● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ بیست‌ودوم، شمارهٔ ۴، ص۴۲۳-۴۱۰، ۱۳۹۴

مقالهٔ پژوهشی

بررسی شیوع عفونت‌های قارچی در کودکان مبتلا به بدخیمی‌های خونی و تعیین حساسیت گونه‌های جدا شده به داروهای ضد قارچی

پریسا بدیعی[1*]، پدرام حدادی[2]، سهیلا زارعی‌فر[3]، حدیث جعفریان[4]

خلاصه

مقدمه: عفونت‌های قارچی از شایع‌ترین عوارض تهدید کننده حیات در بیماران مبتلا به بدخیمی‌های خونی می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر، تعیین شیوع عفونت‌های قارچی در کودکان مبتلا به بدخیمی‌های خونی بستری در بیمارستان امیر شیراز و تعیین حساسیت گونه‌های قارچی جدا شده نسبت به داروهای ضد قارچی جهت پیشگیری (Prophylaxis) و درمان مناسب بود.

روش: در ابتدای ورود بیماران به مطالعه، وضعیت کلونیزاسیون آنان بررسی گردید و نمونه‌های افراد مشکوک به بیماری‌های عفونی روی محیط کشت مخصوص قارچ‌شناسی کشت داده شد. جهت تعیین گونه در قارچ‌های رشته‌ای از لام مستقیم و در مورد مخمرها از آزمایش‌هایی همچون تشکیل لوله زایا استفاده شد و تخمیر قندها به روش API (Analytical profile index) انجام گرفت. برای تعیین حساسیت از روش Broth microdilution استفاده گردید.

یافته‌ها: ۴۶/۸ درصد از کل بیماران (۱۹۶ نفر) با انواع گونه‌های کاندیدا کلونیزه شده بودند. ۱۴ بیمار (۷/۱ درصد) به کاندیدیازیس دهانی مبتلا بودند و گونه‌های عامل اصلی بیماری شامل «کاندیدا آلبیکنس، ک. تروپیکالیس و ک. کروزیی» بود. ۱۰ بیمار عفونت قارچی اثبات شده (Proven)، ۱۳ بیمار عفونت محتمل قوی (Probable) و ۱۳ بیمار عفونت محتمل ضعیف (Possible) داشتند (در مجموع ۱۸/۳ درصد). عامل اصلی بیماری، گونه‌های مختلف کاندیدا و قارچ‌های رشته‌ای مانند آسپرژیلوس، آلترناریا، فوزاریوم و موکور بودند.

نتیجه‌گیری: با توجه به میزان شیوع بیماری‌های قارچی سیستمیک و مخاطی و الگوی حساسیت دارویی در قارچ‌های بیماری‌زای جدا شده از بیماران، پیشگیری و درمان بیماری‌های قارچی سیستمیک در این بیماران تسهیل می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بدخیمی خونی کودکان، عفونت‌های قارچی، آسپرژیلوس، فوزاریوم، کلونیزاسیون قارچی

۱- دانشیار، مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی بالینی استاد البرزی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران ۲- دانشجوی پزشکی، مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی بالینی استاد البرزی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران ۳- دانشیار، مرکز تحقیقات خون‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران ۴- کارشناس آزمایشگاه، مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی بالینی استاد البرزی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

* نویسنده مسؤول، آدرس پست الکترونیک: badieep@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۲/۲۷ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۹۳/۸/۲۲ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۹/۱۲

مقدمه

تعریف دقیق عفونت مهاجم قارچی در مطالعات و جمعیت‌های مختلف تا حدودی با هم متفاوت است (۱). این عفونت‌ها به دو دسته کلی عفونت در بیماران فاقد نقص سیستم ایمنی و عفونت در بیماران مبتلا به ضعف سیستم ایمنی تقسیم می‌گردد. در نوع اول عفونت خودبه‌خود محدود می‌شود و بدون درمان بهبود می‌یابد، اما در نوع دوم عفونت در بدن منتشر می‌شود. شیوع عفونت‌های اولیه قارچی در دو دهه اخیر تغییر چندانی نداشته است، اما عفونت قارچی با قارچ‌های رشته‌ای مانند فوزاریوم، آلترناریا و پنی‌سیلیوم در بیماران مبتلا به نقص سیستم ایمنی رو به افزایش می‌باشد (۲).

از عوامل خطر مهم عفونت‌های قارچی می‌توان به مواردی مانند نگهداری طولانی مدت راه‌های عروقی جهت تزریق داروهای مورد نیاز بیمار، تجویز طولانی مدت آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف، آسیب مخاطی و پوستی هنگام استفاده از مسیرهای عروقی، نمونه‌برداری مغز استخوان، انجام پیوند و دیگر اعمال جراحی اشاره نمود. با وجود عوامل خطر بی‌شمار بیماری‌های قارچی، مهم‌ترین و شایع‌ترین عامل خطر در این بیماران، نقص سیستم ایمنی و کمبود گرانولوسیت می‌باشد (۳).

شیوع و نتیجه عفونت قارچی در بیماران مبتلا به سرطان، به نوع سرطان زمینه‌ای بستگی دارد؛ به طوری که بیشترین شیوع مرگ در بیماران مبتلا به سرطان خون به ویژه لوکمیای حاد گزارش شده است و عامل مرگ در ۳۳/۰ درصد این بیماران می‌باشد. مطالعه گسترده‌ای که در چند مرکز بیمارستانی کشور ایتالیا انجام شد، نشان داد که ۶۹/۰ درصد از ۳۱۰ بیمار مبتلا به آسپرژیلوس مهاجم و ۶۴/۰ درصد از ۱۴ بیمار مبتلا به عفونت زیگومیست، به بیماری بدخیمی خونی از نوع لوکمیای حاد میلوئیدی (Acute myelogenous leukemia یا AML) مبتلا بودند و میزان مرگ در مبتلایان به آسپرژیلوس مهاجم ۳۸/۰ درصد و در مبتلایان به زیگومیست ۷۰/۰ درصد بود (۴). از اوایل دهه ۱۹۹۰ گونه‌های آسپرژیلوس ارگانیسم غالب در عفونت‌های قارچی مهاجم گزارش شده؛ در صورتی که عفونت کاندیدای مهاجم به میزان زیادی کاهش یافته است (۵). در طی سال‌های ۲۰۰۳-۱۹۹۹ نیز میزان عفونت آسپرژیلوزیس در بیماران مبتلا به سرطان خون افزایش یافت و این در حالی است که عفونت ناشی از مخمرها و گونه‌های قارچی رشته‌ای (غیر از آسپرژیلوس) میزان به نسبت ثابتی داشت (۴).

در میان عوامل فرصت‌طلب، کاندیدا (ک) آلبیکنس اهمیت ویژه‌ای دارد. این گونه در قسمت‌های مختلف بدن به صورت فلور نرمال (ساکنین طبیعی) وجود دارد و در صورت هر گونه تضعیف سیستم ایمنی فرد، به صورت درون‌زاد گسترش می‌یابد و عفونت قارچی سیستمیک ایجاد می‌کند. ارتباط زیادی بین شیوع کلونیزاسیون کاندیدایی و عفونت سیستمیک ناشی از آن در بیماران مبتلا به نقص سیستم ایمنی وجود دارد. شیوع کلونیزاسیون کاندیدا به جمعیت مورد مطالعه بستگی دارد و این میزان در بیماران مبتلا به بدخیمی خونی برابر با ۵۵/۴ درصد (۶)، در گیرندگان پیوند کبد ۴۵/۰ درصد (۶) و در پیوند کلیه ۸۴/۰ درصد (۷) می‌باشد. یکی از مشکلات درمانی اخیر، افزایش شیوع عفونت‌های غیر آلبیکنس مقاوم به داروهای ضد قارچی معمولی است که از این گونه‌ها می‌توان به ک. گلابراتا و ک. کروزیی اشاره نمود (۸).

عفونت‌های قارچی به دو صورت سطحی (جلدی) یا سیستمیک تظاهر می‌یابند. در عفونت‌های سطحی (جلدی)، غشاهای مخاطی پوست، مو، ناخن و دیگر سطوح اپی‌تلیال مانند گوش خارجی و قرنیه درگیر می‌شوند (۹). به طور

کلی علایم عفونت‌های قارچی سیستمیک اختصاصی نیستند و شباهت زیادی به علایم عفونت‌های غیر قارچی دارند. بیماران دارای درگیری ریوی با علایمی همچون تب طولانی یا راجعه، درد در قفسه سینه، سرفه خشک، نکروز همراه با حفره، درد پلورتیک و خلط خونی مشاهده می‌شوند (۳). به دلیل مرگ و میر بالای بیماران مبتلا به عفونت‌های قارچی و فقدان روش‌های تشخیص قطعی، درمان اولیه زود هنگام آنان حتی زمانی که تنها مشکوک به عفونت‌های قارچی هستند، الزامی است (۱۰). تأخیر در تشخیص و شروع درمان مناسب ضد قارچی می‌تواند باعث گسترش عفونت در بدن گردد. هدف از مطالعه حاضر، تعیین شیوع عفونت‌های قارچی در کودکان مبتلا به بدخیمی‌های خونی بستری در بیمارستان امیر شیراز و تعیین حساسیت گونه‌های قارچی جدا شده نسبت به داروهای ضد قارچی جهت پیشگیری و درمان مناسب بود.

روش بررسی

جامعه مورد مطالعه را بیماران بستری در بیمارستان امیر وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شیراز در سال ۱۳۹۱ تشکیل داد. شرط ورود به مطالعه، افراد مبتلا به بدخیمی خونی بستری در بیمارستان بود. چنانچه بعد از انجام آزمایش‌های تخصصی مشخص می‌شد که فرد بستری شده مبتلا به بدخیمی خونی نیست، این فرد از مطالعه خارج می‌شد. از آن‌جایی که بیماری قارچی سیستمیک در فرد دارای نقص سیستم ایمنی با میزان کلونیزاسیون قارچ در بدن او مرتبط می‌باشد، در ابتدای ورود بیماران نمونه‌های دهان، ادرار، بینی و مدفوع جهت بررسی وضعیت کلونیزاسیون بر روی محیط Saborad dextrose agar (Merck، آلمان) کشت داده شد.

در طول دوران بستری بیمار، از کارشناسان آزمایشگاه میکروب‌شناسی خواسته شد که همه نمونه‌های ارسالی (ادرار، خلط، خون، بافت سینوس و مایعات مختلف بدن) را جهت بیماری قارچی روی محیط Saborad dextrose agar کشت دهند. محیط‌های کشت در حرارت اتاق (۲۵-۲۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری می‌شد. بیماران در لحظه ورود به بخش و در طول دوران بستری، از لحاظ ضایعات مخاطی و جلدی بررسی می‌شدند و نمونه‌گیری جهت تشخیص این بیماری انجام می‌گرفت. جهت تعیین گونه قارچ‌های رشته‌ای، لام مستقیم و اسلاید کالچر (Slide culture) از محیط کشت تهیه و به وسیله LPCB (Lactophenol cotton blue) و میکروسکوپ نوری مشاهده گردید. جهت تشخیص مخمرها نیز آزمایش‌هایی همچون تشکیل لوله زایا و تخمیر قندها با روش API (Analytical profile index) (bioMérieux, st. Louis, MO) بر اساس دستورات کارخانه سازنده انجام گرفت.

بر اساس معیارهای سازمان‌های معتبر قارچ‌شناسی EORTC/MSG (European Organization for the Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group) (۱)، عفونت قارچی مهاجم در بیماران به سه صورت اثبات شده (Proven)، محتمل قوی (Probable) و محتمل ضعیف (Possible) تقسیم‌بندی و گزارش می‌شود. بر اساس این معیارها در بیماری که عامل زمینه‌ای را دارد (چون تمام بیماران بستری در بیمارستان در مطالعه حاضر به بدخیمی مبتلا بودند، معیارهای میزبان را داشتند)، اگر علایم بالینی در کنار کشت مثبت قارچ‌شناسی از بافت یا مایعات استریل بدن را داشته باشد، به عنوان اثبات شده (Proven) در نظر گرفته می‌شود. در صورتی که معیار میزبان و علایم کلینیکی (با توجه به پرونده بیمار و مشاهده عکس‌های رادیولوژی) و کشت مثبت از نمونه غیر استریل مانند خلط را داشته باشد، به عنوان محتمل قوی (Probable) و حالتی که فاکتور میزبان علایم کلینیکی یا کشت مثبت از نمونه غیر استریل را داشته باشد، به عنوان محتمل ضعیف (Possible) تعیین می‌گردد. در

مطالعه حاضر همه بیمارانی که در طول دوران بستری شدن در بخش به علت دارا بودن علایم کلینیکی با داروی ضد قارچی درمان شده بودند، تحت عنوان Possible معرفی شدند.

جهت تعیین حساسیت، روش Broth microdilution بر اساس استاندارد CLSI M27-A2 (Clinical and Laboratory Standards Institute M27-A2) مورد استفاده قرار گرفت (۱۱). قارچ رشته‌ای و مخمری جدا شده از نمونه‌های بیماران مبتلا به نقص سیستم ایمنی و گونه‌های آسپرژیلوس فلاووس (ATCC 204304)، ک. کروزیی (ATCC 22019) و ک. پاراپسیلوزیس (ATCC 6258) به عنوان کنترل کیفیت به کار برده شدند. قارچ‌های جدا شده دو بار روی محیط کشت سیب زمینی- دکستروز آگار به مدت ۷ روز در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد کشت داده شد تا خلوص آن ثابت شود. سوسپانسیونی از کنیدی قارچ تهیه و در طول موج ۵۳۰ نانومتر خوانده شد (جذب نوری ۸۲-۶۰ درصد). این سوسپانسیون را به صورت ۱:۵۰ رقیق کرده، در هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر از داروی رقیق شده در محیط RPMI (Roswell Park Memorial Institute) و ۱۰۰ میکرولیتر رقت کنیدی ریخته و حجم کل به ۲۰۰ میکرولیتر رسانده شد. نمونه شاهد مثبت و منفی همراه گونه‌ها گذاشته شد. لوله‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه و حداقل غلظت مهار کنندگی (Minimum inhibitory concentration یا MIC) دارو بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت دوره انکوباسیون تعیین گردید. داروهای ضد قارچی مورد نظر از شرکت‌های مخصوص (سیگما و فایزر) خریداری شد.

با توجه به نوع مطالعه (مقطعی)، پس از ورود داده‌ها در نرم‌افزار SPSS 15 نتایج به صورت توصیفی در قالب جداول ارایه شد. این طرح مورد تأیید کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز قرار گرفت و از کلیه بیماران جهت ورود به مطالعه اجازه کتبی گرفته شد.

نتایج

در تحقیق حاضر ۱۹۶ بیمار دارای اختلالات خونی شامل ۱۲۵ نفر بیمار مبتلا به لوکمیای حاد لنفوبلاستی (Acute lymphocytic leukemia یا ALL)، ۲۰ نفر بیمار مبتلا به لوکمیای حاد میلوئیدی (Acute myelogenous leukemia یا AML)، ۱۸ نفر بیمار مبتلا به بورکیت لنفوم (Burkitt's lymphoma)، ۱۳ نفر بیمار مبتلا به هوچکین (Hodgkin)، ۱۰ نفر بیمار مبتلا به مگالوبلاستیک آنمیا (Megaloblastic anemia) و ۱۰ نفر بیمار مبتلا به آنمی آپلاستیک (Aplastic anemia) مورد بررسی قرار گرفتند. متوسط سن بیماران مورد مطالعه ۷/۵ سال و میانگین زمان بستری شدن بیماران در بیمارستان ۷ روز بود.

در مجموع ۷۵۲ نمونه از نواحی مختلف بدن بیماران جهت تعیین کلونیزاسیون به دست آمد. علاوه بر این، تعداد ۶۵۸ نمونه ادرار و ۶۰ نمونه مایع مغزی- نخاعی، مایع حاصل از آبسه، مایع پلورال، خلط، مایع شکمی و تعداد ۹۷ کشت خون از بیماران آزمایش شد.

بر اساس یافته‌های حاصل شده، ۴۶/۸ درصد از ۱۹۶ بیمار مبتلا به اختلالات خونی، با انواع گونه‌های کاندیدا کلونیزه شده بودند که بیماران مبتلا به لوکمیای حاد لنفوبلاستی بیشترین میزان کلونیزاسیون و بیماری سیستمیک کاندیدا را شامل می‌شدند. جزییات بیشتر مربوط به درصد و پراکندگی کلونیزاسیون در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱. *گونه‌های کاندیدای جدا شده در کودکان مبتلا به بدخیمی خونی بر حسب محل نمونه‌گیری*

محل نمونه	عامل بیماری‌زا (درصد)	محل نمونه	عامل بیماری‌زا (درصد)
دهان (۱۰۲)	ک. آلبیکنس (۶۰)	مدفوع (۷۷)	ک. آلبیکنس (۴۵)
	ک. دوبلینسیس (۶)		ک. فوماتا (۸)
	ک. تروپیکالیس (۴)		ک. تروپیکالیس (۷)
	ک. کروزیی (۴)		ک. کروزیی (۷)
	ک. پاراپسیلوزیس (۳)		گونه‌های کریپتوکوکوس (۶)
	گونه‌های کریپتوکوکوس (۸)		دیگر موارد (۲۷)
	دیگر موارد (۱۵)		
بینی (۲٤)	ک. آلبیکنس (۵۸)	ادرار (۴۰)	ک. آلبیکنس (۴۰)
	ک. دوبلینسیس (۴)		ک. فوماتا (۱۱)
	ک. کروزیی (۸)		ک. گلابراتا (۱۲)
	ک. فوماتا (۱۳)		ک. کروزیی (۱۵)
	ک. گلابراتا (۱۷)		گونه‌های کریپتوکوکوس (۷)
			دیگر موارد (۱۵)
خون و نمونه‌های تنفسی (۱۳)	ک. آلبیکنس (۹۲)		
	ک. دوبلینسیس (۸)		

ک = کاندیدا

کلونیزاسیون کاندیدا در بعضی از بیماران مورد بررسی در بیش از یک قسمت از بدن مشاهده شد و در بعضی موارد بیش از یک گونه کاندیدا از محل نمونه‌گیری جدا گردید. ۱۴ بیمار (۷/۱ درصد) به کاندیدیازیس دهانی مبتلا بودند و قارچ‌های ک. آلبیکنس، ک. تروپیکالیس و ک. کروزیی بیشترین عامل بیماری را تشکیل می‌دادند (جدول ۲).

جدول۲. *مشخصات کودکان مبتلا به بدخیمی خونی دارای عفونت کاندیدیازیس دهانی*

جنس	سن (سال)	بیماری زمینه‌ای	عامل بیماری	محل عفونت
مذکر	۲	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	ک. آلبیکنس	دهان
مذکر	۳	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	ک. تروپیکالیس	دهان
مؤنث	۸	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	ک. آلبیکنس	دهان
مذکر	۱۳	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	ک. آلبیکنس	دهان
مؤنث	۶	لنفوم غیر هوچکین	ک. کروزیی	حلق
مذکر	۳	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	ک. آلبیکنس	دهان
مؤنث	۴	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	ک. آلبیکنس	دهان
مؤنث	۲	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	ک. آلبیکنس	دهان
مؤنث	۳	لنفوم غیر هوچکین	ک. آلبیکنس	دهان
مذکر	۶	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	ک. آلبیکنس	حلق
مؤنث	۸	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	ک. تروپیکالیس	دهان
مذکر	۱۲	لوکمیای میلوئیدی حاد	ک. کروزیی	دهان
مذکر	۱۰	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	ک. آلبیکنس	دهان
مؤنث	۸	لوکمیای میلوئیدی حاد	ک. تروپیکالیس	دهان

۱۰ بیمار به عفونت قارچی Proven (۵/۱ درصد)، ۱۳ بیمار به عفونت قارچی Probable (۶/۶ درصد) و ۱۳ بیمار به عفونت قارچی Possible (۶/۶) مبتلا بودند (در مجموع ۱۸/۳ درصد) (جدول ۳). عامل بیماری را گونه‌های ک. آلبیکنس، ک. کروزیی، ک. تروپیکالیس و قارچ‌های رشته‌ای آسپرژیلوس فلاووس، فوزاریوم، موکور و قارچ سیاه آلترناریا تشکیل می‌دادند.

جدول ۳. *مشخصات بیماران مبتلا به عفونت سیستمیک قارچی در کودکان مبتلا به بدخیمی خونی*

جنس	سن (سال)	بیماری زمینه‌ای	محل عفونت	عامل بیماری	نوع بیماری	ضد قارچ
مؤنث	۱۴	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	خون	ک. آلبیکنس	Proven	وریکونازول
مذکر	۱۶	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	ریه و سینوس	فوزاریوم	Proven	آمفوتریسین
مؤنث	۴	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	خون	ک. آلبیکنس	Proven	آمفوتریسین
مؤنث	۵	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	خون	ک. آلبیکنس	Proven	وریکونازول
مؤنث	۱۵	لوکمیای میلوئیدی حاد	خون	ک. دوبلینسیس	Proven	آمفوتریسین
مؤنث	۱۱	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	سینوس	آلترناریا	Proven	آمفوتریسین و وریکونازول
مؤنث	۹	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	خون	ک. آلبیکنس	Proven	آمفوتریسین
مذکر	۱۳	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	ریه	موکور	Proven	پسوکونازول
مذکر	۱۲	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	خون	ک. آلبیکنس	Proven	آمفوتریسین
مؤنث	۸	لوکمیا میلوسیتی حاد	سینوس	آسپرژیلوس	Proven	وریکونازول
مؤنث	۶	لوکمیای میلوئیدی حاد و پان سیتوپنی	ریه	ک. آلبیکنس	Probable	آمفوتریسین، ایتراکونازول و فلوکونازول
مؤنث	۱۳	تالاسمی ماژور	ریه	آسپرژیلوس	Probable	وریکونازول، ایتراکونازول و آمفوتریسین
مؤنث	۳	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	ریه	ک. آلبیکنس	Probable	وریکونازول و آمفوتریسین
مؤنث	۶	لوکمیای میلوئیدی حاد	ریه	ک. آلبیکنس	Probable	آمفوتریسین
مؤنث	۸	لوکمیا میلوئیدی حاد	ریه	موکور	Probable	فلوکونازول
مذکر	۳	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	ریه	ک. آلبیکنس	Probable	وریکونازول
مؤنث	۲	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	آبسه کبدی	–	Probable	آمفوتریسین
مؤنث	۴	لوکمیا لنفوبلاستی حاد	سینوس	آسپرژیلوس	Probable	آمفوتریسین
مؤنث	۶	لوکمیا لنفوبلاستی حاد	کلیه	ک. آلبیکنس	Probable	فلوکونازول
مذکر	۵	نوروبلاستوما	ریه	آسپرژیلوس	Probable	آمفوتریسین
مؤنث	۹	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	پوست	آسپرژیلوس	Probable	آمفوتریسین
مؤنث	۳	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	ریه	ک. آلبیکنس	Probable	فلوکونازول
مذکر	۴	لوکمیای میلوئیدی حاد	ریه	ک. آلبیکنس	Probable	آمفوتریسین و فلوکونازول
مؤنث	۸	لوکمیای میلوئیدی حاد	–	–	Possible	فلوکونازول
مذکر	۳	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	–	–	Possible	آمفوتریسین
مذکر	۲	لوکمیای لنفوبلاستی حاد	–	–	Possible	آمفوتریسین

مذکر	۹	لوکمیای میلوئیدی حاد	ریه	–	Possible	وریکونازول
مؤنث	۴	لوکمیای میلوئیدی حاد	ریه	–	Possible	آمفوتریسین و ایتراکونازول
مذکر	۸	لوکمیای میلوئیدی حاد	–	–	Possible	آمفوتریسین
مؤنث	۱۷	لوکمیای میلوئیدی حاد	–	–	Possible	فلوکونازول
مذکر	۱۱	لوکمیای میلوئیدی حاد	ریه	–	Possible	وریکونازول
مذکر	۶	لوکمیای میلوئیدی حاد	ریه	–	Possible	آمفوتریسین
مؤنث	۱۴	لوکمیای میلوئیدی حاد	ریه	–	Possible	وریکونازول
مؤنث	۱۲	لوکمیای میلوئیدی حاد	ریه	–	Possible	وریکونازول
مؤنث	۱۲	لوکمیای میلوئیدی حاد	ریه	–	Possible	وریکونازول
مؤنث	۶	لنفوم غیر هوچکین	ریه	–	Possible	فلوکونازول

کلیه بیمارانی که از نمونه بالینی آن‌ها هیچ گونه قارچی جدا نگردید، ولی برایشان داروی ضد قارچ شروع شد، به عنوان Possible محسوب شدند.

به طور کلی، در بین ۲۵۶ مخمر جدا شده از بیماران (نمونه‌های بالینی و کلونیزاسیون)، کاندیدا آلبیکنس به عنوان شایع‌ترین گونه شناسایی شد که از ۱۳۸ بیمار (۵۳/۹ درصد)جدا شد (جدول ۱). این قارچ ۳ درصد نسبت به آمفوتریسین بی، ۱۳ درصد نسبت به فلوکونازول، ۶ درصد نسبت به وریکونازول، ۳۰ درصد نسبت به ایتراکونازول، ۵ درصد نسبت به کتوکونازول و ۲ درصد نسبت به کاسپوفونجین مقاومت داشت. ک. گلابراتا مقاوم‌ترین گونه مخمر جدا شده در گونه‌های مورد بررسی بود و مقاومت قابل توجهی نسبت به داروهای مختلف خانواده آزول‌ها نشان داد. در بین گونه‌های بررسی شده، بیشترین حساسیت دارویی به کاسپوفونجین مشاهده گردید. نتایج حاصل از بررسی حساسیت داروهای ضد قارچی در جدول ۴ ارایه شده است و کمترین میزان MIC به کاسپوفونجین تعلق داشت. در بین قارچ‌های رشته‌ای جدا شده، گونه آسپرژیلوس بیشترین میزان حساسیت و کمترین میزان MIC را نسبت به داروی وریکونازول داشت. مقاومت به آمفوتریسین بی در این گونه مشاهده شد.

جدول ٤. *نتایج حاصل از بررسی حساسیت داروهای ضد قارچی در کودکان مبتلا به بدخیمی خونی*

عامل قارچی	داروی ضد قارچی	دامنه	MIC-۵۰	MIC-۹۰	میزان حساسیت (درصد)
ک. آلبیکنس	آمفوتریسین	۰/۰۴۷-۱/۵	۰/۵	۰/۷۵	۹۷
	فلوکونازول	۰/۰۹۴-۲۵۶	۱/۵	۲۵۶	۸۷
	وریکونازول	۰/۰۰۳-۳۲	۰/۱۲۵	۱۶	۹۴
	ایتراکونازول	۰/۰۱۶-۳۲	۰/۰۳۲	۱۶	۷۰
	کتوکونازول	۰/۰۱۶-۳۲	۰/۱۲۵	۱۶	۹۵
	پوساکونازول	۰/۰۰۸-۳۲	۰/۰۴۷	۰/۱۲۵	*
	کسپوفانژین	۰/۰۳۲-۸	۰/۰۹۴	۰/۰۳۲	۹۸
ک. کروزیی	آمفوتریسین	۰/۳۸-۶	۴	۶	۹۵
	فلوکونازول	۲۴-۲۵۶	۹۶	۲۵۶	۷۰
	وریکونازول	۰/۱۲۵-۳۲	۰/۵	۲	۹۰
	ایتراکونازول	۰/۱۹-۳۲	۰/۷۵	۴	۷۵
	کتوکونازول	۱-۳۲	۶	۸	۹۰
	پوساکونازول	۰/۰۰۸-۳۲	۰/۷۵	۸	*
	کسپوفانژین	۰/۰۳۲-۴	۰/۱۲۵	۰/۰۹۴	۱۰۰
ک. گلابراتا	آمفوتریسین	۰/۲۵-۶	۳	۶	۹۲
	فلوکونازول	۳۲-۲۵۶	۹۶	۲۵۶	۳۰
	وریکونازول	۰/۷۵-۳۲	۱/۵	۲	۸۵
	ایتراکونازول	۴-۳۲	۳۲	۳۲	۶۰
	کتوکونازول	۲-۳۲	۶	۳۲	۹۰
	پوساکونازول	۱-۳۲	۳۲	۳۲	*
	کسپوفانژین	۰/۰۶۴-۰/۱۹	۰/۰۹۴	۰/۰۱۹	۱۰۰
کریپتوکوکوس	آمفوتریسین	۰/۰۱۶-۲	۰/۳۸	۱	۹۰
	فلوکونازول	۲-۲۵۶	۲	۱۶	۸۳
	وریکونازول	۰/۰۱۶-۳	۰/۱۲۵	۳	۱۰۰
	ایتراکونازول	۰/۰۲۳-۳۲	۰/۷۵	۳۲	۶۰
	کتوکونازول	۰/۰۳۲-۳۲	۱/۵	۱۲	۷۵
	پوساکونازول	۰/۰۳۲-۳۲	۰/۰۳۲	۴	*
	کسپوفانژین	۰/۰۳۲-۴	۰/۰۹۴	۱/۵	۹۵

MIC: Minimum inhibitory concentration

*برای داروی پوساکونارول مقدار عددی ممانعت از رشد بیان می‌شود و حساس یا مقاوم بودن سطح نیست

بحث

بر اساس تحقیقات موجود شانس ابتلا به عفونت سیستمیک در بیماران مبتلا به اختلالات هماتولوژیک که کلونیزاسیون کاندیدایی دارند، بیشتر است (۱۲). عفونت سیستمیک از مسیر انتشار خونی می‌تواند به دستگاه عصبی مرکزی، چشم و دیگر ارگان‌ها گسترش یابد. در مطالعه‌ای میزان مرگ و میر کلی مرتبط با کاندیدای مهاجم خونی، ۱۰/۷ درصد بیان شد (۱۳). عفونت خونی کاندیدایی در ۶/۹ درصد نوزادان دارای کلونیزاسیون کاندیدا گزارش گردید؛ در صورتی که این عفونت در نوزادان بدون کلونیزاسیون ۰/۷۹ درصد بود (۱۴). میزان عفونت خونی کاندیدایی در مطالعات دیگر بین ۱۲/۱ درصد در تازه متولدین (۱۵)، ۲/۴ درصد در نوپایان (۱۴) و ۵۵/۲ درصد در بزرگسالان مبتلا به بدخیمی خونی متغیر می‌باشد (۱۵). در مطالعه حاضر ۴۶/۸ درصد از جمعیت مورد مطالعه، با گونه‌های کاندیدا کلونیزاسیون داشتند. تمام بیماران مبتلا به کاندیدیازیس قارچی از قبل با این قارچ کلونیزه شده بودند و قارچ عامل بیماری جدا شده از نمونه کلینیکی بیمار و قارچ جدا شده از نمونه‌های گرفته شده جهت کلونیزاسیون، یکسان بود. شایع‌ترین محل کلونیزاسیون قارچی در بیماران، دهان و رکتوم بود. این نتایج با نتایج حاصل از تحقیق Lopes و همکاران (۱۳) همخوانی داشت.

Chamilos و همکاران در مطالعه خود به بررسی شیوع عفونت‌های مهاجم قارچی در بیماران مبتلا به بدخیمی خونی طی ۱۵ سال گذشته بر اساس نتایج اتوپسی این بیماران پرداختند و به این نتیجه رسیدند که از تعداد ۱۰۱۷ بیمار، ۳۱۴ نفر (۳۰/۹ درصد) به عفونت مهاجم قارچی مبتلا بودند و در بین گونه‌های قارچی جدا شده، درصد مخمرها و زیگومیست‌ها افزایش یافته بود؛ در صورتی که دیگر گونه‌ها درصد ثابتی را به خود اختصاص داده بودند (۵). مطالعه Yeh و همکاران، ۲۶ کودک مبتلا به سرطان خون و دریافت کننده شیمی درمانی را با ۲۹ اپیزود بیماری قارچی بررسی نمودند که ۱۴ گونه کاندیدا و ۱۱ گونه آسپرژیلوس به عنوان عوامل پاتوژن شناخته شد (۱۶). از آن‌جایی که مطالعه حاضر بر روی کودکان انجام شده بود، بیشترین تعداد عفونت قارچی را بیماران مبتلا به لوکمیای لنفوبلاستیک حاد نشان دادند. میزان ابتلا به بیماری‌های سیستمیک، ۱۸/۳ درصد و عامل ایجاد کننده عفونت شامل انواع مختلف گونه‌های کاندیدا، قارچ‌های رشته‌ای موکور، فوزاریوم و قارچ سیاه آلترناریا بود. به دلیل این‌که میانگین زمان بستری شدن در بیمارستان در مطالعه حاضر ۷ روز بود، میزان شیوع عفونت کمتر از مطالعات دیگر گزارش گردید.

در میان گونه‌های کاندیدای شناسایی شده در تحقیق حاضر، شیوع گونه ک. آلبیکنس (۵۳/۹ درصد) بالاتر از دیگر گونه‌ها بود. فراوانی این گونه در مطالعات دیگر به ترتیب (۸) ۵۰/۰، (۱۳) ۶۴/۲، (۱۴) ۴۲/۰ و (۱۶) ۵۵/۰ درصد گزارش شده است (۱۵، ۱۳، ۸). میزان جداسازی گونه‌های غیر آلبیکنس در مطالعه حاضر ۴۶/۱ درصد بود؛ در صورتی که این میزان در پژوهش‌های دیگر (۱۵، ۱۳) به ترتیب ۳۵/۸ و ۷۸/۲ درصد گزارش شد. از آن‌جایی که میزان مرگ و میر ناشی از گونه قارچی ک.آلبیکنس (۳۷/۵ درصد) به صورت واضحی از گونه‌های غیر آلبیکنس (۱۷/۷ درصد) بیشتر است، شناسایی دقیق گونه عامل بیماری در بیماران مبتلا به کاندیدا اهمیت زیادی دارد.

استفاده روزافزون از داروهای ضد قارچی در جهت پیشگیری، از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر تغییر نوع و توزیع گونه‌های کلونیزه در بدن می‌باشد. این تغییر انتخاب داروهای تجویز شده، میزان مرگ و میر ناشی از عفونت‌های قارچی را تحت تأثیر قرار داده است (۱۷). مقاومت به داروهای ضد قارچی، میزان مرگ و میر بیماران

مبتلا به اختلالات نقص ایمنی بستری در بیمارستان را افزایش می‌دهد. مقاومت اولیه به داروهای ضد قارچی یک مکانیسم درونی است و زمانی اتفاق می‌افتد که یک ارگانیسم به صورت ذاتی به داروی ضد قارچی مقاوم باشد. برای مثال، گونه ک. کروزیی در کل جهان به فلوکونازول (۱۸) و گونه ک. گلابراتا به بسیاری از داروهای ضد قارچی آزولی به ویژه فلوکونازول مقاوم هستند و درمان عفونت آن‌ها بسیار دشوار است. تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که MIC درمانی آزول‌هایی همچون وریکونازول، ایتراکونازول و فلوکونازول برای گونه ک. گلابراتا بسیار بالاتر از این مقدار برای درمان سایر گونه‌های کاندیدایی است (۱۹، ۸).

آمفوتریسین به عنوان خط اول درمان عفونت موکور مهاجم در کودکان به کار برده می‌شود (۱۸). استفاده از این دارو به علت سمیت بالای فرمول قدیمی در دوزهای بالا و قیمت بالای فرمول جدید محلول در چربی، محدود می‌باشد. تست‌های حساسیت دارویی انجام شده در مطالعه حاضر نشان داد که همه گونه‌های ک. آلبیکنس جدا شده از بیماران، به آمفوتریسین و کاسپوفونجین بیشتر از سایر داروهای ضد قارچی حساس بودند و در عین حال مقاومت به آمفوتریسین در گونه‌های ک. کروزیی و ک. گلابراتا مشاهده گردید. مقاومت متقاطع بین آزول‌های قدیمی و جدیدتر نگرانی جدیدی است که به خصوص در انواع جفت‌های مشابه مثل وریکونازول- فلوکونازول یا پسوکونازول- ایتراکونازول مشاهده می‌شود (۲۱، ۲۰). بر اساس نتایج مطالعات پیشین (۸)، مقاومت به آزول‌های قدیمی در گونه‌های ک. کروزیی و ک.گلابراتا شایع می‌باشد. در تحقیق حاضر مقاومت به وریکونازل و فلوکونازول در ک. کروزیی ۱۰ درصد و در ک. گلابراتا ۲۵ درصد بود.

اطلاعات مربوط به حساسیت نشان داده‌اند که داروهای ضد قارچی جدید کارایی بهتری برای درمان عفونت‌های مخمری دارند. اکینوکاندین‌ها مانند کاسپوفانجین یکی از مواد فعال بر علیه بسیاری از گونه‌های قارچی می‌باشند و به وسیله سازمان‌های بین‌المللی جهت درمان عفونت خونی مهاجم کاندیدا تأیید شده‌اند (۲۲). کاسپوفانجین، کارامدترین داروی ضد قارچی بررسی شده در تحقیق حاضر بود و کمترین میزان مهار کنندگی دارو (MIC ۵۰ و MIC ۹۰) را بر علیه گونه‌های کاندیدای مورد مطالعه داشت.

نتیجه‌گیری

با توجه به میزان شیوع بیماری‌های قارچی مخاطی و سیستمیک در کودکان مبتلا به بدخیمی‌های خونی و با توجه به میزان آگاهی از حساسیت دارویی گونه‌های جدا شده از این بیماران در زمانی که به علت کاهش نوتروفیل و پلاکت و سایر فاکتورهای خونی امکان نمونه‌گیری از بیماران وجود ندارد، پیشگیری و درمان مناسب بیماران با آگاهی بیشتری امکان‌پذیر می‌باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از زحمات کارکنان محترم بخش اطفال و آزمایشگاه بیمارستان امیر شیراز به جهت همکاری در این طرح تحقیقاتی تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Ascioglu S, Rex JH, de Pauw B, Bennett JE, Bille J, Crokaert F, et al. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis* 2002; 34(1): 7-14.
2. Wingard JR, Leather HL. Diagnosis and therapy of invasive aspergillosis in hematopoietic stem cell transplant recipient. *Curr Treat Opt Infect Dis* 2003; 5: 517-27.
3. Walsh TJ, Gonzalez C, Lyman CA, Chanock SJ, Pizzo PA. Invasive fungal infections in children: recent advances in diagnosis and treatment. *Adv Pediatr Infect Dis* 1996; 11: 187-290.
4. Maschmeyer G, Haas A. The epidemiology and treatment of infections in cancer patients. *Int J Antimicrob Agents* 2008; 31(3): 193-7.
5. Chamilos G, Luna M, Lewis RE, Bodey GP, Chemaly R, Tarrand JJ, et al. Invasive fungal infections in patients with hematologic malignancies in a tertiary care cancer center: an autopsy study over a 15-year period (1989-2003). *Haematologica* 2006; 91(7): 986-9.
6. Badiee P, Kordbacheh P, Alborzi A, Zakernia M, Haddadi P. Early detection of systemic candidiasis in the whole blood of patients with hematologic malignancies. *Jpn J Infect Dis* 2009; 62(1): 1-5.
7. Badiee P, Kordbacheh P, Alborzi A, Zeini F, Mirhendy H, Mahmoody M. Fungal infections in solid organ recipients. *Exp Clin Transplant* 2005; 3(2): 385-9.
8. Badiee P, Alborzi A, Davarpanah MA, Shakiba E. Distributions and antifungal susceptibility of Candida species from mucosal sites in HIV positive patients. *Arch Iran Med* 2010; 13(4): 282-7.
9. Rippon JW. Medical mycology: the pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes. Philadelphia, PA: Saunders; 1988.
10. Denning DW. Therapeutic outcome in invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 1996; 23(3): 608-15.
11. NCCLS. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard-second edition [Online]. [cited 2002]; Available from: URL: http://www.researchgate.net/publictopics.PublicPostFileLoader.html?id=54f90155f15bc7c02d8b468b&key=0c08144d-fb49-40d5-8fd6-b9b4bbbdc11c
12. Marodi L, Johnston RB. Invasive Candida species disease in infants and children: occurrence, risk factors, management, and innate host defense mechanisms. *Curr Opin Pediatr* 2007; 19(6): 693-7.
13. Lopes MM, Barros R, Peres I, Serelha M, Neto MT, Cabrita J, et al. Surveillance of nosocomial fungal infections in a Portuguese paediatric hospital: incidence and risk factors. *Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology* 2006; 16(4): 212-9.
14. Farmaki E, Evdoridou J, Pouliou T, Bibashi E, Panagopoulou P, Filioti J, et al. Fungal colonization in the neonatal intensive care unit: risk factors, drug susceptibility, and association with invasive fungal infections. *Am J Perinatol* 2007; 24(2): 127-35.

15. Pasqualotto AC, Nedel WL, Machado TS, Severo LC. A 9-year study comparing risk factors and the outcome of paediatric and adults with nosocomial Candidaemia. *Mycopathologia* 2005; 160(2): 111-6.

16. Yeh TC, Liu HC, Wang LY, Chen SH, Liang DC. Invasive fungal infection in children undergoing chemotherapy for cancer. *Annals of Tropical Paediatrics* 2007; 27: 141-7.

17. Filioti J, Spiroglou K, Panteliadis CP, Roilides E. Invasive candidiasis in pediatric intensive care patients: epidemiology, risk factors, management, and outcome. *Intensive Care Med* 2007; 33(7): 1272-83.

18. Zaoutis TE, Foraker E, McGowan KL, Mortensen J, Campos J, Walsh TJ, et al. Antifungal susceptibility of Candida spp. isolated from pediatric patients: a survey of 4 children's hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 52(4): 295-8.

19. Badiee P, Alborzi A. Susceptibility of clinical Candida species isolates to antifungal agents by E-test, Southern Iran: A five year study. *Iran J Microbiol* 2011; 3(4): 183-8.

20. White TC, Holleman S, Dy F, Mirels LF, Stevens DA. Resistance mechanisms in clinical isolates of candida albicans. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(6): 1704-13.

21. Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN, Diekema DJ. In vitro activities of ravuconazole and voriconazole compared with those of four approved systemic antifungal agents against 6,970 clinical isolates of Candida spp. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(6): 1723-7.

22. Walsh TJ, Adamson PC, Seibel NL, et al. Pharmacokinetics, safety and tolerability of caspofungin in children and adolescents. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;45:4636-45.

Prevalence of Fungal Infections in Children with Hematologic Disorders and Determination of Anti-Fungal Susceptibility in Isolated Species

Parisa Badiei, Ph.D.[1*], Pedram Hadadi[2], Soheila Zareifar, M.D.[3], Hadis Jafarian B.Sc.[4]

1. Associate Professor, Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
2. Medical Student, Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
3. Associate Professor, Hematology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
4. Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

* Corresponding author; e-mail: badieep@yahoo.com

(Received: 17 May. 2014 Accepted: 3 Dec. 2014)

Abstract

Background & Aims: Fungal infections are among the most common life threatening conditions in patients with hematologic malignancies. The present study was carried out on children hospitalized in Amir Oncology Hospital of Shiraz, Iran, in order to determine the prevalence of fungal infections and respective susceptibility patterns to prophylactic antifungal therapies.

Methods: Colonization was investigated in patients and the samples from patients with suspected infections were cultured. Mold fungal species were determined using lacto phenol cotton blue smear and yeasts through germ tube test, and sugar fermentation was performed through analytical profile index (API) method. In addition, broth microdilution technique was used to determine susceptibility.

Results: Based on the results, 46.8% of all patients (196 patients) were colonized with *Candida s*pp. As revealed, 14 oral candidiasis cases were detected with *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, and *Candida krusie*as the respective etiologic agents. In addition, there were 10 proven, 13 probable, and 13 possible cases of fungal infection. The etiologic fungal agents included *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Mucor*, *Fusarium*, and *Alternaria*.

Conclusion: Considering the prevalence rates of fungal infections and susceptibility patterns of pathogenic fungi isolated from the patients in the region, the prevention and treatment of systemic fungal diseases is facilitated.

Keyword: Pediatric hematologic disorders, Fungal infections, *Aspergillus*, *Fusarium*, Fungal colonization

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2015; 22(4): 410-423