

# نحوه انتقال و حیات گونه‌های مالاسزیا در محیط و عفونتهای سیستمیک

\*سیدامیر یزدان پرست

استادیار و متخصص قارچ‌شناسی پزشکی، گروه انگل‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

## چکیده

هدف: گونه‌های مالاسزیا گاهی اوقات به عنوان عواملی کشنده همچون عفونت خون در نوزادان نارس (عفونت سیستمیک) تحت درمان با امولسیون چربی گزارش شده‌اند. هدف این مطالعه پاسخ به این تجمع سریع قارچی در سطح پوست نوزادان است.

مواد و روشها: به این منظور سوسپانسیونی از مالاسزیا سیمپودیالیس<sup>(۱)</sup>، مالاسزیا گلوبوز<sup>(۲)</sup> و مالاسزیا رستریکتا<sup>(۳)</sup> در مقیاس (میلی‌لیتر/<sup>۴</sup> ۱۰ میکروارگانیسم) تهیه شد.

(۹) PH ۷/۹، TritonX-۱۰۰، [v/v] PBS with ۰/۰۵٪. این سوسپانسیونها در سطح مناطقی از قبل اندازه‌گیری شده از جنس چوب و فلز، کتان یا سطوح پلاستیکی ریخته و اجازه داده شد تا خشک شوند. سپس با روش مالشی ویلیامسون و کلیگمن<sup>۱</sup> یا با روش قرار دادن کتان یا پلاستیک در محلول شستشو و بهم زدن محلول درون حلقة به مدت ۱ دقیقه، نمونه‌ها در فواصل منظم و تعیین شده جمع‌آوری شدند. سپس رقت‌های مختلف تهیه شد و روی پلیت آگار حاوی شیرکشت داده شد. لیمینگ-نوتمن<sup>۲</sup> برای تعیین مقدار مالاسزیای منتقل شده بین افراد، مقدار معین سوسپانسیون گونه‌های مالاسزیا روی کف دست افراد داوطلب ریخته و اجازه داده شد تا خشک شود. سپس داوطلب اول با داوطلب دوم دست می‌دهد و مقادیر انتقال مالاسزیا به دست داوطلب دوم با روش ویلیامسون و کلیگمن اندازه‌گیری شد. حیات مالاسزیا گلوبوز و مالاسزیا سیمپودیالیس روی سطوح چوبی، کتانی و پلاستیکی شبیه بهم بود و تا ۷۲ ساعت پس از تلقیح روی این سطوح، قابل برداشت بودند؛ در حالی که روی سطوح فلزی فقط تا ۴۸ ساعت حیات داشته و قابل برداشت بودند.

برای مالاسزیا رستریکتا الگو کاملاً تفاوت داشت و عوامل قارچی حداقل تا ۴ ساعت بعد از تلقیح روی سطح مختلف قابل برداشت بود. همچنین انتقال میکروارگانیسم از دستی به دستی دیگر، در اکثر آزمایشات با موفقیت همراه بود و مقیاس آن از ۱۴ تا ۱/۲ درصد مقدار تلقیحی بود.

نتیجه‌گیری: در نتیجه چنین برداشت می‌شود که سطوح مواد مطالعه شده تقریباً شبیه موادی است که در محیط‌های بیمارستانی وجود دارد و این مواد می‌توانند با میکروارگانیسم، آلدده شده و عامل بیماری را برای مدتی روی خود حمل و حفظ نموده و سپس به پوست نوزادان منتقل و باعث عفونت در آنان گردند. این نتایج برای پی بردن به نحوه تجمع عوامل قارچی در سطح پوست و نیز بررسی اپیدمیولوژی عفونتهای قارچی نوزادان بسیار حائز اهمیت است.

کلید واژگان: مالاسزیا فورفور، مالاسزیا سیمپودیالیس، مالاسزیا گلوبوز، مالاسزیا رستریکتا، مالاسزیا پکی درماتیس

## ۱- مقدمه

مالاسزیا فورفور، قارچی مخمری و لیپوفیل است که به صورت ساپروفیت فلور نرمال پوست بوده و آن را از پوست سینه، پشت و بازوهای بیش از ۹۰ درصد افراد سالم جدا کرده‌اند و عفونتی

شیوع عفونت در آب و هوای گرم بیشتر از شیوع آن در نواحی معتمد است. بیماری به ثرا و شغل بستگی چندانی ندارد و بیشتر در مردان جوان دیده می‌شود [۱] که شاید به علت بالا بودن میزان دهیدروستیوترون در پوست آنان باشد که به افزایش ترشح سوم منجر می‌شود. سروتاپ B و C بیشتر در قسمت صورت و پوست سر یافت می‌شود؛ در حالی که سروتاپ A بیشتر از سینه و قسمت پشت گزارش شده است [۷].

در مطالعه‌ای که سیلوا<sup>۱۴</sup> و همکارانش انجام دادند، بیشترین تجمع عامل قارچی در بین نوزادان تا ۱۸ ماه  $\frac{۲۳}{۳}$  درصد) و ۱۱ تا ۱۵ سال (۲۶٪ درصد) بود [۸] و در مطالعه مارکون پاول<sup>۱۵</sup> بهترین سن برای تجمع عامل قارچی ۱۵ سالگی گزارش شده است [۹]. کائینگهام<sup>۱۶</sup> و همکارانش، سویه مالاسزیا فورفور را براساس خصوصیات کلینیکی در محیط جامد و نیز نحوه رشد میکرووارگانیسم در محیط‌های مایع حاوی صفرای گوساله، گلیسروول، گلیسروول مونو استثارات، توئین ۶۰ و چربی کامل شیر گاو در یکی از سه گروه زیر طبقه‌بندی نمود: گروه A شامل سلولهای مخمری گرد هستند که کلونی آنها بزرگ (قطر حدود ۵ میلی متر)، کرم رنگ، صاف بر جسته و دندانه‌دار می‌باشند در حالی که مخمرهای گروه B نیز گرد بوده‌اند ولی کلونی آنها کوچکتر است (حدود ۲ تا ۳ میلی متر قطر) مسطح با مرکزی دکمه مانند، ظرفیت با حاشیه‌ای مضرس دیده می‌شوند و خلاصه مخمرهای گروه C کشیده و بیضی شکل بوده کلونی آنها کوچک و گنبدی شکل می‌باشد [۱۰] گونه‌های مالاسزیا به غیر از لایه استراتوم کورنیوم و فولیکول‌های مو می‌توانند ایجاد عفونتهای دیگر از جمله پریتونیت - ماستیت، سینوزیت و نیز ایجاد عفونتهای سیستمیک و کشنده بنتایند. در تحقیقات انجام شده مالاسزیا فورفور و مالاسزیا پکی درماتیس به عنوان عامل عفونت خون در نوزادان نارس تحت درمان با امولسیون چربی از طریق کاتتر<sup>۱۷</sup> شناخته شده‌اند [۱۱] که بعد از مدت کوتاهی که از شروع درمان گذشت نوزاد گرفتار التهاب و عفونت عروق ریوی<sup>۱۸</sup> می‌شود و بدنبال آن ذات الیه<sup>۱۹</sup> تب و ترومبو سیتوپنی از یافته‌های بارز این عفونتهای سیستمیک است و مالاسزیا پاکی درماتیس از مایع بافتی گوش، چشم، واژن، پوست و خون بیماران جدا شده است. و اگر چه در انسان و حیوان به صورت فلور طبیعی نیز یافت می‌شود؛ ولی در نوزادانی که با لیپید تزریقی

پتیزیازس و رسیکالر<sup>۲۰</sup> گویند [۱] مالاسزیا پکی درماتیس<sup>۲۱</sup> بیشتر از حیوانات جداده است تا از انسان، همچنین مالاسزیا فورفور [۲۲] می‌تواند به صورت میسلیال<sup>۲۳</sup> یا به نحو مخمری رشد نماید.

از ابتدای کشف مالاسزیا فورفور در سال ۱۸۴۶ به وسیله اشتد<sup>۲۴</sup> ابهامات زیادی در مورد نامگذاری و طبقه‌بندی آن وجود داشته است. به خاطر مشکلاتی که در رابطه با کشت و جدا کردن قارچ عامل این بیماری وجود داشت، نامگذاری آن براساس مطالعه مورفو‌لوزی در تراشه‌های پوست انجام شده است. اما سرانجام با افزودن فاکتورهای رشد، نظری چربی آزاد به محیط‌های کشت، این قارچ را کشت دادند و متوجه شدند که علاوه بر افراد بیمار، آن را می‌توان از پوست بعضی افراد سالم نیز جدا نمود. در محیط کشت، این قارچ سلولهای مخمری را ایجاد می‌کند که شبیه<sup>۲۵</sup> (عامل شوره سر) بیضی یا بطی شکل است؛ ولی چون اغلب سلولهای آن گرد می‌باشند، قارچ عامل بیماری را<sup>۲۶</sup> نامیدند. امروزه نام ژنریک Malassezia جایگزین pityrosporum شده و طبق قوانین مربوطه این قارچ Malassezia furfur نامیده می‌شود. امروزه با روشهای مولکولی پیشرفته نظری Karyotyping و یا واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) [۴ و ۱۵] توانسته‌اند گونه‌های جدید این قارچ را شناسایی کنند.

جنس مالاسزیا در حال حاضر، ۷ گونه مهم و قابل تشخیص دارند که عبارتند از مالاسزیا فورفور<sup>۲۷</sup>، مالاسزیا گلوبوزا<sup>۲۸</sup>، (سرتاپ B)، مالاسزیا پکی درماتیس<sup>۲۹</sup>، مالاسزیا اوپتوسا<sup>۳۰</sup>، مالاسزیا سیمپودیالیس (سرتاپ A)<sup>۳۱</sup>، مالاسزیا اسلوفیائی<sup>۳۲</sup>، مالاسزیا رستریکتا (سرتاپ C)<sup>۳۳</sup>.

مالاسزیا فورفور به صورت سaprofot فلور نرمal پوست است و آن را از قسمتهایی از بدن که غدد سپاهی ترشح بیشتری دارند، مثل سینه، صورت پوست سر، تن و بازوها، جدا کرده‌اند؛ ولی به مقدار کمتر از نواحی مثل دستها و پاها جدا شده است. فرم کروی مالاسزیا بیشتر از روی پوست تن و فرم بیضی و کشیده آن بیشتر از روی پوست سر و صورت جدا شده است هرچند که به اعتقاد بسیاری از قارچ شناسان، مالاسزیا با ایجاد میسلیوم به حالت کاملاً بیماریزا تبدیل می‌شود [۶].

- 1. Pityriasis versicolor
- 2. Malassezia pachydermatis
- 3. Mycelial
- 4. Eichstedt
- 5. Pityrosporum ovale
- 6. Pityrosporum orbiculare
- 7. Malassezia furfur
- 8. Malassezia globosa
- 9. Malassezia Pachydermatis
- 10. Malassezia obtusa
- 11. Malassezia sympodialis
- 12. Malassezia slooffiae
- 13. restricta

در خصوص درمان مؤثرتر این بیماریها باشد.

## ۲- مواد و روشها

### الف- وسایل و مواد مورد استفاده

انتقال و زیست مالاسزیا روی موادی چون چوب، فلز، حلقه، کف دست، کتان و مواد پلاستیکی با روش‌هایی چون سواب WILLIAMSON & KLIGMAN (SWABBING) و روش [۱] اندازه‌گیری شد. روی این مواد به مقادیر مشخص مالاسزیا فورفور سروتاپ A,B,C تلقیح شد و مراحل زیست وحیات میکرو ارگانیسم در مدت زمانهای ۲، ۴، ۶، ۸، ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت و در نهایت یک هفته مواد امتحان واقع شد. سپس نمونه‌ها در درجه سانتیگراد انکوبه و نتایج انتقال و حیات میکرو ارگانیسم‌های جدا شده روی مواد مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

### ب- استرینهای مالاسزیا فورفور

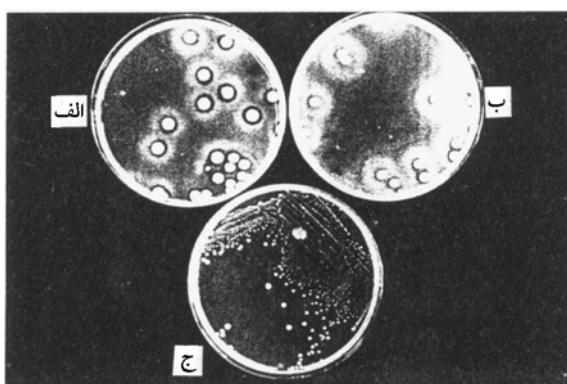
در این طرح پژوهشی از ۳ استرین مالاسزیا فورفور استفاده شد.

مالاسزیا فورفور سروتاپ A - ۱۳

مالاسزیا فورفور سروتاپ B - ۲۱/۳

مالاسزیا فورفور سروتاپ C - ۴۲/۲

به منظور حفاظت از مخمرها تمامی این استرین‌ها دوبار روی پلیت آگار مالاسزیا فورفور کشت داده شدند.



شکل ۱ کلنی مربوط به مالاسزیا فورفور سروتاپ الف، ب، ج

### ج- تهیه آگار مالاسزیا فورفور برای کشت<sup>۷</sup>

به منظور تهیه آگار مالاسزیا فورفور از روش لیمنگ و نوتمن<sup>۸</sup> در

سال ۱۹۸۷ [۱۳] استفاده شد.

7. Malassezia furfur Agar  
8. Leeming and Notman

تعذیب می‌شوند از طریق کاتتر وریدی باعث ایجاد سندرم تبزا<sup>۱</sup> می‌شود. برای تشخیص بیماریهای ناشی از مالاسزیا، مشاهده مخمر و یا حتی رشته‌های میسلیوم در زیر میکروسکوپ کافی نبوده و نیاز به شمارش تعداد مخمرها در نمونه می‌باشد<sup>۲</sup> برای مثال مشخص شده است که بیشترین تعداد مالاسزیا در سطح یک میلیمتر مربع اندامهای فوقانی بالغین طبیعی، در حدود  $10 \times 10$  واحد ایجادکننده کلونی CFU<sup>۳</sup> می‌باشد در این زمینه، مشاهده بیش از ۸۰ مخمر در هر شان با درشت‌نمایی بزرگ نمونه‌های تهیه شده از پوسته‌های تن، باید ما را به فکر احتمال عفونت ناشی از این قارچ بیندازد. برای درمان بهتر است از درمانهای موضعی استفاده شود چون امن تر بنظر می‌رسند و عوارض جانبی کمتری دارند؛ اما چون با عود بیماری مواجه هستیم امروزه بیشتر پزشکان از داروهای ضد قارچی سیستمیک برای درمان استفاده می‌کنند. تجویز سیستمیک کتونازول در درمان پیتریازیس ورسیکالر، درماتیت سبوروئیک و فولیکولیتهای مالاسزیایی موفق بوده و احتمال عود بیماری را کاهش می‌دهد ولی درمان طولانی مدت با آن بهجهت مسمومیت کبدی<sup>۴</sup> پیشنهاد نمی‌شود و بهتر است از پمادهای موضعی استفاده شود.

می‌توان برای عوارض جانبی کمتر به جای کتونازول<sup>۵</sup> از ایتراکونازول<sup>۶</sup> در درمان سیستمیک تینه آرسیکالر استفاده نمود. راه معالجه دیگر استفاده موضعی از گریزوفولوین و تریسافین است. برای درمان عفونتهای خونی و سیستمیک مالاسزیا بهترین درمان، حذف و بیرون کشیدن کاتتر درون وریدی و استفاده از آمفوتیریسین B است [۱۲].

از آنجا که امروزه در سطح مراکز نگهداری کودکان و نوزادان و بخصوص در بیمارستانها عفونتهای سیستمیک از مالاسزیا در سطح جهانی گزارش شده و نیز استفاده فراوان از کاتتر داخل وریدی به مدت طولانی و درمان با امولسیونهای چربی و به دلیل بسترهای شدن طولانی مدت نوزاد و نیز دست به دست شدن کودک که به تجمع سریع قارچ در بوست نوزاد کمک می‌کند، هدف این طرح و تحقیق برآن بنا شده است تا اولاً میزان انتقال مالاسزیا از فردی به فرد دیگر و نیز میزان انتشار به محیط اطراف بررسی شود؛ ثانیاً مدت زمانی که میکروارگانیسم می‌تواند حیات داشته باشد و در محیط زنده بماند تعیین شود. این اطلاعات می‌توانند نقش بسزایی در فهم ما از اپیدمیولوژی عفونتهای سیستمیک در نوزادان داشته باشد و کمک مؤثری در اندیشیدن

1. Febrile
2. Colony count
3. Colony forming units
4. Hepato toxicity
5. Ketoconazole
6. Itrakonazole

### کشت می‌دهیم.

#### ۲- نمونه‌گیری به روش سوپ<sup>۷</sup>

سطوح مورد نظر را با استفاده از یک سوپ پنبه‌ای استریل مرطوب، نمونه برداری نموده و سلولهای مخمری را در ۰/۹ میلی لیتر از محلول رقیق کننده تهیه شده قرار داده و یک دقیقه به هم می‌زنیم. شمارش سلولهای مخمری بدین صورت انجام می‌شود که ۰/۱ میلی لیتر از رقت‌های مختلف نمونه‌ها<sup>۸</sup> را روی محیط‌های کشت مالاسزیا قرار می‌دهیم.

#### ۳- طرز نمونه‌گیری از کتان و پلاستیک<sup>۹</sup>

به منظور استریل نمودن کتان و پلاستیک، آنها را ابتدا در ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو نموده سپس آنها را در داخل ظرف پتی قرار داده و در مرکز آنها ۱۰۰ میکرولیتر از محلول نمونه سلول مخمری قرار داده و اجازه می‌دهیم خشک شوند، زمان را یادداشت کرده و در درجه حرارت اتاق انکوبه می‌کنیم. بعد از گذشت زمان مشخص، قطعه کتان یا پلاستیک را درون محلول شستشو قرار داده خوب به هم می‌زنیم و از رقت‌های مختلف بروی آگار مالاسزیا کشت می‌دهیم. پس از گذشت ۲ هفته از انکوباسیون در ۳۴ درجه سانتیگراد، پلیت‌های کشت را از نظر دانسته در مخمرها بررسی می‌کنیم.

### ح- طرح عملی برای مطالعه انتقال و زیست مالاسزیا

#### ۱- طرح اول: زیست مالاسزیا بر روی نیمکتهای چوبی

سوپاپسیونی از مالاسزیا (سروتایپ A, B, C) در محلول شستشو به مقدار ۱۰ میکروارگانیسم در هر میلی لیتر تهیه و روی سطح نیمکت چوبی با نوار چسب اتوکلاو ۱۶ مربع مساوی ۲/۵ cm × ۲/۵ cm ترسیم شد و در داخل هر مربع مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوپاپسیون مخمری قرار داده شد. پس از خشک شدن و یادداشت زمان مربوطه، انجام آزمایش طرح اول را آغاز می‌کنیم. زمان مشخص شده عبارت بود از ۲، ۴، ۶، ۸، ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت و یک هفته. پس از گذشت هریک از زمانهای فوق،

#### د- تهیه محلول شستشو<sup>۱</sup>

برای تهیه یک لیتر محلول شستشو، محلول A شامل (گرم ۱/۱۷ و ۲H<sub>2</sub>O + آب مقطر ۱۰۰ میلی لیتر به محلول B شامل (گرم ۱۰/۶ و Na<sub>2</sub>Hpo<sub>4</sub>) + آب مقطر ۱۰۰۰ میلی لیتر اضافه شد و غلظت PH برابر ۷/۹ می‌باشد (تعییناً ۸۵ میلی لیتر از محلول A به ۹۱۵ میلی لیتر محلول B اضافه می‌شود).

#### ه- تهیه محلول رقیق کننده<sup>۲</sup>

نصف محلول کامل شستشو به عنوان رقیق کننده استفاده شد به این صورت که محلول شستشو به روش بالا تهیه شده سپس به نسبت ۱:۱ با آب مقطر رقیق می‌کنیم. این محلول رقیق شده به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۲۱ درجه سانتیگراد اتوکلاو شد.

#### و- شمارش سلولی با هموسیتو متر<sup>۳</sup>

برای تلقیح نمونه، مقادیری از کلونی از داخل پلیت برداشته و در ۱ میلی لیتر محلول شستشو خوب به هم می‌زنیم سپس با استفاده از هموسیتو متر، تعداد سلولهای مخمری در داخل محلول شمارش می‌شود.

#### ز- روش‌های نمونه‌گیری<sup>۴</sup>

##### ۱- روش نمونه‌گیری ویلیامسون و کلیگمن برای مالاسزیا

یک حلقه فلزی استریل را روی یک سطح مشخص از چوب، فلز یا کف دست قرار داده و باید مطمئن بود که سطح مربوطه مسطح باشد و برای هریک به طور جداگانه باید از حلقه مربوط به خود استفاده شود. یک میلی لیتر از محلول شستشو را داخل حلقه ریخته و سپس به مدت ۱ دقیقه با میله مخصوص (Teflon rod) و استریل به طور مالشی به هم می‌زنیم. سپس با پیپت استریل محلول مربوطه را از داخل حلقه جمع آوری نموده و در لوله واسرمن<sup>۵</sup> می‌ریزیم. دوباره یک میلی لیتر محلول شستشو در داخل حلقه ریخته و برای یک دقیقه عمل فوق را تکرار می‌کنیم و محلول را جمع آوری نموده و در لوله واسرمن اولی می‌ریزیم. این نمونه<sup>۶</sup> خالص است. و سپس رقت‌های ۰، ۱۰<sup>-۱</sup> و ۱۰<sup>-۲</sup> از آن تهیه نموده و به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت بروی آگار مالاسزیا

1. Wash fluid

2. Diluent

3. Cell count by haemocytometer

4. Sampling methods

5. Wasserman

6. neat

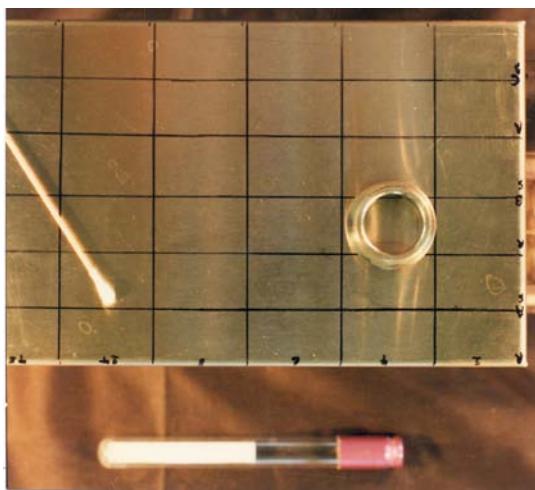
تایپ C, B, A نمونه‌گیری، کشت و شمارش می‌شود و برای صحبت نتایج این آزمایش با ۳ داوطلب مختلف و ۳ مرتبه به طور مجزا روی هر سروتایپ انجام شد.

### ۳- طرح سوم: زیست مالاسزیا روی حلقه طلا<sup>۱</sup>

در این طرح، وجود و حیات مالاسزیا روی حلقه طلا که بر دست افراد مختلف بود مطالعه شد. حلقه‌های طلا در ۵ میلی لیتر محلول شستشو برای مدت یک دقیقه، خوب چرخانده شدند و سپس رقت‌های مختلف تهیه و روی آگار مالاسزیا کشت داده شد.

### ۴- طرح چهارم: زیست مالاسزیا روی فولاد و فلزات<sup>۲</sup>

روش اجرا شده، کاملاً شبیه طرح اول است.

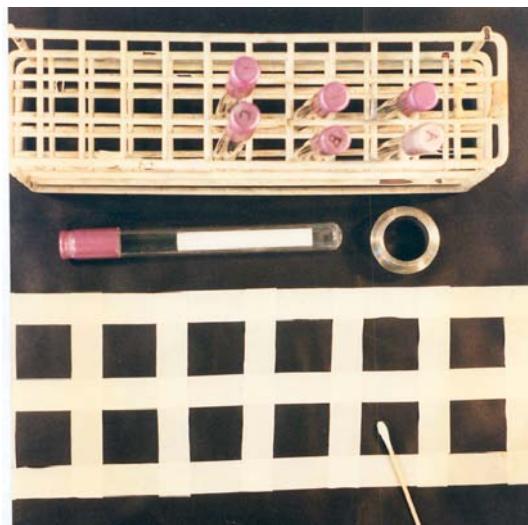


شکل ۳ زیست مالاسزیا روی فلزات به‌وسیله روش ویلیامسون و کلیگمن

### ۵- طرح پنجم و ششم: زیست مالاسزیا روی کتان و پلاستیک<sup>۳</sup>

سوسپانسیونی از مالاسزیا (<sup>۴</sup> ۱۰ میکروارگانیسم / میلی لیتر) در محلول شستشو تهیه نموده و مربع‌هایی از پلاستیک و کتان به ابعاد  $2/5 \text{ cm} \times 2/5 \text{ cm}$  (به‌طور استریل) و آنها را در داخل ظرف پتی قرار می‌دهیم. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از

مالاسزیا را از مربع مربوطه با روشهای نمونه‌برداری گفته شده، برداشت می‌کنیم و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر را روی محیط آگار مالاسزیا کشت می‌دهیم. (رقت‌های  $10^{-3}$  و  $10^{-1}$  و neat) شایان ذکر است هر آزمایش، برای هر سروتایپ دوبار تکرار شد.



شکل ۲ زیست مالاسزیا روی نیمکت چوبی با روش ویلیامسون و کلیگمن و روش سوآپ

### ۲- طرح دوم: انتقال مالاسزیا از یک دست به دست دیگر<sup>۱</sup>

سوسپانسیونی از سلولهای مخمری مالاسزیا سروتایپ A در محلول شستشو (<sup>۴</sup> ۱۰ میکروارگانیسم / میلی لیتر) تهیه شد. کف دست افراد داوطلب ابتدا با صابون آنتی سپتیک خوب شسته و سپس خشک شدند و نیز تعداد احتمالی سلولهای مخمری در کف دست این افراد در ابتدا شمارش شد تا اگر به‌طور سaproوفیت حامل این میکرو ارگانیسم هستند، مشخص شود. سپس در کف دست آنان مربعی به ابعاد  $2/5 \text{ cm} \times 2/5 \text{ cm}$  به‌وسیله نوک پیپت پلاستیکی استریل در کف دست داوطلب اول پخش شد، سپس اجازه داده شد تا خشک شود. باید توجه داشت که این دست تا زمان پایان انجام آزمایش هیچ جایی را نباید لمس می‌کرد. سپس داوطلب شماره ۱ با داوطلب شماره ۲ دست می‌دهد و زمان را یادداشت نموده و این مراحل برای داوطلب شماره ۳ هم تکرار می‌شود. سپس به‌وسیله روش ویلیامسون و کلیگمن مالاسزیا سرو

2. Malassezia survival on gold ring

3. Malassezia survival on steel

4. Malassezia survival on cotton and plastic

1. Malassezia – hand – to – hand transmission

کلیگمن و روش سوپ انجام شده، است. برای شمارش مالاسزیا به روش ویلیامسون و کلیگمن باید از فرمول زیر استفاده شود.

$$\text{شمارش مخمرهای مالاسزیا} = \frac{\text{رقت} \times X}{4/909}$$

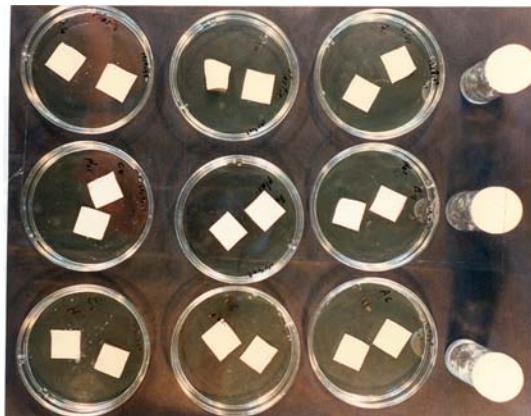
$$x = 4/909 \text{ cm}^2 \text{ و تعداد کلونیها}$$

و برای محاسبه مالاسزیا به روش سوپ از فرمول ذیل استفاده می‌شود.

$$\text{شمارش مخمرهای مالاسزیا} = \frac{\text{رقت} \times X}{10 \times (\text{ محلول شستشو})}$$

این نتایج نشان می‌دهد که در دو ساعت اول شمارش مالاسزیا برای سروتاپ A و B و گاهی سروتاپ C همیشه مثبت است و نیز در ۴ ساعت اول برای سروتاپ A و B کاهش چندانی در شمارش مالاسزیا ملاحظه نمی‌شود. نتایج نشان داد که حیات مالاسزیا فوراً فور سروتاپ A و B روی نیمکت چوبی طولانی‌تر از سروتاپ C است.

سوپانسیون مخمری را در وسط آنها قرار داده و اجازه می‌دهیم خشک شوند. زمان یادداشت شده و بعد از گذشت ۲، ۴، ۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت و یک هفته، مالاسزیا را از سطح آنها نمونه‌برداری می‌نماییم.



شکل ۴: زیست مالاسزیا روی کتان و پلاستیک

### ۳- نتایج

#### ۱- نتایج شمارش مالاسزیا روی نیمکت چوبی

جدول ۱ بیانگر خلاصه‌ای از نتایج که به روش ویلیامسون و

جدول ۱ نتایج رشد مالاسزیا بر روی سطح چوب

روشهای نمونه‌برداری	یک هفته	۷۲(h)	۴۸(h)	۲۴(h)	۸(h)	۶(h)	۴(h)	۲(h)	Total cells inoculum	سروروارهای مالاسزیا
R	۰	۱/۲۱	۱/۸۸	۲/۳۷	۲/۴۴	۲/۸۷	۳/۵۳	۲/۸۵	۴/۳۸	A
S	۰	۰/۳	۱/۱۱	۱/۹۲	۲/۰۷	۲/۷۷	۳/۱	۳/۰۴		
R	۰	۱/۲۱	۱/۵۱	۲/۱۴	۲/۳۲	۲/۸۵	۳/۴۴	۳/۷۱	۴/۳۰	B
S	۰	۰/۷	۹/۰۹	۱/۷۲	۱/۹۱	۲/۲۴	۲/۹۷	۳/۱۸		
R	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱/۰۹	۱/۶۱	۴/۲۲	C
S	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱/۲۱		

(نمونه‌برداری با سوپ) S = Swabbing method و R = Williamson & Kligman

(غلظتها بر حسب  $\log_{10} \text{cfu/cm}^2$  بیان شده است)

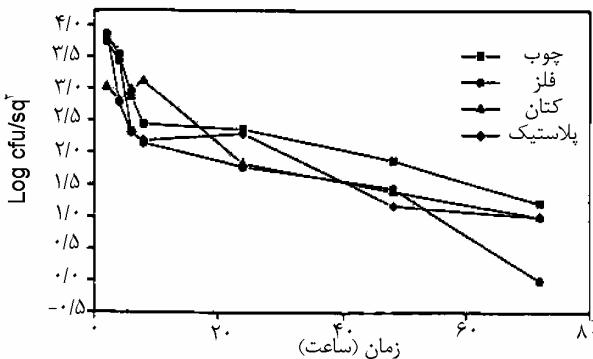
کمترین انتقال برای سروتاپ C (۰/۲۳ درصد) بود و از فرمول ذیل برای شمارش میکروارگانیسم استفاده شد (جدول ۲).

$$\text{شمارش مخمرهای مالاسزیا} = \frac{\text{رقت} \times X}{4/909}$$

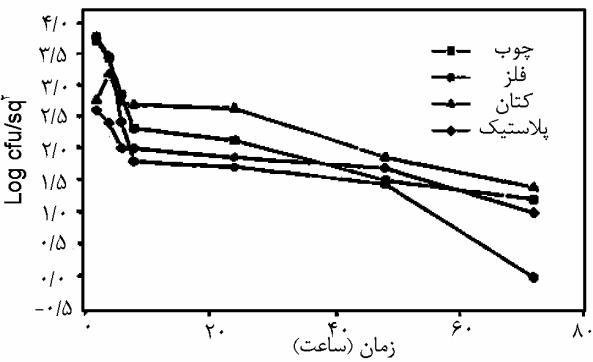
#### ۲- نتایج انتقال مالاسزیا از دستی به دست دیگر

شمارش این انتقال در اکثر آزمایشات، موفقیت‌آمیز بود و نتایج خوبی به دست آمد و در هر سه نوع سروتاپ مالاسزیا اتفاق افتاد. بیشترین میزان انتقال برای سروتاپ B (۱۴/۳۹ درصد) و

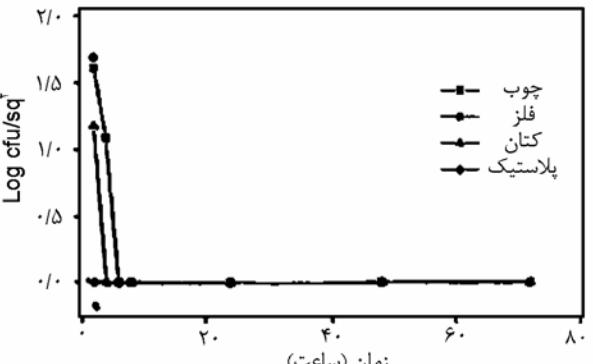
این نتایج در شکل‌های ۵، ۶ و ۷ مشاهده می‌شوند. این نتایج نشان می‌دهد که حیات مالاسزیا سروتاپ A و B طولانی‌تر از سروتاپ C است.



شکل ۵ زیست مالاسزیا فورفور سروتاپ A با توجه به فاکتور زمان با روش ویلیامسون و کلیگمن و روش سوپ روی چوب، فلن، کتان و پلاستیک



شکل ۶ زیست مالاسزیا فورفور سروتاپ B با توجه به فاکتور زمان با روش ویلیامسون و کلیگمن و روش سوپ روی چوب، فلن، کتان و پلاستیک



شکل ۷ زیست مالاسزیا فورفور سروتاپ C با توجه به فاکتور زمان با روش ویلیامسون و کلیگمن و روش سوپ روی چوب، فلن، کتان و پلاستیک

جدول ۲ درصد انتقال مالاسزیا در انتقال دست به دست

درصد	سروراهای مالاسزیا
۱/۳۶-۸/۸۸	A
۱/۶۶-۱۴/۳۹	B
۰/۲۳-۰/۶۹	C

### ۳- نتایج انتقال مالاسزیا از انگشتان به حلقه طلا

شمارش انتقال مالاسزیا از انگشتان به حلقه طلا مقیاسی بین ۳/۳۳ تا ۳۰/۹۳ درصد بود که برای نمونه‌گیری به روش سوپ از فرمول زیر استفاده شد (جدول ۳).

$$\text{شمارش مالاسزیا} = \frac{\text{رقت} \times X}{(\text{ محلول شستشو})^5}$$

و برای حلقه طلا این محاسبه انجام شد:

$$\text{رقت} \times 10 \times X = \text{شمارش مالاسزیا در حلقه طلا}$$

جدول ۳ درصد انتقال مالاسزیا از انگشت به حلقه طلا

درصد	حلقه طلا
۲۳،۳۳	۱
۳۰،۹۳	۲
۱۰،۶۶	۳
۳،۳۳	۴
۱۲،۶۳	۵
۱۴،۱۴	۶

### ۴- نتایج شمارش مالاسزیا روی فلزات

(شکل‌های ۵، ۶، ۷)

### ۵ و ۶- نتایج شمارش مالاسزیا روی کتان و پلاستیک (شکل‌های ۵، ۶، ۷)

$$\text{شمارش مالاسزیا در کتان و پلاستیک} = \frac{\text{رقت} \times X}{(\text{ محلول شستشو})^2}$$

### ۷- مقایسه زیست مالاسزیا سروتاپ A، B و C روی چوب، فلن، کتان و پلاستیک با توجه به فاکتور زمان

به وسیله روش ویلیامسون و کلیگمن و روش سوپ

در این مطالعه نتایج به دست آمده با روش ویلیامسون و کلیگمن بهتر ارزیابی شد.

همت گمارده است که نتایج آن در چهارمین کنگره قارچ شناسان پژوهشکی اروپا در گلاسکوی اسکاتلند مطرح شد و مورد استقبال متخصصان امر قرار گرفت.

نتایج این تحقیق به خوبی نشان داد که مالاسزیا فورفور سروتایپ A و B قادرند به راحتی در روی سطوحی چون چوب، فلز، کتان و پلاستیک تا ۷۲ ساعت به زندگی خود ادامه دهند و سروتایپ C تا ۲ ساعت که در حقیقت این سطوح را می‌توان به آسانی در مراکز بیمارستانی و محل نگهداری نوزادان و کودکان همچون تخت بیمارستان، تشك، ملحفه، لباسها، وسایل آشپزخانه و سایر وسایل مشاهده نمود. شاید اینها بتوانند نقشی در انتقال داشته باشند، یا دست پرستاران و سایر پرسنل بیمارستانی در جابجایی نوزادان عاملی باشد در انتقال و پخش این سلول مخمری قارچی، بخصوص در مواردی که آلودگی محیط بیمارستانی به این عوامل زیاد باشد.

به طوری که در این پژوهه انتقال مالاسزیا از یک دست به دست دیگر ۱۴/۳۹ درصد گزارش شد. این در حالی است که اگر غلظت میکروارگانیسم را در محلول بیشتر کنیم، درصد انتقال هم بالا می‌رود. این نتایج، نشان داد که برای انجام انتقال عامل قارچی، تماس نزدیک ضروری است و نیز انتقال از طریق وسایلی چون فلزات، چوب، کتان و یا مواد پلاستیکی امکان پذیر است؛ چون میکروارگانیسم می‌تواند تا ساعتها روی این سطوح به حیات خود ادامه دهد. اختلاف مقاومت و تفاوت بین سروتایپ‌های A، B و C مشاهده شده در این پژوهه تحقیقی، از نکات قابل توجه و جالب طرح بود. این طرح می‌تواند کمک بزرگی برای بررسی مجدد بیولوژی مالاسزیا و مکانیسم انتقال این میکروارگانیسم باشد به امید آن که این تحقیق بتواند به مطالعه بیشتر در زمینه اپیدمیولوژی عفونتهای قارچی مستشره در بیمارستانها منجر شود و به عاری ساختن مراکز و محیطهای بیمارستانی از این نوع عوامل کمک کند.

## ۵- تقدیر و تشکر

برخود لازم می‌دانم از خدمات دکتر Ruth Ashbee از دپارتمان میکروبیولوژی دانشگاه لیدز انگلستان به خاطر اهدای استرینهای مالاسزیا فورفور و نیز حمایت و پشتیبانی ایشان از این طرح تحقیقی تشکر نمایم. همچنین برای مرحوم پروفسور ای. جی. وی. اونس (Prof. E. G. V. Evans) رئیس انجمن بین‌المللی قارچ شناسان (ISHAM) که در زمان انجام این پژوهه از راهنماییهای مفید خود، اینجانب را بهره‌مند ساخته‌اند از درگاه احادیت، طلب آمرزش و مغفرت نمایم.

## ۴- بحث

سطح اکثر مواد و وسایلی که روزمره با آنها سروکار داریم به‌طور طبیعی ممکن است آغشته به سلولهای مخمری، کپکی یا قارچی باشد و این مسئله برای افرادی که دارای زمینه‌هایی چون کمبود سیستم ایمنی، فقر بهداشتی، سوء تغذیه، علل ژنتیکی، استفاده فراوان از آنتی‌بیوتیکهای وسیع الطیف و استفاده طولانی مدت از استروئیدها هستند، می‌تواند خطرناک باشد، بخصوص ضعف سیستم ایمنی نوزادان، بویژه نوزادان نارس و کم وزن در هنگام تولد، یا افزایش زمان به‌سر بردن در انکوباتور و نیز دست به دست شدن فراوان نوزاد به‌وسیله اقوام و والدین و نیز قادر پرستاران می‌تواند به تجمع سریع قارچ در پوست نوزاد کمک کند. در اغلب فانگمی‌ها، هر چند قارچ از قسمتهای مختلف کاتر جدا شده، ولی بندرت از خون محیطی ایزوله شده است که علت این امر احتمالاً فیلتراسیون ارگانیسم به‌وسیله ریه یا سیستم رتیکولو‌اندوتیال می‌باشد. ورود قارچ به داخل خون، شاید به‌عمل زیر باشد، آلودگی در زمان جایگذاری کاتر، مهاجرت قارچ از پوست اطراف کاتر یا تزریق امولوسیون چربی آلوده و عبور جریان خون از منابع آلوده، مالاسزیا فورفور و مالاسزیا پکی درماتیس به‌عنوان عوامل عفونتهای سیستمیک گزارش شده‌اند.

مالاسزیا فورفور فلور طبیعی پوست بدن انسان بوده و مالاسزیا پاکی درماتیس فلور پوست حیوانات می‌باشد. اصولاً به‌دلیل فقدان محیط کشت مناسب، فیزیولوژی مالاسزیا هنوز کاملاً روشن نیست، تنها نکته‌ای که تاکنون مشخص شده نیاز مالاسزیا به مواد لبییدی است. ناتوانی مالاسزیا در ستز اسیدهای چرب اشباع با زنجیره‌هایی به طول ۲۰ تا ۲۰ کربن علت اصلی این نیاز می‌باشد. از آنجا که مالاسزیا ارگانیسم فرصت‌طلبی است، ارتباط بین آن و میزبانان سالم و بیمار، بسیار مهم است و بی بردن هرچه بیشتر به شرایطی که موجب شعلهور شدن عفونت می‌گردد، می‌تواند در مبارزه و پیشگیری از بیماری بسیار مفید باشد. هنوز کاملاً مشخص نشده است که سیستم ایمنی میزبانان سالم دقیقاً با کدام مکانیسم رشد مخمر را در سطح پوست کترل می‌نمایند یا این که چه تعیراتی در قارچ مخمری یا میزبانان رخ می‌دهد که این ارگانیسم طبیعی سطح پوست، تبدیل به قارچی بیماریزا می‌شود. آنچه که تاکنون ثابت شده، تغیر شکل آنان است که از حالت مخمری بیضی شکل به حالت کروی درآمده و در بعضی موارد تولید رشته‌های میسلیال می‌نمایند که حالت بیماریزا دارد. نحوه انتقال و زیست گونه‌های مالاسزیا در محیط و روی سطوح مختلف و از سطحی به سطح دیگر تاکنون مطالعه نشده بود و در این طرح برای اولین بار به این پژوهش

## ۶- منابع

- [1] Evans, E.G.V. (1985) Essentials of Medical Mycology, chapter 8, pages 68-72.
- [2] Kwon-Chung, K.J. and Bennet, J.E. (1993), Medical Mycology, Lea and Febiger, chapter 8, pages 170-182.
- [3] Schmidt A. (1997), Malassezia furfur: a fungus belonging to the physiological skin flora and is relevance in skin disorders. Cutis, 59 (1) ; 21-24.
- [4] Guillot, J. Gheho, E (1995) The diversity of Malassezia yeasts confirmed by rRNA sequence and nuclear DNA comparisons Antonie Van Leeuwenboek, 67:297-314.
- [5] Guillot, J. Gheho, E. Lesourd, M. Midgley, G. Cherrier, G. Dupont, B. (1996). Identification of Malassezia species Journal of Mycology, Med: 6, pp. 103-110.
- [6] Ingham, E. Cunningham, A.C. (1993) Malassezia furfur (Review) Journal of Medical and Veterinary Mycology Vol. 31, pp. 265-268.
- [7] Ashbee, H.R., Ingham, E, Holland, K.T.Q Cunliffe, W.J. (1993), The carriage of Malassezia furfur, serovars A, B and C in patients with pityriasis versicolor, seborrhoeic dermatitis and controls. British Journal of dermatology Vol. 129, pp. 533-540.
- [8] Silva,V. Dilia, C. Fishchman, O. (1995-1996) Skin colonization by Malassezia furfur in healthy children up to 15 years old, Mycopathologia Vol. 132 (3): 143-5.
- [9] Marcon, M.J. & Powell, D.A. (1988) Malasszia furfur, Clinical Micribiology Newsletter Vol. 10, pp. 41-46.
- [10] Cunningham, A.C. Leeming, J.P, Ingham, E. Gowland, G. (1990) Differentiation of three serovars of Malassezia furfur. Journal of Applied Bacteriology Vol. 68, pp. 439-446.
- [11] Marcon, M.J Powell, D.A. (1992) Human infections due to Malassezia spp. (review) Clinical microbiology reviews Vol.5, pp 101-119.
- [12] Surmont, I. Gavilanes, A. Vandepitte, J., Devilieger, H. Eggermont, E. (1989) Malassezia furfur fungaemia in infants receiving intra venous lipid emulsions, Avarity or just under estimated? European Journal of Pediatrics Vol, 148, pp 435-438.
- [13] Leeming, J.P, Notman, F.H. (1987) Improved isolation and enumeration of Malassezia furfur from human skin. Journal Clinical Microbiology Vol, 25, pp. 2017-2019.
- [14] Williamson & kligman, p. Kligman, A.M. (1965) A new method for the quantitative investigation of cutaneous bacteria. Journal Invertigatio of Dermatology Vol. 45, pp. 498-503.
- [15] Determination of cutaneous colonization of genus Malassezia in neonates that care in hospitals of Tehran University with using PCR-RFLP method. Bita Tarazooee *at el.* Department of Parasitology and Mycology, University of Tehran, 2004.
- [16] 4 th Congress of the European Confederation & Medical Mycology, Glasgow, scotland 11 - 13<sup>th</sup> May, 1998.