فراوانی مخمرهای کاندیدایی و غیر کاندیدایی در عفونت‌های قارچی مخمری در آزمایشگاه‌های تهران

سید جمال هاشمی[۱]، فریده زینی[۱]
آرزو چرسی‌زاده[۲*]
روشنک داعی قزوینی[۱]
محسن گرامی شعار[۲]

۱- گروه قارچ‌شناسی
۲- کارشناسی ارشد رشته قارچ‌شناسی

دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، بخش قارچ‌شناسی
تلفن: ۶۰۴۸۵۶۱-۰۹۱۲
email: charsizadeh53@gmail.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۰۷/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۱۰/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: عفونت‌های ایجاد شده توسط مخمرهای فرصت‌طلب از جمله گونه‌های کاندیدا، تریکوسپورون، رودوتروﻻ و ساکارومایسس در افراد با سیستم ایمنی ناکارآمد رو به افزایش بوده و تشخیص آن‌ها به‌دلیل مقاومت ذاتی و اکتسابی برخی گونه‌های قارچی به داروهای ضد قارچ رایج ضروری است. هدف این مطالعه شناسایی تا حد گونه به‌منظور انتخاب درمان صحیح ضد قارچی می‌باشد. ***روش بررسی:*** در این مطالعه ۲۰۰ بیمار مبتلا به عفونت قارچی مخمری مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌های گرفته شده از بیماران توسط آزمایش مستقیم و کشت در محیط‌های سابورو دکستروز آگار، کروم آگار کاندیدا، Corn Meal agar + Tween 80 و کازیین آگار مورد بررسی قرار گرفته و نیز آزمایش بیوشیمیایی جذب قندها با استفاده از کیت RapID yeast Plus System جهت شناسایی قطعی آن‌ها استفاده گردید و در نهایت برای تشخیص نهایی عوامل مخمری تعیین هویت نشده روش مولکولی PCR-RFLP با استفاده از آنزیم *Hpa* II انجام شد. ***یافته‌ها:*** جمعاً ۲۱۱ مخمر از ۲۰۰ نمونه بیمار مبتلا به عفونت‌های مخمری جدا شد. بیشترین عامل عفونت‌ها *کاندیدا آلبیکنس* با ۱۲۴ مورد (۵۸/۷۷٪) بود و به‌دنبال آن *کاندیدا پاراپسیلوزیس* ۳۶ مورد (۱۷/۰۷٪)، *کاندیدا تروپیکالیس* ۱۷ مورد (۸/۶٪)، *کاندیدا گلابراتا* ۱۳ مورد (۶/۱۶٪)، *کاندیدا کروزیی*، هشت مورد (۳/۷۹٪)، *کاندیدا گیلرموندی*، دو مورد (۰/۹۶٪)، گونه‌های تریکوسپورون، سه مورد (۱/۱۴٪)، گونه‌های رودوتروﻻ، یک مورد (۰/۴۷٪) و *ساکارومایسس سرویسیه*، یک مورد (۰/۴۷٪) و شش مورد (۲/۸۴٪) از دیگر گونه‌های مخمری بودند. ***نتیجه‌گیری:*** شایع‌ترین عفونت قارچی کاندیدیازیس ناخن بوده است و *کاندیدا آلبیکنس* فراوان‌ترین مخمر جدا شده از تمامی ضایعات می‌باشد.

کلمات کلیدی: مخمر، تشخیص، عفونت قارچی، کاندیدیازیس، *کاندیدا آلبیکنس*.

مقدمه

مخمرها (Yeasts) قسمت عمده‌ای از فلور نرمال پوست و سطوح مخاطی را شامل می‌شوند و هنگامی که میزبان به هر علتی دچار نقص ایمنی شود، موجب عفونت‌های قارچی فرصت‌طلب سطحی، جلدی، مخاطی و یا سیستمیک می‌شوند. عفونت‌های مخمری از جمله کاندیدیازیس از مهم‌ترین و شایع‌ترین عفونت‌های قارچی فرصت‌طلب هستند که به‌صورت حاد، تحت حاد و مزمن در پوست، ناخن، سطوح مخاطی واژن، برونش، ریه و دستگاه گوارش ایجاد می‌شوند گاهی نیز منتشر شده و کلیه، کبد، ریه و قلب را گرفتار می‌سازند. واکنش میزبان در برابر بیماری از یک التهاب مختصر تا بروز ضایعات چرکی و گرانولوماتوز در تغییر است. در چند دهه اخیر افزایش چشمگیری در عفونت‌های ایجاد شده توسط این ارگانیسم‌ها اتفاق افتاده است و افزایش بروز عفونت‌های فرصت‌طلب مخاطی و سیستمیک توسط مخمرها با افزایش جمعیت بیماران با سیستم ایمنی ناکارآمد و هم‌چنین پیشرفت در علم پزشکی و استفاده از روش‌های درمانی جدید در ارتباط بوده است.[۱-۳] *کاندیدا آلبیکنس* بیشترین مخمری است که از این عفونت‌ها جدا می‌شود اما گونه‌های غیر *آلبیکنس* و هم‌چنین مخمرهایی مانند تریکوسپورون، رودوتروﻻ و ساکارومایسس نیز در بیماران با نقص سیستم ایمنی شیوع رو به افزایشی دارند.[۴و۵] اهمیت برخی گونه‌های مخمری به مقاومت آن‌ها به داروهای ضد قارچی مرتبط بوده و مقاومت به آمفوتریسین B در *کاندیدا لوزیتانیا* و دیگر گونه‌های *کاندیدا* از جمله *کاندیدا*

Archive of SID
www.SID.ir

گیلرموندی، *کاندیدا اینکانسپیکوا*، *کاندیدا کفایر*، *کاندیدا کروزیی*، *کاندیدا روگوزا* و گونه‌های *تریکوسپورون* اثبات شده است.[۶-۸] به همین ترتیب مقاومت به داروهای ضد قارچی گروه آزولی در *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا کروزیی* نیز ثابت شده است.[۹] از طرفی کاهش مقاومت به داروهای ضد قارچ جدیدتر از جمله اکینوکاندین‌ها مثل آنیدولافانژین در گونه‌هایی مانند *کاندیدا گیلرموندی* و *کاندیدا پاراپسیلوزیس* گزارش شده است.[۱۰] به‌همین جهت شناسایی دقیق گونه‌های مخمری از لحاظ درمان مؤثر ضد قارچی، مطالعات اپیدمیولوژیک و کنترل و پیش‌گیری از عفونت‌های بیمارستانی ضروری به‌نظر می‌رسد. در عمده کارهای آزمایشگاه قارچ‌شناسی کاندیداها به‌صورت *Candida* species گزارش می‌شوند و هویت مخمرهای غیر کاندیدایی نیز تعیین نمی‌گردد. در این تحقیق علاوه بر تعیین هویت گونه‌های کاندیدا مخمرهای غیر کاندیدایی که به‌صورت Yeast گزارش می‌شدند نیز تعیین جنس و گونه شدند.

روش بررسی

این مطالعه یک مطالعه مقطعی بوده که در مدت ۱۶ ماه و از فروردین ۱۳۸۸ تا مرداد ۱۳۸۹ انجام شده و ۲۰۰ نفر از بیماران مبتلا به عفونت‌های جلدی، مخاطی و احشایی مراجعه‌کننده به آزمایشگاه‌های قارچ‌شناسی شهر تهران مورد بررسی قرار گرفتند. جمع‌آوری اطلاعات از طریق ثبت اطلاعات در دفتر پذیرش و پرسشنامه صورت گرفت که شامل جنس، سن، شغل، محل ضایعه و محل ابتلا بود و داشتن بیماری زمینه‌ای، عمل جراحی پیوند و استفاده از داروهای سرکوب‌کننده سیستم ایمنی نیز لحاظ شد. روش کار برای آزمایش نمونه‌های بیماران به‌صورت متداول آزمایش مستقیم میکروسکوپی و کشت بوده است. آزمایش مستقیم با پتاس ۱۰٪ صورت گرفته و با مشاهده سلول‌های مخمری جوانه‌دار، هایف کاذب و هایف حقیقی وجود عفونت مخمری تأیید می‌شد. تمام نمونه‌ها را جهت جداسازی مخمرها بر روی محیط‌های سابورو دکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل (Difco Labratories USA) کشت داده و به‌دلیل حساسیت برخی گونه‌های مخمری مانند *کاندیدا کروزیی*، *کاندیدا پاراپسیلوزیس* و *کاندیدا تروپیکالیس* به سیکلوهگزامید از این آنتی‌بیوتیک استفاده نشد. پلیت‌ها به‌مدت دو هفته در دمای ۳۰ °C انکوبه شدند و روزانه از نظر رشد گونه‌های مخمری بررسی شدند زیرا *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا گیلرموندی* ممکن است برای رشد نیازمند انکوباسیون طولانی باشند.[۳و۱۱] پس از رشد مخمرها، به‌منظور جداسازی نمونه‌های مخلوط بیش از یک مخمر، بر روی محیط کروم آگار کاندیدا (CHROMagar company, France) به‌صورت Strick کشت داده و در دمای ۳۷ °C انکوبه کرده و پس از ۴۸ و ۷۲ ساعت بررسی شدند.[۱۲] سپس از هر کلنی رنگی یک لوپ برداشته و به‌صورت خطی در محیط کشت کورن میل آگار حاوی توین ۸۰ (Difco Labratories USA) کشت داده و به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق انکوبه کرده و سپس از لحاظ تولید کلامیدوسپور بررسی شدند.[۱۳] کلنی‌هایی که روی محیط کروم آگار کاندیدا تولید رنگ سبز، سبز روشن و تیره و سبز آبی کرده و در بررسی میکروسکوپی کلنی‌ها بر روی محیط کورن میل آگار حاوی توین ۸۰ ایجاد کلامیدوسپور کرده بودند به‌عنوان *کاندیدا آلبیکنس* و کلنی‌های بنفش رنگ که بر روی کورن میل آگار به‌صورت مخمر فاقد هایف رشد کرده بودند به‌عنوان *کاندیدا گلابراتا* در نظر گرفته شدند. کلنی‌های آبی تیره و آبی خاکستری که بر روی کورن میل آگار حاوی توین ۸۰ تولید سودوهایف‌های طویل و بلاستوسپورهای فراوان در امتداد سودوهایف کرده، به‌عنوان *کاندیدا تروپیکالیس* و کلنی‌های بنفش صورتی رنگ با حاشیه مضرس به‌عنوان *کاندیدا کروزیی* در نظر گرفته شدند. کلنی‌هایی که طیفی از صورتی- بنفش تا کرم و یا رنگ آبی نفتی و آبی متالیک داشتند به‌عنوان دیگر مخمرها لحاظ شدند و در نهایت تست‌های تکمیلی برای تشخیص قطعی استفاده شد از جمله تست تشخیص و افتراق مخمرها بر اساس توانایی نمونه‌ها در جذب منابع کربوهیدراتی با استفاده از کیت تشخیص مخمر RapID Yeast Plus System™ (remel) که بر طبق دستورالعمل شرکت سازنده آن عمل شد.[۱۴] هم‌چنین جهت تعیین هویت برخی مخمرهای ناشناخته تکنیک مولکولی PCR-RFLP با استفاده از آنزیم‌های اختصاصی مخمرها به‌کار گرفته شد. برای این کار پس از استخراج DNA ژنومیک هر مخمر ناحیه ITS1-ITS2 و قطعه ۵/۸S میانی موجود در DNA ریبوزومی به روش PCR تقویت شد سپس محصول PCR با آنزیم محدودالاثر *Hpa* II برش داده و محصولات RFLP روی ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز گردید. نوع مخمر با توجه به الگوی الکتروفورزی و اندازه از قبل توصیف شده باندها تشخیص داده شد.[۱۵و۱۶] برای افتراق فنوتیپی *کاندیدا آلبیکنس* از *کاندیدا دابلینسیس*، علاوه بر رنگ کلنی بر روی محیط کروم آگار،

Archive of SID

www.SID.ir

بررسی تولید کلامیدوسپور توسط *کاندیدا دابلینینسیس* بر روی محیط کازیین آگار نیز انجام شد.[۱۷]

یافته‌ها

جمعیت مورد مطالعه شامل ۱۲۶ زن و ۷۴ مرد مبتلا به عفونت‌های قارچی مخمری اعم از جلدی، مخاطی و احشایی بودند که در محدوده سنی دو ماه تا ۸۵ سال قرار داشتند. بیشترین تعداد بیماران در گروه سنی ۵۹-۵۰ سال و کم‌ترین تعداد بیماران در گروه سنی ۸۹-۸۰ سال قرار داشتند. نمونه‌های گرفته شده مربوط به تراشه ناخن (۵۰٪)، تراشه پوست (۲۰٪)، مخاط دهان و حلق (۳/۵٪)، مخاط واژن (۲٪)، خلط و Bronchoalveolar Lavage (BAL) (۱۳٪)، تراشه قرنیه (۲/۵٪)، مخاط بینی (۱٪)، مقعد (۰/۵٪)، بیوپسی (۲٪)، مایع صفاق (۱٪)، کاتتر (۱٪)، ترشحات زخم (۰/۵٪)، ادرار (۲/۵٪) و مدفوع (۰/۵٪) بودند. فراوانی ضایعات نمونه‌برداری شده از بیماران بر حسب اشکال بالینی جلدی، مخاطی و احشایی به این ترتیب بود: ضایعات جلدی ۱۴۲ مورد شامل ۱۰۰ نمونه ناخن، ۴۰ نمونه پوست و یک نمونه ترشح زخم و یک نمونه از پوست مقعد، ضایعات مخاطی ۱۳ مورد شامل هفت نمونه سواب دهان و حلق، چهار نمونه ترشحات واژن، دو نمونه مخاط بینی و ضایعات احشایی ۴۵ مورد شامل ۲۶ نمونه خلط و BAL، چهار نمونه بیوپسی، دو نمونه مایع صفاق، دو نمونه کاتتر، پنج نمونه ادرار، پنج نمونه تراشه قرنیه و یک نمونه مدفوع. بیشترین موارد بیماری مربوط به عفونت ناخن و در دو گروه سنی ۴۹-۴۰ سال و ۶۹-۶۰ سال بود با ۱۹ بیمار در هر گروه و بیشترین بیماری پوست بدن مربوط به کشاله ران با ۲۱ مورد و بعد از آن بین انگشتان پا با ۱۱ مورد گرفتاری بود. در میان نمونه‌های مخاطی بیشترین نمونه مربوط به محوطه دهان با هفت نمونه که چهار مورد آن در گروه سنی صفر تا ۹ سال قرار داشتند و نمونه‌های قرنیه با پنج مورد در رده دوم نمونه‌های مخاطی قرار داشتند، تعلق داشت. در بین نمونه‌های احشایی بیشترین نمونه مربوط به خلط و BAL با ۲۶ نمونه که بیشترین تعداد آن در گروه سنی ۵۹-۵۰ سال قرار داشت با شش بیمار و پس از آن نمونه‌های ادرار و نمونه‌های قرنیه هر کدام با پنج مورد بالاترین تعداد در بین نمونه‌های احشایی بودند. در آزمایش مستقیم با استفاده از پتاس ۱۰٪، ۱۳۹ نمونه مثبت و ۶۱ نمونه منفی گزارش گردید هم‌چنین از محیط کشت کروم آگار از ۲۰۰ نمونه، ۲۱۱ مخمر بر اساس رنگ‌های ایجاد شده، جدا شد به این ترتیب که از ۱۹۰ نمونه یک مخمر و از ۹ نمونه، دو مخمر و از یک نمونه که مربوط به خانمی با تومور پستان بود، سه مخمر جدا شد. از این ۱۰ نمونه، یک نمونه مربوط به BAL و شامل دو گونه *کاندیدا آلبیکنس* و *کاندیدا گلابراتا* و یک نمونه مربوط به پوست شست دست و شامل دو گونه *کاندیدا آلبیکنس* و *کاندیدا پاراپسیلوزیس* بود. هشت نمونه مربوط به ناخن بود که از چهار مورد دو گونه *کاندیدا پاراپسیلوزیس* و *کاندیدا تروپیکالیس*، از یک مورد *کاندیدا آلبیکنس* و *کاندیدا گیلرموندی*، از یک مورد *کاندیدا تروپیکالیس* و *کاندیدا کروزیی*، از یک مورد *کاندیدا پاراپسیلوزیس* و *رودوتروولا* و از یک مورد سه گونه *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا تروپیکالیس* و *کاندیدا پاراپسیلوزیس* جدا شد. *کاندیدا آلبیکنس* در چهار نمونه (۳۶/۴٪) و *کاندیدا پاراپسیلوزیس* در هفت نمونه (۶۳/۶٪) مشترک بود. پس از تست کلامیدوسپور بر محیط کورن میل آگار حاوی توین ۸۰ از ۲۱۱ مخمر، ۱۲۴ مورد *کاندیدا آلبیکنس*، ۶۹ مورد گونه‌های *کاندیدا*، سه مورد *تریکوسپورون* و ۱۵ مورد مخمر به‌دست آمد. *کاندیدا آلبیکنس*ها روی محیط کروم آگار طیفی از رنگ سبز روشن، سبز تا سبز تیره داشتند و بر روی محیط کازیین آگار همگی تولید کلامیدوسپور کردند. چند گونه *کاندیدا* که توسط محیط کروم آگار کاندیدا و روش RapID Yeast Plus System شناسایی

جدول-۱: توزیع فراوانی مطلق و نسبی مخمرهای جدا شده از بیماران (جنس)

جنس / گونه مخمری	مذکر تعداد (درصد)	مؤنث تعداد (درصد)	مجموع تعداد (درصد)
کاندیدا آلبیکنس	۴۸ (۲۲/۷۵٪)	۷۶ (۳۶/۰۲٪)	۱۲۴ (۵۸/۷۷٪)
کاندیدا پاراپسیلوزیس	۹ (۴/۲۷٪)	۲۷ (۱۲/۸٪)	۳۶ (۱۷/۰۷٪)
کاندیدا تروپیکالیس	۲ (۰/۹۵٪)	۱۵ (۷/۱۱٪)	۱۷ (۸/۰۶٪)
کاندیدا گلابراتا	۷ (۳/۳۲٪)	۶ (۲/۷۴٪)	۱۳ (۶/۱۶٪)
کاندیدا کروزیی	۳ (۱/۴۲٪)	۵ (۲/۳۷٪)	۸ (۳/۷۹٪)
کاندیدا گیلیرموندی	–	۲ (۰/۹۵٪)	۲ (۰/۹۵٪)
گونه‌ای تریکوسپورون	۲ (۰/۹۵٪)	۱ (۰/۴۷٪)	۳ (۱/۴۲٪)
رودوتروولا گلوتینیس	۱ (۰/۴۷٪)	–	۱ (۰/۴۷٪)
ساکارومایسس سرویسیه	–	۱ (۰/۴۷٪)	۱(۰/۴۷٪)
سایر گونه‌های کاندیدا	۴ (۱/۸۹٪)	۲ (۰/۹۵٪)	۶ (۲/۸۴٪)
مجموع	۷۶ (۳۶/۰۲٪)	۱۳۵ (۶۳/۹۸٪)	۲۱۱ (۱۰۰٪)

Archive of SID
www.SID.ir

جدول-۲: توزیع فراوانی مطلق و نسبی مخمرهای جدا شده از بیماران (نوع نمونه)

مخمر / نمونه	کاندیدا آلبیکنس	کاندیدا پاراپسیلوزیس	کاندیدا تروپیکالیس	کاندیدا گلابراتا	کاندیدا کروزیی	کاندیدا گیلرموندی	تریکوسپورون	رودوترولا گلوتینیس	ساکارومایسس سرویسیه	سایر مخمرها	مجموع
تراشه	۵۱	۲۷	۱۴	۴	۶	۲	۱	۱	۱	۲	۱۰۹
ناخن	(٪۲۴/۲)	(٪۱۲/۸)	(٪۶/۷)	(٪۱/۹)	(٪۲/۸)	(٪۰/۹۵)	(٪۰/۴۷)	(٪۰/۴۷)	(٪۰/۴۷)	(٪۰/۴۷)	(٪۱۹/۴۳)
تراشه	۳۱	۷			۱		۲				۴۱
پوست	(٪۱۴/۷)	(٪۳/۳۲)	–	–	(٪۰/۴۷)	–	(٪۰/۹۵)	–	–	–	(٪۱۹/۴۳)
دهان و	۶			۱							۷
حلق	(٪۲/۸)	–	–	(٪۰/۴۷)	–	–	–	–	–	–	(٪۳/۳۲)
ترشح	۲			۲							۴
واژن	(٪۰/۹۵)	–	–	(٪۰/۹۵)	–	–	–	–	–	–	(٪۱/۹)
خلط و	۲۰		۲	۳						۲	۲۷
BAL	(٪۹/۵)	–	(٪۰/۹۵)	(٪۱/۴)	–	–	–	–	–	(٪۰/۹۵)	(٪۱۲/۸)
قرنیه	۵										۵
	(٪۲/۳۷)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	(٪۲/۳۷)
مخاط	۲										۲
بینی	(٪۰/۹۵)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	(٪۰/۹۵)
مخاط	۱										۱
مقعد	(٪۰/۴۷)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	(٪۰/۴۷)
بیوپسی	۳										۳
	(٪۱/۴)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	(٪۱/۴)
مایع		۱		۱							۲
صفاق	–	(٪۰/۴۷)	–	(٪۰/۴۷)	–	–	–	–	–	–	(٪۰/۹۵)
کاتتر	۱		۱								۲
	(٪۰/۴۷)	–	(٪۰/۴۷)	–	–	–	–	–	–	–	(٪۰/۹۵)
ترشح				۱							۱
زخم	–	–	–	(٪۰/۴۷)	–	–	–	–	–	–	(٪۰/۴۷)
ادرار	۲	۱		۱	۱						۵
	(٪۰/۹۵)	(٪۰/۴۷)	–	(٪۰/۴۷)	(٪۰/۴۷)	–	–	–	–	–	(٪۲/۳۷)
مدفوع										۱	۱
	–	–	–	–	–	–	–	–	–	(٪۰/۴۷)	(٪۰/۴۷)
مجموع	۱۲۴	۳۶	۱۷	۱۳	۸	۲	۳	۱	۱	۶	۲۱۱
	(٪۵۸/۷۷)	(٪۱۷/۰۷)	(٪۸/۰۶)	(٪۶/۱۶)	(٪۳/۷۹)	(٪۰/۹۵)	(٪۱/۴۲)	(٪۰/۴۷)	(٪۰/۴۷)	(٪۲/۸۴)	(٪۱۰۰)

BAL: Broncho-alveolar Lavage

قطعی نگردیدند نهایتاً توسط روش مولکولی PCR-RFLP تعیین گونه شدند. نتایج به‌دست آمده عبارت بودند از: *کاندیدا آلبیکنس* ۱۲۴ مورد (٪۵۸/۷۷)، *کاندیدا پاراپسیلوزیس* ۳۶ مورد (٪۱۷/۰۷)، *کاندیدا تروپیکالیس* ۱۷ مورد (٪۸/۰۶)، *کاندیدا گلابراتا* ۱۳ مورد (٪۶/۱۶)، *کاندیدا کروزیی* هشت مورد (٪۳/۷۹)، *کاندیدا گیلرموندی* دو مورد (٪۰/۹۵)، گونه‌های *تریکوسپورون* سه مورد (٪۱/۴۲)، *رودوترولا گلوتینیس* یک مورد (٪۰/۴۷)، *ساکارومایسس سرویسیه* یک مورد (٪۰/۴۷) و سایر گونه‌های مخمری شش مورد (٪۲/۸۴).

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

مخمرها و شبه مخمرها بر روی پوست، مخاط دهان، لوله گوارشی و مجاری ادراری- تناسلی ۸۰-۴۰٪ انسان‌ها به‌صورت هم‌زیست حضور داشته و انسان همواره در معرض این قارچ‌های زنده قرار دارد. در دو دهه اخیر به دلایل مختلف از جمله بیماری‌های اختلال در عملکرد سیستم ایمنی مثل بیماری ایدز، به هم خوردن تعادل فلور نرمال بدن مثل از بین رفتن فلور نرمال باکتریایی در نتیجه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف، استفاده از درمان‌های سرکوب‌گر و استرواییدتراپی و هم‌چنین به هم خوردن فیزیولوژی طبیعی بدن به‌دلیل جراحی قلب و استفاده از کاتترها، شاهد بیماری‌زایی قارچ‌هایی هستیم که قبلاً فقط به‌عنوان ساپروفیت و یا هم‌زیست مطرح بودند. به‌طور کلی هر قارچی بتواند در دمای بدن یعنی ۳۷ °C رشد کند باید به‌عنوان پاتوژن بالقوه تلقی شود. امروزه موارد روز افزون عفونت‌های ناشی از کاندیداهای غیر *آلبیکنس* از جمله *کاندیدا گلابراتا*، *کاندیدا تروپیکالیس*، *کاندیدا کروزیی* و *کاندیدا گیلرموندی* و هم‌چنین عفونت با دیگر مخمرها از جمله *ترایکوسپورون‌ها*، *رودوتروولاها* و گونه‌های *ساکارومایسس* در حال گزارش است.[۴و۵] افزایش مصرف داروهایی نظیر فلوکونازول به‌منظور درمان پروفیلاکتیک در افراد با بیماری‌های زمینه‌ای مثل ایدز و یا درمان‌های غیر علمی ضد قارچی باعث افزایش شیوع عفونت‌های مخمری با دیگر گونه‌هایی شده که به‌طور ذاتی یا اکتسابی نسبت به این داروهای ضد قارچی مقاومت نشان می‌دهند.[۹] مخمرها باعث ایجاد طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله عفونت‌های سطحی و جلدی، عفونت‌های مخاطی و عفونت‌های سیستمیک و منتشره می‌شوند. در بیشتر موارد عفونت‌های سطحی با منشأ اندوژن و از محل دهان، لوله گوارشی، مجرای ژنیتال و پوست می‌باشند. عفونت ناخن به‌خصوص ناخن‌های دست، عفونت مزمنی است که بیشترین موارد عفونت‌های مخمری را شامل می‌شود و اثرات منفی مهمی بر کیفیت زندگی افراد می‌گذارد و ممکن است باعث محدود شدن فعالیت‌های فیزیکی شخص شود و از طرفی تغییرات ناخن به‌دلیل این عفونت‌ها سبب ایجاد بستری برای عفونت ثانویه باکتریایی ناخن می‌شود. بروز عفونت ناخن به چندین فاکتور وابسته است از جمله: سن، جنس، شغل، فعالیت‌های اجتماعی، آب و هوا و بیماری‌های زمینه‌ای مثل دیابت ملیتوس و نقص سیستم ایمنی. این بروز به‌دلیل افزایش سن جوامع، استفاده روز افزون از داروهای آنتی‌بیوتیک و ایمنوساپرسیو، در معرض قرار گرفتن بیشتر با عوامل ایجاد کننده عفونت و پوشیدن کفش‌های تنگ در حال افزایش است.[۱۸] بیشترین عفونت سیستمیک ایجاد شده با عامل مخمری، کاندیدمی (Candidemia) می‌باشد که در رده چهارم عفونت‌های خون کسب شده از بیمارستان در آمریکا و با همین گرایش در تمام دنیا می‌باشد و تأثیرات اجتماعی بالایی دارد و برخلاف پیشرفت‌هایی که در درمان صورت گرفته و توسعه داروهای ضد قارچی و دسترسی بیشتر به داروها، مرگ و میر منتسب بیش از ۳۰٪ دارد.[۴] عفونت‌های ایجاد شده توسط گونه‌های *تریکوسپورون*، *رودوتروولا* و *ساکارومایسس* بسیار شبیه به کاندیدیازیس هستند و شرایط زمینه‌ای ایجاد بیماری نیز تقریباً یکسان می‌باشد.[۱۹] در این مطالعه استفاده از محیط کروم آگار به‌همراه تست تولید کلامیدوسپور برای تشخیص چهار گونه مهم *کاندیدا* یعنی *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا تروپیکالیس*، *کاندیدا کروزیی* و *کاندیدا گلابراتا* مناسب و قابل اعتماد مشاهده شده که در مطالعات دیگر نیز بیان شده است.[۲۰-۲۲] استفاده از روش بیوشیمیایی جذب قندها با استفاده از کیت RapID Yeast plus system در برخی از موارد با عدم تشخیص قطعی بعضی گونه‌ها از جمله *کاندیدا پاراپسیلوزیس* و *کاندیدا گیلرموندی* همراه بوده همان طور که Heelan هم تشخیص فقط سه گونه شایع *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا تروپیکالیس* و *کاندیدا گلابراتا* را با این روش ۹۹٪ گزارش کرده است.[۲۳] استفاده از محیط کازیین آگار برای افتراق مرفولوژیکی *کاندیدا آلبیکنس* از *کاندیدا دابلینینسیس* نیز برخلاف عقیده Mosca معتبر نبوده چراکه تمامی ایزوله‌های کشت داده شده بر روی این محیط تولید کلامیدوسپور کردند.[۱۷] نتایج بررسی حاضر نشان می‌دهد که از ۱۰۹ مخمر جدا شده از ۱۰۰ نمونه تراشه ناخن، ۵۱ مورد (۴۶/۸٪) *کاندیدا آلبیکنس*، ۲۷ مورد (۲۴/۸٪) *کاندیدا پاراپسیلوزیس*، ۱۴ مورد (۱۲/۸٪) *کاندیدا تروپیکالیس*، شش مورد (۵/۵٪) *کاندیدا کروزیی*، چهار مورد (۳/۷٪) *کاندیدا گلابراتا*، دو مورد (۱/۸٪) *کاندیدا گیلرموندی*، یک مورد (۰/۹٪) *تریکوسپورون*، یک مورد (۰/۹٪) *رودوتروولا گلوتینیس* و یک مورد (۰/۹٪) *ساکارومایسس سرویسیه* به‌دست آمده که با مطالعات قبلی مطابقت دارد.[۲۴-۲۸] در مطالعه حاضر افزایش شیوع گونه‌های غیر *آلبیکنس* از جمله *کاندیدا پاراپسیلوزیس*، *کاندیدا تروپیکالیس*، *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا*

Archive of SID

www.SID.ir

کروزیی چشمگیر بوده و گرایش عفونت‌های با عامل *کاندیدا آلبیکنس* را به‌سمت عفونت‌های با عامل غیر *آلبیکنس* نشان می‌دهد که احتمالاً در نتیجه افزایش بیماران با سیستم ایمنی ناکارآمد با دلایل مختلف مثل بدخیمی و درمان آن‌ها، بیماری‌های خودایمنی و کورتیکو استرویید تراپی و ایدز می‌باشد. درمان‌های پروفیلاکتیک با داروهایی نظیر فلوکونازول برای پیشگیری از عفونت‌های فرصت‌طلب مخمری در این بیماران و از سوی دیگر مقاومت ذاتی و اکتسابی بعضی گونه‌های مخمری از جمله *کاندیدا کروزیی* و *کاندیدا گلابراتا* باعث این گرایش شده‌اند. باید توجه داشت که مقاومت‌های دارویی در مخمرهایی نظیر *تریکوسپورون* و *رودوتورولا* مشاهده شده که در شرایط خاص عامل ایجاد عفونت‌های مختلف مثل عفونت سیستمیک می‌باشند. این مطالعه شیوع بالای عفونت ناخن توسط مخمرها را نشان می‌دهد با ۱۰۰ نمونه ناخن که ۵۰٪ بیماران با عفونت مخمری را شامل می‌شود و پس از آن ضایعات پوستی با ۴۰ مورد (۲۰٪ نمونه‌ها) در رتبه دوم است که ۴۱ مخمر از آن‌ها جدا شد. بیشترین محل ضایعه پوستی مربوط به عفونت کشاله ران است با ۲۱ مورد (۵۱/۲٪) و بیشترین عامل عفونت پوستی *کاندیدا آلبیکنس* می‌باشد با ۳۱ مورد (۷۵/۶٪) و پس از آن *کاندیدا پاراپسیلوزیس* با هفت مورد (۱۷/۱٪)، *تریکوسپورون* با دو مورد (۴/۹٪) و *کاندیدا کروزیی* با یک مورد (۲/۴٪) در رده‌های بعدی قرار دارند. در بررسی Nishimoto در ژاپن بر روی درماتومایکوزیس ۱٪ بیماران مورد مطالعه دارای عفونت کاندیدیازیس جلدی بودند که عفونت کشاله ران شایع‌ترین شکل بیماری بود.[۲۹] در مطالعه Zeyni روی ۱۰۰ نمونه از ضایعات کاندیدایی با عامل غیر *آلبیکنس*، ۵۹ نمونه ناخن و ۱۷ نمونه پوست بدن به‌دست آمد که *کاندیدا پاراپسیلوزیس* ۲۴ مورد (۴۰/۷٪)، *کاندیدا تروپیکالیس* با ۲۳ مورد (۳۹٪)، *کاندیدا گیلرموندی* سه مورد (۵/۱٪)، *کاندیدا کروزیی*، *کاندیدا فاماتا* و *کاندیدا لوزیتانیا* هر کدام با دو مورد (۳/۴٪) و *کاندیدا هومیکولاتا* با یک مورد (۱/۷٪) نمونه‌های ناخن را شامل می‌شدند و از ۱۷ نمونه پوست هشت مورد (۴۷/۱٪) *کاندیدا پاراپسیلوزیس*، چهار مورد (۲۳/۵٪) *کاندیدا تروپیکالیس*، *کاندیدا کفایر* و *کاندیدا گلابراتا* هر کدام دو مورد (۱۱/۸٪) و کاندیدا فاماتا یک مورد (۵/۶٪) عامل عفونت ضایعات پوست بودند.[۳۰] در مطالعه اخیر بروز انیکومایکوزیس مخمری در زنان چهار برابر مردان (۲۰ مرد و ۸۰ زن) می‌باشد که در مطالعات پیشین دو تا سه برابر بیشتر گزارش شده است.[۳۱] این عفونت اغلب در افرادی که دستشان تماس بیشتری با آب دارد دیده می‌شود و در دهه‌های چهارم و پنجم و ششم زندگی جمعاً با ۵۶ مورد عفونت ناخن بیشترین درگیری ملاحظه می‌شود که به‌نظر می‌رسد افزایش سن هم در بروز بیماری مؤثر است. در مطالعه Ioannidou روی اونیکومایکوزیس در بین سال‌های ۱۹۹۲ تا ۲۰۰۱ عفونت مخمری ناخن دست در ۲۰ مرد و ۱۵۴ زن دیده شد که در ۱۲۱ مورد (۶۹/۵٪) *کاندیدا آلبیکنس* و ۵۳ مورد (۳۰/۵٪) دیگر گونه‌ها عامل عفونت بوده‌اند.[۱۸] در این بررسی بیشترین نمونه احشایی مربوط به نمونه خلط و BAL است با ۲۶ نمونه که ۲۷ مخمر از آن‌ها جدا شد که شامل ۲۰ مورد (۷۴/۱٪) *کاندیدا آلبیکنس*، سه مورد (۱۱/۱٪) *کاندیدا گلابراتا* و دو مورد (۷/۴٪) *کاندیدا تروپیکالیس* می‌باشد و در دو مورد (۷/۴٪) عامل سایر گونه‌ها هستند. ادرار با پنج نمونه در رده بعدی نمونه‌های احشایی قرار دارد که عامل دو مورد (۴۰٪) *کاندیدا آلبیکنس*، یک مورد (۲۰٪) *کاندیدا پاراپسیلوزیس*، یک مورد (۲۰٪) *کاندیدا گلابراتا* و یک مورد (۲۰٪) *کاندیدا کروزیی* می‌باشد. در مطالعه Yang بر روی گونه‌های کاندیدای مقاوم به فلوکونازول، در نمونه‌های خلط شیوع *کاندیدا آلبیکنس* ۴۷/۴٪، *کاندیدا گلابراتا* ۱۵/۴٪ و *کاندیدا تروپیکالیس* ۱۸/۶٪ گزارش شد و در نمونه‌های ادرار شیوع *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا کروزیی* به‌ترتیب با ۶۱/۵٪ و ۶۰/۵٪ بیشتر از *کاندیدا آلبیکنس* با ۰/۲۱٪ گزارش شد.[۳۲] بیشترین نمونه مخاطی مربوط به حفره دهان است با هفت مورد که عامل ۸۵/۷٪ (شش مورد) *کاندیدا آلبیکنس* و عامل ۱۴/۳٪ (یک مورد) *کاندیدا گلابراتا* می‌باشد. در بررسی که Katiraee روی کاندیدیازیس دهانی در بیماران مبتلا به HIV انجام داد، *کاندیدا آلبیکنس* (۵۰/۲٪) و *کاندیدا گلابراتا* (۲۲٪) بیشترین فراوانی را داشتند.[۳۳] در این بررسی بیشترین ضایعات مخمری مربوط به کاندیدیازیس ناخن بوده و *کاندیدا آلبیکنس* نیز فراوان‌ترین مخمر جدا شده از تمامی ضایعات می‌باشد. هم‌چنین برای تشخیص مخمرها علاوه بر روش‌های روتین آزمایشگاهی مانند آزمایش مستقیم و کشت و یا استفاده از تست‌های بیوشیمیایی (جذب قندها) بهتر است جهت تشخیص قطعی برخی گونه‌ها از روش‌های مولکولی در دسترس مانند PCR بهره گرفت.

سپاسگزاری: از همکاری آقای دکتر سید حسین میرهندی به‌جهت مساعدت در انجام بخش مولکولی این تحقیق سپاسگزاری می‌نمایم.

Archive of SID
www.SID.ir

References

1. Fridkin SK, Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections. *Clin Microbiol Rev* 1996;9(4):499-511.
2. Hanzen KC. New and emerging yeast pathogen. *Clin Microbiol Rev* 1995;8(4):462-78.
3. Shadzi Sh. Pathogenic yeasts. In: Medical Mycology. Isfahan University: Jihad Press; 2007. p. 43-59. [Persian]
4. Ostrosky-Zeichner L. Invasive Yeast Infectins. In: Maertens JA, Marr KA, editors. Diagnosis of Fungal Infections. New York: Informa Heathcare; 2007. p. 221-38.
5. Richardson MD. Changing patterns and trends in systemic fungal infections. *J Antimicrob Chemother* 2005;56 Suppl 1:i5-i11.
6. Merz WG. Candida lusitaniae: frequency of recovery, colonization, infection, and amphotericin B resistance. *J Clin Microbiol* 1984;20(6):1194-5.
7. Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA, Boyken L, Hollis RJ, Jones RN; International Fungal Surveillance Participant Group. In vitro activities of voriconazole, posaconazole, and four licensed systemic antifungal agents against Candida species infrequently isolated from blood. *J Clin Microbiol* 2003;41(1):78-83.
8. Walsh TJ, Melcher GP, Rinaldi MG, Lecciones J, McGough DA, Kelly P, et al. Trichosporon beigelii, an emerging pathogen resistant to amphotericin B. *J Clin Microbiol* 1990;28(7):1616-22.
9. Rex JH, Rinaldi MG, Pfaller MA. Resistance of *Candida* species to Fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39(1):1-8.
10. Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ, Messer SA, Tendolkar S, Diekema DJ. In vitro activities of anidulafungin against more than 2,500 clinical isolates of Candida spp., including 315 isolates resistant to fluconazole. *J Clin Microbiol* 2005;43(11):5425-7.
11. Zaini F, Mehbod ASA, Emami M. Opportunistic fungal disease. In: Comprehentive Medical Mycology. Tehran: University of Tehran press; 2004. p. 329-55. [Persian]
12. Odds FC, Bernaerts R. CHRO Magar candida, a new differential isolation medium for presumptive identiation of clinically important Candida species. *J Clin Microbiol* 1994;32(8):1923-9.
13. Kurtzman CP, Fell JW. The Yeasts: A Taxonomic Study. 4th ed. Amesterdam: Elsevier; 1998.
14. Kitch TT, Jacobs MR, McGinnis MR, Appelbaum PC. Ability of RapID Yeast Plus System to identify 304 clinically significant yeasts within 5 hours. *J Clin Microbiol* 1996;34(5):1069-71.
15. Mirhendi H, Makimura K, Khoramizadeh M, Yamaguchi H. A one-enzyme PCR-RFLP assay for identification of six medically important Candida species. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi* 2006;47(3):225-9.
16. Mirhendi SH, Kordbacheh P, Kazemi B, Samiei S, Pezeshki M, Khoramizadeh MR. A PCR-RFLP Method to Identification of the Important Opportunistic Fungi: Candida Species, *Cryptococcus* neoformans, Aspergillus fumigatus and Fusarium solani. *Iranian J Publ Health* 2001;30(3-4):103-6.
17. Mosca CO, Moragues MD, Llovo J, Al Mosaid A, Coleman DC, Pontón J. Casein agar: a useful medium for differentiating Candida dubliniensis from Candida albicans. *J Clin Microbiol* 2003;41(3):1259-62.
18. Ioannidou DJ, Maraki S, Krasagakis SK, Tosca A, Tselentis Y. The epidemiology of onychomycoses in Crete, Greece, between 1992 and 2001. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2006;20(2):170-4.
19. Richardson MD, Warnock DW. Other invasive yeast infections. In: Richardson MD, Warnock DW, editors. Fungal Infection: Diagnosis and Management. 3rd ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2003. p. 346-53.
20. Pfaller MA, Houston A, Coffmann S. Application of CHROMagar Candida for Rapid Sceening of Clinical Specimens for Candida albicans, Candida tropicalis, Candida krusei, and Candida (Torulopsis) glabrata. *J Clin Microbiol* 1996;34(1):58-61.
21. Willinger B, Manafi M. Evaluation of CHROMagar candida for screening of clinical specimens for Candida species. *Mycoses* 1999;42(1-2):61-5.
22. Powell HL, Sand CA, Rennie RP. Evaluation of CHROMagar Candida for presumptive identification of clinically important Candida species. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998;32(3):201-4.
23. Heelan JS, Sotomayor E, Coon K, D'Arezzo JB. Comparison of the rapid yeast plus panel with the API20C yeast system for identification of clinically significant isolates of Candida species. *J Clin Microbiol* 1998;36(5):1443-5.
24. Zaini F. Onychomycosis due to yeast and yeast-like Fungi. *Iranian J Publ Health* 1986;15(1-4):55-71. [Prsian]
25. Khosravi AR, Shokri H, Mansouri P, Katiraee F, Ziglari T. Candida species isolated from nails and their in vitro susceptibility to antifungal drugs in the department of Dermatology (University of Tehran, Iran). *J de mycologie med* 2008;18(4):210-5.
26. Zaini F, Mahoudi M, Mehbod ASA, Kordbache P, Safara M. Fungal Nail Infection in Tehran, Iran. *Iranian J Publ Health* 2009;38(3):46-53.
27. Hashemi SJ, Gerami M, Zibafar E, Daei M, Moazeni M, Nasrollahi A. Onychomycosis in Tehran: mycological study of 504 patients. *Mycoses* 2010;53(3):251-5.
28. Mirhendi SH, Adin H, Shidfar MR, Kordbache P, Hashemi SJ, Moazeni M, et al. Identification of candida species: PCR-fragment size polymorphism (PCR-FSP) method. *Tehran Uni Med J (TUMJ)* 2008;66(9):639-45.
29. Nishimoto K. An epidemiological survey of dermatomycoses in Japan, 2002. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi* 2006;47(2):103-11.
30. Afsarian MH, Zaini F, Kordbacheh P, Mahmoudi M, Rezaii S, Safara M. Identification and study of non-Albicans Candida species isolated from clinical materials of patients with Candidiasis. *Tehran Uni Med J (TUMJ)* 2007;65(12):38-47.
31. Nasrollahi Omran A, Hashemi SJ, Hashemi F. Epidemiology of superficial and cutaneous mycosis in 5500 suspected patients in Tehran. *Tehran Uni Med J (TUMJ)* 2010;68(1):45-53.
32. Yang YL, Cheng MF, Chang YW, Young TG, Chi H, Lee SC, et al. Host factors do not influence the colonization or infection by fluconazole resistant Candida species in hospitalized patients. *J Negat Results Biomed* 2008;7:12.
33. Katiraee F, Khosravi AR, Khalaj V, Khaksar AA, Rasoulinejad M, Yekani Nejad MS. Oal candidiasis in human immunodeficiency virus (HIV) infected individuals in Iran. *Tehran Uni Med J (TUMJ)* 2010;(68)1:37-44.

Archive of SID

www.SID.ir

Tehran University Medical Journal; Vol. 69, No. 1, April 2011: 55-62

Prevalence of candida and non-candida yeasts isolated from patients with yeast fungal infections in Tehran labs

Seyyed Jamal Hashemi PhD.[1]
Farideh Zaini PhD.[1]
Arezoo Charsizadeh MSc.[2*]
Roshanak Daie Ghazvini PhD.[1]
Mohsen Gerami Shoar MSc.[2]

1- Department of Medical Mycology, School of Public Health Research, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2- MSc. of Mycology, Department of Medical Mycology, School of Public Health Research, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[*] Corresponding author: Dept. of Medical Mycology, School of Public Health Research, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran.
Tel: +98-912-6048561
email: charsizadeh53@gmail.com

Received: October 05, 2010 Accepted: January 10, 2011

Abstract

Background: Infections caused by opportunistic yeasts such as *Candida species*, *Trichosporon*, *Rhodotorula* and *Saccharomyces* have increased in immunocompromised patients and their identification is crucial as intrinsic and acquired resistance of some yeast species to antifungal agents are on the rise. The aim of this study was to identify the organisms to the species level in order to suggest accurate and effective antifungal therapies.

Methods: In this study that carried out in Tehran, Iran in 2009, 200 patients with yeast infection were medically examined and clinical specimens were prepared for direct examination and culture on Sabouraud dextrose agar. Subsequently, the isolated yeast colonies were identified using various tests including culture on Corn Meal agar with Tween 80, CHROMagar Candida and casein agar. For the definite identification of organisms some biochemical tests were done based on carbohydrate assimilation by RapID Yeast Plus System kit, and, finally, a molecular method, PCR-RFLP, using *Hpa* II enzyme, was performed for the remaining unknown yeast species.

Results: A total of 211 yeast isolates were identified in 200 patients with yeast infections. The most frequent isolated yeasts were *Candida albicans*, 124 (58.77%), followed by *Candida parapsilosis,* 36 (17.06%), *Candida tropicalis,* 17 (8.06%), *Candida glabrata*, 13 (6.16%), *Candida krusei*, 8 (3.79%), *Candida guilliermondii*, 2 (0.96%), *Trichosporon,* 3 (1.14%), *Rhodotorula,* 1 (0.47%), *Saccaromyces cerevisiae,* 1 (0.47%) and other yeast species, 6 (2.84%).

Conclusion: Nail candidiasis was the most prevalent type of yeast infection in the patients and *Candida albicans* was the most frequent isolated species from all clinical specimens.

Keywords: Candida albicans, candidiasis, fungal infection, identification, yeast.

Archive of SID
www.SID.ir