تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی – ملکولی

دوره پنجم، شماره هفدهم، زمستان ۱۳۹۳

Research Article
مقاله تحقیقی

# ارزیابی اتصال گونه‌های کاندیدا آلبیکنس مقاوم به فلوکونازول در مقایسه با گونه کاندیدا گلابراتا بر روی دو رده‌ی سلولی واژن و روده

زهرا حسن پور زعفرانی [۱]، منصور بیات [۲*]، شهلا رودبار محمدی [۳]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران
۲. دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران
۳. دانشیار، گروه قارچ‌شناسی پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس ، تهران

## چکیده

**سابقه و هدف:** ولوواژینیت کاندیدیایی یکی از شایع‌ترین عفونت‌های دستگاه تناسلی زنان است که بر اثر رشد بیش از حد گونه‌های کاندیدا به ویژه کاندیدا آلبیکنس ایجاد شده و به‌صورت مزمن و عود کننده در می‌آید. کاندیدا گلابراتا نیزدومین یا سومین عامل کاندیدیازیس بعد از کاندیدا آلبیکنس می‌باشد. پس از استفاده گسترده و افزایش درمان‌های سرکوب کننده سیستم ایمنی همراه با درمان ضدقارچی، فراوانی عفونت‌های مخاطی و سیستماتیک ناشی از کاندیدا گلابراتا به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته است. فلوکونازول یکی از داروهای متداول جهت درمان بوده، ولی مقاومت‌هایی نیز در ارتباط با آن دیده شده است. اولین گام در ایجاد عفونت اتصال به سلول‌های اپیتلیالی می‌باشد. این پژوهش به‌منظور بررسی اتصال کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا گلابراتای حساس و مقاوم به فلوکونازول بر سطوح رده‌های سلولی و روده صورت گرفت.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه ۱۶۰ سواب واژینال از بیماران مشکوک به کاندیدیازیس تهیه و سپس نمونه‌ها در محیط سابورو دکستروز آگار و پس از آن در محیط افتراقی کروم آگار کشت داده شدند. برای شناسایی قطعی گونه‌های کاندیدای مورد نظر، روش مولکولی RFLP-PCR اجرا گردید و کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا گلابراتا برای مطالعه انتخاب شدند. در ادامه رده‌های سلولی Hella و HT29 در محیط DMEM غنی شده یا FBS کشت داده شدند. سپس $10^6$ سلول مخمری شمارش و با هرکدام از رده‌های سلولی در پلیت ۹۶ خانه‌ای کشت داده شده و پس از انکوباسیون، تعداد سلول‌های اتصال یافته و اتصال نیافته با کشت بر روی محیط سابورودکستروزآگار و شمارش تعداد کلنی به‌دست آمد.

**یافته‌ها:** نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که نمونه‌های بالینی مقاوم به فلوکونازول بوده و قدرت و تمایل اتصال سلول‌های کاندیدا گلابراتابه سلول‌های اپیتلیال واژن نسبت به کاندیدا آلبیکس بیشتر است اما درمقابل قدرت و تمایل اتصال سلول‌های کاندیدا آلبیکس به سلول‌های اپیتلیال روده نسبت به سلول‌های کاندیدا گلابراتا بیشتر می‌باشد .

**نتیجه‌گیری:** تحقیقات انجام شده نشان داد که کاندیدا گلابراتا تمایل بیشتری برای اتصال به سلول‌های واژن دارد. با توجه به اینکه اطلاعات اندکی راجع به واکنش بین کاندیدا گلابراتا و سیستم ایمنی ذاتی وجود دارد، لذا توجه به شناخت این واکنش‌ها و عوامل مؤثر در اتصال گونه‌های کاندیدا به سطوح اپیتلیالی میزبان در شناخت پاتوژنز بیماری و ارایه روش‌های درمانی مناسب‌تر از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** ولوواژینیت کاندیدیایی، RFLP-PCR، گونه‌های کاندیدا، لاین سلولی

*نویسنده مسئول : دکتر منصور بیات
پست الکترونیکی: dr_mansour_bayat@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۰۵/۱۰
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۰۵/۲۱



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-05-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1393.5.17.14.8 ]

## مقدمه

کاندیدیازیس دومین عفونت شایع واژن است. این ارگانیسم را می‌توان در دستگاه تناسلی تحتانی ۳۰-۸۰٪ زنانی که دارای علائم جزئی بوده یا فاقد علائم هستند، شناسایی کرد (۲). ولوواژینال کاندیدیازیس (Vulvovaginal Candidiasis)، التهاب واژن و ولو (فرج) ایجاد شده به‌وسیله کاندیدااآلبیک (۴۶,۹-۷۵٪) و یا یکی از دیگر سویه‌های کاندیدا، مانند کاندیدا گلابراتا(۱۴-۳۶,۷٪)، کاندیدا پاراپسیلوزیس (۱۰,۲٪)، کاندیدا تروپیکالیس (۲,۴-۷٪)، کاندیدا کروزه‌ای (۱,۴-۳,۵٪)، و کاندیدا کفیر (۱,۹٪) است هرچند در برخی مطالعات کاندیدا آلبیکنس از فراوانی کمتری نسبت به سایر گونه‌ها برخوردار است (۹،۱۱). بیمارانی که بیش از سه بار در یک سال گذشته مبتلا به ولوواژینیت ایجاد شده توسط سویه‌های کاندیدا شده‌اند یا تاریخچه بیماری‌های قبلی بیشتر از یک سال دارند به عنوان بیمارانی با ولوواژینال کاندیدیازیس طبقه بندی می‌شوند.

ولوواژینیت کاندیدایی همانند سایر عفونت‌های قارچی سطحی با داروهای ضدقارچی با منشأ آزولی درمان می‌شود ولی احتمال دارد که مصرف بیش از حد فلوکونازول و سایر آزول‌ها عامل کلونیزه شدن گونه‌های مقاوم هم‌چون کاندیدا گلابراتا یا کاندیدا کروزه‌ای باشد (۱۶) که باعث شکست درمان و عود مجدد بیماری می‌گردد. مکانیسم‌های خاص مقاومت ضد قارچ به کلاس آزول از عوامل ضد قارچ هنوز به طور کامل شناخته نشده است. پیشنهاد شده است، که ترکیب استرول غشاء پلاسما قارچی تغییر می‌یابد، در نتیجه جذب داروی ضد قارچ به سلول کاهش می‌یابد (۱۰). هرچند وجود علائم خارش و سوزش را حدس قوی بر وجود عفونت ولوواژنیت کاندیدایی می‌دانند با این وجود این علائم قادر به افتراق نوع عود کننده و حاد بیماری، تنها بر اساس علائم بالینی و به طبع انتخاب پروتکل درمانی مناسب نیستند (۸). لذا تشخیص به موقع و صحیح بیماری و عوامل آن علاوه بر رفع علائم بالینی بیماری و آسایش جسمی و روانی بیمار می‌تواند از درمان‌های تجربی بیمار که باعث بروز مقاومت دارویی و صرف هزینه بیشتر برای بیماران می‌شود جلوگیری نماید. اتصال (Adherence)، عامل بیماری‌زایی بسیار مهمی است، اگر چه ویژگی اتصال واقعی ممکن است با سایر خواص ویرولانس در ارتباط باشد، به‌طوری‌که چندین فاکتور مستعدکننده مانند قدرت چسبندگی، دو شکلی، تغییرات شکل ظاهری (Phenotype switching)، سرکوب سیستم ایمنی و تولید فسفولیپازها و آسپارتیل پروتئینازها(Aspatic Proteinases)، برای بیماری‌زایی کاندیدا مطرح شده است (۱۳). اولین گام در ایجاد عفونت اتصال به سلول‌های اپیتلیالی می‌باشد. این پژوهش به‌منظور بررسی اتصال کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا گلابراتای مقاوم به فلوکونازول بر سطوح رده‌های سلولی واژن (Hella) و روده (HT29 ) صورت گرفت.

## مواد و روش‌ها

در طی ۳ ماه از زنان مشکوک به واژینال کاندیدیازیس ۱۶۰ نمونه پس از تأیید توسط پزشک زنان گرفته شد. بدین ترتیب که پس از اخذ نمونه از واژن با سوآب استریل، نمونه‌ها در فالکول حاوی۱ سی‌سی سرم فیزیولوژی به آزمایشگاه قارچ-شناسی انتقال یافت. نمونه استاندارد مورد بررسی کاندیدا آلبیکنس(ATCC10231) و کاندیدا گلابراتا (ATCC 90030) از سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی به دست آمد.

در آزمایشگاه نمونه‌های سواب واژن، روی محیط سابورو دکستروز آگار (Company Paris France) قرار گرفته و پس از آن درون انکوباتور ۳۷ درجه، به مدت ۲۴ ساعت گذاشته شدند. در این قسمت جهت جلوگیری از رشد قارچ‌های ساپروفیت، سیکلوهگزامید و برای ممانعت از رشد باکتری‌ها، کلرامفنیکل به محیط سابورودکستروز آگار اضافه شد. از کلنی مخمر سفید رنگ به‌دست آمده از محیط سابورو دکستروز آگار نمونه‌ای برداشته، با لاکتوفنل کاتن بلو رنگ‌آمیزی و روی لام کشیده شد. پس از تأیید کلنی زیر میکروسکوپ، آن را در محیط کشت کروم اگار (CHROMagar Company, Paris,France) کشت داده و از طریق ایجاد رنگ، گونه‌های قارچی از یکدیگر افتراق داده شدند.

### ارزیابی حساسیت ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس:

برای انجام تست حساسیت، ابتدا از نمونه‌های بالینی کاندیدا آلبیکنس و سویه‌های استاندارد حساس و مقاوم کاندیدا، سوسپانسیون سلولی به میزان $۱\times۱۰^{۶}$ سلول در یک میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی تهیه شد. سپس این سوسپانسیون بر روی محیط مولر هینتون حاوی گلوکز۲٪ و متیلن بلو ۰,۵ میکروگرم در میلی لیتر با سوآب استریل کشت داده شد. پس از کشت، دیسک‌های ۲۵ میکروگرمی فلوکونازول توسط پنس بر مرکز پلیت قرار داده شد و پلیت‌ها در دمای ۳۵ به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. پس از گذشت این مدت زمان پلیتپ-



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-05-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1393.5.17.14.8 ]

ها از نظر قطر هاله مطابق با استاندارد CLSI و با استفاده از کولیس مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند.

## شناسایی ایزوله‌ها با روش مولکولی PCR

برای شناسایی قطعی کاندیدا، روش مولکولی PCR انجام شد. ابتدا با استخراج DNA، محتوای ژنتیکی مخمرها به‌دست آمد، و با پرایمرهای ITS1 و ITS4، PCR بر روی DNA مخمرها صورت گرفت و روی ژل الکتروفورز نتایج PCR مشاهده و با یکدیگر و با مارکر مقایسه شد. پس از به‌دست آمدن DNA با روش Phenol-Chloroform Isoamyl Alcohol (PCI) DNA extraction، برنامه PCR با بهره‌گیری از پرایمرهای ITS1 و ITS4 در دستگاه ترموسایکلر به ترتیب با توالی‌های 5'- TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3' و 5'- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3' اجرا شد. جهت جدا کردن و خالص نمودن قطعات از روش الکتروفورز استفاده شد. جهت آشکارسازی محصول PCR از رنگ اتیدیوم بروماید که به آن خاصیت فلورسانس می‌دهد استفاده گردید که بدین ترتیب محصول PCR به صورت باند درخشان دیده می‌شود. برای کنترل وزن مولکولی PCR از رنگ مارکر استفاده شد که هم-زمان با محصول PCR روی ژل بارگذاری می‌شود.

## واکنش هضم آنزیم یا واکنش ( Restriction Fragment Length Polymorphysm; (RFLP

در این مطالعه از آنزیم $Msp_1$ (۹) که قادر به تمایز شش گونه کاندیدایی است استفاده شد. آماده‌سازی ترکیب واکنش هضم آنزیم در دمای اتاق انجام شد. بدین ترتیب که در یک میکروتیوپ استریل ۱۱,۵ میکرولیتر آب مقطر استریل،۱۰ میکرولیتر محصولPCR، ۲,۵ میکرولیتر بافر آنزیمی و ۱ میکرولیتر آنزیم مربوطه اضافه گردید. پس از آماده‌سازی ترکیب واکنش، میکروتیوب‌ها در دمای ۳۷ درجه به‌مدت ۱۲۰ دقیقه داخل هات بلاک انکوبه شدند. پس از اتمام زمان انکوباسیون، محصولات هضم آنزیمی، در ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز شدند. برای الکتروفورز محصول هضم، از ژل آگارز ۱/۸٪ استفاده شد تا باندها بهتر مشاهده شوند.

## تست اتصال به سلول‌های اپیتلیال واژن و سلول‌های سارکومای روده

در این مطالعه ابتدا لاین‌های سلولی (Hella, HT29) از بانک سلولی فراژن تهیه گردید و سپس در محیط DMEM حاوی FBS ۱۰٪ به اضافه گلوتامین و آنتی‌بیوتیک پن استرپ پاساژ داده شد و در انکوباتور $CO_2$ دار در دمای ۳۷ درجه نگهداری گردید. پس از طی مدت انکوباسیون برای افزایش هرچه بیشتر تعداد سلول‌ها و با مشاهده توسط میکروسکوپ Invert زمانی که فلاسک از سلول‌ها پر شده بودند پاساژ مجدد انجام شد و سلول‌ها پس از تریپسینه کردن برداشته شدند.

## کشت سلول‌های Hella،HT29 به همراه سلول‌های مخمری

ابتدا سلول‌های مخمری به تعداد $10^3$ توسط لام نئوبار برای هر کدام از ایزوله‌ها شمارش گردید. سلول‌های مورد نظر (Hella , HT29) نیز بعد از تریپسین کردن از ته فلاسک کنده شده و با RPMI حاوی FBS درون فالکون ریخته شده و سانتریفوژ گردید و توسط لام نئوبار $10^7$ تعداد شمارش گردید. در ادامه و درون پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای، ۲۰۰ میکرولیتر از هر کدام از سلول‌های مورد نظر در ته پلیت ریخته و در حدود ۱۰۰ میکرولیتر نیز از سلول‌های مخمری مورد نظر اضافه شد (هرکدام از نمونه‌ها بصورت دوپلیکیت یا ۲ تایی انجام پذیرفت). پس از گذشت ۲۴ ساعت از انکوباسیون ابتدا سوپ رویی برداشته شد و به مقدار ۱۰ لاندا از آن بر روی محیط سابورو دکستروزآگار کشت داده شد. کلنی‌های حاصل نشان دهنده سلول‌های مخمری غیر اتصال یافته به سلول‌های اپیتلیالی بود که در سوپ رویی باقی ماندند. سپس با اضافه نمودن تریپسین به کف چاهک پلیت، سلول‌های اتصال یافته جدا شده و ۱۰ لاندا از آن نیز مانند قبل بر روی محیط سابورو کشت داده شد. کلنی های حاصله نشان دهنده متصل شدن مخمرها به سلول‌های اپیتلیالی بودند. در انتها تعداد کلنی‌های بخش مایع رویی و رسوب جداگانه شمارش گردیده و با توجه به حجم برداشته شده از پلیت ها (۱۰ لاندا)، CFU محاسبه شد.

# یافته ها

۱۶۰ نمونه بالینی در محیط سابوردکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل و سپس در محیط کروم آگار کشت داده شد و ۱۵ ایزوله کاندیدا آلبیکنس و ۱۵ ایزوله کاندیدا گلابراتا بر اساس رنگ کلنی در محیط کروم آگار به صورت اولیه شناسایی و انتخاب شدند. (جدول ۱) جهت تأیید صحت عملکرد محیط کشت کروم آگار کاندیدا از کاندیدا آلبیکنس استاندارد



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-05-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1393.5.17.14.8 ]

(ATCC10231) که تولید پیگمان سبز روشن و کاندیدا گلابراتا (ATCC 90030) که تولید پیگمان ارغوانی تیره می-نماید، استفاده شد. پس از انجام تست دیسک دیفیوژن و سپری شدن ۲۴ ساعت از انکوباسیون، هاله عدم رشد که نشان‌دهنده حساس یا مقاوم بودن به فلوکونازول است توسط کولیس اندازه گرفته شد . با توجه به تست دیسک دیفیوژن و عدم تشکیل هاله (جز یک مورد که قطر هاله کمتر از ۱۳ mm بود)، تمامی نمونه ها ۱۰۰٪ مقاوم به فلوکونازول بودند.

## نتایج حاصل از PCR با استفاده از پرایمرهای ITS1 و ITS4

DNA استخراج شده نمونه‌های بالینی، برای الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱٪ برده شد و باند 535 bp در نمونه کاندیدا آلبیکنس استاندارد و باند 871 bp در نمونه کاندیدا گلابراتا استاندارد مشاهده گردید (تصویر ۱).

## نتیجه شناسایی ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس وگلابراتا به روشRFLP

آغازگرهایITS1 و ITS4، ناحیه– ITS1 ITS2 – 5. 8s rDNA در سویه‌های مورد بررسی را تکثیر کردند و در نتیجه محصول آن باند به اندازه‌ی تقریباً ۵۳۵bp ایجاد گردید. محصولات PCR با آنزیم MspI که توالی CCGG را شناسایی می‌کند، هضم شدند. هضم ناحیه ITS گونه‌های کاندیدا با آنزیم MspI، در کاندیدا آلبیکنس ۲ باند به اندازه ۲۹۷ bp و ۳۳۸ bp و در کاندیدا گلابراتا ۲ باند به اندازه ۳۱۴ bp و ۵۵۷ bp ایجاد کرد (تصویر ۲).

یافته‌ها بیانگر آن بودند که قدرت و تمایل اتصال کاندیدا گلابراتا نسبت به اتصال به سلول‌های اپیتلیال واژن (Hella) بیش از کاندیدا آلبیکنس است، در حالی‌که این تمایل در خصوص اتصال به سلول‌های اپیتلیال روده (HT29) نتیجه برعکس داشته و کاندیدا آلبیکنس تمایل بیشتری در اتصال به آن از خود نشان داده است. اختلاف میانگین‌های حاصله در این مطالعه به لحاظ آماری معنی دار بود ($P<0/05$) (نمودار ۱).

## بحث

میزان مرگ و میر بالا در ارتباط با عفونت‌های باکتریایی با مدیریت آنتی‌بیوتیک‌های تجربی کاهش یافته است، در حالی که عفونت‌های قارچی سیستمیک به عامل مهمی در ایجاد عوارض و مرگ و میر در بیماران دچار نقص ایمنی تبدیل شده‌اند. کاندیدا در حال حاضر چهارمین ارگانیسم جدا شده شایع از کشت خون در بیماران بستری می‌باشد. به دنبال آن کاندیدا گلابراتا اخیراً به عنوان یک پاتوژن مهم بیمارستانی حضور پیدا کرده است، اما هنوز اطلاعات کمی در مورد اپیدمیولوژی آن شناخته شده است. اگرچه کاندیدا آلبیکانس رایج‌ترین گونه قارچی جدا شده از خون است، با وجود این کاندیدا گلابراتا در حال حاضر در رتبه چهارم در میان گونه های کاندیدا (سوم در بیمارانی عمل جراحی شده) قرار گرفته و ابتلا به آن مرگ و میر بالایی را به همراه داشته است. هم-چنین کاندیدا گلابراتا از اهمیت ویژه‌ای به دلیل افزایش مقاومت ذاتی آن در برابر عوامل ضد قارچ و به طور خاص آزول‌ها برخوردار است (۷،۱۴،۱۵،۱۷). دراین پژوهش کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا گلابراتا بیشترین شیوع را در میان سایر گونه‌های کاندیدایی داشتند. در مطالعاتی که پیش از این در ایران، در شهرهای ساری، یاسوج، قزوین و تهران و توسط محمودی و همکارانش انجام شده است، شایع‌ترین عوامل کاندیدیازیس ولوواژینال، کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا گلابراتا بوده اند (۵-۳). روش مولکولی با حساسیت و ویژگی زیاد برای شناسایی گونه‌های کاندیدا و انتخاب درمان مناسب به کار می‌رود. در این روش، گونه‌های مختلف کاندیدا از جمله گونه-های مقاوم به داروهای دسته آزول با استخراج DNA و به طور قطعی تعیین می‌شود. اهمیت و کاربرد PCR در افتراق گونه-های کاندیدا، در مطالعات بسیاری بررسی شده است. در مطالعه ما نیز با بهره‌گیری از PCR ابتدا به شناسایی گونه‌های کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا گلابراتا پرداختیم و در ادامه با استفاده از روش RFLP-PCR به شناسایی هرچه دقیق‌تر آن مبادرت کردیم. میرهندی و همکارانش نیز در سال ۱۳۸۶ جهت شناسایی گونه‌های بیماریزای جنس کاندیدا با روش PCR-FSP، ۶۰ ایزوله از بیماران مبتلا به عفونت‌های سطحی یا عمقی را بررسی کردند. پس از استخراج DNA با استفاده از پرایمرهای ITS1و ITS2 و روی ژل الکتروفورز، هویت مخمرها مشخص شد. تفاوت پرایمرها در تعداد و ترتیب نوکلئوتیدها در گونه‌های مختلف، اساس تشخیص بود (۶). اسکندری و همکاران در مطالعه‌ای دیگر در تهران نیز ۶۰ نمونه از بیماران مبتلا به کاندیدیازیس حاد تهیه و DNA آن‌ها را استخراج کردند. در ادامه و با روش PCR و پرایمر ویژه ژن $CHS_1$



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-05-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1393.5.17.14.8 ]

قطعاتی متفاوت تکثیر کردند که هریک معرف یک گونه کاندیدایی بودند (۱). بهره‌گیری از PCR در درمان کاندیدیازیس ولوواژینال تکرار شونده، جهت تشخیص گونه-های کاندیدایی عامل بیماری و اتخاذ سیاست درمانی مناسب ضروری به نظر می‌رسد. چرا که عفونت تکرار شونده کاندیدایی در تمام دنیا معضل بهداشتی به حساب می‌آید.

متأسفانه، تحقیقات نسبتاً کمی از کاندیدا گلابراتا نسبت به گونه‌های دیگر کاندیدا وجود دارد. اگرچه این عفونت دومین یا سومین عامل کاندیدیازیس پس از کاندیدا آلبیکانس است، درمان آن مشکل بوده و اطلاعات کاندیدا گلابراتا برای تنها درصد کمی از مطالعات منتشر شده در مورد عفونت‌های قارچی مهم پزشکی را به‌خود اختصاص می‌دهد. در مورد بیماری‌زایی کاندیدا گلابراتا شناخت بسیار کمی وجود دارد و تقریباً هیچ چیز در مورد دفاع میزبان علیه این ارگانیسم شناخته نشده است. در مطالعه DeBernardia و Fidel که در سال ۱۹۹۶ انجام شد تنها دو مدل حیوانی مبتلا شده به عفونت کاندیدا گلابراتا تجربی (سیستمیک و واژن) مطرح شده است، اما این مطالعات محدود بوده و باید به جزئیات بیشتری پرداخته شود. بنابراین، درک مکانیسم پاتوژنز عفونت کاندیدا گلابراتا به‌شدت مورد نیاز است. در مقابل، کاندیدا آلبیکانس دارای چند عامل بیماری‌زایی شناخته شده است که به بیماری‌زایی آن که شامل اتصال به سلول‌های اپیتلیال و اندوتلیال تولید پروتئیناز، تشکیل هیف و سودوهیف، تعویض فنوتیپی، تولید فسفولیپاز، و مدولاسیون آنتی ژن به عنوان نتیجه تشکیل سودوهیف است کمک می کند. اگرچه بیماری-زایی کاندیدا گلابراتا با حدت کمی رخ می‌دهد، اما عدم تشکیل هیف ممکن است از عوامل مؤثر باشد. در واقع، تشکیل هیف و افزایش اتصال و تهاجم به بافت بوسیله کاندیدا آلبیکانس نیز به عنوان یک ابزار باعث افزایش پیچیدگی آنزیم پروتئولیتیک و مدولاسیون آنتی ژن می‌شود (۱۰).

آب‌گریزی سطح سلول (CSH)، که توسط عوامل زیست محیطی تحت تأثیر قرار می‌گیرد، می‌تواند بر اتصال خاص بر اساس تعامل گیرنده تأثیر گذار باشد. در یک مطالعه با تعداد محدودی از سلول‌های کاندیدا گلابراتا جداشده از آزمایش، کاندیدا گلابراتا به CSH تمایل قابل توجهی در مقایسه با کاندیدا آلبیکانس نشان داده است. با این وجود، در حالی که CSH کاندیدا آلبیکنس به شرایط رشد بسیار حساس است، نمونه‌های متعدد کاندیدا گلابراتا به شرایط رشد مشابه نسبتاً غیر حساس بودند، که این موضوع نشان دهنده‌ی این است که کاندیدا گلابراتا نسبت به عوامل محیطی تحت تأثیر قرار نمی-گیرد. درحالی‌که در سنجش اتصال به اندوتلیوم عروق کاندیدا آلبیکنس به مراتب چسبنده‌ترین گونه است وکاندیدا گلابراتا کمتر اتصال می‌یابد، و یا با کاندیدا پاراپسیلوزیس، کاندیدا کیفیر، کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا کروزئی اتصال می‌یابد. علاوه بر این، تمایل کاندیدا آلبیکنس توسط آنتی‌بادی‌های مونوکلونال به R2 integrins شناخته شده است، اما اتصال به کاندیدا گلابراتا توسط همان آنتی‌بادی غیر قابل تشخیص بوده است. این نتایج نشان می‌دهد که کاندیدا گلابراتا ممکن است این اتصال خاص را نشان ندهد و در نتیجه یک نقطه ضعف در اتصال داشته باشد. حضور فیبرونکتین و گیرنده لامینین، پروتئین‌های متصل شونده به فیبرینوژن و چسبندگی مانوپروتئین نیز ابزار مهمی برای اتصال به سلول‌های اندوتلیال ویا اپیتلیال در نظر گرفته می‌شود. در حالی که کار گسترده‌ای بر روی لیگاندهای سطحی کاندیدا آلبیکنس انجام پذیرفته است، هیچ چیز در مورد این گیرنده‌ها و پروتئین‌ها در مورد کاندیدا گلابراتا شناخته نشده است. بازبینی بسیاری از پارامترهای مطالعات قبلی، همراه با تعدادی از پارامترهای جدید، با استفاده از جریان بالینی کاندیدا گلابراتا به دست آمده از بیماران مبتلا به کاندیدیاز برق آسا مهم خواهد بود (۱۰).

در مطالعه ما نیز گونه‌های کاندیدا گلابراتای جدا شده اتصال بیشتری به لاین‌های سلولی داشتند که همین امر نشان دهنده مقاومت بیشتر می‌باشد. این اتصال قوی می‌تواند نگران کننده باشد زیرا با توجه به مطالعات انجام شده بر روی واژینیت‌های راجعه نشان داده شده است که کاندیدا گلابراتا نقش تعیین کننده‌ای دراین شکل از بیماری دارد. از آنجایی که کاندیدا گلابراتا معمولاً به فلوکونازول مقاوم می‌باشد و با توجه به حجم ترکیبات ماتریکس خارج سلولی خود، توانایی تشکیل بیوفیلم قوی‌تری نسبت به کاندیدا آلبیکنس از خود نشان می‌دهد. مطالعه حاضر نیز نشان داد که توانایی کاندیدا گلابراتا در اتصال به سلول‌های اپیتلیال واژن بیش از کاندیدا آلبیکنس است در حالی‌که فاکتورهای بیشماری از جمله تشکیل هیف، تشکیل جرم تیوب، ترشح SAPها و هم‌چنین مولکول‌های چسبنده را برای کاندیدا آلبیکنس می‌شناسیم، ممکن است فاکتورهایی از قبیل CSH، پروتئازها و توانایی تشکیل بیوفیلم مقاوم‌تر نیز از جمله مزایای کاندیدا گلابراتا باشد که این توانایی را به قارچ بخشیده است. از طرفی می‌دانیم کاندیدا



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-05-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1393.5.17.14.8 ]

آلبیکنس اندوژن می‌باشد و جایگاه اصلی آن مجرای سیستم گوارشی از ابتدا تا انتهاست.

از عوامل دیگری که در اتصال نقش دارد، ماتریکس دیواره سلولی و ترکیبات تشکیل‌دهنده آن است که در مطالعاتی به این عوامل پرداخته شده است مانند تحقیقی که توسط Masuoka در سال ۲۰۰۴ انجام شد که در آن گلایکان سطح کاندیدا آلبیکنس و سایر قارچ‌های بیماری‌زا مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق آمده است که اگرچه قارچ‌ها عموماً با ما روابط کامنسال و پاتوژنی دارند، اما عفونت‌های قارچی نسبت به چند دهه اخیر افزایش پیدا کرده‌اند. در واقع این نوشتار جنبه‌های متنوع گروه‌های کربوهیدرات قارچ‌های بیماری‌زا را شرح می‌دهد. کربوهیدرات، سازنده دیوار سلولی یا کپسول یا به عنوان ترکیبی از گلیکوپروتئین سطح سلول قارچی است و بنابراین تداخل میزبان-قارچ شبیه درگیری کربوهیدرات با DNA, RNA و یا حتی پروتئین است. آنچه که نیاز است و توسعه باید بیابد توانایی شناسایی ساختمان‌های گلایکان و تعیین چگونگی تداخلشان با ترکیبات سیستم ایمنی است (۱۲).

از آنجا که گونه‌های کاندیدا به ویژه کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا گلابراتا، به عنوان قارچ‌های بیماری‌زای فرصت‌طلب در ایجاد کاندیدیازیس شناخته شده‌اند و نسبت به آزول‌ها مقاومت پیدا کرده‌اند، توصیه می‌گردد توجه خاصی به شناسایی دقیق‌تر این گونه‌ها درنمونه بیماران مشکوک به کاندیدیازیس به ویژه کاندیدیازیس راجعه شود تا با داروهای مناسب‌تر که مقاومت علیه آن‌ها پدید نیامده، امکان درمان این بیماران فراهم شود.

انجام مطالعات بر روی آنزیم‌های مترشحه از کاندیدا گلابراتا و تأثیر آن بر اتصال سلولی و انجام مطالعات بر روی ماتریکس سلولی کاندیدا گلابراتا و کاندیدا آلبیکنس و تأثیر آن بر اتصال سلولی و بیماری‌زایی توصیه می‌گردد.

نتایج حاصل از مطالعه ما بیانگر آن بودند که قدرت و تمایل اتصال کاندیدا گلابراتا نسبت به اتصال به سلول‌های اپیتلیال واژن (Hella) بیش از کاندیدا آلبیکنس است در حالی‌که این تمایل در خصوص اتصال به سلول‌های اپیتلیال روده (HT29) رفتار برعکس داشته و کاندیدا آلبیکنس تمایل بیشتری در اتصال به آن از خود نشان داده است که قاعدتاً به آنتی‌ژن‌های قرار گرفته بر سطح اپیتلیال و هم‌چنین رسپتورهایی ما بین قارچ و سلول اپیتلیال بر می‌گردد. جالب آن‌که کنام و جایگاه اصلی کاندیدا آلبیکنس مسیرگوارشی و روده‌ها می‌باشد، درحالی‌که کاندیدا گلابراتا معمولاً در ناحیه واژن دیده می‌شود که طبیعی است و معمولاً پس از آمیزش جنسی به‌دست می-آید که قابل انتظار است.

## سپاسگزاری

به پاس تعبیر عظیم و انسانی‌شان از کلمه ایثار و از خودگذشتگان
به پاس عاطفه سرشار و گرمای امیدبخش وجودشان که در این سردترین روزگاران بهترین پشتیبان است به پاس قلب‌های بزرگشان که فریاد رس است و سرگردانی و ترس در پناهشان به شجاعت می‌گراید و به پاس محبت‌های بی‌دریغشان که هرگز فروکش نمی‌کند این مقاله را به پدر و مادر عزیزم تقدیم می‌کنم.

از زحمات اساتید گرانقدر جناب آقای دکتر بیات و سرکار خانم رودبار محمدی کمال تشکر را دارم.

## منابع

۱. اسکندری آ. مصباح نمین ع. یادگاری م. استفاده از روش PCR در شناسایی گونه های مهم بیماریزای کاندیدایی در مبتلایان به کاندیدیازیس حاد.کوثر،۱۳۸۷؛جلد ۱۳ ، شماره ۲ : صفحات ۲۴-۱۱۵.
۲. زینی ف. سید علی مهبد ا. امامی م. *قارچ شناسی پزشکی جامع*، موسسه انتشارات دانشگاه تهران ، ۶۴،۱۳۸۸-۳۳۴.
۳. شکوهی ط. ولوواژینیت کاندیدایی در مراجعه کنندگان به درمانگاه های زنان شهرستان ساری در سال های ۱۳۷۲-۱۳۷۳. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گیلان،۱۳۷۴؛جلدهای جلدهای۱۸ و ۱۹، صفحات۲۲-۷.
۴. صفری م. یزدان پناه ب. ملک زاده جان م. شیوع عفونت های علامت دار واژن و ارتباط آن با روش های پیشگیری از بارداری در زنان مراجعه کننده به درمانگاه زنان یاسوج. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج،۱۳۷۷؛جلدهای ۹ و۱۰ ، صفحات ۱۵-۲۲.



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-05-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1393.5.17.14.8 ]

۵. محمودی راد م. ظفرقندی آ. عباس آبادی ب. شناسایی گونه های کاندیدایی جدا شده از موارد ولوواژینیت کاندیدایی به روش Multiplex PCR. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳۸۸؛جلد ۶۷ ، شماره ۹ : صفحات ۲۸-۶۲۳.

۶. میرهندی ح. آدین ح. شیدفر م.کردبچه پ. هاشمی ج. موذنی م. حسین پور ل. رضایی مته کلایی ع. شناسایی گونه های بیماریزای جنس کاندیدا: روش PCR-FSP .مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران،۱۳۸۷؛جلد ۶۶ ، شماره ۹ : صفحات ۴۵-۶۳۹.

7. Abi-Said D, Anaissie E, Uzun O, Raad I, Pinzcowski H, Vartivarian S. The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different Candida species. Clinical Infect Dis,1997;24:1122-8.
8. Ahmad A, Khan AU. Prevalence of Candida species and potential risk factors for vulvovaginal candidiasis in Aligarh, India. European J Obstetric Gynecol Rep Biol,2009 ;144:68-71.
9. Goswami D, Goswami R, Banerjee U, Dadhwal V, Miglani S, Lattif AA. Kochupillai N. Pattern of Candida species isolated from patients with diabetes mellitus and vulvovaginal candidiasis and their response to single dose oral fluconazole therapy. J Infect,2006;52:111-7.
10. Goswami R, Dadhwal V, Tejaswi S, Datta K, Paul A, Haricharan R, Banerjee U, Kochupillai N. Species-specific prevalence of vaginal candidiasis among patients with diabetes mellitus and its relation to their glycaemic status. J of Infect,2000;41:162-6.
11. Ilkit M, Hilmioglu S, Tasbakan M, Aydemir S .Evaluation of Albicans ID2 and Biggy agar for the isolation and direct identification of vaginal yeast isolates. J med microbiol,2007;56 :762-5.
12. Masuoka J. Surface glycans of Candida albicans and other pathogenic fungi: physiological roles, clinical uses, and experimental challenges. Clin Micro Rev ,2004;17:281-310.
13. Nogueira De Melo AC, Dornelas-Ribeiro M, Paraguai De Souza E, Macrae A, Fracalanzza SEL, Vermelho AB. Peptidase profiles from non-albicans Candida spp. isolated from the blood of a patient with chronic myeloid leukemia and another with sickle cell disease. FEMS yeast research,2007;7:1004-12.
14. Novikova N, Rodrigues A, Mårdh P-A.Can the diagnosis of recurrent vulvovaginal candidosis be improved by use of vaginal lavage samples and cultures on chromogenic agar? Infect dis obstet gynecol,2002;10:89-92.
15. Pfaller MA, Houston A, Coffmann S.Application of CHROMagar Candida for rapid screening of clinical specimens for Candida albicans, Candida tropicalis, Candida krusei, and Candida (Torulopsis) glabrata.J Clin Microbiol,1996;34:58-61.
16. Rex JH, Rinaldi M, Pfaller M. Resistance of Candida species to fluconazole.Antimicrobial agentsand chem,1995;39:1-8.
17. Sanglard D. Odds FC. Resistance of Candida species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. The Lancet infect dis,2002;2:73-85.

[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-05-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1393.5.17.14.8 ]