مجله دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دوره ۶۴ ، شماره ۱۲، اسفند ۱۳۸۵، ۴۷-۳۸

تعیین گونه‌های کاندیدای غیرآلبیکنس از نمونه‌های بالینی بیماران مبتلا به کاندیدیازیس

سید محمد حسین افسریان
فریده زینی*
پریوش کردبچه
محمود محمودی
ساسان رضائی
مهین صف آرا

گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی

دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

زمینه و هدف: در سالهای اخیر به دلیل افزایش فاکتورهای مستعدکننده و افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنی، عفونتهای فرصت طلب ناشی از گونه‌های کاندیدا نیز افزایش قابل ملاحظه‌ای یافته است. گرچه کاندیدا آلبیکنس به عنوان شایع‌ترین عامل کاندیدیازیس حائز اهمیت می‌باشد ولی گونه‌های دیگر کاندیدا از قبیل کاندیدا پاراپسیلوزیس، کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا گلابراتا، کاندیدا کروزه‌ای، کاندیدا گیلرموندی و کاندیدا کفایر نیز به دلیل مقاومت در برابر داروهای ضد قارچی اهمیت زیادی پیدا کرده‌اند، بنابراین بررسی و شناسایی گونه‌های کاندیدای غیر آلبیکنس مسبب کاندیدیازیس ضروری بوده و آزمایشگاههای تشخیص طبی نیز نیازمند افزایش قابلیت‌های خود جهت تشخیص سریع این مخمرها می‌باشند.

روش بررسی: در این مطالعه مقطعی توصیفی از ضایعات بیماران مشکوک به کاندیدیازیس نمونه تهیه شد. آزمایش مستقیم و کشت بر روی نمونه های بیماران انجام گرفت. کلنی های مخمری جدا شده از بیماران با استفاده از روشهای مختلف تشخیصی از قبیل کشت بر روی کورن میل آگار – توئین ۸۰، کشت روی محیط کروم آگار و تست جذب قندها توسط کیت API 20C AUX تعیین هویت گردیدند.

یافته‌ها: : از ۳۰۴ کلنی مخمری جدا شده ، ۲۰۴ مورد کاندیدا آلبیکنس، ۱۰۰ مورد کاندیدهای غیر آلبیکنس بودند. از کاندیداهای غیر آلبیکنس به ترتیب ۳۵ ٪ کاندیدا پاراپسیلوزیس ، ۳۲ ٪ کاندیدا تروپیکالیس ، ۸ ٪ کاندیدا گلابراتا ، ۸ ٪ کاندیدا کفایر ، ۶ ٪ کاندیدا کروزه ای ، ۳ ٪ کاندیدا گیلر موندی ، ۳ ٪ کاندیدا فاماتا ، ۳ ٪ کاندیدا لوزیتانیا ، ۱ ٪ کاندیدا زیلانوئیدس و ۱ ٪ کاندیدا هومیکولا تعیین هویت گردیدند که در بین آنها گونه پاراپسیلوزیس واجد بیشترین فراوانی بود . در این بررسی نمونه های بالینی از ضایعات مختلف بدن تهیه شده بود که بیشترین تعداد نمونه با ۵۹ مورد مربوط به عفونت ناخن بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این بررسی نشان می دهد که تشیخص نهائی و قطعی گونه های کاندیدا فقط براساس ویژگی های فنوتیپی مختلف ممکن بوده و استفاده از یک تست به تنهائی برای این منظور کافی نمی باشد. علاوه بر آن با توجه به اینکه حساسیت این ارگانیسم ها در مقابل داروهای ضد قارچی متغیر بوده و مشکلاتی را در درمان بیماران ایجاد می نماید، لذا بررسی و ارزیابی حساسیت داروئی کلیه کاندیدا های غیر آلبیکنس جدا شده از بیماران نسبت به داروهای ضد قارچی موجود در بازار داروئی ایران ضروری می باشد.

کلمات کلیدی: کاندیداهای غیرآلبیکنس، کاندیدیازیس، عفونت‌های فرصت طلب

*نویسنده مسئول، نشانی: تهران، پورسینا، دانشکده بهداشت، طبقه اول
تلفن:۸۸۹۵۱۵۸۳
Email: fzaini@sina.tums.ac.ir

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-03]

مقدمه

گونه‌های کاندیدا ارگانیزم‌هایی هستند که در همه جا وجود داشته و به صورت فرصت‌طلب در بدن افراد سالم حضور دارند. افزایش شیوع عفونتهای قارچی با گونه‌های کاندیدا در بیماران دچار نقص سیستم ایمنی قابل توجه بوده[۳-۱] و در دو دهه گذشته اهمیت زیادی پیدا کرده است.[۵-۴] گرچه کاندیدا آلبیکنس به عنوان شایع‌ترین عامل کاندیدیازیس حائز اهمیت است ولی ۱۲ تا ۱۴ گونه کاندیدای غیرآلبیکنس به عنوان عامل چنین عفونت‌هایی شناخته شده است.[۸-۶] اخیراً مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده است که کاندیداهای غیر آلبیکنس مانند: کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا پاراپسیلوزیس، کاندیدا کروزه‌ای، کاندیدا گلابراتا بتدریج جایگزین کاندیدا آلبیکنس در ایجاد بیماری می شوند .[۹و۲و۱] بطوریکه میزان کاندیدمی به علت کاندیداهای غیرآلبیکنس در بین بیماران بستری تا بیش از ۵۰۰ ٪ نسبت به دهه ۱۹۸۰ افزایش داشته است[۴] و بیش از ۱/۳ این عفونتها توسط گونه‌های کاندیدای غیرآلبیکنس ایجاد شده است که بیشتر این عفونت‌ها ناشی از عوامل آندوژن می‌باشد. مطالعات اخیر مشخص می‌کند که کاندیدا ممکن است از ۵۴ – ۱۵ ٪ کارکنان بهداشتی جدا شود. بنابر این عفونت‌های کاندیدایی ممکن است منشاء آندوژن یا اگزوژن داشته باشند.[۴] در طول دهه گذشته افزایش کاندیدمی ناشی از کاندیداهای کروزه‌ای و گلابراتا به خصوص در بیماران مبتلا به سرطان افزایش نگران‌کننده‌ای داشته است.[۱۱و۱۰] از آنجائیکه حساسیت گونه‌های مختلف در مقابل داروهای ضد قارچی از جمله آزول‌ها متفاوت می‌باشد لذا کاندیداهای غیرآلبیکنس نیاز به بررسی بیشتری دارند.[۱۳و۱۲] محیط کروم آگار کاندیدا محیط کروموژنیکی است که در سالهای اخیر به بازار عرضه شده و می‌تواند در شناسائی گونه‌های کاندیدا کمک کننده باشد.[۱۵و۱۴] این مطالعه با هدف شناسایی و بررسی گونه‌های کاندیدای غیرآلبیکنس عامل بیماری انجام شده است تا در آینده مطالعات تکمیلی از نظر حساسیت داروئی و نیز ویژگیهای مولکولی روی آنها صورت گیرد.

روش بررسی

در این مطالعه مقعطی توصیفی که طی یکسال از فروردین ماه ۱۳۸۳ الی مرداد ماه ۱۳۸۴ انجام گرفت تعداد ۳۰۴ بیمار مبتلا به کاندیدیازیس تشخیص داده شدند که از ۲۰۴ موردکاندیدا آلبیکنس و از ۱۰۰ مورد سایر گونه‌های کاندیدا جدا شد. که از این ۱۰۰ بیمار ۷۶ نفر زن و ۲۴ نفر مرد بودند نمونه‌های بالینی که از ضایعات مختلف تهیه شده بودند شامل: تراشه ناخن (۵۹ مورد)، ترشح واژن (۱۳ مورد)، تراشه پوست (۱۵ مورد)، ادرار (چهار مورد)، ترشحات زخم (دو مورد)، ترشحات گوش (یک مورد)، ترشحات روی لوزه (یک مورد)، مدفوع (یک مورد)، خلط (یک مورد)، نمونه حاصل از درناژ کبد (یک مورد)، مایع دیالیز صفاقی (یک مورد) و نمونه پونکسیون آبسه کبد (یک مورد). ابتدا بر روی یک قسمت از هر یک از نمونه‌ها آزمایش مستقیم انجام گرفت و سپس بقیه نمونه‌ها بر روی محیط سابورو دکستروز آگار (SDA) کشت داده شدند. کشت‌ها به مدت ۴۸ الی ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. پلیت‌های کشت، روزانه از نظر رشد کلنی‌های قارچی مورد بررسی قرار گرفتند و در صورت مشاهده کلنی مخمری، آنها را ایزوله نموده و با استفاده از روش‌های زیر تعیین هویت گردیدند:

جهت جدا نمودن کاندیداهای غیر آلبیکنس از کاندیدا آلبیکنس از محیط کورن میل آگار – توئین ۸۰ (Corn meal agar-Tween 80) استفاده گردید. به اینصورت که از کلنی‌های مخمری ۴۸ ساعته در محیط سابورو دکستروز آگار برداشته و روی محیط کورن میل آگار – توئین ۸۰ بصورت خطی و نشاکاری کشت داده شد. سپس کشت‌ها بین ۴ الی ۵ روز در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. پس از بررسی میکروسکوپی کشت‌ها، کاندیداهایی که فقط میسلیوم حقیقی، کاذب و بلاستوسپور تولید کرده بودند به عنوان کاندیدای غیر آلبیکنس در نظر گرفته شدند و در صورت مشاهده میسلیوم‌های حقیقی و کاذب، بلاستوسپور و کلامیدوسپور به عنوان کاندیدا آلبیکنس شناسائی گردیدند. از کلنی‌های مخمری ۴۸ ساعته روی محیط سابورو دکستروز آگار برداشته و روی محیط کروم آگار کاندیدا(CHROM Agar Candida Medium) کشت داده شدند. سپس محیط‌ها به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. پس از ۴۸ ساعت رنگ و مورفولوژی کلنی‌ها برای هر یک از ایزوله‌ها مشاهده و بطور جداگانه ثبت گردید.

توسط تست جذب قندها که با استفاده از کیتAPI 20C AUX و مطابق روش توصیه شده توسط کارخانه سازنده آن انجام گرفت چگونگی جذب ۱۹ قند توسط هر یک از مخمرها مورد بررسی قرار

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-03]

گرفت. گالریهای مورد آزمایش به مدت ۷۲ ساعت در ۳۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. جذب یا عدم جذب قندها که بصورت رشد یا عدم رشد مخمر برروی هر یک از سوبستراهای قندی مشاهده می‌شد در سه نوبت به فاصله‌های ۲۴، ۴۸ و۷۲ ساعت با مقایسه با حفره شاهد یادداشت گردید و نهایتاً نتایج بر اساس الگوی ارائه شده کارخانه سازنده استخراج و مخمرهای مورد آزمایش تعیین هویت گردیدند.

یافته‌ها

از ۳۰۴ کاندیدای جدا شده از بیماران مبتلا به کاندیدیازیس ۲۰۴ مورد کاندیدا آلبیکنس و ۱۰۰ مورد کاندیدای غیر آلبیکنس بودند. انواع گونه‌های کاندیدای غیر آلبیکنس جدا شده بر حسب نوع نمونه مورد آزمایش در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

همانطور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود از ۵۹ مورد نمونه تراشه ناخن بیشترین فراوانی مربوط به کاندیدا پاراپسیلوزیس با ۲۴ مورد (۴۰/۷ ٪) و بعد از آن کاندیدا تروپیکالیس با ۲۳ مورد (۳۹٪) می باشد و کمترین فراوانی با یک مورد (۱/۷٪) مربوط به کاندیدا هومیکولا می‌باشد. از ۱۵ نمونه تراشه پوست کاندیدا پاراپسیلوزیس با ۷ مورد (۴۶/۷٪) بیشترین فراوانی و کاندیدا گلابراتا و کاندیدا فاماتا هر کدام با یک مورد (۶/۷٪) کمترین فراوانی را دارا بودند. از ۱۳ مورد نمونه ترشح واژن نیز کاندیدا کفایر با چهار مورد (۳۰/۷٪) دارای بیشترین فراوانی و کاندیدا پاراپسیلوزیس، کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا زیلانوئیدس هر کدام با یک مورد (۷/۷٪) کمترین فراوانی را داشتند.

توزیع سنی و جنسی بیماران مبتلا به کاندیدیازیس ناشی از کاندیداهای غیر آلبیکنس بر اساس نتایج آزمایش مستقیم و کشت در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. در این مطالعه مشخص شد که از تعداد ۲۴ بیمار مرد، آزمایش مسقیم در ۱۴ نفر مثبت و۱۰ در نفر دیگر منفی بود ولی هر ۲۴ مورد دارای کشت مثبت بودند. همچنین از ۷۶ بیمار زن، آزمایش مستقیم در ۵۰ نفر مثبت و در ۲۶ نفر منفی بود ولی هر ۷۶ مورد دارای کشت مثبت بودند. از ۱۰۰ نمونه تهیه شده از ضایعات بیماران ۵۹ نمونه مربوط به تراشه ناخن بود که از این تعداد ۴۷ مورد (۷۹/۷٪) مربوط به جنس مونث و ۱۲ مورد (۲۰/۳٪) مربوط به جنس مذکر بود .همچنین ۱۵ مورد از نمونه‌ها مربوط به تراشه پوست بود که از این تعداد ۱۱ مورد (۷۳/۳٪) مربوط به جنس مونث و چهار مورد (۲۶/۷٪) مربوط به جنس مذکر بود. ۱۳ مورد از نمونه‌ها نیز مربوط به ترشح واژن بود.

نتایج بدست آمده از کشت ۳۰۴ مخمر جدا شده از بیماران بر روی محیط کورن میل آگار – توئین ۸۰ نشان داد که ۲۰۴ کلنی مخمری جدا شده ایجاد میسلیوم های حقیقی، کاذب، بلاستوسپوروکلامیدوسپور نموده و بدین ترتیب به عنوان کاندیدا آلبیکنس شناخته شدند. ۱۰۰ کلنی مخمری دیگر با ایجاد میسلیوم‌های حقیقی و کاذب و بلاستوسپور بعنوان کاندیداهای غیر آلبیکنس تشخیص داده شدند. تعیین هویت گونه‌های کاندیدای جدا شده از بیماران با استفاده از کیت API 20C AUX انجام گرفت، که از تعداد ۱۰۰ مورد کاندیدای غیرآلبیکنس جدا شده از بیماران، ۳۵ مورد کاندیدا پاراپسیلوزیس، ۳۲ مورد کاندیدا تروپیکالیس، هشت مورد کاندیدا کفایر، هشت مورد کاندیدا گلابراتا، شش مورد کاندیدا کروزه‌ای ، سه مورد کاندیدا گیلر موندی، سه مورد کاندیدا فاماتا، سه مورد کاندیدا لوزیتانیا، یک مورد کاندیدا زیلانوئیدس و یک مورد کاندیدا هومیکولا تعیین هویت گردیدند. نتایج کشت ۳۰۴ مورد کاندیدای جدا شده از بیماران بر روی محیط کروم آگار کاندیدا و طیف رنگ‌های ایجاد شده توسط گونه‌های مختلف کاندیدا در جدول شماره ۳ منعکس شده است. همانگونه که در جدول شماره ۳ ملاحظه می شود برای هر یک از گونه‌ها در محیط کروم آگار کاندیدا طیفی از رنگها مشاهده می‌شود. بدین ترتیب که از ۳۵ مورد کاندیدا پاراپسیلوزیس، ۲۹ مورد (۲۸/۸٪) رنگ بنفش، پنج مورد (۱۴/۳٪) رنگ بنفش – صورتی و یک مورد(۲/۹٪) رنگ سفید تولید کردند. از ۳۲ مورد کاندیدا تروپیکالیس ۲۰ مورد (۶۲/۵٪) رنگ آبی تیره و ۱۲ مورد (۳۷/۵٪) رنگ آبی – خاکستری ایجاد کردند. از هشت مورد کاندیدا کفایر شش مورد (۷۵٪) رنگ کرم – بنفش و دو مورد (۲۵٪) رنگ صورتی کثیف ایجاد کردند. از هشت مورد کاندیدا گلابراتا پنج مورد (۶۲/۵٪) رنگ بنفش، یک مورد (۱۲/۵٪) رنگ کرم – بنفش، یک مورد (۱۲/۵٪) رنگ سفید صورتی و یک مورد (۱۲/۵٪) رنگ سفید تولیدکردند. از شش مورد کاندیدا کروزه‌ای پنج مورد (۸۳/۳٪) رنگ بنفش و یک مورد (۱۶/۷٪) رنگ کرم – بنفش تولید کردند. هر سه مورد کاندیدا گیلرموندی (۱۰۰٪) رنگ کرم – بنفش و هر سه

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-03]

مورد کاندیدا فاماتا (۱۰۰٪) رنگ بنفش تولید کردند. از سه مورد کاندیدا لوزیتانیا یک مورد (۳۳/۳٪) رنگ بنفش، یک مورد (۳۳/۳٪) رنگ کرم – بنفش و یک مورد (۳۳/۳٪) رنگ بنفش – صورتی ایجاد کردند. همچنین یک مورد کاندیدا زیلانوئیدس رنگ بنفش و یک مورد کاندیدا هومیکولا رنگ آبی تیره – بنفش تولید کردند.

جدول-۱ : توزیع گونه های کاندیدای غیر آلبیکنس عامل کاندیدیازیس بر حسب نمونه مورد آزمایش

گونه های کاندیدا	نمونه مورد آزمایش											
	تراشه ناخن	تراشه پوست	ترشح واژن	ادرار	ترشحات زخم	ترشحات لوزه‌ها	مدفوع	خلط	ترشحات گوش	درناژ کبد	مایع دیالیز صفاق	آبسه کبد
ک . پاراپسیلوزیس	۲۴	۷	۱	-	۱	-	-	-	۱	-	-	۱
ک . تروپیکالیس	۲۳	۴	۱	۳	-	-	-	-	-	-	۱	-
ک . کفایر	-	۲	۴	-	-	-	-	۱	-	۱	-	-
ک . کروزه ای	۲	-	۳	-	-	-	۱	-	-	-	-	-
ک . گلابراتا	۲	۱	۳	۱	۱	-	-	-	-	-	-	-
ک . گیلر موندی	۳	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ک . فاماتا	۲	۱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ک . لوزیتا نیا	۲	-	-	-	-	۱	-	-	-	-	-	-
ک . زیلا نوئیدس	-	-	۱	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ک . هومیکولا	۱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
جمع	۵۹	۱۵	۱۳	۴	۲	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱

جدول- ۲: توزیع سنی و جنسی بیماران مبتلا به کاندیدیازیس ناشی ازکاندیداهای غیر آلبیکنس بر اساس موارد مثبت و منفی در آزمایش مستقیم و کشت

سن	جنس مرد				جنس زن				جمع
	لام مستقیم مثبت	لام مستقیم منفی	کشت مثبت		لام مستقیم مثبت	لام مستقیم منفی	کشت مثبت		
۱۰ – ۰	۲	–	۲		–	–	–		۲
۲۰ – ۱۱	۳	۱	۴		۳	۲	۵		۹
۳۰ – ۲۱	۲	–	۲		۸	۹	۱۷		۱۹
۴۰ – ۳۱	–	۱	۱		۱۴	۳	۱۷		۱۸
۵۰ – ۴۱	۳	۳	۶		۷	۲	۹		۱۵
۶۰ – ۵۱	۱	۲	۳		۱۱	۵	۱۶		۱۹
۷۰ – ۶۱	۲	۳	۵		۴	۳	۷		۱۲
۸۰ – ۷۱	۱	–	۱		۲	۱	۳		۴
۹۰ – ۸۱	–	–	–		۱	۱	۲		۲
جمع	۱۴	۱۰	۲۴		۵۰	۲۶	۷۶		۱۰۰
درصد	٪ ۱۴	٪۱۰	٪ ۲۴		٪ ۵۰	٪۲۶	٪ ۷۶		٪ ۱۰۰

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-03]

جدول- ۳: رنگهای ایجاد شده بوسیله ۳۰۴ گونه کاندیدای جدا شده از بیماران بر روی محیط کروم آگار کاندیدا

گونه‌های کاندیدا	تعداد	طیف رنگهای کلنی‌های ایجاد شده
ک آلبیکنس	۲۰۴	سبز روشن ، سبزتیره ، سبز – آبی
ک پاراپسیلوزیس	۳۵	سفید ، بنفش- صورتی ، بنفش
ک تروپیکالیس	۳۲	آبی تیره ، آبی – خاکستری
ک کفایر	۸	کرم – بنفش ، صورتی کثیف
ک گلابراتا	۸	کرم-بنفش،بنفش،سفید،سفید-صورتی
ک کروزه ای	۶	بنفش ، کرم – بنفش
ک گیلر موندی	۳	کرم – بنفش
ک فاماتا	۳	بنفش
ک لوزیتانیا	۳	کرم – بنفش ، بنفش صورتی ، بنفش
ک هومیکولا	۱	آبی تیره – بنفش
ک زیلا نوئیدس	۱	بنفش

بحث

مطالعات سالهای ۱۹۸۰ به بعد نشان می‌دهد که عفونت‌های فرصت طلب ناشی از گونه‌های کاندیدا به خصوص در افراد دارای ضعف سیستم ایمنی به طور قابل توجهی افزایش یافته است.[۱۶] اگرچه کاندیدا آلبیکنس ارگانیسم غالب عفونت‌های کاندیدایی بوده است ولی مواردی از عفونت‌های ناشی از سایر گونه‌های کاندیدا مثل کاندیدا گلابراتا، کاندیدا کروزه‌ای، کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا پاراپسیلوزیس، کاندیدا گیلرموندی، کاندیدا فاماتا و کاندیدا لوزیتانیا گزارش شده است.[۱۸و۱۷] برخی از عوامل کاندیدایی فوق‌الذکر به داروهای ضد قارچی رایج مانند داروهای گروه آزول و بویژه فلوکونازول که عمدتاً برای پروفیلاکسی استفاده می‌شود در حال مقاوم شدن هستند که از آن جمله می توان کاندیدا کروزه‌ای و کاندیدا گلابراتا را نام برد.[۲۱-۱۹و۷] بنابراین عفونتهای کاندیدایی غیر آلبیکنس احتیاج به بررسی بیشتری داشته و آزمایشگاههای تشخیص طبی نیازمند افزایش توانائی‌های خود در جهت تشخیص سریع و دقیق این گونه‌های مخمری می‌باشند.

در این مطالعه از ۳۰۴ نمونه بیشترین نمونه تهیه شده مربوط به ناخن بود، اگرچه کاندیدا آلبیکنس بیشترین کاندیدای جدا شده از ضایعات ناخن بود ولی از بین کاندیداهای غیرآلبیکنس کاندیدا پاراپسیلوزیس و بعد از آن کاندیدا تروپیکالیس شایع‌ترین کاندیدای جدا شده بودند و کاندیدا هومیکولا از کمترین فراوانی برخوردار بود. نتایج بدست آمده در مطالعه اخیر نشان داده که ابتلا به ضایعات جلدی و ناخن در جنس مونث شایع‌تر از جنس مذکر بوده است. از بین کاندیداهای غیر آلبیکنس جدا شده از ترشح واژن بیشترین فراوانی مربوط به کاندیدا کفایر و بعد از آن کاندیدا کروزه‌ای و کاندیدا گلابراتا بود و کمترین فراوانی به کاندیدا پاراپسیلوزیس، کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا زیلانوئیدس تعلق داشت. در نمونه‌های ادرار نیز در بین کاندیداهای غیر آلبیکنس بیشترین فراوانی مربوط به کاندیدا تروپیکالیس و سپس کاندیدا گلابراتا بود.

در مطالعه امامی و زینی در سال ۱۳۵۴ در تهران بر روی ۶۵ ایزوله بالینی کاندیدای جدا شده از واژن بیماران بیشترین فراوانی به ترتیب مربوط به کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا میلینی، کاندیدا گیلرموندی، کاندیدا زیلانوئیدس، کاندیدا سولانی، کاندیدا روگوزا، کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا کروزه‌ای و کاندیدا پاراپسیلوزیس بود.[۲۲]

در مطالعه‌ای که زینی در سال ۱۳۶۵ بر روی ۱۳۵ نمونه تراشه ناخن بیماران با علائم کاندیدیازیس ناخن درآزمایشگاه قارچ شناسی دانشکده بهداشت انجام داد، کاندیدا آلبیکنس شایع‌ترین ارگانیسم جدا شده از ناخن بوده و از بین کاندیداهای غیرآلبیکنس بیشترین به ترتیب از نظر فراوانی کاندیدا پاراپسیلوزیس، کاندیداتروپیکالیس و کاندیداگیلرموندی قرار داشتند و کمترین فراوانی را کاندیدا کروزه‌ای و کاندیداروگوزا به خود اختصاص دادند.[۲۳]

در مطالعه زینی و چعباویزاده در سال ۱۳۶۶ از ۲۰۱ نمونه ادرار افراد دارای بیماری زمینه‌ای به ترتیب فراوانی کاندیدا گلابراتا، کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا کروزه‌ای، کاندیدا فاماتا و کاندیدا کفایر جدا گردید.[۲۴] در مطالعه یحیی پور در سال ۱۳۶۹ بر روی ۸ ایزوله بالینی کاندیدای جدا شده از ناخن در کودکان مبتلا به نقص سیستم ایمنی سلولی، بیشترین فراوانی به ترتیب مربوط به کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا زیلانوئیدس بود. همچنین در ضایعات جلدی نیز بیشترین فراوانی به ترتیب مربوط به کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا تروپیکالیس بود.[۲۵] در مطالعه مرتضوی در سال ۱۳۶۹ بر روی ۵۹ ایزوله بالینی کاندیدای جدا شده از واژن بیماران، بیشترین فراوانی به ترتیب مربوط به کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا گلابراتا، کاندیدا گیلرموندی، کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا روگوزا، کاندیدا پاراپسیلوزیس، کاندیدا کفایر و کاندیدا استلاتوئیده بود.[۲۶]

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-03]

در مطالعه شیدفر در سال ۱۳۷۱ بر روی ۵۴۳ نمونه ناخن، ۳۳۶ مورد مربوط به انیکومایکوزیس کاندیدایی بود که شایع‌ترین ارگانیسم جدا شده کاندیداآلبیکنس بوده و پس از آن کاندیدا پاراپسیلوزیس،کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا گیلرموندی بودند و کاندیدا روگوزا، کاندیدا کروزه‌ای، کاندیدا لیپولیتیکا و کاندیدا فاماتا با کمترین فراوانی در مطالعه مذکور گزارش شدند.[۲۷]

در مطالعه حیدریان در سال ۱۳۷۴ بر روی ۴۹ ایزوله بالینی کاندیدای جدا شده از واژن بیماران بیشترین فراوانی مربوط به کاندیدا آلبیکنس بود.[۲۸] در مطالعه Correia و همکاران در سال ۲۰۰۴ در پرتغال بر روی ایزوله‌های بالینی کاندیدای جدا شده از ادرار بیماران نشان دادند که بیشترین فراوانی به ترتیب مربوط به کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا گلابراتا می‌باشد. همچنین از ایزوله‌های بالینی جدا شده از واژن بیشترین فراوانی به ترتیب مربوط به کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا گلابراتا، کاندیدا پاراپسیلوزیس، کاندیدا گیلرموندی، کاندیداکروزه‌ای و کاندیدا تروپیکالیس بود.[۲۹] در مطالعه Wang و همکاران در تایوان در سال ۲۰۰۲ بر روی ایزوله های بالینی کاندیدای جدا شده از ادرار بیماران نشان دادند که بیشترین فراوانی به ترتیب مربوط به کاندیدا گلابراتا، کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا پاراپسیلوزیس و کاندیدا تروپیکالیس بود.[۳۰] در مطالعه Capoor و همکاران در سال ۲۰۰۵ در هندوستان بر روی ایزوله‌های بالینی کاندیدای جدا شده از ادرار بیماران نشان دادند که بیشترین فراوانی به ترتیب مربوط به کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا پاراپسیلوزیس، کاندیدا گلابراتا و کاندیدا کروزه‌ای بود.[۳۱]

در مطالعه Lopes Consolaro و همکاران در سال ۲۰۰۴ در برزیل بر روی ایزوله‌های بالینی کاندیدای جدا شده از ولووواژینیت بیماران نشان دادند که بیشترین فراوانی به ترتیب مربوط به کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا گلابراتا و کاندیدا پاراپسیلوزیس می‌باشد.[۳۲]

درمطالعه حاضر پس از انجام آزمایش مستقیم بر روی نمونه های جدا شده از بیماران و کشت نیزروی محیط سابورو دکستروز آگار دردمای ۳۰ درجه سانتیگراد انجام گرفت، اما چون منظره کلنی‌های ایجاد شده توسط کاندیداهای مختلف بر روی محیط سابورو دکستروز آگار به صورت سفید متمایل به کرم همراه با قوام خامه‌ای می‌باشد، لذا شناسایی گونه‌های مختلف از یکدیگر بر این اساس ممکن نبوده و نیاز به انجام آزمایش‌های تکمیلی داشت.

بنابراین از کلنی‌های ۴۸ ساعته بر روی محیط سابورودکستروز آگار برداشته و بر روی محیط کورن میل آگار – توئین ۸۰ کشت داده شد. در روی این محیط کاندیدا آلبیکنس میسلیوم حقیقی و کاذب، بلاستو کنیدی و کلامیدو کنیدی تولید کرده در صورتیکه سایر گونه‌های کاندیدا مثل کاندیدا گیلر موندی وکاندیدا فاماتا فقط از قابلیت تولید میسلیوم حقیقی و کاذب و بلاستوکنیدی برخوردار می‌باشند. لازم به ذکر است که بعضی گونه‌های کاندیدای غیر آلبیکنس مثل کاندیدا گلابراتا پس از گذشت ۴ تا ۵ روز روی این محیط تولید میسلیوم‌های حقیقی و کاذب نکرده و فقط بلاستوکنیدی تولید می‌نماید. با توجه به اینکه کاندیدا دابلینینسیس نیز مثل کاندیدا آلبیکنس روی این محیط تولید کلامیدوسپور می‌کند بنابراین برای تمایز این دو ارگانیسم از یکدیگر باید آزمایشات تکمیلی دیگری انجام می‌گرفت که چون در مبحث این مطالعه نمی‌گنجد لذا از انجام این آزمایشات صرفنظر شد. اخیراً گزارشهایی مبنی بر استفاده از محیط کروم آگار کاندیدا به عنوان یک محیط افتراقی در تشخیص گونه‌های مختلف کاندیدا مشاهده می‌شود.[۱۴و۳۳-۳۵] در طی مطالعه Pfaller و همکارانش مشخص شد که این محیط سه ارگانیزم کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا کروزه‌ای رابا درصد بالائی شناسائی می‌کند.[۷] کارخانه سازنده محیط کروم آگار کاندیدا برای کاندیدا آلبیکنس طیفی از رنگ سبز، برای کاندیدا تروپیکالیس رنگ آبی تیره و خاکستری و برای کاندیدا کروزه‌ای رنگ بنفش را به عنوان مشخصه گونه‌های یاد شده ارائه نموده است. همانطور که در جدول شماره ۳ مشاهده می‌شود اگرچه طیف و تنوع رنگی که توسط مخمرهای مختلف در این محیط کشت ایجاد شده است با الگوی رنگی کارخانه سازنده همخوانی دارد، اما لازم است جهت تشخیص سایر کاندیداها علاوه براین محیط کشت از روش کمکی دیگری هم استفاده شود. زیرا به عنوان مثال کاندیدا گلابراتا تنها با رنگ ایجاد شده بر روی این محیط کشت قابل تشخیص نمی‌باشد زیرا طیف رنگهای ایجاد شده توسط آن بوسیله سایر گونه‌های کاندیدا مثل کاندیدا پاراپسیلوزیس، کاندیدا گیلرموندی، کاندیدا کفایر، کاندیدا فاماتا و کاندیدا لوزیتانیا نیز ایجاد می‌شود.[۳۶] Perry و Miller نشان دادند که کاندیدا آلبیکنس با تولید β -N – Acetyl Galactose Aminidaseقادر به مصرف مستقیم سوبستراهای کروموژنیک و هگزوز آمینیداز می‌باشد و به این دلیل در محیط کروم آگار ایجاد

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-03]

رنگ سبز می‌کند.[۳۷] همچنین گزارش شده که این محیط با اطمینان حدود ۱۰۰ ٪ از توانائی تشخیص کاندیدا تروپیکالیس به واسطه رنگ آبی تیره یا آبی – خاکستری برخوردار می‌باشد که با یافته‌های این بررسی کاملا مطابقت دارد.[۳۸] با استفاده از کیت API 20C AUX تعیین هویت نهائی گونه‌های جدا شده از بیماران انجام گرفت. کیت API 20C AUX برای تشخیص سریع مخمرهای شایع و نادر روش با ارزشی می‌باشد. این روش بیوشیمیایی جذب قندها و بعضی از قندهای الکلی توسط مخمرها را نشان می‌دهد، به عنوان مثال کاندیدا کروزه‌ای فقط گلوکز و گلیسرول را جذب می نماید یا کاندیدا گلابراتا فقط قادر به جذب گلوکز و تره هالوز می‌باشد. در انجام تست API همواره باید توجه شود که مقدار ماده تلقیحی مناسب باشد (حدود ۵۰۰ میکرولیتر) تا از ایجاد جواب مثبت یا منفی کاذب جلوگیری گردد. به عنوان مثال کاندیدا آلبیکنس در صورتیکه به طور کاذب Melizitose را جذب نماید به عنوان کاندیدا تروپیکالیس شناخته می شود ویا کاندیدا تروپیکالیس با عدم جذب کاذب Melizitose به عنوان کاندیدا آلبیکنس شناسائی می‌شود مگر آن که برای تشخیص نهائی این دو از تولید لوله زایا و کلامیدوسپور استفاده شود.[۳۹]

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که استفاده از کیت تجاری API 20C AUX در تشخیص نهائی گونه‌های مختلف کاندیدا کاملا ضروری باشد. لازم به ذکر است که استفاده از محیط کروم آگار کاندیدا تنها همراه با سایر تستها مثل تست تولید لوله زایا و ایجاد کلامیدوسپور در محیط کورن میل آگار – توئین ۸۰ می‌تواند روش مفیدی برای تشخیص گونه‌های کاندیدا باشد. بنابر این تشخیص نهایی و قطعی گونه‌های کاندیدا فقط بر اساس ویژگیهای فنوتیپی مختلف ممکن بوده و استفاده از یک تست به تنهائی برای این منظور کافی نمی‌باشد.

سپاسگزاری: از خانمها خوش‌قدم امیدی، لیلا حسین‌پور و شیرین جعفریان و کلیه بیمارانی که در اجرای این پژوهش ما را یاری نمودند صمیمانه قدردانی و سپاسگزاری می‌گردد. این مقاله نتیجه پایان‌نامه تحقیقاتی مصوب دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران به شماره قرارداد ۲۴۰/۷۶۹۴ مورخ ۱۳۸۲/۱۲/۲۵ می‌باشد.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-03]

References

1. Fidel PL Jr, Vazquez JA, Sobel JD. Candida glabrata: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to C. albicans. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 80-96.
2. Odds FC. Ecology and Epidemiology of Candidiasis. In: Candida and Candidosis. University Park Press, Baltimore, Md: 1998; p. 89.
3. Beck-Sague CM, Jarvis TR. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States. *J Infect Dis* 1993; 167: 1247-51.
4. Pfaller MA. Epidemiology of candidiasis. *J Hosp Infect* 1995; 30: 329-38.
5. Gauzit R, Cohen Y, Dupont H, Hennequin C, Montravers P, Timsit JF, et al. Infections by Candida sp. in intensive care. Survey of French practices. *Press Med* 2003; 32: 440-9.
6. Carrasco L, Ramos M, Galisteo R, Pisa D, Fresno M, Gonzalez ME. Isolation of Candida famata from a patient with acute zonal occult outer retinopathy. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 635-40.
7. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Fluit AC, Verhoef J, Sader HS. International surveillance of blood stream infections due to Candida species in the European SENTRY Program: species distribution and antifungal susceptibility including the investigational triazole and echinocandin agents. SENTRY Participant Group (Europe). *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; 35: 19-25.
8. Krcmery V, Barnes AJ. Non-albicans Candida spp. causing fungaemia: pathogenicity and antifungal resistance. *J Hosp Infect* 2002; 50: 243-60.
9. Merz WG, Karp JE, Schron D, Saral R. Increased incidence of fungemia caused by Candida krusei. *J Clin Microbiol* 1986; 24: 581-4.
10. Safdar A, Perlin DS, Armstrong D. Hematogenous infections due to Candida parapsilosis: changing trends in fungemic patients at a comprehensive cancer center during the last four decades. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 44: 11-6.
11. Safdar A, Armstrong D. Infectious morbidity in critically ill patients with cancer. *Crit Care Clin* 2001; 17: 531-70.
12. Rex JH, Rinaldi MG, Pfaller MA. Resistance of Candida species to fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 1-8.
13. Rex JH, Pfaller MA, Barry AL, Nelson PW. Antifungal susceptibility testing of isolates from a randomized, multicenter trial of fluconasole versus amphotericin B for treatment of non-neutropenic patients with Candidemia. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 39: 40-4.
14. Tan GL, Peterson EM. CHROM agar Candida medium for direct susceptibility testing of yeast from blood cultures. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 1727-31.
15. Horvath LL, Hospenthal DR, Murray CK, Dooley DP. Direct isolation of Candida SPP. from blood cultures on the chromogenic medium CHROMagar candida. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 2629-32.
16. Richardson MD, Warnock DW. Fungal infection, Diagnosis and Treatment. 3 ed. UK: Blackwell Publishing: 2003.
17. Coleman DC, Rinaldi MG, Haynes KA, Rex JH, Summerbell RC, Anaissie EJ, et al. Importance of Candida species other than Candida albicans as opportunistic pathogens. *Med Mycol* 1998; 36: 56-65.
18. Jabra-Rizk MA, Baqui AA, Kelley JA, Falkles WA, Mez WG, and Meiller TF. I Identification of Candida dubliniensis in a prospective study of patients in the United States. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 321-6.
19. Moran GP, Sanglard D, Donnelly SM, Shanley DB, Sullivan DJ, Coleman DC. Identification and expression of multidrug transporters responsible for fluconazole resistance in Candida dubliniensis. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 1819-30.
20. Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Rice C, Tendolkar S, Hollis RJ, et al. Caspofungin activity against clinical isolates of fluconazole-resistant Candida. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 5729-31.
21. Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN. In vitro activities of caspofungin compared with those of fluconazole and itraconazole against 3,959 clinical isolates of Candida spp., including 157 fluconazole-resistant isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 1068-71.

۲۲. امامی مسعود، زینی فریده. بررسی و مقایسه روشهای نمونه برداری با سوآبهای پنبه ای و اسفنجی در جدا کردن قارچهای محوطه واژن. مجله دانشکده داروسازی، شماره ٦، ١٣٥٤.

۲۳. زینی فریده. اونیکومایکوزیس حاصل از قارچهای مخمری و شبه مخمری. مجله بهداشت ایران ١٣٦٥; سال ١٥، صفحات ١ تا ٤.

٢٤. زینی فریده، چعباویزاده جواهر. جستجوی عفونتهای قارچی در ادرار. مجله بهداشت ایران، سال ٢٢، ١٣٧٢.

۲۵. مصطفی یحیی پور. بررسی کاندیدیازیس جلدی-مخاطی مزمن در کودکان مبتلا به نقص ایمنی سلولی. پایان نامه کارشناسی ارشد، قارچ شناسی پزشکی، تهران: دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ١٣٦٩.

٢٦. مرتضوی رفعت. بررسی میزان ابتلا به کاندیدیازیس واژن و رابطه آن با عوامل اجتماعی و اقتصادی در مراجعین به بخش دولتی و خصوصی در تهران. پایان نامه کارشناسی ارشد، تهران: قارچ شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ١٣٦٦.

۲۷. شیدفر محمد رضا. اونیکومایکوزیس در بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه قارچ شناسی دانشکده بهداشت. پایان نامه دکترای تخصصی قارچ شناسی پزشکی، تهران: دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ١٣٧١.

۲۸. حیدریان معصومه. بررسی درصد و علل بروز واژینیت کاندیدائی عود کننده در بیماران مراجعه کننده به درمانگاه زنان ولی عصر و آزمایشگاه قارچ شناسی دانشکده بهداشت. پایان نامه کارشناسی ارشد، قارچ شناسی پزشکی، تهران: دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ١٣٧٤.

29. Correia A, Sampaio P, Almeida J, Pais C. Study of molecular epidemiology of candidiasis in portugal by PCR

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-03]

fingerprinting of Candida clinical isolates. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 5899-903.
30. Wang JL, Chang SC, Hsueh PR, Chen YC. Species distribution and fluconazole susceptibility of Candida clinical isolates in a medical center in 2002. *J Microbiol Immunol Infect* 2004; 37: 236-41.
31. Capoor MR, Nair D, Deb M, Verma PK, Srivastava L, Aggarwal P. Emergence of non-albicans Candida species and antifungal resistance in a tertiary care hospital. *Jpn J Infect Dis* 2005; 58: 344-8.
32. Lopes Consolaro ME, Aline Albertoni T, Shizue Yoshida C, Mazucheli J, Peralta RM, Estivalet Svidzinski TI. Correlation of Candida species and symptoms among patients with vulvovaginal candidiasis in Maringa, Parana, Brazil. *Rev Iberoam Micol* 2004; 21: 202-5.
33. Pfaller MA, Houston A, Coffmann S. Application of CHROMagar Candida for rapid screening of clinical specimens for Candida albicans, Candida tropicalis, Candida krusei, and Candida (Torulopsis) glabrata. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 58-61.
34. Bernal S, Martin Mazuelos E, Garcia M, Aller AI, Martinez MA, Gutierrez MJ. Evaluation of CHROMagar Candida medium for the isolation and presumptive identification of species of Candida of clinical importance. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1996; 24: 201-4.
35. Odds FC, Bernaerts R. CHROMagar candida a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important Candida species. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1923-9.
36. Kohler Ann, Cheongchun K, Elizabet TS. Simple, reliable, and cost-effective yeast identification Schme for the clinical laboratory. *J Clin Microbio l* 1999; 37: 422-26.
37. Perry JL, Miller GR.. Umbelliferyl-labeled galactosaminide as an aid in identification of Candida albicans. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 2424-5.
38. Reiss E, Tanaka K, Bruker G, Chazalet V, Coleman D, Debeaupuis JP, et al. Molecular diagnostic and epidemiology of fungal infections. *Med Mycol* 1998; 36: 249-57.
39. Buesching WJ, Kurek K, Roberts GD. Evaluation of the modified API 20C system for identification of clinically important yeasts. *J Clin Microbiol* 1979; 9: 565-69.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-03]

Tehran University Medical Journal; Vol. 64, No. 12, Mar 2007: 38-47

Identification and study of non-albicans candida species which isolated from clinical materials of patients with candidiasis

Afsarian MH
Zaini F*
Kordbacheh P
Mahmoudi M.
Rezaii S.
Safara M

Department of Medical Mycology & Parasitology, School of Public Health Medical Sciences/ University of Tehran, Iran

Abstract

***Background*:** I Infections due to Candida spp. have increased dramatically in recent years through a rising number of predisposing factors and immunocompromised hosts. Although Candida albicans is the most prevalent and important causative agent of Candida infections, the importance of C. parapsilosis, C. tropicalis, C. krusei, C. glabrata, C. guilliermondii and C. kefyr have increased significantly as they tend to be more resistant to antifungal agents. Therefore, it is critical that infecting Candida spp. be identified and considered. Furthermore, clinical laboratories may need to expand their yeast identification capabilities in order to facilitate rapid identification of clinical yeast isolates.

***Methods*:** In a discroptive – analytic study, the patients suspected of candidiasis were sampled. Direct examination and culture was carried out for all specimens. The isolated yeast colonies were then identified using various different tests such as culture on corn mealagar tween-80, CHROMagar Candida, and assimilation test by API 20C AUX kit.

Results: In the present study, 304 yeast colonies were isolated from referral patients to mycology laboratory of 304 isolated colonies 204 were identified as *C. albicans* and 100 were identified as non albicans candida as follow 35% *C. parapsilosis*, 32% *C. tropicalis*, 8% *C. glabrata*, 8% *C. kefyer*, 6% *C. krusei*, 3% *C. guilliermondii*, 3% *C. famata*, 3% *C. lusitaniae*, 1% *C. zeilanoides* and 1% *C. homicola*. *C. parapsilosis* was the most frequent species. The result showed that clinical specimens were obtained from various infected sites of body and nail samples (59 cases) were found to be the most frequent among those specimens.

Conclusion: In conclusion, our results suggest that no single phenotypic test has proven to be highly effective for definitive identification. Moreover since these organisms can vary greatly in their susceptibility to the current antifungal agent and causing significant patient management problem therefore evaluation of susceptibility of these isolates against antifungal drugs is need to be investigated.

Keywords: Non – albicans candida, candidiasis, opportunistic infection.

*Corresponding author
Department of Medical Mycology and Parasitology, Poursina St., Tehran.
Tel: +98-21-88951583
Email: fzaini@sina.tums.ac.ir

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-03]