بررسی فعالیت آنزیم‌های خارج سلولی در ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس جمع‌آوری شده از بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس

خدیجه آذرهوش[۱،۲]،
آیت الله نصراللهی عمران*[۳]،

۱. مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
۲. دانشگاه آزاد واحدتنکابن ،تنکابن ، ایران
۳. گروه قارچ شناسی پزشکی ،دانشکده پزشکی ،دانشگاه آزاد واحدتنکابن ،تنکابن ، ایران

* **عهده دار مکاتبات:** تنکابن ، دانشگاه آزاد واحدتنکابن ، دانشکده پزشکی ، گروه قارچ شناسی پزشکی

Email: : AYAT51@yahoo. Co. in

چکیده

زمینه: کاندیدا آلبیکنس قارچ فرصت طلبی است که قادر است در افراد ناتوان، دیابتی و سرکوب شده ایمنی عفونت‌های تهاجمی حاد و یا مزمن ایجاد نماید. تولید آنزیم‌های خارج سلولی از جمله فسفولیپاز، پروتئیناز و همولیزین از مهمترین فاکتورهای بیماریزایی این مخمر محسوب شده که اتصال، نفوذ و تخریب را در سلول های میزبان افزایش می دهند. هدف از این مطالعه بررسی فعالیت آنزیم‌های فسفولیپاز، همولیزین و پروتئیناز در ایزوله های کاندیدا آلبیکنس جمع‌آوری شده از بیماران دیابتی در مقایسه با افراد غیر دیابتی (گروه کنترل) است.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی توصیفی تحلیلی، از دهان ۹۷ فرد (۶۴ فرد غیر دیابتی و ۳۳ بیمار دیابتی) با استفاده از سواب دهانی و با انجام تست های تکمیلی، ۱۰ ایزوله کاندیدا آلبیکنس جداگانه از دهان بیماران دیابتی و گروه کنترل جداسازی شدند. تشخیص گونه با استفاده از مشاهدات ماکروسکوپی و میکروسکوپی و آزمایشات تکمیلی لوله زایا و کشت در محیط کروم آگار انجام شد. سپس، فعالیت‌های آنزیم‌های فسفولیپاز، پروتئیناز و همولیزین در محیط‌های اختصاصی کشت مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: در این مطالعه، به ترتیب ۹۰ ٪، ۸۰٪ و ۹۰٪ از ایزوله های جمع آوری شده در گروه بیماران دیابتی، فعالیت فسفولیپازی، پروتئینازی و همولیزینی را نشان دادند در حالی که در گروه افراد غیر دیابتی، ۸۰٪، ۶۰٪ و ۷۰٪ ایزوله ها به ترتیب دارای فعالیت فسفولیپازی، پروتئینازی و همولیزینی بودند. در مجموع، تفاوت معنی داری در فعالیت آنزیم‌های پروتئیناز و همولیزین در دو گروه افراد دیابتی و کنترل مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از مطالعه حاضر حاکی از حضور قابل توجه کاندیدا آلبیکنس در دهان بیماران دیابتی است. با توجه به آمار بالا و با اهمیت بالینی فعالیت فسفولیپازی، پروتئینازی و همولیزینی در ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس در بیماران دیابتی، بهره گیری از استراتژی‌های مناسب درمانی جهت کنترل و جلوگیری از پیشرفت بیماری در این بیماران ضروری است.

کلید واژه‌ها: کاندیدا آلبیکنس، دیابت ملیتوس، فسفولیپاز، پروتئیناز، همولیزین

مقدمه:

کاندیدا آلبیکنس مهمترین گونه کاندیدا است که می‌تواند در افراد ناتوان و سرکوب شده ایمنی عفونت‌های تهاجمی حاد و یا مزمن ایجاد نمایند، این مخمر اغلب با بیماری‌های مخاطی، پوستی و عفونت ناخن در ارتباط می باشد. در سال‌های اخیر به دلیل افزایش شمار بیماران دچار نقص ایمنی، عفونت‌های قارچی فرصت طلب از جمله عفونت‌های ناشی از کاندیداها به یک معضل عمده پزشکی تبدیل شده است[۱]. از دلایل این افزایش می‌توان به جراحی های دستگاه گوارش و قلب، استفاده از آنتی بیوتیک‌های وسیع الطیف، پیوند اعضاء و بافت، شیمی درمانی در بیماران مبتلا به سرطان، اعتیاد به مواد مخدر و استفاده از کاتترها اشاره کرد[۲-۴]. سیستم ایمنی همورال و سلولی نقش حفاظتی در برابر عفونت‌های کاندیدایی ایفا می‌کنند. نقـــــص

جدی در سیستم دفاعی بدن منجر به عفونت‌های مهاجم مخاطره آمیز می شود. کاندیدیازیس ممکن است موضعی یا گسترده باشد که از طریق گسترش خونی از محل اولیه عفونت ناشی می شود[۵]. کاندیدیازیس حلقی-دهانی اغلب توسط گونه آلبیکنس ایجاد می‌شود که افراد ناتوان و سرکوب شده ایمنی از جمله مبتلایان به دیابت ملیتوس، مصرف کنندگان داروهای کورتیکوستروئید، گیرندگان پیوند و بیماران مبتلا به ایدز نسبت به این عفونت حساس می‌باشند[۶]. در بیماران مبتلا به دیابت، کاهش و تخریب جذب شیمیایی، اختلال در فرایند فاگوسیتوز و عملکرد منوسیت و ماکروفاژها، افزایش چسبندگی نوتروفیل ها به اندوتلیال عروق، کاهش دیاپدز، تشکیل اگزودای سلول-های چند هسته ای از دلایل عمده استعداد ابتلا به این عفونت هستند[۱۰-۷].

آنزیم‌های خارج سلولی کاندیدا در اتصال، تهاجم و تخریب ساختار سلولی میزبان نقش دارند[۱۱]. آنزیم‌های هیدرولیتیک مانند آسپارتیل پروتئینازهای ترشحی، فسفولیپازها و توانایی تشکیل بیوفیلم از عوامل اصلی بیماریزایی کاندیدا آلبیکنس محسوب می‌شوند که به ویژه در فرایند اتصال مخمر نقش دارند[۱۴-۱۲]. کاندیدا آلبیکنس قادر به سنتز پروتئینازهای با قدرت تخریب الاستین است که در مقاومت علیه دفاع و تهاجم به بافت میزبان نیز نقش مهمی دارند و یکی از مهمترین عوامل ویرولانس این مخمر به حساب می‌آیند. جهش در ژن کد کننده این آنزیم ها، شدت بیماریزایی مخمر را کاهش می‌دهند[۱۵]. فسفولیپاز مسئول هیدرولیز فسفولیپیدها است که مخمر را در تهاجم به سلولهای مخاطی و تخریب غشا آنها یاری می‌سازد[۱۶]. لیپاز و پروتئازهای خارج سلولی، فسفولیپاز را در تخریب غشا سلول‌های اپیتلیال یاری می سازند. برخی از فسفولیپازها ممکن است آنتی ژن های سطحی سلولهای ارائه دهنده آنتی ژن را از بین ببرند[۱۹-۱۷]. با بررسی بیان ژن فسفولیپاز در عفونت زایی کاندیدا آلبیکنس مشخص شده است که میزان بیان ژن این آنزیم در مرحله عفونت زایی میکرو ارگانیسم به شدت افزایش پیدا می‌کند[۲۰،۲۱]. همولیزین از دیگر فاکتورهای بیماریزایی کاندیدا است که متعاقب جذب آهن مقدمات تهاجم مخمر را به ویژه در عفونت‌های منتشره ناشی از آن را فراهم می‌سازد[۱۸].

مواد و روش‌ها:

در این مطالعه‌ی توصیفی تحلیلی، از بهمن ۹۳ تا تیر ۹۴، در مجموع از ۹۷ فرد (۶۴ فرد غیر دیابتی و ۳۳ بیمار دیابتی) بستری در بیمارستان امام سجاد (ع) رامسر، نمونه‌گیری به صورت سواب دهانی انجام شد. تمامی نمونه‌ها بر روی محیط سابورو دکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل کشت داده شدند و پلیت ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. تعیین گونه آلبیکنس با بررسی‌های مشاهده ای کلونی ها و شناسایی میکروسکوپی، امکان تشکیل لوله زایا و بررسی رنگ کلونی در محیط کروم آگار انجام شد که در مجموع ۱۰ ایزوله کاندیدا آلبیکنس از بیماران دیابتی و ۱۰ ایزوله از افراد سالم (گروه کنترل) جدا سازی شدند.

بررسی فعالیت آنزیمی فسفولیپاز با استفاده از محیط سابورو دکستروز آگار به همراه عصاره تخم مرغ انجام شد[۱۳]. به طور خلاصه، ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون استاندارد تهیه شده از هر نمونه (معادل $۱۰^۸$ سلول) در محیط تلقیح و سپس در دمای ۲۷-۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴ روز نگهداری شد. قطر کلونی ها و قطر هاله رسوبی اطراف کلونی جداگانه اندازه‌گیری شدند و از آن جهت محاسبه فعالیت فسفولیپازی استفاده شد. جهت انجام صحت آزمون، هر نمونه ۳ بار تکرار شد و میانگین نتایج یادداشت و جهت محاسبه فعالیت آنزیم استفاده شد.

جهت سنجش فعالیت پروتئینازی از محیط آلبومین سرم گاوی استفاده شد[۱۳]. پس از تلقیح ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه شده از هر نمونه، محیط ها در دمای اتاق به مدت ۴ روز نگهداری شدند، سپس پلیت ها با استفاده از تری کلرواستیک اسید ۲۰٪ تیمار شدند و با آمیدوبلاک ۱/۲۵٪ رنگ آمیزی شدند. با توجه به انجام سه بار تکرار هر آزمون، میانگین قطر کلونی و قطر هاله اطراف هر کلونی اندازه گیری شد و سپس مطابق دستورالعمل تفسیری تجزیه وتحلیل شد. برای سنجش فعالیت همولیزینی، ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون استاندارد

قارچی بر روی محیط سابورو دکستروز آگار خوندار به همراه گلوکز تلقیح و پلیت ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در حضور ۵ درصد دی اکسید کربن نگهداری شدند. میانگین قطر کلونی و قطر هاله شفاف اطراف آن، جهت محاسبه فعالیت آنزیم استفاده گردید[۱۳]. جهت تفسیر نتایج، ۴ کلاس فعالیت آنزیمی در نظر گرفته شده است. بدین ترتیب که فعالیت آنزیمی مساوی ۱: معادل منفی، فعالیت آنزیمی مساوی ۰/۹۹-۰/۶۱: معادل کم، فعالیت آنزیمی مساوی ۰/۶-۰/۴۱: معادل متوسط و فعالیت آنزیمی کمتر از ۰/۴: معادل زیاد در نظر گرفته شدند[۱۵].

در این مطالعه، متغیرهای کیفی به صورت فراوانی و درصد و متغیرهای کمی به شکل میانگین و انحراف معیار گزارش شدند. مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی در دو گروه مورد مطالعه به ترتیب با استفاده از آزمون‌های Sample Independent T-test در نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ مورد بررسی قرار گرفتند. مقدار p value کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، در مجموع ۱۰ ایزوله کاندیدا آلبیکنس از ۳۳ بیمار دیابتی (۳۰/۳٪) و ۱۰ ایزوله نیز از ۶۴ فرد غیر دیابتی (۱۵/۶٪) به عنوان گروه کنترل جدا سازی شدند. ایزوله های مورد مطالعه در افراد دیابتی و غیر دیابتی، اغلب از جنس زن به ترتیب به میزان ۷۰٪ و ۶۰٪ جداسازی شدند. میانگین سنی بیماران دیابتی، ۱۶±۶۹ سال (رنج سنی ۳۶ تا ۹۰ سال) و میانگین سنی افراد غیر دیابتی، ۱۵±۵۴ سال (رنج سنی ۳۷ تا ۹۴ سال) گزارش شد. ایزوله های کاندیدا آلبیکنس در بیماران دیابتی، اغلب از بیماران بستری در بخش ICU (۵۰٪) و در افراد غیر دیابتی اغلب از بیماران بستری در بخش داخلی (۴۰٪) جداسازی شدند. نتایج بررسی فعالیت فسفولیپازی در دو گروه افراد دیابتی و غیر دیابتی نشان داد که در بیماران دیابتی از ۱۰ ایزوله، ۹ ایزوله (۹۰٪) فعالیت فسفولیپازی را نشان دادند در حالی که در گروه افراد غیر دیابتی، ۸ ایزوله (۸۰٪) این فعالیت را نشان دادند. میانگین فعالیت فسفولیپازی در ایزوله های کاندیدا آلبیکنس جدا شده از بیماران دیابتی ۰/۱۹±۰/۶۴ گزارش شد در حالی که در گروه افراد غیر دیابتی این میزان ۰/۱۸±۰/۷۹گزارش شد. در این مطالعه، علیرغم فعالیت فسفولیپازی بیشتر ایزوله های جمع‌آوری شده از بیماران دیابتی نسبت به بیماران غیر دیابتی، تفاوت معنی داری از لحاظ آماری در این دو گروه مشخص نشد (p=۰/۸۴).

نتایج فعالیت پروتئینازی در دو گروه بیماران دیابتی و غیر دیابتی نشان داد که در گروه بیماران دیابتی از مجموع ۱۰ ایزوله، ۸ ایزوله (۸۰٪) فعالیت پروتئینازی را نشان دادند در حالی که در گروه بیماران غیر دیابتی، در ۶ ایزوله (۶۰٪) فعالیت پروتئینازی مشاهده شد. میانگین فعالیت پروتئینازی در ایزوله های کاندیدا آلبیکنس جدا شده از بیماران دیابتی ۰/۲۱±۰/۷ گزارش شد در حالی که در گروه بیماران غیر دیابتی این میزان ۰/۱۷±۰/۸۳گزارش شد. همچنین فعالیت پروتئینازی در گروه بیماران دیابتی نسبت به بیماران غیر دیابتی از تفاوت معنی داری برخوردار بود (p<۰/۰۰۱). با بررسی فعالیت همولیزینی در بیماران دیابتی مشخص شد که از مجموع ۱۰ ایزوله، ۹ ایزوله (۹۰٪) فعالیت همولیزینی را نشان دادند در حالی که در گروه افراد غیر دیابتی، ۷ ایزوله (۷۰٪) این فعالیت را نشان دادند. میانگین فعالیت همولیزینی در ایزوله های کاندیدا آلبیکنس جدا شده از بیماران دیابتی، ۰/۱۷±۰/۶۴ گزارش شد در حالی که در گروه افراد غیر دیابتی این میزان ۰/۱۶±۰/۸۲گزارش شد. این مطالعه نشان داد که فعالیت همولیزینی در ایزوله های کاندیدا آلبیکنس جدا شده در در گروه بیماران دیابتی نسبت به افراد غیر دیابتی از لحاظ آماری از تفاوت معنی داری برخوردار بود (p=۰/۰۲).

بحث:

عفونت قارچی دهان یکی از شایع‌ترین عفونت‌های فرصت طلب در افراد دیابتی و مبتلایان به نقص ایمنی سلولی است[۲]. دیابت ملیتوس یک بیماری مزمن است که به علت اختلالات به وجود آمده در این بیماران، آنها را نسبت به برخی عفونت‌ها مستعد می سازد. گزارشات فراوانی مبنی بر شیوع گونه‌های کاندیدایی در دهان بیماران دیابتی نسبت به بیماران غیردیابتی

وجود دارد[۱۰-۷]. بر اساس مطالعات قبلی شایع‌ترین گونه کاندیدا دخیل در مخاط دهان افراد بزرگسال و دیابتی، کاندیدا آلبیکنس است[۱۰]. در مطالعه حاضر، ۳۰/۳٪ و ۱۵/۶٪ از ایزوله‌های جدا شده از بیماران مبتلا به دیابت و گروه کنترل مربوط به کاندیدا آلبیکنس بودند. این نتایج در مقایسه با نتایج سایر مطالعات انجام شده در خصوص فراوانی کاندیدا آلبیکنس در بیمارن دیابتی و گروه کنترل همخوانی داشت. در مطالعه Tsang و همکاران در چین در دو گروه بیماران مبتلا به دیابت و گروه کنترل (افراد سالم)، در مجموع ۳۶/۲٪ ایزوله ها در گروه دیابت و ۲۳/۸٪ در گروه کنترل، مربوط به گونه آلبیکنس بودند[۱۳]. در مطالعه Soysaو همکاران نیز فراوانی گونه های کاندیدا در بیماران مبتلا به دیابت بین ۱۸٪ تا ۸۰٪ گزارش شد[۷]. بر اساس مطالعات انجام شده در بیماران دیابتی، ارتباط مابین غلظت قند خون و قند بزاق و حضور موثر گونه های کاندیدا به خوبی مشخص شده است[۹-۷]. همچنین نشان داده شده است که اتصال و چسبندگی مؤثر سلول های اپیتلیال دهان بیماران دیابتی و عملکرد نامناسب ضد میکروبی نوتروفیل ها در بیماران دیابتی به گسترش حضور کاندیدا در دهان کمک می کند[۱۰]. در این مطالعه، ۹۰٪ ایزوله‌ها فعالیت فسفولیپازی را نشان دادند در حالی که در گروه بیماران غیر دیابتی این فعالیت در ۸۰٪ ایزوله ها مشاهده شد. همچنین، تفاوت معنی داری در فعالیت این آنزیم در دو گروه افراد دیابتی و کنترل مشاهده نشد. نتایج سایر مطالعات انجام شده، حاکی از فعالیت فسفولیپازی ۳۰ تا ۱۰۰ درصدی ایزوله های کاندیدا است. این فراوانی بسته به محل عفونت می تواند متفاوت باشد به طوری که در مطالعه Price و همکاران فعالیت فسفولیپازی در گونه های کاندیدا جداسازی شده از نمونه های خون، زخم و ادرار به ترتیب ۵۵٪، ۵۰٪ و ۳۰٪ گزارش شد[۲۲]. مشابه با نتایج مطالعه حاضر، Tsang و همکاران در سال ۲۰۰۷ در چین گزارش کردند که ۱۰۰٪ ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس فعالیت فسفولیپازی را نشان دادند و تفاوت معنی‌داری در فعالیت فسفولیپازی ایزوله‌های گروه دیابت و گروه کنترل مشاهده نشد[۱۳]. در مطالعه Sachinو همکاران در سال ۲۰۱۲ در هند، ۹۲/۳٪ ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس به ترتیب فعالیت فسفولیپازی را نشان دادند[۱۵]. زارعی محمودآبادی و همکاران فعالیت فسفولیپازی صد درصدی را در ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس جداسازی شده از نمونه‌ای واژن و ادرار در بیماران بستری در اهواز گزارش کردند[۱۶]. در مطالعه‌ای که توسط Tayو همکاران در سال ۲۰۱۱ در مالزی بر روی گونه‌های کاندیدا جداسازی شده از خون بیماران بستری انجام شد، ۷۳/۳٪ از ایزوله های دارای فعالیت فسفولیپازی بودند[۱۹]. در مطالعه حاضر، ۸۰٪ ایزوله های جمع‌آوری شده از بیماران دیابتی فعالیت پروتئینازی را نشان دادند در حالی که در گروه بیماران غیر دیابتی این فعالیت به میزان ۶۰٪ گزارش شد. در این مطالعه تفاوت معنی‌داری مابین فعالیت پروتئینازی ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس در دو گروه بیماران دیابتی و گروه کنترل مشاهده شد. نتایج سایر مطالعات انجام شده نیز حاکی از فعالیت پروتئینازی بالای گونه‌های کاندیدا است. در واقع، غلظت بالای گلوکز، IgA، و سایر آنزیم های بزاق شامل متالوپروتئینازها، ژلاتیناز و لیزوزیم به صورت مستقیم یا غیر مستقیم از فاکتورهای مهم و تاثیرگذار در فعالیت پروتئینازی محسوب می‌شوند[۱۴-۱۲]. در مطالعه Sachin و همکاران، ۸۲/۱٪ از ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس به ترتیب فعالیت پروتئینازی را نشان دادند[۱۵]. در مطالعه‌ی Tayو همکاران، ۹۳/۷٪ از ایزوله‌ها دارای فعالیت پروتئینازی بودند[۱۹]. Mohan das و همکاران در سال ۲۰۰۸ در هند گزارش کردند که ۶۴/۵۶٪ از ایزوله های کاندیدا آلبیکنس دارای فعالیت پروتئینازی بودند[۱۷]. مشابه نتایج این مطالعه، Tsangو همکاران، تفاوت معنی‌داری در فعالیت پروتئینازی ایزوله های گروه دیابت و گروه کنترل را گزارش کردند[۱۳]. البته در مطالعه Manfredi و همکاران تفاوت معنی‌داری در فعالیت پروتئینازی ایزوله های گروه‌های دیابتی و کنترل گزارش نشد[۲۳]. همچنین Koga-ito و همکاران گزارش کردند که تفاوت معنی‌داری مابین فعالیت پروتئینازی ایزوله‌های گروه دیابت و گروه کنترل مشاهده شد و این تفاوت در فعالیت فسفولیپازی مابین این دو گروه مشاهده نشد[۲۴]. با توجه به اهمیت بالینی توانایی تولید پروتئینازها در ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس، این آنزیم می‌تواند به عنوان فاکتور بیماریزایی در تشخیص

ایزوله‌های مهاجم مورد بررسی قرار گیرد. در مطالعه حاضر، ۹۰٪ ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس در بیماران دیابتی فعالیت همولیزینی را نشان دادند در حالی که در گروه کنترل ۷۰٪ ایزوله‌ها فعالیت همولیزینی را نشان دادند. در مطالعه حاضر، تفاوت معنی‌داری مابین فعالیت همولیزینی ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس در دو گروه بیماران دیابتی و گروه کنترل مشاهده شد. Sacristan و همکاران در اسپانیا گزارش کردند که ۸۸/۹٪ از گونه‌های کاندیدا آلبیکنس جداسازی شده از آسپیره برونش دارای فعالیت همولیزینی بودند[۱۸]. در مطالعه‌ی Sachin و همکاران، ۹۴/۸٪ از ایزوله های کاندیدا آلبیکنس، فعالیت همولیزینی را نشان دادند[۱۵]. مشابه نتایج این مطالعه، Tsang و همکاران، تفاوت معنی داری در فعالیت همولیزینی ایزوله های گروه دیابت و گروه کنترل را گزارش کردند[۱۳]. مطرح شده است که غلظت بالای قند بزاق می‌تواند به صورت مستقیم یا غیرمستقیم در افزایش فعالیت همولیزینی گونه‌های کاندیدا نقش داشته باشد. به طوریکه در دو مطالعه انجام شده توسط Manns و همکاران و Luo و همکاران مشخص شد که فعالیت همولیزینی در محیط کشت‌های فاقد گلوکز وجود نخواهد داشت[۲۵،۲۶].

نتیجه گیری:

نتایج حاصل از مطالعه حاضر حاکی از حضور قابل توجه کاندیدا آلبیکنس در دهان بیماران دیابتی است. در این مطالعه مشخص شده است که غالب ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس مورد مطالعه در دو گروه بیماران دیابتی و کنترل، توانایی تولید آنزیم‌های خارج سلولی فسفولیپاز، پروتئیناز و همولیزین را دارند. با توجه به فعالیت پروتئینازی و همولیزینی بالاتر در گروه بیماران دیابتی در مقایسه با افراد سالم در این مطالعه، استفاده از راهکارهای مناسب درمانی در پیشگیری از انتشار بیشتر این عفونت در بیماران دیابتی ضروری است.

References:

1. Zomorodian K, Haghighi NN, Rajaee N, Pakshir K, Tarazooie B, Vojdani M, Sedaghat F, Vosoghi M. Assessment of Candida species colonization and denture-related stomatitis in complete denture wearers. Med Mycol. 2011; 49(2):208-11.

2. Sheevani, Sharma P, Aggarwal A. Nosocomial Candida infection in a rural tertiary care hospital. J Clin Diagn Res. 2013; 7(2):405-6.

3. Bouza E, Muñoz P. Epidemiology of candidemia in intensive care units. Int J Antimicrob Agents. 2008; 32 Suppl 2:S87-91.

4. . Playford EG, Marriott D, Nguyen Q, Chen S, Ellis D, Slavin M, Sorrell TC. Candidemia in nonneutropenic critically ill patients: Risk factors for non-albicans Candida spp. Crit Care Med. 2008; 36(7):2034-9.

5. Pappas PG. Invasive candidiasis. Infect Dis Clin North Am. 2006; 20(3): 485–506.

6. Leroy O1, Gangneux JP, Montravers P, Mira JP, Gouin F, Sollet JP, Carlet J, Reynes J, Rosenheim M, Regnier B, Lortholary O. Epidemiology, management, and risk factors for death of invasive Candida infections in critical care: a multicenter, prospective, observational study in France (2005–2006). Crit Care Med. 2009; 37(5):1612-8.

7. Soysa NS, Samaranayake LP, Ellepola AN. Diabetes mellitus as a contributory factor in oral candidosis. Diabet Med. 2006; 23(5):455–9.

8. Darwazeh, A. M., MacFarlane, T. W., McCuish, A. & Lamey, P. J. Mixed salivary glucose levels and candidal carriage in patients with diabetes mellitus. J Oral Pathol Med. 1991; 20(6):280-3.

9. Gibson J, Lamey PJ, Lewis M, Frier B. Oral manifestations of previously undiagnosed non-insulin dependent diabetes mellitus. J Oral Pathol Med. 1990; 19:284-7.

10. File TM Jr, Tan JS. Infectious complications in diabetic patients. Curr Ther Endocrinol Metab. 1997; 6:491-5

11 . Bhat V, Sharma SM, Shetty V, Shastry CS, Rao V. Extracellular enzymes of Candida albicans and their role in development of denture stomatitis- a review. J Indian Acad Dent Spec. 2011; 2(1):26-30.

12. . Wu T, Wright K, Hurst SF, Morrison CJ. Enhanced extracellular production of aspartyl proteinase, a virulence factor, by *Candida albicans* isolates following growth in subinhibitory concentrations of fluconazole. Antimicrob Agents Chemother. 2000; 44(5):1200-8.

13. Tsang CSP, Chu FCS, Leung WK, Jin LJ, Samaranayake LP, Siu SC. Phospholipase, proteinase and hemolytic activities of *Candida albicans* isolated from oral cavities of patients with type 2 diabetes mellitus. J Med Microbiol 2007; 56:1393-1398. Tsang CSP, Chu FCS, Leung WK, Jin LJ,

Samaranayake LP, Siu SC. Phospholipase, proteinase from oral cavities of patients with type 2 diabetes mellitus. J Med Microbiol 2007; 56:1393-1398.

14. Naglik JR, Rodgers CA, Shirlaw PJ, Dobbie JL, Fernandes-Naglik LL, Greenspan D, Agabian N, Challacombe SJ. Differential expression of Candida albicans secreted aspartyl proteinase and phospholipase B genes in human's correlates with active oral and vaginal infections. J Infect Dis. 2003; 188(3):469-79.

15. Sachin C.D, Ruchi K, Santosh S. In vitro evaluation of proteinase, phospholipase and haemolysin activities of Candida species isolated from clinical specimens. Int J Med Biomed Res 2012; 1(2):153-157.

16. Zarei Mahmoudabadi A, Zarrin M, Miry S. Phospholipase activity of Candida albicans isolated from vagina and urine samples. JJM. 2010; 3(4): 169-173.

17. Mohan das V, Ballal M. Proteinase and phospholipase activity as virulence factors in Candida species isolated from blood. Rev Iberoam Micol 2008; 25: 208-210.

18. Sacristán B , Blanco MT, Galán-Ladero MA, Blanco J, Pérez-Giraldo C, Gómez-García AC. Aspartyl proteinase, phospholipase, hemolytic activities and biofilm production of Candida albicans isolated from bronchial aspirates of ICU patients. Med Mycol. 2011; 49(1):94-7.

19. Tay ST, Abidin IA, Hassan H, Ng KP. Proteinase, phospholipase, biofilm forming abilities and antifungal susceptibilities of Malaysian Candida isolates from blood cultures. Med Mycol. 2011; 49(5):556-60

and hemolytic activities of Candida albicans isolated

20. Lane T, Garcia JR. Phospholipase production in morphological variants of *Candida albicans*. Mycoses. 1991; 34(5-6):217-20.

21. Ibrahim AS1, Mirbod F, Filler SG, Banno Y, Cole GT, Kitajima Y, Edwards JE Jr, Nozawa Y, Ghannoum MA. Implicating phospholipase as a virulence factor of *Candida albicans*. Infect Immun. 1995; 63(5):1993-8.

22. Price MF, Wilkinson ID, Gentry LO. Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. Sabouraudia. 1982; 20(1):7-14.

23. Manfredi M, McCullough MJ, Al-Karaawi ZM, Vescovi P, Porter SR. In vitro evaluation of virulence attributes of Candida spp. isolated from patients affected by diabetes mellitus. Oral Microbiol Immunol. 2006; 21(3):183-9.

24. Koga-Ito CY, Lyon JP, Vidotto V, de Resende MA. Virulence factors and antifungal susceptibility of *Candida albicans* isolates from oral candidiasis patients and control individuals. Mycopathologia. 2006; 161(4):219-23.

25. Manns JM, Mosser DM, Buckley HR. Production of a hemolytic factor by Candida albicans. Infect Immun. 1994; 62(11):5154-6.

26. Luo G, Samaranayake LP, Cheung BP, Tang G. Reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) detection of HLP gene expression in *Candida glabrata* and its possible role in in vitro haemolysin production. APMIS. 2004; 112(4-5):283-90.

JCRPS Journal of Clinical Research in Paramedical Sciences, Vol 6, No 2, summer 2017 Original Article

Evaluation of Extracellular Enzyme Activities in Candida albicans Isolated From Patients with Diabetes Mellitus.

Khadijeh Azarhoosh [1,2], Ayatollah Nasrollahi Omran*[3],

1. Medical Microbiology Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

2. Islamic Azad University Tonekabon Branch, Tonekabon, Iran

3. Department of Medical Mycology, School of Medicine ,Tonekabon Islamic Azad University, Tonekabon, Iran

***Corresponding Author:**

Tonekabon, Tonekabon Islamic Azad University, School of Medicine, Department of Medical Mycology

Email: : AYAT51@yahoo. Co. in

Abstract

Introduction: : Candida albicans is opportunistic fungal pathogens which are causing several clinical chronic and acute infections, especially among underling, diabetic and immunocompromised patients. Extracellular enzymes including phospholipase, proteinase and hemolysin are important virulence factors to attach and further to attack to host cells. The main aim of this study was to access the extracellular enzymes activities in C. albicans collecting among diabetic and non-diabetic (control) groups.

Methods: : In this descriptive survey, 10 C. albicans isolates from diabetic patients and 10 from non-diabetic group were isolated from 97 people (including 64 diabetic patients and 33 controls) using month swabbing and further confirmation tests. Species identification was done by standard germ tube, grown on CHROMagar, microscopic and microscopic characteristics. Phospholipase, proteinase and hemolysin activity was accessed using specific mediums.

Results: In this study, 90%, 80% and 90% of isolates showed phospholipase, proteinase and hemolysin activities in diabetic patients whereas 80%, 60% and 70% of isolates showed these activities in control group, respectively. In total, there was a significant difference in proteinase and hemolysin activities between diabetic and non-diabetic groups.

Conclusion: Finding of this study showed a considerable presence of C. albicans among diabetic patients. According to high level of phospholipase, proteinase and hemolysin activities among C. albicans in diabetic patients, using an appropriate therapy is necessary to prevent further spread of these pathogens in diabetic patients.

Key words: C. albicans, Diabet Mellitus, Phospholipase, Proteinase, Hemolysin

How to cite this article

Azarhoosh Kh, Nasrollahi Omran A,. Evaluation of Extracellular Enzyme Activities in Candida albicans Isolated From Patients with Diabetes Mellitus. . J Clin Res Paramed Sci 2017; 6(2):178-182