مقاله اصیل پژوهشی

بررسی نقش ضد قارچی سرومن گوش مراجعین به بیمارستان شهید بهشتی بابل

دکتر سعید مهدوی عمران[۱]، دکتر کیوان کیاکجوری[۲]، دکتر رمضان رجب نیا[۳]، دکتر شهریار اصغرزاده[۴]، محمدرضا یوسفی[۵]، مریم السادات شفیعی[۶]، ملیحه محمدی سقا[۶]

چکیده

زمینه و هدف: سرومن گوش ترکیبی از ترشحات غدد مختلفی است که در بررسی‌های مختلف، اثرات متناقضی برای آن ذکر شده است. از طرفی دیگر، نظر به وجود تناقضاتی در مورد اثرات ضد قارچی سرومن و عدم انجام مطالعه‌ای در مورد اثر ضد قارچی سرومن گوش در ایران، تحقیق حاضر برای مشخص کردن اثرات ضد قارچی سرومن گوش افراد سالم مراجعه کننده به بیمارستان شهید بهشتی بابل انجام پذیرفت.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی- آزمایشگاهی، اثر ۳۰ نمونه سرومن گوش افراد مراجعه کننده به کلینیک گوش و حلق و بینی بیمارستان شهید بهشتی بابل، به روش میکرودایلوشن مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش روی رشد چهار قارچ آسپرژیلوس فومیگاتوس، آسپرژیلوس نیجر، کاندیدا آلبیکانس (سوش بالینی) و کاندیدا آلبیکانس استاندارد ($PTCC_{۵۰۲۷}$) با استفاده از محلول ۱۰ درصد سرومن در بافر گلیسرول در میکروپلیت الیزا به همراه کنترل‌های مثبت و منفی به صورت دوتایی انجام شد. در ادامه حداقل غلظت مهار کامل و یا ۹۰ درصد و ۵۰ درصد به دست آمد.

یافته‌ها: محدوده سنی افراد شرکت کننده، بین ۲ تا ۸۵ سال بود. در این روش ۷۰/۸۳ درصد نمونه‌های مورد آزمایش، اثرات ضد قارچی از خود بروز دادند ($MIC_{۵۰}$) که بیشترین اثر بر روی آسپرژیلوس فومیگاتوس و نیجر (هر کدام با ۲۶ نمونه) و کمترین اثر بر روی سویه کاندیدا آلبیکانس (۱۶ نمونه) مشاهده شد ($P = ۰/۰۰۳$). اثر کشندگی سرومن روی آسپرژیلوس نیجر بیشتر از دیگر قارچ‌ها بود.

نتیجه‌گیری: نتایج به دست آمده در این بررسی نشان داد که سرومن روی قارچ‌های مورد مطالعه اثر ضد قارچی دارد.

واژه‌های کلیدی: سرومن گوش، فعالیت ضدقارچی، آسپرژیلوس نیجر، آسپرژیلوس فومیگاتوس، کاندیدا آلبیکانس، میکرودایلوشن.

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۸۹؛ ۱۷(۳): ۱۸۹-۱۹۷

دریافت: ۸۸/۶/۱۱ اصلاح نهایی: ۸۹/۴/۲۸ پذیرش: ۸۹/۴/۲۹ درج در پایگاه وب: ۱۳۸۹/۷/۲۸

[۱] استادیار، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران.
[۲] نویسنده مسؤول؛ استادیار، گروه گوش، حلق و بینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران.
آدرس: بابل، دانشگاه علوم پزشکی بابل، دانشکده پزشکی، گروه گوش، حلق و بینی.
پست الکترونیکی: *kia_ko13358@yahoo.com*
[۳] استادیار، گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران.
[۴] پزشک عمومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران.
[۵] مربی، عضو هیأت علمی، گروه انگل شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، ایران.
[۶] کاردان، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران.

مقدمه

سرومن یا واکس گوش، مخلوطی از ترشحات غدد مولد چربی و غدد مولد سرومن همراه با بقایای سلولی است. این ماده با خواص حفاظتی، به عنوان یک پاک کننده و عامل لیز کننده برای کانال گوش خارجی عمل می‌کند و حاوی ایمونوگلوبولین‌ها و لیزوزیم می‌باشد. احتمال وجود ترکیبات باکتریواستاتیک نیز وجود دارد (۲، ۱). از این رو در بعضی از مطالعات پیشنهاد شده است که سرومن انسان، گوش خارجی را در مقابل عفونت‌های باکتریایی و قارچی و حتی ویروسی محافظت می‌کند (۴، ۳). همچنین فقدان سرومن سبب از بین رفتن حفاظت فیزیکی کانال گوش خارجی به وسیله سرومن و ایجاد عفونت شده است؛ ضمن این که مهار رشد برخی از میکرواورگانیسم از جمله باکتری‌ها به وسیله سرومن گزارش شده است (۵، ۲). در یک بررسی مشخص شد که رشد کاندیدا آلبیکانس در مجاورت با ۲۹ نمونه از ۳۱ نمونه سرومن مهار می‌شود. ضمن این‌که این اثر به صورت کامل روی پسودوموناس (عامل اوتیت باکتریایی) وجود داشت. سرومن اثر ضد میکرواورگانیسمی نیز دارد که وابسته به نوع اورگانیسم است (۷، ۶). این اثر ضد میکرواورگانیسمی هم در سرومن افراد سالم و هم در سرومن افراد مبتلا به اوتیت عودکننده گوش خارجی مشاهده شده است و در بین آن‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (۲).

البته نظریات مخالفی نیز وجود دارد که سرومن گوش قادر به جلوگیری از عفونت نیست؛ زیرا وجود مواد مغذی در جرم گوش مانند اسیدهای آمینه، اسید چرب، کلسترول، تری گلیسرید و بسیاری دیگر سبب رشد باکتری‌ها و قارچ می‌گردد (۲). در مطالعه‌ای با استفاده از سرومن مرطوب روی کاندیدا آلبیکانس اثر ضد کاندیدایی قابل ملاحظه‌ای از آن مشاهده نشد (۳). ارتباط مداوم گوش خارجی با ارگانیسم‌های مختلف از جمله قارچ‌ها سبب ایجاد اتومایکوزیس توسط قارچ‌های مختلف می‌شود که از این بین آسپرژیلوس‌ها به ویژه آسپرژیلوس نیجر شایع‌ترین عوامل ایجاد کننده آن می‌باشند (۱۰–۸)؛ ضمن این که قارچ‌های دیگر شامل مخمرها به خصوص کاندیدا آلبیکانس نیز در ایجاد اتومایکوزیس نقش دارند (۱۱، ۹).

با توجه به مطالب فوق و این نکته که در کشورمان در زمینه اثرات ضد قارچی سرومن سالم تحقیقی انجام نشده بود؛ از این رو در این مطالعه اثر ضد قارچی سرومن افراد سالم روی تعدادی از قارچ‌های رشته‌ای و مخمری مورد بررسی قرار گرفت.

روش تحقیق

در این مطالعه تجربی– آزمایشگاهی، تعداد ۳۰ نمونه سرومن به روش نمونه‌گیری غیر احتمالی آسان از افراد مراجعه کننده به درمانگاه گوش و حلق و بینی بیمارستان آموزشی– درمانی شهید بهشتی بابل مورد آزمایش قرار گرفت که به تشخیص پزشک متخصص فقط به دلیل داشتن جرم و توده در مجرای گوش خارجی جهت شستشو مراجعه کرده بودند. بیماران دارای عفونت باکتریایی یا قارچی، سابقه عمل جراحی یا وجود تومور و یا هر گونه عارضه‌ای در گوش یا بیماری سیستمیک، از مطالعه خارج شدند. سرومن‌ها توسط پزشک متخصص گوش و حلق و بینی، با کمک ساکشن، Curet و یا Loop برداشته شد. در هنگام انجام این عمل از هیچ‌گونه مواد نرم کننده سرومن به دلیل احتمال اختلال در آزمایشات استفاده نشد. سرومن‌ها پس از خارج شدن از گوش بلافاصله در پلیت یک بار مصرف استریل قرار داده شده، به آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بابل منتقل شدند. سرومن‌ها در بافر گلیسرول ۳۰ درصد (شامل ۳۰ درصد گلیسرول و ۵ درصد بی‌کربنات سدیم ($NaHCo_3$) و۷۰ درصد آب) با اسیدیته ۷/۸–۸/۰ حل شدند تا غلظت ۱۰ درصد آن به دست آید. سرومن از فیلتر با منفذ ۰/۲ میکرومتر عبور داده شد و در ادامه، استریل بودن آن پس از قرار دادن در مقابل اشعه ماوراء بنفش و کشت در محیط سابورو دکستروز آگار، مورد تأیید قرار گرفت.

در این بررسی قارچ‌هایی انتخاب شدند که نقش بیشتری در ایجاد اتومایکوزیس دارند. این قارچ‌ها شامل آسپرژیلوس فومیگاتوس و آسپرژیلوس نیجر (جدا شده از اتومایکوزیس)،

کاندیدا آلبیکانس (جدا شده از بیمار واژینیتی) و کاندیدا آلبیکانس استاندارد (تهیه شده از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به شماره $PTCC_{۵۰۲۷}$) بود؛ که با روش‌های معمول قارچ‌شناسی شناسایی و تأیید شدند.

در روش میکرودایلوشن، گونه‌های قارچی در لوله‌های حاوی محیط سابورو دکستروز آگار به همراه کلرامفنیکل (در ۲ سری) کشت و در دمای ۳۷–۳۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس سوسپانسیونی از مخمرها و کونیدیای ۴۸ ساعته با ۲ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی درست شد (البته برای تهیه سوسپانسیون کونیدیایی قارچ‌های مخمری از رقت ۰/۱ درصد توئین ۸۰ استفاده گردید) و با استفاده از لام نئوبار (Neubauer's chamber) تعداد نهایی کونیدیا و یا مخمرها به $۱۰^{۳} \times ۲/۵$ عدد در هر میلی‌لیتر رسانده شد. آزمایش حساسیت یا مقاومت قارچ‌ها در حجم کم (میکرودایلوشن) با استفاده از روش توصیه شده کمیته ملی استانداردسازی آزمایشگاه‌های بالینی (National Committee for Standards Clinical Laboratory یا NCCLS) انجام گرفت (۱۲). بر همین اساس از محیط $RPMI_{۱۶۴۰}$ همراه با ال- گلوتامین بدون بی‌کربنات و حاوی شاخص تعیین اسیدیته (شرکت Gibco، امریکا) به همراه ۲ گرم در لیتر بی‌کربنات سدیم ($NaHCo_{۳}$ شرکت مرک، آلمان) و بافر ۳- (ان- مورفولینو) پروپان سولفونیک اسید { propane (N- Morpholino) sulfunic acid -۳} یا MOPS (شرکت سیگما ۰۷۴K۵۴۴۸) به میزان ۳۴/۵۳ گرم در هر لیتر محیط کشت استفاده شد. برای انجام کار، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محیط PRMI در هر حفره از پلیت‌های ته‌گرد استریل دردار ۹۶ خانه‌ای الیزا (شرکت Sarstedt، امریکا) ریخته شد. در هر ردیف از میکروپلیت الیزا، ۸ حفره جهت تهیه رقت‌های سرومن و نیز حفره‌هایی برای کنترل مثبت (محیط کشت و سوسپانسیون قارچی)، منفی (محیط کشت بدون میکروارگانیسم به همراه ۱۰۰ میکرولیتر سرومن) و حلال (محیط کشت و بافر با غلظت مساوی به کار رفته در اولین حفره) در ۲ سری در نظر گرفته شد. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون قارچی به تمام حفرات غیر از حفره مربوط به کنترل منفی اضافه گردید. پلیت‌ها در گرم‌خانه (انکوباتور) با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با همزن (شیکر) ۲۰۰ بار در دقیقه (Heidolph unimax$_{۱۰۱۰}$، Inkubator، Germany) قرار داده شد.

برای تعیین غلظت مهاری و کشندگی سرومن، پس از ۴۸ ساعت، مقدار ۱۰ میکرولیتر از مخلوط همگن شده سوسپانسیون حفره‌های شفاف، روی پلیت‌های با قطر ۶ سانتی‌متری استریل (شرکت تجهیزات پزشکی سوپا- ایران) حاوی محیط کشت سابورو دکستروز آگار به همراه کلرامفنیکل تلقیح گردید. با اضافه کردن یک میلی‌لیتر آگاروز مذاب با دمای ۵۰–۴۵ درجه سانتی‌گراد حاوی آگاروز ۰/۶ درصد (شرکت مرک K۳۸۴۵۲۶۷۴۱۰۹) و ۰/۹ درصد نمک طعام (شرکت مرک آلمان) به پلیت و حرکت دورانی، سوسپانسیون در سطح پلیت به صورت مساوی (به طور تقریبی ۹۰ درصد) پخش شد. پلیت‌های تلقیح شده در گرم‌خانه (انکوباتور) با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت حداکثر ۴۸ ساعت نگهداری شده، پس از آن با شمارش تعداد کلنی رشد کرده در هر پلیت و اعمال ضریب ۱۰۰، تعداد مخمر موجود در هر میلی‌لیتر از محیط به دست آمد. بر اساس تعداد کلنی و با توجه به تعداد مخمر موجود در تلقیح اولیه، حداقل غلظت کشندگی (MFC یا Minimum Fungicidal Concentration) یا کمترین غلظتی از سرومن که سبب مهار کامل رشد قارچ گردد و نیز حداقل غلظت مهاری (MIC یا Minimum inhibitory concentration) با مهار ۹۰ درصد و ۵۰ درصد رشد قارچ، مشخص گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات سن و جنس و نیز مقادیر غلظت مهاری هر کدام از نمونه‌های سرومن و قارچ‌ها وارد نرم‌افزار آماری $SPSS_{۱۵}$ شده، با استفاده از روش آماری آنالیز واریانس مورد تجزیه و تحلیل آماری

قرار گرفت. اختلاف در حد ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

این مطالعه در سال ۸۷-۱۳۸۶ بر روی ۳۰ مراجعه کننده به کلینیک گوش و حلق وبینی انجام گرفت که در محدوده سنی ۱۶ سال تا ۸۵ (۲۰/۳۳ ± ۴۶/۶) سال قرار داشتند. میانگین سنی مردان ۲۱/۴۷ ± ۵۷/۰۸ سال و میانگین سنی زنان ۱۵/۶۹ ± ۳۸/۵۹ سال بود (جدول شماره ۱).

جدول ۱. توزیع جنسی و سنی بیماران در بررسی اثر ضدقارچی سرومن، بابل

گروه‌های سنی	زن	مرد
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
۱۰-۱۹	۱ (۳/۳۳)	۰ (۰)
۲۰-۲۹	۶ (۲۰)	۲ (۶/۶۷)
۳۰-۳۹	۴ (۱۳/۳۴)	۱ (۳/۳۳)
۴۰-۴۹	۲ (۶/۶۷)	۲ (۶/۶۷)
۵۰-۵۹	۲ (۶/۶۷)	۱ (۳/۳۳)
۶۰-۶۹	۱ (۳/۳۳)	۱ (۳/۳۳)
۷۰-۷۹	۱ (۳/۳۳)	۵ (۱۶/۶۷)
۸۰-۸۹	۰ (۰)	۱ (۳/۳۳)
جمع	۱۷ (۵۶/۶۷)	۱۳ (۴۳/۳۳)

سرومن‌ها در رقت ۰/۸ ± ۱/۹۴ درصد دارای اثر کشندگی روی قارچ‌های مورد بررسی بود. این اثر در رقت‌های حداقل ۰/۱۶ درصد و حداکثر ۲/۵ درصد دیده شد. با استفاده از آزمون آماری اختلاف معنی‌داری از نظر غلظت مهاری مشاهده نشد ($P > ۰/۰۹۹$). کشندگی سرومن تنها در ۲۰ درصد از موارد مشاهده شد و در ۸۰ درصد از بقیه موارد، سرومن هیچ اثر کشندگی روی قارچ‌ها نداشت. این اثر مهاری روی آسپرژیلوس نیجر (۳۰ درصد) بیشتر از دیگر قارچ‌ها به دست آمد (جدول شماره ۲ و شکل شماره ۱).

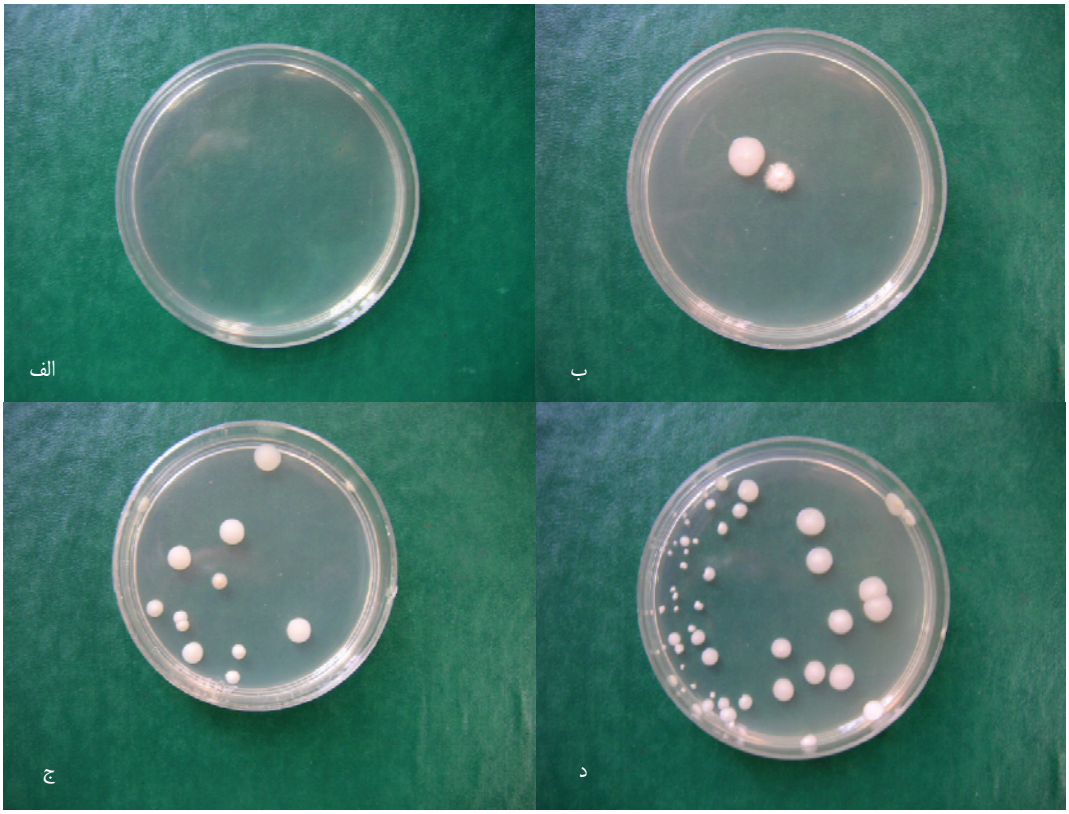
اثر ۹۰ درصد مهار رشد ($MIC_{۹۰}$) در غلظت ۰/۸۸ ± ۱/۷۲ درصد با حداقل ۰/۰۸ درصد و حداکثر ۲/۵ درصد مشاهده شد. در بین قارچ‌های مورد آزمایش آسپرژیلوس نیجر با مهار ۴۶/۶۷ درصد از آن توسط سرومن، حساس‌تر از بقیه بود.

سرومن‌های مورد بررسی توانستند در رقت ۰/۸۲ ± ۱/۳۴ درصد با حداقل و حداکثر ۲/۵-۰/۰۲ درصد رشد قارچ‌های مورد آزمایش را به میزان ۵۰ درصد مهار نمایند ($MIC_{۵۰}$). در این بین آسپرژیلوس فومیگاتوس و آسپرژیلوس نیجر هر دو با مهار ۸۶/۶۷ درصد رشد آن‌ها به وسیله سرومن از بقیه قارچ‌ها حساس‌تر بود. آزمون آنالیز واریانس نشان داد که اختلاف بین آن‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار است.

جدول ۲. نتایج اثر مهاری سرومن روی قارچ‌ها به روش میکرودایلوشن

نوع قارچ	$MIC_{۵۰}$ تعداد (درصد)	$MIC_{۹۰}$ تعداد (درصد)	MFC تعداد (درصد)
آسپرژیلوس فومیگاتوس	۱/۲۴[a] ± ۰/۸۲	۱/۸۲ ± ۰/۸۶	۲/۰۶ ± ۰/۶۲
	۲۶ (۸۶/۶۷)	۱۳ (۴۳/۳۳)	۹ (۳۰)
آسپرژیلوس نیجر	۱/۱۳ ± ۰/۷۸	۱/۶۷ ± ۰/۹	۱/۸ ± ۰/۸۶
	۲۶ (۸۶/۶۷)	۱۴ (۴۶/۶۶)	۹ (۳۰)
کاندیدا آلبیکانس	۱/۴۲ ± ۰/۸۲	۱/۴۶ ± ۰/۹۹	۱/۴۵ ± ۱/۱۵
	۱۶ (۵۳/۳۳)	۶ (۲۰)	۳ (۱۰)
کاندیدا آلبیکاس استاندارد	۱/۷۶ ± ۰/۷۶	۲/۰۸ ± ۰/۶۴	۲/۵ ± ۰/۰
	۱۷ (۵۶/۶۷)	۳ (۱۰)	۳ (۱۰)
مقادیر **P** آزمون	۰/۰۰۳	۰/۴۸۴	۰/۰۹۹

[a] مقادیر ارایه شده میانگین ± انحراف معیار برحسب میلی‌گرم سرومن در هر میلی‌لیتر می‌باشد



شکل ۱. نتایج مهاری سرومن گوش روی قارچ‌ها پس از کشت روی پلیت
الف. کنترل منفی، ب. MIC۹۰، ج. MIC۵۰، د. کنترل مثبت.

در مجموع، سرومن روی آسپرژیلوس نیجر اثر مهاری بیشتری (۵۴/۴۴ درصد) نسبت به دیگر قارچ‌ها داشت؛ ضمن این که در ۷۹/۱ درصد موارد بدون مهار کامل یا نسبی، در آن‌ها کاهش رشد قارچ‌ها در اثر مجاورت با سرومن مشاهده شد و در ۲۴/۱۶ درصد موارد نیز در رقت‌های بسیار کم سرومن که مربوط به قارچ آسپرژیلوس فومیگاتوس بود، افزایش رشد مشاهده شد.

نتایج بررسی نشان داد که سرومن حاصله از گوش مردان و زنان به ترتیب در رقت‌های ۰/۸۷ ± ۱/۸۳ درصد و ۰/۶۶ ± ۲/۱۱ درصد سبب مهار کامل قارچ شد. حساس‌ترین قارچ‌ها در این دو جنس به ترتیب آسپرژیلوس نیجر و آسپرژیلوس فومیگاتوس بود (جدول شماره ۳). مهار ۹۰ درصد رشد توسط سرومن مردان روی آسپرژیلوس فومیگاتوس و مهار ۹۰ درصد رشد توسط سرومن زنان روی آسپرژیلوس نیجر بیشتر از دیگر قارچ‌ها بود (P = ۰/۰۴۸). رقت‌های ۰/۶۷ ± ۱/۰۷ سرومن مردان و رقت‌های ۰/۸۷ ± ۱/۵۴ سرومن زنان به ترتیب سبب مهار رشد حداقل نیمی از قارچ‌های مورد مطالعه شد که اختلاف آن‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار بود (P = ۰/۰۰۳).

بحث

مطالعه حاضر به بررسی اثرات ضد قارچی سرومن گوش با استفاده از روش میکرودایلوشن پرداخت. در این روش اثر غلظت‌های مختلف سرومن گوش افراد سالم بر روی قارچ‌های آسپرژیلوس فومیگاتوس، آسپرژیلوس نیجر، کاندیدا آلبیکانس و کاندیدا آلبیکانس استاندارد مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ۳۰ نمونه سرومن تهیه گردید که ۷۰/۸۳ درصد از نمونه‌ها دارای $MIC_{۵۰}$، ۳۰ درصد از نمونه‌ها دارای

$MIC_{۹۰}$ و ۲۰ درصد از موارد نیز دارای MFC با تفاوت‌هایی با توجه به نوع قارچ مورد بررسی بودند.

نتایج مطالعه حاضر از این جهت که سبب مهار رشد قارچ‌ها شد با معدود بررسی‌های صورت گرفته در این زمینه قابل مقایسه است (۳) و نقش حفاظتی سرومن را در جلوگیری از ابتلا به اوتیت خارجی تقویت می‌کند؛ گرچه عمده مطالعات صورت گرفته در زمینه نقش مهاری سرومن مربوطه به اثرات ضد باکتریایی می‌باشد. Lum و همکاران در ۹۳/۵ درصد از نمونه‌های سرومن اثرات ضد کاندیدایی مشاهده نمودند (۶)؛ در حالی که این میزان مهار در بررسی حاضر ۷۰/۸۳ درصد بود و اثر ضدکاندیدایی آن نیز ۵۰ درصد مشاهده شد. علت این اختلاف به تفاوت در روش مطالعه و تفاوت در سویه گونه کاندیدا آلبیکانس بوده است؛ (۶، ۳). Chai و همکار این فرضیه را مطرح نمودند که سرومن، میکروارگانیسم‌های گوش را از بین می‌برد (۱۳).

بررسی حاضر نشان داد که سرومن روی قارچ‌های مختلف دارای اثرات متفاوتی است. چنین نتایجی در مطالعات دیگر روی ارگانیسم‌های مختلف از جمله باکتری‌ها نیز مشاهده شد (۱۴، ۱۳)؛ حتی مطرح شده است که ارگانیسم‌های بیماری‌زا حساسیت بیشتری نسبت به ارگانیسم‌های فرصت‌طلب در مقابل سرومن دارند. با توجه به این که در بررسی حاضر نیز آسپرژیلوس نیجر دارای حساسیت بیشتری نسبت به گونه‌های دیگر بود، تصور می‌شود که افراد سالم به دلیل دارا بودن سرومن با خاصیت ضد ارگانیسمی، کمتر به بیماری‌های قارچی مبتلا گردند. در مطالعاتی به نقش وجود سلول‌های ایمنی موضعی موجود در سرومن اشاره شده است و نیز تفاوت پاسخ ایمنی افراد دارای اوتیت و افراد سالم، می‌تواند در تأیید اثر ضد قارچی سرومن مطرح باشد (۴). بررسی حاضر نشان داد که سرومن آقایان دارای اثرات ضد قارچی بیشتری نسبت به سرومن جدا شده از خانم‌ها بود. شاید این امر بتواند توجیه کننده اختلاف میزان ابتلای بیشتر خانم‌ها نسبت به آقایان باشد (۱۵).

نتایج بعضی از بررسی‌ها نشان داده است که سرومن روی کاندیدا اثر مهارکنندگی قابل ملاحظه‌ای ندارد (۳) و نیز باکتری‌ها در کنار سرومن رشد بهتری داشته، سرومن مورد آزمایش آن‌ها بیش از آن که اثر مهاری داشته باشند؛ سبب رشد میکروارگانیسم در محیط کشت مایع شده‌اند (۷). در بررسی حاضر نیز در تعدادی از نمونه‌ها افزایش رشد مشاهده شد. به همین علت تصور می‌شود که سرومن افراد نرمال به علت اثر تغذیه‌ای می‌تواند سبب رشد میکروارگانیسم‌ها شود. Pata و همکاران افزایش رشد را در برخی از باکتری‌ها مشاهده نمودند (۲). سرومن آنان همانند بررسی حاضر همه از نوع مرطوب بود؛ گرچه در یک بررسی تفاوتی بین نوع خشک و مرطوب از لحاظ فعالیت ضدقارچی مشاهده نشد (۷). سرومن افراد سالم به دلیل نوع ترکیبات سرومن، دارای اثر ضد میکروارگانیسمس ضعیفی است و حتی از آن به عنوان عوامل زمینه‌ساز یاد شده است (۱۶، ۱۳، ۹). وجود مواد مغذی در جرم گوش مانند اسیدهای آمینه، اسید چرب، کلسترول، تری گلیسیرید و بسیاری دیگر را سبب رشد باکتری‌ها و قارچ‌ها می‌دانند (۱۷، ۲). به موازات این موضوع، گرچه جرم طبیعی گوش نقش حفاظتی در مقابل باکتری‌ها دارد ولی جرم متراکم کهنه می‌تواند شبیه محیط کشت عمل کند و سبب اوتیت خارجی شود (۲).

ترکیب و رطوبت سرومن، محیط کشت مورد استفاده و ویرولانس میکرواورگانیسم از جمله اختلافات اثرات ضد ارگانیسمی سرومن در مطالعه حاضر با دیگر مطالعات می‌باشد (۱۸، ۲). از طرفی این تفاوت و تناقض در حصول نتایج اثرات مهاری و یا تقویت‌کنندگی سرومن روی رشد میکروارگانیسم‌ها می‌تواند به دلیل وجود ترکیبات مختلف مهاری همچون لیزوزیم، وجود ایمنوگلبولین‌های **G**، **M**، **A** پپتیدها و پروتئین‌های تولید شده از غدد ترشح‌کننده سرومن در سطح کانال گوش خارجی، سد فیزیکی برای مهار رشد قارچ، مواد شبیه اینترفرون حاصل از بافت لمفوئیدی با خاصیت ضدعفونی کنندگی و ضد ویروسی و نیز وجود پپتیدهای ضد میکروبی مثل بتا دفنزین ۱و۲ در سرومن باشد (۲۲-۱۹، ۴)؛ چرا که هر کدام از ترکیبات فوق و یا دیگر

عوامل مثل اسیدیته سرومن و همچنین شنا می‌تواند در مهار و یا تقویت رشد قارچ‌های مجرای گوش مؤثر باشد (۲). وجود مواد غذایی مناسب برای رشد قارچها به خصوص در سرومن‌های کهنه در غلظت‌های مختلف می‌تواند عاملی برای رشد بعضی از قارچها باشد (۲۱، ۱۳، ۷).

از طرفی با توجه به نتایج بررسی حاضر که بیشترین اثر ضد قارچی روی آسپرژیلوس مشاهده شده است، می‌توان نتیجه‌گیری نمود که گرچه این قارچ عامل اصلی اتومایکوزیس است (۲۲)؛ ولی به راحتی می‌تواند توسط سرومن مهار شود. اگر نقش محافظتی سرومن نبود احتمال افزایش نقش این قارچ در اتومایکوزیس وجود داشت. با ذکر این نکته که آسپرژیلوس نیجر جزء قارچ‌های به نسبت شایع محیط بوده، با از بین رفتن سد دفاعی مجرای گوش به سرعت در آن رشد می‌کند (۲۳).

در بررسی حاضر گرچه رشد کاندیدا آلبیکانس توسط سرومن به صورت خیلی ضعیف مهار شد ولی پایین بودن قدرت بیماری‌زایی آن سبب شد تا نقش خیلی کمی هم در اتومایکوزیس داشته باشد (۲۵، ۲۴). در مجموع گرچه خطر انتقال بعضی از بیماری‌ها از جمله هپاتیت B توسط سرومن وجود دارد (۲۶)، ولی با توجه به این‌که در یک بررسی از سرومن گوش افراد سالم در درمان سبوره کانال گوش استفاده شد (۲۷)، امکان استفاده از این ماده ممکن خواهد بود. چرا که با شناخت دقیق ماده یا مواد مؤثره سرومن افراد دارای اثر ضد قارچی، می‌توان نسبت به تهیه ترکیباتی اقدام نمود تا شاید بتوان از آن به عنوان داروی پیشگیری کننده و یا کمک درمانی استفاده کرد

نتیجه‌گیری

نتایج این بررسی نشان داد که سرومن رشد قارچها را به طور نسبی مهار نمود؛ از این رو امکان استفاده از سرومن پس از مطالعات بیشتر برای درمان و یا پیشگیری از بعضی از بیماری‌ها وجود خواهد داشت. با توجه به اثر ضد قارچی سرومن در غلظت بالا، شاید سرومن خالص دارای اثرات مفیدی باشد؛ چرا که سرومن طبیعی دارای غلظت بالایی در گوش است. نظر به این‌که در بررسی حاضر اثر ضد قارچی ۳۰ نمونه از سرومن مورد تحقیق قرار گرفت؛ برای نتیجه‌گیری بهتر پیشنهاد بررسی روی نمونه‌های بیشتر و جداسازی مواد مؤثر سرومن می‌شود.

تقدیر و تشکر

در این‌جا نویسندگان مقاله لازم می‌دانند تا از حوزه معاونت تحقیقات و فن‌آوری به خاطر تأمین مالی و از خانم شفیعی و خانم محمدی، کاردانان آزمایشگاه قارچشناسی که در انجام آزمایشات این طرح کمک نمودند، تشکر و قدردانی نمایند.

منابع:

1. Roeser RJ, Ballachanda BB. Physiology, pathophysiology, and anthropology/epidemiology of human earcanal secretions. J Am Acad Audiol 1997; 8(6): 391-400.
2. Pata YS, Ozturk C, Akbas Y, Gorur K, Unal M, Ozcan C. Has cerumen a protective role in recurrent external otitis? Am J Otolaryngol 2003; 24(4): 209-212.
3. Campos A, Betancor L, Arias A, Rodriguez C, Hernȯndez AM, Lopez Aguado D, et al. The influence of human wet cerumen on *Candida albicans* growth. J de Mycol Med 1999; 9(1): 36-8.
4. Sokolov VE, Ushakova NA, Chernova OF, Alimbarova LM, Barinskii IF. The structure of the skin of the external auditory canal and the antiviral activity of the cerumen in carnivorous mammals. Izv Akad Nauk Ser Biol 1996;(4): 430-36.
5. Chai TJ, Chai TC. Bactericidal activity of cerumen. Antimicrob Agents Chemother 1980; 18(4): 638-41.

6. Lum CL, Jeyanthi S, Prepageran N, Vadivelu J, Raman R. Antibacterial and antifungal properties of human cerumen. J Laryngol Otol 2009; 123(4): 375-8.
7. Campos A, Betancor L, Arias A, Rodriguez C, Hernandez AM, Lopez AD, et al. Influence of human wet cerumen on the growth of common and pathogenic bacteria of the ear. J Laryngol Otol 2000; 114(12): 925-9.
8. Kaur R, Mittal N, Aggarwal AK, Mathur MD. Otomycosis: a clinicomycologic study. Ear Nose Throat J 2000; 79(8): 606-9.
9. Ho T, Vrabec JT, Yoo D, Coker NJ. Otomycosis: clinical features and treatment implications. Otolaryngol Head Neck Surg 2006; 135(5): 787-91.
10. Sen B, Asan A. Fungal flora in indoor and outdoor air of different residential houses in Tekirdag City (Turkey): seasonal distribution and relationship with climatic factors. Environ Monit Assess 2009; 151(1-4): 209-19.
11. Paulose KO, Al Khalifa S, Shenoy P, Sharma RK. Mycotic infection of the ear (otomycosis): a prospective study. J Laryngol Otol 1989; 103(1): 30-35.
12. CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard-Second Edition. CLSI document M27-A2 2002; 22(15).
13. Chai TJ, Chai TC. Bactericidal activity of cerumen. Antimicrob Agents Chemother 1980; 18(4): 638-41.
14. Stone M, Fulghum RS. Bactericidal activity of wet cerumen. Ann Otol Rhinol Laryngol 1984; 93(2 Pt 1): 183-6.
15. Fasunla J, Ibekwe T, Onakoya P. Otomycosis in western Nigeria. Mycoses 2008; 51(1): 67-70.
16. Burkhart CN, Kruge MA, Burkhart CG, Black C. Cerumen composition by flash pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry. Otol Neurotol 2001; 22(6): 715-22.
17. Stoeckelhuber M, Matthias C, Andratschke M, Stoeckelhuber BM, Koehler C, Herzmann S, et al. Human ceruminous gland: ultrastructure and histochemical analysis of antimicrobial and cytoskeletal components. Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol 2006; 288(8): 877-84.
18. Osborne JE, Baty JD. Do patients with otitis external produce biochemical different cerumen? Clin Otolaryngol Allied Sci 1990; 15(1): 59-61.
19. Driscoll PV, Ramachandrula A, Drezner DA, Hicks TA, Schaffer SR. Characteristics of cerumen in diabetic patients: a key to understanding malignant external otitis? Otolaryngol Head Neck Surg 1993; 109(4): 676-9.
20. Yoon YJ, Jin Woo Park JW, Lee EJ. Presence of hBD-1 and hBD-2 in human cerumen and external auditory canal skin. Acta Otolaryngol 2008; 128(8): 871-5.
21. Sirigu P, Perra MT, Ferreli C, Maxia C, Turno F. Local immune response in the skin of the external auditory meatus: an immunohistochemical study. Microsc Res Tech 1997; 38(3): 329-34.
22. Mishra GS, Mehta N, Pal M. Chronic bilateral otomycosis caused by Aspergillus niger. Mycoses 2004; 47(1-2): 82-4.
23. Oliveira M, Ribeiro H, Delgado L, Fonseca J, Castel-Branco MG, Abreu I. Outdoor allergenic fungal spores: comparison between an urban and a rural area in northern Portugal. J Investig Allergol Clin Immunol 2010; 20(2): 117-28.
24. Dorko E, Jenca A, Orencak M, Viragova S, Pilipcinec E. Otomycoses of candidal origin in eastern Slovakia. Folia Microbiol (Praha) 2004; 49(5): 601-4.
25. Satoh K, Makimura K, Hasumi Y, Nishiyama Y, Uchida K, Yamaguchi H. Candida auris sp. nov., a novel ascomycetous yeast isolated from the external ear canal of an inpatient in a Japanese hospital. Microbiol Immunol 2009; 53(1): 41-4.
26. Kalcioglu MT, Durmaz R, Ozturan O, Bayindir Y, Direkel S. Does cerumen have a risk for transmission of hepatitis B? Laryngoscope 2004; 114(3): 577-80.
27. Storrs LA. Management of the ear canal seborrhea with cerumen. Laryngoscope 1981; 91(8): 1231-3**.**

Abstract *Original Article*

The antifungal activity of cerumen in healthy people referred to Shahid Beheshti Hospital of Babol, Iran

S. Mahdavi Omran[1], K. Kiakojuri[2], R. Rajabnia[3], S. Asgharzadeh[4], MR. Yousefi[5], M. Shafii[6], M. Mohammadi Sagha[6]

Background and Aim: Ear wax is the combination of different producing gland secretions. According to controversial ideas about the antifungal effects of ear cerumen and lack of any research around this matter in Iran, the present study performed on antifungal activity of cerumen from healthy people referred to Beheshti Hospital, Babol on some fungi.

Materials and Methods: This experimental study was carried out on the 30 ear cerumen samples of healthy people referred to the Shahid Beheshti Hospital of Babol, Iran. The experiment was conducted on 4 type of fungi; *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans* (clinical isolate) and standard *Candida albicans* (PTCC5027) by using of 10% cerumen solution in glycerol buffer, in sterile ELISA micro plate accompanying positive and negative controls (as duplicates); then the antifungal activities of cerumen as minimum fungicidal concentration and minimum inhibitory concentration 90% and 50% on fungi, were obtained.

Results: The average ages of the subjects were between 2-85 years. Minimum inhibitory concentration (MIC_{50}) observed in 70.83%. The most antifungal effect (MIC_{50}) observed on *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus niger* (each 26 samples) and least effect observed on the species of *Candida albicans* (16 samples) (P = 0.003). The *Aspergillus niger* was more sensitive to cerumen than others.

Conclusion: Regarding to the results, cerumen has antifungal effect on tested fungi.

Keywords: Cerumen, Antifungal activity, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, Micro dilution.

Journal of Birjand University of Medical Sciences 2010; 17(3): 197.

Received: 02.09.2009 Last Received: 19.07.2010 Accepted: 20.07.2010 Online Version: 20.10.2010

[1] Assistant Professor, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran.
[2] Corresponding Author; Assistant Professor, Department of Ear, Nose and Throat, School of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol. Iran.
Email: kia_ko13358@yahoo.com
[3] Assistant Professor, Department of Microbiology and Immunology, School of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol. Iran.
[4] General Practitioner, School of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol. Iran.
[5] Instructor, Department of Parasitology, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran.
[6] Department of Medical Parasitology and Mycology (Technologist), School of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran.