مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی سمنان- جلد ۹، شماره ۲ (پیاپی ۲۶) ، زمستان ۱۳۸۶

بررسی میزان تاثیر فاکتورهای محیطی و تغذیه ای برمیزان تولید لوله زایا توسط *کاندیدادابلینسیس* درشرایط برون تنی (In vitro)

عباسعلی جعفری ندوشن* (Ph.D)

دانشگاه علوم پزشکی وخدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، دانشکده پزشکی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی

چکیده

سابقه و هدف: *کاندیدا دابلینسیس* از گونه‌های جدیداً شناخته شده جنس کاندیدا است. اگر چه این گونه در اوایل به عنوان مهم‌ترین عامل جدا شده از ضایعات دهانی افراد مبتلا به ایدز به شمار می‌رفت ولی اخیراً بطور مکرر از بیماران ایمنوساپرس غیر ایدزی نیز جدا شده است. توانایی کاندیدا دابلینسیس برای تولید لوله زایا در مجاورت با سرم انسان از مهم‌ترین مکانیسم‌های بیماری‌زایی این قارچ محسوب می‌شود که تحت تاثیر بعضی عوامل محیطی و تغذیه‌ای در بدن میزبان می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه بررسی تاثیر بعضی عوامل محیطی مانند دما، pH و میزان غلظت گلوکز بر میزان تولید لوله زایا توسط گونه کاندیدا دابلینسیس در شرایط برون تنی بوده است.

مواد و روش‌ها: تست تولید لوله زایا (Germ tube) توسط سوش استاندارد کاندیدا دابلینسیس (CD 34) را با استفاده از سرم انسان دارای قند نرمال در حرارت، pH، و غلظت‌های مختلف در آزمایشگاه انجام و زمان شروع تولید اولین سلول‌های تولید کننده لوله زایا (به دقیقه) و همچنین میانگین درصد سلول‌های واجد لولهٔ زایا پس از دو ساعت محاسبه گردید. میانگین درصد سلول‌های واجد لوله زایا در شرایط مختلف میزان تحریک قارچ به تبدیل از حالت مخمری به رشته ای از نظر آماری (One-way ANOVA) مقایسه شدند.

یافته‌ها: تولید لوله زایا در حرارت ۴۲ درجه، pH برابر ۷ و در غلظت ۳۰ mg/ml گلوکز دارای بالاترین میزان در مقایسه با سایر شرایط محیطی و تغذیه ای بود (P=۰/۰۰۰۱). همچنین در این شرایط کم‌ترین زمان برای مشاهده اولین سلول‌های مخمری کاندیا واجد لوله زایا در شرایط برون تنی لازم بود.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که مشابه شرایط برون تنی در بدن میزبان هم همین شرایط باعث تحریک قارچ به تولید لوله زایا در بدن بخصوص در افراد دیابتی باعث تشدید ویرولانس (قدرت تهاجمی) قارچ شود.

واژه‌های کلیدی: کاندیدادابلینسیس، لوله زایا، برون تنی، دما، pH، گلوکز.

مقدمه

در سال‌های اخیر گونه‌های کاندیدا غیر آلبیکنس نیز از ضایعات کاندیدیازیس انسانی خصوصاً در افراد با سیستم ایمنی ضعیف و افراد مبتلا به ایدز جدا می‌شوند. گونه کاندیدا دابلینسیس از گونه‌های جدیداً شناخته شده است که از نظر خصوصیات ژنوتیپی و فنوتیپی (توانایی تولید لوله زایا و کلامیدوکونیدی) بسیار نزدیک به کاندیدا آلبیکنس می‌باشد [۱]. این گونه برای اولین بار از بیماران ایدزی در دوبلین ایرلند جدا شد [۲] در حالی که در حال حاضر دارای انتشار جهانی است. در سال‌های اولیه این گونه غالباً از ضایعات دهانی-حلقی بیماران مبتلا به ایدز گزارش می‌شد [۲] هر چند که اخیراً این گونه از ضایعات کاندیدیازیس دهانی افراد غیر ایدزی و از دستگاه تناسلی خانم‌های مبتلا به کاندیدیازیس واژن نیز مکرراً جدا و گزارش شده است [۴،۳]. هر چند که

* تلفن: ۸۲۴۱۷۵۱ – ۰۳۵۱ نمابر: ۸۲۴۹۷۰۵ –۰۳۵۱

Email: jafariabbas@ssu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۸۶/۹/۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۴/۵

اغلب نمونه‌های کاندیدا دابلینسیس جدا شده از ضایعات بیماران حساس به آمفوتریسین و آزول‌ها بوده ولی گزارش‌هایی مبنی بر مقاومت این گونه به داروهای رایج ضد قارچی متداول از جمله فلوکونازول در افراد ایدزی گزارش شده است [۶،۵]. در ایران هم این گونه را از ضایعات بیماران مبتلا به کاندیدیازیس جدا شده است [۷].

از جنس کاندیدا تنها دو گونه کاندیداآلبیکنس و کاندیدا دابلینسیس علاوه بر توانایی تولید مسیلیوم کاذب توانایی تولید لوله زایا یا جرم تیوب نیز دارند که در بیماری‌زایی این قارچ‌ها مهم است [۸]. میسیلیوم کاذب مشابه بلاستوکونیدی با عمل جوانه زدن تشکیل می‌شود هرچند که سلول جدید متصل به سلول مادر بوده و طویل می‌شود. برعکس جرم تیوب رشد خارج سلولی بلاستوکونیدی‌ها است که به وسیله رشد راسی یک سلول و به دنبال آن تشکیل دیواره عرضی در پشت نوک رویندهٔ آن به وجود می‌آید. در حقیقت لوله زایا مقدمه و شروع تشکیل میسلیوم حقیقی می‌باشد که دارای دیواره‌های موازی می‌باشد [۹ و۱۰ و۱۱ و ۱۲ و ۱۳]. در شرایط In vitro تغییر مورفولوژیک مخمری به میسلیال و از جمله جرم تیوب به وسیله شرایط محیطی و یاتغذیه‌ای (مانند حرارت ، pH و منبع کربن) تقویت می‌شود هر چند که تاکنون مکانیسم‌های فیزیولوژیک و مولکولار آن هنوز ناشناخته است [۱۴].

هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی تاثیر بعضی عوامل محیطی مانند دما، pH و میزان غلظت گلوکز بر میزان تولید جرم تیوب توسط گونه کاندیدادابلینسیس در شرایط برون تنی (In vitro) بوده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع laboratory trial بوده که در شرایط برون تنی (In vitro) بر اساس تست استاندارد تولید لوله زایا (Germ tube test) است که برای تشخیص افتراقی کاندیدا آلبیکنس از سایر گونه‌ها بکار می‌رود [۷]. برای بررسی نقش عوامل محیطی دما pH، و همچنین نقش غلظت گلوکز بر میزان تحریک تولید لوله زایا این تست را در شرایط کنترل شده (غلظت‌های مختلف گلوکز، دما و pH متفاوت و مورد نظر) و هر شرایط در ۵ تکرار انجام گردید. برای این منظور از سوش استاندارد کاندیدا دابلینسیس (CD 34) بر روی محیط سابورودکستروزآگار (Oxoid, UK) کشت تهیه و سپس از کلنی‌های تازه آن با استفاده ازیک لوپ استریل داخل لوله‌های آزمایش محتوی ۰/۵ میلی‌لیتر سرم انسان (سرم فردی با قند خون نرمال) سوسپانسیون ($۱۰^{۵}$ CFU/ml ✻ ۱) تهیه گردید. جهت بررسی نقش عوامل مذکور این سوسپانسیون درشرایط مختلف کنترل شده به مدت ۲ ساعت نگهداری و آزمایش شدند. این شرایط شامل درجه حرارت های ۲۷، ۳۲، ۳۷ و۴۲ درجه سانتی‌گراد، pHهای ۵/۵، ۶، ۶/۵، ۷ و در مجاورت با غلظت‌های صفر، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرو بر میلی لیتر و گلوکز بوده است. پس از تهیه سوسپانسیون مخمری ($۱۰^{۵}$×۱) با شرایط فوق درفواصل ۱۰ دقیقه و حداکثر تا ۲ ساعت یک قطره از سوسپانسیون تست را بر روی یک لام هموسیتومتر (توما) زیر میکروسکوپ قرارداده و با پوشاندن توسط یک لامل تمیز در زیرمیکروسکوپ با عدسی شماره ۴۰ و ۱۰ بررسی شدند. کوتاه‌ترین زمانی که رشته‌های ظریف مشخصه جرم تیوب (لوله زایا) در اطراف سلول‌های مخمری مشاهده می‌شد ثبت و در نهایت پس از ۲ ساعت میانگین درصد سلول‌های مخمری واجد لوله زایا در ۵ میدان دید برای هر شرایط آزمایش شمارش و میانگین و انحراف معیار آنها محاسبه گردید.

برای هرشرایط موردآزمایش ۵ تکرار (از ۵ کلنی مختلف) کاندیدا دابلینسیس آزمایش شده و میانگین درصد سلول‌های واجد لوله زایا را در شرایط مختلف باتست آماری One-way ANOVA مقایسه و مقدار $P\leq ۰/۰۵$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

تولید لوله زایا در حرارت ۴۲ درجه سانتیگراد، pH برابر ۷ و در غلظت mg/ml ۳۰ گلوکز بالاترین میزان بوده (جداول ۱ تا ۳) و همچنین در این شرایط کوتاه‌ترین زمان (به دقیقه)

برای مشاهده اولین مخمرهای دارای لوله زایا به ترتیب پس از میانگین ۱۸، ۴۲ و ۶۰ دقیقه اولین سلول‌های واجد لوله زایا مشاهده گردیدند (جدول ۴).

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار درصد سلول‌های C. dubliniensis دارای لوله زایا در حرارت‌های مختلف مورد بررسی

دما(درجه سانتیگراد)	میانگین	انحراف معیار
۲۷	۱	۰
۳۲	۸	۱/۶
۳۷	۳۳/۲	۱/۹
۴۲	۴۴/۴	۱/۸

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار درصد سلول‌های C. dubliniensis دارای لوله زایا در pH مختلف مورد بررسی

pH	میانگین	انحراف معیار
۵/۵	صفر	صفر
۶	۱۸/۲	۲/۲
۶/۵	۲۸/۲	۲/۶
۷	۴۵/۲	۱/۹

جدول ۳. میانگین و انحراف معیار درصد سلول‌های C. dubliniensis دارای لوله زایا در غلظت‌های مختلف گلوکز مورد بررسی

غلظت گلوکز (mg/ml)	میانگین	انحراف معیار
صفر	۱۶	۱/۶
۱۰	۲۰	۱/۶
۲۰	۴۳	۳/۱
۳۰	۵۸/۶	۵/۵

با انجام آزمون آماری Oneway-ANOVA تفاوت بین میانگین درصد سلول‌های دارای لوله زایا در دمای مختلف، pH مختلف و غلظت مختلف گلوکز مورد بررسی از نظر آماری معنی‌دار بود بود (P =/۰۰۰۱).

با انجام آزمون آماری Tukey جهت مقایسه دو به دو هر کدام از شرایط مختلف مورد آزمایش، به استثنای تفاوت بین میانگین سلول‌های داری لوله زایا در دو غلظت صفر و ۱۰ میلی‌گرم گلوکز (P= ۰/۳۷۱)، در سایر موارد مقایسه دو به دو شرایط دارای تفاوت آماری معنی‌دار بود (P= ۰/۰۰۱).

جدول ۴. میانگین و انحراف معیار زمان شروع تولید لوله زایا (دقیقه) در شرایط مختلف مورد بررسی توسط کاندیدا دابلینسیس

دما		
درجه	میانگین	انحراف معیار
۲۷	۱۰۴	۱۱/۴
۳۲	۹۲	۸/۴
۳۷	۵۰	۷/۰۷
۴۲	۴۲	۴/۵
pH		
میزان pH	میانگین	انحراف معیار
۵/۵	۲۰	۷/۱
۶	۲۶	۵/۵
۶/۵	۳۴	۵/۵
۷	۶۰	۷/۱
غلظت گلوکز		
Mg/ml	میانگین	انحراف معیار
صفر	۴۴	۵/۵
۱۰	۳۲	۴/۵
۲۰	۲۴	۵/۵
۳۰	۱۸	۴/۵

بحث و نتیجه‌گیری

تولید لوله زایا ازخصوصیات مورفولوژیک منحصر به فرد درگونه کاندیداآلبیکنس و کاندیدادابلی‌سینسیس است که در مدت زمان کوتاهی در سرم انسان مشاهده می‌شود و به عنوان یکی از راه‌های ساده برای تشخیص این دوگونه کاندیدا خصوصاً کاندیداآلبیکنس از سایر گونه‌های کاندیدا بکار می‌رود [۷]. این پدیده یعنی توانایی تغییر حالت قارچ از فرم مخمری به فرم میسلیال (لوله زایا) در حقیقت نوعی مکانیسم تهاجمی قارچ در بدن میزبان محسوب می‌شود که در بیماری‌زایی این دو گونه خصوصاً گونه کاندیداآلبیکنس موثر

می‌باشد [۱ و۲]. به علاوه مطالعات جدید بیانگر این است که این پدیده (تولید لوله زایا) یکی از مکانیسم‌های فرار از سیستم ایمنی سلولی (بیگانه خواری) توسط بعضی مخمرها از جمله دو گونه کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا دابلینسیس محسوب می‌شود زیرا به کمک این مکانیسم می‌توانند بیگانه خواری را مهار و باعث تخریب سلول بیگانه خوار شوند [۱۵].

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تعدادی از فاکتورهای محیطی و تغذیه‌ای مانند pH، حرارت و غلظت گلوکز می‌تواند در شرایط آزمایشگاهی (برون تنی) میزان تولید لوله زایا یا در حقیقت میزان قدرت تهاجمی و بیماری‌زایی قارچ موثر باشد. در مطالعه حاضر تاثیر فاکتور محیطی pH و درجه حرارت و یک فاکتور تغذیه‌ای یعنی میزان غلظت گلوکز به عنوان منبع کربنی مورد نیاز قارچ در شرایط برون‌تنی آزمایش و بررسی شد. حرارت ۴۲ درجه سانتی‌گراد، pH برابر ۷ و غلظت ۳۰ mg/ml گلوکز باعث تحریک تولید لوله زایا توسط کاندیدا دابلینسیس شد که این افزایش میزان تولید لوله زایا در مقایسه با سایر شرایط از نظر آماری معنی دار بود (P=۰/۰۰۰۱).

تحریک تولید لوله زایا در pH برابر۷ و حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد مشابه با نتایج مطالعات مشابه که برروی کاندیدا آلبیکنس بوده است [۱۶،۱۷] بوده ولی تاثیر غلظت گلوکز که برای اولین بار در این مطالعه بررسی شده است، مشابه مطالعه Casanova و همکاران است که در مطالعه آن‌ها از 3-acetyl-D-glucose amine و Hemin به عنوان منبع کربنی برای تحریک تولید لوله زایا به کار رفته بود [۱۶] در حالی که در مطالعه حاضر از گلوکز استفاده شده است. غلظت بالای گلوکز در تحریک تولید لوله زایا دراین مطالعه می‌تواند نشان دهنده اهمیت بیماری‌زایی بالای این قارچ در بیماران دیابتی باشد. در این مطالعه غلظت صفر گلوکز در لوله آزمایش معادل غلظت خون فرد با میزان گلوکز طبیعی (سرم فرد نرمال برای تست استفاده شده)، غلظت ۱۰، ۲۰و ۳۰ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر در لوله آزمایش به ترتیب معادل میزان غلظت سرمی گلوکز فردی با میزان ۲۰۰، ۳۰۰و ۴۰۰ میلی‌گرم در صد می‌باشد. افزایش سرعت در تولید و میزان تولید لوله زایا در غلظت‌های بالای گلوکز در مطالعه حاضر می‌تواند نشان دهنده مکانیسم بیماری‌زا شدن این قارچ و افزایش قدرت تهاجمی آن در مخاط، بافت‌ها و مایعات بدن بیماران دیابتی با میزان قند بالا باشد. بیماری دیابتی ازجمله عوامل مستعد کننده و زمینه ساز برای بیماری‌زا شدن کاندیداها از جمله گونه‌های کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا دابلینسیس بوده که می‌تواند باعث بروز علایم بالینی جلدی، جلدی- مخاطی و منتشره کاندیدیازیس در دیابتی‌ها شود [۱۵،۷]. نتایج مطالعه حاضر بر اهمیت کنترل میزان قند خون در بیماران دیابتی نشان می‌دهد.

در مطالعات متعدد دیگر عوامل مختلفی دیگری نیز مانند Hemin [۱۶]، دارو های ضد قارچی [۱۷]، بعضی آمینواسیدها [۱۸] و یک فاکتور گرفته شده ازپلاکت [۱۹] در شرایط برون تنی بر روی تحریک میزان و سرعت تولید لوله زایا توسط کاندیداآلبیکنس آزمایش و نشان داده شده است. در این مطالعه برای انجام آزمایشات تولید لوله زایا در شرایط آزمایشگاهی از سرم انسان استفاده شد. Isibok و همکاران [۱۴] در مطالعه‌ای نشان دادند که استفاده از سرم انسان برای انجام تست لوله زایا در مقایسه با سرم گاو و بز مفیدتر است. بعلاوه میزان تولید لوله زایا در شرایط بی هوازی (۱۰٪ غلظت CO_2) در مقایسه با شرایط هوازی بیش‌تر بوده است. Cheng و همکاران در مطالعه‌ای بر روی واکنش کاندیدا آلبیکنس در مجاورت با میزان بالای استروژن میزبان نشان دادند که تیتر بالای استروژن نیز می‌تواند باعث تشدید در سرعت تولید لوله زایا و افزایش طول لوله زایا در این قارچ در ایجاد واژینیت کاندیدایی در خانم‌ها شود که احتمالاً به دلیل نقش این هور مون در افزایش میزان غلظت گلیکوژن در سلول‌های مخاطی واژن می‌باشد [۲۰].

تشکر و قدردانی

از زحمات فراوان برادران حسین زرینفر و علی جبالی که در انجام pre test این تحقیق ما را یاری نمودند، و همچنین

از سرکار خانم فرزانه میرزایی که در تهیه مواد و محیط کشت این مطالعه ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی بعمل می آید.

منابع

[1] Warnock DW, Trends in the epidemiology of invasive fungal infections.Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi. 2007; 48: 1-12. Review.

[2] Sullivan D, Haynes K, Bille J, Boerlin P, Rodero L, Lloyd S, and et al. Widespread Geographic Distribution of Oral Candida dubliniensis Strains in Human Immunodeficiency Virus-Infected Individuals. J Clin Microbiolo 1997; 35: 960–964.

[3] Polacheck I, Strahilevitz J, Sullivan D, Donnelly, Salkin IF, and Coleman DC, Recovery of Candida dubliniensis from non-human immunodeficiency virus-infected patients in Israel. J. Clin. Microbiol 2000; 38:1 70–174.

[4] Redding S.W, C. W. Bailey JL, Lopez-Ribot WR, Kirkpatrick AW, Fothergill MG, Rinaldi, and T. F. Patterson. Candida dubliniensis in radiation-induced oropharyngeal candidiasis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2001 Jun ;91 (6):659-62

[5] Perea S, Lo pez-Ribot Jl, Wickes Bl, Kirkpatrick WR, Dib OP, Bachmann SP, and et al. Molecular mechanisms of fluconazole resistance in Candida dubliniensis isolates from human immunodeficiency virus-infected patients with oropharyngeal candidiasis. Antimicrob. Agents Chemother. 2002; 46: 1695–1703.

[6] Quindos G, Carrillo-Munoz AJ, Arevalo MP, Salgado J, Alonso-Vargas R, and et al. In vitro susceptibility of Candida dubliniensis to current and new antifungal agents. Chemotherapy 2000; 46:395–401

[7] Jafari AA, Anvari MH, Ghafoorzadah M. Identification of Candida species isolated from 150 patients'specimens infected to candidiasis using Candida CHROM agar and candida ID agar. Kowsar J 2006; 11 (4): 325-330 (Persian)

[8] Calderone, RA . Candida and candidiasis. Washington: ASM Press, 2002; 395-425

[9] Marot-Leblond A, Grimaud L, Nail S, Bouterige S, Apaire-Marchais V, Sullivan DJ, and et al. New monoclonal antibody specific for Candida albicans germ tube. J. Clin. Microbiol. 2000; 38: 61–67.

[10] Merson-Davies LA, Hopwood V, Robert R, Marot-Leblond A, Senet JM, and Odds FC. Reaction of Candida albicans cells of different morphology index with monoclonal antibodies specific for the hyphal form. J. Med. Microbiol. 1991; 35: 321–332.

[11] Hudson DA, Sciascia QL, Sanders RJ, Norris GE, Edwards PGB, Sullivan PA, and et al. Identification of the dialyzable serum inducer of germ-tube formation in Candida albicans. Microbiol, 2004; 150: 3041–3049.

[12] Ollert MW, and Calderone RA. A monoclonal antibody that defines a surface antigen on Candida albicans hyphae cross-reacts with yeast cell protoplasts. Infect. Immun. 1990; 58: 625–631.

[13] Torosantucci A Gomez MJ, Bromuro C, Casalinuovo I, and Cassone A, Biochemical and antigenic characterization of mannoprotein constituents released from yeast and mycelial forms of Candida albicans. J. Med. Vet. Mycol. 1991; 29: 361–372.

[14] Isibor JO, Eghubare AE, and Omoregie R. Germ Tube Formation in Candida albicans: Evaluation of Human and Animal Sera and Incubation Atmosphere. Shiraz E-Medical Journal 2005; 6. Available from:
http://semj.sums.ac.ir/vol6/jan2005/germtube.htm

[15] Marcos M, Jose L. Lopez-Ribot W, Kirkpatrick R, Brent JC, Bachmann SP, and et al. Replacement of Candida albicans with C. dubliniensis in Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients with Oropharyngeal Candidiasis Treated with Fluconazole. J clin microbiol, 2002; 40: 3135–3139.

[16] Casanova M, Cervera AM, Gozalbo D, and Martinez JP. Hemin Induces Germ Tube Formation in Candida albican. Infect. Immun. 1997; 65: 4360-4364.

[17] Vale-Silva LA, Buchta V, and Valentova E, Effect of subinhibitory concentration of some established and experimental antifungal compounds on the germ tube formation in Candida albicans. Folia Microbiol (Praha). 2007; 52: 39-43.

[18] Munin E, Giroldo LM, Alves LP, and Costa MS. Study of germ tube formation by Candida albicans after photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). J Photochem Photobiol B. 2007; 27, 88:16-20.

[19] Robert R, Senet JM, and Mahaza C. Molecular basis of the interactions between Candida albicans, fibrinogen, and platelets. J. Mycol Med (France) 1992; 2: 19-25.

[20] Cheng G, Yeater KM, and Hoyer LL. Cellular and Molecular Biology of Candida albicans Estrogen Response. Eukaryo. Cell. 2006; 5: 180–191.

Survey the role of temperature, pH and the glucose concentration on *in vitro* germ tube formation by *Candida dubliniensis*

A.A. Jafari-nodoushan (Ph.D)*
Parasitological and mycology Dep., Medical school, Shahid Sadoughi University of Yazd Medical Sciences and Heath services, Yazd, Iran.

Introduction: *C. dubliniensis* is a new known species in genus of *Candida*. Although this yeast was firstly isolated from oral lesions in AIDS patients, but recently it has been isolated from non-AIDS immunosupressed lesions as well. The ability of *C. dubliniensis* in production of germ tube in human serum is one of the most important virulent factors, which can induce transformation of fungi from yeast to filamentous form. This phenomenon can be altered by few environmental and nutritional factors. The general purpose of this study was to investigate the effect of temperature, pH and glucose concentrations in germ tube formation of *C. dubliniensis* in *in vitro*.

Materials and methods: The germ tube production test in human serum (with normal glucose titer) in different temperature, pH, and glucose concentrations were conducted using standard strain of *C. dubliniensis* (CD 34). The average number of cells with germ tube after 2 hours and the earliest time for production of germ tube were analyzed using one-way ANOVA test.

Results: Maximum germ tube production rate were seen in 42°C, pH 7 and in concentration of 30 mg/ml glucose (P= 0.0001) and also germ tube observed in earliest time in those conditions

Conclusion: It seems that these environmental and nutritional factors in human body can promote this fungus to produce germ tube for invasion in susceptible patients especially in diabetics.

Key words: *C. dubliniensis*, Germ tube, In vitro, Temperature, pH, Glucose

* Fax: +98 0351 8241751; Tel: +98 0351 8249705
jafariabbas@ssu.ac.ir