گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل
سال ۱۴۰۰، دوره ۲۳، صفحه ۳۳۶-۳۳۱

شناسایی مولکولی گونه های کاندیدا در نمونه های برونکوآلوئولار لاواژ کودکان بستری دارای اختلالات تنفسی

الهام کاشفی (MSc)[۱]، سید جواد سیدی (MD)[۲]، حسین زرین فر (PhD)[۳*]، عبدالمجید فتی (PhD)[۱]، حسن مهراد مجد (PhD)[۴]، محمدجواد نجف زاده (PhD)[۱]

۱-گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۲-مرکز تحقیقات نوزادان، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۳-مرکز تحقیقات آلرژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۴-مرکز تحقیقات پاتولوژی مولکولی سرطان، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

دریافت: ۱۳۹۹/۸/۲۸، اصلاح: ۱۳۹۹/۱۱/۲۷، پذیرش: ۱۴۰۰/۱/۲۱

خلاصه

سابقه و هدف: عوامل قارچی به خصوص گونه های کاندیدا می توانند عامل عفونت های ریوی قارچی و تهدید کننده حیات در کودکان باشند. این مطالعه به منظور شناسایی ایزوله های کاندیدایی به دست آمده از نمونه های برونکوآلوئولار لاواژ (BAL) کودکان بستری در بیمارستان اکبر مشهد انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی، ۲۱۰ نمونه BAL کودکان بستری دارای اختلالات ریوی طی مدت ۲۷ ماه (اردیبهشت سال ۱۳۹۷ لغایت تیر ۱۳۹۹) مورد بررسی قرار گرفتند. روش های روتین قارچ شناسی شامل آزمایش مستقیم با پتاس ۲۰٪ و کشت روی سابورو دکستروز آگار حاوی کلرآمفنیکل بر روی این نمونه ها انجام گردید. ژنوم کلنی های کاندیدایی به دست آمده، توسط روش Multiplex PCR تکثیر شده و گونه های کاندیدا بر اساس الگوی الکتروفورز به دست آمده شناسایی گردیدند.

یافته‌ها: بیماران مورد مطالعه، ۹۰ نفر زن (۴۲/۹٪) و ۱۲۰ نفر (۵۷/۱٪) مرد بودند و محدوده سنی آنها بین ۲ ماه تا ۱۶ سال و میانگین سنی آنها ۳/۱۶±۴/۶ سال بود. در میان نمونه های بالینی، ۲۰ نمونه (۹/۵٪) دارای نتیجه آزمایش مستقیم و کشت مثبت از لحاظ کاندیدا بودند. ایزوله های کاندیدایی شناسایی شده شامل کاندیدا آلبیکنس ۱۵ مورد (۷۵٪)، کاندیدا دابلینینسیس ۲ مورد (۱۰٪)، کاندیدا پاراپسیلوزیس ۲ مورد (۱۰٪) و کاندیدا تروپیکالیس ۱ مورد (۵٪) بودند. در بین عوامل زمینه ای، گیرندگان کورتیکواستروئید و مبتلایان به نوتروپنی ۷۳ نفر (۳۴/۸٪) بیشترین فراوانی را داشتند.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه نشان داد که کاندیدا آلبیکنس فراوان ترین ایزوله کاندیدایی در نمونه BAL کودکان بستری دارای اختلالات ریوی بود. کودکان کمتر از ۴ سال بیشترین گروه و پنومونی شایع ترین شکل بالینی در مبتلایان به عفونت کاندیدایی بودند.

واژه‌های کلیدی: کاندیدا، کودکان، BAL، ریوی، عفونت.

مقدمه

عفونت های قارچی در ریه ها نسبتاً شایع و به طور بالقوه تهدیدکننده زندگی در کودکان دچار نقص ایمنی هستند (۲و۱). در بیمارانی که به دلیل سرطان، شیمی درمانی می شوند و دریافت کنندگان آنتی بیوتیک های وسیع الطیف و گیرندگان پیوند عضو، مستعد ترین گروه ها برای ابتلا به پنومونی ناشی از عوامل قارچی می‌باشند (۱). شایع ترین عوامل قارچی که مسبب این نوع اختلالات ریوی می‌باشند، کاندیداها و آسپرژیلوس ها می باشند (۴و۳). در عفونت ریوی با عامل کاندیدایی، کاندیدا آلبیکنس، پاتوژن قارچی شایع بوده ولی از گونه‌های دابلینینسیس، تروپیکالیس، گلابراتا، کروزه ای، پاراپسیلوزیس، کفایر و گیلرموندی نیز در ایجاد این عفونت می توان نام برد (۳). اهمیت گونه های غیر آلبیکنس در سال های اخیر، به واسطه بروز مقاومت آنها به برخی داروهای ضد قارچی افزایش پیدا کرده است (۶و۵). با این حال، حساسیت سنین مختلف کودکان نسبت به عفونت کاندیدایی بسیار متفاوت گزارش شده است. در یک مطالعه انجام شده بر روی کودکان، نوزادان ۲-۱ ماهه بستری در بخش ICU بیشترین مبتلایان را به خود اختصاص داده اند (۷). علائم و نشانه های بالینی در عفونت های قارچی اختصاصی نبوده و حتی می تواند بطور همزمان به همراه دیگر عوامل عفونی مشاهده گردند (۱). لذا علائم بالینی به تنهایی نمی تواند در افتراق این نوع عفونت ها کمک کننده باشد و نیاز به بررسی های پاراکلینیک می باشد. افتراق عفونت های قارچی از دیگر عفونت های میکروبی و شناسایی دقیق عوامل ایجاد کننده می تواند در درمان هدفمند آنها کمک شایانی کند. برای شناسایی و افتراق دقیق عوامل میکروبی، استفاده از تکنیک های مختلف مولکولی بسیار کمک کننده می باشد (۸). لذا هدف از این مطالعه، شناسایی گونه های قارچی کاندیدا به دست آمده از نمونه های برونش (BAL) کودکان بستری دارای اختلالات ریوی مراجعه کننده به بیمارستان اکبر مشهد می باشد.

▣ این مقاله حاصل پایان نامه الهام کاشفی دانشجوی رشته قارچ شناسی پزشکی و طرح تحقیقاتی به شماره ۹۶۱۹۵۰ دانشگاه علوم پزشکی مشهد می باشد.
* مسئول مقاله: دکتر حسین زرین فر
آدرس: مشهد، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، بیمارستان قائم (عج)، مرکز تحقیقات آلرژی. تلفن: ۸۴۰۳۱۴۱-۰۵۱
E-mail: Zarrinfarh@mums.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1400.23.1.46.5]
[DOI: 10.22088/jbums.23.1.331]

مواد و روش ها

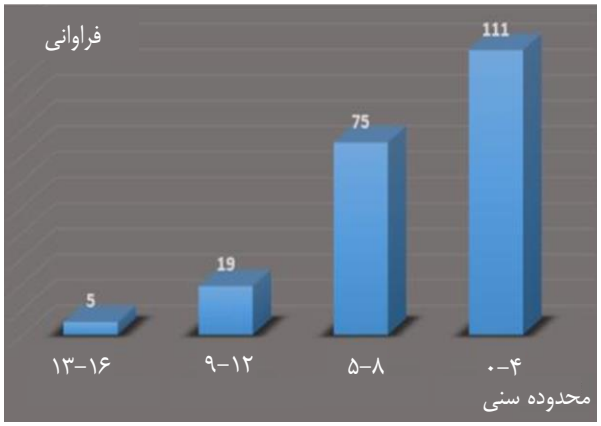
این مطالعه مقطعی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مشهد با کد اخلاق IR.MUMS.MEDICAL.REC.1397.773 بر روی ۲۱۰ نمونه BAL کودکان بستری دارای اختلالات ریوی که توسط یک پزشک فوق تخصص ریه اطفال و با کمک دستگاه برونکوسکوپ، از اردیبهشت ۱۳۹۷ لغایت تیر ۱۳۹۹ نمونه برداری گردید (در یک بازده زمانی تقریباً ۲ ساله) انجام شد. نمونه های برونش کودکان بستری دارای علائم بالینی ریوی وارد مطالعه شدند و نمونه هایی که دارای آلودگی شدید عوامل باکتریایی بوده و تداخل در رشد قارچ های کاندیدا ایجاد می کردند، از مطالعه خارج شدند.

نمونه ها بعد از انتقال به آزمایشگاه، با دور ۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و یک قسمت از مایع ته نشین شده، توسط آزمایش مستقیم و با استفاده از پتاس ۱۰٪ مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند. قسمت دیگر نمونه در محیط کشت سابورو دکستروز آگار (Ibresco) حاوی کلرامفنیکل تلقیح و کشت داده شدند. محیط های کشت در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد و به مدت ۳ روز انکوبه شدند و به دنبال رشد کلنی های مخمری، با استفاده از لوپ استریل قسمتی از کلنی ها بر روی محیط کروم آگار کاندیدا (CHROM agar company, Paris France)، به صورت خطی کشت داده شدند. پلیت ها به مدت ۴۸-۲۴ ساعت مجدداً در ۳۵ درجه سانتی گراد انکوبه گردیده و از لحاظ وجود بیشتر از یک گونه کاندیدایی مورد بررسی و خالص سازی قرار گرفتند (۳). کلنی های مخمری خالص شده با استفاده از روش مولکولی Multiplex PCR و طبق پرایمرها و برنامه PCR ارائه شده توسط Arastehfar و همکاران مورد شناسایی قرار گرفتند (۹). در این روش مولکولی همه پرایمرها (۷ جفت پرایمر) با همدیگر در یک میکروتیوب برای هر نمونه مخلوط شدند.

حجم هر پرایمر ۰/۵ میکرولیتر برای هر نمونه در نظر گرفته شد (حجم نهایی پرایمرها ۷ میکرولیتر)، ۲۰ میکرولیتر مسترمیکس (MasterMix RED Taq Polymerase DNA)، ۲۰ میکرولیتر آب مقطر و ۳ میکرولیتر از DNA مربوطه در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر تهیه شدند. پس از تهیه و تقسیم مواد واکنش، تیوب های PCR به دستگاه ترموسایکلر منتقل و تحت برنامه حرارتی و زمانی زیر تکثیر ژنوم انجام گردید: Initial denaturation ۹۵ درجه سانتی گراد برای ۵ دقیقه (یک سیکل)، Denaturation ۹۵ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه، Annealing ۶۶ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه، Extension ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه (جمعاً ۳۵ سیکل) و Final extension ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۵ دقیقه. پس از پایان واکنش PCR، محصول آن جهت مشاهده روی ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز گردید. داده ها با استفاده از آزمون های کای اسکوئر، تی تست و آزمون دقیق فیشر و به وسیله نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ تجزیه و تحلیل شدند و $p<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

در این مطالعه، از ۲۱۰ کودک بستری شده دارای اختلالات ریوی مورد مطالعه، ۱۲۰ بیمار دارای جنس مذکر (۵۷٪) و ۹۰ بیمار جنس مونث (۴۳٪) بودند. محدوده سنی کودکان مورد مطالعه، از ۲ ماه تا ۱۶ سال متغیر و میانگین سنی آنها ۴/۶±۳/۱۶ سال بود (شکل ۱).



شکل ۱. فراوانی کودکان مستعد دارای اختلالات ریوی بستری شده در بیمارستان اکبر مشهد، برحسب گروه سنی

از لحاظ داشتن نوع عوامل زمینه ای، گیرندگان کورتیکواستروئید با ۲۰۸ نفر (۹۹٪) و مبتلایان به نوتروپنی با ۷۳ نفر (۳۴/۸٪) و نیز از لحاظ علائم اختلالات تنفسی، مبتلایان به پنومونی بیشترین فراوانی را داشتند (جدول ۱). در ضمن، برخی موارد به صورت مشترک و همزمان در چندین بیمار گزارش گردیده است.

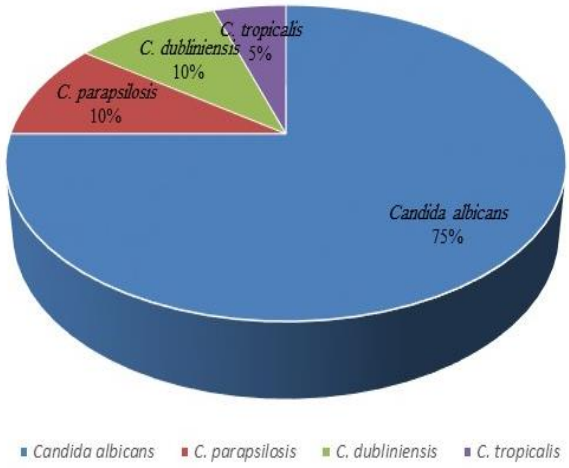
جدول ۱. علائم و اختلالات ریوی و عوامل زمینه ساز در کودکان مستعد بستری شده در بیمارستان اکبر مشهد

	تعداد(درصد)
علائم اختلالات تنفسی	
پنومونی	۵۴(۲۶/۶)
آسم و آلرژی	۲۹(۱۳/۸)
کلاپس	۱۲(۷/۵)
همانژیوم تراشه	۵(۲/۴)
بیماری های ژنتیکی زمینه ای	
سیستیک فیبروزیس	۸(۸/۳)
فاویسم	۳(۵/۱)
مالتیپل اسکلروز	۲(۱)
سندرم داون	۲(۱)
نقص ایمنی مادرزادی	۲(۱)
سایر عوامل زمینه ای	
گیرندگان کورتیکواستروئید	۲۰۸(۹۹)
نوتروپنی	۷۳(۳۴/۸)
هیداتید کیست	۶(۸/۲)
توبرکلوزیس	۴(۲)
لوپوس اریتماتوس	۲(۱)

از بین ۲۱۰ نمونه لاواژ مورد مطالعه، ۲۰ نمونه (۹/۵٪) دارای نتیجه آزمایش مستقیم مثبت (مخمر یا میسلیوم کاذب) و کشت مثبت مخمری بودند. گونه های مخمری شناسایی شده شامل کاندیدا آلبیکنس (Candida albicans)، کاندیدا دابلینینسیس (C. dubliniensis)، کاندیدا پاراپسیلوزیس (C. parapsilosis)، کاندیدا تروپیکالیس (C. tropicalis) بودند (شکل ۲). از ۲۰ کودک مبتلا به عفونت ریوی کاندیدایی، ۱۲ بیمار (۶۰٪) مرد و ۸ بیمار (۴۰٪) زن

[DOR: 20.1001.1.15614107.1400.23.1.46.5]
[DOI: 10.22088/jbums.23.1.331]

بودند. از لحاظ سنی در کودکان مبتلا به عفونت ریوی، ۱۲ بیمار (۶۰٪) تا ۴ سال و ۶ بیمار (۳۰٪) در محدوده سنی ۸-۴ سال و ۲ بیمار (۱۰٪) در محدوده سنی ۱۲-۸ سال بودند. در بررسی ارتباط بین فاکتور سن و مبتلایان به عفونت ریوی کاندیدایی، تفاوت آماری معنی داری نشان داده نشده است. بین فاکتور جنسیت و مبتلایان به عفونت ریوی کاندیدایی، رابطه آماری معنی داری وجود نداشت. همچنین نتیجه به دست آمده از آزمون فیشر (Fisher exact test)، نشان داد که بین گونه های کاندیدایی حاصل شده و جنسیت مبتلایان، اختلاف معنی داری دیده نشد. از کل مبتلایان، ۹ بیمار (۴۵٪)، دچار عارضه نوتروپنی بودند که از طریق آزمون دقیق فیشر، ارتباطی بین نوتروپنی و انواع گونه های کاندیدایی حاصل شده، مشاهده نگردید.



شکل ۲. فراوانی گونه های مختلف کاندیدا در کودکان مستعد دارای اختلالات ریوی بستری شده در بیمارستان اکبر مشهد

بحث و نتیجه گیری

مطابق یافته های این مطالعه، از ۲۱۰ نمونه BAL کودکان مستعد بررسی شده ۲۰ نمونه (۹/۵٪) از نظر عوامل کاندیدایی مثبت شدند. عفونت های قارچی ریوی با عامل قارچ های فرصت طلب بخصوص در بیماران دچار نقص ایمنی از شیوع بالایی برخوردار هستند. این عفونت ها در اغلب موارد، از طریق استنشاق، تماس مستقیم پرسنل بیمارستان و دستگاه های تنفس مصنوعی به بیماران منتقل می شوند (۱۱و۱۰و۳). این عفونت ها می تواند تهدید کننده زندگی در کودکان دچار نقص ایمنی باشد. کاتترهای درون رگی می توانند باعث کاندیدیازیس ریوی به عنوان محل آلوده ثانویه شوند (۱۲). شروع درمان مناسب برای این عفونت های ریوی قارچی، وابسته به تشخیص دقیق و سریع عامل ایجاد کننده بیماری است. در مطالعه حاضر، ۲۰ نمونه (۹/۵٪) از نظر عوامل کاندیدایی مثبت شدند. این میزان درصد فراوانی با تحقیق Anoshirvani و همکاران در سال ۱۳۹۷، با ۹/۵٪ فراوانی و Wood و همکاران در سال ۲۰۰۵، با ۷/۹٪ فراوانی شباهت داشت (۱۴و۱۳)، که می تواند نشان دهنده وضعیت مشابه بیماران مورد بررسی باشد، زیرا هر کدام از بیماری های زمینه ای شرایط ویژه ای را برای ابتلا به عفونت های فرصت طلب مهیا خواهد کرد.

در این مطالعه، شیوع عفونت های ریوی در جنس مذکر، ۶۰٪ و در جنس مونث ۴۰٪ بود که در جنس مذکر، به نسبت شیوع بیشتری داشته است. ولی از لحاظ آماری، اختلاف معنی داری بین جنس و ابتلا به عفونت های قارچی مشاهده نشد و این موضوع در مطالعات دیگر نیز مورد بررسی قرار گرفته بود. در مطالعه Zarrinfar و همکاران نیز در سال ۲۰۱۵، ۶۱٪ مرد و ۳۹٪ زن مبتلا به کاندیدیازیس ریوی بودند (۳). این افزایش شیوع در جنس مذکر نسبت به مونث، احتمالاً به دلیل بیشتر در معرض بودن جنس مذکر با عوامل پاتوژن، شرایط فیزیولوژیک و هورمونی باشد.

در این مطالعه، بیشترین محدوده سنی که درگیر عفونت قارچی ریوی بودند، سنین کمتر از ۴ سال (۶۰٪)، بود که با مطالعه Burgos و همکاران، در سال های ۲۰۰۵-۲۰۰۰، با میانگین سنی ۹/۹ سال و همچنین با بررسی Tschiedel و همکاران، در سال های ۲۰۱۷-۲۰۱۱، با میانگین سنی مبتلایان به عفونت ریوی قارچی، ۶/۵ سال مطابقت نداشت (۱۶و۱۵). این اختلافات، می تواند به علت تفاوت در وضعیت ایمنی بیماران و تعداد موارد مورد بررسی باشد. زیرا در اغلب مطالعات، فاکتور وضعیت ایمنی (ذاتی یا اکتسابی) را مهمترین عامل، معرفی کرده اند.

در این مطالعه، شایع ترین گونه کاندیدایی که از کودکان جدا گردید، Candida albicans (۷۵٪) بود و بعد از آن، C. parapsilosis (۱۰٪)، C. dubliniensis (۱۰٪) و C. tropicalis (۵٪) بودند. در بررسی Stjärne Aspelund و همکاران، بر روی نمونه های BAL افراد دریافت کننده پیوند ریه، عوامل قارچی موجود، شامل: C. albicans (۳۳٪)، Candida non albicans (۱۳٪)، A. fumigatus (۱۷٪)، Aspergillus non fumigatus (۱۲٪)، Penicillium spp. (۹٪)، Fusarium spp. (۲٪) بود (۱۷). در تحقیق Zarrinfar و همکاران، بر روی نمونه BAL بیماران دچار اختلالات تنفسی، C. albicans (۵۲٪)، C. tropicalis (۲۴٪)، C. glabrata (۱۴/۷٪)، C. krusei (۵/۳٪)، C. parapsilosis (۱/۳٪)، C. kefyr (۱/۳٪)، C.guilliermondii (۱/۳٪) مشاهده شد (۳).

همانطور که ملاحظه می گردد C. albicans به عنوان گونه شایع هنوز در بیماران مستعد از عفونت ریوی جدا می گردد که مطابق نتیجه به دست آمده در مطالعه حاضر است. این مطلب می تواند به علت عدم درمان های تجربی این بیماران و کاهش موارد non albicans در این بیماران باشد. زیرا افزایش موارد non albicans به دنبال استفاده بی رویه از داروهای ضد قارچی و بروز مقاومت های دارویی اتفاق می افتد. در مطالعه Kianipour و همکاران بر روی نمونه BAL بیماران دارای اختلال تنفسی گونه های قارچی، C. albicans (۴۲/۹٪)، C. glabrata (۲۸/۷٪)، C. krusei (۱۱/۴٪)، C. tropicalis (۵/۶٪)، C. dubliniensis (۵/۶٪)، C. kefyr (۲/۹٪)، C. guilliermondi (۲/۹٪) مشاهده شد (۱۸).

اختلافات موجود در وجود گونه های ایجاد کننده عفونت های قارچی در مطالعات مختلف می تواند دیگر دلایلی را هم داشته باشد، از جمله روش و تکنیک های آزمایشگاهی مورد استفاده در افتراق گونه های قارچی می تواند باشد، زیرا هر کدام از حساسیت و ویژگی متفاوتی برخوردار می‌باشد. با این حال، شناسایی قطعی ایزوله های قارچی در سطح گونه نیازمند انجام تکنیک‌های مولکولی می باشد (۹). شناسایی ایزوله ها در سطح گونه برای مطالعات اپیدمیولوژیک و

[DOR: 20.1001.1.15614107.1400.23.1.46.5]
[DOI: 10.22088/jbums.23.1.331]

آگاهی برای تصمیمات درمانی و پیش آگهی، نیز می تواند مفید و راه گشا باشد. در بین تکنیک های مولکولی، روش Multiplex PCR، از حساسیت و ویژگی مناسبی برخوردار است که می تواند همزمان از چندین پرایمر در یک میکروتیوب و شناسایی همزمان چندین گونه مختلف، منجر به صرفه جویی در زمان و هزینه ها گردد (۹). لذا در مطالعه حاضر از این تکنیک استفاده گردید و تمام ایزوله های کاندیدایی مورد شناسایی قرار گرفتند. لذا انجام و بکارگیری این تکنیک برای بررسی و شناسایی عوامل مخمری در دیگر آزمایشگاه ها نیز توصیه می گردد.

بر اساس نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر، کودکان مستعد و دارای علائم بالینی ریوی در سنین زیر ۴ سال فراوانی بیشتری را نسبت به بقیه گروه های سنی داشتند. در بین گونه های مختلف کاندیدایی که از ریه این بیماران جدا گردید، C. albicans از بالاترین شیوع برخوردار بود. عفونت ناشی از گونه های کاندیدایی نیز در سنین زیر ۴ سال از فراوانی بیشتری برخوردار بود. در بین عوامل زمینه ای، گیرندگان کورتیکواستروئید و مبتلایان به نوتروپنی بیشترین فراوانی را داشتند.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از پرسنل آزمایشگاه قارچ شناسی و مولکولی بیمارستان قائم (عج)، به خصوص خانم ها شیخی و امینی و آقای دشتی و آزمایشگاه بیمارستان اکبر، آقایان منتظر ابدی و منصوری که در این مطالعه همراهی نمودند، تقدیر و تشکر می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1400.23.1.46.5]
[DOI: 10.22088/jbums.23.1.331]

Molecular Identification of Candida Species in Bronchoalveolar Lavage Specimens of Hospitalized Children with Pulmonary Disorders

E. Kashefi (MSc)[1], S. J. Seyedi (MD)[2], H. Zarrinfar (PhD)*[3], A. Fata (PhD)[1], H. Mehrad-Majd (PhD)[4], M. J. Najafzadeh (PhD)[1]

1.Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, I.R.Iran
2.Neonatal Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, I.R.Iran
3.Allergy Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, I.R.Iran
4.Cancer Molecular Pathology Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 23; 2021; PP: 331-336
Received: Nov 18th 2020, Revised: Feb 15th 2021, Accepted: Apr 10th 2021.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Fungal agents, especially Candida species, can cause fungal and life-threatening lung infections in children. The present study was performed to identify Candida isolates obtained from bronchoalveolar lavage (BAL) specimens of children admitted to Akbar Children's Hospital in Mashhad.

METHODS: In this cross-sectional study, 210 BAL specimens of hospitalized children with pulmonary disorders during 27 months (April 2018 to June 2020) were examined. Routine mycology tests including direct examination with 20% potassium hydroxide (KOH) and culture on Sabouraud dextrose agar containing chloramphenicol were performed for these specimens. The genomic DNA of Candida colonies were amplified by Multiplex PCR, and Candida species were identified based on the electrophoresis pattern.

FINDINGS: The patients included 90 females (42.9%) and 120 females (57.1%) and their age range was between 2 months to 16 years and their mean age was 4.6±3.16 years. Among clinical specimens, 20 specimens (9.5%) had direct microscopic results and positive culture for Candida. Identified Candida isolates included C. albicans in 15 cases (75%), C. dubliniensis in 2 cases (10%), C. parapsilosis in 2 cases (10%) and C. tropicalis in 1 case (5%). Among the underlying factors, corticosteroid receptors and patients with neutropenia had the highest frequency (73 patients, 34.8%).

CONCLUSION: The results of the study showed that C. albicans was the most common Candida isolate in the BAL specimen of hospitalized children with pulmonary disorders. Children under 4 years of age were the most affected group and pneumonia was the most common clinical form in patients with Candida infection.

KEY WORDS: *Candida, Children, BAL, Pulmonary, Infection*.

Please cite this article as follows:

Kashefi E, Seyedi SJ, Zarrinfar H, Fata A, Mehrad-Majd H, Najafzadeh MJ. Molecular Identification of Candida Species in Bronchoalveolar Lavage Specimens of Hospitalized Children with Pulmonary Disorders. J Babol Univ Med Sci. 2021; 23: 331-6.

*Corresonding Author: H. Zarrinfar (PhD)
Address: Allergy Research Center, Ghaem Hospital, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, I.R.Iran
Tel: +98 51 8403141
E-mail: Zarrinfarh@mums.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1400.23.1.46.5]
[DOI: 10.22088/jbums.23.1.331]

References

1.Katragkou A, Fisher BT, Groll AH, Roilides E, Walsh TJ. Diagnostic imaging and invasive fungal diseases in children. J Pediatric Infect Dis Soc. 2017;6(suppl-1):S22-S31.

2.Anantasit N, Nuntacharruksa N, Incharoen P, Preutthipan A. Clinical and pathological correlation in pediatric invasive pulmonary aspergillosis. Front Pediatr. 2018;6:31.

3.Zarrinfar H, Kaboli S, Dolatabadi S, Mohammadi R. Rapid detection of Candida species in bronchoalveolar lavage fluid from patients with pulmonary symptoms. Braz J Microbiol. 2016;47(1):172-6.

4.Zarrinfar H, Saber S, Kordbacheh P, Makimura K, Fata A, Geramishoar M, et al. Mycological microscopic and culture examination of 400 bronchoalveolar lavage (BAL) samples. Iran J Public Health. 2012;41(7):70-6.

5.Arastehfar A, Daneshnia F, Hafez A, Khodavaisy S, Najafzadeh M-J, Charsizadeh A, et al. Antifungal susceptibility, genotyping, resistance mechanism, and clinical profile of Candida tropicalis blood isolates. Med Mycol. 2020;58(6):766-73.

6.Price MF, LaRocco MT, Gentry LO. Fluconazole susceptibilities of Candida species and distribution of species recovered from blood cultures over a 5-year period. Antimicrob Agents Chemother. 1994;38(6):1422-4.

7.Charsizadeh A, Nikmanesh B, Ahmadi B, Jalalizand N, Jafari Z, Rahmani M, et al. Frequency of Candida species isolated from patients in children's Medical Center, Tehran, Iran. Arch Pediatr Infect Dis. 2018;6(1):e62410.

8.Reyes-Montes MDR, Acosta-Altamirano G, Duarte-Escalante E, Salazar EG, Martínez-Herrera E, Arenas R, et al. Usefulness of a multiplex PCR for the rapid identification of Candida glabrata species complex in Mexican clinical isolates. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2019;61:e37.

9.Arastehfar A, Fang W, Pan W, Lackner M, Liao W, Badiee P, et al. YEAST PANEL multiplex PCR for identification of clinically important yeast species: stepwise diagnostic strategy, useful for developing countries. Diagn Micr Infec Dis. 2019;93(2):112-9.

10.Rolston KV. The spectrum of pulmonary infections in cancer patients. Curr Opin Oncol. 2001;13(4):218-23.

11.Zarrinfar H, Makimura K, Satoh K, Khodadadi H, Mirhendi H. Incidence of Pulmonary Aspergillosis and Correlation of Conventional Diagnostic Methods with Nested PCR and Real-Time PCR Assay Using BAL Fluid in Intensive Care Unit Patients. J Clin Lab Anal. 2013;27(3):181-5.

12.Arastehfar A, Bakhtiari M, Daneshnia F, Fang W, Sadati SK, Al-Hatmi AM, et al. First fungemia case due to environmental yeast Wickerhamomyces myanmarensis: detection by multiplex qPCR and antifungal susceptibility. Future Microbiol. 2019;14(4):267-74.

13.Anoushiravani AA, Moini A, Hajihossein R, Alimoradian A, Didehdar M. Investigation of pulmonary fungal infections in immunocompromised patients. Tehran Univ Med J. 2019;77(5):308-13. [In Persian]

14.Wood GC, Mueller EW, Croce MA, Boucher BA, Fabian TC. Candida sp. isolated from bronchoalveolar lavage: clinical significance in critically ill trauma patients. Intensive Care Med. 2006;32(4):599-603.

15.Burgos A, Zaoutis TE, Dvorak CC, Hoffman JA, Knapp KM, Nania JJ, et al. Pediatric invasive aspergillosis: a multicenter retrospective analysis of 139 contemporary cases. Pediatrics. 2008;121(5):e1286-94.

16.Tschiedel E, Goralski A, Steinmann J, Rath P-M, Olivier M, Mellies U, et al. Multiplex PCR of bronchoalveolar lavage fluid in children enhances the rate of pathogen detection. BMC Pulm Med. 2019;19(1):132.

17.Stjärne Aspelund A, Hammarström H, Inghammar M, Larsson H, Hansson L, Riise GC, et al. Microbiological findings in bronchoalveolar lavage fluid from lung transplant patients in Sweden. Transpl Infect Dis. 2018;20(6):e12973.

18.Kianipour S, Emami Ardestani M, Dehghan P. Identification of Candida albicans and Candida dubliniensis species Isolated from bronchoalveolar lavage samples using genotypic and phenotypic methods. Adv Biomed Res. 2018;7:66.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1400.23.1.46.5]
[DOI: 10.22088/jbums.23.1.331]