تحقیقی

حساسیت دارویی سویه‌های بالینی آسپرژیلوس فلاووس و فومیگاتوس نسبت به داروهای ایتراکونازول و آمفوتریسین B

دکتر علی کاظمی*[1]، دکتر حسین نوروزی[2]، مرحوم دکتر مسعود تشفام[3]، دکتر شهرام تیموریان[4]

۱- استادیار گروه فارماکولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران. ۲- استادیار گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران (ایران).
۳- دانشیار گروه فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم وتحقیقات، تهران. ٤- استادیار گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران (ایران).

چکیده

زمینه و هدف : *آسپرژیلوزیس شایع‌ترین عامل ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی قارچی با منشا خارجی است. این مطالعه به منظور ارزیابی حساسیت دارویی سویه‌های بالینی آسپرژیلوس فلاووس و فومیگاتوس نسبت به داروهای ایتراکونازول و آمفوتریسین B انجام شد.*

روش بررسی : *این مطالعه آزمایشگاهی روی ۲۵ سویه آسپرژیلوس فلاووس و ۲۵ سویه آسپرژیلوس فومیگاتوس جدا شده از بیماران دریافت کننده عضو پیوندی انجام شد. تست حساسیت دارویی طبق استاندارد NCCLS M 38-P انجام شد. سوسپانسیون قارچی از قارچ‌های مذکور با محدوده سلولی CFU/ml ٤$10^{4}$×۵-۰/۵ توسط اسپکتروفوتومتر در ۵۳۰ نانومتر تهیه گردید. رقت‌های سریالی از داروها از µg/ml ۱٦-۰/۰۳۱۲۵تهیه و میزان MIC داروها بعد از ٤۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد تعیین گردید.*

یافته‌ها : *محدوده MIC به دست آمده در مورد سویه آسپرژیلوس فومیگاتوس و آسپرژیلوس فلاووس در برابر ایتراکونازول به ترتیب ٤-۱ و ٤-۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. در حالی که محدوده MIC برای سویه‌های آسپرژیلوس فومیگاتوس و آسپرژیلوس فلاووس در برابر آمفوتریسین B به ترتیب ۲-۰/۵ و ۲-۰/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. میزان MIC آمفوتریسین B به طور معنی‌داری کمتر از ایتراکونازول بود (P<۰/۰۵).*

نتیجه‌گیری : *با توجه به میزان محدوده MIC حاصل از آمفوتریسین B و ایتراکونازول، آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس فومیگاتوس جزء سویه‌های حساس ارزیابی شدند و سویه مقاوم از لحاظ in vitro مشاهده نگردید.*

کلید واژه‌ها : *آسپرژیلوس فلاووس ، آسپرژیلوس فومیگاتوس ، حساسیت دارویی ، آمفوتریسین B ، ایتراکونازول*

* نویسنده مسؤول : دکتر علی کاظمی ، پست الکترونیکی dr_ali_kazemi@yahoo.com

نشانی : تهران، بالاتر از میدان پونک، میدان دانشگاه ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات تهران، تلفن ۸٦۷۰٤۷۳۸-۰۲۱ ، نمابر ۸۸۳۰۱۵۰۵

وصول مقاله : ۹۱/۵/۹ ، اصلاح نهایی : ۹۱/٦/۱۱ ، پذیرش مقاله : ۹۱/٦/۲۸

مقدمه

شیوع بیماری‌های قارچی در دو دهه اخیر به خصوص در افراد دارای نقص سیستم ایمنی رو به افزایش است. عوامل قارچی فرصت‌طلب در محیط زندگی انسان به وفور وجود دارند و می‌توانند سبب آلودگی مواد غذایی و دارویی گردند.

رشته‌های قارچ آسپرژیلوس مسبب بیش از ۹۰درصد عفونت‌های قارچی حاد هستند. گونه‌های قارچ آسپرژیلوس به علت انتشار وسیع در محیط می‌توانند موجب بروز عفونت‌های بیمارستانی گردند. به‌طوری که مهم‌ترین عامل ایجادکننده عفونت بیمارستانی با منشاء اگزوژن هستند (۱). هوا مهم‌ترین وسیله انتقال اسپور این قارچ است و مهم‌ترین راه ورود اسپور قارچ به بدن میزبان، راه تنفسی است (۲).

در بین ٦۰۰ گونه قارچ آسپرژیلوس، گونه‌های فلاووس، فومیگاتوس و نایجر در ارتباط با بیماری‌زایی در نزد میزبان انسانی از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. آسپرژیلوس فومیگاتوس عامل اصلی آسپرژیلوزیس مهاجم گزارش شده است. گرچه دیگر گونه‌های آسپرژیلوس نیز می‌توانند سبب بیماری آسپرژیلوزیس شوند.گونه‌های مختلف آسپرژیلوس نه تنها از جنبه عفونت‌زایی بلکه از لحاظ مقاومت دارویی نیز حائز اهمیت هستند. این قارچ در صورت وجود شرایط استعداد ابتلا، قادر است بیماری را به اشکال مختلف در میزبان ایجاد نماید (۲).

بیماری آسپرژیلوزیس ریوی، جلدی، منتشره و اعصاب مرکزی از اشکال بالینی بوده که فرم تظاهرات بالینی و شدت بیماری حاصله به شرایط فیزیولوژیک میزبان، نوع عضو مبتلا و گونه قارچ آسپرژیلوس بستگی دارد (۳).آسپرژیلوزیس عمدتاً در بیماران

دارای نقص سیستم ایمنی نظیر بیماران مبتلا به ایدز، افراد دریافت کننده پیوند و بیماران مبتلا به دیابت بروز می‌نماید. عامل ایجاد کننده عفونت‌های ریوی آسپرژیلوزیس نیز عمدتاً آسپرژیلوس فومیگاتوس است. قارچ آسپرژیلوس فلاووس به طور عمده با استقرار در سینوس‌های پارانازال قادر به ایجاد سینوزیت است. داروهای پر مصرف در درمان آسپرژیلوزیس شامل پلی‌ان‌ها، آزول‌ها و اکینوکاندین‌ها است (۴). آمفوتریسین B از جمله داروهای پلی‌انی است که با اختلال در بالانس یونی سلول قارچی، نقش خود را اعمال می‌کند (۵).

آزول‌ها نظیر ایتراکونازول و فلوکونازول با مهار آنزیم ۱۴ آلفا دی متیلاز در سلول قارچی اثر ضدقارچی خود را اعمال می‌کنند. در مقابل، قارچ‌ها با تغییر در جایگاه اتصال و عملکرد دارو نسبت به داروهای ضدقارچی مقاومت نشان می‌دهند. در مورد بروز مقاومت به آزول‌ها با تغییردر ژن CYP51 قارچ‌ها به داروهای آزولی مقاوم می‌شوند (۵). پس از کاربرد وسیع داروهای آزولی به دلیل عوارض کمتر نسبت به آمفوتریسین B مقاومت دارویی نسبت به گونه‌های مختلف آسپرژیلوس مشاهده شد. به طوری که در مطالعات مختلف شیوع مقاومت دارویی آزول‌ها به خصوص نسبت به ایتراکونازول از ۲/۱ در دهه ۹۰ میلادی به بیش از ۶ درصد در دهه اخیر افزایش یافته است (۶). مقاومت دارویی به خصوص در بیماران دارای نقص سیستم ایمنی یکی از چالش‌های مهم به شمار می‌رود. به‌طوری که تعداد فراوانی از بیماران دارای نقص سیستم ایمنی به خصوص بیماران دریافت کننده عضو پیوندی در اثر مقاومت دارویی سویه‌های قارچی، جان خود را از دست می‌دهند. تأیید سوش مقاوم در قارچ‌ها، انجام تست حساسیت دارویی و در کنار آن ارزیابی بالینی و ژنتیک قارچ‌ها است. ارزیابی تست حساسیت دارویی ساده‌ترین راه ارزیابی مقاومت دارویی در سویه‌های قارچی است. در صورتی که مقاومت به آمفوتریسین B از طریق تغییر در ژن CAT A رخ می‌دهد که خوشبختانه گزارش‌های بسیار کمی در مورد بروز مقاومت به آمفوتریسین B وجود دارد (۶).

با توجه به اهمیت مقاومت دارویی نسبت به داروهای ضدقارچی، این مطالعه به منظور ارزیابی حساسیت دارویی سویه‌های بالینی آسپرژیلوس فلاووس و فومیگاتوس نسبت به داروهای ایتراکونازول و آمفوتریسین B انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه آزمایشگاهی روی ۲۵ سویه آسپرژیلوس فومیگاتوس و ۲۵ سویه آسپرژیلوس فلاووس جدا شده از بیماران دریافت کننده عضو پیوندی دارای زمینه استعداد ابتلا و بستری در بیمارستان‌های آموزشی دانشگاه علوم پزشکی تهران در سال ۱۳۹۰ انجام شد.

بیماران مبتلا به آسپرژیلوزیس با عامل آسپرژیلوس فومیگاتوس ۲۵ نفر (۱۴ مذکر و ۱۱ مؤنث) با محدوده سنی ۶۵-۱۹ سال و میانگین سنی ۱۲/۸±۴۳/۶ سال بودند.

بیماران مبتلا به آسپرژیلوزیس با عامل آسپرژیلوس فلاووس ۲۵ نفر (۱۵ مذکر و ۱۰ مؤنث) با محدوده سنی ۶۹-۱۹ سال و میانگین سنی ۳/۰۵±۴۴/۵ سال بودند.

تست حساسیت دارویی بر طبق دستورالعمل استاندارد (National Committee for Clinical Laboratory Standards) NCCLS M38-P برای قارچ‌های رشته‌ای انجام شد. به طوری که میزان MIC گونه‌های قارچ آسپرژیلوس بیشتر از ۸ برای داروی ایتراکونازول و بیشتر از ۴ برای داروی آمفوتریسین B مقاوم در نظر گرفته شد (۷).

تعیین دقیق گونه آسپرژیلوس بر مبنای شکل کلونی و مشخصات میکروسکوپیک قارچ انجام گرفت. سویه‌ها پس از تعیین گونه در محیط پوتیتو دکستروز آگار (PDA) کشت داده شدند. از کشت‌های ۷ روزه با ریختن نرمال سالین ۰/۸۵ درصد استریل روی محیط و ایجاد خراش در سطح کلونی‌ها با سر آنس استریل، سوسپانسیون تهیه شده به لوله استریل دیگر منتقل شد. پس از ته‌نشین شدن ذرات به مدت ۵-۳ دقیقه، محلول رویی به لوله‌های استریل دیگر منتقل و به مدت ۱۵ ثانیه ورتکس شدند. جذب نوری سوسپانسیون‌ها با اسپکترفوتومتر در ۵۳۰ نانومتر خوانده شد؛ به طوری که محدوده سلولی حاصل $۰/۵-۵\times۱۰^{۴}$ CFU/ml بود. سوش استاندارد کاندیدا کروزئی ATCC 6258 به عنوان کنترل انجام تست درنظرگرفته شد.

پودر استاندارد داروهای آمفوتریسین B با پوتنسی ۷۵۰ µg/ml (شرکت سیپلا، هند) و ایتراکونازول با پوتنسی ۹۹۰ µg/ml (شرکت روز دارو، ایران) تهیه گردید.

به منظور تهیه رقت‌های دارویی از داروهای مذکور، به علت نامحلول بودن داروها در آب از محلول دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) استفاده شد. در نهایت ۱۰ رقت سریالی برای داروهای ایتراکونازول و آمفوتریسین B از ۱۶-۰/۰۳۱۲۵ µg/ml طبق روش استاندارد تهیه گردید. برای تهیه محلول استوک دارویی با غلظت نهایی (×۱۰۰) ابتدا ۸۰ میلی‌گرم از داروهای مذکور وزن شد و در ۵۰ میلی‌لیتر دی متیل سولفوکساید حل گردید و رقت ۱۶۰۰ µg/ml حاصل شد. سپس با محیط RPMI 1640 (حاوی گلوتامین و بدون بی‌کربنات، بافر شده با مورفولینوپروپان سولفونیک اسید) به نسبت ۱:۵۰ رقیق شد و رقت‌های سریالی از ۱۶-۰/۰۳۱۲۵ µg/ml تهیه شد.

پس از تهیه رقت‌های سریالی از داروهای ایتراکونازول و آمفوتریسین B ۱۰۰ میکرولیتر از داروها به چاهک ۱ تا ۱۰ میکروپلیت‌های ۹۶ خانه ته صاف ریخته شدند. سپس به همان نسبت سوسپانسیون قارچی به میکروپلیت‌ها اضافه شد. دو چاهک به عنوان

کنترل در نظر گرفته شدند. چاهک اول شامل ۱۰۰ میکرولیتر از دارو بدون محیط RPMI 1640 به عنوان شاهد آلودگی دارو و چاهک دیگر حاوی ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون قارچی با محیط RPMI 1640 به عنوان شاهد رشد قارچ بود. هنگامی که رنگ چاهک‌ها کدر شد؛ نتایج خوانده شد. میکروپلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوباسیون گردید. پایین‌ترین غلظت دارو که قارچ بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون در آن غلظت دارویی رشد قابل ملاحظه نداشت به عنوان MIC تعیین شد.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-17 و آزمون ANOVA تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

از ۲۵ نمونه قارچ آسپرژیلوس فلاووس بیشترین نمونه ازسینوس با ۱۸ مورد (۷۲ درصد) و کمترین مورد از ریه با یک مورد (۴درصد) بود.

از ۲۵ نمونه قارچ آسپرژیلوس فومیگاتوس بیشترین نمونه از ریه با ۱۱ مورد (۴۴ درصد) و کمترین مورد از دیسک مهره با یک مورد (۴ درصد) بود (جدول یک).

بیشترین محدوده MIC به دست آمده در مورد سویه‌های قارچ آسپرژیلوس فومیگاتوس در برابر داروی ایتراکونازول به میزان ۱-۴ µg/ml بود. در حالی که کمترین محدوده MIC برای سویه‌های قارچ آسپرژیلوس فلاووس در مورد داروی آمفوتریسین B به میزان ۰/۲۵-۲ µg/ml تعیین شد.

میزان MIC سویه‌های قارچ آسپرژیلوس فلاووس برای داروی ایتراکونازول ۰/۵-۴ µg/ml و در سویه‌های قارچ آسپرژیلوس فومیگاتوس برای آمفوتریسین B ، ۰/۵-۲ µg/ml تعیین گردید.

میانگین MIC حاصله برای داروی آمفوتریسین B در مورد قارچ آسپرژیلوس فلاووس ۱/۱±۰/۱۴ µg/ml بود. در حالی که این میزان برای داروی ایتراکونازول در مورد قارچ آسپرژیلوس فلاوس ۲/۲±۰/۲۶ µg/ml تعیین شد.

میانگین MIC حاصله برای داروی آمفوتریسین B در مورد قارچ آسپرژیلوس فومیگاتوس ۱/۲±۰/۱۲ µg/ml بود. در حالیکه این میزان برای داروی ایتراکونازول در مورد قارچ آسپرژیلوس فومیگاتوس ۲/۳±۰/۲۲ µg/ml تعیین شد.

حدپایین میزان MIC برای داروهای آمفوتریسین B و ایتراکونازول به ترتیب ۰/۲۵ µg/ml و ۰/۵ µg/ml بود.

مقایسه میزان MIC دو داروی مورد مطالعه در مورد قارچ‌های آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس فومیگاتوس کاهش معنی‌داری را در میزان MIC داروی آمفوتریسین B نسبت به داروی ایتراکونازول نشان داد (P<۰/۰۵). میان MIC حاصله از هر دارو و

جدول ۱ : نوع قارچ جدا شده از بیماران به تفکیک سن، جنس و محل استقرار

آسپرژیلوس فومیگاتوس			آسپرژیلوس فلاووس		
سن	جنس	محل جدا شدن قارچ	سن	جنس	محل جدا شدن قارچ
۴۵	مرد	برنش	۶۹	زن	ناخن پا
۵۷	مرد	خلط	۶۱	زن	سینوس
۴۸	زن	ریه	۴۷	مرد	سینوس
۶۱	مرد	سینوس	۴۱	مرد	سینوس
۳۸	مرد	ریه	۵۱	مرد	ریه
۶۱	زن	ریه	۴۷	مرد	برنش
۶۵	مرد	ریه	۶۱	مرد	سینوس
۶۵	زن	خلط	۶۵	زن	سینوس
۴۱	زن	دیسک مهره L2-L3	۶۷	زن	سینوس
۴۸	زن	ریه	۶۹	زن	ناخن
۵۰	مرد	برنش	۴۸	زن	برنش
۵۲	مرد	برنش	۵۶	مرد	برنش
۵۷	مرد	ریه	۵۱	مرد	برنش
۴۳	زن	ریه	۴۹	مرد	سینوس
۳۴	مرد	برنش	۳۸	مرد	سینوس
۴۰	مرد	برنش	۳۱	مرد	سینوس
۴۸	مرد	برنش	۲۸	مرد	سینوس
۳۷	مرد	ریه	۳۷	مرد	سینوس
۲۴	زن	ریه	۲۴	مرد	سینوس
۱۹	مرد	برنش	۱۹	مرد	سینوس
۳۱	مرد	ریه	۳۱	مرد	سینوس
۲۹	زن	سینوس	۲۸	زن	سینوس
۳۲	زن	ریه	۳۷	زن	سینوس
۳۴	زن	برنش	۲۴	زن	سینوس
۳۲	زن	برنش	۳۴	زن	سینوس

ارگانی که سوش قارچی از آن جدا گردید؛ ارتباط آماری معنی‌داری یافت نشد.

بحث

در این مطالعه بیشترین محدوده MIC حاصله در برابر سویه‌های آسپرژیلوس فومیگاتوس برای داروی ایتراکونازول µg/ml ۴-۱ بود که با مطالعات Pfaller و همکاران (۸) و نیز Espinel-Ingroff و همکاران (۹) همخوانی داشت. همچنین کمترین محدوده MIC در این مطالعه در سویه‌های قارچ آسپرژیلوس فلاووس در برابر داروی آمفوتریسین B ، µg/ml ۲-۰/۲۵ بود که با مطالعه Chen و Sobel (۱۰) و مطالعه Barnes و Marr (۱۱) همخوانی داشت.

در این مطالعه میزان MIC حاصله برای داروی آمفوتریسین B در مورد سویه‌های قارچ آسپرژیلوس فومیگاتوس و قارچ آسپرژیلوس فلاووس در محدوده µg/ml ۲-۰/۲۵ بود که با مطالعه Rex و همکاران (۱۲)، مطالعه Shi و همکاران (۱۳) و مطالعه Mosquera و همکاران (۱۴) همخوانی داشت. این امر حاکی از بیان الگوی مشابه در محدوده MIC با پراکندگی کمتر در مورد داروی آمفوتریسین B بین سویه‌های مختلف قارچ است.

در مطالعه Te Dorsthorst و همکاران (۱۵) محدوده MIC قارچ آسپرژیلوس فومیگاتوس برای داروهای آمفوتریسین B و ایتراکونازول به ترتیب µg/ml ۱-۰/۱۲۵ و µg/ml ۵-۰/۲۵ گزارش شد که در مقایسه با مطالعه حاضر میزان کمتری را نشان داد. همچنین محدوده MIC داروی آمفوتریسین B برای قارچ آسپرژیلوس فلاووس µg/ml ۵-۰/۲۵ گزارش شد که حد پایین این محدود با مطالعه حاضر همخوانی داشت و حد بالای آن بسیار کمتر از مطالعه حاضر بود.

در مطالعه هاشمی و همکاران (۱۶) دامنه MIC به دست آمده برای داروی آمفوتریسین B در برابر قارچ آسپرژیلوس فلاووس µg/ml ۴-۰/۵ گزارش شد. حد پایین MIC مطالعه هاشمی و همکاران (۱۶) در قارچ آسپرژیلوس فلاووس با مطالعه ما همخوانی داشت. در صورتی که حد بالای آن از مطالعه حاضر بیشتر بود. در مطالعه هاشمی و همکاران (۱۶) تنها یک سویه قارچ آسپرژیلوس فومیگاتوس با MIC ۲ و ۱ به ترتیب برای داروهای آمفوتریسین B و داروی ایتراکونازول استفاده شد. در صورتی که در مطالعه ما ۲۵ سویه بررسی شد و بازه µg/ml ۲-۰/۲۵ برای داروهای مذکور تعیین شد.

در مطالعه بدیعی و همکاران از ۱۰۸ سویه آسپرژیلوس ۶۳/۹ درصد سویه‌ها به آمفوتریسین B حساس و ۳۶/۱ درصد به داروی مذکور مقاوم ارزیابی شدند. همچنین ۶۹/۴ درصد از سویه‌های آسپرژیلوس به داروی ایتراکونازول حساس و ۳۰/۶ درصد از سویه‌ها به این دارو مقاوم بودند (۱۷) که با مطالعه حاضر به دلیل عدم ارزیابی سویه‌های مقاوم، قابل مقایسه نبود.

در مطالعه دیگری Espinel-Ingroff حساسیت دارویی داروهای مختلف را باروش دیسک‌های دارویی ارزیابی کرد و میزان MIC سویه‌های آسپرژیلوس فومیگاتوس µg/ml ۲-۰/۵ در برابر آمفوتریسین B تعیین شد (۱۸) که با مطالعه حاضر همخوانی داشت.

در مطالعه ما میان MIC حاصله و ارگانی که سوش قارچی از آن جدا گردید؛ ارتباط آماری معنی‌داری نبود. مطالعه دیگری یافت نشد که این ارتباط را معنی‌دار گزارش کرده باشد.

تست حساسیت دارویی مداوم در مراکز تشخیصی و درمانی که پذیرای بیماران دریافت کننده پیوند هستند و مصرف طولانی مدت داروهای کورتیکواستروئیدی و داروهای ضدقارچی به خصوص داروهای آمفوتریسین B و داروی ایتراکونازول را در دستور کار درمانی بیماران قرار می‌دهند؛ ضرورت ویژه دارد. همچنین باتوجه به افزایش تدریجی میزان MIC ایتراکونازول نسبت به سویه‌های بالینی و داشتن عوارض جانبی خطرناک داروی آمفوتریسین B ، حضور داروهای جدید آزولی نظیر وریکونازول به صورت تجاری در ایران توصیه می‌گردد.

نتیجه‌گیری

با توجه به میزان محدوده MIC به دست آمده در مورد آمفوتریسین B و ایتراکونازول ، سویه‌های مورد بررسی جزء سویه‌های حساس ارزیابی شدند و سویه مقاوم از لحاظ in vitro مشاهده نگردید.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب (شماره ۱۶۸۷۵) معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی تهران بود. بدین‌وسیله از همه همکاران، مدیران و مسؤولین آزمایشگاه‌های بیمارستان‌های آموزشی و دانشجویان عزیزی که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند؛ صمیمانه سپاسگزاری می‌نماییم.

References

1. Bueid A, Howard SJ, Moore CB, Richardson MD, Harrison E, et al. Azole antifungal resistance in Aspergillus fumigatus: 2008 and 2009. J Antimicrob Chemother. 2010 Oct;65(10):2116-8.

2. Diekema DJ, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN, Pfaller MA. Activities of caspofungin, itraconazole, posaconazole, ravuconazole, voriconazole, and amphotericin B against 448 recent clinical isolates of filamentous fungi. J Clin Microbiol. 2003 Aug;41(8):3623-6.

3. Spanakis EK, Aperis G, Mylonakis E. New agents for the treatment of fungal infections: clinical efficacy and gaps in coverage. Clin Infect Dis. 2006 Oct;43(8):1060-8.

4. Pfaller M, Boyken L, Hollis R, Kroeger J, Messer S, Tendolkar S, et al. Comparison of the broth microdilution methods of the european committee on antimicrobial susceptibility testing and the clinical and laboratory standards institute for testing itraconazole, posaconazole and voriconazole against Aspergillus isolates. J Clin Microbiol. 2011 Mar;49(3):1110-12.

5. Lass-Florl C. Azole resistance in aspergillosis: the next threat? Curr Fungal Infect Rep. 2009 Sep;3(4):236-42.

6. Howard SJ, Arendrup MC. Acquired antifungal drug resistance in Aspergillus fumigatus: epidemiology and detection. Med Mycol. 2011 Apr;49 Suppl 1:S90-5.

7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifugal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved standard M38-p. 2002. Wayne, PA.

8. Pfaller MA, Duncanson F, Messer SA, Moet GJ, Jones RN, Castanheira M. In vitro activity of a novel broad-spectrum antifungal, E1210, tested against Aspergillus spp. determined by CLSI and EUCAST broth microdilution methods. Antimicrob Agents Chemother. 2011 Nov;55(11):5155-8.

9. Espinel- Ingroff A, Canton E, Fothergill A, Ghannoum M, Johnson E, Jones RN et al. Quality control guidelines for amphotericin B, itraconazole, posaconazole, and voriconazole disk diffusion susceptibility tests with nonsupplemented Mueller-Hinton Agar (CLSI M51-A Document) for nondermatophyte filamentous fungi. J Clin Microbiol. 2011 July; 49(7): 2568-71.

10. Chen A, Sobel JD. Emerging azole antifungals. Expert Opin Emerg Drugs. 2005 Feb;10(1):21-33.

11. Barnes PD, Marr KA. Aspergillosis: spectrum of disease, diagnosis, and treatment. Infect Dis Clin North Am. 2006 Sep; 20(3):545-61, vi.

12. Rex JH, Pfaller MA, Walsh TJ, Chaturvedi V, Espinel- Ingroff A, Ghannoum M, et al. Antifungal susceptibility testing: practical aspects and current challenges. Clin Microbiol Rev. 2001 Oct; 14(4): 643-58.

13. Shi JY, Xu YC, Shi Y, Lü HX, Liu Y, Zhao WS, et al. In vitro susceptibility testing of Aspergillus spp. against voriconazole, itraconazole, posaconazole, amphotericin B and caspofungin. Chin Med J (Engl). 2010 Oct;123(19):2706-9.

14. Mosquera J, Warn PA, Morrissey J, Moore CB, Gil-Lamaignere C, Denning DW. Susceptibility testing of Aspergillus flavus: inoculum dependence with itraconazole and lack of correlation between susceptibility to amphotericin B in vitro and outcome in vivo. Antimicrob Agents Chemother. 2001 May; 45(5):1456-62.

15. Te Dorsthorst DT, Mouton JW, van den Beukel CJ, van der Lee HA, Meis JF, Verweij PE. Effect of pH on the in vitro activities of amphotericin B, itraconazole, and flucytosine against Aspergillus isolates. Antimicrob Agents Chemother. 2004 Aug; 48(8):3147-50.

16. Hashemi SJ, Zaini F, Daie R, Zibafar E , Zakeri MA. [In-vitro susceptibility of Aspergillus species isolated from cutaneous and visceral lesions to antifungal agents]. Tehran Univ Med J. 2011; 69(2) :83-91. [Article in Persian]

17. Badiee P, Alborzi A, Moeini M, Haddadi P, Farshad S, Japoni A, Ziyaeyan M. Antifungal susceptibility of the aspergillus species by Etest and CLSI reference methods. Arch Iran Med. 2012 Jul;15(7):429-32.

18. Espinel-Ingroff A, Arthington-Skaggs B, Iqbal N, Ellis D, Pfaller MA, Messer S, et al. Multicenter evaluation of a new disk agar diffusion method for susceptibility testing of filamentous fungi with voriconazole, posaconazole, itraconazole, amphotericin B, and caspofungin. J Clin Microbiol. 2007 Jun;45(6):1811-20.

Original Paper

Drug susceptibility of Aspergillus flavus and A.fumigatus to Itraconazole and Amphotericin B

Kazemi A (PhD)*[1], Nowrozi H (PhD)[2], Teshfam M (PhD)[4], Teimorian Sh (PhD)[4]

[1]Assistant Professor, Department of Pharmacology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran. [2]Assistant Professor, Department of Laboratory Sciences, School of Allied Medical Sciences, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [3]Associate Professor, Department of Physiology, Islamic Azad University, Science and Research branch, Tehran, Iran. [4]Assistant Professor, Department of Genetics, Faculty of Medical Sciences, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objective: Aspergillosis is the most current causative agent of exogenous fungal nosocomial infection. This study was done to evaluate the drug susceptibility of Aspergillus flavus and A.fumigatus to itraconazole and amphotericin B.

Materials and Methods: This Laboratory study was done on 25 Aspergillus fumigatus and 25 Aspergillus flavus species isolated from transplant's patients. Drug susceptibility test was done according to NCCLS M38-P document. Fungal suspensions of mentioned fungi were supplied with ranges $0.5–5\times10^4$ by spectrophotometer at 530 nm. Serial dilutions of drugs were supplied from 0.03125 to 16 µg/ml and MICs determined following 48h incubation at 35°C.

Results: Obtained MICs ranges for Aspergillus fumigatus and Aspergillus flavus were 1-4 µg/ml and 0.5–4 µg/ml for itraconazole, respectively while MICs ranges against Aspergillus fumigatus and Aspergillus flavus were 0.5-2 µg/ml and 0.25-2 µg/ml for amphotericin B, respectively. Amphotericin B MICs were significantly lower than itraconazole ($P<0.05$).

Conclusion: Aspergillus flavus and A.fumigatus were susceptible to amphotericin B and itraconazole.

Keywords: Aspergillus flavus, Aspergillus fumigatus, Drug susceptibility, Amphotericin B, Itraconazole

*** Corresponding Author: Kazemi A (PhD), E-mail: dr_ali_kazemi@yahoo.com**

Received 30 July 2012 **Revised** 1 September 2012 **Accepted** 18 September 2012

This paper should be cited as: Kazemi A, Nowrozi H, Teshfam M, Teimorian Sh. [Drug susceptibility of Aspergillus flavus and A.fumigatus to itraconazole and amphotericin B]. J Gorgan Uni Med Sci. 2014; 15(4): 66-71. [Article in Persian]