

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 به‌عنوان 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 سوسپانسیون‌های مالاسزیا سیمپودیالیس (۱)، مالاسزیا گلوبوزا (۲) و مالاسزیا رستریکتا (۳) در مقیاس (میلی‌لیتر/۱۰^۴ میکروارگانیزم) تهیه شد.

(PBS with ۰/۰۵% [v/v] TritonX-۱۰۰, PH ۷/۹) این سوسپانسیون‌ها در سطح مناطقی از قبل اندازه‌گیری شده از جنس چوب و فلز، کتان یا سطح پلاستیکی ریخته و اجازه داده شد تا خشک شوند. سپس با روش مالشی ویلیامسون و کلیگمن^۱ یا با روش قرار دادن کتان یا پلاستیک در محلول شستشو و به‌هم زدن محلول درون حلقه به‌مدت 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^۲ برای تعیین مقدار مالاسزیای منتقل شده بین افراد، مقدار معینی 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 گلوبوزا و مالاسزیا سیمپودیالیس روی سطوح چوبی، کتان و پلاستیکی شبیه به‌هم 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 حداکثر تا ۴ ساعت بعد از تلقیح روی ۴ سطح مختلف قابل برداشت بود. همچنین انتقال میکروارگانیزم از دستی به دستی دیگر، در اکثر آزمایشات با موفقیت همراه بود و مقیاس آن از ۱۴ تا ۰/۲ 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 میکروارگانیزم، آلوده 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 حایز اهمیت است.

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

۱- مقدمه

مزمّن، خفیف و معمولاً بدون علامت در قسمت لایه شاخی پوست استراتوم کورنیوم^۳ به‌صورت ماکولهای پوسته دار، صاف یا کمی برجسته ایجاد می‌نماید که به آن

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

E-mail: sayazdan@iums.ac.ir

* نشانی مکاتبه: تهران، بزرگراه همت، جنب بیمارستان میلاد، تلفن: ۸۸۰۵۴۳۵۷، دورنگار: ۸۸۰۵۴۳۵۵

1. Williamson & Kligman

2. Leeming & Notman

3. Stratum corneum

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

در مطالعه‌ای که سیلوا^{۱۴} و همکارانش انجام دادند، بیشترین تجمع عامل قارچی در بین نوزادان تا ۱۸ ماه (۲۳/۳ درصد) و ۱۱ تا ۱۵ سال (۲۶/۷ درصد) بود [۸] و در مطالعه مارکون پاول^{۱۵} بهترین سن برای تجمع عامل قارچی ۱۵ سالگی گزارش شده است [۹]. کانینگهام^{۱۶} و همکارانش، سویه مالاسزیا فورفور را براساس خصوصیات کلنیها در محیط جامد و نیز نحوه رشد میکروارگانیسم در محیط‌های مایع حاوی صفراوی گوساله، گلیسرول، گلیسرول مونو استئارات، توتین 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 برجسته و دنداندار 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 دکه مانند، ظریف 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 بنمایند. در تحقیقات انجام شده مالاسزیا فورفور و مالاسزیا پکی درماتیس به‌عنوان عامل عفونت خون در نوزادان نارس تحت درمان با امولسیون چربی از طریق کاتتر^{۱۷} شناخته شده‌اند [۱۱] که بعد از مدت کوتاهی که از شروع درمان گذشت نوزاد گرفتار التهاب و عفونت عروق ریوی^{۱۸} می‌شود و بدنبال آن ذات‌الریه^{۱۹} 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 به‌صورت فلور طبیعی نیز یافت می‌شود؛ ولی در نوزادانی که با لپید تزریقی

پیتیریازیس ورسیکالر^۱ گویند [۱] مالاسزیا پکی درماتیس^۲ بیشتر از حیوانات جدا شده‌است تا از انسان، همچنین مالاسزیا فورفور [۳] می‌تواند به‌صورت میسلالیال^۳ یا به‌نحو مخمری رشد نماید.

از ابتدای کشف مالاسزیا فورفور در سال ۱۸۴۶ به‌وسیله اشتد^۴ ابهامات زیادی در مورد نامگذاری و طبقه‌بندی آن وجود داشته است. به‌خاطر مشکلاتی که در رابطه با کشت و جدا کردن قارچ عامل این بیماری وجود داشت، نامگذاری آن براساس مطالعه مورفولوژی در تراشه‌های پوست انجام شده است. اما سرانجام با افزودن فاکتورهای رشد، نظیر 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^۵ (عامل شوره سر) بیضی یا بطری شکل است؛ ولی چون اغلب سلولهای آن گرد می‌باشند، قارچ عامل بیماری را^۶ نامیدند. امروزه نام ژنریک Malassezia جایگزین pityrosporum شده و طبق قوانین مربوطه این قارچ Malassezia furfur نامیده می‌شود. امروزه با روشهای مولکولی پیشرفته نظیر Karyotyping و یا واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (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^۷، مالاسزیا گلوبوزا^۸ (سرتایپ B)، مالاسزیا پکی درماتیس^۹، مالاسزیا اوبتوسا^{۱۰}، مالاسزیا سیمپودیالیس (سروتایپ A)^{۱۱}، مالاسزیا اسلوفیائی^{۱۲}، مالاسزیا رستریکتا (سروتایپ C)^{۱۳} [۵].

مالاسزیا فورفور به‌صورت ساپروفیت فلور نرمال پوست است و آن را از قسمتهایی از بدن که غدد سباسه ترشح بیشتری دارند، مثل سینه، صورت پوست سر، تنه و بازوها، جدا کرده‌اند؛ ولی به‌مقدار کمتر از نواحی مثل دستها و پاها جدا شده است. فرم کروی مالاسزیا بیشتر از روی پوست تنه 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 میسلیم به‌حالت 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

14. Silva
15. Marcon powell
16. Cunningham
17. Catheter
18. Pulmonary vasculitis
19. Pneumonia

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 (SWABBING) و روش WILLIAMSON & KLIGMAN [۱۴] اندازه گیری شد. روی این مواد به مقادیر مشخص مالاسزیا فورفور سروتایپ A, B, C تلقیح شد و مراحل زیست و حیات میکرو ارگانیسم در مدت زمانهای ۲، ۴، ۶، ۸، ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت و در نهایت یک هفته مورد امتحان واقع شد. سپس نمونه‌ها در ۳۴ درجه سانتیگراد انکوبه و نتایج انتقال و حیات میکرو ارگانیسم‌های جدا شده روی مواد مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

ب- استرینهای مالاسزیا فورفور

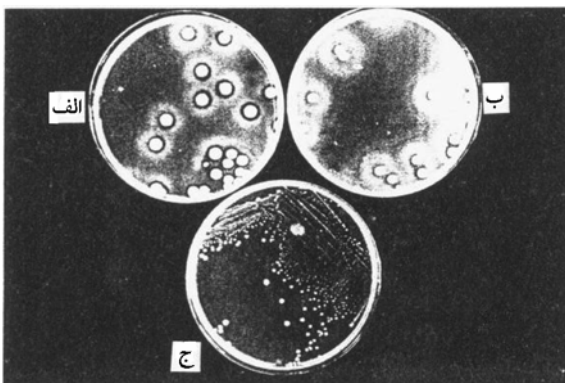
در این طرح پژوهشی از ۳ استرین مالاسزیا فورفور استفاده شد.

مالاسزیا فورفور سروتایپ A - ۱۳

مالاسزیا فورفور سروتایپ B - ۲۱/۳

مالاسزیا فورفور سروتایپ 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 سروتایپ الف، ب، ج

ج- تهیه آگار مالاسزیا فورفور برای کشت^۷

به منظور تهیه آگار مالاسزیا فورفور از روش لیمینگ و نوتمن^۸ در سال ۱۹۸۷ [۱۳] استفاده شد.

تغذیه می‌شوند از طریق کاتتر وریدی باعث ایجاد سندرم تب‌زا^۱ می‌شود. برای تشخیص بیماریهای ناشی از مالاسزیا، مشاهده مخمر و یا حتی رشته‌های میسلیم در زیر میکروسکوپ کافی نبوده و نیاز به شمارش تعداد مخمرها در نمونه می‌باشد^۲ برای مثال مشخص شده است که بیشترین تعداد مالاسزیا در سطح یک میلیمتر مربع اندامهای فوقانی بالغین طبیعی، در حدود $10 \times 1/1$ واحد ایجادکننده کلونی CFU^۳ می‌باشد در این زمینه، مشاهده بیش از ۸۰ مخمر در هر شان با درشتنمایی بزرگ نمونه‌های تهیه شده از پوسته‌های تنه، 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 کتوکونازول در درمان پیتیریازیس ورسیکالر، درماتیت سبورویک و فولیکولیت‌های مالاسزیایی موفق بوده و احتمال عود بیماری را کاهش می‌دهد ولسی درمان طولانی مدت با آن به جهت مسمومیت کبدی^۴ پیشنهاد نمی‌شود و بهتر است از پمادهای موضعی استفاده شود.

می‌توان برای عوارض جانبی کمتر به جای کتوکونازول^۵ از ایتراکونازول^۶ در درمان سیستمیک تینه آورسیکالر استفاده نمود. راه معالجه دیگر استفاده موضعی از گریزوفلووین و تریبنافین است. برای درمان عفونتهای خونی و سیستمیک مالاسزیا بهترین درمان، حذف و بیرون کشیدن کاتتر درون وریدی و استفاده از آموتریسین 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 بستری شدن طولانی مدت نوزاد و نیز دست به دست شدن کودک که به تجمع سریع قارچ در پوست 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 می‌تواند 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

7. Malassezia furfur Agar
8. Leeming and Notman

د- تهیه محلول شستشو^۱

برای تهیه یک لیتر محلول شستشو، محلول A شامل (گرم ۱/۱۷ و $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) + آب مقطر ۱۰۰ میلی‌لیتر به محلول B شامل (گرم ۱۰/۶ و Na_2HPO_4) + آب مقطر ۱۰۰۰ میلی‌لیتر اضافه شد و غلظت PH برابر ۷/۹ می‌باشد (تقریباً ۸۵ میلی‌لیتر از محلول A به ۹۱۵ میلی‌لیتر محلول B اضافه می‌شود).

ه- تهیه محلول رقیق کننده^۲

نصف محلول کامل شستشو به‌عنوان رقیق کننده استفاده شد به این صورت که محلول شستشو به‌روش 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 هموسیتومتر^۳

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

ز- روشهای نمونه‌گیری^۴

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 هر یک به‌طور جداگانه باید از حلقه مربوط به خود استفاده شود. یک میلی‌لیتر از محلول شستشو را داخل حلقه ریخته و سپس به مدت ۱ دقیقه با میله مخصوص (Teflon rod) و استریل به‌طور مالدی به هم می‌زنیم. سپس با پپیت استریل محلول مربوطه را از داخل حلقه جمع‌آوری نموده و در لوله واسرمن^۵ می‌ریزیم. دوباره یک میلی‌لیتر محلول شستشو در داخل حلقه ریخته و برای یک دقیقه عمل فوق را تکرار می‌کنیم و محلول را جمع‌آوری نموده و در لوله واسرمن اولی می‌ریزیم. این نمونه^۶ خالص است. و سپس رقت‌های ۱۰^{-۱} و ۱۰^{-۲} از آن تهیه نموده و به‌مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت بر روی آگار مالا‌سزیا

کشت می‌دهیم.

۲- نمونه‌گیری به روش سواب^۷

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

۳- طرز نمونه‌گیری از کتان و پلاستیک^۹

به‌منظور استریل نمودن کتان و پلاستیک، آنها را ابتدا در ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو نموده سپس آنها را در داخل ظرف پتری قرار داده و در مرکز آنها ۱۰۰ میکرولیتر از محلول نمونه سلول مخمیری 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 بر روی آگار مالا‌سزیا کشت می‌دهیم. پس از گذشت ۲ هفته از انکوباسیون در ۳۴ درجه سانتیگراد، پلیت‌های کشت را از نظر دانسیته در مخمرها بررسی می‌کنیم.

ح- طرح عملی برای مطالعه انتقال و زیست

مالا‌سزیا

۱- طرح اول: زیست مالا‌سزیا بر روی نیمکتهای

چوبی

سوسپانسیونی از مالا‌سزیا (سروتایپ A, B, C) در محلول شستشو به‌مقدار ۱۰^۴ میکروارگانیسم در هر میلی‌لیتر 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 سوسپانسیون مخمیری 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 هر یک از زمانهای فوق،

1. Wash fluid
2. Diluent
3. Cell count by haemocytometer
4. Sampling methods
5. Wasserman
6. neat

7. Swabbing method
8. Fold dilutions
9. Cotton and plastic

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

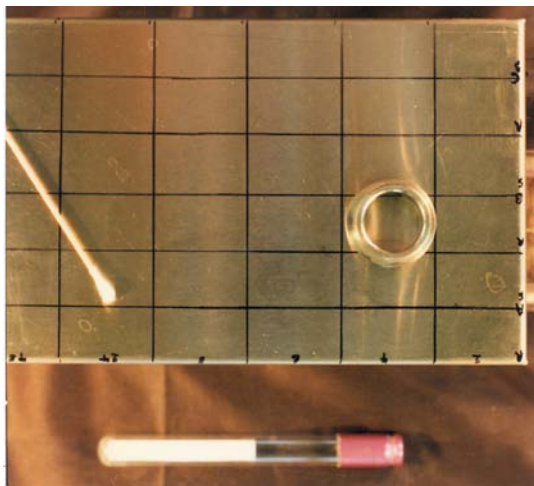
۳- طرح سوم: زیست مالاسزیا روی حلقه طلا^۲

در این طرح، وجود و حیات مالاسزیا روی حلقه طلا که بر دست افراد مختلف بود مطالعه شد. حلقه‌های طلا در ۵ میلی‌لیتر 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^۳

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^۴

سوسپانسیون از مالاسزیا (۱۰^۴ میکروارگانیسم / میلی‌لیتر) در محلول شستشو تهیه نموده و مربع‌هایی از پلاستیک و کتان به ابعاد (۲/۵ cm × ۲/۵ cm) تهیه کرده (به‌طور استریل) و آنها را در داخل ظرف پتری 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 ۱۰^{-۲} و ۱۰^{-۱} 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^۱

سوسپانسیون از سلولهای مخمري مالاسزیا سروتایپ A, B, C در محلول شستشو (۱۰^۴ میکروارگانیسم / میلی‌لیتر) تهیه شد. کف دست افراد داوطلب ابتدا با صابون آنتی‌سپتیک خوب شسته و سپس خشک شدند و نیز تعداد احتمالی سلولهای مخمري در کف دست این افراد در ابتدا شمارش شد تا اگر به‌طور ساپروفیت حامل این میکروارگانیسم هستند، مشخص شود. سپس در کف دست آنان مربعی به ابعاد ۲/۵ cm × ۲/۵ cm مشخص نمودیم. ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون مخمري 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 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 transimtion

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

$$\frac{2 \times 10 \times X \times \text{رقت}}{4/9.09} = \text{شمارش مخمرهای مالاسزیا}$$

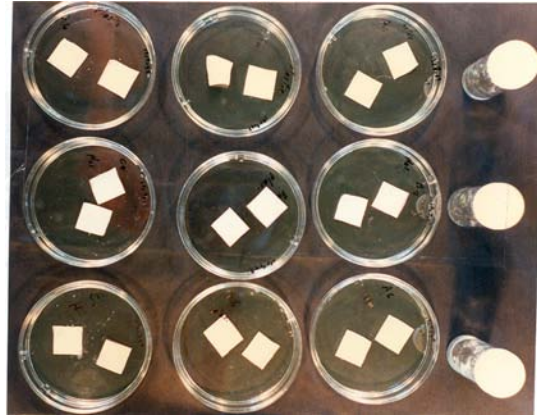
$$x = \pi r^2 = 4/9.09 \text{ cm}^2 \text{ و تعداد کلونیهها}$$

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

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

این نتایج نشان می‌دهد که در دو ساعت اول شمارش مالاسزیا برای سروتایپ A و B و گاهی سروتایپ C همیشه مثبت است و نیز در 4 ساعت اول برای سروتایپ A و B کاهش چندانی در شمارش مالاسزیا ملاحظه نمی‌شود. نتایج نشان داد که حیات مالاسزیا فورفور سروتایپ A و B روی نیمکت چوبی طولانی‌تر از سروتایپ C است.

سوسپانسیون مخمری را در وسط آنها قرار داده و اجازه می‌دهیم خشک شوند. زمان یادداشت شده و بعد از گذشت 2، 4، 6، 8، 24، 48، 72 ساعت و یک هفته، مالاسزیا را از سطح آنها نمونه‌برداری می‌نماییم.



شکل 4 زیست مالاسزیا روی کتان و پلاستیک

۳- نتایج

۱- نتایج شمارش مالاسزیا روی نیمکت چوبی

جدول 1 بیانگر خلاصه‌ای از نتایج که به روش ویلیامسون و

جدول 1 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	سرووارهای مالاسزیا
R	۰	۱/۲۱	۱/۸۸	۲/۳۷	۲/۴۴	۲/۸۷	۳/۵۳	۳/۸۵	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 سواپ) S = Swabbing method و R = Williamson & Kligman

غلظتها برحسب $\log \text{cfu/cm}^2$ بیان شده است

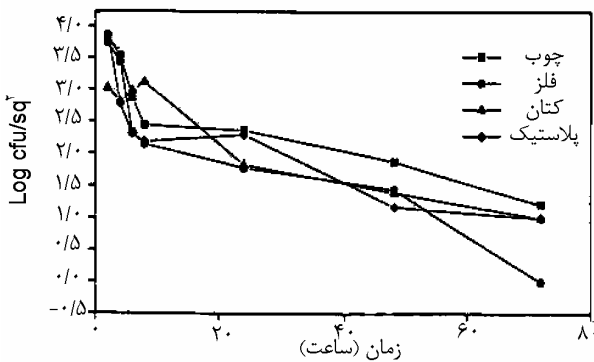
کمترین انتقال برای سروتایپ C (۲۳٪ درصد) بود و از فرمول ذیل برای شمارش میکروارگانیسم استفاده شد (جدول 2).

$$\frac{10 \times 2 \times X \times \text{رقت}}{4/9.09} = \text{شمارش مخمرهای مالاسزیا}$$

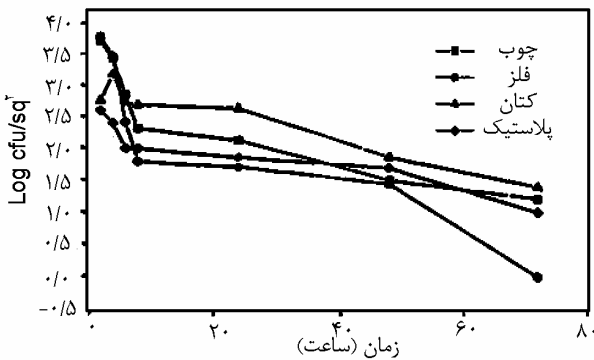
۲- نتایج انتقال مالاسزیا از دستی به دست دیگر

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

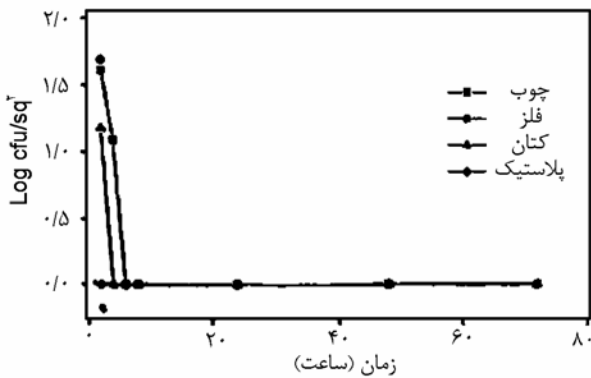
این نتایج در شکل‌های ۵، ۶ و ۷ مشاهده می‌شوند. این نتایج نشان می‌دهد که حیات مالاسزیا سروتایپ A و B طولانی‌تر از سروتایپ C است.



شکل ۵ زیست مالاسزیا فورفور سروتایپ A با توجه به فاکتور زمان با روش ویلیامسون و کلیگمن و روش سواب روی چوب، فلز، کتان و پلاستیک



شکل ۶ زیست مالاسزیا فورفور سروتایپ B با توجه به فاکتور زمان با روش ویلیامسون و کلیگمن و روش سواب روی چوب، فلز، کتان و پلاستیک



شکل ۷ زیست مالاسزیا فورفور سروتایپ C با توجه به فاکتور زمان با روش ویلیامسون و کلیگمن و روش سواب روی چوب، فلز، کتان و پلاستیک

جدول ۲ درصد انتقال مالاسزیا در انتقال دست به دست

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

۳- نتایج انتقال مالاسزیا از انگشتان به حلقه طلا

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

$$\text{شمارش مالاسزیا} = \frac{\text{رقت} \times X \times X}{10 \times X} \text{ (محلول شستشو) } 5$$

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

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

۴- نتایج شمارش مالاسزیا روی فلزات

(شکل‌های ۵، ۶، ۷)

۵ و ۶- نتایج شمارش مالاسزیا روی کتان و

پلاستیک (شکل‌های ۵، ۶، ۷)

$$\text{شمارش مالاسزیا در کتان و پلاستیک} = \frac{\text{رقت} \times X \times X}{10 \times X} \text{ (محلول شستشو) } 2$$

۷- مقایسه زیست مالاسزیا سروتایپ A، B و C روی

چوب، فلز، کتان و پلاستیک با توجه به فاکتور زمان

به وسیله روش ویلیامسون و کلیگمن و روش سواب

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

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 مسأله 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 کادر پرستاران می‌تواند به تجمع سریع قارچ در پوست نوزاد کمک کند. در اغلب فانگمی‌ها، هر چند قارچ از قسمتهای مختلف کاتتر جدا شده، ولی بندرت از خون محیطی ایزوله شده است که علت این امر احتمالاً فیلتراسیون ارگانسیم به‌وسیله ریه یا سیستم رتیکولو اندوتلیال می‌باشد. ورود قارچ به داخل خون، شاید به‌علل زیر باشد، آلودگی در زمان جایگذاری کاتتر، مهاجرت قارچ از پوست اطراف کاتتر 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 لیپیدی است. ناتوانی مالا‌سزیا در سنتز اسیدهای چرب اشباع با زنجیره‌هایی به طول ۱۲ تا ۲۰ کربن علت اصلی این نیاز می‌باشد. از آنجا که مالا‌سزیا ارگانسیم فرصت‌طلبی است، ارتباط بین آن و میزبانان سالم و بیمار، بسیار مهم است و پی 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 کنترل می‌نمایند یا این‌که چه تغییراتی در قارچ مخمری یا میزبان رخ می‌دهد که این ارگانسیم طبیعی سطح پوست، تبدیل به قارچی بیماریزا می‌شود. آنچه که تاکنون ثابت شده، تغییر شکل آنان است که از حالت مخمری بیضی شکل به‌حالت کروی درآمده و در بعضی موارد تولید رشته‌های میسلالی می‌نمایند که حالت بیماریزایی 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

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

نتایج این تحقیق به‌خوبی نشان داد که مالا‌سزیا فورفور سروتایپ A و B قادرند به‌راحتی 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، تشک، 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.

به‌طوری‌که در این پروژه انتقال مالا‌سزیا از یک دست به دست دیگر ۱۴/۳۹ درصد گزارش شد. این در حالی است که اگر غلظت میکروارگانسیم 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 امکان‌پذیر است؛ چون میکروارگانسیم 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 پروژه تحقیقی، از نکات قابل توجه و جالب طرح بود. این طرح می‌تواند کمک بزرگی برای بررسی مجدد بیولوژی مالا‌سزیا و مکانیسم انتقال این میکروارگانسیم باشد به امید آن‌که این تحقیق بتواند به مطالعه بیشتر در زمینه اپیدمیولوژی عفونتهای قارچی منتشره 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 زحمات دکتر Ruth Ashbee از دپارتمان میکروبیولوژی دانشگاه لیدز انگلستان به‌خاطر اهدای استرینهای مالا‌سزیا فورفور و نیز حمایت و پشتیبانی ایشان از این طرح تحقیقی تشکر نمایم. همچنین برای مرحوم پرفسور ای. جی. وی. اونس (Prof. E. G. V. Evans) رئیس انجمن بین‌المللی قارچ‌شناسان (ISHAM) که در زمان انجام این پروژه از راهنماییهای مفید خود، اینجانب را بهره‌مند ساخته‌اند از درگاه احدیت، طلب آمرزش و مغفرت نمایم.

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 its 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 Leeuwenbock*, 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. Ditalia, C. Fishchman, O. (1995-1996) Skin colorization 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 Microbiology 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., Devillieger, H. Eggermont, E. (1989) *Malassezia furfur* fungaemia in infants receiving intravenous lipid emulsions, Avarity or just underestimated? *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 *Malassezia* in neonates that care in hospitals of Tehran University with using PCR-RFLP method. *Bitá 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 - 13th May, 1998.