

بررسی فلور قارچی مخمری گوش خارجی گوساله‌های شیرخوار در منطقه گرمسار

مهدی منصوری^۱، بهزاد احمدوند^{۲*}، افشین رئوفی^۳، صمد لطف الله زاده^۳، مسعود رضا آئینه چیان^۲

۱- گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار - ایران.

۲- دانشکده دامپزشکی و عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار - ایران.

۳- گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

* نویسنده مسئول: drbehzad206@yahoo.com

دریافت مقاله: ۲۰ مهر ۸۹، پذیرش نهایی: ۲۰ اسفند ۸۹

Survey of milk sucker calves external ear yeast fungal flora in Garmsar region

Mansoori, M.², Ahmadvand, B.^{*1}, Raoufi, A.³, Lotfollah zadeh, S.³, Aeenechian, M.R.¹

¹Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Garmsar Branch. Garmsar- Iran.

²Faculty of Veterinary Medicine and member of Young Researchers Club, Islamic Azad University, Garmsar Branch. Garmsar- Iran.

³Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran.

Abstract

The presence of fungi on the surface of animal's bodies have special importance regarding pathogenicity in related animals in addition to potential for transmission to human beings, poisoning and allergy. The present study was conducted to survey the external ear canal fungal flora of suckling calves under 3 months old. For this purpose, 25 apparently healthy calves from both sexes were selected randomly from different traditional cattle farms in Garmsar district with desert climate. Sampling was conducted using strill swabs on both ears of each animal, and finally 50 samples were collected and transmitted to laboratory. In present study, three yeast genus including: *Rhodotorula* (One isolate), *Cryptococcus* (One isolate), *Malassezia* (Seven isolate), and two unknown yeast isolate were diagnosed. *M. globosa*, *M. restricta*, *M. pachydermatis*, and *M. sympodialis* were isolated from *Malassezia* genus. Fungal infestation in left ear was more than right ear but difference between them was not significant. Totally, 11 isolates were separated from external ear canal of suckling calves and findings of this study can be effective in treatment of external otitis in the future. *J. Vet. Microbiol.* 7,1:19-23, 2011.

Keywords: Fungal flor, Sucker calves, yeast fungi, External ear canal.

یکصد هزار گونه مختلف از قارچ‌ها شناسایی شده است. با این حال از میان گونه‌های شناخته شده عمدتاً حدود ۱۵۰ گونه توانایی ایجاد بیماری در انسان و حیوانات را دارا هستند.

چکیده

حضور قارچ‌ها در سطح بدن حیوانات علاوه بر بیماری‌زایی در حیوانات مخزن می‌تواند از نظر انتقال به انسان و بروز موارد مسمومیت و آلرژی حائز اهمیت باشد. تحقیق حاضر با هدف بررسی فلور قارچی مخمری کانال گوش خارجی گوساله‌های شیرخوار زیر ۳ ماه به انجام رسید. تعداد ۲۵ رأس گوساله جوان نر و ماده سالم از گاوداری‌های سنتی گرمسار با آب و هوای گرم و خشک کویری به طور تصادفی انتخاب و از هر گوساله ۲ نمونه گوش مجزا و نهایتاً ۵۰ نمونه با کمک سوآب مرطوب استریل تهیه شد و مورد آزمایش قرار گرفت. در این تحقیق ۳ جنس مخمری شناسایی شد که شامل مالاسزییا ۷ ایزوله، رودوترولا ۱۱ ایزوله و کریپتوکوکوس ۱ ایزوله و ۲ ایزوله مخمری ناشناخته بود. از جنس مالاسزییا گونه‌های گلوبوزا، رستریکتا، پاکیدرماتیس و سمپودیالیس شناسایی شدند. گوش چپ نسبت به گوش راست آلودگی بیشتری داشت ولی این اختلاف معنی دار نبود. در مجموع تعداد ۱۱ ایزوله مخمری از کانال گوش خارجی گوساله‌های شیرخوار زیر سه ماه جدا شد. نتایج تحقیق حاضر کمک شایانی به چگونگی درمان موارد ابتلا به اوتیت خارجی در آینده خواهد داشت. مجله میکروبیولوژی دامپزشکی، ۱۳۹۰، دوره ۷، شماره ۱، ۱۹-۲۳.

واژه‌های کلیدی: فلور قارچی، گوساله‌های شیرخوار، مخمر، کانال گوش خارجی.

مقدمه

قارچ‌ها ارگانسیم‌های یوکاریوتی هستند که حرکت (به استثنای امیست‌ها) و فتوسنتز نمی‌کنند و تاکنون متجاوز از



عنوان قارچ شناخته شده آن ناحیه به حساب آید، در حالی که همان قارچ در منطقه ای دیگر جز قارچ های کم اهمیت و غیر مهم محسوب شود. محیط و منطقه تاثیر خود را با توجه به فاکتورهای مهمی نظیر دما، pH، فشار اکسیژن، نور و رطوبت اعمال می کند. قارچهای ساپروفیت در تجزیه ترکیبات آلی و بالطبع چرخش مواد غذایی در مکان های طبیعی و کشاورزی نقش اساسی دارند. قارچ ها می توانند تقریباً از تمامی ترکیبات آلی استفاده کنند و در این مورد می توان به سلولز اشاره کرد که فراوان ترین پلیمر طبیعی موجود در روی زمین بوده و توسط قارچ ها تجزیه می شود (۲-۴).

واژه مخمر تعریف مشخصی ندارد. این واژه عموماً برای بیان ویژگی های قارچهای تک سلولی بکار می رود که با جوانه زدن و به ندرت شکاف خوردن تکثیر می شوند و بعضی از آنها مر حله تولید مثل جنسی نیز دارند. مخمرها جزء فلور نرمال دستگاه گوارش و دستگاه تناسلی حیوانات و انسان هستند. بسیاری از مخمرها ریسه کاذب تولید می کنند. ظاهر مخمرها به شناسایی آنها کمک می کند. با این حال تشخیص نهایی شان معمولاً به آزمون های بیوشیمیایی نیاز دارد. برای شناسایی مخمرها از روش هایی چون توانایی رشد در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد آزمون لوله زایا، آزمون جذب کربوهیدرات، آزمون تخمیر و غیره نیز بر حسب مورد استفاده می شود (۳).

اوتیت خارجی یک از بیماری های مهم عفونی در گوساله های جوان است که گاهی گوساله ها را درگیر می کند لذا دانستن فلور قارچی گوش خارجی به عنوان اطلاعات پایه کمک شایانی به درمان موارد اوتیت خارجی می نماید. از انجایی که تا کنون در خصوص تعیین فلور قارچی مخمری گوش خارجی گوساله های شیر خوار زیر سه ماه به طور اختصاصی بررسی ای صورت نگرفته تحقیق حاضر بر آن شد که این مهم را به انجام برساند.

مواد و روش کار

منطقه گرمسار با آب و هوای گرم و خشک کویری تانیمه کویری و پوشش گیاهی ضعیف با جمعیت دامی متوسط و دارای دامداریهای سنتی فراوان و صنعتی کم می باشند. از این منطقه تعداد ۵۰ نمونه گوش از ۲۵ راس گوساله نرو ماده زیر ۳ ماه که همگی از شیر درجیره غذایی خود استفاده می کردند و از لحاظ سلامت در وضعیت مطلوبی بسر می بردند از گاوداری های سنتی

عفونت های حاصله از قارچ ها دارای طیف وسیعی بوده و بسته به محل آن به پنج گروه عفونت های سطحی، جلدی، مخاطی، زیر جلدی و احشایی طبقه بندی می شوند. هر چند عفونت های احشایی می توانند کشنده باشند ولی انواع سطحی و جلدی غالباً محدود و قابل بهبود می باشند. قارچ ها را می توان به دو گروه بیماریزا و فرصت طلب تقسیم نمود (۲).

در حالی که گروه اول قادرند افراد و حیوانات سالم را گرفتار سازند قارچ های فرصت طلب در مواردی که میزبان به نوعی مستعد ابتلا گشته باشد، بیماری ایجاد می کنند. pH مناسب برای رشد این ارگانیسم ها حدود ۶ است، با این حال قارچها می توانند مقدار pH بین ۲ تا ۱۰ و گاه خارج این محدوده را تحمل نمایند. قارچ ها هوازی هستند و بیشتر در محدوده دمایی ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتیگراد به بهترین وجه رشد می کنند. قارچ ها عموماً به دو دسته اصلی رشته ای و مخمرها طبقه بندی می شوند. مخمرها پرگنه های موکوئید شبیه پرگنه باکتری ها دارند و این پرگنه ها از سلول های بیضی، کروی و استوانه ای شکل با قطر حدود ۳ تا ۵ میکرون تشکیل شده اند. مخمرها از طریق جوانه زدن و گاه تقسیم دوتایی تکثیر می شوند. برخی مخمرها نظیر کاندیدا آلبیکنس زنجیره ای از سلول های دراز به نام ریسه کاذب در داخل بافت های حیوانات یا محیط های کشت اختصاصی تولید می کنند. قارچها در مقایسه با سایر میکروارگانیسم ها بر روی محیط های کشت آزمایشگاهی از رشد آهسته تری برخوردارند (۲).

فلور میکروبی طبیعی بطور معمول بر روی پوست و غشا مخاطی افراد سالم وجود دارد. میکروارگانیسم هایی که بر روی سطوح بدن وجود دارند همزیست هستند و در حالت نرمال و سلامت خاصیت بیماری زایی ندارند. گروه های خاصی از فلور طبیعی بدن می تواند تحت شرایطی مثلاً ورود به خون، صدمات جلدی، نقص ایمنی و... بیماریزا شوند. از عوامل موثر در حذف میکروارگانیسم ها از پوست می توان به pH پایین، اسیدهای چرب و لیزوزیم اشاره کرد (۱).

امروزه همراه با پیشرفت علم و تکنولوژی، رعایت دقیق تر اصول بهداشتی در گله های بزرگ، انکار ناپذیر می باشد. تحقیقات گوناگون اهمیت گسترده رعایت بهداشت را در مزارع پرورش گوساله به اثبات رسانده است. محیط و شرایط محیطی نقش مهمی در چگونگی پراکندگی قارچها خواهد داشت، بطوری که در یک منطقه، یک نوع خاص از قارچ می تواند به



جدول ۱ - مخمرهای جدا شده از نمونه‌های گوش منطقه گرمسار.

گرمسار مخمر	گوش آلوده	گوش آلوده درصد	گوساله آلوده	گوساله آلوده درصد	تعداد ایزوله
مالاسزیا	۶	۱۲	۶	۲۴	۷
کاندیدا آلبیکنس	-	-	-	-	-
رودوترولا	۱	۲	۱	۴	۱
کریپتوکوکوس	۱	۲	۱	۴	۱
ناشناخته	۲	۴	۲	۸	۲

جدول ۲ - تست‌های افتراقی جهت شناسایی گونه‌های مالاسزیا.

گونه‌های مالاسزیا	کاتالاز	سابورو دکستروز 320c	دیکسون آگار 320c	توئین ۸۰ %/۱	توئین ۴۰ %/۵	توئین ۲۰ %/۱۰
گلوبوزا	+	-	+	-	-	-
اوبتوزا	+	-	+	-	-	-
رستریکتا	-	-	+	-	-	-
اسلوفیه	+	-	+	-	+	+
فورفور	+	-	+	+	+	+
پکی درماتیس	±	+	+	+	+	-
سیمپودیالیس	+	-	+	+	+	-

و با وضعیت بهداشتی ضعیف تهیه شد که این گوساله‌ها در بهار بندهای دسته جمعی و در کنار هم نگهداری می‌شدند. نمونه‌ها همگی از کانال گوش خارجی گوساله‌ها تهیه شد. ابتدا گوساله مورد نظر بعد از گرفتن تاریخچه و ثبت مشخصات توسط دستیار کاملاً مقید شد. سپس درب لوله ای که قبلاً مشخصات گوساله روی آن نوشته شده بود باز و سواب پنبه‌ای استریل درون آن با رعایت کامل نکات بهداشتی و نمونه‌گیری خارج و از کانال گوش خارجی گوساله یک نمونه توسط سواب تهیه شد. بعد از نمونه‌گیری سواب دو باره درون لوله قرار گرفت و درب پنبه‌ای آن نیز بسته شد و نهایتاً به آزمایشگاه ظرف کمتر از ۲ ساعت انتقال یافت. قابل ذکر است نمونه سواب حاصل از هر گوش بطور مجزا بعنوان یک نمونه مورد بررسی قرار گرفت و در واقع تعداد ۵۰ نمونه گوش جهت تحقیق حاضر در نظر گرفته شد. سوابهای نمونه‌گیری جهت مشاهده و شمارش سلول‌های مخمری با دو روش پتاس ۱۰ درصد و رنگ آمیزی گرم مورد مشاهده مستقیم قرار گرفت. از سوابهای نمونه‌گیری روی محیط‌های S و SCC+O گرفت که توسط سواب استریل یک لایه نازک روغن زیتون استریل بعنوان منبع چربی جهت گونه‌های مالاسزیاد در سطح آن پوشیده شده بود بصورت خطی و در حریم شعله و با رعایت کامل اصول کاری آزمایشگاهی کشت داده شد و سپس به انکوباتور یخچال دار انتقال داده و به مدت ۲ هفته در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. این پلیت‌ها بصورت روزانه و مرتب مورد بررسی قرار گرفت و اطلاعات نمونه‌ها ثبت و از پرگنه‌های قارچی رشد کرده Sub culture تهیه شد و این عمل تاخالص سازی کامل قارچ ادامه یافت. شناسایی ایزوله‌های مخمری به کمک بررسی مورفولوژی ماکروسکوپی با توجه به مجموعه ای از

ویژگی‌ها شامل رنگ، حالت، سرعت رشد پرگنه، کشت روی S فاقد روغن، دیکسون تغییر یافته، تست کاتالاز و توانایی مصرف توئین و بررسی مورفولوژی میکروسکوپی توسط رنگ آمیزی گرم، رنگ آمیزی بانیکروزین، تولید کلامید و سپور به روش پلیت دالمائو و آزمون لوله زایا انجام گرفت. نتایج حاصل از کارهای آزمایشگاهی توسط آزمون T مورد آنالیز آماری قرار گرفت.

نتایج

در این تحقیق ۳ جنس مخمری مورد شناسایی قرار گرفت که شامل مالاسزیا ۷ ایزوله، رودوترولا ۱۱ ایزوله و کریپتوکوکوس ۱ ایزوله بود. تعداد نمونه‌های آلوده به مخمر در مجموع ۱ نمونه بود. تعداد ۲ ایزوله مخمری ناشناخته بود. از جنس مالاسزیا گونه‌های گلوبوزا (۴ ایزوله)، رستریکتا (۱ ایزوله)، پاکیدرماتیس (۱ ایزوله) و سمپودیالیس (۱ ایزوله) مورد شناسایی قرار گرفت. مخمر جنس کاندیدا در این تحقیق جدا نشد. لازم به ذکر است که در مورد تمام نمونه‌های مثبت از لحاظ مخمری، بررسی میکروسکوپی مستقیم و کشت با هم، هم‌خوانی داشت. گوش چپ نسبت به گوش راست آلودگی بیشتری داشت ولی این اختلاف معنی دار نبود. در مجموع تعداد ۱۱ ایزوله مخمری از کانال گوش خارجی گوساله‌های شیر خوار زیر سه ماه جدا شد.



ایجاد عفونت در حیوان میزبان، انتقال به حیوانات دیگر و انسان و ایجاد آلرژی و بطور کلی از نظر اپیدمیولوژی یک و بهداشت عمومی حائز اهمیت می باشد. کرسپوو همکاران در سال ۲۰۰۲ گونه های مالاسزیا را از ۵۸ درصد گاوها و ۲۸ درصد گوسفندها جدا کردند که گونه های سیمپودیالیس، گلوبوزا و رستریکتازا گوسفند و گونه های سیمپودیالیس، فورفور، گلوبوزا و رستریکتازا گاو گزارش گردید. در این مطالعه مالاسزیا پاکیدرماتیس از گاو و گوسفند جدا نشد ولی گونه های چربی دوست از ۶ گاو و ۵ گوسفند جدا شد (۵). دوراته و همکاران در سال ۱۹۹۹ مخمر جنس مالاسزیا را از ۳۴/۶ درصد از کانال گوش خارجی گاوهای سالم مورد تحقیق خود جدا کردند، ضمناً ۵۴ درصد از گاوهای مبتلا به اوتیت گوش خارجی از نظر آلودگی به جنس مالاسزیا مثبت بودند (۸). این محققین در سال ۲۰۰۲ گونه های مالاسزیا گلوبوزا، فورفور، سیمپودیالیس و اسلوفیه را از ناحیه گوش خارجی گاو بعنوان فلور طبیعی جدا کردند (۷). در سال ۲۰۰۳ همین محققین توانستند گونه مالاسزیا سیمپودیالیس و مالاسزیا گلوبوزا را از گوش گاوهای سالم بعنوان شایعترین گونه جدا سازی نمایند که این دو گونه بترتیب در فصول تابستان و زمستان غالب بودند. بنابراین تحقیق مشخص شد که رطوبت و دما می تواند مهمترین فاکتور در اپیدمیولوژی بیماری های مالاسزیا و کلونیزه شدن آن در انسان و حیوان باشد (۶). در مطالعه دیگر توسط این تیم، جنس مالاسزیا بعنوان مهمترین جنس جدا شده و کاندیدا، رودوترولا، اسپریژیلوس و میسلیوم استریل از گوش گاوهای مبتلا به اوتیت میکروبی جدا گردید (۹). در سال ۲۰۰۴ حسینی و همکاران توانستند ۲ گونه مالاسزیا سیمپودیالیس و گلوبوزا از گاو و گوسفند در دو منطقه آب و هوایی گرم و خشک و مرطوب مورد مطالعه خود جدا سازی نمایند که ۹۰ درصد از این ایزوله ها از ناحیه گوش خارجی دامها جدا شده بود (۱). در سال ۲۰۰۲ بررسی های پینتر و همکاران حضور مالاسزیا پاکیدی درماتیس را بعنوان تنها گونه جدا شده از گله خوک های تحت بررسی به اثبات رساند (۱۰).

در تحقیق حاضر فلور قارچی کانال گوش خارجی گوساله های شیر خوار زیر سه ماه در شهرستان گرمسار مورد بررسی قرار گرفت. در مجموع ۳ جنس متفاوت از قارچ های مخمری شامل مالاسزیا، رودوترولا، کریپتوکوکوس مورد جدا سازی و شناسایی واقع شد. ولی از جنس کاندیدا مخمری



شکل ۱ - نمونه مخمر بعد از رنگ آمیزی گرم (بزرگنمایی ۱۰۰).

بحث و نتیجه گیری

قارچ ها از منابع مختلف شامل آب، خاک، هوا و ترکیبات آلی در حال فساد، گیاهان، حیوانات و انسان جدا سازی شده اند. قارچها بدلیل توانایی رشد نامحدود و در حضور انواع سوبسترا، در میان تمامی میکروارگانیسمها منحصربه فرد هستند. حضور قارچها در طبیعت از جنبه های مختلف نظیر بیماریزایی در حیوانات و انسان، ایجاد موارد مسمومیت و آلرژی، تولید انواع مختلفی از سموم قارچی تحت عنوان میکوتوکسینها و نقش آنها در تعادل اکوسیستم زیست محیطی حائز اهمیت ویژه است (۱). حدود ۱۵۰ گونه از قارچها توانایی ایجاد بیماری در انسان و حیوان را دارا هستند. در این میان قارچ مالاسزیا بعنوان یکی از مهمترین مخمرهای بیماریزا در حیوانات و انسان مورد توجه قرار گرفته است. عفونت های ناشی از این قارچ در انسان شامل تینه آورسیکالر، فولیکولیت، دندروف، درماتیت سبوره و غیره است. در میان حیوانات، مهمترین عارضه ناشی از گونه های مالاسزیا، عفونت گوش خارجی است که تحت عنوان اوتیت خارجی گوش مطرح بوده و عموماً در سگ و گربه و گوساله گزارش گردیده است. این مخمر به عنوان فلور طبیعی پوست انسان و بعنوان بخشی از فلور طبیعی پوست و مجرای گوش خارجی حیوانات بزرگ مثل گاو و اسب و گوسفند و خوک مطرح است (۴). بررسی های اندکی روی فلور قارچی قسمت های مختلف سطح بدن حیوانات گوناگون از جمله گاو، گوساله، سگ و گربه و ... توسط محققین انجام شده است. بررسی فلور قارچی قسمتهای مختلف بدن حیوانات از جنبه های گوناگون نظیر امکان فراهم شدن شرایط لازم جهت



8. Duarte, E. R. (1999) Prevalence of *Malassezia* spp. in the ears of asymptomatic cattle and cattle with otitis in Brazil. *Medical Mycology*, **37**(3): 159-162.
9. Duarte, E. R. (2001) Prevalence of yeasts and mycelial fungi in bovine parastitic otitis. *Medical Mycology*, **37**: 130-133.
10. Pinter, L. T., Anthony, R. M. (2002) Apparent cross-infection with single strain of *Malassezia pachydermatis* on a pig farm. *Acta Veterinaria Hungarica*, **50**(2): 151-156.

جدان‌نشد. هیچکدام از گوساله‌های تحت بررسی بطور کامل دارای گوش‌های استریل فاقد هرگونه ایزوله قارچی نبودند. تعداد ۶ عدد از گوش‌ها به عنوان گوش استریل گزارش شد. در حالی که تعداد گوش‌های چپ استریل تنها یک عدد بود. بین جنس نرو ماده تفاوتی در استقرار فلور قارچی وجود نداشت. نتایج بدست آمده در این مطالعه با نتایج حاصل از تحقیق سایرین همخوانی داشته و آنها را مورد تأیید قرار می‌دهد. به علاوه تحقیق حاضر برای اولین بار در ایران حضور قارچ‌های مخمری نظیر مالاسزیا گلوبوزا، رستریکتا، سیمپودیالیس و پاکیدرماتیس و جنس کریبتوکوکوس، رودوترو لادر کانال گوش خارجی گوساله‌های جوان شیرخوار زیر ۳ ماه بعنوان فلور طبیعی به اثبات می‌رساند. قابل ذکر است مالاسزیا پاکیدرماتیس بعنوان تنها گونه غیروابسته به چربی، برای اولین بار از گاوهای سالم و خصوصاً در تحقیق حاضر از گوساله‌های جوان به عنوان فلور جدا گردید.

منابع

- ۱- حسینی، ا. (۱۳۸۳) بررسی شیوع گونه‌های مالاسزیادار ناحیه گوش گاو و گوسفند در شهرستان‌های آمل و گرمسار، پایان نامه دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار.
- ۲- رزاقی ابیانه، م. (۱۳۸۴) قارچ شناسی عمومی دامپزشکی، انتشارات موسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی، چاپ اول.
- ۳- زارعی محمودآبادی، ع. (۱۳۸۲) قارچ شناسی پزشکی، جلد اول، انتشارات دارالنشر اسلام.
- ۴- سالمی، ا. (۱۳۸۷) قارچ شناسی و بیماریهای قارچی در دامپزشکی، انتشارات سپهر، نیکخواه.

5. Crespo, M. J., Abarca, M. L. (2002) Occurrence of *Malassezia* in horses and domestic Ruminants. *Mycoses*, **45**: 333-335.
6. Duarte, E. R. (2003) Factors associated with the prevalence of *Malassezia* species in the external ears of cattle from the state of Minas Gerais, Brazil. *Medical Mycology*, **41**(2): 137-142.
7. Duarte, E. R. (2002) Identification of atypical strains of *Malassezia* spp. from cattle and dog. *Canadian Journal of Microbiology*, **48**: 749-752.

