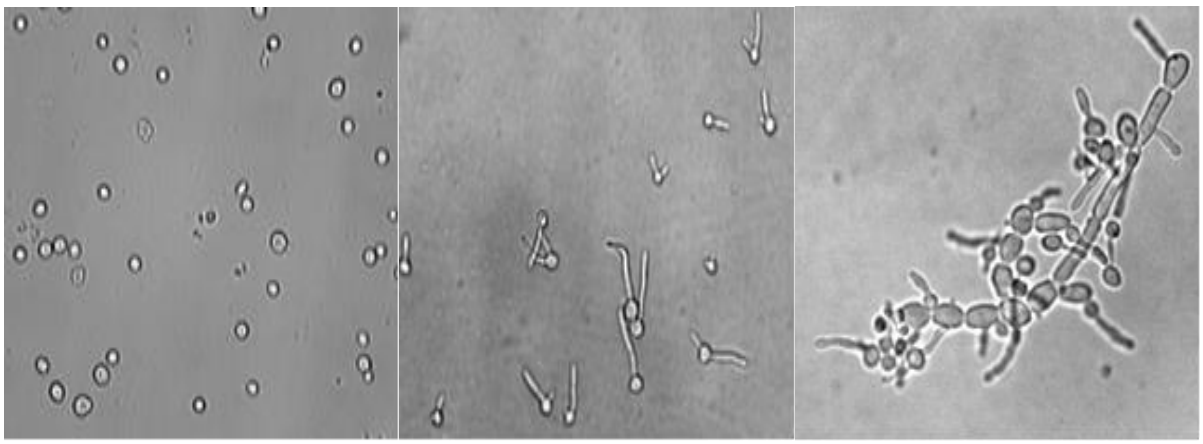


**اثر بر تولید جرم تیوب**

در مطالعه حاضر میزان ژرمیناسیون (GTF) جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس جداشده از ناخن، دهان و واژن بعد از ۱، ۲ و ۳ ساعت انکوباسیون اندازه‌گیری شد. میانگین میزان ژرمیناسیون جدایه‌های ناخن، واژن و دهان در ساعت ۱ به ترتیب ۱۶/۹۲±۶۴/۴۲، ۱۲/۱۲±۴۳/۱۶ و ۱۴/۱۴±۴۱/۶۶؛ در ساعت ۲ به ترتیب ۱۴/۱۱± ۸۴/۶۸، ۱۲/۵۱±۷۸/۴۴ و ۱۴/۳۶±۷۶/۱۸؛ و در ساعت ۳ به ترتیب ۱/۴۹±۹۹/۵، ۰± ۱۰۰ و ۴/۰۳ ±۹۸/۷۳ گزارش گردید (نمودار ۱). آنالیز آماری نشان داد که میزان ژرمیناسیون در هر یک از گروه‌های جدایه‌های ناخن، واژن و دهان با افزایش زمان به‌طور معناداری افزایش پیدا می‌کند (P =۰/۰۰۰).

میانگین میزان ژرمیناسیون جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس ناخن، واژن و دهان تیمار شده با مایع رویی اسیدی لاکتوباسیلوس پلانتاروم پس از ۳ ساعت انکوباسیون به ترتیب ۰/۸۷±۳/۴۸، ۰ و ۰ بود (نمودار ۲). در این مطالعه میزان ژرمیناسیون جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس ناخن، واژن و دهان تیمار شده با مایع رویی اسیدی در مقایسه با گروه شاهد (بدون تیمار) در ساعت ۳ انکوباسیون به‌طور کاملاً معناداری کاهش پیدا کرد (P =۰/۰۰۰). علاوه بر این میانگین میزان ژرمیناسیون جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس ناخن، واژن و دهان تیمار شده با مایع رویی خنثی لاکتوباسیلوس پلانتاروم پس از ۳ ساعت انکوباسیون به ترتیب ۰±۱۰۰، ۶/۰۷±۹۵/۵۷ و ۴/۸±۹۶/۸۴ گزارش شد که در مقایسه با گروه کنترل (بدون تیمار) اختلاف معناداری وجود نداشت. به‌طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که مایع رویی اسیدی لاکتوباسیلوس پلانتاروم نسبت به مایع رویی خنثی به‌طور کاملاً معناداری ژرمیناسیون جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس را کاهش می‌دهد(P =۰/۰۰۰).

همچنین در این مطالعه مورفولوژی کلنی‌های کاندیدا آلبیکنس پس از مواجه با مایع رویی اسیدی و خنثی باکتری بر روی محیط جامد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مایع رویی اسیدی لاکتوباسیلوس پلانتاروم نسبت به مایع رویی خنثی به طور قابل توجهی ژرمیناسیون کاندیدا آلبیکنس را مهار می‌کند (نگاره ۱).



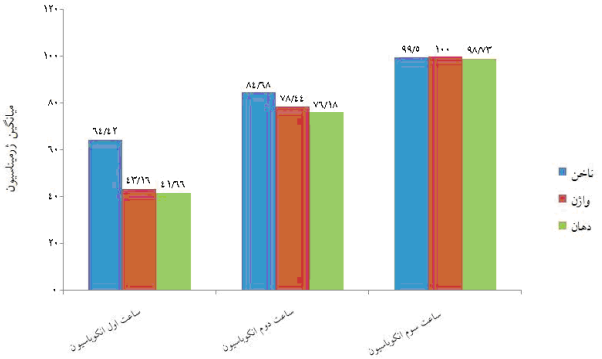
نگاره ۱ـ تصویر ریزبینی ژرمیناسیون کاندیدا آلبیکنس در محیط RPMI حاوی ۱۰٪ FBS. الف) قبل از تیمار با مایع رویی لاکتوباسیلوس پلانتاروم، ب) پس از تیمار با مایع رویی خنثی، ج) پس از تیمار با مایع رویی اسیدی.



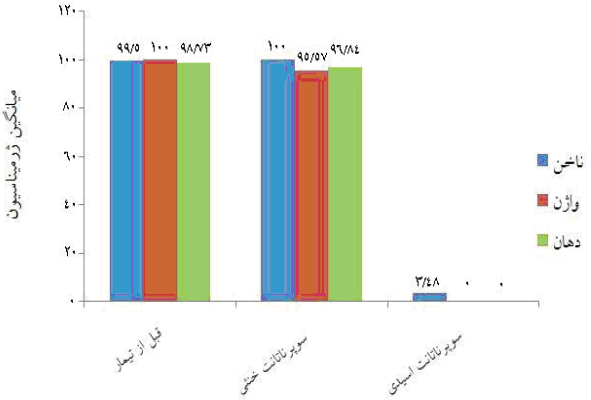
www.SID.ir

Archive of SID



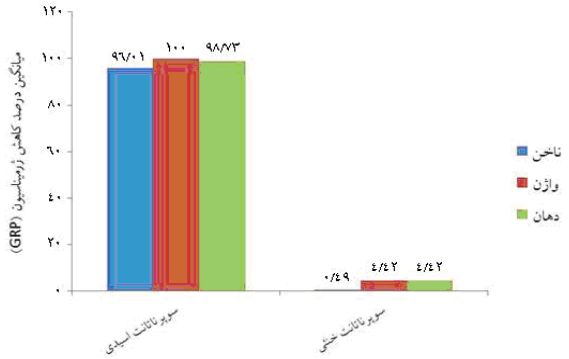



نمودار ۱ـ میانگین ژرمیناسیون در جدایه‌های مختلف کاندیدا آلبیکنس.




نمودار ۲ـ میانگین ژرمیناسیون در جدایه‌های مختلف کاندیدا آلبیکنس تیمار شده با مایع رویی لاکتوباسیلوس پلانتاروم پس از ۳ ساعت انکوباسیون.

علاوه بر این میانگین درصد کاهش ژرمیناسیون (GRP) کاندیدا آلبیکنس گروه‌های ناخن، واژن و دهان پس از تیمار با مایع رویی خنثی به ترتیب ۱/۴۹±۰/۴۹، ۶/۰۷±۴/۴۲ و ۵/۵۴±۴/۴۲ تعیین شد. علاوه بر این میانگین( GRP) کاندیدا آلبیکنس جداشده از ناخن، واژن و دهان پس از تیمار با مایع رویی اسیدی در ساعت ۳ انکوباسیون به ترتیب ۱/۵±۹۶/۰۱، ۰±۱۰۰ و ۴/۳ ± ۹۸/۷۳ گزارش گردید (نمودار ۳). در مطالعه حاضر آنالیز آماری نشان داد که میانگین درصد کاهش ژرمیناسیون (GRP) در جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس ناخن، واژن و دهان تحت تیمار با مایع رویی اسیدی در مقایسه با میانگین با مایع رویی خنثی به‌طور کاملاً معناداری افزایش می‌یابد(P =۰/۰۰۰).




نمودار ۳ـ میانگین درصد کاهش ژرمیناسیون (GRP) در جدایه‌های مختلف کاندیدا آلبیکنس تیمار شده با مایع رویی لاکتوباسیلوس پلانتاروم پس از ۳ ساعت انکوباسیون.

## بحث

بیماری‌های قارچی از جمله بیماری‌های شایع در جهان هستند که بار اجتماعی و مالی فراوانی را به جوامع انسانی تحمیل می‌کنند (۱۹). کاندیدا آلبیکنس عضوی از فلور طبیعی بسیاری از پستانداران می‌باشد. نقص در سیستم ایمنی ممکن است منجر به رشد بیش از اندازه جمعیت کاندیدا آلبیکنس در مجاری گوارشی شده و کاندیدیازیس مخاطی و یا سیستمیک ایجاد نماید (۱۳). توانایی کاندیدا آلبیکنس در تغییر شکل از حالت مخمری به حالت رشته‌ای، یکی از مهم‌ترین فاکتورهای ویرولانس برای این ارگانیسم می‌باشد (۱۴).

درمان بیماری‌های ناشی از کاندیدا آلبیکنس به‌واسطه ظهور سویه‌های کاندیدایی که به عوامل ضدقارچی رایج مورد استفاده مقاوم هستند، به مسئله پیچیده‌ای تبدیل شده است. عود عفونت‌های کاندیدایی خیلی شایع است و این مسئله بار درمانی این عفونت فرصت‌طلب و در نتیجه نیاز به توسعه عوامل ضدقارچی جدید به‌منظور گسترش طیف فعالیت‌ها علیه کاندیدا و مبارزه با سویه‌های مقاوم به داروهای ضدقارچی در دسترس را افزایش داده است (۲۰). امروزه مشخص شده که باکتری‌های اسید لاکتیک می‌توانند ترکیبات ضد میکروبی با قابلیت مهار رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا تولید کنند. اسیدهای آلی،



www.SID.ir

Archive of SID



پراکسید هیدروژن، دی استیل و باکتریوسین‌ها از جمله این ترکیبات هستند. مطالعات بی‌شماری کارآمدی پروبیوتیک‌ها را در پیشگیری و درمان عفونت‌های کاندیدا آلبیکنس بررسی کرده‌اند (۳،٤)

Kariptaş و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان دادند که لاکتوباسیلوس اثر ضد قارچی بسیار قابل‌توجهی علیه کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا پاراپسیلوزیس(C. Parapsilosis)، کاندیدا فاماتا (C. Famata) و کاندیدا گیلرموندی(C. guilliermondii) دارد (۹). علاوه بر این، در مطالعه Ozkaya و همکاران فعالیت ضد قارچی لاکتوباسیلوس روی انواع مختلف مخمرهای کاندیدا مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه مشخص شد که باکتری لاکتوباسیلوس طیف گسترده‌ای از اثر مهاری علیه گونه‌های مختلف کاندیدا دارد (۱۵). در مطالعه دیگری اثر ضد قارچی ۱۸ ایزوله لاکتوباسیلوس علیه گونه‌های مختلف کاندیدا بررسی گردید و نتایج نشان داد مایع رویی لاکتوباسیلوس به‌طور قابل توجهی رشد کاندیدا آلبیکنس را روی محیط آگار مهار کردند (۲۰).

در مطالعه حاضر، اثر ضد قارچی مایع رویی اسیدی لاکتوباسیلوس پلانتاروم علیه جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس بسیار قابل‌توجه بود. بعلاوه، بین فعالیت ضد قارچی مایع رویی اسیدی و خنثی لاکتوباسیلوس پلانتاروم برروی جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس ناخن، واژن و دهان، اختلاف معنی‌دار قابل‌توجهی وجود داشت و اثر ضد قارچی مایع رویی اسیدی به‌طور معناداری نسبت به مایع رویی خنثی بیشتر بود. در اغلب مطالعات اثرات ذکر شده به علت حضور اسیدهای ارگانیک و پراکسید هیدروژن می باشد (۲۲). Axelsson و همکاران عنوان کردند اسید های ارگانیک به داخل غشاء سلول نفوذ کرده تجزیه شده و یون H+ را رها می کند و موجب اسیدی شدن سیتوپلاسم می گردند. علاوه بر این، مولکول اسیدی از طریق از بین بردن گرادیانت الکتروشمیایی پروتون باعث مهار انتقال پروتون از غشاء گردیده و در نهایت موجب مرگ سلول می شود. همینطور فعالیت اسید پروپیونیک و اسید استیک را وابسته به کاهش pH ناشی از تولید اسید لاکتیک توسط این باکتری ها عنوان کردند(۱).

در ادامه توانایی تشکیل لوله زایا توسط جدایه های کاندیدا آلبیکنس قبل و بعد از تیمار با مایع رویی اسیدی و خنثی لاکتوباسیلوس پلانتاروم مطالعه گردید. میزان ژرمیناسیون جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس ناخن، واژن و دهان تیمار شده با مایع رویی اسیدی لاکتوباسیلوس پلانتاروم در مقایسه با گروه شاهد (بدون تیمار) به‌طور کاملاً معناداری کاهش پیدا کرد. در حالی که مایع رویی خنثی باکتری مورد مطالعه اثر مهاری بسیار کمی بر ژرمیناسیون جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس داشت. میزان فعالیت ضد قارچی مایع رویی خنثی لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر روی رشد جدایه های کاندیدا آلبیکنس بعد از حذف خاصیت اسیدی موجود در آن از بین رفت که نتایج این مطالعه با تحقیقات Ralista و همکاران مشابهت داشت که به علت حضور اسیدهای ارگانیک و پراکسید هیدروژن می باشد. افزایش تولید اسید لاکتیک در فرایند تخمیر موجب کاهش pH محیط کشت و مهار رشد پاتوژن می‌گردد(۱۷).

نتایج مطالعه حاضر تائید کننده نتایج سایر مطالعات بوده و نشان می‌دهد که لاکتوباسیلوس پلانتاروم دارای اثر ضد قارچی قابل‌توجهی علیه کاندیدا آلبیکنس می‌باشد. در مطالعه ما مشخص شد که مایع رویی اسیدی لاکتوباسیلوس پلانتاروم می‌تواند ژرمیناسیون کاندیدا آلبیکنس را که به عنوان یک فاکتور ویرولانس مهم برای این ارگانیسم قلمداد می‌شود، به طور قابل‌توجهی مهار نماید. بنابراین نخستین مرحله یعنی ایجاد لوله زایا به عنوان یکی از فاکتور های حدت در روند عفونت سرکوب گردید. به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که مایع رویی اسیدی لاکتوباسیلوس پلانتاروم نسبت به مایع رویی خنثی اثر ضد قارچی بهتری داشته و ژرمیناسیون کاندیدا آلبیکنس را مهار می‌نماید. تصور می شود تاثیر مهار کننده در تولید لوله زایا به علت مهار فعالیت آبشار حیاتی که تغییرات



www.SID.ir

Archive of SID



مورفولوژیکی را در حضور مایع رویی اسیدی لاکتوباسیلوس پلانتاروم اعمال می کند، باشد. از این رو شاید بتوان از لاکتوباسیلوس پلانتاروم به‌عنوان یک پروبیوتیک جهت پیشگیری و درمان عفونت‌های ناشی از کاندیدا آلبیکنس استفاده نمود و بروز مقاومت‌های دارویی ضد قارچی را کاهش داد.

## تشکر و سپاسگزاری

با سپاس فراوان از همکاری کلیه اساتید و مرکز تحقیقات قارچ شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و کارشناسان گروه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران که با کمک و رهنمودهای ارزنده امکان انجام این تحقیق را میسر نمودند.با تشکر از همکاری جناب آقای دکتر فلاح و سرکار خانم مهندس قربانی که در انجام این مطالعه و آنالیز داده ها نهایت همکاری را انجام داده اند. بخشی از هزینه های این مطالعه از محل بودجه پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران فراهم شده است.

## فهرست منابع

1. Axelsson, L. (1990): Lactobacillus reuteri, a member of the gut bacterial flora. Studies on antagonism, metabolism and genetics. J.Clin. Microbiol. 35(5):226-234
2. Berg, R., Bernasconi, P., Fowler, D., Gautreaux, M. (1993): Inhibition of Candida albicans translocation from the gastrointestinal tract of mice by oral administration of Saccharomyces boulardii. J. Infect. Dis. 168(5): 1314–1318.
3. De Petrino, SF., Maria, E., De Jorrat,WEB., Meson, O., Perdign, G. (1995): Protective ability of certain lactic acid bacteria against an infection with Candida albicans in a mouse immunosuppression model by corticoid. Food. Agric. Immunol. 7(4): 365–373.
4. D'auria, F., Tecca, M., Strippoli, V., Salvatore, G., Battinelli, L., Mazzanti, G. (2005): Antifungal activity of Lavandula angustifolia essential oil against Candida albicans yeast and mycelial form. Med. Mycol. 43(5):391-6.
5. FAO., WHO. (2002): Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Working Group Rep. Food and Health Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization, Washington, DC. P: 39-48.
6. Fichtenbaum, CJ., Koletar, S., Yiannoutso,s C., Holland, F., Pottage, J., Cohn, SE.,Walawander, A., Frame, P., Fienberg, J., Saag, M., Vanderhorst, C., Powderly, WG. (2000): Refractory mucosal candidiasis in advanced human immunodeficiency virus infection. Clin. Infect. Dis. 30(5):749-56.
7. Khan, MS., Ahmad, I., Cameotra, SS., Botha, F. (2014): Sub-MICs of Carum copticum and Thymus vulgaris influence virulence factors and biofilm formation in Candida spp. BMC Complement. Altern. Med.14(1):337.
8. Kabir, MA., Hussain, MA., Ahmad, Z. (2012): Candida albicans: A model organism for studying fungal pathogens. ISRN microbiology. 35(5):291-7.
9. Kariptaş, E., Tulumoğlu, S., Erdem, B. (2010): Antifungal Effects of Lactobacillus spp. Bacteria on Candida Yeast. Oncology. 16(6):1061-1064
10. Matsumoto, H., Nagao, J., Cho, T., Kodama, J. (2013): Evaluation of pathogenicity of Candida albicans in germination-ready states using a silkworm infection model. Med. Mycol. J. 54(2):131-140.
11. Menon, T., Umamaheswari, K., Kumarasamy, N., Solomon, S., Thyagarajan, S. (2001): Efficacy of fluconazole and itraconazole in the treatment of oral candidiasis in HIV patients. Acta. tropica. 80(2):151-154.
12. Magnusson, J., Schnüre, RJ. (2001): Lactobacillus coryniformis subsp. coryniformis strain Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound. Appl. Environ. Microbiol. 67(1):1-5.
13. Muniercarpentier, F., Kiehn, F., Armstrong, D. (1981): Fungemia in the immunocompromised host. Am. J. Med. 71(3):363-370.



www.SID.ir

Archive of SID



14. Mayer, FL., Wilson, D., Hube, B. (2013): Candida albicans pathogenicity mechanisms. Virulence. 4(2):119-128.
15. Özkaya, FD., Karabicak, N., Kayali, R., Esen, B. (2005): Inhibition of yeasts isolated from traditional Turkish cheeses by Lactobacillus spp. Int. J. Dairy. Technol. 58(2):111-114.
16. Pundir, RK., Rana, S., Kashyap, N., Kaur, A. (2013): Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from food samples: an in vitro study. J. Appl. Pharm. Sci. 3(2):85-93.
17. Ralitsa, G., Lyubomira, Y., Lilia, T., Galina, Z. (2015): Antimicrobial activity and antibiotic susceptibility of Lactobacillus and Bifidobacterium spp. intended for use as starter and probiotic cultures. Biotechnol & Biotec EQ. 29(1): 84-91.
18. Rippon, JW. (1982): The Pathogenic Fungi and Pathogenic Actinomycetes. In: Medical Mycology: 2 nd edition. W.B. Saunders: Philadephia; 433-434.
19. Richter, SS., Galask, RP., Messer, SA., Hollis, RJ., Diekema, DJ., Pfaller, MA. (2005): Antifungal susceptibilities of Candida species causing vulvovaginitis and epidemiology of recurrent cases. J. Clin. Microbiol. 43(5):2155-2162.
20. Runyoro, DK., Ngassapa, OD., Matee, MI., Joseph, CC., Moshi, MJ. (2006): Medicinal plants used by Tanzanian traditional healers in the management of Candida infections. J Ethnopharmacol. 106(2):158-65.
21. Tsang, P.W., H, Bandara., W.P. Fong. (2012): Purpurin suppresses Candida albicans biofilm formation and hyphal development. Plos one. 7(11): e50866
22. Yang, R., Johnson, M. C., Ray, B. (1992): Novel method to extract large amounts of bacteriocins from lactic acid bacteria. Appl environ microbial. 58(10), 3355-3359.



www.SID.ir