مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱۳، اردیبهشت ۱۳۹۳، ۱۶۲-۱۵۱

بررسی عفونت‌های قارچی اکتسابی از سه بیمارستان کرمان

آزاده کرمی‌رباطی[۱]، سیدامین‌آیت‌الهی موسوی[۲]، سانازهادی‌زاده[۳]

دریافت مقاله:۹۱/۱۰/۰۳ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح:۹۲/۰۲/۰۲ دریافت اصلاحیه از نویسنده:۹۲/۰۹/۰۵ پذیرش مقاله:۹۲/۰۹/۱۱

چکیده

زمینه و هدف: اساس بیماری‌زایی قارچی مبنی بر قدرت تطابق قارچ با شرایط محیطی و مقاومت در برابر دفاع سلولی میزبان است. در این مطالعه، به بررسی فراوانی عفونت‌های قارچی اکتسابی از بیمارستان‌ها پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه توصیفی برروی ۱۸۰ بیمار بستری مشکوک به عفونت قارچی صورت گرفت. از نمونه‌ها به طور همزمان لام مستقیم و کشت جهت بررسی‌های قارچ‌شناسی و همچنین، با کمک روش‌های تشخیصی مانند کروم آگار کاندیدا و روش مولکولی PCR–RFLP گونه‌های مخمری کاندیدا، مورد شناسایی قرار گرفتند.

یافته‌ها: از ۱۳۴ مورد عفونت قارچی، ۵۳ نمونه عفونی (۳۹/۵٪) اکتسابی از بیمارستان و ۸۱ نمونه عفونی (۶۰/۵٪) اکتسابی از جامعه، گزارش شد. بیشترین شیوع عفونت بیمارستانی متعلق به بخش‌های ICU، می‌باشد. تنها عامل قارچی مسبب عفونت‌های نوزوکومیال در این مطالعه، جنس کاندیدا شناخته شد.

نتیجه‌گیری: تفاوت چشم‌گیر در فراوانی عفونت قارچی بیماستانی در بین بخش‌های بستری وجود دارد. با توجه به احتمال انتشارکلونیزاسیون‌های قارچی و سپتیسمی ناشی از قارچ‌ها، پیش آگهی ناشی از این عفونت‌ها، مراقبت از بیماران و درصورت نیاز درمان آن‌ها، گام مهمی در پیشگیری از خطرات احتمالی این عفونت‌ها می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: عفونت قارچی بیمارستانی، گونه‌های کاندیدا، PCR–RFLP

مقدمه

اقدامات مختلفی به منظور پیشگیری و کنترل عفونت‌های بیمارستانی در طول تاریخ انجام شده است که براساس دانش و شناخت این عفونت‌ها و امکانات موجود در بیمارستان‌ها طراحی می‌شوند. در متون پزشکی گاهی این عفونت‌ها را عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان Hospital-Acquired Infections (HAI) می‌نامند، اما اصطلاح رایج آن عفونت‌های نوزوکومیال می‌باشد [۲-۱].

۱- (نویسنده مسئول) کارشناس ارشدگروه آموزشی میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان، کرمان، ایران
تلفن: ۶۱۳۴۶۳۴-۰۳۴۱۱، دورنگار: ۶۲۷۲۷۴۸-۰۳۴۱، پست الکترونیکی: karamy8926@yahoo.com
۲-دانشیار گروه آموزشی انگل وقارچ‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دانشکده علوم پزشکی افضلی پور، کرمان، ایران
۳- کارشناس ارشد گروه آموزشی انگل و قارچ‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دانشکده علوم پزشکی، کرمان، ایران

Archive of SID
www.SID.ir

اصطلاح Nosocomial از کلمات یونانی Nosos (بیماری) و Komeion (مواظب) منشاء می‌گیرد. دانش امروز بشر در مورد عفونت‌های بیمارستانی به سال‌های شکل گرفتن مقدمات علم میکروبیولوژی در اوایل دهه ۱۸۴۰ میلادی باز می‌گردد [۳]. بیمارستان‌ها به منظور ارائه انواع خدمات تشخیصی و درمانی احداث شدند ولی گاهی این اقدامات به طور اجتناب‌ناپذیر به کسب عفونت‌های بیمارستانی توسط بیماران منجر می‌گردد که ممکن است حتی به فوت بیماران نیز بیانجامد [۵-۴]. از جمله مسیرهای انتقالی میکروبی، آلودگی میکروبی بیمارستان‌ها می‌باشد که در طول بستری شدن بیمار، فرد را آلوده می‌سازند. آلودگی میکروبی می‌تواند در هوای بیمارستان و سطوح مختلفی از آن که در تماس با پرسنل بیمارستان و بیماران می‌باشد، رخ دهد [۷-۶]. عفونت‌های بیمارستانی در بین نمونه‌های بالینی مانند، چشم، خون، زخم‌های جراحی و محل تخلیه با کاتترها، CSF و ادرار به ترتیب بالاترین میزان را به خود اختصاص می‌دهند. میزان عفونت بیمارستانی در بخش مراقبت‌های ویژه Intensive Care Unit (ICU) بین ۱۸ تا ۴۵٪ متفاوت است و ۵ تا ۱۰ برابر بیشتر از سایر بخش‌های بیمارستانی می‌باشد. حدود ۹۰٪ از عوامل عفونت در ICU گزارش شده‌اند با نرخ مرگ و میر حدود ۹ تا ۳۸٪ که به ۶۰٪ هم رسیده است [۸].

در هر متر مکعب اطراف انسان، ده‌ها هزار اسپور قارچی وجود دارد که این رقم در برخی از اماکن و مراکز افزایش می‌یابد به طوری که در بیمارستان‌ها و بخش‌های ویژه ممکن است به صدها هزار اسپور نیز برسد [۹].

در دهۀ ۱۹۷۰ میلادی سیستم ملی پایش عفونت‌های بیمارستانی [National Nosocomial (NNIS)] Infections Surveillance جهت جمع‌آوری اطلاعات مراقبتی با تعاریف واحد از بیمارستان‌های داوطلب در امریکا پایه گذاری شد. بررسی‌های NNIS حاکی از وجود عفونت‌های قارچی در حدود ۹٪ از تمام عفونت‌های بیمارستانی است که همچنان روند افزایشی در نرخ عفونت از نمونه‌های مجاری ادراری، عفونت‌های خونی و پنومونی در بخش مراقبت‌های ویژه وجود دارد. بااین‌حال، به طور طبیعی افراد بستری در بیمارستان‌ها که دچار نقص سیستم ایمنی می‌باشند مستعد ابتلا به عفونت‌های قارچی موجود در هوا هستند که می‌توانند در دمای بدن رشد کنند [۱۰]. کاندیدوری و عفونت‌های دستگاه ادراری، از شایع‌ترین عفونت‌های بیمارستانی به شمار می‌آیند [۱۱]. بااین‌حال، ارتباط بین غلظت اسپورهای قارچی در فضای بخش‌ها بستری و خطر ابتلا بیماران به عفونت‌های قارچی جدی بیمارستانی، همچنان نامشخص می‌باشد [۱۲]. عامل گسترده عفونت قارچی بیمارستانی در ایالات متحده متعلق به جنس کاندیدا با نرخ ۱/۵ نفر به ازای هر ۱۰،۰۰۰ بیمار در روز، در مقایسه با اروپا با نرخی کمی پایین‌تر ۰/۷-۰/۵ مورد در ۱۰،۰۰۰ بیمار در روز می‌باشد [۱۳]. در حال حاضر، بالاترین میزان گزارش شده از مراکز بهداشت و درمان در ارتباط با کاندیدیازیس بالینی (۳/۷ مورد در هر ۱۰،۰۰۰ بیمار مبتلا در روز) در یازده مرکز بهداشت و درمان تحت نظارت کنترل عفونت بیمارستانی در برزیل می‌باشد [۱۴]. تحقیقات انجام شده در ایران نشان داده است که کاندیدیازیس منتشره دومین عامل از علل شایع عفونت‌های قارچی تهاجمی در بیماران بستری در ICU، می‌باشد [۱۵]. چهارمین علت عفونت مکرر در جریان عفونت خون بیمارستانی در بین بیماران بستری در ICU، گونه‌های کاندیدا با سهم حدود ۴۰٪ از مرگ و میر

Archive of SID
www.SID.ir

بیماران می‌باشند [۱۷-۱۶]. بنابراین، لزوم این امر فراهم می‌شود تا در مطالعه‌ای ضمن شناسایی و جداسازی عوامل قارچی مسبب عفونت‌های نوزوکومیال با روش‌های تشخیصی رایج در آزمایشگاه قارچ‌شناسی و استفاده از محیط کشت کروم آگار کاندیدا و روش مولکولی به منظور تعیین هویت عوامل قارچی در سطح گونه و همچنین، با بررسی نتایج آماری از میزان شیوع آن‌ها در سطح بیمارستان‌ها و بخش‌های بستری، کار تحقیقاتی نوینی در نظام مراقبت و کنترل عفونت‌های بیمارستانی کشوری (NNIS) صورت گرفته باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع توصیفی است که پس از کسب معرفی نامه جهت ورود به بخش‌های مختلف بستری در سه بیمارستان آموزشی و درمانی (باهنر، شفا و افضلی پور) کرمان، از اوایل مهرماه تا اواخر اسفند ماه سال ۱۳۹۰ به طول انجامید، حدود ۱۸۰ نمونه مشکوک به عفونت قارچی از بیمارن بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان‌ها به طور غیرتصادفی شناسایی شد.

طبق تعاریف نظام کشوری مراقبت عفونت‌های بیمارستانی (NNIS) عفونت‌های نوزوکومیال، عفونتی که حداقل ۴۸ تا ۷۲ ساعت بعد از پذیرش بیمار در بیمارستان ایجاد شود و همچنین، در زمان پذیرش فرد نباید علایم آشکار عفونت مربوطه را داشته باشد و بیماری در دوره نهفتگی خود نباشد، از عفونت‌های اکتسابی جامعه، مجزا می‌شوند [۳].

جمع‌آوری نمونه: نمونه‌ها براساس وجود ضایعات در محل عفونت و بر اساس یافته‌های بالینی و همچنین، نتایج حاصل از بررسی‌های رادیولوژی جمع‌آوری شدند. ابزار گردآوری داده‌ها شامل یک فرم جمع‌آوری اطلاعات که دربرگیرنده سن، جنس، نوع بیماری زمینه‌ای و مزمن، تاریخ بستری، بخش بستری، تشخیص اولیه، تشخیص نهایی و نیز، ذکر نوع امکانات درمانی جانبی استفاده شده مانند کاتترهای ادراری و وریدی، انواع ساکشن‌ها، تغذیه وریدی و جراحی، می‌باشد. داده‌ها به وسیله نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۰ و با استفاده از آزمون مجذور کای تجزیه و تحلیل شدند و مقادیر کمتر یا مساوی ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

شناسایی عوامل قارچی

تهیه اسمیر: نمونه‌های ادرار، ترشحات برونشیال [Bronchoalveolar lavage (BAL)] مایع شکمی و صفاق را به مدت ۵ دقیقه در دور ۵۰۰۰، سانتریفیوژ شدند سپس، از رسوب برجا مانده به منظور تهیه اسمیر استفاده گردید. نمونه خون با سرنگ به بطری‌های حاوی محیط(مرک آلمان) [Brain Heart Infusion (BHI)] تزریق شد. همچنین، از ترشحات محل زخم توسط سوآپ جهت بررسی‌های میکروب‌شناسی استفاده گردید و نمونه‌ها جهت تهیه اسمیر و بررسی‌های مستقیم با پتاس ۱۰ یا ۲۰٪ شفاف شدند. محلول پتاس به همراه گلیسریل مورد استفاده قرار گرفت زیرا گلیسریل از اکسیدتیله شدن پتاس جلوگیری می‌کند. اسمیر شفاف شده جهت مشاهده عناصر قارچی (میسلیوم وکونیدی) با لنز ۴۰X مورد بررسی میکروسکپی قرار گرفت.

رنگ‌آمیزی: جهت شناسی عناصر قارچی در روش رنگ‌آمیزی از رنگ گرم جهت مشاهده هایف‌های کاذب گونه‌های مخمری و از رنگ گیمسا جهت مشاهده مسیلیوم حقیقی قارچ‌های رشته‌ای و همچنین، از رنگ لاکتوفنل کاتن بلو جهت مشاهده عناصر قارچی، استفاده گردید.

Archive of SID
www.SID.ir

آزمون ایجاد لوله زایا: روش آزمون ایجاد لوله زایا، برای شناسایی کاندیدا آلبیکنس به کار برده شد که از اهمیت ویژه در مطالعات میکروسکپی برخوردار است. به این منظور، از کلنی‌های رشد کرده در محیط سابورودکستروز آگار به لوله حاوی نیم میلی لیتر سرم فیزیولوژی اضافه و به خوبی مخلوط کرده و بعد از ۲ ساعت انکوبه کردن در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به بررسی میکروسکپی از نظر وجود یا عدم وجود لوله زایا پرداخته شد.

بررسی محیط کشت: محیط کشت پایه در آزمایشگاه قارچ‌شناسی سابرودکستروزآگار با کلرآمفنیکل (Sc) (مرک آلمان) می‌باشد. از نمونه‌ها بر روی محیط کشت Sc در شرایط کاملاً استریل در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوباسیون انجام شد (سه بار تکرار). آزمون ایجاد لوله زایا و تشکیل کلامیدوکونیدی برروی محیط $CMA\text{-}T_{80}$ (مرک آلمان) جهت شناسایی گونه کاندیدا آلبیکنس و همچنین از محیط کشت کروم آگار کاندیدا (مرک آلمان) (در مدت ۷۲ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد) و روش مولکولیPCR– RFLP، جهت تعیین گونه‌های کاندیدا استفاده شدند.

جداسازی مولکول‌های DNA از کلنی‌های مخمری از روش فنل-کلروفرم- ایزوآمیل الکل: به منظور جداسازی مولکول‌های DNA از کلنی‌های مخمری از روش فنل- کلروفرم- ایزوآمیل الکل ، مطابق دستور کار صورت گرفته است .

۱-۱ تهیه ۳۰۰ میکروگرم/ لیتر از بافر لیز (lysis buffer) درون یک تیوب ۱/۵ میلی‌لیتر اپندورف بافر لیز شامل مواد زیر می‌باشد: (pH: 8:0) mM Tris-HCL، 50Mm از EDTA ، 1%از2-ME ، 3% از SDS و50 µl Proteinase- K (20mg/ml).

۱-۲ حل کردن به اندازه یک لوپ باکتریایی از هر کدام از کلنی‌های مخمری در بافر لیز.

۱-۳ افزودن ۳۰۰ میکروگرم/ لیتر از محلول PCI (فنل – کلروفرم – ایزوآمیل الکل) (به نسبت ۱: ۲۴ : ۲۵) و همچنین، ۳۰۰ میکروگرم/ لیتر از گلوله‌های شیشه‌ای ۰/۵ میلی‌متر مربع به تیوب.

۱-۴ مخلوط کردن (vortex) محتویات تیوب توسط تکان‌های شدید به مدت ۵ دقیقه در دفعات ۳۰ ثانیه.

۱- ۵ سانتریفوژ با نیروی xg ۵۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه جهت جداسازی چربی‌ها، پروتئین‌ها و کلاً رسوبات سلولی از اسیدهای نوکلئیک.

۱- ۶ انتقال مایع رویی حاوی DNA به تیوب جدید و افزودن ۳۰۰ میکروگرم/ لیتر از CI (کلروفرم – ایزوآمیل الکل) (۱ : ۲۴)، جهت حذف فنل احتمالی باقی مانده از مرحله پیش.

۱-۷ ورتکس کردن سپس سانتریفوژ با نیروی $5000xg$ به مدت ۵ دقیقه.

۱- ۸ انتقال مایع رویی به تیوب جدید و افزودن هم حجم آن از ایزوپروپانل. از ایزوپروپانل جهت تخلیص DNA استفاده می‌شود.

. ۱-۹ افزودن ۰/۱ حجم مایع رویی (به دست آمده از مرحله ۷) از استات سدیم ۳M و مخلوط کردن محتویات تیوب توسط ورتکس کردن کوتاه.

۱-۱۰ انتقال تیوب به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد و نگهداری تیوب در این دما به مدت ۱۰ دقیقه.

۱-۱۱ سانتریفوژ با نیروی $12000xg$ بمدت ۱۲ دقیقه.

۱-۱۲ دور ریختن مایع رویی و افزودن ۳۰۰ میکروگرم/ لیتر از اتانل ۷۰ درجه به رسوب حاصله.

۱-۱۳ سانتریفوژ با نیروی $5000xg$ به مدت ۵ دقیقه.

Archive of SID
www.SID.ir

۱-۱۴ دور ریختن مایع رویی و خشک شدن رسوب در دمای اتاق توسط جریان هوا. (۱۵- ۱۰ دقیقه)

۱- ۱۵ حل کردن رسوب (عاری از الکل) در ۱۰۰ میکروگرم/ لیتر – ۵۰ آب مقطر استریل.

۲- ۱-۱۶ افزودن ۱ میلی‌لیتر از اتانل سرد ۱۰۰ درجه به تیوب جهت نگهداری DNA به مدت طولانی در ۲۰- درجه سانتی‌گراد

آزمایش PCR بر روی تمامی نمونه‌ها با استفاده از پرایمرهای طراحی شده برای تشخیص مخمرهای گونه کاندیدا از روی قطعات ITS (Interval Transcribed Spacer) موجود در DNA ریبوزومی قارچ‌ها انجام شده است. برنامه زمانی PCR: مرحله اولیه که شامل واسرشتگی (Denaturation) می‌باشد که حرارت ۹۵ درجه به مدت ۵ دقیقه یک چرخه ، تکثیر DNA ، ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه،۵۰ درجه به مدت ۱ دقیقه و ۷۲ درجه در مدت ۱ دقیقه و ۳۰ ثانیه در ۳۵ چرخه ادامه خواهد داشت و مرحله نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه در یک چرخه انجام شده است. محصولات PCR به مدت یک ساعت با ژل آگارز ۱٪ الکتروفورز گردید و با رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید، اسیدهای نوکلئیک موجود در ژل (محصولات PCR) نمایان گردید. پس از اتمام PCR، محصولات PCR جهت هضم آنزیمی در مجاورت آنزیم محدود الاثر *MSP*1 (Methylation-Specific PCR) قرار گرفتند.

بدین منظور، ۵ میکروگرم/ لیتر از محصول PCR را با ۱/۵ میکروگرم/ لیتر از بافر آنزیم محدودالاثر و ۱/۵ میکروگرم/ لیتر آنزیم *MSP*1 و ۸ میکروگرم/ لیتر آب HPLC-grade به خوبی مخلوط کرده و به مدت ۲ ساعت در۳۷° درجه سانتی‌گراد، نگهداری کردیم. جهت مشاهده باندها، ۵ میکروگرم/ لیتر از محصولات هضم شده با آنزیم به‌مدت ۴۵ دقیقه با ولتاژ ۱۰۰-۸۰ ولت الکتروفورز گردید. برای محصولات PCR از آگارز ۱/۵٪ درصد و برای محصولات RFLP از آگارز ۲٪ استفاده گردید.

نتایج

از ۵۳ نمونه مبتلا به عفونت قارچی اکتسابی از بیمارستان، نمونه ادرار با ۴۰ مورد (۷۵/۴٪)، نمونه BAL با ۵ مورد (۹/۴٪)، نمونه‌های خون، ریه (در بررسی‌های رادیولوژی) و زخم (محل جراحی و جراحت) هر کدام با دو مورد (۳/۸٪) و مایع شکمی و صفاقی با یک مورد (۱/۹٪)، بیشترین نمونه‌های درگیر در عفونت بیمارستانی گزارش شدند (جدول ۱) ($p<0/03$).

جدول ۱- توزیع فراوانی نوع نمونه‌های مبتلا به عفونت قارچی بیمارستانی به تفکیک سه بیمارستان. $p<0/03$

BAL: ترشحات برونشیال Bronchoalveolar lavage

نمونه بیمارستان	ادرار تعداد(درصد)	خون تعداد(درصد)	BAL تعداد (درصد)	مایع شکمی تعداد (درصد)	صفاق تعداد(درصد)	ریه تعداد(درصد)	محل زخم تعداد(درصد)	جمع کل تعداد(درصد)
افضلی پور	(۹۴)۱۶	_	_	(۶)۱	___	_	_	(۱۰۰)۱۷
باهنر	(۶۵)۱۳	(۱۰)۲	(۱۵)۳	_	_	(۱۰)۲	_	(۱۰۰)۲۰
شفا	(۶۹)۱۱	_	(۱۲/۵)۲	_	(۶)۱	_	(۱۲/۵)۲	(۱۰۰)۱۶
جمع کل	(۷۵)۴۰	(۴)۲	(۹)۵	(۲)۱	(۲)۱	(۴)۲	(۴)۲	(۱۰۰)۵۳

عفونت‌های قارچی بیمارستانی در بخش‌های انکولوژی، عفونی، مغز و اعصاب، ریه، زنان و زایمان، روماتونفرولوژی، ترمیمی فک و صورت، دیالیز صفاقی و مراقبت‌های ویژه گزارش شدند که ۷ بخش مراقبت‌های ویژه در سطح سه

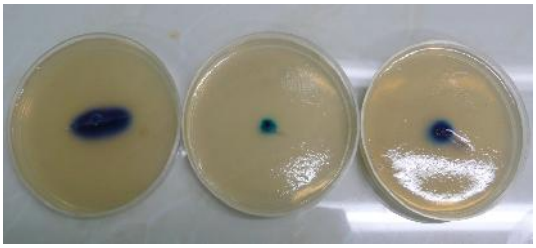
Archive of SID
www.SID.ir

بیمارستان با ۳۲ مورد (۶۰/۴٪) بیشترین بخش‌های درگیر در عفونت بیمارستانی شناخته شدند. همچنین، آزمون مجذور کای نشان داد که فراوانی عفونت قارچی بیمارستانی در سه بیمارستان با هم یکسان نبوده، به عبارت دیگر آلودگی میکروبی بیمارستان‌ها متفاوت بوده است (جدول۲) (p<۰/۰۳).

جدول ۲- توزیع عفونت قارچی بیمارستانی به تفکیک سه بیمارستان. p<۰/۰۳

بیمارستان‌ها	افضلی پور تعداد (درصد)	باهنر تعداد(درصد)	شفا تعداد(درصد)	جمع کل
عفونت قارچی بیمارستانی	(۲۶/۵)۱۷	(۴۲)۲۰	(۷۳)۱۶	(۱۰۰)۵۳
بیماری قارچی	(۷۳/۵)۴۷	(۵۸)۲۸	(۲۷)۶	(۱۰۰)۸۱
جمع کل	(۱۰۰)۶۴	(۱۰۰)۴۸	(۱۰۰)۲۲	(۱۰۰)۱۳۴

به طور کاملاً تصادفی تنها عامل قارچی درگیری در عفونت‌های بیمارستانی در این مطالعه، جنس کاندیدا شناسایی و جداسازی شد. کاندیدا البیکنس(۸۹٪) نسبت به سایر گونه‌های کاندیدا گلابراتا (۵٪)، کاندیدا تروپیکالیس (۲٪)، کاندیدا کفیر (۲٪) و کاندیدا دابلنینسیس (۲٪)، فراوان‌ترین گونه کاندیدایی درگیر در عفونت‌های بیمارستانی شناخته شد. در روش محیط کشت کروم اگار کاندیدا جهت تعیین هویت مخمرها در سطح گونه، کاندیدا البیکنس، کاندیدا دابلنینسیس و کاندیدا تروپیکالیس شناسایی و جداسازی شدند (شکل۱).



شکل۱- کلنی‌های رنگی گونه‌های کاندیدا بر روی محیط کروم آگار کاندیدا. از سمت چپ به راست، کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا دابلنینسیس و کاندیدا البیکنس، می‌باشند.

در روش مولکولی نیز گونه‌های کاندیدا کفیر و کاندیدا گلابراتا به همراه کاندیدا البیکنس شناسایی شدند (جدول۳) که در مرحله الکتروفورز محصولات PCR برروی ژل آگاروز باند تشکیل دادند (شکل‌های ۴-۲).

جدول ۳- نتایج الکتروفورز از محصولات PCR

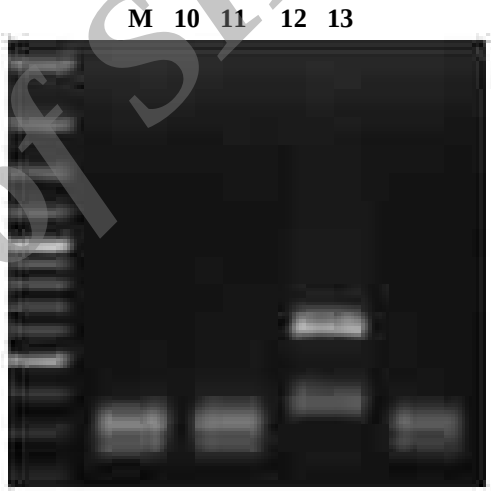
Number	*Candidia.SPP*
1	**kefyire**
2	**albicans**
3	**albicans**
4	**albicans**
5	**albicans**
6	**albicans**
7	**albicans**
8	**glabrata**
9	**glabrata**
10	**albicans**
11	**albicans**
12	**glabrata**
13	**albicans**

شکل ۲- الکتروفوز محصول PCR،نشانگر مولکولی ۱۰۰ جفت بازی M؛ کاندیدا کفیر چاهک ۱؛ کاندیدا البیکنس چاهک ۲،۳،۴

Archive of SID

www.SID.ir

شکل ۳- کاندیدا البیکنس چاهک ۵،۶،۷ و کاندیدا گلابراتا چاهک ۸ و ۹



شکل ۴- کاندیدا البیکنس چاهک‌های ۱۰، ۱۱، ۱۳ و کاندیدا گلابراتا چاهک ۱۲ می‌باشد.

بحث

عفونت‌های بیمارستانی به ویژه عفونت‌های قارچی از علل مهم بروز بیماری‌ها، افزایش مرگ و میر و دامن زدن به مشکلات اقتصادی و جانی در سطح بهداشت عمومی جامعه هستند. با افزایش تعداد و تراکم جمعیت انسانی، اختلال در عملکرد ایمنی (سن، بیماری و درمان) و وجود بیماران مستعد، میکروارگانیسم‌های جدید و افزایش مقاومت میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا به آنتی‌بیوتیک‌ها، نیاز به مطالعات بیشتر در زمینه بررسی‌های اپیدمیولوژی و میکروبیولوژی عفونت‌های قارچی را خاطر نشان می‌کند. جداسازی و شناسایی آزمایشگاهی و بررسی‌های میکروبیولوژی در سطح شناخت جنس قارچ و در صورت لزوم گونه قارچی به همراه نتایج آماری انجام شده در این تحقیق، گویای میزان شیوع عفونت قارچی اکتسابی از سه بیمارستان آموزشی و درمانی واقع در سه منطقه‌ی جغرافیایی مختلف شهر کرمان، در طی مدت ۶ ماه می‌باشد. در مطالعه حاضر تنها عامل عفونت قارچی اکتسابی از بیمارستان‌ها، گونه‌های کاندیدا می‌باشد که اطلاعات مرتبط با مراقبت و کنترل عفونت‌های بیمارستانی از سال ۱۹۸۱ تا سال ۱۹۹۳ نشان از روند افزایشی در نرخ عفونت‌های قارچی بیمارستانی وجود دارد که گونه‌های کاندیدا و مخمرهای دیگر به عنوان عامل اصلی عفونت‌های بیمارستانی در بین سایر میکروارگانیسم‌ها، تبدیل شده‌اند [۱۸]. در بین نمونه‌های عفونی گزارش شده در این مطالعه، عفونت ادراری از ابتلای بیشتری برخوردار بوده است و تمام بیماران در بررسی کنونی، به دلیل وجود کاندیدوری، تحت درمان با داروهای ضد قارچی قرار گرفتند و به دلیل دشواری‌های موجود در پی‌گیری وضعیت بیماران پس از ترخیص از بیمارستان، نمی‌توان درباره ریشه کن شدن کاندیدوری آنان مطمئن شد.

همچنین،۲۶/۵٪ از عفونت‌های بیمارستانی دستگاه ادراری، در بیماران استفاده کننده کاتترهای مثانه‌ای به علت قارچ‌هایی است که به صورت مجتمع در نواحی تناسلی و پیرامون مقعد وجود دارند و هنگام قرار دادن کاتتر، به درون دستگاه ادراری وارد می‌شوند [۱۲]. هر اندازه که زمان استفاده از کاتتر بیشتر باشد، شدت کاندیدوری نیز، افزایش می‌یابد [۱۹]. در مطالعه حاضر، نسبت عفونت اکتسابی از بیمارستان‌ها با ۲۹/۵٪ در مقایسه با بررسی

Archive of SID
www.SID.ir

صورت گرفته تنها از بخش‌های بستری ICU در بیمارستان‌های ایالات متحده (۲۰۰۴-۲۰۰۸) که نسبت عفونت بیمارستانی را ۱۷/۱٪ گزارش کردند، بالاتری می‌باشد [۲۰] مطالعه صورت گرفته توسط Rafiaai در ایران، حاکی از شیوع ۲۵٪ عفونت‌های قارچی در بیماران مورد مطالعه بوده است [۲۱]. در مطالعه حاضر ۷ بخش بستری مراقبت‌های ویژه با شیوع ۶۰/۴٪ از عفونت‌های قارچی بیشترین بخش‌های درگیر در عفونت بیمارستانی بودند که در مطالعه صورت گرفته توسط Ahmadzadeh و همکاران (۲۰۱۰) بر روی بیماران بستری در واحدهای مراقبت‌های ویژه، از ۸۷۰ بیمار، ۵۵۰ (۶۳/۲٪) کلونیزاسیون کاندیدا را از قسمت‌های مختلف بدن جداسازی و شناسایی کردند [۲۲]. در پژوهش حاضر، ۳۹/۵٪ نمونه عفونی قارچی اکتسابی از بیمارستان و ۶۰/۵٪ اکتسابی از جامعه گزارش شد که در بررسی Sharifa و همکاران در سال ۲۰۱۱، نرخ عفونت‌های اکتسابی از جامعه ۵۱/۷٪ و عفونت‌ها اکتسابی از بیمارستان ۴۸/۳٪ در یک مرکز درمانی و بهداشتی بوده است که گونه‌های قارچی جدا شده از آن‌ها به میزان ۲٪ از کل نمونه‌ها ایزوله شده، می‌باشند [۲۳]. در بررسی‌های تعیین هویت گونه‌های کاندیدا به روش کروم آگار کاندیدا و روش مولکولی، کاندیدا البیکنس با نسبت ۸۹٪، گونه غالب‌شناسی شده در این مطالعه بود که نتایج مشابه به دست آمده توسط Findik و همکارش (۲۰۰۲) نشان داد که کاندیدا آلبیکنس (۷۵/۴٪) گونه غالب جدا شده در بیماران مبتلا به عفونت قارچی بیمارستانی نسبت به کاندیداگلابراتا (۸/۲٪)، کاندیداتروپیکالیس (۴/۸٪)، کاندیدا کفیر (۳/۴٪) و کاندیدا پاراپسیلوزیس (۲/۵٪) می‌باشد [۵]. Fatahi و همکاران (۲۰۰۷) در شناسایی مولکولی گونه‌های کاندیدا جدا شده از بیماران انکولوژی، ۶۲ ایزوله از (۷۸/۶٪) ۱۰۲ ایزوله کاندیدایی، کاندیدا آلبیکنس به عنوان بیشترین گونه غالب گزارش کردند [۲۴]. Saad El-din El-beleidy و همکاران از اوت سال ۲۰۰۸ تا سپتامبر ۲۰۰۹ در مجموع ۳۰۹ نمونه از بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه، بیشترین گونه جدا شده را کاندیدا آلبیکنس گزارش کردند [۲۵]. با مطالعه صورت گرفته توسط Arab و همکاران (۲۰۰۶) در زمینه شیوع آلودگی در فضا و سطوح بخش‌های مختلف در این سه بیمارستان، زنگ خطری برای بیماران بستری در بخش‌های مراقبت ویژه (ICU) به همراه داشته بود [۲۶]. اما باگذشت ۸ سال و نتایج آماری به دست آمده از میزان شیوع عفونت قارچی در میان بیماران بستری، کماکان نگرانی‌ها در ارتباط با عفونت‌های بیمارستانی در مراکز بهداشتی و درمانی مورد مطالعه وجود دارد. عفونت در نمونه صفاق یک بیمار سرپایی بعد از دیالیز، احتمال عفونت را ناشی از آلودگی فضای اتاق دیالیز و همچنین، کاتترهای مورد استفاده دانسته شد. از نمونه‌های نادر عفونت قارچی بیمارستانی، در بررسی‌های رادیولوژی دو بیمار بستری در بخش انکولوژی و همچنین، عفونت قارچی در جریان خون در بیماران این بخش بستری، حاکی از شیوع هوابردی عفونت بیمارستانی است که از نگرانی‌های موجود در این مطالعه می‌باشد.

در ارتباط با تشخیص وتفکیک عفونت‌های قارچی مهاجم و کلونیزاسیون قارچی با مشکلاتی روبرو هستیم و نیاز به آزمایشات دقیق‌تر و بررسی‌های پاتولوژیکی می‌باشد [۲۷]. اما زمانی که گرفتن بیوپسی امکان‌پذیر نباشد، از علایم کلینیکی و تشخیص استاندارد برای شروع درمان

Archive of SID
www.SID.ir

ضدقارچی استفاده می‌شود که یکی از معضلات در تشخیص و شناسایی دقیق گونه‌های قارچی می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که تفاوت چشم‌گیر در فراوانی عفونت قارچی بیماستانی در بین بخش‌های بستری وجود دارد. با توجه به احتمال انتشار کلونیزاسیون‌های قارچی و سپتیسمی ناشی از قارچ‌ها، پیش‌آگهی ناشی از این عفونت‌ها، مراقبت از بیماران و در صورت نیاز درمان آن‌ها، گام مهمی درپیشگیری از خطرات احتمالی این عفونت‌ها می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله ازکلیه افرادی که ما را در انجام این پژوهش، یاری نمودند و نیز از کلیه مسئولین و کارکنان محترم آزمایشگاه بالینی انگل و قارچ‌شناسی دانشکده علوم پزشکی افضلی پور کرمان و بخش تحصیلات تکمیلی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان (اصفهان) سپاسگزاری می‌شود.

References

[1] Nicolle MC, Benet T, Vanhems P. Aspergillosis: nosocomial or community-acquired? *J Medi Myco* 2011; 49 (Suppl. 1): S24-S9.

[2] Vincent JL ,Bihari DJ, Suter PM. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe: results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study; EPIC International Advisory Committee. *J Am Med Associ* 1995; 274(8): 639-44.

[3] Control of nosocomial infections. Article hospital infection control [Archive] - Ubuntu Forums.http://fhc.sums.ac.ir/vahedha/vagir/ofunat-bimarestan 2011; 07: 11- 41.

[4] Arya SC, Agarwal N, George S and Singh K. Nosocomial infection: hospital infection surveillance and control. *J HospInfect* 2004; 58: 242-3.

[5] Findik D, Tuncer U. Nosocomial Fungal Infections in a Teaching Hospital in Turkey: Identification of the Pathogens and Their Antifungal Susceptibility Patterns. *Turk J Med Sci* 2002; 32: 35-8.

[6] Goli A, Talaie AR. Microbiological studies of Delijan'sEmamSadegh hospital in 2010. *J Health Syst Res* 2010; 6(Suppl): 868-80.

[7] Shaikh JM, Devrajani BR, Shah SZA, Akhund T, Bibi I. Frequncy, pattern And etiology of nosocomial infection in intensive careunit: an experience at a tertiary care hospital. *J Ayub Med Coll Abbot* 2008; 20(4).

[8] De Gasperi A, Corti A, Perrone L. Fungal infections in the ICU. In: Gullo A, ed. Anaesthesia, Pain, Intensive Care and Emergency A.P.I.C.E. (Proceedings of the 21st Postgraduate Course in Critical Care Medicine. Venice-Mestre,

Archive of SID

www.SID.ir

ItalyNovember 10-13, 2006.) Milan, Italy: Springer 2007; 163-170.

[9] Kordbacheh P, Zaini F, Kamali P, Ansari K, Safara M.Study on the Sources of Nosocomial Fungal Infections at Intensive Care Unit and Transplant Wards at a TeachingHospital in Tehran. *Iranian J Publ Health* 2005; 34(2): 1-8.[Farsi]

[10] Plattn R, Polk BT, Murdock B. Risk factors for nosocomial urinary tract infection. *Am J Epidemiol* 1986; 124: 977.

[11] MovahadiMeher M. Frequency of candiduria in patients admitted in ICUs of Valiasr, centralhospital of Arak Directed. Consulted by: the human and animal body. J Arak Univ Med Sci 2007; 19: 37-41. [Farsi]

[12] Pakshir K, Mogadami M, Emmami M, Kordbacheh P. Prevalence and Identification of Etiological Agents of Funguria in Foley Catheterized Patients. *J Med Reser* 2004; 2(3): 33-41.

[13] Zarrin M, Mahmoudabadi AZ. Invasive candidiasis; a review article. *Jundi J Microb* 2009; 2(1): 1-6. .[Farsi]

[14] Colombo AL, Nucci M, Park BJ. Epidemiology ofcandidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centres. *J Clinic Microb* 2006;44: 2816-32.

[15] Einollahi B, Lessan-Pezeshki M Pourfarziani V. Invasive fungal infections following renal transplantation: A review of 2410 recipients. *Ann Transplant* 2008; 13(4): 55-8.

[16] AbdouGirgis S, El-Mehalawy AA, Mohammed Rady L. Comparison between culture and non-culture based methods for detection of Nosocomial fungal infections of *Candida spp*.in intensive care unit patients. *Egypt Acad J Biolog Sci* 2009; 1(1): 37-47

[17] Montagna MT, Lovero G, Degiglio O, Iatta R, caggiand G. Invasive fungal infections in Neonatal Intensive Care Units of Southern Italy: a multicentre regional active surveillance (AURORA Project). *J Prev Med Hyg* 2010; 51: 125-30.

[18] George J. Nosocomial Fungal Infections: Epidemiology, Infection Control and Prevention. *Infect Dis Clin* 2011; 25: 201-25.

[19] Daad H, Ahmed T. Candidemia at a university hospital: epidemiology risk factors and predictors of morality. *Ann Saudi Med* 2001; 21(3-4): 178-82.

[20] Ghimire C, Doolar K. Fungal Infection on Intensive Care Unite. http://www.chestnet.org/accp/ pccsu/fungal-infections-icu? page=0,3, 2012/05/21.

[21] Rafiaai A, Hmadi A, HamzehLoaii F. Fungal colonization of burn patients admitted to hospital in Ahvaz. *J Tropi Infec Disea Asso Expert* 2006; Year XI, No. 34: pp 41-4.

[22] Ahmadzadeh A, Valavi E , Shamsizadeh A. Fungal urinary tract infection in an infant with posterior urethral valves. *Jundi J Micro* 2011; 4(Suppl.1): S71-S6.

[23] Sherifa M. Sabra and Moataz M. Epidemiological and Microbiological Profile of Nosocomial Infection in Taif Hospitals, KSA (2010-2011). *World J Med Sci* 2012; 7 (1): 01-09

[24] Ftahi M, Shokohi T, Hashami MB, Hdayati MB, Akhvatian A, Tamadoni A, et al. molecular methods based on the detection of Candida species

Archive of SID
www.SID.ir

of Patients in Oncology from Four Mazandran education hospitals. *J Mazand Univ Med Sci* 2008; 17(61): 1-11.[Farsi]

[25] Saad El-din El-beleidy A, Abdallah Ismail N.Fungal Infections in Non-neutropenic Critically Ill children: One year study in an Egyptian Pediatric Intensive Care Unit. *Australian J Bas Appli Sci* 2012; 6(3): 248-56.

[26] Arab N, Ghaemi F,GhaemiF Airborne fungi spores indiffrent wards of hospitals to Kerman University of Medical Science. *J Karman Univ Med Scie* 2006; 13(4): 247-56. [Farsi]

[27] BasiriGahromi Sh, Ghaksar AA. Fungal infections of the respiratory samples sent from Iran during Anistopastvr 1994-2001. Medical Research. *J Facu Med* 2003; 4(83): 265-8.[Farsi]

Archive of SID

www.SID.ir

Study of Nosocomial Fungal Infections Acquired from Three Kerman Educational Hospitals

A. Karami Robati [1], S.A. Ayatollahi Mousavi[2], S. Hadizadeh[3]

Received: 23/12/2012 Sent for Revision: 22/04/2013 Received Revised Manuscript: 26/11/2013 Accepted: 02/12/2013

Background and Objective: Fungal pathogenesis is based on the fungal compliance with environmental conditions and resistance to host cell defenseIn this study, the freguency of Nosocomial Fungal Infections in hospitals are discussed.

Materials and Methods : This descriptive study was performed on 180 patients with suspected fungal infections. Direct smear and culture samples were taken for mycology studies and simultaneously Candida species were identified by diagnostic methods, such as chromium agar and RFLP-PCR.

Results: Out of 134 cases of fungal infections, 53 cases (39.5%) of nosocomial infection and 81 cases (60.5%) of community acquired infection had been reported. The most common nosocomial infection was in the ICU ward of Hospitals. The only major cause of nosocomial fungal infections in this study, was genus Candida.

Conclusion: There are significant differences in ferguency of nosocomial infection among the wards. Due to the possibility of the fungal colonization spread and septicemia caused by fungi, the prognosis of these infections nd treatment of them if needed, is an important step in preventing possible risks of these infections.

Key words: Nosocomial infections, Candidia species, RFLP-PCR.

Funding: This research was personally funded.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Kerman University of Medical Sciences, and the Research Committee of Islamic Azad University Falavarjan Branch approved the study.

How to cite this article: Karami Robati A, Ayatollahi Mousavi SA, Hadizadeh S. Study of nosocomial fungal infections acquired from three Kerman education hospitals. *J RafsanjanUniv Med Sci* 2014; 13(2): 151-62. [Farsi]

Archive of SID

1- MSc in Microbiology, Dept of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran.
(Corresponding Author) Tel: (0341) 6134634, Fax: (0341) 6272748, Email: karamy8926@yahoo.com
2- Associate Prof., Dept. of Mycology & ParasitMedicine, Kerman Medical Afzali poor University , Kerman, Iran
3- MSc in Mycology and & Parasit Medicine Dept. of Mycology & Parasit Medicine, Kerman University Medical Science, Kerman, Iran

www.SID.ir