

جداسازی و شناسایی گونه‌های مختلف مالاسزیا در بیماران مبتلا به پیتریازیس و رسیکالر در کاشان

مهدی ناظری^۱، محمدرضا شکوه امیری^۲، رضوان منیری^{*}، محمدرضا معیری^۳،
علی رضا مروجی^۴، بابک اصغری^۱، جهانگیر سرافرازی^۵

چکیده

اهداف. پیتریازیس و رسیکالر بیماری مزمن سطحی است که به وسیله گونه‌های مالاسزیا ایجاد می‌شود. میزان شیوع آن در نواحی گرمسیری به ۳۰-۴۰٪ می‌رسد. مطالعات نشان داده است که فاکتور چگرفتاری بر گونه‌هایی این بیماری مالاسزیا ایجاد می‌کند. هدف این مطالعه، شناسایی گونه‌های مالاسزیا در بیماران مبتلا به پیتریازیس و رسیکالر است.

روش‌ها. از ۱۱۸ بیمار مبتلا به پیتریازیس و رسیکالر مراجعه کننده به مرکز درمانی کاشان با روش تراشیدن پوسته و چسب اسکاج نمونه‌گیری انجام پذیرفت. پس از انجام آزمایش مستقیم روی پوسته‌ها با هیدروکسید پتاسیم ۱۰٪، کشت روی محیط دیکسون تعییریافته انجام شد. پس از رشد کلیه‌ها، به منظور شناسایی و تفریق گونه‌ها از تست‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک نظر کاتالاز، جذب تؤین و اسکولین استفاده شد. نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های مجذورکاری و فیشر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها. علامت تعريق فراوان در ۵۸٪ بیماران مورد مطالعه مشاهده شد. ۴۲٪ ضایعات در پشت و ۷۴٪ در دست و پا بود. انواع گونه‌های جدایشده از ضایعات به ترتیب فراوانی مالاسزیا گلوبوزر ۴۳٪، مالاسزیا فورفور ۳۸٪، مالاسزیا اوپتوزا ۹٪، مالاسزیا سیمیبودیالیس ۶٪ و مالاسزیا اسلوفیه ۱٪ بود.

نتیجه‌گیری. بیشترین گونه جدایشده که در بیماری زایی پیتریازیس و رسیکالر دخالت دارد مالاسزیا گلوبوزر و دومین عامل مالاسزیا فورفور است. تعريق فراوان، عامل اصلی ایجاد بیماری توسط مخمرهای فرستطلبه مالاسزیا است.

کلیدواژه‌ها: گونه‌های مالاسزیا، پیتریازیس و رسیکالر

Email

دریافت مقاله: اصلاح مقاله: پذیرش مقاله:

*نویسنده مسئول: گروه میکروب‌شناسی و ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۱ گروه میکروب‌شناسی و ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۲ گروه قارچ‌شناسی پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۳ گروه پوست، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۴ گروه پژوهشی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۵ دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

مقدمه

از ۱۱۸ بیمار مبتلا به پیتریازیس و رسیکالر که توسط پزشکان طب کار از مراکز صنعتی و پزشکان مراکز بهداشتی - درمانی معرفی شده بودند، پس از کسب رضایت‌نامه و جلب همکاری و تکمیل پرسشنامه نمونه‌گیری بهوسیله اسکالپل استریل و روش چسب اسکاج انجام شد. از پوسته‌های بیماران لام میکروسکوبی تهیه شد و با استفاده از روش هیدروکسیدپتاسیم ۱۰٪ و رنگ‌آمیزی بلودومتیلن مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های مثبت حاوی دسته‌های مخمری یا میسلیومی روی محیط کشت دیکسون آگار تغییریافته (حاوی عصاره مالت، اولئیک اسید، صفرای گاونر، توئین ۴۰ یا م. آگار، گلیسرول، سیکلوهگزامید و کلرامفینیکل) تلقیح گردید و در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲-۱۵ روز نگهداری شد. پس از رشد کلنجی‌های مخمری بر روی محیط کشت دیکسون آگار تغییریافته، برای شناسایی و تفیریق گونه‌های مالاسزیا از تست‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک کاتالاز، جذب توئین‌های ۴۰، ۲۰ و ۸۰ و تست هیدرولیز اسکولین استفاده گردید. در این روش با استفاده از محیط سابورو دکستروز آگار حاوی کلرامفینیکل و سیکلوهگزامید قدرت جذب توئین‌های مختلف به عنوان منبع چربی توسط گونه‌های مالاسزیا مورد بررسی قرار گرفت و گونه‌های مختلف شناسایی شدند [۲، ۱۲]. اطلاعات بیماران و نتایج با برنامه SPSS 11 آنالیز گردید و از آزمون‌های آمار توصیفی و دقیق فیشر برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها استفاده گردید.

نتایج

میانگین سنی مبتلایان $28/4 \pm 8/5$ با میانه ۲۶ سال بود. دامنه سنی از حداقل ۱۰ سال تا حداقل ۵۰ سال متغیر بود. از ۳۵٪ از جمعیت مورد مطالعه زن و ۵۴٪ مرد بودند. بالاترین میزان شیوع بیماری مربوط به گروه سنی ۳۰-۱۶ سال (۶۸٪) و کمترین میزان مربوط به گروه زیر ۱۵ سال (۳٪) بود (جدول ۱).

جدول ۱) توزیع فراوانی مبتلایان به پیتریازیس و رسیکالر مراجعه کننده به درمانگاه‌های پوست کاشان در سال ۱۳۸۶ بر حسب سن و جنس

جنسيت ←	مرد	زن	جمع
الگروه سنی	تعداد (%)	تعداد (%)	تعداد (%)
کمتر از ۱۵	۱۵	۲	(۲/۶)
۱۶ تا ۳۰	۱۶	۴۵	(۵۹/۲)
۳۱ تا ۴۵	۳۱	۲۳	(۳۰/۳)
۴۵ تا ۵۰	۴۵	۶	(۷/۹)
بیشتر از ۵۰	۸	۲	(۴/۸)
جمع	۱۱۸	۴۲	(۱۰۰)

مخمرهای فرصت‌طلب جنس مالاسزیا ارگانیزم‌های هم‌سفره‌ای هستند که روی پوست انسان حضور دارند. این مخمرهای چربی‌دروست مرتبط با بیماری‌های پیتریازیس (تینه‌آ) و رسیکالر، التهاب کیسه اشکی نوزادان، درماتیت سبوروئیک، درماتیت آتوپیک، ضایعات ناخنی، بیماری سیستمیک متعاقب امولسیون درمانی لبیدی داخل وریدی در نوزادان و بیماران با نقص سیستم ایمنی است. بررسی‌ها نشان می‌دهد که در بین بیماری‌های فوق، بیماری تینه‌آ و رسیکالر دارای شیوع بالایی است. این بیماری عفونت مزمن شوره‌دار لایه‌ی شاخی پوست بوده که به‌ویژه در دهه دوم زندگی در بالغین جوان و در هر دو جنس مشاهده می‌گردد [۱]. بر طبق آخرین تاکسونومی توسط گوهو (Gueho) و همکاران، ۷ گونه‌ی *M. obtusa*, *M. Malassezia globosa*, *M. furfur*, *M. sympodialis*, *M. pachydermatis*, *M. restricta* و *M. slooffiae* شناسایی شد [۲]. به علاوه، اخیراً ۴ گونه جدید *M. japonica* نیز شناخته شده‌اند [۳، ۴]. گرچه پیتریازیس و رسیکالر در سراسر دنیا شایع است اما فراوانی آن بستگی به آب و هواء، شغل و شرایط اجتماعی و اقتصادی دارد. بیماری در نواحی گرم‌سیری دارای شیوع ۳۰-۴۰٪ بوده در حالی که در مناطق با آب و هوای معتمد دارای شیوع ۱-۴٪ است [۵]. بیماری در ایران ۶٪ همه بیماری‌های پوستی و تقریباً ۳۰٪ تمام بیماری‌های قارچی را شامل می‌شود [۶]. بیشترین شیوع بیماری پیتریازیس و رسیکالر در گروه سنی ۳۰-۴۰ سال و بالاترین میزان عفونت از لحاظ سنی مرتبط با زمانی است که تولید سیوم به بالاترین میزان خود می‌رسد [۱]. با توجه به وجود ضایعات بر بدن و تاثیر آن بر زیبایی، به ویژه در زنان، تشخیص و درمان به موقع دارای اهمیت است. نقش جنس در این بیماری هنوز ناشناخته است. برخی از مطالعات دلالت بر شیوع بیشتر بیماری در مردان نسبت به زنان دارد [۸]. در حالی که دیگر مطالعات به بالاتر بودن میزان بیماری در زنان اشاره کرده است که این امر شاید به دلیل توجه بیشتر زنان به زیبایی و بهداشت پوست است [۹]. گرچه گونه‌های مالاسزیا به عنوان فلور پوست مطرح شده‌اند ولی برخی فاکتورهای اندوژن و اگزوژن در تبدیل آنها به فرم بیماری‌زا دخالت دارند. رطوبت، سوئغذیه، افزایش سطح کورتیزول پلاسماء، چربی پوست، مصرف بی‌رویه آتسی‌بیوتیک‌ها و کورتیکوستروئیدها، حاملگی، دیابت و تعریق از جمله این فاکتورها محسوب می‌گردد [۱۱، ۱۰]. با توجه به عدم دسترسی به اطلاعاتی در زمینه شیوع گونه‌های مالاسزیا در بیماران مبتلا به پیتریازیس در منطقه و بهمنظور تعیین گونه‌های مالاسزیا در ضایعات بیماران مبتلا به پیتریازیس و رسیکالر، این مطالعه در کاشان انجام پذیرفت.

بحث

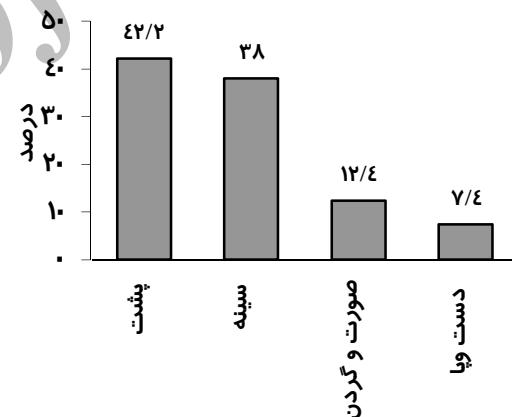
نتایج این مطالعه نشان داد که بیشترین گونه جداشده گلوبوزا و دومین گونه غالب، مشابه گزارشات دوتا (Dutta) فورفور بود [۱۸]. در بیشتر مطالعات، گونه غالب جداشده از ضایعات بیماران مبتلا به پیتریازیس ورسیکالر گونه گلوبوزا بوده است [۱۲، ۱۴، ۱۶، ۱۸]. ماقیمورا (Makimura) و همکاران، مالاسزیا فورفور و - سیمپودیالیس را بیشترین گونه‌ها در بیماران مبتلا به پیتریازیس ورسیکالر با استفاده از توالی DNA معرفی کردند [۱۹]؛ گرچه گوپتا (Gupta) و همکاران، مالاسزیا سیمپودیالیس را به عنوان گونه غالب در آب‌وهواهی نواحی مرطوب و گونه گلوبوزا را به عنوان گونه غالب در نواحی گرم‌سیری گزارش کردند [۱۱]. در مطالعه کریسانتی (Krisanty) و همکاران در اندونزی، مالاسزیا فورفور (۴۲٪)، مالاسزیا سیمپودیالیس (۲۷٪)، مالاسزیا گلوبوزا (۱۳٪)، مالاسزیا اسلوفیه (۷٪) و مالاسزیا رستریکتا (۲٪) از ضایعات بیماران جدا گشت و در مطالعه آنها اختلاف معنی‌داری بین گونه‌های جداشده و یافته‌های بالینی بیماران مشاهده نگردید [۲۰]. مطالعه صالح (Saleh) و همکاران در تونس روی بیماران نشان داد که مالاسزیا گلوبوزا در ضایعات بیماران مبتلا به پیتریازیس ورسیکالر نمونه‌ی جداشده غالب بوده و به تنها ۴٪ موارد همراه با مالاسزیا فورفور در ۱۸٪ و با مالاسزیا سیمپودیالیس در ۵٪ موارد مشاهده شده است [۲۱]. مطالعه کرسپو- ارچیگا (Crespo-Erchiga) و همکاران نشان داد که نقش مالاسزیا گلوبوزا در اتیولوژی پیتریازیس ورسیکالر غالب بوده و در روش مستقیم میکروسکوپی، سلول‌های مخمری گلوبوز تپیک در ۱۰۰٪ موارد ریسه کاذب تولید می‌کنند [۲۲].

در این مطالعه مشابه با دیگر مطالعات، بیشترین میزان شیوع در گروه سنی ۳۰-۱۶ سال مشاهده گردید که این شیوع بالا در این گروه سنی مرتبط با افزایش تولید میزان سبوم و افزایش میزان دهیدروستوسترون است [۱۴]. با توجه به محل ضایعه بیماران، نقش رطوبت و گرما و هیپرھیدروروزیس همانند سایر مطالعات به عنوان اصلی‌ترین عامل زمینه‌ای مطرح بود [۱۴، ۹، ۱]. در این مطالعه مشابه با سایر مطالعات، پشت و سینه بیشترین نواحی درگیر را تشکیل دادند [۱۱، ۱۵]. بالا بودن درگیری نواحی پشت و سینه مرتبط با فراوانی غدد سباسه در این نواحی است و همانند مطالعات قبلی هیچ اختلاف آماری در توزیع گونه‌های مالاسزیا بر حسب محل ضایعه به دست نیامد [۱۴]. تشخیص پیتریازیس ورسیکالر ساده و بر اساس علایم بالینی و مشاهده میکروسکوپی ضایعات است [۱۶، ۵]. در این تحقیق ۹۴٪ نمونه‌ها در لام مستقیم مثبت بودند که کمتر از سایر مطالعات قبلی بود [۱۷، ۱۴] که به احتمال زیاد به دلیل آماده نبودن بیماران قبل از نمونه‌گیری و افزایش نمونه چسب اسکاج به جای نمونه پوسته بوده است.

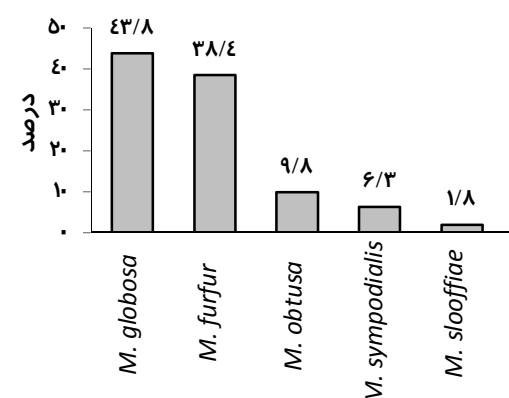
علامت تعريق فراوان در ۵۸٪ مشاهده شد و ۵٪ دارای سابقه دیابت بودند. ۹۴٪ از نظر میکروسکوپی مثبت و ۹۲٪ دارای کشت مثبت بودند. ۸۶٪ از نمونه‌ها از نظر میکروسکوپی و کشت مثبت بودند. ۷۷٪ از موارد میکروسکوپی مثبت دارای کشت منفی بودند (جدول ۲). از ۱۲۱ محل نمونه برداری شده، ناحیه پشت با ۴۲٪ بیشترین و ناحیه دست‌وپیبا با ۷٪ کمترین ضایعات را نشان دادند (نمودار ۱). گونه‌های جداشده از ضایعات به ترتیب فراوانی مالاسزیا گلوبوزا ۴۳٪، مالاسزیا فورفور ۳۸٪، مالاسزیا اوتوزرا ۹٪، مالاسزیا سیمپودیالیس ۶٪ و مالاسزیا اسلوفیه ۱٪ بود (نمودار ۲).

جدول ۲) توزیع فراوانی نتایج کشت و لام مستقیم در گونه‌های مالاسزیا جداشده از بیماران مبتلا به پیتریازیس ورسیکالر

کشت →	جمع	
	لام مستقیم	منفی
مثبت	۱۱۴ (۷/۶٪)	۱۰۵ (۸/۶٪)
منفی	۷ (۰٪)	۷ (۰/۷٪)
جمع کل	۱۲۱ (۷/۴٪)	۱۱۲ (۹/۲٪)



نمودار ۱) توزیع درصد فراوانی محل ضایعه در بیماران مبتلا به پیتریازیس مراجعه کننده به درمانگاه‌های پوست کاشان



نمودار ۲) توزیع درصد فراوانی گونه‌های مالاسزیای جداشده از بیماران مبتلا به پیتریازیس ورسیکالر

- 7- Moghaddami M.[*Tinea versicolor*]. J Faculty Medicine Shahid Beheshti Univ Med Sci. 1988;3-4:102-107. Persian
- 8- Belec L, Testa J, Bouree P. *Pityriasis versicolor* in the Central African Republic: a randomized study of 144 cases. *J Med Vet Mycol.* 1991;29:323-9.
- 9- Crespo Erchiga V, Ojeda Martos A, Vera Casano A. Isolation and identification of *Malassezia* spp, In *pityriasis versicolor*, seborrheic dermatitis and healthy skin. *Rev Iberoam Micol.* 1999;16:S16-S21.
- 10- Faergemann J. Epidemiology and ecology of *pityriasis versicolor*. *Curr Top Med Mycol.* 1989;3: 153-67.
- 11- Gupta AK, Kohli Y, et al. Epidemiology of *Malassezia* yeasts associated with *pityriasis versicolor* in Ontario, Canada. *Med Mycol.* 2001;9(2):99-206.
- 12- Nakabayashi A, Sei Y, Guillot J. Identification of *Malassezia* species isolated from patients with seborrhoeic dermatitis, atopic dermatitis, *pityriasis versicolor* and normal subjects. *Med Mycol.* 2000;38:337-41.
- 13- Burke RC. *Tinea versicolor*: susceptibility factors and experimental infections in human beings. *J Investig Dermatol.* 1961;36:389-402.
- 14- Tarazooie B, Kordbacheh P, Zaini F, et al. Study of the distribution of *malassezia* species in patients with *pityriasis versicolor* and healthy individuals in Tehran,Iran. *BMC Dermatol.* 2004;9:143-8.
- 15- Gupta AK, Kohli Y, Summerbell RC, Faergemann J. Quantitative culture of *Malassezia* species from different body sites of individuals with or without dermatoses. *Med Mycol.* 2001;39:243-51.
- 16- Crespo Erchiga V, Delgado Florencio V. *Malassezia* species in skin diseases. *Curr Opin Infect Dis.* 2002;15:133-42.
- 17- Crespo Erchiga V, Ojeda Martos A, Vera Casaño A, Crespo Erchiga A, Sanchez Fajardo F. *Malassezia globosa* as the causative agent of *pityriasis versicolor*. *Br J Dermatol.* 2000;143:799-803.
- 18- Dutta S, Bajaj AK, Basu S, Dikshit A. *Pityriasis versicolor*: socioeconomics and clinico-mycologic study in India. *Int J Dermatol.* 2002;41:823-4.
- 19- Makimura K, Tamura Y, Kudo M, Uchida K, Saito H, Yamaguchi H. Species identification and strain typing of *Malassezia* species stock strains and clinical isolates based on the DNA sequences of nuclear ribosomal internal transcribed spacer 1 regions. *J Med Microbiol.* 2000;49:29-35.
- 20- Krisanty RI, Bramono K, Made Wisnu I. Identification of *Malassezia* species from *pityriasis versicolor* in Indonesia and its relationship with clinical characteristics. *Mycoses.* 2008 Jul 15. [Epub ahead of print].
- 21- Salah SB, Makni F, Marrakchi S, Sellami H, Cheikhrouhou F, Bouassida S, Zahaf A, Ayadi A. Identification of *Malassezia* species from Tunisian patients with *pityriasis versicolor* and normal subjects. *Mycoses.* 2005;48(4):242-5.
- 22- Crespo-Erchiga V, Florencio VD. *Malassezia* yeasts and *pityriasis versicolor*. *Curr Opin Infect Dis.* 2006;19(2):139-47.

در بعضی از مطالعات، بیشتر از یک گونه رشد کرده بود [۱۵]. در این مطالعه نیز یکی از نمونه‌ها که از ضایعه وسیع پشت نمونه‌گیری شده بود دارای دو نوع کلینی با ظاهر متفاوت پس از رشد بود که یک نوع از آن طی مراحل تعیین گونه قابلیت رشد خود را از دست داد و به نظر می‌رسد نمونه حاوی دو گونه متفاوت بوده است، اما بیمار اجازه نمونه‌گیری مجدد را نداد.

نتیجه‌گیری

نتایج این بررسی نشان داد که *مالاسزیا گلوبورا* در ضایعات بیماران مبتلا به پیتریازیس و رسیکار نمونه‌ی جاذشده غالب و دومین عامل، *مالاسزیا فورفور* بوده است. پشت و سینه بیشترین نواحی درگیر بودند. تعریق فراوان که در نیمی از بیماران مشاهده گردید به عنوان یکی از فاکتورهای زمینه‌ای مطرح است.

تشکر و قدردانی: از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان برای تصویب طرح تحقیقاتی شماره‌ی ۸۵۳۳ سپاسگزاری و از کلیه پزشکان طب کار، کارشناسان بهداشت حرفه‌ای مراکز صنعتی شهرستان کاشان و پزشکان مراکز بهداشتی - درمانی دانشگاه علوم پزشکی شهرستان کاشان و پرسنل آزمایشگاه فاطمیه زیدی که در جمع آوری نمونه‌ها همکاری نمودند قدردانی می‌گردد.

منابع

- 1- Gupta AK, Bluhm R, Summerbell R. *Pityriasis versicolor*. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2002;16:19-33.
- 2- Gueho E, G Midgley, Guill J. The genus *Malassezia* with description of four new species. *Antonie Leeuwenhoek.* 1996;69:337-55.
- 3- Sugita T, Takashima M, Kodama M, et al. Description of a New Yeast Species, *Malassezia japonica*, and Its Detection in Patients with Atopic Dermatitis and Healthy Subjects. *J Clin Microbiol.* 2003;41:4695-9.
- 4- Hirai A, Kano R, Makimura K, Duarte ER, Hamdan JS, Lachance MA, Yamaguchi H, Hasegawa A. *Malassezia nana* sp. Nov., a novel lipid-dependent yeast species isolated from animals. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2004;54:623-7.
- 5- Sunenshine PJ, Schwartz RA, Janniger CK. *Tinea versicolor*. *Int J Dermatol.* 1998;37:648-55.
- 6- Jalali AMH. [Study the prevalence of superficial fungal diseases, Rasht, Iran]. *J Faculty Medicine Guilan Univ Med Sci.* 1991;10:245-52. Persian

Isolation and identification of *Malassezia* spp. in pityriasis versicolor patients in Kashan

Nazeri M.¹, Shokouh Amiri M. R.², Moniri R.^{*}, Mo'ayeri M. R.³,
Moravveji A. R.⁴, Asghari B.¹, Sarafrazi J.⁵

Abstract

AIMS. Pityriasis versicolor (PV) is a chronic superficial fungal disease caused by *Malassezia* spp. The incidence is as high as 30-40% in tropical climates. Epidemiological data suggest geographical variations in the rate of the isolated species from PV.

METHODS. Isolates of *Malassezia* were collected from 118 PV patients. A direct microscopy with KOH and methylene blue was carried out. Cultures were made in modified Dixon agar medium and the isolates were identified by macroscopic and microscopic features, physiological characteristics (catalase test) and biochemical criteria (esculin and lipid assimilation tests). Data were analyzed statistically by SPSS 11 software and Fischer's exact and descriptive statistical tests.

RESULTS. Hyperhydrosis was reported as the most important finding with 58.1%. Back (42.2%) and extremities (7.4%) were the highest and the lowest involved parts, respectively. The isolates found were *M. globosa* (43.8%), *M. furfur* (38.4%), *M. obtusa* (9.8%), *M. sympodialis* (6.3%) and *M. slooffiae* (1.8%).

CONCLUSION. It is suggested that *M. globosa* presents the main species implicated in the pathogenicity of PV and *M. furfur* as the second agent of importance. In this study, hyperhydrosis is the main factor of disease by opportunistic yeasts of *Malassezia*.

KEYWORDS: *Malassezia* spp, Pityriasis Versicolor, Dixon Medium

Submission Date: Revision Date: Acceptation Date:
* Correspondence address: Department of Microbiology & Immunology, Kashan University of Medical Sciences,
Kashan, Iran

Email

1 Department of Microbiology & Immunology, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

2 Department of Medical ???, Tarbiat-e-Modarres University, Tehran, Iran

3 Department of ???, Medicine Faculty, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

4 Department of Social Medicine, Medicine Faculty, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

5 Medicine Faculty, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran