مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و پنجم/شماره‌ی ٤٤٧/هفته‌ی سوم آبان ماه ١٣٩٦

تاریخ دریافت: ١٣٩٦/٧/٤
تاریخ پذیرش: ١٣٩٦/٧/٢٦

بررسی عفونت‌های قارچی در زخم‌های بیماران سوختگی در اصفهان

بیان کمشکی[١]، مصطفی چادگانی‌پور[٢]، جواهر چعباوی زاده[٣]، سیما یادگاری[٤]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها توانایی کلونیزاسیون در زخم‌های سوختگی را دارند. امروزه به دلیل استفاده‌ی وسیع از آنتی‌بیوتیک‌های ضد باکتریایی، کلونیزاسیون عوامل قارچی در زخم‌های سوختگی رو به افزایش است. عواملی همچون بروز اختلال سیستم ایمنی در بیماران دچار سوختگی، تخریب عروق خونی در محل و حضور عوامل قارچی در محیط اطراف و فلور طبیعی بدن،کلونیزاسیون عوامل قارچی را به سمت ایجاد عفونت در زخم‌های سوختگی سوق می‌دهد. عفونت زخم، یکی از علل اصلی مرگ و میر در بیماران دچار سوختگی به شمار می‌رود. هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، بررسی عفونت‌های قارچی در بیماران سوختگی بود.

روش‌ها: از ترشحات و پوسته‌های زخم ١١١ بیمار بستری در بیمارستان سوختگی امام موسی کاظم (ع) اصفهان، با استفاده از دو سوپ استریل نمونه‌گیری به عمل آمد. جهت انجام آزمایش مستقیم، لام‌های رنگ‌آمیزی Giemsa و هیدروکسید پتاسیم تهیه شد. کشت در محیط Sabouraud dextrose agar (SDA) حاوی کلرامفنیکل انجام گرفت. کلنی‌های رشد یافته پس از ٤٨-٢٤ ساعت در دمای ٣٠ درجه‌ی سانتی‌گراد، جداسازی و جهت شناسایی با آزمایش Polymerase chain reaction (PCR)، DNA آن تکثیر گردید و محصول به دست آمده برای تعیین توالی ارسال شد.

یافته‌ها: از ١١١ بیمار، یک نمونه (٠/٩ درصد) مثبت و ١١٠ نمونه (٩٩/١ درصد) منفی گزارش گردید. قارچ جداسازی شده از نوع نوروسپورا سیتوفیلا (Neurospora sitophila) بود.

نتیجه‌گیری: به دلیل رعایت استانداردهای بین‌المللی بهداشتی در جهت پیشگیری و کنترل عفونت زخم‌های سوختگی در این مرکز، نتایج به دست آمده قابل قبول می‌باشد و پیشنهاد می‌شود روش مورد استفاده در سایر مراکز نیز استفاده گردد.

واژگان کلیدی: سوختگی، عفونت زخم، عفونت قارچی

ارجاع: کمشکی بیان، چادگانی‌پور مصطفی، چعباوی زاده جواهر، یادگاری سیما. **بررسی عفونت‌های قارچی در زخم‌های بیماران سوختگی در اصفهان.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ١٣٩٦؛ ٣٥ (٤٤٧): ١٢٣٢-١٢٢٥

مقدمه

سوختگی، نوعی آسیب به بافت‌های بدن است که می‌تواند در اثر تماس با گرمای مستقیم و یا غیر مستقیم با منابع حرارتی ایجاد شود. منابع حرارتی شامل شعله، مایعات و اجسام داغ، مواد شیمیایی، اشعه و جریان الکتریسیته می‌باشد (١). سوختگی علاوه بر عوارض روحی و روانی، عوارض جسمی و پاتوفیزیولوژیک نیز در انسان به همراه دارد (٣-٢). از عوارض پاتوفیزیولوژیک این آسیب می‌توان به از بین رفتن سد دفاع پوستی و تولید اگزودای غنی از پروتئین‌ها، ایسکمی در محل زخم، اختلال در دریافت عوامل ایمنی و داروها و تضعیف عملکرد سیستم ایمنی در فرد اشاره کرد (٦-٤). عواملی همچون ایجاد یک محیط مغذی و غنی از پروتئین‌ها، از بین رفتن ایمنی دفاعی پوست، مهار سیستم ایمنی در این بیماران، سوختگی‌های شدید با وسعت زیاد و بستری شدن طولانی مدت در بخش‌های سوختگی، این زخم‌ها را به سمت کلونیزاسیون میکروبی و همچنین، بروز عفونت‌های مکرر سوق می‌دهد (١٢-٧).

معمول‌ترین عامل عفونت زخم‌های سوختگی طی سال‌های اخیر، باکتری‌ها بوده‌اند (١٤-١٣). امروزه برای پیشگیری از بروز عفونت‌های باکتریایی در بیماران دچار سوختگی، از آنتی‌بیوتیک‌های

١- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه قارچ و انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
٢- استاد، گروه قارچ و انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
٣- استادیار، گروه قارچ و انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
٤- متخصص بیماری‌های عفونی، مرکز سوختگی امام موسی کاظم (ع)، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: جواهر چعباوی زاده
Email: javaher_chabavi@yahoo.com

Archive
www.SID.ir

ضد باکتریایی به فراوانی استفاده می‌شود. استفاده‌ی گسترده از این آنتی‌بیوتیک‌ها، تعادل میان قارچ‌ها و باکتری‌های موجود در فلور طبیعی بدن بیمار را بر هم می‌زند و شرایط را برای رشد عوامل قارچی و بیماری‌زا شدن آن‌ها فراهم می‌کند (۱۵).

از عوامل قارچی شایع در زخم‌های سوختگی می‌توان به گونه‌های کاندیدا، آسپرژیلوس و موکورال‌ها اشاره نمود (۱۶-۱۴). گونه‌های کاندیدا اغلب در زخم‌های سوختگی فقط کلونیزه می‌شوند و به ندرت منجر به بروز عفونت‌های مهاجم در بیماران سوختگی می‌شوند (۱۷). امروزه به دلیل استفاده‌ی فراوان از ضد قارچ‌ها قبل از بروز عفونت‌ها، علاوه بر کنترل و پیشگیری ایجاد عفونت در بیماران، شانس ایجادگونه‌های مقاومی از قارچ‌ها مانند گونه‌های کاندیداهای غیر آلبیکنس، آسپرژیلوس و موکورال‌ها بیشتر شده است (۱۸). این گونه‌ها بر خلاف سایر گونه‌های شایع پیشین، توانایی ایجاد عفونت‌های مهاجم در بیماران سوختگی را دارند (۱۹).

برای جلوگیری از ایجاد عفونت توسط میکروارگانیسم‌های مقاوم، درمان‌های آنتی‌بیوتیکی باید بر اساس بررسی هر بیمار بستری در مرکز تعیین گردد. به این صورت که با انجام نمونه‌گیری‌های دوره‌ای از زخم بیمار، الگوریتم‌های مشخصی ایجاد و تجویز آنتی‌بیوتیک‌ها نیز بر اساس همین الگوریتم‌ها برنامه‌ریزی شود (۱۲).

روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر از نوع مقطعی بود و به روش توصیفی- تحلیلی بر روی زخم‌های سوختگی بیماران بستری در مرکز سوانح و سوختگی امام موسی کاظم (ع) اصفهان از بهمن سال ۱۳۹٤ تا فروردین سال ۱۳۹٦ انجام شد.

ابتدا پرسش‌نامه مربوط به بیمار شامل سن، جنسیت، وسعت و درجه‌ی سوختگی، نوع عامل سوختگی و مدت زمان بستری در بیمارستان، بر اساس اطلاعات پرستاران بخش، پرونده‌های پزشکی و همراهان بیمار تکمیل گردید. با کسب رضایت‌نامه‌ی کتبی از بیمار و یا همراه وی، نمونه‌گیری صورت گرفت. در صورت ابراز ناخوشایندی و نارضایتی بیمار از روند انجام نمونه‌گیری، بیمار از مطالعه خارج می‌گردید. نمونه‌گیری از زخم‌ها پس از گذشت حد اقل یک هفته از بستری شدن بیمار در بیمارستان انجام شد.

نمونه‌های زخم‌های سوختگی به دو صورت مرطوب و خشک بود که نمونه‌های مرطوب توسط دو سواپ استریل آغشته به سرم فیزیولوژی از ترشحات زخم بیمار تهیه شد و در لوله‌های آزمایش قرار گرفت. نمونه‌های خشک نیز از پوسته‌های زخم بیماران جمع‌آوری گردید و در پاکت‌های استریل قرار داده شد. نمونه‌ها جهت انجام آزمایش‌های لازم، در اسرع وقت به آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی اصفهان انتقال یافت.

برای انجام آزمایش مستقیم، با استفاده از یکی از سواپ‌های حاوی ترشحات زخم، اسمیری بر روی لام تهیه گردید و پس از خشک شدن با کمک اتانول ثابت شد. در انتها لام‌ها با Giemsa رنگ‌آمیزی گردید و سپس با بزرگنمایی ۱۰۰ میکروسکوپ از نظر وجود هایف، پسودوهایف و اسپورهای قارچی مورد بررسی قرار گرفت. در صورت مشاهده‌ی عوامل مخمری و یا میسلیوم‌های قارچی، نمونه‌ی مورد نظر به عنوان مثبت ثبت می‌شد. از پوسته‌های تهیه شده نیز همراه با مقداری محلول هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد، یک لام تهیه گردید و با بزرگنمایی ٤۰ میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت.

سواپ دوم آغشته به ترشحات زخم و یا پوسته‌ها، در پلیت‌های حاوی محیط Sabouraud dextrose agar (SDA) همراه با کلرامفنیکل در دو سری کشت داده شد. محیط‌های کشت داده شده در انکوباتور با دمای ۳۰-۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از ۲٤ تا ٤۸ ساعت بررسی شد و هرگونه رشد و تغییر ایجاد شده، ثبت گردید. محیط‌های کشت بعد از ۳ تا ٤ هفته نگهداری، در صورت عدم رشد به عنوان منفی تلقی شد. در صورت مشاهده‌ی رشد عوامل قارچی، مشخصات ماکروسکوپی و میکروسکوپی کلنی‌ها مورد بررسی قرار گرفت و نمونه‌ها به منظور انجام تست‌های مولکولی، در آب مقطر استریل همراه با ۲۰ درصد گلیسرول در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید. تهیه‌ی لام تیزمانت (Tease Mount) و اسلاید کالچر (کشت روی لام) نیز با استفاده از کلنی رشد یافته انجام گرفت.

روش مولکولی: در این روش، از نمونه‌ی نگهداری شده در آب مقطر یک کشت تازه تهیه و DNA آن طبق پروتکل روش فنل- کلروفرم استخراج گردید (۲۱-۲۰).

روش فنل- کلروفرم: ۳۰۰ میکرولیتر گلاسبید همراه با ۳۰۰ میکرولیتر بافر لیز و ۳۰۰ میکرولیتر محلول فنل- کلروفرم درون یک میکروتیوب ۱/۵ سی‌سی انتقال داده شد. ۲۰ میکرولیتر از کلنی‌های تازه به ترکیب حاصل اضافه گردید. پس از ۳۰ ثانیه ورتکس و ۵ دقیقه سانتریفوژ در دور g ۵۰۰۰، فاز رویی تولید شده جدا گردید و به میکروتیوب جدید انتقال یافت. سپس برابر با حجم مایع رویی، کلروفرم افزوده شد. پس از ورتکس و ۵ دقیقه سانتریفوژ مجدد در دور g ۵۰۰۰، مایع رویی مجدد به میکروتیوب جدیدی انتقال داده شد. دوباره ۲/۵ برابر حجم مایع رویی، ایزوپروپانول یا الکل مطلق به همان میکروتیوب افزوده شد. سپس به میزان ۰/۱ حجم مایع رویی، استات سدیم ۳ مولار (pH = ۵/۲) به محلول حاصل اضافه گردید و نمونه به مدت ۳۰ دقیقه در فریزر با دمای ۲۱- درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت و دوباره ۱۰ دقیقه با دور

Archive of SID
www.SID.ir

g ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ شد. در انتها مایع رویی دور ریخته شد و ۵۰۰ میکرولیتر از الکل ۷۰ درصد جایگزین آن گردید. در این مرحله، ماده‌ی موجود ۱۰ دقیقه با دور g ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ و مایع رویی به دقت خارج شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر بافر Tris-EDTA (TE) به آن اضافه گردید. محلول به دست آمده ورتکس شد و تا زمان انجام فرایند Polymerase chain reaction (PCR) در فریزر با دمای ۲۱- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

تهیه‌ی پرایمرها: بر اساس مطالعات انجام شده، ژن مسؤول کد کردن RNA ریبوزومی (Ribosomal ribonucleic acid یا rRNA)، قطعه‌ی مناسبی برای شناسایی قارچ‌ها می‌باشد. پس از آنالیز قطعات مختلف rRNA، مشخص گردید که قطعات ITS1، ITS2 و 5.8s دارای تنوع کافی برای افتراق گونه‌های قارچی می‌باشند. بنابراین، از پرایمرهای یونیورسال (5`TCCGTAGGTGAACCTGCGG3`) ITS1 و (5`TCCTCCGCTTATTGATATGC3`) ITS4 که قطعات فوق را تکثیر می‌کنند، استفاده گردید (۲۳-۲۲). پرایمرهای مورد نظر (شرکت سیناژن، ایران) پس از مخلوط شدن با آب مقطر استریل، به رقت مورد نظر رسید و تا زمان مصرف در دمای ۲۱- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید.

روش تکثیر به وسیله‌ی PCR برای انجام فرایند PCR از مواد با غلظت‌هایی که در ادامه آمده است، برای یک واکنش ۲۵ میکرولیتری استفاده شد: پرمیکس ۱۲/۵ میکرولیتر [بافر ۱۰x (۲/۵ میلی‌مولار)، کلرید منیزیم (۲/۵ میلی‌مولار)، Deoxynucleotide (dNTP) (۱۰ میلی‌مولار)، آنزیم Taq DNA Polymerase (۵۰ واحد بین‌الملل بر میلی‌لیتر)]، پرایمر رفت ITS1 و پرایمر برگشت ITS4 هر کدام یک میکرولیتر از غلظت ۱۰ پیکومول، ۳ میکرولیتر از DNA قارچ مورد نظر و ۷/۵ میکرولیتر آب دیونیزه.

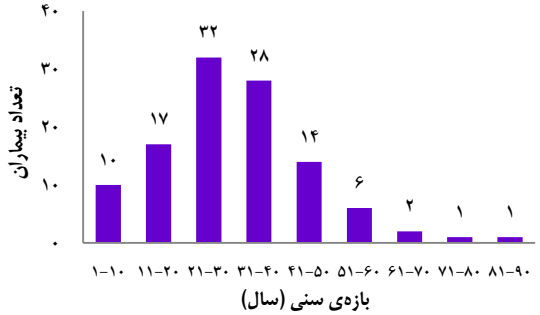
سیکل و شرایط دمایی واکنش: حرارت‌های ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۰ ثانیه جهت دناتوراسیون، دمای ۵۶ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه جهت آنیلینگ و دمای ۷۲ درجه‌ی به مدت ۱ دقیقه برای ۳۰ سیکل متوالی طویل شدن، جهت تکثیر ژن مورد نظر اعمال گردید و در مرحله‌ی پایانی نیز دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه برای توسعه‌ی نهایی محصول PCR به کار گرفته شد.

الکتروفورز محصولات PCR پس از تهیه، ژل ۱/۵ درصد در داخل سینی الکتروفورز قرار گرفت و بافر Tris-borate-EDTA (TBE) به اندازه‌ای داخل تانک ریخته شد که یک سانتی‌متر بالای ژل را بپوشاند. سپس محصولات PCR داخل چاهک‌های ژل آگارز ریخته شد و با قدرت ۹۰ ولت به مدت ۶۰-۴۵ دقیقه الکتروفورز انجام گرفت. برای رنگ‌آمیزی ژل از رنگ Safe-Stain استفاده شد. ژل در جایگاه مخصوص UV doc قرار داده شد و پس از تنظیم نور، تصویر باندها روی نمایشگر مشخص گردید.

خالص‌سازی جهت تعیین توالی: ۲/۵ برابر حجم محصول PCR، الکل مطلق به آن افزوده شد و به خوبی در میکروتیوب مخلوط گردید. ترکیب حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در فریزر با دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه و با دور g ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ شد. الکل موجود بر روی رسوب DNA به آرامی خارج گردید. میکروتیوب‌ها به منظور خشک شدن الکل باقی مانده، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه و سپس به مقدار ۲۰ میکرولیتر آب مقطر به محصول اضافه شد. میکروتیوب‌های محتوی محصول PCR، پس از خالص‌سازی آماده گردید و برای تعیین توالی (شرکت Bioneer، کره جنوبی) ارسال شد.

یافته‌ها

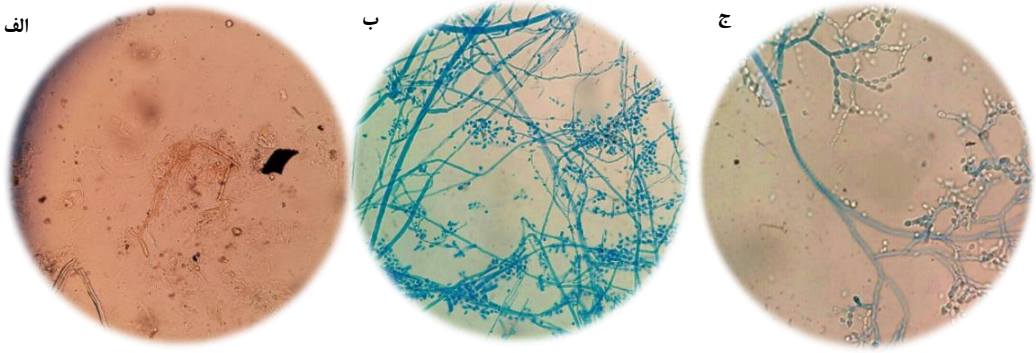
در مطالعه‌ی حاضر، از ۱۱۱ بیمار بستری در مرکز سوانح و سوختگی امام موسی کاظم (ع) اصفهان نمونه‌گیری انجام شد. از این تعداد، ۶۲ نفر مرد و ۴۹ نفر زن بودند. محدوده‌ی سنی نمونه‌ها ۸۹-۱ سال بود. بیشترین و کمترین فراوانی سوختگی به ترتیب مربوط به رده‌های سنی ۳۰-۲۱ و ۹۰-۸۱ سال بود (شکل ۱).



شکل ۱. فراوانی بیماران سوختگی بر حسب سن

از ۱۱۱ بیمار مورد بررسی، یک نمونه (۰/۹ درصد) مثبت و ۱۱۰ نمونه (۹۹/۱ درصد) منفی تشخیص داده شد. نمونه‌ی مثبت مربوط به خانمی ۵۲ ساله با سوختگی درجه‌ی ۲ و ۳ از ناحیه‌ی شکم و با وسعت ۶۰ درصد بود. نمونه‌گیری از وی توسط سواپ‌های مرطوب و پس از بستری شدن در بخش مراقبت‌های ویژه انجام گرفت. در پرونده‌ی بیمار هیچ‌گونه بیماری زمینه‌ای ثبت نشده بود. در آزمایش مستقیم با هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد، اشکال میسلیوم مانند مشاهده شد (شکل ۲، قسمت الف) و پس از تهیه‌ی تیزمانت از کلنی با آنیلین بلو (Aniline Blue)، میسلیوم به همراه کنیدی‌های بیضی مشاهده گردید (شکل ۲، قسمت ب).

Archive of SID
www.SID.ir

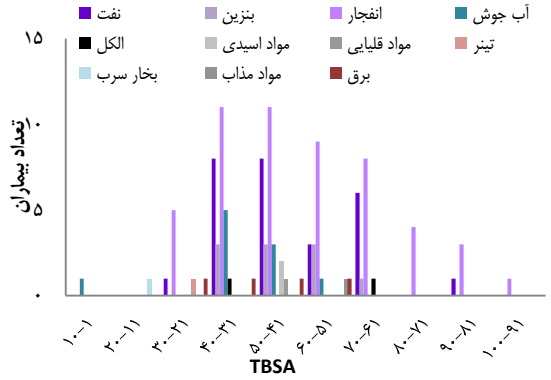


شکل ۲. لام‌های تهیه شده با هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد (الف)، آنیلین بلو (ب) و اسلاید کالچر (ج) با بزرگنمایی ۴۰×

از این عامل قارچی، کشت روی لام نیز تهیه گردید و کنیدی‌های بیضی به طور زنجیروار بر روی فیالید (Phialide) پدیدار شد (شکل ۱، قسمت ج). با توجه به انجام آزمایش PCR و خالص‌سازی محصول آن، نمونه جهت تعیین توالی ارسال و قارچ جدا شد. قارچ شناسایی شده، نوروسپورا سیتوفیلا (Neurospora sitophila) بود.

همه‌ی بیماران مورد بررسی دارای سوختگی‌های عمیق درجات ۲ و یا ۳ بودند. بیشتر بیماران سوختگی با وسعت‌های ۵۰–۳۰ درصد داشتند و تعداد اندکی از بیماران دارای سوختگی‌های وسیع بودند.

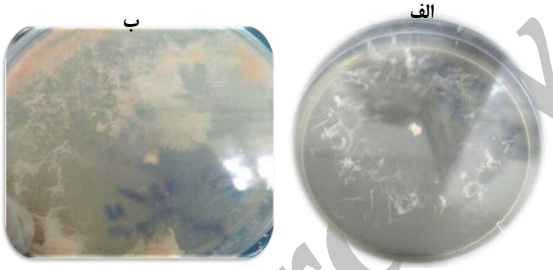
عوامل ایجاد کننده‌ی سوختگی به ترتیب فراوانی شامل انفجار گاز (٤٦/٨٥ درصد)، نفت (٢٤/٣ درصد)، بنزین و آب‌جوش (هر کدام ۹/۰ درصد)، جریان الکتریسیته (٣/٦ درصد)، الکل و مواد اسیدی (۱/۸ درصد)، مواد قلیایی، تینر، بخار سرب و مواد مذاب (هر کدام ۰/۹ درصد) بود (شکل ۳).



شکل ۳. مقایسه‌ی عامل سوختگی با کل وسعت سوختگی بدن (TBSA یا Total body surface area)

حدود ٤ درصد بیماران به دیابت مبتلا بودند که در مدت زمان بستری در بیمارستان، دیابت آن‌ها با مصرف دارو تحت کنترل قرار داشت.

رشد عوامل قارچی در محیط کشت نمونه‌ی یکی از بیماران مشاهده شد. از اتاق بیمار نیز به طور تصادفی نمونه‌ی کشت از هوا تهیه گردید که در آن نیز عوامل قارچی مشابه وجود داشت. نمونه‌ها در دو محیط SDA حاوی کلرامفنیکل کشت داده شد و در انکوباتور با دو دمای ۲۵ و ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به سرعت تکثیر گردید و پس از ٢٤ ساعت، کلنی‌های پنبه‌ای سفید رنگی که به مرور سطح آن‌ها نارنجی شد، رشد کرد. با انجام کشت، کشت روی لام، PCR و تعیین توالی، قارچ نوروسپورا سیتوفیلا تشخیص داده شد (شکل ٤).



شکل ۴. کلنی ۲۴ ساعته (الف) و کلنی ۴۸ ساعته (ب) قارچ نوروسپورا سیتوفیلا در محیط سابرودکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل (Sc) و دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد

بحث

در مطالعه‌ی حاضر، عوامل قارچی جدا شده از زخم ۱۱۱ بیمار دچار سوختگی مورد بررسی قرار گرفت. میزان فراوانی عوامل قارچی جدا شده از زخم‌ها، ۰/۹ درصد محاسبه شد. قارچ جدا شده از نوع نوروسپورا سیتوفیلا بود.

قارچ نوروسپورا سیتوفیلا در بیشتر نقاط دنیا حضور دارد (۲۵–٢٤). کنیدی‌های نارنجی و پودری آن به فراوانی بر روی مواد مصنوعی و طبیعی پراکنده است. برخی اعتقاد دارند که این قارچ توانایی رشد و تکثیر در انسان و حیوان را ندارد (٢٦). گونه‌های

Archive of SID
www.SID.ir

قارچی نوروسپورا سیتوفیلا اغلب به دلیل رشد سریع، به عنوان آلودگی در محیط‌های آزمایشگاهی شناخته می‌شود (۲۷). در صورتی که چرخه‌ی زندگی قارچ‌ها تحت تأثیر ساختار ژنتیکی گونه‌های قارچی، تغییرات اقلیمی و شاخص‌های مربوط به میزبان، در طول زمان متغیر است (۲۵)، می‌توان گفت که با تغییر در چرخه‌ی زندگی، قارچ توانایی‌های متفاوتی در رشد و تکثیر خود طی شرایط متفاوت کسب می‌کند. این قارچ اگرچه ساپروفیت و پاتوژن گیاهان و درختان تلقی می‌شود، اما مانند سایر ساپروفیت‌ها و پاتوژن‌های گیاهی، در شرایط خاص می‌تواند بیماری‌زا باشد. محققان مختلفی مواردی از ایجاد بیماری توسط این قارچ را در گزارش‌های خود منتشر کرده‌اند (۳۰-۲۷). این گزارش‌ها شامل جداسازی گونه‌ی نوروسپورا سیتوفیلا از یک بیمار مبتلا به HIV (۲۷)، بیمار مبتلا به آندوفتالمیت (۲۸-۲۷)، بیمار مبتلا به پریتونیت (۲۹) و یک بیمار با آلوئولیت (۳۰) می‌باشد. به همین دلیل، کلونیزاسیون گونه‌ی قارچی مذکور و ایجاد بیماری در انسان‌ها، دور از ذهن نیست.

گونه‌های جنس نوروسپورا سیتوفیلا توانایی رشد و تکثیر پس از بروز سوختگی‌های وسیع را دارند و به میزان زیادی از پوشش‌های گیاهی باقی‌مانده از آتش‌سوزی‌ها جدا می‌شوند (۲۵-۲٤). این قارچ نسبت به دماهای بالا (۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد) مقاوم و قادر به ادامه‌ی حیات است (۲۵) و داشتن این ویژگی می‌تواند توجیهی بر جداسازی این قارچ از ضایعات بیماران دچار سوختگی باشد.

Ballard و همکاران با انجام مطالعه‌ی سه ساله‌ای بر روی بیماران دچار سوختگی مراجعه کننده به ۱۵ مرکز در کشور آمریکا، از مواضع مختلف زخم‌ها، خون، ادرار، خلط و... نمونه‌گیری انجام دادند. از ٦۹۱۸ بیمار، ٤۳۵ نفر به طور میانگین دارای کشت‌های قارچی مثبت بودند. آن‌ها فراوانی گونه‌های قارچی جدا شده از بیماران را بین ۲٤-۰/۷ درصد گزارش کردند (۳۱) که حداقل درصد اعلام شده با یافته‌های بررسی حاضر (۰/۹ درصد) مطابقت دارد. همچنین، آن‌ها برای تعدادی از بیماران مورد بررسی جهت پیشگیری و درمان عفونت‌های قارچی، داروهای ضد قارچ موضعی و سیستمیک تجویز نمودند (۳۱). نتایج تحقیق Luo و همکاران که بر روی مخمرهای جدا شده از نمونه‌های زخم، خون، ادرار، مدفوع و خلط ۳۹۰۹ بیمار دچار سوختگی بستری در یک مرکز در کشور چین انجام شد، نشان داد که ۳٦ بیمار (۰/۹۲ درصد) از نظر وجود عوامل قارچی مثبت بودند (۳۲) و با وجود تعداد بیشتر نمونه، درصد فراوانی آن‌ها با درصد استخراج شده از پژوهش حاضر همخوانی داشت.

در مطالعه‌ی Luo و همکاران، در روز سوم آسیب، برای بیماران داروهای ضد قارچ از جمله ایتراکونازول، فلوکونازول، کتوکونازول، آمفوتریسین B و ۵-فلوروسیتوزین تجویز گردید تا از بروز عفونت‌های قارچی احتمالی جلوگیری شود (۳۲). در پژوهش حاضر نیز به منظور پیشگیری از بروز عفونت‌های قارچی مهاجم در بیماران و جلوگیری از افزایش مرگ و میر آن‌ها، در بدو ورود به مرکز، از داروهای ضد قارچ مانند فلوکونازول، کتوکونازول و ایتراکونازول استفاده شد. تجویز داروهای ایتراکونازول، فلوکونازول، کتوکونازول، آمفوتریسین B و ۵-فلوروسیتوزین در مطالعات Luo و همکاران (۳۲) و Ballard و همکاران (۳۱)، مهم‌ترین علت پایین بودن میزان کشت‌های مثبت قارچی بود. اگرچه این امر می‌تواند کمک شایانی به کنترل بروز عفونت‌های قارچی در بیماران دچار سوختگی کند، اما به مرور زمان می‌تواند باعث بروز تغییر در اپیدمیولوژی گونه‌های قارچی شایع در بیماران و پدیدار شدن گونه‌های مقاوم به داروها شود. جهت جلوگیری از بروز این پیامدها، باید نوع درمان‌های ضد قارچی بر اساس بررسی هر بیمار بستری در مرکز از طریق نمونه‌گیری‌های دوره‌ای از زخم و تهیه‌ی الگوریتم‌هایی از عوامل بیماری‌زای شایع در بیماران، صورت گیرد (۱۸، ۱۲). بر اساس نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر، به کارگیری روش‌های پیشگیری و درمانی موجود، کارامد بود و استفاده‌ی به موقع از آنتی‌بیوتیک‌های ضد قارچی، مانع از رشد و بیماری‌زایی عوامل قارچی در زخم بیماران دچار سوختگی شد.

رفیعی و همکاران پژوهشی را بر روی ٤۱۱ بیمار دچار سوختگی در شهر اهواز انجام دادند. از کل بیماران، ۳٦ بیمار (۷/۸ درصد) از نظر وجود عوامل قارچی در نمونه‌ها مثبت گزارش شدند (۳۳). مطالعه‌ی دو ساله‌ی Gupta و همکاران که بر روی نمونه‌های سواپ دهان و ترشحات زخم سوختگی‌ها، بافت و خون بیماران انجام گرفت، میزان فراوانی عوامل قارچی جدا شده از ۲۲۰ بیمار سوختگی را ٦۳ درصد عنوان کرد (۳٤). Rafik و همکاران نیز طی انجام تحقیق سه ساله‌ی خود در موراکو، با بررسی نمونه‌های زخم، خلط، ادرار و خون ۱۸۱۲ بیمار دچار سوختگی از نظر وجود گونه‌های قارچی، میزان شیوع عوامل قارچی را ۱۰ درصد اعلام کردند (۳۵). Cen و همکاران مطالعه‌ای را بر روی نمونه‌های زخم، خون، کاتتر، خلط، ادرار و مدفوع ۱۹٤۲ بیمار بستری در بیمارستان انجام دادند و نمونه‌ها را به منظور وجود عوامل قارچی و باکتریایی بررسی کردند. فراوانی عوامل قارچی، ۱۳/٤ درصد گزارش گردید (۳٦).

نتایج تحقیقات ذکر شده (۳٦-۳۳) با نتایج بررسی حاضر تفاوت داشت. از علل این تفاوت می‌توان به تعداد بیشتر نمونه‌های مورد بررسی توسط محققان مطالعات اشاره نمود. در بیشتر پژوهش‌های مذکور به دلیل عدم محدودیت‌های زمانی، امکان بررسی میزان بیشتری از نمونه‌ها در بیماران دچار سوختگی از نظر وجود عوامل قارچی فراهم بود. از سوی دیگر، در بررسی حاضر فقط نتایج حاصل از نمونه‌های زخم سوختگی مورد بررسی قرار گرفت و گزارش شد؛

www.SID.ir
www.mui.ac.ir
Archive of SID

در صورتی که در اغلب مطالعات ذکر شده با نتایج متفاوت، انواع نمونه‌ها از جمله خون، خلط و ادرار، در کنار نمونه‌های زخم مورد بررسی قرار گرفت و نتایج به طور کلی بیان گردید و میزان فراوانی عوامل قارچی جدا شده به تفکیک برای هر نمونه اعلام نشده است. چنانچه گزارش فراوانی عوامل قارچی موجود در نمونه‌های زخم، به طور جدا از سایر نتایج اعلام می‌شد، احتمال وجود نتایج مشابه بیشتری در تحقیقات انجام شده با مطالعه‌ی حاضر وجود داشت.

یکی از عوامل مستعد کننده‌ی بروز عفونت‌های قارچی در بیماران دچار سوختگی، وجود بیماری‌های زمینه‌ای در آن‌ها می‌باشد (۱۸). در مطالعه‌ی حاضر افراد مبتلا به بیماری‌های زمینه‌ای، درصد کمی از بیماران را تشکیل دادند و بیماری‌های آنان با تجویز داروهای لازم با توجه به پرونده‌ی پزشکی‌شان تحت کنترل بود؛ در صورتی که در بیشتر مطالعات ذکر شده، اشاره‌ای به وجود یا عدم وجود بیماری‌های زمینه‌ای در بیماران دچار سوختگی نشده است. بنابراین، احتمال وجود شرایط تأثیرگذار در مطالعات وجود دارد و می‌تواند از علل دیگر کسب نتایج متفاوت با پژوهش حاضر باشد.

از دیگر دلایل نتایج متفاوت، موقعیت جغرافیایی شهر اصفهان می‌باشد که خوشبختانه به لحاظ قرار گرفتن در ناحیه‌ی سرد و خشک، شرایط را برای کلونیزاسیون و رشد عوامل قارچی دشوار می‌سازد. به نظر می‌رسد مجموع این شرایط در کنار هم، توانسته است بستری عاری از عفونت قارچی را برای بیماران دچار سوختگی در این مرکز فراهم نماید.

تشکر و قدردانی

مطالعه‌ی حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی با شماره‌ی ۳۹۵۳۰۸ مصوب دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. بدین وسیله از کلیه‌ی کارکنان مرکز سوانح و سوختگی امام موسی کاظم (ع) اصفهان و گروه قارچ و انگل‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی اصفهان که در انجام این پژوهش همکاری نمودند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Church D, Elsayed S, Reid O, Winston B, Lindsay R. Burn wound infections. Clin Microbiol Rev 2006; 19(2): 403-34.
2. Hettiaratchy S, Dziewulski P. ABC of burns: pathophysiology and types of burns. BMJ 2004; 328(7453): 1427-9.
3. Evers LH, Bhavsar D, Mailander P. The biology of burn injury. Exp Dermatol 2010; 19(9): 777-83.
4. Bhat VG, Vasaikar SD. Bacteriological profile and antibiogram of aerobic burn wound isolates in Mthatha, Eastern Cape, South Africa. South Afr J Epidemiol Infec 2010; 25(4): 16-9.
5. Mayhall CG. The epidemiology of burn wound infections: then and now. Clin Infect Dis 2003; 37(4): 543-50.
6. Weber J, McManus A. Infection control in burn patients. Burns 2004; 30(8): A16-A24.
7. de Macedo JL, Santos JB. Bacterial and fungal colonization of burn wounds. Mem Inst Oswaldo Cruz 2005; 100(5): 535-9.
8. Struck MF, Gille J. Fungal infections in burns: a comprehensive review. Ann Burns Fire Disasters 2013; 26(3): 147-53.
9. Luo G, Tan J, Peng Y, Wu J, Huang Y, Peng D, et al. Guideline for diagnosis, prophylaxis and treatment of invasive fungal infection post burn injury in China 2013. Burns Trauma 2014; 2(2): 45-52.
10. Taneja N, Emmanuel R, Chari PS, Sharma M. A prospective study of hospital-acquired infections in burn patients at a tertiary care referral centre in North India. Burns 2004; 30(7): 665-9.
11. Fayazov AD, Shukurov SI, Shukurov BI, Sultanov BC, Namazov AN, Ruzimuratov DA. Disorders of the immune system in severely burned patients. Ann Burns Fire Disasters 2009; 22(3): 121-30.
12. Coban YK. Infection control in severely burned patients. World J Crit Care Med 2012; 1(4): 94-101.
13. Lari AR, Alaghehbandan R. Nosocomial infections in an Iranian burn care center. Burns 2000; 26(8): 737-40.
14. Branski LK, Al-Mousawi A, Rivero H, Jeschke MG, Sanford AP, Herndon DN. Emerging infections in burns. Surg Infect (Larchmt) 2009; 10(5): 389-97.
15. Ramage G, Williams C. The clinical importance of fungal biofilms. Adv Appl Microbiol 2013; 84: 27-83.
16. Lotfi N, Shokohi T. A review on fungal infection in burn patients, diagnosis and treatment. J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 23(108): 151-65. [In Persian].
17. Howard PA, Cancio LC, McManus AT, Goodwin CW, Kim SH, Pruitt BA. What's new in burn-associated infections? Current Surgery 1999; 56(7): 397-405.
18. Capoor MR, Sarabahi S, Tiwari VK, Narayanan RP. Fungal infections in burns: Diagnosis and management. Indian J Plast Surg 2010; 43(Suppl): S37-S42.
19. Kyriopoulos EJ, Kyriakopoulos A, Karonidis A, Gravvanis A, Gamatsi I, Tsironis C, et al. Burn injuries and soft tissue traumas complicated by mucormycosis infection: A report of six cases and review of the literature. Ann Burns Fire Disasters 2015; 28(4): 280-7.
20. Vesty A, Biswas K, Taylor MW, Gear K, Douglas RG. Evaluating the Impact of DNA Extraction Method on the Representation of Human Oral Bacterial and Fungal Communities. PLoS One 2017; 12(1): e0169877.
21. Sambrook J, Russell DW. Purification of nucleic acids by extraction with phenol:chloroform. CSH Protoc 2006; 2006(1).
22. Zarrin M, Ganj F, Faramarzi S. Analysis of the rDNA

Archive of SID
www.SID.ir

internal transcribed spacer region of the Fusarium species by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. Biomed Rep 2016; 4(4): 471-4.
23. Zarrin M, Erfaninejad M. Molecular variation analysis of Aspergillus flavus using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism of the internal transcribed spacer rDNA region. Exp Ther Med 2016; 12(3): 1628-32.
24. Luque EM, Gutierrez G, Navarro-Sampedro L, Olmedo M, Rodriguez-Romero J, Ruger-Herreros C, et al. A relationship between carotenoid accumulation and the distribution of species of the fungus Neurospora in Spain. PLoS One 2012; 7(3): e33658.
25. Kuo HC, Hui S, Choi J, Asiegbu FO, Valkonen JP, Lee YH. Secret lifestyles of Neurospora crassa. Sci Rep 2014; 4: 5135.
26. Perkins DD, Turner BC. Neurospora from natural populations: Toward the population biology of a haploid eukaryote. Exp Mycol 1988; 12(2): 91-131.
27. Hood SV, Moore CB, Denning DW. Neurospora sitophila pulmonary infection in a patient with AIDS. AIDS Patient Care STDS 1997; 11(4): 223-6.
28. Theodore FH, Littman ML, Almeda E. Endophthalmitis following catarct extraction due to Neurospora sitophila, a so-called nonpathogenic fungus. Am J Ophthalmol 1962; 53: 35-9.
29. Radix AE, Bieluch VM, Graeber CW. Peritonitis caused by Monilia sitophila in a patient undergoing peritoneal dialysis. Int J Artif Organs 1996; 19(4): 218-20.
30. Moreno-Ancillo A, Vicente J, Gomez L, Martin Barroso JA, Barranco P, Cabanas R, et al. Hypersensitivity pneumonitis related to a covered and heated swimming pool environment. Int Arch Allergy Immunol 1997; 114(2): 205-6.
31. Ballard J, Edelman L, Saffle J, Sheridan R, Kagan R, Bracco D, et al. Positive fungal cultures in burn patients: A multicenter review. J Burn Care Res 2008; 29(1): 213-21.
32. Luo G, Peng Y, Yuan Z, Cheng W, Wu J, Fitzgerald M. Yeast from burn patients at a major burn centre of China. Burns 2011; 37(2): 299-303.
33. Rafiei A, Hemadi A, Hamzehlooie F. Determination of fungal colonization among burn patients reffered to Taleghani hospital, Ahwaz. Iran J Infect Dis Trop Med 2006; 11(34): 41-4. [In Persian].
34. Gupta N, Haque A, Lattif AA, Narayan RP, Mukhopadhyay G, Prasad R. Epidemiology and molecular typing of Candida isolates from burn patients. Mycopathologia 2004; 158(4): 397-405.
35. Rafik A, Diouri M, Bahechar N, Chlihi A. Epidemiology of nosocomial fungal infections in the National Center for Burns in Casablanca, Morocco. Ann Burns Fire Disasters 2016; 29(2): 90-3.
36. Cen H, Wu Z, Wang F, Han C. Pathogen distribution and drug resistance in a burn ward: a three-year retrospective analysis of a single center in China. Int J Clin Exp Med 2015; 8(10): 19188-99.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Isfahan Medical School
Received: 26.09.2017
Vol. 35, No. 447, 3rd Week, November 2017
Accepted: 18.10.2017

The Survey of Fungal Wounds Infections in Burn Patients in Isfahan, Iran

Bayan Kameshki[1], Mostafa Chadeganipour[2], Javaher Chabavizadeh[3], Sima Yadegari[4]

Original Article

Abstract

Background: Bacteria, fungi, and viruses have the ability to colonize in burned lesions. Due to the wide use of antibacterial drugs, this colonization is increasing. These drugs induce impairment of immune system in burn patients, destruction of blood vessels, and presence of fungal agents in environment and body normal flora, so, colonization of fungi tends to induction of infection. The most common fungi in burn patients are Candida spp., Aspergillus spp., and other molds such as Mucorals. Nowadays, antifungals drugs cause resistance increasing in non-albicans spp., uncommon molds, and yeasts. This study aimed to determine fungal infections in burn patients.

Methods: From 111 hospitalized burn patients at Isfahan burn center, Iran, during February 2016 to April 2017, sampling was performed via pus swabs and skin scraping. Each sample divided into two parts; one for direct exam by 10% potassium hydroxide (KOH) and Giemsa staining. The second part cultured on Sabouraud dextrose agar with chloramphenicol (SC); then, incubated at 30°C for 24-48 hours, and after amplification, the polymerase chain reaction (PCR) product was purified and sent for DNA sequencing.

Findings: Out of 111 patients, only one specimen was positive in direct exam, culture criteria, and DNA sequencing, in which, Neurospora sitophila isolated and identified. In the present study, the frequency of fungal species was 0.9%.

Conclusion: Due to the consideration of antifungals at the early phase after burn injury, the low positive rate of fungal cultures is reasonable. This prophylaxis protocol is recommended to be considered in other burn centers.

Keywords: Burns, Wound infection, Fungal infections

Citation: Kameshki B, Chadeganipour M, Chabavizadeh J, Yadegari S. **The Survey of Fungal Wounds Infections in Burn Patients in Isfahan, Iran.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(447): 1225-32.

Archive

1- MSc Student, Department of Mycology and Parasitology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Professor, Department of Mycology and Parasitology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Assistant Professor, Department of Mycology and Parasitology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Infectious Disease Specialist, Imam Mousa Kazem Burn Center, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Javaher Chabavizadeh, Email: javaher_chabavi@yahoo.com

www.SID.ir