Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 7:27 +0330 on Thursday October 28th 2021

مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۱۶، شماره۴، مهر و آبان ۱۳۹۰(شماره پی در پی ۶۴)

ارزیابی اثر کاتچین بر تشکیل بیوفیلم قارچی سویه های استاندارد حساس و مقاوم *کاندیدا آلبیکنس*

فرنوش حقیقی[۱]، شهلا رودبار محمّدی[۱*]، زهرا فرهادی[۲]

[۱] دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه قارچ‌شناسی پزشکی، [۲] دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه زنان و زایمان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۳/۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۳/۸

چکیده

زمینه وهدف: *کاندیدا آلبیکنس* شایع‌ترین عامل عفونت‌های قارچی است. یافتن روش‌ها و عوامل نوین مبارزه با این عفونت‌ها ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این مطالعه ارزیابی اثر کاتچین بر تشکیل بیوفیلم قارچی سویه‌های استاندارد حساس و مقاوم *کاندیدا آلبیکنس* بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۸۹ در دانشگاه تربیت مدرس انجام شد، رقت‌های سریالی از محلول کاتچین در میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای تهیه شد. حداقل غلظت مهارکنندگی با روش رقت‌سازی در محیط کشت مایع ارزیابی گردید. بیوفیلم *کاندیدا آلبیکنس* در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای تشکیل و اثر ضد کاندیدایی کاتچین بر روی آن بررسی شد. داده‌ها با آزمون آماری تی تست تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: حداقل غلظت مهارکنندگی ۵۰ کاتچین، ۵/۷۷ میکروگرم در میلی‌لیتر و حداقل غلظت مهارکنندگی ۹۰، ۸/۳۳ میکروگرم در میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی آن ۹/٤۷ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید. غلظت مهارکنندگی بیوفیلم کاتچین و فلوکونازول برای سویه حساس به فلوکونازول به ترتیب؛ ۱۹/۳۵ و۴ میکروگرم در میلی‌لیتر و هم‌چنین برای سویه مقاوم به فلوکونازول به ترتیب؛ ۲۳/۵۳ و ۸ میکروگرم در میلی‌لیتر بود.

نتیجه‌گیری: ماده کاتچین اثر مطلوبی در حذف بیوفیلم *کاندیدا آلبیکنس* در مقایسه با داروی فلوکونازول نشان داد. از این رو به نظر می‌رسد این عامل گیاهی می‌تواند به عنوان یک عامل ضد قارچی جهت حذف کاندیدا مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: بیوفیلم، کاندیدا، کاتچین

[*] **نویسنده مسئول**: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه قارچ‌شناسی پزشکی
Email: sh.mohammadi@madares.ac.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 7:27 +0330 on Thursday October 28th 2021

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 7:27 +0330 on Thursday October 28th 2021

مقدمه

بخش اعظم اجتماع میکروبی موجود در طبیعت را بیوفیلم‌ها تشکیل می‌دهند که تحت شرایط مختلف می‌توانند مفید یا مضر واقع شوند(۱). امروزه بیوفیلم‌ها بسیار مورد توجه قرار دارند، زیرا در پزشکی می‌توانند مشکل ساز باشند، که این مسئله ناشی از ویژگی‌های بیوفیلم‌ها از جمله؛ مقاومت بالا در برابر سیستم ایمنی، مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها، بیوسایدها و پرتوها می‌باشد(۲).

میکروارگانیسم‌های مختلف که توانایی تشکیل بیوفیلم بر روی سطوح را دارند، می‌توانند بر روی ابزارهای پزشکی تجمع یابند و با کلونیزاسیون و ایجاد عفونت، مشکلات خاصی را در درمان ایجاد کنند. از جمله این میکروارگانیسم‌ها، گونه‌های کاندیدا هستند که توانایی تشکیل بیوفیلم بر روی مواد سنتتیک را دارا می‌باشند. این امر نه تنها موجب پایداری عفونت‌های قارچی می‌شود، بلکه می‌تواند با تسهیل چسبندگی سایر میکروارگانیسم‌ها منجر به بیماری‌های صعب العلاج قارچی گردد(٤ و٣). به لحاظ ساختاری بیوفیلم‌ها اجتماع مستقل و پیچیده‌ای از ارگانیسم‌های تجمع یافته برروی سطوح می‌باشند. انواع مختلفی از میکروارگانیسم‌ها قادرند در ساختار بیوفیلم رشد کنند. بیوفیلم‌ها می‌توانند متشکل از یک جمعیت یک گونه‌ای یا یک اجتماع چند گونه ای میکروبی باشند. این گونه ارگانیسم‌ها در یک بستر پلی‌ساکاریدی محصور می‌شوند که بر روی هر سطحی به ویژه سطوح زنده مانند بافت‌ها و همچنین سطوح غیر زنده وسایل پزشکی مانند پروتزهای مصنوعی مورد استفاده و ابزارها مانند سوندها وایمپلنت‌ها، همچنین سیستم‌های آب آشامیدنی و لوله‌کشی‌ها تشکیل شوند(۶ و۵).

تشکیل بیوفیلم فرآیندی پیچیده و پویاست. اغلب سطوح آغشته به مواد غذایی، چربی‌ها و پروتئین‌ها، میکروارگانیسم‌ها با اتصال غیر قابل برگشت به این سطوح بر روی آنها رشد و تکثیر می‌نمایند و همزمان پلیمرهای خارج سلولی تولید می‌کنند که باعث می‌شود، میکروارگانیسم‌ها در یک ماتریکس اگزوپلیمری قرار گیرند(۷). این ماتریکس پوشش محکمی حاوی؛ پلی‌ساکارید، پروتئین‌ها، فسفولیپیدها و اسیدهای‌نوکلئیک و سایر مواد پلیمری هیدراته است که از خشک شدن جمعیت میکروبی جلوگیری می‌کند. چنین ماتریکسی با جمع‌آوری مواد غذایی و جلوگیری از دسترسی بیوسایدها و مواد شیمیایی مضر، از سلول‌های بیوفیلم محافظت می‌کند(۸ و ۷).

شناسایی و معرفی عواملی که بتواند مانع تشکیل بیوفیلم گردد و یا رشد آن را مهار کند، امروزه مورد توجه دانشمندان قرار گرفته است. از جمله این عوامل می‌توان به مواد با منشاء طبیعی از جمله ماده موثره چای سبز و کاتچین[1]اشاره کرد.

بعد از آب، چای رایج‌ترین نوشیدنی در سراسر دنیا می‌باشد. گیاه چای با نام علمی

1-Catechin

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 7:27 +0330 on Thursday October 28th 2021

کاملیا سینسیس[1] حاوی مقدار زیادی پلی فنل با ساختار ایزوفلاوان بوده است این ترکیب ۳۰ درصد وزن خشک گیاه را تشکیل می‌دهد، که به ترتیب مقدار این مواد در چای عمل آوری شده کمتر می‌شود، به طوری که در انواعی از چای سیاه مقدار آن به صفر تنزل می‌یابد. پلی‌فنل‌ها مواد بی‌رنگ و محلول در آب می باشند که طعم تلخ چای را ایجاد می‌نمایند(۱۱-۹). ساده‌ترین و مؤثرترین ماده در بین ترکیب‌های پلی فنلی کاتچین‌ها می‌باشند که در حدود ۵ درصد وزن خشک چای سیاه و عصاره آبی آنها را کاتچین تشکیل می‌دهد و شامل چهار گروه اپی کاتچین[2]، اپی گالوکاتچین[3]، اپی کاتچین گالات[4] و اپی گالوکاتچین گالات[5] می‌باشند(۱۲).

برخی از ویژگی‌های کاتچین که موجب برتری آن نسبت به سایر گیاهان دارویی شده است، شامل؛ خواص آنتی‌اکسیدانی، کاهش کلسترول، کاهش فشارخون و قندخون می‌باشند. مطالعه‌ها نشان داد که فراکشن‌های کاتچین تخلیص شده از چای سبز و سیاه به ویژه اپی کاتچین گالات و اپی گالوکاتچین گالات از رشد باکتری‌ها جلوگیری می‌کند(۱۳و۹).

با توجه به توانایی *کاندیدا آلبیکنس* در تشکیل بیوفیلم قارچی و نقش مهم آن در شیوع بیماری‌های عفونی و از طرف دیگر با در نظر گرفتن علم رو به رشد گیاهان دارویی، هدف از این مطالعه ارزیابی اثر کاتچین بر تشکیل بیوفیلم قارچی سویه‌های استاندارد حساس و مقاوم *کاندیدا آلبیکنس* بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۸۹ در دانشگاه تربیت مدرس انجام شد، از دو سویه استاندارد *کاندیدا آلبیکنس* شامل؛ سویه حساس ATCC ۱۰۲۳۱[6]، تهیه شده از بخش قارچ‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و سویه مقاوم ATCC ۷۶۶۱۵، تهیه شده از مرکز دارویی دانشگاه ارتش شانگ‌های چین استفاده شد. با استفاده از لام نئوبار سوسپانسیون سلولی به غلظت ۱×۱۰^{۶} سلول در هر میلی‌لیتر در بافر فسفات سالین[7] از هر یک از سویه‌ها تهیه گردید.

جهت انجام تست میکرودایلوشن، ابتدا ۰/۰۳ گرم از پودر کاتچین تهیه شده از شرکت سیگما در ۱ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید. سپس با استفاده از فیلتر ۰/۲۲ میکرومتری استریل گردید و در نهایت رقت‌های متوالی از آن در آب مقطر تهیه شد.

هم‌چنین ۰/۰۱۲۸ گرم از پودر فلوکونازول خریداری شده از شرکت سیگما در یک میلی‌لیتر دی

1-Camellia Sinensis
2-Epicatechin (EC)
3-Epigallocatechin (EGC)
4-Epicatechin gallate (ECG)
5-Epigallocatechin gallate (EGCG)
6-American Type Culture Collection (ATCC)
7-Phosphate Buffer Saline (PBS)
8-Dimethyl Sulfoxide(DMSO)

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 7:27 +0330 on Thursday October 28th 2021

متیل سولفوکساید[۸] حل شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار گرفت. پس از آن رقت‌های ۱۲۸،۶۴،۳۲،۱۶،۸،۴،۲،۱/.،۰/۲۵./. میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه گردید. سپس با استفاده از فیلتر سرنگی ۰/۲۲ میکرومتری استریل شد.

برای تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی[۱] کاتچین و داروی فلوکونازول بر روی رشد *کاندیدا آلبیکنس* از طریق تست میکرودایلوشن به این روش عمل شد؛ پس از تهیه استوک‌های ۱۰۰ ـ ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از پودر کاتچین و ۱۲۸ ـ ۰/۰۶۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر از پودر فلوکونازول مطابق استاندارد[۲] با استفاده از میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای، تست میکرودایلوشن انجام گردید. بدین منظور در هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه‌ای، ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت سابورودکستروزبراث، ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون مخمری با غلظت ۱×۱۰^{۶} به همراه رقت‌های مختلف کاتچین و فلوکونازول اضافه شد. این آزمون به صورت سه بار تکرار انجام شد. پلیت ۹۶ خانه‌ای به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور قرار داده شد و پس از طی مدت انکوباسیون از هر چاهک مورد آزمون مقدار ۱۰ میکرولیتر برداشت شده و بر روی محیط سابورودکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل تلقیح گردید. سپس پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرارگرفتند. بعد از آن تعداد کلنی‌های حاصل شمارش و ارزیابی شد(۱۴).

سوسپانسیونی به غلظت ۱×۱۰^{۶} در محیط YNB[۳] (شرکت هایمدیا هند) حاوی ۱۰۰ میلی‌مولار گلوکز تهیه شد و به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون قارچی فوق در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه‌ای ریخته شد. سپس پلیت در انکوباتور شیکردار (مدل استوارت ساینتیفیک انگلیس) ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۷۵ دور دقیقه به مدت ۹۰ دقیقه قرار گرفت تا سلول‌ها به کف چاهک متصل شوند. به منظور جداسازی سلول‌های اتصال نیافته و آزادزی هر چاهک با ۱۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سالین با اسیدیته استاندارد ۷/۴ شستشو داده شد. عمل شستشو سه بار تکرار شد. به دنبال آن ۲۰۰ میکرولیتر محیط YNB حاوی ۱۰۰ میلی مولار گلوکز به هر چاهک افزوده گردید و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور شیکردار نگهداری شد. پس از طی زمان مورد نظر بیوفیلم تشکیل شده مجدداً با ۱۰۰ میکرولیتر بافر سالین شستشو داده شد. سپس رقت‌های ۱۰۰ ـ ۰/۵ میکروگرم در میلی لیتر از کاتچین و رقت‌های ۱۲۸ ـ ۰/۱۲۵ از فلوکونازول به هر چاهک پلیت افزوده گردید و حجم هر چاهک با استفاده از محیط RPMI- ۱۶۴۰ (شرکت گیبکو) به ۱۰۰ میکرولیتر رسانیده شد.

1-Minimum Inhibitory Concentration (MIC)
2-National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)
3-Yeast Nitrogen Base (YNB)

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 7:27 +0330 on Thursday October 28th 2021

پس از تشکیل بیوفیلم در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای به منظور بررسی تعداد سلول‌های زنده بیوفیلم از رنگ حیاتی MTT[1] (شرکت سیگما) استفاده شد. بدین ترتیب ابتدا ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی هر چاهک جمع‌آوری شده به همراه ۵۰ میکرولیتر محیط YNB غنی شده با گلوکز و هم‌چنین ۲۰ میکرولیتر محلول تترازولیوم به مدت ۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از سپری شدن زمان مورد نظر و شستشو با بافر مذکور، ۱۰۰ میکرولیتر محلول ۰/۵ درصد دی متیل سولفوکساید به تمام چاهک‌های کنترل و آزمون افزوده شد، مجدداً به مدت ۱۰ دقیقه در انکوباتور قرار داده شدند. بعد از طی زمان گرماگذاری با استفاده از دستگاه الایزا ریدر (مدل ممرت آلمان) جذب نوری پلیت در ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد، سپس اعداد جذب نوری در فرمول زیر جایگذاری گردید تا درصد مهار رشد مشخص شود(۱۵).

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS [2] و آزمون آماری تی تست[3] تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

نتایج به دست آمده از روش MTT نشان داد که مقدار بیوفیلم زمانی که با کاتچین تیمار گردید، در مورد سویه حساس ۷۸ درصد و برای سویه مقاوم ۵۴ درصد کاهش یافت که این مقادیر اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل نشان دادند($p<0/05$) (نمودار ۱).

بر اساس نتایج حاصله، حداقل غلظت مهارکنندگی ۵۰ کاتچین ۵/۷۷ و حداقل غلظت مهارکنندگی ۹۰ آن ۸/۳۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی آن ۹/۴۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. غلظت مهارکنندگی بیوفیلم کاتچین و فلوکونازول برای سویه حساس به فلوکونازول به ترتیب؛ ۱۹/۳۵ و ۴ و برای سویه مقاوم ۲۳/۵۳ و ۸ میکروگرم در میلی‌لیتر بود(جدول ۱).

بحث

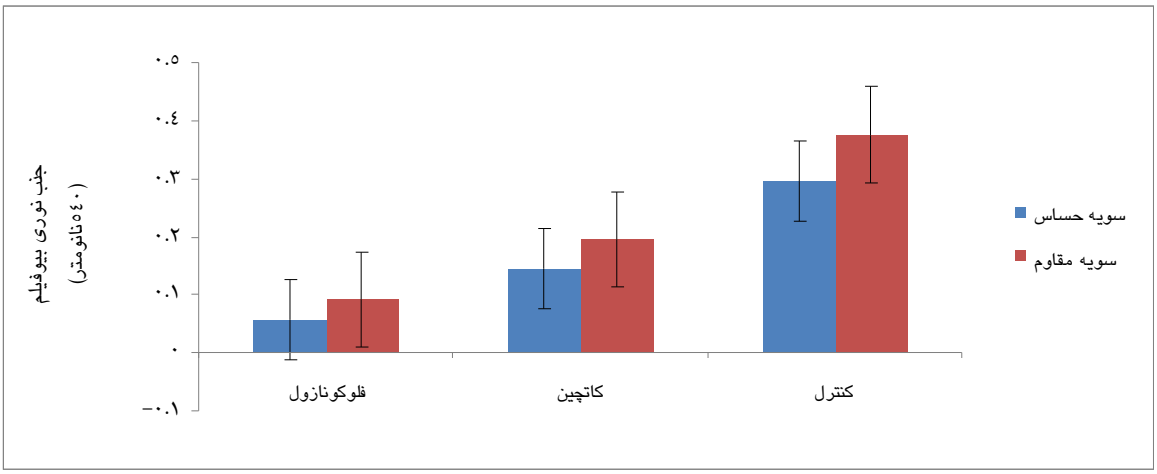
کاندیدا آلبیکنس چهارمین عامل مهم عفونت‌های مزمن قارچی است که مخاط را درگیر نموده و عفونت در بافت‌های عمقی ایجاد می‌نماید. این قارچ با توجه به فاکتورهای بیماری‌زایی خاص از قبیل؛ توانایی اتصال قارچ بر روی سطوح مختلف زنده و غیر زنده، مانند سوندها و ایمپلنت‌ها و تشکیل بیوفیلم، عفونت‌های سیستمیک و مهاجم ایجاد کرده و مرگ و میر قابل توجهی را موجب می‌شود(۱۶و۶). در نتیجه شناسایی و معرفی عواملی که مانع از اتصال و تشکیل بیوفیلم بر روی سطوح شوند، از جمله اقدامات اساسی جهت پیشگیری از تشکیل بیوفیلم و جلوگیری از انتشار عفونت‌های قارچی بیمارستانی است(۱۹-۱۷). نتایج این مطالعه نشان داد، مناسب‌ترین غلظت کاتچین برای مهارکنندگی بیوفیلم سویه حساس ۱۹/۳۵ و برای سویه مقاوم ۲۳/۵۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد.

1- Methyl Thiazol Tetrazolium (MTT)
2-Statistical Package for Social Sciences
3-T-Test

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 7:27 +0330 on Thursday October 28th 2021

جدول ۱: مقایسه حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی کاتچین بر سویه های استاندارد حساس و مقاوم *کاندیدا آلبیکنس*

نوع سویه	متغیر مهار کننده	محدوده غلظت (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	حداقل غلظت مهارکنندگی ۵۰ (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	حداقل غلظت مهارکنندگی ۹۰ (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	حداقل غلظت کشندگی (میکروگرم بر میلی‌لیتر)
حساس	کاتچین	۰/۵ – ۱۰۰	۵/۷۷	۸/۳۳	۹/٤۷
	فلوکونازول	۰/۱۲۵ – ۱۲۸	۰/۱۲۵	۰/۵	۱
مقاوم	کاتچین	۰/۵ – ۱۰۰	۸/۲۷	۹/٤۷	۱٦/۸
	فلوکونازول	۰/۰٦۲ – ۱۲۸	۱	٤	۸



نمودار ۱: مقایسه میزان جذب نوری بیوفیلم سویه حساس و مقاوم تیمار شده با کاتچین

کاجیا و همکاران[1](۲۰۰۴)، با مطالعه خواص ضد میکروبی مشتقات کاتچین به این نتیجه دست یافتند که در ساختار کاتچین حضور ساختار زنجیره‌ای آلکیل در خاصیت ضد میکروبی کاتچین نقش دارد و با افزایش طول زنجیره آلکیل این خاصیت نیز افزایش می‌یابد(۱۷).

شیمامورا و همکاران[2] (۲۰۰۷) با بررسی اثر کاتچین بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به داروی متی سیلین دریافتند، بین اپی گالوکاتچین گالات و داروهای بتالاکتام در مهار رشد باکتری ارتباط سینرژیستی وجود دارد. این ماده با اثر بر روی دیواره سلولی باکتری منجر به افزایش نفوذپذیری دیواره نسبت به داروها می‌گردد (۱۸).

سانگ و همکاران[3](۲۰۰۵) با مطالعه اثر کاتچین بر روی ویروس آنفولانزا پی بردند که ترکیبات فلاونوئیدی موجود در کاتچین به ویژه اپی گالوکاتچین گالات، توانایی مهار تکثیر تمامی زیر گونه‌های ویروس آنفولانزا را در شرایط آزمایشگاهی دارا می‌باشد (۱۹).

1-Kajiya et al
2-Shimamura et al
3-Song et al

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 7:27 +0330 on Thursday October 28th 2021

سـویه‌هـای مقـاوم قـارچی معمـولاً در ایجـاد بیوفیلم‌های مقاوم به دارو مهم‌تر از سویه‌های حساس می‌باشند(۲۰). جهت ارزیابی تشکیل بیوفیلم روش‌های متعددی مانند استفاده از میکروسـکوپ لیـزری نگـاره کنفوکال[۱]، روش فلورسانس هیبریداسیون در محـل[۲] یا استفاده از نوکلئوتیدهای نشان‌دار وجـود دارد(۲۱). چنانچه قابل دسترس بودن هر یـک از ایـن روش‌هـا و قابلیـت تکرارپـذیری آنهـا و هـم‌چنـین حـساس بـودن روش‌هـا را در نظـر بگیـریم مـی‌تـوان از تعـدادی از تست‌ها جهت ارزیـابی بیـوفیلم اسـتفاده کـرد. یکـی از روش‌های متداول و استاندارد بررسی تشکیل بیـوفیلم ارزیابی مقدار زنده بودن سلول‌ها پس از تیمار با مواد مورد نظر اسـت، کـه بـدین منظـور مـی‌تـوان از رنـگ حیاتی MTT استفاده کرد(۲۳ و۲۲).

نتیجه‌گیری

این مطالعـه نـشان داد کـه کـاتچین دارای اثـر مهار کنندگی بر روی سلول‌هـای آزادزی و بـا غلظـت بیشتر بر روی سـلول‌هـای بیـوفیلم مـی‌باشـد. میـزان کاتچین مؤثر در مهار رشد مخمرهای کاندیدا آلبیکنس بسته به تعداد سلول قارچ متفاوت می‌باشد، به طـوری که هر چه تعداد سلول‌های مخمری بیشتر باشد غلظت بیشتری از کاتچین جهت مهار کنندگی مورد نیاز است.

بـا توجـه بـه هـم‌خـوانی نتـایج حـداقل غلظـت مهارکننـدگی کـاتچین بـر روی سـلول‌هـای آزادزی و بیوفیلم، مبنی بر اثر قابل توجه ضد قارچی ایـن مـاده، پیشنهاد می‌گردد در آینده با به دست آوردن اطلاعات بیشتر در خصوص اثر ایـن مـاده در مـدل حیـوانی و هم‌چنین در سطح سلولی می‌توان به معرفی کامل ایـن مـاده بـا در نظـر گـرفتن خاصـیت ضـد قـارچی آن پرداخـت و نهایتـاً آن را گزینـه‌ای مناسـب در جهـت زدودن و حذف لایه‌هـای میکروبـی و قـارچی معرفـی نمود.

تقدیر و تشکر

این تحقیق با حمایت مـالی معاونـت پژوهـشی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیـت مـدرس انجـام شد.

1-Confocal Laser Scanning Microscope(CLSM)
2-Fluorescent In Situ Hybridization(FISH)

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 7:27 +0330 on Thursday October 28th 2021

REFERENCES:

1.Eisenmann H, Letsiou I, Feuchtinger A, Beisker W, Mannweiler, E, Hutzler P, Arnz P. Interception of small particles by flocculent structures, sessile ciliates, and the basic layer of a wastewater biofilm. Appl Environ Microbiol 2001; 67: 4286-92.
2.Liaqat L, Sabri AN. A Laboratory approach to characterize biocides resistant isolates from dental unit water line biofilms. Asian Exp Biol Scl 2010; 1(2): 460-70.
3.Butterfield PW, Bargmeyer AM, Camper AK, Biederman JA. Modified enzyme activity assay to determine biofilm biomass. J Microbiol Met 2002; 50(1):23-31.
4.Prakash B, Veeregowda BM, Krishnappa G. Biofilms: A survival strategy of bacteria. Curr Sci Rev 2003; 85(9):1299-307.
5.Kumar A, Prasad R. Biofilms. J K Sci Rev 2006; 8(1): 4-7.
6.Kojic EM, Darouiche RO. Candida Infections of medical devices. Clin Microbiol Rev 2004; 17(2): 255-67.
7.Clutterbuck AL, Woods EJ, Knottenbelt DC, Clegg PD, Cochrane CA, Percival SL. Biofilms and their relevance to veterinary medicine. Vet Microbiol 2007; 121(1-2):1-17.
8.Stewart PS. Diffusion in biofilms. Bacteriol 2003; 185:1485-91.
9.Dufresne CJ, Farnworth ER. A review of latest research findings on the health promotion properties of tea. J Nutr Biochem 2001; 12(7): 404-21.
10.Middleton EJR. Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. Adv Exp Med Biol 1998; 439: 175-82.
11.Fujiki H. Two stages of cancer prevention with green tea. J Cancer Res Clin Oncol 1999; 125(11): 589-97.
12.Hamilton-Miller JMT. Antimicrobial Properties of Tea (Camellia sinensis L). Antimicrobiol Chemo 1995; 39(11):2375 -7.
13.Cabrera C, Artacho R, Nez PG. Beneficial Effects of Green Tea—A Review. J American Col Nutri 2006; 25(2): 79- 99.
14. Pujol I, Capilla J, Fernández-Torres B, Ortoneda M, Guarro J. Use of the sensitive colorimetric microdilution panel for antifungal susceptibility testing of dermatophytes. J Clin Microbiol 2002; 40(7): 2618-21.
15.Krom BP, Jesse B, Cohen JB, Feser GE, Cihlar RL. Optimized candidal biofilm microtiter assay. J Microbiol Met 2007; 68(1): 421-3.
16.Nett JE, Andes D. Review of Techniques for diagnosis of catheter-related candida biofilm infections. Curr Fungal Infec Rep 2008; 2: 237–43.
17. Kajiya K, Kumazawa S, Nakayama T. Interaction of tea Catechin derivatives with lipid bilayers and their antibacterial activity. Food Ingredients J Jpn 2004; 209(10):51-2.
18.Shimamura T, Zhao WH, Hu ZQ. Mechanism of action and potential for use of tea Catechin as an antiinfective agent . Anti-infec Agen Med Chem 2007; 6: 57-62.
19.Song JM, Lee KH, Seong BL. Antiviral effect of catechins in green tea on influenza virus. Antivirol Res 2005; 68: 66-74.
20.Perumal P, Mekala S,Chaffin WL. Antifungal drug resistance in Candida albicans biofilms: a role for cell density. Antimicrob Agen Chemo 2007; 51(7): 2454-63.
21.Schaudinn C, Carr G, Gorur A, Jaramillo D, Costerton JW, Webster P. Imaging of endodontic biofilms by combined microscopy (FISH/CLSM – SEM). J Microsc 2009; 235(2):124-7.
22.Plumb JA .Cell Sensitivity Assays: The MTT assay. Methods in molecular medicine. Met Mol Med 2004; 88(4):165-9.
23.Gordon O, Slenters TV, Brunetto PS, Villaruz AE, Sturdevant DE, Otto M, et al. Silver coordination polymers for the prevention of implant infection: thiol interaction, impact on respiratory chain enzymes and hydroxyl radical induction. Antimicrob Chemo 2010; 54(10): 4208-18.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 7:27 +0330 on Thursday October 28th 2021

The Effect of Catechin on Fungal Biofilm Formation of Standard Susceptible and Resistant Strains of *Candida albicans*

Haghighi F[1], Roudbar Mohammadi SH[1*] , Farhadi Z[2]

[1]Department of Medical sciences, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[2]Department of Medical sciences, School of Medical Sciences , Shahid Beheshti University,Tehran, Iran
Received: 25 May 2011 Accepted: 02 Aug 2011

Abstract:

Background & Aim: *Candida albicans* is the most common cause of fungal infections which is increasing all over the world. Finding new methods or agents for control of these fungal infections is necessary. The aim of this study was to evaluate the antifungal activity of Catechin against standard strain of *C.albicans*.

Methods: This experimental study was conducted at Tarbiat Modares University of Medical Sciences in 2010. Serial dilutions of Catechin solution were prepared in 96 well micro plates. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was assessed by Microdilution broth technique. Biofilms of *C. albicans* were developed on flat-bottomed 96-well microtiter plates and the antifungal effect of Catechin was evaluated. Data were analyzed using t-test statistical method.

Results: MIC50 of 5.77 µg/ml, MIC90 of 8.33 µg/ml and MFC of 9.47 µg/ml were found for Catechin. Biofilm inhibitory concentration of Catechin and fluconazole for susceptible strain of C. albicans was19.35, 4 µg/ml and for resistant strain was 23.53, 8 µg/ml respectively.

Conclusion: Catechin had suitable antifungal effect against *C.albicans* biofilms in comparison with fluconazole. It seems that this herbal agent can be used for the elimination of Candida.

Keywords: Biofilm, *Candida*, Catechin

* **Corresponding Author: Roudbar mohammadi sh**, Department of Medical sciences, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
Email: sh.mohammadi@modares.ac.ir