

Prevalence of Yeast Colonization on Prepuce of Uncircumcised Children

Seyed Abdollah Mousavi¹,
Tahereh Shokohi²,
Mohamad Taghi Hedayati³,
Elham Mosayebi³,
Akram Abdollahi³,
Mojtaba Didehdar^{4,5}

¹ Associate Professor, Department of surgery, Resistant Nosocomial Infectious Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Professor, Department of Medical Mycology and Parasitology, Invasive Fungi Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ MSc student in Medical Mycology, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ PhD student in Medical Mycology, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁵ Department of Medical Mycology and Parasitology, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

(Received May 5, 2015 ; Accepted August 5 , 2015)

Abstract

Background and purpose: The yeast fungi including *Candida* and *Malassezia* genus are normal flora of the skin of human and male genital region. They could cause balanitis and urinary tract infections. The aim of this study was to determine the prevalence of yeast colonization on preputial area of infant prior to circumcision.

Materials and methods: A total of 200 (<one year of age) clinically healthy boy was included in this study. Genomic DNA of all positive yeasts growth was extracted and D1/D2 domains of the large subunit (LSU) ribosomal DNA were amplified using polymerase chain reaction. The yeast species were identified using nucleotide Blast at GenBank sequence database.

Results: There were 200 children aged between 4 days- 9 months (mean age 58±49 days). In seven (3.5%) cases the yeast colonization was observed. All yeast isolates were identified as *Candida albicans* with highest sequence identity (99-100%).

Conclusion: The low rate of yeast colonization in preputial area of boys less than one year old calls for circumcision in this age since they are less likely to be affected by yeast colonization.

Keywords: Colonization, yeast, *Candida*, *Malassezia*, circumcision, prepuce, children

بررسی شیوع کلونیزاسیون مخمری ناحیه پره پوس در کودکان ختنه نشده

سید عبدالله موسوی^۱
 طاهره شکوهی^۲
 محمد تقی هدایتی^۲
 الهام مسیبی^۳
 اکرم عبداللهی^۳
 مجتبی دیده دار^{۵،۴}

چکیده

سابقه و هدف: قارچ‌های مخمری جنس مالا‌سزیا و کاندیدا فلورنرمال پوست ناحیه پره پوس انسان بوده می‌تواند در ایجاد بالانیت و عفونت‌های ادراری نقش داشته باشد. این مطالعه با هدف تعیین شیوع کلونیزاسیون مخمری پره پوس در کودکان ختنه نشده انجام شده است.

مواد و روش‌ها: در مطالعه توصیفی - مقطعی حاضر DNA کلونی‌های مخمری جدا شده از نمونه ترشحات ناحیه داخلی پره پوس ۲۰۰ کودک زیر یک سال استخراج و PCR به منظور تقویت ناحیه D1/D2 زیر واحد بزرگ rRNA انجام گردید. گونه‌های مخمری با آنالیز توالی‌های DNA به دست آمده و با بانک ژنی تطبیق داده شد و مشخص شدند. **یافته‌ها:** از ۲۰۰ کودک مراجعه کننده با میانگین سنی 58 ± 49 روزه گی با طیف سنی ۴ روزه تا ۹ ماهه، در ۷ کودک (۳/۵ درصد) سلول مخمری مشاهده شد. تمامی ۷ ایزوله مخمری بر اساس تطبیق توالی DNA با بانک ژنی (تشابه ۹۹ تا ۱۰۰ درصد) به عنوان کاندیدا آلیکنس شناسایی شدند.

استنتاج: میزان کم کلونیزاسیون مخمری در ناحیه پره پوس کودکان ممکن است به دلیل انجام عمل ختنه در سنین پایین باشد که براهمیت انجام ختنه در دوران کودکی که استقرار میکروب‌ها هنوز کم تر است، صحت می‌گذارد.

واژه‌های کلیدی: کلونیزاسیون، مخمر، کاندیدا، مالا‌سزیا، ختنه، پره پوس، کودکان

مقدمه

پسوریازیس و سبوره اگزمایی پره پوس و کاندیدوزی ایجاد نمایند (۱). بالانیت بیماری نسبتاً شایع مردان که شایع‌ترین ارگانیزم مسبب آن کاندیدا آلیکنس می‌باشد (۲-۴)، معمولاً به دنبال تماس جنسی با همسران

قارچ‌های مخمری ناحیه پره پوس در صورت وجود زمینه مساعد می‌توانند بیماری‌هایی ادراری - تناسلیاز جمله بالانیت (التهاب پوست پره پوس) کاندیدایی و مالا‌سزیایی، پیتیریازیس و رسیکالر ناحیه پنیس،

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۱۵۵-۹۲ است که توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران تامین شده است.

E-mail: a.dargahi29@yahoo.com

مؤلف مسئول: طاهره شکوهی - ساری: کیلومتر ۱۸ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی

۱. دانشیار، گروه جراحی، مرکز تحقیقات عفونت‌های بیمارستانی مقاوم به درمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. استاد، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات قارچ‌های تهاجمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. دانشجوی کارشناسی ارشد قارچ‌شناسی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۴. دانشجوی دکتر قارچ‌شناسی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۵. گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۳/۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۴/۳/۱۷ تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۵/۱۳

میکروسکوپی قرار گرفت و هم‌چنین نمونه‌ها روی محیط‌های سابورو دکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل و لیمینگ نوتمن (LNA) کشت داده شدند و به ترتیب بعد از یک هفته در 28°C و دو هفته در 32°C انکوبه شدند. DNA ژنومی مخمر رشد یافته با گلوله‌های شیشه‌ای و فنل کلروفرم استخراج شد (۱۲). به منظور تقویت ناحیه D1/D2 زیر واحد بزرگ rRNA از دو پرایمر NL1 و NL4 استفاده گردید. واکنش و تعیین توالی محصولات PCR و تعیین گونه مخمر بر اساس متد قبلاً شرح داده شد، صورت گرفت (۱۲).

یافته‌ها و بحث

در بررسی میکروسکوپی و کشت ۷ (۳/۵ درصد) نمونه مخمر مشاهده شد. میانگین سنی کودکان با کلونیزاسیون مخمری 42 ± 34 روز بود. در PCR، قطعه هدف ۶۲۰ نوکلئوتیدی از ناحیه مورد نظر تقویت شد (تصویر شماره ۱). بر اساس تعیین توالی محصول PCR و تطبیق (مشابهت ۹۹ تا ۱۰۰ درصد) توالی‌های به دست آمده با توالی‌های موجود در بانک ژنی تمامی ایزوله‌های مخمری ک. آلیکنس شناسایی شدند.



تصویر شماره ۱: الکتروفورز ۷ محصول PCR (۶۲۰ bp) رانده شده بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد؛ M: مارکر مولکولی ۱۰۰ bp؛ N: کنترل منفی

در مطالعه حاضر که اولین مطالعه در خصوص کلونیزاسیون قارچ‌های مخمری در کودکان ختنه نشده در ایران می‌باشد، میزان پایین کلونیزاسیون ک. آلیکنس (۳/۵ درصد) را نشان داد و علی‌رغم استفاده از

مبتلا به ولوواژینیت کاندیدایی اتفاق می‌افتد (۵)، گرچه ناقلین خود می‌توانند از طریق تماس جنسی به دیگران انتقال دهند (۶). گونه‌های کاندیدا مسبب ۵/۵ درصد موارد عفونت‌های ادراری در کودکان زیر ۱۲ سال (۷) و ک. آلیکنس از ۹۷ درصد موارد کشت ادرار جدا می‌شود (۸). در ایران وقوع کاندیدوری را ۵/۲ درصد در کودکان ۱ تا ۱۴ ساله و شیوع بالاتر را در موارد بدون علائم یادآور شده‌اند (۹). هرچند وقوع کاندیدوری در کودکان سالم ممکن است به عنوان آلودگی و یا کلنیزاسیون و عواقب کمی را بدنبال داشته باشد، ولی در بیماران در معرض خطر نشانگر عفونت ادراری مهاجم و علامتی از عفونت سیستمیک می‌باشد و باید مورد بررسی قرار گیرد (۱۰). عفونت‌های ادراری باکتریایی اکثراً منشأ بالارونده دارند و ناشی از باکتری‌های مستقر در پره‌پوس می‌باشند. ریسک این عفونت‌ها در نوزادان ختنه نشده ۱۰ تا ۲۰ برابر بیش‌تر از ختنه شده است (۱۱). علی‌رغم بروز نسبتاً بالای عفونت و کلونیزاسیون قارچی دستگاه ادراری در ایران هنوز مطالعه‌ای در خصوص تعیین فلورقارچی پوست ناحیه پره‌پوس صورت نگرفته است. لذا این مطالعه با هدف تعیین شیوع کلونیزاسیون مخمری پره‌پوس در کودکان ختنه نشده در شهر ساری انجام شده است.

مواد و روش‌ها

در مطالعه توصیفی-مقطعی حاضر از ۲۰۰ کودک زیر یک سال (میانگین سنی 58 ± 49 روزه گی، طیف سنی ۴ روزه تا ۹ ماهه) مراجعه‌کننده به اتاق عمل سرپایی کلینیک تخصصی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی مازندران در شهر ساری بدون هیچ نوع عارضه جلدی پره‌پوس و عدم استفاده از داروی آنتی‌باکتریال، استروئید و ضد قارچی موضعی در دو هفته گذشته، قبل از انجام عمل ختنه، پس از کسب موافقت آگاهانه از والدین، از سطح داخلی ناحیه پره‌پوس با سواب استریل نمونه‌برداری انجام شد. اسمیر مورد بررسی مستقیم

مطالعه با عدم جدا سازی در مطالعه حاضر باز هم مرتبط با سن جمعیت مورد بررسی می‌باشد. الگوی کلونیزاسیون گونه‌های مالاسزیا بر حسب سن متغیر بوده و در بلوغ با افزایش تولید چربی پوست، افزایش یافته است (۱۴). کلونیزاسیون مخمر مالاسزیا روی پره‌پوس تنها در بالغین خصوصاً در افراد ختنه نشده به دلیل تجمع چربی پوست در پره‌پوس گزارش شده است، چنانچه ممکن است از پوست کودکان زیر ۵ سال هیچ مالاسزیایی جدا نگردد (۱۵، ۱). میزان کم کلونیزاسیون مخمرها در ناحیه پره‌پوس کودکان در مطالعه حاضر براهیمیت انجام ختنه در دوران کودکی و دوره نوزادی که استقرار میکروبیها هنوز کم‌تر است، صحه می‌گذارد. اگرچه برای دستیابی به نتایج قطعی و رفع این تناقضات مطالعات بیش‌تری در خصوص بررسی کلونیزاسیون مخمری کودکان در سنین مختلف چه ختنه شده و نشده ضرورت می‌یابد.

محیط انتخابی (LNA) هیچ مخمر چربی دوست از جنس مالاسزیا جدا نشد. یافته مطالعه حاضر با یافته مطالعه Iskit و همکاران که در زمینه کلونیزاسیون قارچی ناحیه پره‌پوس ۱۱۲ کودک ختنه شده و ختنه نشده به دست آمده بود، تفاوت زیادی دارد. در بررسی این محققین ۲۸/۶ درصد مخمر (۸۷/۵ درصد مالاسزیا و ۱۲/۵ درصد کاندیدا) جدا شد و کلونیزاسیون مخمری در کودکان ختنه نشده در مقایسه با کودکان ختنه شده بیش‌تر بود (۱۳). یکی از تفاوت‌های اصلی نتایج این دو مطالعه می‌تواند ناشی از تفاوت میانگین سنی کودکان (58 ± 49 روز) بسیار پایین‌تر در مقایسه با مطالعه فوق‌الذکر ($6/4 \pm 4/5$ سال) باشد.

در مطالعه‌ای ۴۹/۲ درصد مردان (با غالبیت ختنه نشده) کلونیزاسیون مالاسزیا، ۲۰/۸ درصد کاندیدا و ۱۰/۸ درصد موارد کلونیزاسیون توام مالاسزیا و کاندیدا را داشتند (۱). تفاوت فاحش جداسازی مالاسزیا در این

References

1. Maysner P, Schütz M, Schuppe HC, Jung A, Schill WB. Frequency and spectrum of Malassezia yeasts in the area of the prepuce and glans penis. *BJU Int* 2001; 88(6): 554-558.
2. Lisboa C, Ferreira A, Resende C, Rodrigues AG. Infectious balanoposthitis: management, clinical and laboratory features. *Int J Dermatol* 2009; 48(2): 121-124.
3. Edwards S, Bunker C, Ziller F, van der Meijden WI. 2013 European guideline for the management of balanoposthitis. *Int J STD AIDS* 2014; 25(9):615-626.
4. Aridoğan IA, Izol V, Ilkit M. Superficial fungal infections of the male genitalia: a review. *Crit Rev Microbiol* 2011; 37(3): 237-244.
5. Davidson F. Yeasts and circumcision in the male. *Br J Vener Dis* 1977; 53(2): 121-122.
6. David LM, Walzman M, Rajamanoharan S. Genital colonisation and infection with candida in heterosexual and homosexual males. *Genitourin Med* 1997; 73(5): 394-396.
7. Taneja N, Chatterjee SS, Singh M, Singh S, Sharma M. Pediatric urinary tract infections in a tertiary care center from north India. *Indian J Med Res* 2010; 131: 101-105.
8. Carvalho M, Guimarães CM, Mayer JR Jr, Bordignon GP, Queiroz-Telles F. Hospital-associated funguria: analysis of risk factors, clinical presentation and outcome. *Braz J Infect Dis* 2001; 5(6): 313-318.
9. Seifi Z, Azish M, Salehi Z, Zarei Mahmoudabadi A, Shamsizadeh A. Candiduria in children and susceptibility patterns of recovered Candida species to antifungal drugs in Ahvaz. *J Nephropathol* 2013; 2(2): 122-128.

-
10. Al Benwan K, Al Sweih N, Rotimi VO. Etiology and antibiotic susceptibility patterns of community- and hospital-acquired urinary tract infections in a general hospital in Kuwait. *Med Princ Pract* 2010; 19(6): 440-446.
 11. Anyanwu LJ, Kashibu E, Edwin CP, Mohammad AM. Microbiology of smegma in boys in Kano, Nigeria. *J Surg Res* 2012; 173(1): 21-25.
 12. Fatahi M, Shokohi T, Hashemi Sooteh M, Hedayati M, Okhovatian A, Tamadoni A, et al. Molecular identification of *candida albicans* isolated from the oncology patients at four university hospitals in Mazandaran province (2005-6). *J Mazandaran Univ Med Sci* 2007; 17(61): 1-11.
 13. Iskit S, Ilkit M, Turç-Biçer A, Demirhindi H, Türker M. Effect of circumcision on genital colonization of *Malassezia* spp. in a pediatric population. *Med Mycol* 2006; 44(2): 113-117.
 14. Gupta AK, Kohli Y. Prevalence of *Malassezia* species on various body sites in clinically healthy subjects representing different age groups. *Med Mycol* 2004; 42(1): 35-42.
 15. Aridoğan IA, Ilkit M, Izol V, Ates A. *Malassezia* and *Candida* colonisation on glans penis of circumcised men. *Mycoses* 2005; 48(5): 352-356.