

اثر متابولیت کلورومایسس ماراکسیانوس بر مالاسزیا پکی درماتیس و مقایسه آن با تربینافین

امیر یزدان پناه^۱، عیسی غلامپور عزیزی^۲، عاطفه بزرگی^{۳*}

^۱ دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

^۲ استادیار گروه قارچ شناسی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

^۳ استادیار گروه میکروبیولوژی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

چکیده

کلورومایسس ماراکسیانوس عمدتاً به دلیل تحمل حرارتی، سرعت رشد بالا برای بررسی تولید متابولیت ثانویه ضد میکروبی ارزشمند هستند. مالاسزیا پکی درماتیس یکی از مخمرهای فرصت طلب است که عمدتاً در لاله گوش و پوست بدن سگ و گاهی گربه عفونت ایجاد می کند. با توجه به مقاومت دارویی و عوارض آنها، شناخت و پیگیری ترکیبات جدید دارویی ضد میکروبی از میکروبهای مفید و بی ضرر ضروری است. در این تحقیق از متابولیت این کلورومایسس ماراکسیانوس با تعیین MIC و MFC و انتشار دیسک و چاهک روی مالاسزیا پکی درماتیس اثر ضد میکروبی بررسی شدند. میانگین میزان اثر متابولیت کلورومایسس ماراکسیانوس روی مالاسزیا پکی درماتیس برابر ۵۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر و میانگین میزان MFC آن بیش از ۵۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر ($\mu\text{L/ml}$) بدست آمد. مقادیر ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ لاند متابولیت به روش دیسک و مقادیر ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ لاند به روش چاهک هاله عدم رشد ایجاد نکرد و قطر هاله عدم رشد داروی تربینافین ۱۲ میلی متر بدست آمد.

واژه های کلیدی: کلورومایسس ماراکسیانوس، مالاسزیا پکی درماتیس، متابولیت

۱- مقدمه

مخمر *Kluyveromyces marxianus* به دلیل سرعت رشد ذاتی بالا و تحمل شرایط اسیدی، قابلیت رشد و تکثیر بیشتری در محیط اسیدی ماست را داشته و فرصت رشد را از دیگر عوامل میکروبی عامل فساد، می گیرد (Diosma et al., 2014). یک مخمر هوازی است که قادر به متابولیسم تنفسی تخمیری است که شامل تولید همزمان انرژی از هر دو تنفس از طریق چرخه کربس و تخمیر اتانول است. همچنین اینولین، گلوکز، رافینوز، ساکارز و لاکتوز را به اتانول تخمیر می کند و به دلیل توانایی آن در استفاده از لاکتوز به طور گسترده در صنعت استفاده می شود (Lane & Morrissey, 2010). این مخمر غیر متعارف ویژگی های جذابی برای کاربردهای صنعتی مانند نرخ رشد بالا، تحمل حرارت، طیف گسترده ای از استفاده از منابع کربن، از جمله زایلوز، لاکتوز و اینولین و توانایی برای تولید اتانول، ترکیبات معطر، آنزیم ها، واکسن ها، مولکول های فعال زیستی، فروکتو الیگوساکاریدها، اسیدهای چرب و پروتئین های تک سلولی (SCP) دارد (Bilal et al., 2022: Qiu et al., 2023). *Kluyveromyces marxianus* معمولاً یک مخمر غیر متعارف در محصولات لبنی تخمیر شده یافت می شود که پتانسیل زیادی برای کاربردهای صنعتی دارد. به دماهای تا و بیش از ۵۰ درجه سانتیگراد و سطوح pH کمتر از ۲،۰ که ویژگی های مهم برای جلوگیری از آلودگی متقاطع و کاهش سرمایش است، هم مقاوم به حرارت و هم اسید است. هزینه های حین کشت *K. marxianus* دارای زمان دو برابر شدن استثنایی است که دو برابر سریعتر از مخمر ساکارومایسس سرویزیه رشد می کند و ظرفیت ترشح بالایی را نشان داده است (Bassett & Da Silva, 2024). کنترل زیستی مخمر *Kluyveromyces marxianus* QKM-4 کاهش قابل توجهی را در رشد گونه های قارچی آسپرژیلوس، پنی سیلیوم و فوزاریوم گزارش شد. با تولید ترکیبات آلی فرار (VOC)، درصد کاهش اخراج اکسین تولید شده توسط پنی سیلیوم و رکوزوم ۹۹،۶ درصد و برای *Penicillium verecousum* و برای *A. carbonarius* ۹۸،۷ درصد گزارش شد (Alasmar et al., 2020). مکانیسم های آنتاگونیستی مخمرها نظیر تولید سم، القای مقاومت در گیاهان، رقابت برای مواد مغذی و فضا، آزادسازی ترکیبات آلی فرار (VOCs) و ترشح آنزیم ها می باشند (Freimoser et al., 2019).

مالاسزیا پاکی درماتیس عموماً در سگها درماتیت ایجاد می کند اما ندرتاً در گربه ها هم دیده می شوند. (Hobi et al., 2022: Bajwa, 2023). مالاسزیا فورفور با طیف وسیعی از بیماری های پوستی و سیستماتیک در انسان شامل پیتیریاژیس وریسیکالر، درماتیت سبورئیک، سندرم درماتیت یا اگزمای اتوپیک، فولیکولیت، حضور قارچ در خون (فانگمی) از طریق کاتتر، پریتونیت و مننژیت را در انسان ایجاد می کند (Peano et al., 2017). روش های فعلی برای درمان این عفونت ها در نتیجه اثرات نامطلوب، تغییر حساسیت و مقاومت ضد قارچی در حال شکست هستند. بنابراین شناسایی اهداف درمانی جدید علیه عفونت مالاسزیا پاکی درماتیس بسیار مطلوب است. افزایش بروز سویه های مقاوم به آزول و تعداد نارسایی های درمانی در حیوانات بر اهمیت شناسایی اهداف درمانی جدید برای درمان عفونت مالاسزیا پاکی درماتیس را تأیید می کند (Sastoque et al., 2020). برای اطلاع از تصمیمات درمانی در مورد بیماری مقاوم به درمان، نیاز به فرهنگ استاندارد، تجاری و روش شناسی حساسیت وجود دارد (Hobi et al., 2024). بنابراین در این مطالعه جهت یافتن عوامل میکروبی بیوکنترل، اثر متابولیت کلورومایسس ماراکسیانوس بر مالاسزیا پاکی درماتیس انجام گرفته و با داروی تربینافین مقایسه شد.

۲- مواد و روش ها

تهیه قارچ: گونه کلورومایسس ماراکسیانوس (PTCC 5188) از مرکز کلکسیون میکروبی ایران (شهریار) تهیه شد و مخمر مالاسزیا پاکی درماتیس از گوش سگ جدا گردید (داداشی و همکاران، ۱۴۰۱).

تهیه سوسپانسیون مالا سزیا پکی درماتیس: برای تهیه سوسپانسیون مخمر از لام نئوبار استفاده می شود که بایستی هر سی سی آن تعداد 1×10^8 سلول مخمر (10^8 ml/cfu) شمارش شوند. از چنین سوسپانسیون مخمر در آزمایشات بعدی استفاده شد (اکبری و غلامپور عزیزی، ۱۴۰۰).

تهیه متابولیت کلویوروما یسس مارکسیانوس: کلایوروما رکی: از کلنی کلویوروما یسس مارکسیانوس با فیلدوپلاتین استریل نمونه گیری شده و به محیط کشت سابوردکستروز براث منتقل شده و با انکوبه کردن در انکوباتور تکان دهنده به مدت 48-72 ساعت در دمای 25 درجه متابولیت تهیه شد. سه روز اول این فرایند بصورت هوازی انجام شد و برای سه روز بعدی بر روی درب ارلن ها پارافیلیم زده شده تا شرایط جهت تخمیر بی هوازی صورت گیرد. سپس با استفاده از فیلتر های سر سرنگی فیلتر شده و برای آزمایش بعدی مورد استفاده قرار گرفت (هاشمی و همکاران، ۱۴۰۱).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی متابولیت کلویوروما یسس مارکسیانوس: برای این کار، ابتدا ۱۱ لوله آزمایش استریل در نظر گرفته و به لوله های مورد نظر ۱ سی سی از محیط سابوردکستروز براث افزوده و اتوکلاو شده، سپس بعد از آماده شدن محیط کشت، برای تهیه رقت های یک دوم با سمپلر ۱۰۰۰ μ l از متابولیت تهیه شده به لوله شماره ۱ که حاوی محیط سابوردکستروز براث است، افزوده شده و آن را کاملاً شیک کرده و به این طریق رقت یک دوم از متابولیت مورد نظر در لوله ۱ تهیه شده و بر همین اساس مقدار متابولیت در لوله اول ۵۰۰ μ l/ml بدست آمد و سپس با استفاده از سمپلر ۱۰۰۰ μ l از لوله شماره ۱ برداشته شده و به لوله شماره ۲ افزوده می شود و این عمل تا لوله شماره ۱۰ تکرار شده و در لوله شماره ۱۰ مقدار ۱۰۰۰ μ l برداشته و محلول اوت شد. سپس مقدار ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون مخمر مالا سزیا پکی درماتیس به لوله های شماره یک تا یازده افزوده شد. لوله شماره ۱۱ نیز به عنوان لوله کنترل یا شاهد که حاوی محیط کشت و سوسپانسیون مخمر مالا سزیا پکی درماتیس می باشد در نظر گرفته شد. سپس تمام لوله ها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شده و پس از آن، لوله ها برای تعیین MIC بررسی شدند. لوله فاقد کدورت، بعنوان MIC تعیین می شود (داداشی و همکاران، ۱۴۰۱).

تعیین حداقل غلظت کشندگی متابولیت کلویوروما یسس مارکسیانوس: جهت تعیین MFC با توجه به نتایج MIC پلیت محیط سابوردکستروز آگار تهیه شد و از لوله MIC و لوله های قبل از آن توسط سمپلر به میزان ۱۰ لاندان نمونه گرفته شده و به پلیت ها منتقل و از آن کشت خطی تهیه شد (غلامپور عزیزی و همکاران، ۱۴۰۰).

مطالعه ضد میکروبی متابولیت کلویوروما یسس مارکسیانوس به روش انتشار دیسک: ۴ دیسک کاغذی استریل (حدود ۶ میلی متر در قطر) در نظر گرفته شد. با استفاده از سمپلر متابولیت کلویوروما یسس مارکسیانوس به مقادیر ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ تلقیح شد. ۱۰ میکرولیتر (۱۰ لاندان) سوسپانسیون مخمر را به صورت سفره ای با سوآپ استریل در محیط کشت سابوردکستروز آگار کشت داده سپس این دیسک ها روی سطح این محیط قرار داده شده و توسط پنس فیکس شد (غلامپور عزیزی و همکاران، ۱۴۰۰).

اثر ضد میکروبی متابولیت کلویوروما یسس مارکسیانوس به روش چاهک: برای انجام این تست در محیط SDA با سر سمپلر آبی در فواصل منظم از یکدیگر ۳ چاهک ایجاد شد و ۱۰ میکرولیتر (۱۰ لاندان) سوسپانسیون مخمری را به صورت سفره ای با سوآپ استریل کشت داده و سپس متابولیت کلویوروما یسس مارکسیانوس با توجه به نتیجه MIC به میزان ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرولیتر یا لاندان داخل چاهک های پلیت اضافه شدند (آزاد و همکاران، ۱۴۰۳).

۳- یافته ها

نتایج MIC و MFC: در این پژوهش اثر متابولیت کلویوروماایسس مارکسیانوس بر مالاَسزیا پکی درماتیس با تعیین MIC و MFC و روش دیسک و چاهک مورد بررسی قرار گرفتند که میانگین میزان MIC اثر متابولیت کلویوروماایسس مارکسیانوس روی مالاَسزیا پکی درماتیس برابر ۵۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر و میانگین میزان MFC آن بیش از ۵۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر ($\mu\text{L}/\text{ml}$) در محیط کشت سابورودکستروز آگار بدست آمد (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج تعیین MIC و MFC اثر متابولیت کلویوروماایسس مارکسیانوس روی مالاَسزیا پکی درماتیس

مقابله	MFC	MIC	قارچ
مقابله	بیش از ۵۰۰ $\mu\text{L}/\text{ml}$	۵۰۰ $\mu\text{L}/\text{ml}$	مالاَسزیا پکی درماتیس

نتایج انتشار دیسک و چاهک: مقادیر ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ لاند متابولیت کلویوروماایسس مارکسیانوس روی مالاَسزیا پکی درماتیس به روش دیسک و مقادیر ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ لاند به روش چاهک هاله عدم رشد ایجاد نکرد و قطر هاله عدم رشد داروی تربینافین ۱۲ میلی متر بدست آمد.

۴- بحث و نتیجه گیری

بسیاری از قارچ ها قادر به تولید مقدار قابل توجهی از ترکیبات ضد میکروبی هستند که رشد بیشتر آن ها در مقیاس بزرگ، اصلاح شرایط کشت مانند تغییر pH، تغییر محیط رشد و تامین برخی محرک ها ممکن است به تولید بهتر ترکیب و آنزیم فعال زیستی خاص کمک کند. Homayouni-rad و همکاران طی نگهداری یخچالی، حضور کلوروماایسس مارکسیانوس برای کنترل عوامل فساد ماست پروبیوتیک (آسپرژیلوس پارازیتیکوس و پنسیلیوم نوتاتوم) در شرایط آزمایشگاهی، جمعیت هر دو گونه فوق را بصورت کاهشی گزارش کردند. در یک مطالعه دیگر این پژوهشگر گزارش شد که کلویوروماایسس مارکسیانوس از رشد پاتوژنهایی مثل کاندیدا آلبیکنس، لیستریا مونوسیژنز و برخی باسیلها در پنیر جلوگیری کرد (Homayouni-rad et al., 2020). Londero و همکاران مخمر کلویوروماایسس مارکسیانوس جدا شده از پنیرهای نیمه رسیده بر رشد لیستریا مونوسیژنز و سالمونلا تیفی موریوم با کاهش ۸ سیکل لگاریتمی در تعداد لیستریا مونوسیژنز نشان داد (Londero et al., 2015). همچنین از کلویوروماایسس مارکسیانوس برای کنترل آلودگی به مونیلیا پس از برداشت، در میوه هایی مثل هلو، انبه، گیلاس و بادام گزارش شد (Grzegorzczuk et al., 2017). Kadyan و همکاران، قطر هاله عدم رشد، اثر کلویوروماایسس لاکتیس جدا شده از آب پنیر بر علیه *S. typhi* (19 mm), *S. abony* (25 mm), *Sh. dysenteriae* (0 mm), *E. coli* (30 mm), *B. cereus* (0 mm), *L. monocytogenes* (21 mm), *S. aureus* (17.33 mm), *E. faecalis* (0 mm) گزارش کردند (Kadyan et al., 2021).

در مطالعه ما میانگین میزان MIC اثر متابولیت کلویوروماایسس مارکسیانوس روی مالاَسزیا پکی درماتیس برابر ۵۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر و میانگین میزان MFC آن بیش از ۵۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر ($\mu\text{L}/\text{ml}$) بدست آمد. Ceugniz و همکاران مخمر کلویوروماایسس مارکسیانوس را از نوعی پنیر فرانسوی جداسازی کرده و تاثیر آن بر مهار کاندیدا آلبیکنس، لیستریا مونوسیژنز و برخی باسیلها را گزارش کردند (Ceugniz et al., 2015). Natarajan و همکاران از پتانسیل آنتاگونیستی جدایه های مخمر اپی فیتی به دست آمده از سنا در برابر رشد *A. flavus* و تولید آفلاتوکسین B1 (AFB1) استفاده کردند. چهار سویه *Kluyveromyces marxianus* (YSL3، YSL16، YSP12، YSF9) و فعالیت آنتاگونیستی شدید با حداکثر مهار ۶۴٪ از خود نشان دادند. ارزیابی درون تنی غلاف های سنا نشان داد که سویه های K.

marxianus به طور موثری استعمار *A. flavus* را با محدوده جمعیتی ۵,۸۷ تا ۷,۰۸ log10 CFU/g کاهش می‌دهند. در مقابل، غلاف‌های سنا درمان‌نشده دارای کلونیزاسیون قارچی شدید با جمعیت ۷,۸۴ log10 CFU/g بودند. علاوه بر این، مکانیسم‌های عمل ضد قارچی *K. marxianus* را نشان دادند، مانند توانایی استعمار سطحی روی غلاف‌ها، تولید مواد فرار ضد قارچی (VOCs)، سیدروفورها، آنزیم‌های لیتیک خارج سلولی و توانایی اتصال دیواره سلولی به AFB1 هر چهار سویه *K. marxianus* استعمار سریع را در غلاف سنا نشان دادند و YSP12 به حداکثر جمعیت ۷,۱۸ log10 CFU/pod در ۹ روز پس از تلقیح (DAI) رسید. ترکیبات ضد میکروبی مانند دی متیل تری سولفید، اتیل استات، اتانول، ۳-متیل بوتانال، ۲-متیل-۱-بوتانول و ۳-متیل-۱-بوتانول را در مواد فرار تایید کرد. سویه‌های *K. marxianus* سیدروفورها و آنزیم‌های هیدرولیتیک مانند کیتیناز و β -1,3-گلوکاناز تولید کردند. (Natarajan et al., 2023). نتیجه این تحقیق نشان داد که متابولیت کلورومایسس مارکسیانوس بر مالاسزیا پکی درماتیس اثر داشته و با توجه به این نتایج می‌بایست تحقیقات بیشتری روی اثر گذاری گونه‌های مختلف کلورومایسس بر روی گونه‌های بیماریزا و سم‌زا در شرایط *in vitro*, *in vivo* صورت گیرد.

منابع

- 1-Diosma G, Romanin DE, Rey-Burusco MF, Londero A, Garrote GL. Yeasts from kefir grains: isolation, identification, and probiotic characterization. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2014 Jan;30:43-53.
- 2-Lane MM, Morrissey JP. *Kluyveromyces marxianus*: a yeast emerging from its sister's shadow. *Fungal biology reviews*. 2010 Feb 1;24(1-2):17-26.
- 3-Bilal M, Ji L, Xu Y, Xu S, Lin Y, Iqbal HM, Cheng H. Bioprospecting *Kluyveromyces marxianus* as a robust host for industrial biotechnology. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*. 2022 Apr 20;10:851768.
- 4-Qiu Y, Lei P, Wang R, Sun L, Luo Z, Li S, Xu H. *Kluyveromyces* as promising yeast cell factories for industrial bioproduction: From bio-functional design to applications. *Biotechnology Advances*. 2023 May 1;64:108125.
- 5-Bassett S, Da Silva NA. Engineering a carbon source-responsive promoter for improved biosynthesis in the non-conventional yeast *Kluyveromyces marxianus*. *Metabolic Engineering Communications*. 2024 Jun 1;18:e00238.
- 6-Alasmar R, Ul-Hassan Z, Zeidan R, Al-Thani R, Al-Shamary N, Alnaimi H, Migheli Q, Jaoua S. Isolation of a novel *Kluyveromyces marxianus* strain QKM-4 and evidence of its volatilome production and binding potentialities in the biocontrol of toxigenic fungi and their mycotoxins. *ACS omega*. 2020 Jul 7;5(28):17637-45.
- 7-Freimoser FM, Rueda-Mejia MP, Tilocca B, Migheli Q. Biocontrol yeasts: mechanisms and applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2019 Oct;35(10):154.
- 8-Hobi S, Cafarchia C, Romano V, Barrs VR. *Malassezia*: zoonotic implications, parallels and differences in colonization and disease in humans and animals. *Journal of Fungi*. 2022 Jul 4;8(7):708.
- 9-Peano A, Pasquetti M, Tizzani P, Chiavassa E, Guillot J, Johnson E. Methodological issues in antifungal susceptibility testing of *Malassezia pachydermatis*. *Journal of Fungi*. 2017 Jul 5;3(3):37.
- 10-Sastoque A, Triana S, Ehemann K, Suarez L, Restrepo S, Wösten H, de Cock H, Fernández-Niño M, González Barrios AF, Celis Ramírez AM. New therapeutic candidates for the treatment of *Malassezia pachydermatis*-associated infections. *Scientific Reports*. 2020 Mar 17;10(1):4860.

- 11-Hobi S, Bęczkowski PM, Mueller R, Tse M, Barrs VR. Malassezia dermatitis in dogs and cats. The Veterinary Journal. 2024 Feb 29;106084.
- ۱۲-داداشی م، موسوی زاده م، غلامپور عزیزی ع. اثر ضد میکروبی عصاره آبی، اتانولی و متانولی گیاه تلخه بر روی باکتری /شریشیا کولای (PTCC 1399) و مالاَسزیا فور فور (ATCC 14521) و مقایسه آن با سیپروفلوکساسین و فلوکونازول. مطالعات علوم زیستی و زیست فناوری. ۱۴۰۱. ۸(۴): ۱-۱۱.
- ۱۳-اکبری م، غلامپور عزیزی ع. بررسی اثرات ضدقارچی آسپرژیلوسهای جدا شده از مرکبات روی کاندیدا آلبیکنس. مطالعات علوم زیستی و زیست فناوری. ۱۴۰۰. ۱۰(۴): ۷۰-۷۶.
- ۱۴-هاشمی س. م، علی نیا ف. ز، غلامپور عزیزی ع. بررسی اثر ضد باکتری متابولیت کپک های جدا شده از سیب پوسیده روی *E. Coli*. مطالعات علوم زیستی و زیست فناوری. ۱۴۰۱. ۸(۳): ۱-۱۲.
- ۱۵-غلامپور عزیزی ع، احمدی س. ف، کلانتری م. بررسی اثرمهارى عصاره ی آبی اتانولی و متانولی گیاه خارخاسک (*Tribulus terrestris*) بر رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس. مطالعات علوم زیستی و زیست فناوری. ۱۴۰۰. ۷(۴): ۱-۲۶.
- ۱۶-آزاد ح، هاشمی س. م، قاسمی آ، غلامپور عزیزی ع. بررسی اثر ضد میکروبی متابولیت های ثانویه مورتیرلا و آسپرژیلوس فومیگاتوس بر اشریشیا کولی. مطالعات علوم زیستی و زیست فناوری. ۱۴۰۳. ۱۰(۱): ۲۱۳-۲۲۴.
- 17-Homayouni-rad A, Oroojzadeh P, Abbasi A. The effect of yeast *Kluyveromyces marxianus* as a probiotic on the Microbiological and Sensorial Properties of Set Yoghurt during Refrigerated Storage. Journal of Ardabil University of Medical Sciences. 2020 Jul 10;20(2):254-68.
- 18-Londero A, Iraporda C, Garrote GL, Abraham AG. Cheese whey fermented with kefir micro-organisms: antagonism against *Salmonella* and immunomodulatory capacity. International journal of dairy technology. 2015 Feb;68(1):118-26.
- 19-Grzegorzczak M, Żarowska B, Restuccia C, Cirvilleri G. Postharvest biocontrol ability of killer yeasts against *Monilinia fructigena* and *Monilinia fructicola* on stone fruit. Food Microbiology. 2017 Feb 1;61:93-101.
- 20-Kadyan S, Rashmi HM, Pradhan D, Kumari A, Chaudhari A, Deshwal GK. Effect of lactic acid bacteria and yeast fermentation on antimicrobial, antioxidative and metabolomic profile of naturally carbonated probiotic whey drink. Lwt. 2021 May 1;142:111059.
- 21-Ceugniez A, Coucheney F, Jacques P, Daube G, Delcenserie V, Drider D. Anti-Salmonella activity and probiotic trends of *Kluyveromyces marxianus* S-2-05 and *Kluyveromyces lactis* S-3-05 isolated from a French cheese, Tomme d'Orchies. Research in Microbiology. 2017 Jul 1;168(6):575-82.
- 22-Natarajan S, Balachandar D, Paranidharan V. Inhibitory effects of epiphytic *Kluyveromyces marxianus* from Indian senna (*Cassia angustifolia* Vahl.) on growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus*. International Journal of Food Microbiology. 2023 Dec 2;406:110368.

Effect of *Kluyveromyces marxianus* metabolite on *Malassezia pachydermatis* and its comparison with terbinafine

Amir Yazdanpanah¹, Issa Gholampour Azizi², Atefeh Bozorgi^{3*}

¹Graduated student, Faculty of Veterinary Medicine, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran.

²Department of Veterinary Mycology, Faculty of Veterinary Medicine, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran.

^{3*}Department of Veterinary Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran.

Abstract

Kluyveromyces marxianus is valuable for investigating the production of antimicrobial secondary metabolites mainly due to its heat tolerance and high growth rate. *Malassezia pachydermatis* is an opportunistic yeast that mainly causes infections in the earlobe and skin of dogs and sometimes cats. Given drug resistance and their side effects, it is essential to identify and pursue new antimicrobial drug combinations from beneficial and harmless microbes. In this study, the antimicrobial effect of this *Kluyveromyces marxianus* metabolite was investigated by determining MIC and MFC and disk and well diffusion on *Malassezia pachydermatis*. The average MIC of the *Kluyveromyces marxianus* metabolite on *Malassezia pachydermatis* was 500 µL/mL and its average MFC was more than 500 µL/mL. Amounts of 20, 40, 60, and 80 ng/mL of metabolites by disk method and amounts of 100, 150, and 200 ng/mL by well method did not produce a zone of inhibition, and the diameter of the zone of inhibition of terbinafine was 22 mm.

Keywords: *Kluyveromyces marxianus*, *Malassezia pachydermatis*, metabolite
