Original Article

The Effect of the Lactobacillus casei on Hematological Parameters in Rat Infected with Candida albicans

Behnazsadat Haghayegh Zavare[1], Mahboobeh Madani[1*], Fereshteh Ghandehari[1]

[1]*Department of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.*

[*]***Corresponding Author:***
Mahboobeh Madani;
Department of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

Email:
m_madani@iaufala.ac.ir

Received: 4 Dec, 2018
Accepted: 6 Jul, 2019

Abstract

Background and Objectives: *Candida albicans* is the most common human fungal pathogen causing diseases, ranging from superficial, mucosal to systemic mycoses. Strains of *Lactobacillus casei* are commonly used as probiotics, alter the composition of the gut microbiota, and affect the host immune responses. This study aimed to evaluate the effect of *L. casei* on blood parameters in Rat infected with *C. albicans*.

Methods: In this experimental study, 24 rats were randomly divided into 4 groups, including control group that received distilled water, group infected with *C. albicans*, group infected with *C. albicans* and treated with *L. casei*, and group treated with *L. casei*. L. *casei* was administered by gavage every other day for 20 days. Then, blood samples were collected and MCHC, MCH, MCV, HCT, HGB, PLT, RBC, lymphocytes, monocytes, eosinophil, basophil, and neutrophil, were studied. Results were analyzed using Mann-Whitney, Kruskal-Wallis, and average differences analysis tests.

Results: According to the results of this study, PLT, monocytes, neutrophil, and RBC counts showed significant increases in the treatment group compared to the control group. However, lymphocytes, Eosinophil, Basophil, MCH, MCHC, HGB and HCT had no significant difference. MCV significantly decreased in the treatment group, as compared to the control group.

Conclusion: According to the findings of this research, *L. casei* might be effective in the inhibition of the infection caused *by C. albicans*.

Keywords: *Lactobacillus casei; Candida albicans*; Probiotics.

DOI: 10.29252/qums.13.6.38

International License Creative Commons Attribution License 4.0

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره سیزدهم، شماره ششم، شهریور ۹۸
صفحه ۳۸ الی ٤٦

مقاله پژوهشی
(Original Article)

تأثیر *لاکتوباسیلوس کازئی* بر پارامترهای خونی رت آلوده به *کاندیدا آلبیکنس*

بهنازسادات حقایق زواره[۱]، محبوبه مدنی[۱*]، فرشته قندهاری[۱]

[۱]گروه میکروبیولوژی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: *کاندیداآلبیکنس*، شایع‌ترین پاتوژن قارچی انسانی است که موجب بروز *بیماری‌های سطحی*، مخاطی تا میکوزهای سیستمیک می‌شود. سویه‌های *لاکتوباسیلوس کازئی*، عموماً به‌عنوان پروبیوتیک به کار برده می‌شوند، همچنین فلور میکروبی روده را تغییر داده و بر پاسخ‌های ایمنی میزبان اثر دارند. این تحقیق با هدف ارزیابی تأثیر *لاکتوباسیلوس کازئی* بر پارامترهای خونی رت آلوده به *کاندیدا آلبیکنس* انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، تعداد ۲۴ رت به‌طور تصادفی در چهار گروه شامل: گروه کنترل که آب مقطر دریافت کردند، گروه آلوده به *کاندیدا آلبیکنس*، گروه آلوده به *کاندیدا آلبیکنس* و تیمار با *لاکتوباسیلوس کازئی* و گروه تیمار با *لاکتوباسیلوس کازئی* تقسیم شدند. *لاکتوباسیلوس کازئی* به روش گاواژ به‌صورت یک‌روز در میان و در طی ۲۰ روز تجویز شد. سپس نمونه‌های خون جمع‌آوری و RBC, ,PLT, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC، لنفوسیت، مونوسیت، ائوزینوفیل، بازوفیل و نوتروفیل بررسی شدند. نتایج با استفاده از آزمون ناپارامتری کراسکال – والیس، من‌ویتنی و تحلیل میانگین اختلافات، آنالیز شدند.

یافته‌ها: براساس یافته‌های این مطالعه، تعداد پلاکت، مونوسیت، نوتروفیل وگلبول قرمز، افزایش معنی‌داری در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل نشان دادند، درحالی‌که لنفوسیت، ائوزینوفیل، بازوفیل، MCH، MCHC، HGB و HCT اختلاف معنی‌داری نداشتند. MCV نیز کاهش معنی‌داری در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل داشت.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد *لاکتوباسیلوس کازئی* احتمالاً در مهار عفونت القاشده توسط *کاندیدا آلبیکنس* مؤثر است.

کلیدواژه‌ها: *لاکتوباسیلوس کازئی*؛ *کاندیدا آلبیکنس*؛ پروبیوتیک.

*نویسنده مسئول مکاتبات:
محبوبه مدنی؛ گروه میکروبیولوژی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:
m_madani@iaufala.ac.ir

تاریخ دریافت:۹۷/۹/۱۳
تاریخ پذیرش:۹۸/۴/۱۵

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Haghayegh Zavare BS, Madani M, Ghandehari F. The Effect of the Lactobacillus casei on hematological parameters in rat infected with Candida albicans. Qom Univ Med Sci J 2019;13(6):38-46. [Full Text in Persian]

International License Creative Commons Attribution License 4.0

مقدمه

کاندیدا آلبیکنس، یک مخمر همسفره انسانی است که در کانال معدی - روده‌ای نیمی از افراد سالم، کلنی تشکیل می‌دهد. این مخمر، یک پاتوژن فرصت‌طلب بوده که باعث عفونت‌های شدید و عودکننده گوارشی، همچنین عفونت‌های سیستمیک تهدیدکننده برای انسان می‌شود. پاسخ میزبان به *کاندیدا آلبیکنس* با میانجیگری سیستم ایمنی ذاتی همراه است. ماکروفاژها، نوتروفیل‌ها و سلول‌های دندریتیک با فاگوسیتوز و آزادسازی پپتیدهای ضد میکروبی، اثر حفاظتی خود را انجام می‌دهند (۱). درمان نیز به‌وسیله آزول‌ها، به‌خصوص فلوکونازول انجام می‌شود که دارویی مؤثر در برابر *کاندیدا آلبیکنس* به شمار می‌رود؛ اما بروز مقاومت‌های دارویی، این روش را با مشکلات جدی روبرو کرده است. مکانیسم‌های مولکولی متفاوتی در پیدایش مقاومت نسبت به داروی فلوکونازول در *کاندیدا آلبیکنس* مؤثرند که این مکانیسم‌ها شامل: کاهش انتقال دارو به داخل سلول، تغییر در آنزیم‌هایی که در مسیر تولید ارگسترول قرار دارند، تغییر در آنزیم هدف و افزایش انتشار دارو به خارج سلول به‌وسیله پمپ‌های غشایی و بیان ژن‌های CDR (ژن‌های مقاومت دارویی *کاندیدا*) می‌باشد. از میان آن‌ها، CDR1، CDR2 باعث مقاومت *کاندیدا* به فلوکونازول می‌شوند (۲).

در سال‌های اخیر، باکتری‌های پروبیوتیک به دلیل توانایی احتمالی در تحریک سیستم ایمنی جهت پیشگیری از بیماری‌های عفونی موردتوجه قرار گرفته‌اند. طبق تعریف سازمان بهداشت جهانی، پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که درصورت مصرف به مقدار کافی سلامتی انسان را بهبود می‌بخشند. برخی مطالعات نشان می‌دهند لاکتوباسیل می‌تواند رشد سلول‌های *کاندیدا آلبیکنس* در بیوفیلم را مهار کند (۳). لاکتوباسیلوس‌ها پراکندگی وسیعی در طبیعت دارند و بخش عمده‌ای از فلور میکروبی دهان، معده و روده کوچک و بزرگ در انسان و سایر حیوانات خونگرم را تشکیل می‌دهند. این باکتری‌ها ۳-۲ روز پس از تولد در مجاری گوارشی نوزاد مستقر شده که احتمالاً از طریق واژن، دهان و روده مادر قابل‌انتقال هستند. لاکتوباسیل‌ها در روده نوزادانی‌که از شیر مادر تغذیه می‌کنند نیز به فراوانی یافت می‌شوند.

امروزه با پیشرفت علم بیوتکنولوژی، توجه محققین به استفاده از متابولیت‌های طبیعی بازدارنده رشد میکروب‌های بیماری‌زا متمرکز شده است. یک باکتری پروبیوتیکی ممکن است پاتوژن‌های مختلف را با مکانیسم‌های متفاوتی مانند تولید ترکیبات مهارکننده، رقابت برای جایگاه اتصال، رقابت برای مواد غذایی وتقویت سیستم ایمنی مهار کند (۴). از آنجایی که *کاندیدا آلبیکنس*، شایع‌ترین قارچ فرصت‌طلب است و ضمن تحت تأثیر قرار دادن سلامت جامعه، خسارات اقتصادی فراوانی نیز به همراه دارد؛ تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر *لاکتوباسیلوس کازئی* بر پارامترهای خونی در رت آلوده به *کاندیدا آلبیکنس* انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، از ۲۴ سر رت ماده نژاد ویستار (با محدوده وزنی ۱۳۰g±۲۰) استفاده شد. حیوانات در شرایط استاندارد آزمایشگاهی (دمای محیط ۲±۲۳ درجه سانتیگراد، رطوبت ۵۵-۴۵٪ و طول مدت نور و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت)، در قفس‌های مجهز به آب و غذای کافی، به مدت یک‌هفته نگهداری شدند.

ابتدا سوش باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* با شناسه PTCC 1608 از بانک میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شد و پس از تلقیح در یک میلی‌لیتر آب مقطر استریل، بر روی محیط کشت *MRS Broth* به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد، کشت و نگهداری شد. سپس از نمونه‌های کشت میکروبی مایع، سوسپانسیون تهیه و کدورت به‌صورت چشمی با استاندارد مک‌فارلند مقایسه گردید. درادامه، جذب نوری سوسپانسیون به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۶۳۰ نانومتر بین ۰/۰۸-۰/۱ تنظیم شد.

از قارچ *کاندیدا آلبیکنس* (تهیه‌شده از مجموعه میکروبی دانشگاه آزاد فلاورجان)، پس از کشت بر روی محیط سابورو دکستروز براث، سوسپانسیونی معادل $۰/۵×۱۰^{۸}$ واحد تشکیل کلنی برمیلی‌لیتر (cfu/ml) تهیه گردید.

حیوانات به‌طور تصادفی به چهار گروه به شرح زیر تقسیم شدند:

۱- گروه رت‌های کنترل تزریقی، که به مدت یک‌ماه تنها با آب و غذا تیمار شدند و در این مدت روزانه یک میلی‌لیتر آب دیونیزه به روش گاواژ دریافت کردند. ۲- گروه رت‌های آلوده با

International License Creative Commons Attribution License 4.0

کاندیدا آلبیکنس که یک دوز زیرصفاقی *کاندیدا آلبیکنس* را به مقدار ۰/۵×۱۰^۸ واحد تشکیل کلنی برمیلی‌لیتر (cfu/m) دریافت کردند. ۳-گروه رت‌های آلوده با *کاندیدا آلبیکنس* و تیمار با *لاکتوباسیلوس کازئی* که روزانه و به مدت یک‌ماه، ۱۰۰ میکرولیتر *لاکتوباسیلوس کازئی را* به مقدار ۱/۵×۱۰^۸ واحد تشکیل کلنی برمیلی‌لیتر (cfu/ml) *به* روش درون‌گوارشی و یک دوز *کاندیدا آلبیکنس* را به مقدار ۰/۵×۱۰^۸ واحد تشکیل کلنی برمیلی‌لیتر (cfu/ml) به‌صورت زیرصفاقی دریافت کردند.

۳- گروه رت‌های تیمار با*لاکتوباسیلوس کازئی*، که رت‌های این گروه از ابتدای آزمون به‌طور روزانه و به مدت یک‌ماه، ۱۰۰ میکرولیتر *لاکتوباسیلوس کازئی* را به روش درون‌گوارشی دریافت کردند. در پایان دوره تیمار، رت‌ها بیهوش شده و پس از توزین، خونگیری مستقیماً از قلب آن‌ها به عمل آمد. به‌منظور ارزیابی تعداد سلول‌ها و اندیکس‌های خونی، نمونه‌های خونی به لوله‌های محتوی ماده ضد انعقاد منتقل شدند.

اطلاعات به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰، آزمون آماری کروسکال - والیس و من‌ویتنی (جهت آنالیز اختلاف بین گروه‌های آزمایشی) در سطح معنی‌داری p≤۰/۰۵، p≤۰/۰۱، p≤۰/۰۰۱ تجزیه‌وتحلیل شدند. داده‌ها در این پژوهش به‌صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شدند.

یافته‌ها

نتایج تاثیر *لاکتوباسیلوس کازئی* بر فاکتورهای خونی رت در جدول آمده است.

نتایج آزمون کروسکال - والیس نشان داد میانگین تعداد ائوزینوفیل، بازوفیل، لنفوسیت، HGB، HCT، MCH، MCHC خون رت‌های ماده نژاد ویستار در بین گروه‌های مختلف آزمایش (شاهد، تیمار، آلوده همراه با تیمار و آلوده)، اختلاف معنی‌داری ندارد (p>۰/۰۵). از نظر تعداد WBC، کمترین و بیشترین تعداد میانگین به ترتیب مربوط به گروه کنترل و آلوده تحت تیمار بود. براساس نتایج آزمون کروسکال – والیس، میانگین تعداد نوتروفیل در خون رت‌ها بین گروه‌های مختلف آزمایش، اختلاف معنی‌داری داشت (p<۰/۰۱)، همچنین میانگین تعداد مونوسیت‌ها در خون رت‌ها بین گروه‌های مختلف آزمایش، اختلاف معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۱). طبق آزمون کروسکال- والیس، اختلاف معنی‌داری بین میانگین RBC در گروه‌های مختلف آزمایش مشاهده گردید (p<۰/۰۰۱). همسان بودن میانگین بین گروه‌های آزمایشی نشان داد میانگین تعداد MCV در گروه‌های مختلف آزمایش با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند (p<۰/۰۵). طبق نتایج آزمون کروسکال - والیس (جهت بررسی همسان بودن میانگین‌ها)، میانگین تعداد PLT بین گروه‌های مختلف آزمایش (شاهد، تیمار، آلوده همراه با تیمار و آلوده) اختلاف معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۰۱).

جدول: نتایج تأثیر *لاکتوباسیلوس کازئی* بر فاکتورهای خونی

متغیر	گروه آزمایش	تعداد	کمینه	بیشینه	میانگین $	انحراف استاندارد	مقدار معنی‌داری (*p*)£
ائوزینوفیل (۱۰^۳/میکرولیتر)	کنترل	۶	۰/۰۱۰	۰/۰۵۰	۰/۰۲۷ (a)	۰/۰۱۴	۰/۰۶۵
	تیمار	۶	۰/۰۱۰	۰/۰۲۰	۰/۰۱۳ (a)	۰/۰۰۵	
	آلوده تحت تیمار	۷	۰/۰۱۰	۰/۰۳۰	۰/۰۱۴ (a)	۰/۰۰۸	
	آلوده	۶	۰/۰۱۰	۰/۰۳۰	۰/۰۱۵ (a)	۰/۰۰۸	
بازوفیل (۱۰^۳/میکرولیتر)	کنترل	۶	۰/۰۱۱	۰/۰۲۵	۰/۰۱۷ (a)	۰/۰۰۵	۰/۹۷۳
	تیمار	۶	۰/۰۱۰	۰/۰۲۳	۰/۰۱۶ (a)	۰/۰۰۵	
	آلوده تحت تیمار	۷	۰/۰۱۰	۰/۰۲۲	۰/۰۱۶ (a)	۰/۰۰۵	
	آلوده	۶	۰/۰۱۰	۰/۰۲۳	۰/۰۱۵ (a)	۰/۰۰۶	
گلبول سفید(۱۰^۳/میکرولیتر)	کنترل	۶	۴/۷۰۰	۶/۵۰۰	۵/۴۷۸ (a)	۰/۶۹۲	۰/۰۰۶**
	تیمار	۶	۵/۸۹۰	۹/۲۰۰	۷/۶۱۸ (ab)	۱/۳۵۴	
	آلوده تحت تیمار	۷	۶/۱۰۰	۱۰/۶۸۰	۸/۷۶۱ (b)	۱/۵۸۴	
	آلوده	۶	۶/۱۰۰	۱۱/۱۴۰	۸/۳۱۸ (b)	۲/۱۴۴	
	آلوده تحت تیمار	۷	۱/۴۰۰	۱/۶۶۰	۱/۵۳۴ (ab)	۰/۴۱۱	
	آلوده	۶	۱/۴۰۰	۱/۶۶۰	۱/۶۶۰ (b)	۰/۰۰۳ **	

International License Creative Commons Attribution License 4.0

نوتروفیل (۱۰^۳/میکرولیتر)	کنترل	۶	۰/۰۳۰	۰/۸۰۰	۰/۳۱۵ (a)	۰/۳۰۱	۰/۰۰۸**
	تیمار	۶	۰/۲۳۰	۱/۷۵۰	۱/۰۹۵ (ab)	۰/۵۰۴	
	آلوده تحت تیمار	۷	۰/۲۵۰	۲/۶۶۰	۱/۴۴۹ (b)	۰/۸۰۷	
	آلوده	۶	۰/۷۵۰	۱/۷۴۰	۱/۲۳۰ (b)	۰/۳۴۲	
مونوسیت(۱۰^۳/میکرولیتر)	کنترل	۶	۰/۱۵۰	۰/۵۵۰	۰/۲۷۲ (a)	۰/۱۵۱	۰/۰۰۳**
	تیمار	۶	۰/۲۹۰	۰/۶۴۰	۰/۴۵۷ (a)	۰/۱۲۵	
	آلوده تحت تیمار	۷	۰/۱۶۰	۱/۴۰۰	۰/۸۳۴ (ab)	۰/۴۱۱	
	آلوده	۶	۰/۵۱۰	۱/۸۲۰	۱/۱۳۵ (b)	۰/۵۹۸	
لنفوسیت (۱۰^۳/میکرولیتر)	کنترل	۶	۴/۵۶۰	۶/۵۰۰	۵/۳۹۳ (a)	۰/۷۴۶	۰/۷۰۰
	تیمار	۶	۴/۶۵۰	۷/۲۰۰	۵/۷۹۷ (a)	۰/۹۸۷	
	آلوده تحت تیمار	۷	۳/۶۴۰	۸/۵۷۰	۵/۳۸۹ (a)	۱/۷۹۶	
	آلوده	۶	۳/۷۲۰	۸/۶۱۰	۵/۹۴۷ (a)	۲/۰۴۹	
گلبول قرمز (۱۰^۶/میکرولیتر)	کنترل	۶	۴/۷۰۰	۵/۷۸۰	۵/۳۴۷ (a)	۰/۴۴۷	<۰/۰۰۱***
	تیمار	۶	۷/۶۵۰	۸/۲۸۰	۷/۸۳۵ (b)	۰/۲۳۷	
	آلوده تحت تیمار	۷	۷/۲۵۰	۸/۳۰۰	۷/۸۱۳ (b)	۰/۳۹۷	
	آلوده	۶	۷/۵۸۰	۹/۱۸۰	۸/۰۷۵ (b)	۰/۶۰۳	
هموگلوبین (گرم بردسی‌لیتر)	کنترل	۶	۱۲/۵۰۰	۱۴/۰۰۰	۱۳/۲۸۳ (a)	۰/۶۱۱	۰/۰۹۹
	تیمار	۶	۱۴/۰۰۰	۱۴/۹۰۰	۱۴/۳۸۳ (a)	۰/۳۴۳	
	آلوده تحت تیمار	۷	۱۳/۱۰۰	۱۵/۱۰۰	۱۴/۲۷۱ (a)	۰/۷۵۹	
	آلوده	۶	۱۲/۷۰۰	۱۵/۹۰۰	۱۴/۱۸۳ (a)	۱/۲۴۵	
هماتوکریت (درصد)	کنترل	۶	۳۸/۵۰۰	۴۰/۶۰۰	۳۹/۸۵۰ (a)	۰/۸۷۴	۰/۰۵۴
	تیمار	۶	۴۱/۶۰۰	۴۴/۸۰۰	۴۲/۶۱۷ (a)	۱/۱۳۹	
	آلوده تحت تیمار	۷	۳۹/۹۰۰	۴۳/۵۰۰	۴۱/۹۸۶ (a)	۱/۳۰۷	
	آلوده	۶	۳۹/۱۰۰	۴۶/۸۰۰	۴۲/۵۱۷ (a)	۲/۹۹۹	
حجم متوسط گلبول قرمز (MCV) (فمتولیتر)	کنترل	۶	۵۳/۸۰۰	۵۶/۳۰۰	۵۵/۴۸۳ (b)	۰/۹۰۰	۰/۰۳۰ *
	تیمار	۶	۵۳/۴۰۰	۵۵/۷۰۰	۵۴/۳۸۳ (ab)	۰/۷۵۲	
	آلوده تحت تیمار	۷	۵۲/۴۰۰	۵۵/۱۰۰	۵۳/۶۸۶ (ab)	۱/۱۱۳	
	آلوده	۶	۴۹/۵۰۰	۵۶/۹۰۰	۵۲/۵۳۳ (a)	۲/۸۰۶	
غلظت هموگلوبین (MCH) (پیکوگرم)	کنترل	۶	۱۸/۲۰۰	۱۹/۱۰۰	۱۸/۷۳۳ (a)	۰/۳۵۶	۰/۱۱۸
	تیمار	۶	۱۷/۹۰۰	۱۹/۰۰۰	۱۸/۳۵۰ (a)	۰/۴۳۲	
	آلوده تحت تیمار	۷	۱۷/۸۰۰	۱۸/۶۰۰	۱۸/۲۲۹ (a)	۰/۲۶۹	
	آلوده	۶	۱۷/۰۰۰	۱۹/۱۰۰	۱۸/۰۱۷ (a)	۰/۸۰۱	
غلظت هموگلوبین در گلبول قرمز (MCHC) (گرم بردسی‌لیتر)	کنترل	۶	۳۲/۶۰۰	۳۳/۹۰۰	۳۳/۴۱۷ (a)	۰/۵۴۲	۰/۷۶۹
	تیمار	۶	۳۳/۲۰۰	۳۴/۵۰۰	۳۳/۷۶۷ (a)	۰/۴۹۷	
	آلوده تحت تیمار	۷	۳۲/۶۰۰	۳۴/۷۰۰	۳۳/۵۴۳ (a)	۱/۰۲۵	
	آلوده	۶	۲۵/۰۰۰	۳۴/۸۰۰	۳۲/۶۳۳ (a)	۳/۸۰۵	
پلاکت (۱۰^۳/میکرولیتر)	کنترل	۶	۴۳۰	۵۶۰	۴۹۳/۳۳۳ (a)	۶۳/۴۶۰	<۰/۰۰۱***
	تیمار	۶	۷۲۹	۸۶۴	۷۸۶/۸۳۳ (b)	۶۳/۴۵۶	
	آلوده تحت تیمار	۷	۵۸۰	۹۵۹	۸۰۹/۸۵۷ (b)	۴۷/۹۴۸	
	آلوده	۶	۶۸۷	۷۸۸	۷۳۹/۰۰۰ (b)	۱۲۵/۰۶۷	

Eso: ائوزینوفیل؛ Bas: بازوفیل؛ WBC: گلبول سفید؛ Neu: نوتروفیل؛ Mon: منوسیت؛ Lym: لنفوسیت؛ RBC: گلبول قرمز؛ HGB: هموگلوبین؛ HCT: هماتوکریت؛ MCV: حجم متوسط گلبول قرمز؛ MCH: حجم متوسط هموگلوبین؛ MCHC: میانگین غلظت هموگلوبین؛ PLT: پلاکت.

£ مقایسه بین چند گروه مستقل، با استفاده از آزمون کروسکال - والیس.

$ مقایسه دو گروه مستقل، با استفاده از آزمون تعقیبی من‌ویتنی. گروه‌هایی که دارای حرف انگلیسی مشترک هستند، ازلحاظ آماری فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

***: مقدار معنی‌داری کمتر از ۵٪؛ **: مقدار معنی‌داری کمتر از ۱٪ و ***: مقدار معنی‌داری کمتر از ۰/۱٪ می‌باشد.**

International License Creative Commons Attribution License 4.0

بحث

کاندیدیازیس بدون شک یکی از مهم‌ترین و شایع‌ترین بیماری‌هایی قارچی فرصت‌طلب در انسان است. این قارچ در افرادی با سیستم ایمنی ضعیف؛ به‌عنوان مثال در افراد مبتلا به ایدز یا سرطان، پیوند مغز استخوان یا پیوند اعضا باعث مرگ‌ومیر می‌شود. پروبیوتیک‌ها، باکتری‌هایی با اثرات مفید هستند که در مطالعات متعدد تأثیر ایمونومدولاتوری آن‌ها در طیفی از عفونت‌ها نشان داده شده است (۵). در همین راستا، در مطالعه حاضر اثر *لاکتوباسیلوس کازئی* بر عفونت *کاندیدیازیس* و ارزیابی میزان فاکتورهای هماتولوژیک بین گروه‌های آزمایشی بررسی گردید که در نتیجه، افزودن پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* به میزان $۱/۵\times۱۰^{۸}$ واحد تشکیل کلنی برمیلی‌لیتر (cfu/ml) به جیره غذایی رت‌ها، تغییر معنی‌داری در تعداد بازوفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها و لنفوسیت‌ها نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرد (جدول شماره ۱). در تحقیق Nayak در سال ۲۰۱۰، افزودن پروبیوتیک به رژیم غذایی ماهیان سبب تحریک سیستم ایمنی، افزایش تعداد لنفوسیت‌ها، درنتیجه افزایش مقاومت در برابر پاتوژن و استرس محیطی و در نهایت، بهبود رشد و افزایش بقای جاندار گردید. نتایج این مطالعه در زمینه لنفوسیت با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی نداشت که این تفاوت بین نتایج احتمالاً به‌علت اختلاف در گونه‌ها و رژیم‌های غذایی بوده است (۶). کریمی و رحیمی در سال ۱۳۸۳ با بررسی تأثیر سطوح مختلف پروبیوتیک بر سلول‌های خونی جوجه‌های گوشتی، نشان دادند تعداد گلبول‌های سفید، درصد هموگلوبین، هماتوکریت، ائوزینوفیل، بازوفیل، لنفوسیت، مونوسیت و نوتروفیل‌ها تحت تأثیر مصرف پروبیوتیک قرار نمی‌گیرند و افزایش سطوح مختلف پروبیوتیک هیچ تأثیری بر پارامترهای فوق ندارد (۷). این نتایج با یافته‌های تحقیق حاضر در موارد ائوزینوفیل، بازوفیل، هموگلوبین، هماتوکریت و لنفوسیت همخوانی داشت. با توجه به این مسئله می‌توان گفت اکثر پروبیوتیک‌ها متعلق به گروه بزرگی از باکتری‌های اصلی فلور میکروبی روده بوده و در آنجا زندگی هم‌سفرگی بی‌ضرری دارند. مطالعات ثابت کرده‌اند میزان بیگانگی آن‌ها برای بدن به‌اندازه‌ای ناچیز است که سیستم ایمنی بدن را به خود جلب نمی‌کند، پس تغییرات غیرمعنی‌دار در تعداد بازوفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها، لنفوسیت‌ها، هموگلوبین و هماتوکریت در این پژوهش قابل‌توجیه است (۸). در این پژوهش برخلاف مطالعه حاضر، مشخص گردید در تعداد گلبول‌های سفید گروه‌های تیمار با پروبیوتیک نسبت به گروه کنترل، اختلاف معنی‌داری وجود دارد؛ به‌طوری‌که تعداد گلبول‌های سفید در گروه آلوده همراه با تیمار نسبت به سایر گروه‌ها، افزایش داشته و در گروه کنترل نیز به‌طور معنی‌داری از گروه آلوده و آلوده همراه با تیمار کمتر بوده است (جدول شماره ۱). افزایش مختصر در تعداد گلبول‌های سفید بیانگر این مسئله است که احتمالاً *لاکتوباسیلوس کازئی* توانسته از تحریک بیش‌ازحد سیستم ایمنی پیشگیری کند و مانع افزایش غیرطبیعی این سلول‌ها در خون گردد (۹). همچنین افزایش گلبول سفید در گروه‌های آلوده و آلوده همراه با تیمار نشان داد القای پاسخ غیراختصاصی و افزایش فاگوسیتوز به‌وسیله لاکتوباسیلوس‌ها بوده است (۱۰). از مقایسه میانگین تعداد نوتروفیل و مونوسیت مشخص گردید استفاده از پروبیوتیک‌ها، تغییرات معنی‌داری در شمارش آن‌ها به‌وجود آورده است؛ به‌طوری‌که بیشترین مقدار نوتروفیل مربوط به گروه آلوده همراه با تیمار و گروه آلوده و کمترین میزان نیز مربوط به گروه کنترل بوده است (جدول شماره ۱). تحقیق اسدی حمامی و همکاران در سال ۱۳۹۶در زمینه اثر پروبیوتیک بر شاخص‌های خونی ماهی نشان داد تعداد نوتروفیل و مونوسیت در گروه تیمار تغذیه‌شده با *لاکتوباسیلوس فنتوس*، افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد داشته است. با توجه به همخوانی نتایج تحقیق فوق با مطالعه حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد احتمالاً دلیل افزایش نوتروفیل‌ها در گروه‌های آلوده و آلوده تیمار این بوده است که نوتروفیل‌ها عامل دفاع میزبان هستند و فعالیت‌های ضد قارچی داخل سلولی و خارج سلولی دارند (۱۱). درواقع، *کاندیدا آلبیکنس* می‌تواند نوتروفیل‌ها را تحریک کند تا فیبرهای کروماتین را آزاد سازند که به آن‌ها NET (دام‌های خارجی سلولی نوتروفیل) نیز می‌گویند و قادر به کشتن سلول‌های مخمری شکل و رشته‌ای با رهاسازی یک پپتید ضدقارچی هستند (۱۲). *Salinas* و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان دادند در گروه‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک، سیستم ایمنی به‌وسیله *لاکتوباسیلوس*‌ها تحریک می‌شود. در تحقیق حاضر، کمترین تعداد مونوسیت

International License Creative Commons Attribution License 4.0

مربوط به گروه کنترل و بیشترین آن مربوط به گروه آلوده بود. درواقع، میانگین تعداد مونوسیت در خون رت‌ها بین گروه‌های مختلف آزمایش، اختلاف معنی‌داری نشان داد (p≤۰/۰۵). نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های مطالعه اسدی حمامی و همکاران همخوانی داشت که می‌توان گفت با در نظر گرفتن اینکه مونوسیت‌ها از بزرگترین سلول‌های موجود در جریان خون هستند و در اولین مراحل واکنش ایمنی در فاگوسیتوز شرکت می‌کنند؛ لذا درصورت بروز صدمات بافتی، تعدادشان افزایش یافته و توانایی مهاجرت از خون به بافت (پدیده دیاپدز) را دارند که درنهایت، به سلول درشتی به‌نام ماکروفاژ تبدیل و در سرکوبی پاتوژن نقش دارند (۱۳). Picchietti و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان دادند القای سیستم ایمنی توسط لاکتوباسیلوس‌ها سبب افزایش فاگوسیتوز و اثر سایتوتوکسیک می‌شود. در این تحقیق با مصرف پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی*، میانگین MCV در همه تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی‌داری نشان داد (۱۴)؛ درحالی‌که در مطالعه Gabriel و همکاران (سال ۲۰۰۴) با مصرف پروبیوتیک، افزایش معنی‌دار در MCV مشاهده گردید. این تفاوت در نتایج، احتمالاً مربوط به وضعیت غذایی یا بهداشتی رت‌ها و درنتیجه کاهش حجم خون و افزایش اندازه گلبول‌های قرمز می‌باشد (۱۵). در تحقیق حاضر مشخص گردید مصرف پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی*، اختلاف معنی‌داری در فاکتورهای MCH, MCHC, HGB, HCT در بین گروه‌های تیماری نسبت به گروه کنترل ایجاد نمی‌کند. *Ramasay* و همکاران (سال ۲۰۱۰) با بررسی تأثیر پروبیوتیک بر فاکتورهای خونی ماهی کپور عفونی‌شده با *آئروموناس هیدروفیلا*، نشان دادند تعداد گلبول‌های قرمز به‌جز گروه‌های دریافت‌کننده لاکتوباسیلوس، در بقیه گروه‌ها کاهش داشته، همچنین مقادیر هموگلوبین، هماتوکریت، MCH، MCHC نزدیک به گروه کنترل بوده است (۱۶).

حسینی و همکاران (سال ۱۳۹۲) نیز در مطالعه‌ای با بررسی اثر پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی بر روی پارامترهای خونی و سرمی بچه ماهیان آزاد دریای خزر، اختلاف معنی‌داری در هموگلوبین، هماتوکریت و *MCHC* مشاهده نکردند، همچنین تعداد گلبول‌های قرمز به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد کاهش نشان داد (۱۷). نتایج این مطالعه با یافته‌های تحقیق حاضر در موارد هموگلوبین، هماتوکریت، MCH و MCHC همخوانی داشت. براساس این نتایج می‌توان گفت پروبیوتیک‌ها در بهبود پارامترهای خونی نقشی ندارند. ازطرفی، اکثر پروبیوتیک‌ها متعلق به گروه بزرگی از باکتری‌های اصلی فلور میکروبی روده بوده و مطالعات ثابت کرده‌اند میزان بیگانگی آن‌ها برای بدن به‌اندازه‌ای ناچیز است که سیستم ایمنی بدن را به خود جلب نمی‌کند؛ بنابراین تغییرات غیرمعنی‌دار هموگلوبین، هماتوکریت، MCH و MCHC در این پژوهش قابل‌توجیه است (۱۸). از نظر آماری در میانگین تعداد گلبول‌های قرمز در تحقیق حاضر، افزایش معنی‌داری مشاهده گردید که با نتایج مطالعه فوق همخوانی نداشت؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که افزایش معنی‌دار گلبول‌های قرمز در گروه‌های تیماری احتمالاً به دلیل جذب آهن از مواد غذایی به‌وسیله پروبیوتیک‌ها بوده است (۱۹). در بررسی میانگین تعداد پلاکت‌ها بین گروه‌های آزمایشی مشخص گردید کمترین مقدار میانگین پلاکت‌ها مربوط به گروه کنترل و بیشترین آن مربوط به گروه آلوده همراه با تیمار بوده است (جدول شماره ۱). درواقع، میانگین تعداد پلاکت‌ها در بین گروه‌های آزمایشی، اختلاف معنی‌داری نشان داد (p≤۰/۰۵). در مطالعه احمدی (سال ۱۳۹۶) در ارزیابی حاصل از بررسی میانگین تعداد پلاکت‌ها و اندیکس‌های آن در میان رت‌های آلوده به *شیگلا دیسانتری* که با *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* تیمار شده بودند، تغییرات مختصر در میانگین پلاکت‌ها در گروه آلوده به *شیگلا دیسانتری* تیمارشده با *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* دیده شد که از لحاظ آماری این تغییرات معنی‌دار نبود (۲۰). با توجه به اینکه مشابه این نتیجه در هیچ تحقیق دیگری یافت نشد؛ لذا می‌توان گفت از نظر آماری افزایش معنی‌دار در میانگین پلاکت‌ها و اندیکس‌های آن در گروه آلوده همراه با تیمار نسبت به گروه کنترل، احتمالاً به این دلیل بوده که پلاکت‌ها به‌عنوان فاکتورهای خونی، حاوی آنزیم‌های انعقادی هستند و وظیفه آن‌ها جلوگیری از خونریزی و خارج شدن گلبول‌های قرمز از رگ می‌باشد و با توجه به اینکه *کاندیدا آلبیکنس* نکروز ایجاد می‌کند و گاهی در اثر نکروز شدید احتمال تخریب بافت و ایجاد خونریزی نیز وجود دارد؛ بنابراین افزایش در تعداد پلاکت‌ها قابل‌توجیه است.

International License Creative Commons Attribution License 4.0

از طرفی، عدم تأثیر لاکتوباسیل‌ها بر میانگین تعداد پلاکت‌ها و اندیکس‌های آن احتمالاً مربوط به ماهیت این باکتری‌ها به‌عنوان پروبیوتیک می‌باشد (۲۱).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد *لاکتوباسیلوس کازئی* احتمالاً در مهار عفونت القاشده به‌وسیله *کاندیدا آلبیکنس* تأثیر دارد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد است. بدین‌وسیله از مسئولین دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان که در انجام این تحقیق ما را یاری دادند، سپاسگزاری می‌گردد.

References:

1. Rossoni RD, Fuchs BB, de Barros PP, Velloso MDS, Jorge AOC, Junqueira JC. Lactobacillus paracasei modulates the immune system of Galleria mellonella and protects against Candida albicans infection. PLOS ONE 2017;18(5):1-17. Link

2. Farahbakhsh E,Yadegari MH, Rajabi Bazl M, Taghizadeh Armaki M. Evaluation of susceptibility of strains of candida albicans isolated from AIDS patients to fluconazole and determination of CDR2 resistance gene in resistant strains by RT-PCR Method. Armaghane -e-Danesh 2011;16(3):201-10. [Full Text in Persian] Link

3. Mortazavi SH, Azadmard Demirchi S, Sowti M, Mahmudi R, Safaeean F, Moradi Azad S. Antimicrobial effects of ethanolic extract of the hu and the core of Pistacia Khinjuk stocks. Innov Food Technol 2014;1(4):81-88. [Full Text in Persian] Link

4. Mokriani S, Tokmechi A, Nojavan M. Growth inhibition of K562 cell line by extracted cell wall from Saccharomyces cerevisiae and S. bouladi as probiotic with zinc nanopaeticles. Razi J Med Sci 2015;22(132):35-45. [Full Text in Persian] Link

5. HajariTaheri F, Yazdi MH, Mahdavi M, Shokrgozar MA, Bayat M, Abolhassani M. Study of protective effect of Lactobacillus Acidophilus and Lactobacillus casei in reducing the Candida Albicans infection in BALB/C mice. J Urmia Univ Med Sci 2013;23(7):784-91. [Full Text in Persian] Link

6. Nayak SK. Probioticsandimmunity: A fish perspective. Fish Shellfish Immunol 2010:29:2-14. Link

7. Karimi K, Rahimi Sh. The effect of various level of probiotic on blood cells and fat in broiler ckicks. Pajouhesh Va Sazandegi 2006;17(1):35-45. [Full Text in Persian] Link

8. Vejdani R, Zali M. Probiotics and effect on prevent and treatment desiese. Res Med 2003;27(4):319-30. Link

9. Aboderin FI, Oyetayo VO. Haematological studies of rats fed different doses ofprobiotic, Lactobacillus plantarum, isolated from fermenting corn slurry .Pak J Nutr 2006;5(2):102-5. Link

10. Chelladurai G, Felicitta J, Nagarajan R. Protective effect of probiotic diets on haematobiochemical and histopathology changes of Mystus montanus (Jerdon 1849) against Aeromonas hydrophila. J Coastal Life Med 2013;1(4):259-64. Link

11. Asadi Khormami S, Moraki N, Valipour A. The effects of dietary probiotic, Pediococcus acidilactici, on hematological parameters of oriental Bream, Abramis brama orientalis, fry. Fish Sci Technol 2017;6(1):1-12. [Full Text in Persian] Link

12. Qin Y, Zhang L, Xu Z, Zhang J, Jiang YY, Cao Y, et al. Innate immune cell response upon Candida albicans infection. Virulence 2016;7(5):512-26. Link

International License Creative Commons Attribution License 4.0

13. Salinas I, Cuesta A, Esteban MA, Meseguer J. Diety administration of Lactobacillus delbrueckii and Bacillus subtilis, single or combined, on gilthead seabream cellular innate responses. Fish Shellfish Immunol 2005;19(1):67-77. Link

14. Picchietti S1, Mazzini M, Taddei AR, Renna R, Fausto AM, Mulero V, et al. Effect of adminisrtation of probiotic strains on GALT of larval glt- head seabream: immunohistochemical and ultrastructureal studies. Fish Shellfish Immunol 2006;22(1-2):57-67. Link

15. Gabriel UU, Ezeri GNO, Opabonmi OO. Influence of sex, source, health status and acclimation on the haematology of Clarias gariepnus. Afr J Biotechnol 2004;3(9):463-7. Link

16. Harikrishnan R, Balasundaram C, Heo M-S. Potential of probiotic- enriched diets to control Aeromonas hydrophila infection in carp. Dis Aqatic Organism 2010;9(10):41-49.·Link

17. Hosseini AR, Oraji H, Yegane S, Shahabi H. The effect of probiotic Pediococcus acidilactici on growth performance, blood and some serum parameters in Caspian salmon (Salmo trutta caspius). Iranian Sci Fish J 2014;23(2):35-44. Link

18. Panigrahi A, Kiron V, Puangkaew J, Kobayashi T, Satoh S, Sugita H. The viability of probiotic bacteria as a factor influencing the immune response in rainbow trout Oncorhynchus mykiss. Aquaculture 2005;243(1-4):241-54. Link

19. Ahmadi F, Ghandehari F, Tajedin N. Effect of Lactobacillus fermentum on hemathological and histopathological factors in rats infected by Shigella dysenteriae. J Ilam Univ Med Sci 2019;26(5):103-14. [Full Text in Persian] Link

20. Al-Dohail MA, Hashim R, Aliyu-Paiko M. Effects of the probiotic, Lactobacillus acidophilus, on the growth performance, haematology parameters and immunoglobulin concentration in African Catfish (Clarias gariepinus, Burchell 1822) fingerling. Aquac Res 2009;40(14):1642-52. Link

International License Creative Commons Attribution License 4.0