پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و یکم شماره ۸۱ فروردین سال ۱۳۹۰ (۱۹-۱۱)

# بررسی حضور مالاسزیا در ضایعات آکنه ایی بیماران مراجعه کننده به درمانگاه پوست بیمارستان بوعلی ساری و ارزیابی سطح حساسیت دارویی گونه های جدا شده نسبت به کتوکونازول، میکونازول و کلوتریمازول

علیرضا کلارستاقی [۱] زهره حاج حیدری [۲] محمدتقی هدایتی [۳] طاهره شکوهی [۳]

## چکیده

**سابقه و هدف :** مالاسزیا از عوامل اتیولوژیک بیماری‌های پوستی از جمله آکنه و پاتوژن فرصت طلب در عفونت‌های مهاجم می‌باشد. با توجه به عدم وجود مطالعه‌ایی در این زمینه در استان و مطالعات اندک در کشور، مطالعه حاضر با هدف تعیین شیوع آکنه ناشی از مالاسزیا و همچنین سطح حساسیت دارویی گونه‌های جدا شده انجام شد.

**مواد و روش ها :** در این مطالعه تعداد ۱۲۲ بیمار (۶۶ زن و ۵۶ مرد) مورد مطالعه قرار گرفتند. نمونه‌ها از محتویات داخل آکنه تهیه شد. آزمایش میکروسکوپی نمونه‌ها با KOH + کالکوفلوئور وایت انجام شد. جهت کشت نمونه ها از محیط لیمینگ نوتمن استفاده گردید. گونه‌های جداشده به کمک ویژگی‌های مورفولوژی و فیزیولوژیکی شناسایی شده و با روش مولکولی نیز تایید شدند. تست حساسیت دارویی به روش براث میکرودایلوشن و با استفاده از داروهای کتوکونازول، کلوتریمازول و میکونازول انجام شد. میزان حداقل غلظت مهار کنندگی (Minimal inhibitory concentration: MIC) و حداقل غلظت کشندگی (Minimal fungicidal concentration: MFC) برای هر سه دارو به صورت جداگانه تعیین گردید.

**یافته ها :** در آزمایش مستقیم میکروسکوپی در ۶۰ نمونه (۴۹/۲ درصد)، سلول‌های مخمری دیده شد. کشت محتویات داخل آکنه در ۲۳ مورد از نظر رشد قارچی مثبت شد. مالاسزیا فورفور در ۳ مورد (۲/۵ درصد) تشخیص داده شد. بقیه موارد مثبت رشد قارچی مربوط به جنس کاندیدا بود. MIC داروی کتوکونازول در محدوده ۲-۰/۰۳ µg/ml، داروی کلوتریمازول در محدوده ۱۶-۴ µg/ml و داروی میکونازول در محدوده ۱۶-۲ µg/ml تعیین شد. همچنین MFC داروی کتوکونازول در محدوده ۲-۰/۰۳ µg/ml، داروی کلوتریمازول در محدوده ۱۶-۸ µg/ml و داروی میکونازول در محدوده ۱۶-۴ µg/ml تعیین شد.

**استنتاج :** با توجه به جداسازی قابل توجه کاندیدا در ضایعات آکنه در مطالعه حاضر تشخیص‌های افتراقی دقیق بر پایه کشت نمونه‌ها تاکید می‌شود. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که کتوکونازول موثرترین ایمیدازول در برابر ایزوله‌های مالاسزیا فورفور تست شده می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** مالاسزیا، آکنه، حساسیت دارویی

## مقدمه

آکنه بیماری التهابی مزمن واحدهای پیلوسباسه است که با کومدون، پاپول‌ها و پوسچول‌های اریتماتوز و تا حد کمتر ندول‌ها و در بعضی موارد اسکار مشخص می‌شود(۱). عوامل مختلف باکتریایی و یا قارچی را در

**مولف مسئول: دکتر محمدتقی هدایتی**- ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزر آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی E-mail: hedayaty2001@yahoo.co.uk

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد قارچ شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۲. گروه پوست، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۳. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

تاریخ دریافت : ۸۹/۷/۱۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۹/۹/۷ تاریخ تصویب : ۸۹/۱۲/۱۵



www.SID.ir

ایجاد آکنه دخیل می‌دانند که شامل گونه‌های مختلف پروپیونی باکتریوم، استافیلوکوک اپیدرمیدیس و گونه‌های مالاسزیا می‌باشند(۲). مالاسزیا مخمر لیپوفیل دوکی شکل و از اجزاء فلور نرمال پوست انسان بوده که در نواحی از بدن که غدد سباسه فراوان دارد نظیر صورت، سینه، بازوها و پشت و همچنین به تعداد کم در طبقه شاخی فولیکول موی ۹۰ درصد اشخاص سالم نیز دیده می‌شود(۳،۴). مطابق با طبقه‌بندی جدید که براساس ویژگی‌های مورفولوژیک، خصایص فیزیولوژیک و همچنین مطالعه سلولی و مولکولی صورت گرفته است، مالاسزیا شامل ۱۲ گونه مالاسزیا فورفور، مالاسزیا گلوبوزا، مالاسزیا ابتوسا، مالاسزیا رستریکتا، مالاسزیا پاکی درماتیس، مالاسزیا اسلوفی، مالاسزیا سیمپودیالیس، مالاسزیا درماتیس، مالاسزیا ژاپونیکا، مالاسزیا یاماتوانزیس، مالاسزیا نانا و مالاسزیا اکوآی می‌باشد(۵،۶). اخیراً گونه جدید Malassezia cuniculi sp.nov نیز توسط Cabanes و همکاران در سال ۲۰۱۰ از پوست خرگوش جدا و نامگذاری شد(۷).

گزارشات متعددی مبنی بر نقش گونه‌های مالاسزیا در ایجاد آکنه وجود دارد(۵-۱۰،۸). این مطالعات نشان از تنوع گونه‌ایی مالاسزیا در ایجاد آکنه در مناطق مختلف بوده است. در مطالعه Narifumi و همکاران فراوان‌ترین گونه‌های جدا شده به ترتیب مالاسزیا گلوبوزا و مالاسزیا سیمپودیالیس بودند(۵). در حالی‌که بر اساس مطالعات Gupta و همکاران گونه‌های مالاسزیا فورفور، مالاسزیا سیمپودیالیس، مالاسزیا اسلوفی، مالاسزیا پاکی درماتیس، مالاسزیا گلوبوزا، مالاسزیا ابتوسا و مالاسزیا رستریکتا بیشتر از دیگر گونه‌ها از بیماران مبتلا جدا گردید(۸). در مطالعه Canteros و همکاران نیز مالاسزیا سیمپودیالیس به عنوان شایع‌ترین گونه ایجاد کننده بیماری بوده و مالاسزیا گلوبوزا و مالاسزیا فورفور به ترتیب در رتبه های بعدی قرار داشتند(۹).

از آنجایی‌که بر اساس مطالعات انجام شده نقش گونه‌های مالاسزیا با توجه به حضور دائمی آن در پوست تقریبا تمامی افراد، می‌تواند در پاتوژنز آکنه بسیار با اهمیت جلوه نماید لذا در مطالعات متعددی اثر درمانی داروهای ضد قارچی بر روی گونه‌های مالاسزیا نیز مورد توجه بوده است. اگر چه داروهای گروه آزول بویژه کتوکونازول، میکونازول و کلوتریمازول به صورت موضعی و خوراکی بیشترین استفاده را در درمان بیماری‌های مرتبط با مالاسزیا دارند(۱۲،۱۱،۶) ولی بررسی‌های انجام شده در کشورهای مختلف سطوح حساسیتی متفاوتی را در گونه‌های جدا شده نسبت به داروهای گروه آزول نشان داده است(۱۰،۸،۶).

نکته با اهمیت دیگر این است که با توجه به نقش پر رنگ عوامل باکتریال در ایجاد آکنه، کمتر به نقش مالاسزیا در کلینیک‌ها و یا در بررسی‌ها بویژه در ایران معطوف بوده است. با عنایت به اینکه نوع داروی مورد استفاده در این دو حالت کاملا متفاوت می‌باشد، تشخیص و تفکیک عوامل ایجاد کننده بیماری در تجویز نوع آنتی بیوتیک در جلو گیری از استفاده نابجا و طولانی مدت دارو، شکست‌های درمانی و مقامت دارویی بسیار با اهمیت می‌باشد. از طرفی بیماری علاوه بر تاثیر منفی بر زیبایی فرد که می‌تواند مشکلات روحی و روانی را بویژه در نوجوانان ایجاد نماید در آزار بیماران و همچنین با مصرف طولانی مدت انواع آنتی‌بیوتیک‌ها سبب افزایش گونه‌های مقاوم میکروارگانیسمی در جامعه و تبعات اقتصادی نیز شود. از این رو با توجه به یافته های اشاره شده و با عنایت به وضعیت اقلیمی مازندران که شرایط بسیار مناسب برای ایجاد آکنه را فراهم می نماید و همچنین عدم وجود مطالعه‌ایی در این زمینه در استان و مطالعات اندک در کشور، در مطالعه حاضر توزیع گونه‌های مختلف مالاسزیا در وضعیت کلینیکی آکنه مورد بررسی قرار گرفته و همچنین سطح حساسیت دارویی گونه‌های جدا شده در شرایط آزمایشگاه (In-vitro) نسبت به رایج‌ترین داروهای مورد استفاده در درمان بیماری (کتوکونازول، میکونازول و کلوتریمازول) سنجش شده است.

Archive of SID


www.SID.ir

## مواد و روش ها

نمونه‌ها از ۱۲۲ بیمار مراجعه کننده به درمانگاه پوست بیمارستان بوعلی سینای شهر ساری طی تیر ۱۳۸۸ الی تیر ۱۳۸۹ جمع‌آوری شدند. معیار ورود به مطالعه ابتلا به آکنه بود که بر اساس معیارهای بالینی توسط متخصص پوست مورد تایید قرار گرفتند. معیارهای تشخیصی مشاهده کومدون، پاپول‌ها و پاسچول‌های اریتماتوز بود. افراد با سن زیر ۱۰ سال و همچنین بیماران در حال درمان سیستمیک یا موضعی بر علیه آکنه از مطالعه خارج شدند. محتویات داخل آکنه پس از باز شدن سطح ضایعات به کمک اسکالپل استریل و با فشار دادن به اطراف آن جمع‌آوری گردید. قسمتی از نمونه برای تهیه لام و بررسی مستقیم میکروسکوپی استفاده شد. به منظور بررسی مستقیم میکروسکوپی نمونه‌ها، مقداری از آن را روی لام تمیزی قرار داده و یک قطره CFW + KOH (کالکوفلوئوروایت) به آن اضافه نموده و پس از قرار دادن یک لامل تمیز روی آن و تهیه گسترش مناسب با عدسی ۱۰ و ۴۰ میکروسکوپ فلورسنت از نظر وجود مخمرهای مالاسزیا مورد بررسی قرارگرفت. مخمرهای شمارش شده در لام بر اساس درجه‌بندی ارائه شده بوسیله Back و همکاران(۱۳) به صورت زیر گزارش گردید.

تعداد ۲-۱ عدد اسپورمنفرد به منزله ۱+

تعداد ۶-۲ عدد اسپور به صورت مجتمع و یا ۱۲-۳ عدد اسپور پراکنده به منزله ۲+

تعداد ۱۲-۷ عدد اسپور به صورت مجتمع و یا ۲۰-۱۳ عدد اسپور پراکنده به منزله ۳+

تجمع بیش از ۱۳ اسپور یا بیش از ۲۱ اسپور بصورت پراکنده به منزله ۴+

موارد بیش از ۲+ به عنوان آکنه مالاسزیایی در نظر گرفته شد.

بخش دیگری از نمونه‌های تهیه شده از محتویات داخل آکنه برای کشت و شناسایی عوامل مخمری به محیط کشت لیمینگ نوتمن تغییر یافته (گلوکز ۱۰ گرم، پپتون ۱۰ گرم، نمک صفراوی ۸ گرم، عصاره مخمر ۲ گرم، آگار ۱۵ گرم، گلیسرول ۱۰ میلی‌لیتر، توین ۶۰ به مقدار ۵ میلی‌لیتر، روغن زیتون ۲۰ میلی‌لیتر، کلرامفنیکل ۱۰۰ میلی‌گرم و سیکلوهگزامید ۲۰۰ میلی‌گرم در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) منتقل گردید. محیط‌های کشت در دمای ۳۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۴ روز انکوبه شد. پس از رشد و تشکیل کلنی، جداسازی و پاساژ مجدد کلنی‌ها روی محیط لیمینگ نوتمن انجام گرفت. برای افتراق گونه‌های مالاسزیا از تست جذب توین در کنار آزمایشات کاتالاز و رشد بر روی محیط سابورو دکستروز آگار استفاده شد. گونه‌های شناسایی شده با روش مولکولی PCR-RFLP نیز تایید شدند. پس از شناسایی گونه‌ها، تست حساسیت دارویی روی ۳ ایزوله مالاسزیا فورفور شناسایی شده نسبت به داروهای کتوکونازول، کلوتریمازول و میکونازول با روش Broth Microdilution و با استفاده از پروتکل (Clinical and Laboratory Standards Institute) CLSI-M27-A3 و محیط کشت لیمینگ نوتمن اصلاح شده انجام پذیرفت. از پودر خالص کتوکونازول، کلوتریمازول و میکونازول تهیه شده از شرکت Sigma به ترتیب دامنه رقت‌های ۱۶- ۰/۰۳ µg/ml، ۱۶- ۰/۲۵ µg/ml و ۱۶- ۰/۰۳ µg/ml در محلول دی متیل سولفوکساید (DMSO) جهت کتوکونازول ومیکونازول و محلول اتانول ۲۵ درصد جهت کلوتریمازول تهیه شد. طبق روش پیشنهادی CLSI-M27-A3، در آب مقطر استریل حاوی ۰/۰۵ درصد توین ۸۰ سوسپانسیون مخمری حاوی $۱\times۱۰^{۳}$ – $۵\times۱۰^{۳}$ سلول مخمری در هر میلی لیتر که با لام نئوبار شمارش شده بود تهیه گردید و پس از مخلوط شدن درون میکروپلیت ۹۶ خانه‌ایی با رقت‌های داروهای مورد نظر در محیط لیمینگ نوتمن براث مجاور شده و به مدت ۷ روز در ۳۲ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. در کنار هر

Archive of SID


www.SID.ir

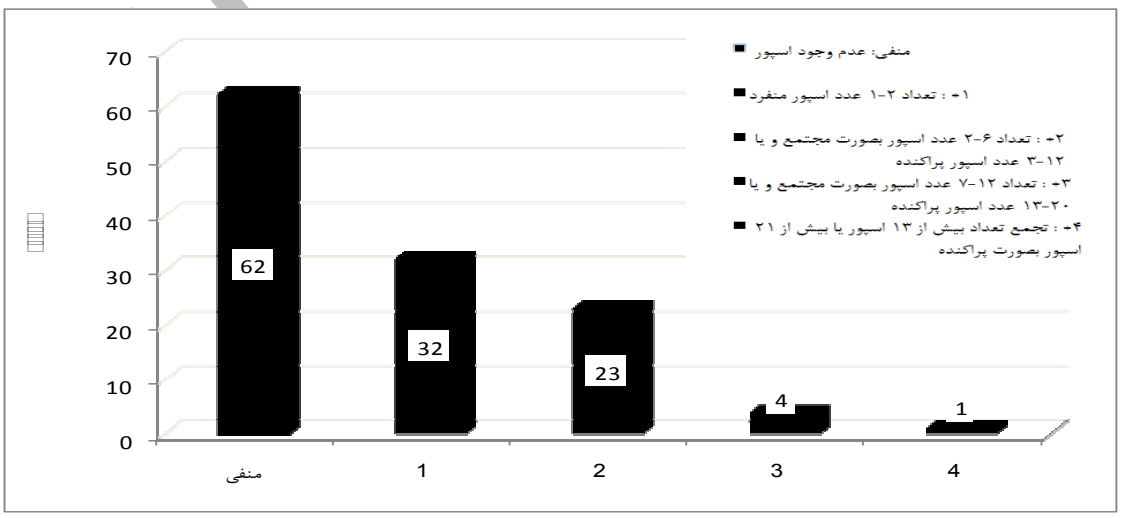
یک از رقت‌ها یک چاهک حاوی سوسپانسیون مخمری و بیشترین غلظت DMSO به عنوان کنترل مورد استفاده قرار گرفت. رشد هر ایزوله از مالاسزیا فورفور در غلظت‌های مختلف دارو هر ۲۴ ساعت ثبت شده و MIC نهایی در پایان روز هفتم از انکوباسیون گزارش شد. چون تمام نمونه‌ها و نمونه کنترل بصورت دوتایی انجام شد میزان MIC در هر بار یادداشت شد و میانگین آن به عنوان MIC نهایی گزارش شد. در نحوه گزارش MIC علاوه بر متد کدورت سنجی چشمی از دستگاه Elisa reader هم برای تایید استفاده شد. میزان رشد مخمر در مقایسه با رشد در قسمت کنترل که فاقد دارو بود سنجیده شد. جهت تعیین MFC مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک با غلظت بالاتر از MIC تعین شده به همراه ۱۰۰ میکرو لیتر از قسمت کنترل مثبت بطور جداگانه روی محیط لیمینگ نوتمن منتقل گردید و به مدت ۳ تا ۵ روز در ۳۲ درجه سانتیگراد انکوبه شد. همین کار برای نمونه‌های کنترل (کاندیدا کروزه ای ATCC 6258 و کاندیدا پاراپسیلوزیس ATCC 22019) روی محیط سابورو دکستروز آگار نیز انجام شد و در ۲۷ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه گردید. پس از رشد نمونه چاهک کنترل روی محیط لیمینگ نوتمن، چاهکی که نمونه آن هیچ گونه رشدی روی محیط مذکور نداشت غلظت آن به عنوان MFC گزارش شد. اطلاعات جمع‌آوری شده با استفاده از آمار توصیفی آنالیز گردید.

## یافته ها

از ۱۲۲ بیمار مورد مطالعه ۵۶ نفر( ۴۵/۹ درصد) مرد و ۶۶ نفر(۵۴/۱ درصد) زن بودند. حداقل و حداکثر سنی آن‌ها ۱۲ تا ۴۰ سال بود. بیشترین درصد بیماران در گروه سنی ۱۵ تا ۱۹ سال بودند. در بررسی به عمل آمده از ۱۲۲ بیمار مورد مطالعه ۹۱ نفر (۷۴/۶ درصد) آن‌ها دارای ضایعه روی صورت بودند که ۵۸/۲ درصد زن و ۴۱/۷ درصد مرد بودند. همچنین ۳۱ نفر (۲۵/۴ درصد) دارای ضایعه روی پشت، قفسه سینه و بازوها بودند. بیشترین درصد ضایعه از نوع پاپول و پوسچول بوده که هر دو این موارد در خانم‌ها بیشتر دیده شده است. بیشترین نوع درگیری در آقایان ناحیه پشت بوده است.

بطور کلی در آزمایش مستقیم میکروسکوپی از نمونه‌ها در ۶۰ مورد (۴۹/۲ درصد) سلول‌های مخمری دیده شد. نمودار شماره ۱ نتایج بدست آمده از آزمایش میکروسکوپی مستقیم از نمونه ها را نشان می‌دهد.

از کشت ۱۲۲ مورد نمونه بدست آمده از محتویات داخل آکنه، ۲۳ مورد (۱۸/۸ درصد) از نظر رشد قارچی




**نمودارشماره ۱:** توزیع فراوانی بیماران از نظر شمارش میزان مخمر در آزمایش میکروسکوپی مستقیم ازمحتویات داخل آکنه



www.SID.ir
Archive of SID

مثبت شدند. که درمجموع ۳ مورد (۲/۵ درصد) مالاسزیا فورفور تشخیص داده شد. بقیه موارد مثبت رشد قارچی مربوط به جنس کاندیدا بود که ۲ مورد کاندیدا گلابراتا و یک مورد کاندیدا آلبیکنس و۱۷ مورد، دیگر گونه های کاندیدا تشخیص داده شدند.

از ۳ مورد مالاسزیا فورفور تشخیص داده شده، ۲ مورد از صورت و ۱ مورد دیگر از پشت بیمار جدا شد. همچنین در دو مورد ضایعه بصورت پاپول و پوسچول و یک مورد بصورت پاپول بود. در ۲ مورد بیماران مرد و در گروه سنی ۱۵ تا ۱۹ سال و مورد دیگر زن و در گروه سنی ۲۵ تا ۲۹ سال قرارداشتند.

در این مطالعه حساسیت دارویی ۳ ایزوله مالاسزیا فورفور جدا شده از بیماران مبتلا به آکنه و یک مورد مالاسزیا فورفور جدا شده از فرد سالم نسبت به کتوکونازول، کلوتریمازول و میکونازول مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی MIC داروی کتوکونازول در محدوده ۲-۰/۰۳ µg/ml، داروی کلوتریمازول در محدوده ۱۶-۴ µg/ml و داروی میکونازول در محدوده ۱۶-۲ µg/ml تعیین شد. MFC داروی کتوکونازول در محدوده ۲-۰/۰۳ µg/ml، کلوتریمازول در محدوده ۱۶-۸ µg/ml و میکونازول در محدوده ۱۶-۴ µg/ml تعیین گردید. پروفایل حساسیت ضد قارچی داروهای کتوکونازول، کلوتریمازول و میکونازول در جدول شماره ۱ ارائه شده است.

**جدول شماره ۱:** پروفایل حساسیت ضد قارچی داروهای کتوکونازول، کلوتریمازول و میکونازول بر اساس MIC و MFC روی ۴ ایزوله مالاسزیا فورفور

| داروها | میکونازول | کلوتریمازول | کتوکونازول |
|---|---|---|---|
| طیف MIC (µg/ml) | ۱۶-۲ | ۱۶-۴ | ۲-۰/۰۳ |
| طیف MFC (µg/ml) | ۱۶-۴ | ۱۶-۸ | ۲-۰/۰۳ |

## بحث

پوست انسان بوسیله طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها نظیر پروپیونی باکتریوم آکنه، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و مالاسزیا فورفور کلنیزه می‌شود که در حالت توازنی فلور نرمال پوست را شکل می‌دهند. هوموستاز این اکوسیستم بسیار مهم بوده و بعنوان یک سد نقش مهمی در محدود کردن تهاجم و رشد باکتری‌ها و قارچ‌های پاتوژن در سطح پوست ایفا می نماید. تغییرات داخلی یا خارجی در محیط پوست، عدم رعایت بهداشت فردی و تغییرات هورمونی با برهم زدن این توازن می‌توانند سبب تکثیر بیش از اندازه میکروفلورای پوست و بدنبال آن پیدایش ناخوشی پوستی شوند. اگرچه نقش مالاسزیا در ایجاد فولیکولیت (که از نظر کلینکی بسیار شبیه آکنه بوده و در بسیاری از موارد همزمان با آکنه در بیماران مشاهده می‌شود) اولین بار بوسیله Weary و همکاران(۱۴) در سال ۱۹۶۹ شرح داده شده است ولی کمتر به نقش این قارچ در ایجاد آکنه در طی این سال‌ها پرداخته شده است. هر چند در در سالیان اخیر اهمیت مالاسزیا در ایجاد آکنه نوزادی بوسیله محققین مختلف مورد تاکید قرار گرفته است (۱۷-۱۵). بررسی حاضر با مورد توجه قرار دادن این موضوع به مطالعه میزان شیوع آکنه ناشی از مالاسزیا در بیماران مراجعه کننده به مرکز تخصصی پوست استان مازندران پرداخته است. در مطالعه حاضر از ۱۲۲ بیمار مورد بررسی تنها در ۲/۵ درصد موارد مالاسزیا از داخل ضایعات آکنه‌ایی شناسایی گردید. حضور گونه‌های مختلف مالاسزیا در ضایعات آکنه‌ایی در بررسی‌های مختلف بسیار متنوع بوده است. در مطالعه Yu و همکاران ۳ نفر از ۲۰ بیمار (۱۵ درصد) مالاسزیا از داخل ضایعات آکنه جدا گردید(۱۸)، در حالی که در مطالعه‌ایی دیگر از ۲۲ بیمار مورد مطالعه، مالاسزیا از داخل ضایعات آکنه جدا نشد(۱۹). از آنجایی که بر اساس مطالعات انجام شده(۲۲-۲۰) عفونت‌های مالاسزیایی عمدتاً با مصرف کورتیکواستروییدهای خوراکی، دیابت، شیمی درمانی و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های وسیع الطیف مرتبط می‌باشد، شیوع پایین‌تر آن نسبت به عوامل باکتریایی می‌تواند قابل توجیه باشد.

Archive of SID


www.SID.ir

در این مطالعه از بین گونه‌های مختلف مالاسزیا تنها گونه مالاسزیا فورفور شناسایی شده است شاید شرایط جغرافیایی و آب و هوایی منطقه، شیوع پایین سایر گونه‌ها در منطقه جغرافیایی مورد مطالعه و حتی نوع تکنیک نمونه‌گیری(۲۳) از دلایل این موضوع باشد. البته قابل ذکر است که بعضی از گونه‌های مالاسزیا اغلب از حیوانات جدا شده و بطور کلی شیوع پایینی در انسان دارند. در بررسی حاضر از ۲۳ مورد نمونه ایی که از نظر رشد قارچ مثبت بودند، در تنها ۳ مورد مالاسزیا شناسایی شد. از این رو تاکید می‌شود که تنها مشاهده سلول‌های مخمری در آزمایش میکروسکوپی مستقیم نمی‌تواند تعین کننده شیوع واقعی این قارچ در ضایعات آکنه باشد؛ که می‌بایستی علاوه بر آن ضمن کشت نمونه‌ها، با روش‌های دقیق افتراقی جنس‌ها و گونه‌های مختلف مخمری را از هم جدا نمود.

در مطالعه حاضر مشخص گردید که گروه سنی ۱۵ تا ۱۹ سال بیشترین درصد بیماران را تشکیل می‌دهند که مطابق با نتایج تحقیقات سایر محققین است(۲۴،۲۸-۲۵). به نظر می رسد افزایش فعالیت غدد سباسه در دوران بلوغ و افزایش فعالیت‌های بدنی و نهایتاً تعریق زیاد می‌تواند از دلایل توجیه کننده این موضوع باشد.

در مطالعه حاضر و برخی مطالعات دیگر افزایش موارد آکنه در خانم‌ها و بویژه در ناحیه صورت گزارش شده است(۳۰،۲۹). شاید این وضعیت به دلیل استفاده بیشتر از کرم‌های مرطوب کننده و کرم‌های ضد آفتاب که سبب انسداد فولیکول شده و یا وجود شرایطی نظیر قاعدگی، بارداری و مصرف قرص‌های کنتراسپتیو خوراکی در خانم‌ها باشد. اگرچه گزارشات دیگری نیز وجود دارد که حاکی از بالاتر بودن میزان ابتلا مردان به این بیماری نسبت به زنان می‌باشد(۳۳،۲۵،۲۴-۳۱).

در این بررسی حساسیت دارویی ۳ ایزوله مالاسزیا فورفور جدا شده از بیماران مبتلا به آکنه و یک مورد مالاسزیا فورفور جدا شده از فرد سالم به کتوکونازول، کلوتریمازول و میکونازول مورد بررسی قرار گرفت. این مطالعه نشان داد که ایزول‌های مالاسزیا فورفور حساسیت‌های متفاوتی را نسبت به داروهای تست شده نشان می‌دهند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که هیچ اختلافی بین MIC و MFC داروی کتوکونازول نسبت به جداشده‌های مالاسزیا فورفور وجود ندارد و در غلظت ۰/۰۳-۲ µg/ml هم مهار کننده بوده و هم‌کشنده است. در صورتی‌که MIC و MFC داروی کلوتریمازول و میکونازول کاملا مشابه هم نبوده و یک اختلاف نسبتا کم بین آن‌ها وجود دارد و ایزوله‌های تست شده حساسیت‌های پایینی را نسبت به کلوتریمازول و میکونازول در مقایسه با کتوکونازول نشان دادند. از مقایسه MIC و MFC داروهای تست شده چنین استنباط می شود که پس از کتوکونازول، میکونازول و کلوتریمازول بترتیب به عنوان موثرترین ایمیدازول در برابر ایزوله های مالاسزیا فورفور تست شده بودند. در مطالعه Hammer و همکاران روی ۵۴ ایزوله مالاسزیا، کتوکونازول به عنوان موثرترین ایمیدازول تست شده در برابر گونه فورفور شناخته شد؛ ولی میزان MIC آن پایین‌تر از MIC مشاهده شده برای کتوکونازول در مطالعه حاضر بود. در حالی‌که MIC میکونازول در مطالعه ما در غلظت ۱۶-۲ µg/ml تفاوت چندانی با MIC گزارش شده از این دارو در مطالعه Hammer و همکاران نداشته و ایزوله‌های تست شده حساسیت پایین تری را نسبت به این دارو در مقایسه با کتوکونازول نشان دادند. در صورتی‌که میزان MFC کتوکونازول و میکونازول در مطالعه ما و مطالعه Hammer و همکاران متفاوت می‌باشد(۱۰).

بر طبق مطالعه Strippoli و همکاران کتوکونازول موثرترین دارو در برابر ایزوله های مالاسزیا فورفور تست شده بود که این یافته نیز با نتایج مطالعه ما مطابقت دارد(۳۴). در مطالعه Miranda و همکاران روی حساسیت دارویی کتوکونازول روی ۹۵ ایزوله مالاسزیای کشت شده، MIC کتوکونازول تقریباً برابر MIC کتوکونازول در مطالعه ما بود(۶). نتایج ما مشابه اطلاعات ارائه شده

Archive of SID


www.SID.ir

توسط Gupta و همکاران بوده که MIC کتوکونازول را برای ۹۵ درصد ایزوله‌های آزمایش شده کمتر از ۰/۰۳ µg/ml گزارش نموده‌اند(۳۵). ناظری و همکاران نیز در ارزیابی اثر داروهای ضد قارچی کتوکونازول و فلوکونازول روی گونه‌های مالاسزیا، MIC کتوکونازول را کمتر از ۱-۰/۰۳ µg/ml گزارش نمودند(۳۶). نتایج مطالعه ما و سایر محققین نشان می‌دهد که کتوکونازول موثرترین ایمیدازول در برابر ایزوله‌های مالاسزیا فورفور تست شده بود.

با توجه به آثار جانبی و سوء داروهای خانواده آزول بر میزبان، به ویژه در مصرف مقادیر بالا و دوره‌های زمانی طولانی، تعیین حساسیت دارویی ایزوله‌ها و گونه‌های مختلف مالاسزیا به منظور انتخاب بهترین دارو و حداقل دوز دارویی موثر بر مالاسزیا اجتناب ناپذیراست. این امر به کوتاه شدن دوره درمان، پرهیز از مصرف بیش از اندازه دارو و جلوگیری از ایجاد مقاومت‌های دارویی ناخواسته کمک فراوانی خواهد کرد. مطالعه حاضر نشان می‌دهد که توانایی مهار رشد گونه‌های مالاسزیا بترتیب از داروی کتوکونازول به میکونازول و کلوتریمازول کاهش می‌یابد. مقایسه این داروها در شرایط In-vitro روی ایزوله‌های مالاسزیا فورفور نشان داد که کتوکونازول در شرایط آزمایشگاهی موثرتر از مایکونازول و کلوتریمازول است. از این رو پیشنهاد می‌شود در مطالعات کارآزمایی بالینی نیز اثرات این داروها مورد سنجش دقیق تر قرار گیرند.

## سپاسگزاری

بدین‌وسیله از همه بیمارانی که در این مطالعه شرکت داشتند کمال تشکر و سپاس را داریم. لازم بذکر می‌باشد که این طرح تحقیقاتی در قالب پایان‌نامه دانشجوی کارشناسی ارشد قارچ‌شناسی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران، آقای علیرضا کلارستاقی به انجام رسیده و از پشتیبانی مالی مرکز تحقیقات علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی مازندران استفاده نموده است.

## References

1. Purdy S, de Berker D. Acne vulgaris. Clin Evid (Online). 2011; Jan 5 Pii: 1714.
2. Marpless RR. The microflora of the face and acne lesions. J Invest Dermatol 1974; 62(3): 326-331.
3. Faergemann J, Johansson S, Bäck O, Scheynius A. An immunologic and cultural study of Pityrosporum folliculitis. J Am Acad Dermatol 1986; 14(3): 429-433.
4. Nazarro-Porro M, Passi S, Picardo M, Mercantini R, Breathnach AS. Lipoxygenase activity of Pityrosporum in vitro and in vivo. J Invest Dermatol 1976; 66: 178-182.
5. Narifumi A, Hirohhiko A, Yasuyuki S, Masataka K, Hiroshi M, Akiyo S, et al. Malassezia folliculitis is caused by cutaneous resident Malassezia species. Med Mycol 2009; 47: 618-624.
6. Miranda KC, de Araujo CR, Costa CR, Passos XS, de Fatima Lisboa Fernandes O, do Rosario Rodrigues Silva M. Antifungal activities of azole agents against the Malassezia species. Int J Antimicrob Agents 2007; 29(3): 281-284.
7. Cabañes FJ, Vega S, Castellá G. Malassezia cuniculi sp. nov., a novel yeast species isolated from rabbit skin. Med Mycol 2010; [Epub ahead of print].
8. Gupta AK, Kohli Y, Summerbell RC, Faergemenn J. Quantitative culture of Malassezia species from different body sites of individuals with or without dermatoses. Med Mycol 2001; 39(3): 243-251.
9. Canteros CE, Soria M, Rivas C, Lee W, Lopez

Archive of SID


www.SID.ir

Joffre MC, Rodero L, et al. Malassezia species isolated from skin diseases in a care center in the city of Buenos Aires' Argentina. Rev Argent Microbiol 2003; 35(3): 156-161.

10. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. In Vitro Activities of Ketoconazole, Econazole, Miconazole, and Melaleuca alternifolia (Tea Tree) Oil against Malassezia Species. Antimicrob Agents chemother 2000; 44(2): 467-469.
11. Bulmer GS, Pu XM, Yi LX. Malassezia Folliculitis in China. Mycopathologia 2008; 165(6): 411-412.
12. Lévy A, Feuilhade de Chauvin M, Dubertret L, Morel P, Flageul B. Malassezia folliculitis: characteristics and therapeutic responce in 26 patients. Ann Dermatol Venereol 2007; 134(11): 823-828.
13. Bäck O, Faergemann J, Hörnqvist R. Pityrosporum folliculitis: a common disease of the young and middle-aged. J Am Acad Dermatol 1985; 12(1 Pt 1): 56-61.
14. Weary PE, Russell CM, Butler HK, Hsu YT. Acneform eruption resulting from antibiotic administration. Arch Dermatol 1969; 100(2): 179-183.
15. Niamba P, Weill FX, Sarlangue J, Labrèze C, Couprie B, Taïeh A. Is common neonatal cephalic pustulosis (neonatal acne) triggered by Malassezia sympodialis? Arch Dermatol 1998; 134(8): 995-998.
16. Kang SK, Jee MS, Choi Jh, Sung KJ, Moon KC, Koh JK. A case infantile acne due to pityrosporum. Pediatr Dermatol 2003 Jan-; 20(1): 68-70.
17. Ayhan M, Sancak B, Karaduman A, Arikan S, Sahin S. Colonization of neonate skin by Malassezia species: Relationship with neonatal cephalic pustulosis. J Am Acad Dermatol 2007; 57(6): 1012-1018.
18. Yu HJ, Lee SK, Son SJ, Kim YS,Yang HY, Kim JH. Steroid acne vs. Pityrosporum folliculitis: the incidence of Pityrosporum ovale and the effect of antifungal drugs in steroid acne. Int J Dermatol 1998; 37(10): 772-777.
19. Katsambas AD, Katoulis AC, Stavropoulos P. Acne neonatorum: a study of 22 cases. Int J Dermatol 1999; 38(2): 128-130.
20. Alves EV, Martins JE, Ribeiro EB, Sotto MN. Pityrosporum folliculitis: renal transplantation case report. J Dermatol 2000; 27(1): 49-51.
21. Rupke SJ. Fungal skin disorders. Prim Care 2000; 27(2): 407-421.
22. Rhie S, Turcios R, Buckley H, Suh B. Clinical features and treatment of Malassezia folliculitis with fluconazole in orthotopic heart transplant recipients. J Heart Lung Transplant 2000; 19(2): 215-219.
23. Batra R, Boekhout T, Guého E, Cabañes FJ, Dawson TL Jr, Gupta AK. Malassezia Baillon, emerging clinical yeasts. FEMS Yeast Research 2005; 5: 1101-1113.
24. Burton JL, Cunliffe WJ, Stafford I, Shuster S. The prevalence of acne vulgaris in adolescence. Br J Dermatol 1971; 85(2): 119-126.
25. Kilkenny M, Merlin K, Plunkett A, Marks R. The prevalence of common skin conditions in Australian school students, III: acne vulgaris. Br J Dermatol 1998; 139: 840-845.
26. Lello J, Pearl A, Arroll B, Yallop J, Birchall NM. Prevalence of acne vulgaris in Auckland senior high school students. N Z Med J 1995; 108: 287-289.
27. Galobardes B, Davey Smith G, Jeffereys M, Mc Carron P. Has acne increased? Prevalence of acne history among university students between 1948 and 1968. The Glasgow Alumni Cohort Study. Br J Dermatol 2005; 152: 824-825.

Archive of SID



www.SID.ir

28. Goulden V, Stables GI, Cunliffe WJ. Prevalence of facial acne in adults. J Am Acad Dermatol 1999; 41: 577-580.
29. Cunliffe WJ, Gould DJ. Prevalence of facial acne vulgaris in late adolescence and in adults. BMJ 1979; 1: 1109-1110.
30. Gloor M, Eicher CH, Wiebelt H, Moser G. Soziologische untersuchungen bei der Acne vulgaris. Grosse Verlag Berlin 1978; 53(23): 871-880.
31. Gotz H, Zabel G. Acne vulgaris in 2,249 high-school students in the 12-20 years age group. G Ital Dermatol Minerva Dermatol 1971; 46(3): 133-136.
32. Schafer T, Nieenhaus A, Vieluf D, Berger J, Ring J. Epidemiology of acne in the general population: the risk of smoking. Br J Dermatol 2001; 145(1): 100-104.
33. Schmitt JV, Masuda PY, Miot HA. Acne in women: clinical patterns in different age-groups. An Bras Dermatol 2009; 84(4): 349-354.
34. Strippoli V, Piacentini A, D'Auria FD, Simonetti N. Antifungal activity of ketoconazole and other azoles against Malassezia furfur in vitro and in vivo Infect 1997; 25(5): 303-306.
35. Gupta AK, Kohli Y, Li A, Faergemann J, Summerbell RC. In vitro susceptibility of the seven Malassezia species to ketoconazole, voriconazole, itraconazole and terbinafine. Br J Dermatol 2000; 142(4): 758-765.
36. Nazeri M, Moniri R, Shokooh Amiri MR, Moayeri MR, Moraveji SA. Antifungal activities of fluconazole and ketokonazole agents against Malassezia species. J Mazand Univ Med Sci 2009; 19(69): 22-27 (Persian).

Archive of SID


www.SID.ir