تحقیقی

حساسیت دارویی ایزوله‌های کلینیکی *کاندیدا آلبیکنس* نسبت به داروهای آمفوتریسین B و کتوکونازول به روش میکرودایلوشن و دیسک آگار دیفیوژن

دکتر علی کاظمی[۱]، دکتر حسین نوروزی*[۲]، دکتر مرسا بدیعی مقدم[۳]

۱- استادیار، گروه پرستاری، دانشکده علوم پزشکی، واحد ورامین – پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

۲- استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

۳- دانش آموخته دکتری داروسازی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاداسلامی، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف : *قارچ کاندیدا جزیی از فلور طبیعی بدن انسان و از دسته قارچ‌های فرصت‌طلب محسوب می‌شود. در شرایط ضعف سیستم ایمنی این قارچ می‌تواند سبب بروز کاندیدیازیس گردد. این مطالعه به منظور ارزیابی حساسیت دارویی ایزوله های کلینیکی کاندیدا آلبیکنس نسبت به داروهای آمفوتریسین B وکتوکونازول به روش میکرودایلوشن و دیسک آگار دیفیوژن انجام شد.*

روش بررسی : *در این مطالعه توصیفی –تحلیلی تست حساسیت دارویی ۳۰ سوش کاندیدا آلبیکنس جدا شده از بیماران بستری و سرپایی به دو روش میکرودیلوشن طبق استاندارد M27-A2 CLSI و دیسک آگار دیفیوژن مطابق استاندارد CLSI M44-S2 توسط داروهای آمفوتریسین B و کتوکونازول انجام شد. برای ارزیابی صحت کار از سویه‌های استاندارد کاندیدا آلبیکنس PTCC 5027 و کاندیدا کروزه‌ای PTCC 5295 استفاده شد. حداقل غلظت بازدارندگی رشد (Minimum Inhibitory of Concentration: MIC) تعیین گردید.*

یافته‌ها : *کمترین و بیشترین میزان MIC ($\mu g/ml^{-1}$) نسبت به آمفوتریسین B به ترتیب ۰/۰۶۲۵ و ٤ تعیین شد. در حالی‌که کمترین و بیشترین میزان MIC نسبت به کتوکونازول به ترتیب ۰/۵ و ۳۲ حاصل شد. کمترین و بیشترین قطر هاله در روش انتشار روی دیسک برای هردو دارو به ترتیب ٦ و ۲۸ میلی‌متر بود. نتایج تست حساسیت دارویی در هر دو روش اختلاف در ارزیابی سوش‌های مقاوم و حساس نشان ندادند. ۲۵ نمونه (۸۳/۳ درصد) نسبت به کتوکونازول و ۲ نمونه (٦/۷ درصد) نسبت به آمفوتریسین B مقاوم بودند.*

نتیجه‌گیری : *علی‌رغم محدودیت‌های مصرف آمفوتریسین B، این دارو انتخاب بهتری در درمان کاندیدیازیس نسبت به کتوکونازول است.*

کلید واژه‌ها : *کاندیدا آلبیکنس ، آمفوتریسین B ، کتوکونازول*

* نویسنده مسؤول : دکتر حسین نوروزی ، پست الکترونیکی nowrozi.h@iums.ac.ir

نشانی : تهران، بزرگراه همت، بین بزرگراه چمران و شیخ فضل اله، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پیراپزشکی، تلفن و نمابر ۸۸۳۰۱۵۰۵-۰۲۱

وصول مقاله : ۱۳۹۵/۲/۱۱ ، اصلاح نهایی : ۱۳۹۵/۹/۲۸ ، پذیرش مقاله : ۱۳۹۵/۱۰/۱۱

مقدمه

درمان‌ها و دستاوردهای مهم پزشکی مدرن به وسیله مقاومت دارویی در معرض خطر هستند. استفاده نامناسب و خودسرانه از داروها، عدم تکمیل دوره درمان، کیفیت پایین دارو، پیشگیری و کنترل نامناسب عفونت می‌توانند زمینه مقاومت دارویی را فراهم آورند. طبق آمار مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری ها (CDC) حدود ۵۰ درصد از تمام آنتی‌بیوتیک‌های مصرف شده در درمان عفونت‌ها بی‌مورد بوده و ضرورتی نداشته است (۱). عفونت‌های ناشی از عوامل قارچی فرصت‌طلب بیش از ۹ درصد از کل عفونت‌ها را به خود اختصاص می‌دهند که در سال‌های اخیر به دلایلی چون افزایش شیوع بیماری سل، ایدز، دیابت، سرطان، مصرف داروهای تضعیف کننده سیستم ایمنی و عوامل فیزیولوژیک (حاملگی و کهولت سن) زمینه بروز این عفونت‌ها بیشتر شده است (۲). مخمر *کاندیدا آلبیکنس* جزء فلور طبیعی مخاط بدن و مهم‌ترین عامل کاندیدیازیس است. گرچه گونه های دیگر کاندیدا مثل *کاندیدا گلابراتا، کاندیدا کروزئی و کاندیدا تروپیکالیس* نیز گاهی منجر به کاندیدیازیس می‌شوند (۳). تظاهرات بالینی کاندیدیازیس بسته به موضعی یا سیستمیک بودن بیماری متفاوت است. به‌طوری که عفونت کاندیدایی منتشره، تهدید کننده حیات محسوب می‌شود (۲). داروهای ضد قارچی غالب در درمان بیماری قارچی مختلف شامل پلی‌ان‌ها، آلیل آمین‌ها، تیوکربامات‌ها و آزول‌ها هستند. پلی‌ان‌ها شامل آمفوتریسین B و نیستاتین (ترکیبات ماکرولیدی

دوگانه دوست) هستند. این داروها با ایجاد (Pore) درغشاء سلول قارچی و تداخل در نفوذپذیری غشاء وتداخلات یونی، اثر قارچ‌کشی خود را اعمال می‌کنند. این داروها اختصاصی عمل می‌کنند و کمترین تمایل را به سلول‌های پستانداران و باکتری‌ها دارند (۳). آزول‌ها شامل ایمیدازول‌ها (کتوکونازول، مایکونازول، کلوتریمازول) و تری‌آزول‌ها (فلوکونازول، ایتراکونازول، وریکونازول و پوساکونازول) هستند. اگرچه اغلب آزول‌های ضدقارچی از دسته مهارکننده‌های α-۱۴ لانسترول دی متیلاز هستند؛ ولی ایمیدازول‌ها (کتوکونازول، مایکونازول و اکونازول) عملکرد پیچیده‌ای داشته و علاوه بر مهار سنتز پپتیدهای غشایی، فعالیت چند آنزیم غشایی سلول‌های قارچی را نیز مهار می‌کنند (۴و۵). آمفوتریسین B داروی وسیع‌الطیف است که در مصرف سیستمیک بسیار داروی موثری است؛ اما عوارض جانبی قابل توجهی دارد. این عوارض به دو دسته عوارض مربوط به انفوزیون وریدی و سمیت تجمعی کلیوی تقسیم می‌شوند. داروی کتوکونازول هم نخستین آزول خوراکی بود که کمتر کاربرد سیستمیک دارد. از جمله عوارض این دارو مشکلات گوارشی، تهوع، خارش، راش پوستی و ژنیکوماستی است. ارزیابی تست حساسیت دارویی با توجه به اهمیت مقاومت دارویی به خصوص در مورد داروهای ضدقارچی امری ضروری است. با توجه به شیوع ۹۵-۸۵ درصدی عفونت‌های قارچی واژن در اثر *کاندیدا آلبیکنس*، همچنین افزایش شیوع واژینیت عودکننده در تعدادی از زنان که قبلاً تحت درمان قرار گرفته‌اند؛ اندازه‌گیری فعالیت ضدقارچی داروها در آزمایشگاه در بازه‌های زمانی کوتاه‌مدت و هر منطقه جغرافیایی با استفاده از تست‌های حساسیت دارویی می‌تواند برای درمان ایده‌آل بیماران مبتلا به عفونت‌های مزمن و سیستمیک ضروری باشد. باتوجه به کاربرد فراوان داروهای آزولی و آمفوتریسین B در بالین، این مطالعه به منظور ارزیابی حساسیت دارویی ایزوله های کلینیکی *کاندیدا آلبیکنس* نسبت به داروهای آمفوتریسین B و کتوکونازول به روش میکرودایلوشن و دیسک آگار دیفیوژن انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی – تحلیلی ۳۰ سوش *کاندیدا آلبیکنس* از بیماران بستری و سرپایی بیمارستان رسول اکرم (ص) تهران طی شش‌ماه اول سال ۱۳۹۴ جداسازی شد.

نمونه‌گیری: از دستورالعمل کمیته ملی استاندارد آزمایشگاه‌های بالینی (CLSI) برای انجام تست حساسیت دارویی استفاده گردید. ۱۲۱ نمونه به آزمایشگاه ارجاع شد. ازاین تعداد ۵۶ نمونه واژن، ۲۵ مورد نمونه ادرار، ۲۳ مورد نمونه خلط و ۱۷ مورد نمونه زخم بودند. از نمونه‌ها پس از کشت و آنالیزهای تفریقی، ۳۰ مورد *کاندیدا آلبیکنس* توسط متخصص قارچ‌شناسی پزشکی جداگردید. تولید کلامیدوسپور و بلاستوکنیدی‌ها از الگوهای تشخیص *کاندیدا آلبیکنس* هستند. بازنگری الگوی رشد در محیط کورن میل آگار، شناسایی *کاندیدا آلبیکنس* به‌ویژه سویه‌هایی که تولید لوله زایا در آنها منفی است را مفید می‌سازد. *کاندیدا آلبیکنس* مشابه اغلب سویه‌های کاندیدا در سابورو دکستروز آگار کلنی‌های سفید - کرمی ایجاد می‌کند؛ با این تفاوت که در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد و در مجاورت سیکلوهگزامید قادر به رشد است. *کاندیدا آلبیکنس* دارای توانایی تغییر فنوتیپی در شکل کلنی بوده و تست‌های بیوشیمیایی تخمیر و جذب قندها در تشخیص گونه مخمر بسیار تعیین کننده است.

تهیه سوسپانسیون قارچی: نمونه‌ها ابتدا در محیط سابورودکستروزآگار کشت داده شدند. سپس از لحاظ میکروسکوپی و ماکروسکوپی تعیین گونه گردید. پس از تایید کلنی‌ها، نمونه‌ها مجدداً در محیط Potato Dextrose Agar (PDA) کشت داده شدند. پس از رشد قارچ‌ها در محیط کشت به مدت ۲۴ ساعت، مقدار ۳ سی‌سی نرمال سالین استریل روی محیط کشت ریخته و با خراش پیپت پاستور روی سطح کلونی و تکان آرام محیط، سلول‌های مخمری معلق و پس ازانتقال به لوله استریل به وسیله دستگاه شیکر مخلوط شد. جذب نوری Optical Density (OD) سوسپانسیون قارچی با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر بررسی و نتایج ثبت گردید. جذب نوری بین ۰/۰۸-۰/۱ از لحاظ تعداد سلول قارچی موردنظر مطلوب بود. میزان کونیدی‌ها حدود $۰/۵\times۱۰^{۳}$ CFU/ml^{-1} ۲/۵-۰/۵ بر اساس استاندارد CLSI M-27 A تعیین شد.

تهیه رقت دارویی: تست حساسیت دارویی سویه قارچ *کاندیدا آلبیکنس* نسبت به داروی کتواکونازول وآمفوتریسین B به روش انتشار روی دیسک و روش میکرودیلوشن پروتکل CLSI M-27 انجام شد (۶). پودر استاندارد داروی کتوکونازول (شرکت روز دارو ،تهران) خریداری و به منظور تهیه رقت دارویی از کتوکونازول چون رقت ۱۶۰۰ µg/ml^{-1} نیاز بود؛ ۱۶ میلی‌گرم از دارو توزین شده با ترازوی آنالیتیکال با درجه خلوص ۹۹/۹ در ۱۰ میلی‌لیتر حلال دی متیل سولفوکساید (DMSO) حل شد تا محلول استوک دارویی با رقت مورد نظر حاصل شد. در مورد آمفوتریسین B، ۱۹ میلی‌گرم پودر استاندارد (شرکت سیپلا، هند) با درجه خلوص ۷۵۰ میکروگرم برمیلی‌لیتر در ۱۰ میلی‌لیتر از حلال DMSO حل شد تا رقت ۱۶۰۰ µg/ml^{-1} حاصل شد. سپس به‌منظور تهیه رقت‌های دارویی از محیط کشت RPMI-1640 به نسبت یک به ۵۰ استفاده گردید و ۱۰ رقت سریالی ۳۲-۰/۰۶۲۵ از هر دو دارو تهیه شد.

تست میکرودایلوشن: به منظور ارزیابی اثر داروهای ضدقارچی، میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای ته صاف به ابعاد ۱۲×۸ استفاده شد. در

هر سری یک چاهک کنترل در نظر گرفته شد که محتوی ۰/۱ سی‌سی محیط کشت RPMI 1640 و ۰/۱ سی‌سی سوسپانسیون قارچی رقیق شده بود. در چاهک اول بالاترین رقت دارویی به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر ریخته شد تا چاهک ۱۰ که کمترین رقت دارویی ریخته شد. سپس در هر چاهک ۰/۱ سی‌سی سوسپانسیون قارچ موردنظرافزوده شد و با حرکت رفت و برگشت پیپت مخلوط گردید. رقت‌های دارویی کتوکونازول و آمفوتریسین B در مجاورت قارچ‌ها $\mu g/ml^{-1}$ ۳۲، ۱۶، ۸، ۴، ۲، ۱، ۰/۵، ۰/۲۵/۱۲۵، ۰/۰، و ۰/۰۶۲۵ و تمام میکروپلیت‌ها بدون هیچگونه حرکتی در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. زمانی که لوله کنترل کدر شد؛نتایج تست خوانده شد و میزان حداقل غلظت بازدارندگی رشد (Minimum Inhibitory of Concentration: MIC) تعیین گردید. از سویه‌های استاندارد *کاندیدا کروزئی* PTCC 5295 و *کاندیدا آلبیکنس* PTCC 5027 به منظور صحت عملکرد و کنترل کیفیت کار استفاده شد.

اثر دارو روی قارچ‌ها به روش انتشار روی دیسک: روش دیسک‌گذاری طبق متد CLSI انجام شد. سوسپانسیون قارچی در مراحل قبل به صورت کشت متراکم بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. بعد از حدود ۱۵ دقیقه دیسک‌های استریل کتوکونازول (۱۵ میکروگرمی) و آمفوتریسین B (۲۰ میکروگرمی) (شرکت Mast Group، انگلستان) به کمک پنس استریل بر روی محیط کشت به صورت جداگانه قرار داده شد. سپس قطر هاله ممانعت از رشد پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوباسیون پلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد.

براساس جدول استاندارد ارزیابی سویه‌های اعلام شده توسط شرکت Mast Group (شرکت سازنده دیسک) در مورد داروی کتوکونازول قطر هاله کمتر یا مساوی ۲۰ میلی‌متر به عنوان سویه مقاوم، ۲۷-۲۱ میلی متر به عنوان سویه های وابسته به دوز و قطر بیشتر یا مساوی ۲۸ میلی متر به‌عنوان سویه حساس تلقی گردید. در مورد داروی آمفوتریسین B قطر هاله کمتر یا مساوی ۱۰ میلی متر به عنوان سویه مقاوم، ۱۴-۱۰ میلی متر به عنوان سویه های وابسته به دوز و قطر بیشتر یا مساوی ۱۵ میلی‌متر به‌عنوان سویه حساس تلقی گردید.

تحلیل آماری: داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-16 و آزمون‌های تی مستقل در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

میانگین سنی ۱۲۱ بیمار زن و مرد به ترتیب ۵/۱±۵۴/۸۵ سال و ۵/۵±۶۱/۳۱ سال بود.

از ۳۰ سویه جداسازی شده *کاندیدا آلبیکنس* (۲۴ نمونه از زنان و ۶ نمونه از مردان)، بیشترین نمونه کلنی قارچی مربوط به نمونه واژن (۵۰ درصد) بود.

از میان ۲۴ نمونه زنان، ۱۵ نمونه از واژن، ۵ نمونه از ادرار و ۴ نمونه از خلط جدا شد. از میان ۶ نمونه مردان، ۵ نمونه از خلط و یک نمونه از ادرار جدا شد.

کمترین و بیشترین میزان MIC نسبت به آمفوتریسین B به ترتیب $\mu g/ml^{-1}$ ۰/۰۶۲۵ و $\mu g/ml^{-1}$۴ تعیین شد. در حالی که کمترین و بیشترین میزان MIC نسبت به کتوکونازول به ترتیب $\mu g/ml^{-1}$۰/۵ و $\mu g/ml^{-1}$ ۳۲ تعیین شد.

کمترین و بیشترین قطر هاله در روش انتشار روی دیسک برای هردو دارو به ترتیب ۶ میلی‌متر و ۲۸ میلی‌متر تعیین شد. گرچه کمترین و بیشترین قطر هاله عدم رشد در مورد دو دارو یکسان بود؛ اما یکنواختی و همگونی در دو دارو وجود نداشت.

نتایج تست حساسیت دارویی در هر دو روش اختلاف در ارزیابی سوش‌های مقاوم و حساس نسبت به‌هم نشان ندادند. ۲۵ نمونه (۸۳/۳ درصد) نسبت به کتوکونازول و ۲ نمونه (۶/۷ درصد) نسبت به آمفوتریسین B مقاوم بودند.

میانگین MIC برای داروی آمفوتریسین $\mu g/ml^{-1}$ B ۰/۰۹±۰/۹۶ و برای داروی کتوکونازول $\mu g/ml^{-1}$ ۱/۱±۱۳/۶ تعیین شد. میانگین نتایج حاصل از تست انتشار روی دیسک برای داروی آمفوتریسین B ۱/۵±۱۸/۹۶ میلی‌متر و برای داروی کتوکونازول ۱/۴±۱۷/۸۳ میلی‌متر حاصل شد.

در مورد داروی کتوکونازول ۲۵ نمونه مقاوم، ۳ نمونه وابسته به دوز و ۲ نمونه حساس ارزیابی شدند. در مورد داروی آمفوتریسین B

جدول ۱ : مقایسه اثر داروهای کتوکونازول و آمفوتریسین B روی کاندیدا آلبیکنس به روش انتشار روی دیسک

دیسک دارویی	بازه هاله عدم رشد (میلی‌متر)	میانگین هاله عدم رشد (میلی‌متر)	حساس	تعداد نمونه وابسته به دوز	مقاوم
آمفوتریسین B (۲۰ میکروگرم)	۲۸-۶	۱/۵±۱۸/۹۶	۲۲	۶	۲
کتوکونازول (۱۵ میکروگرم)	۲۸-۶	۱/۴±۱۷/۸۳	۲	۳	۲۵

جدول ۲ : مقایسه اثر داروهای کتوکونازول و آمفوتریسین B روی کاندیدا آلبیکنس به روش میکرودایلوشن براث

دارو	بازه MIC نمونه‌ها ($\mu g.ml^{-1}$)	میانگین MIC نمونه‌ها ($\mu g.ml^{-1}$)	حساس	تعداد نمونه وابسته به دوز	مقاوم
آمفوتریسین B	۴-۰/۰۶۲۵	۰/۰۹±۰/۹۶	۲۲	۶	۲
کتوکونازول	۳۲-۰/۵	۱/۱±۱۳/۶	۲	۳	۲۵

۲ نمونه مقاوم، ۶ نمونه وابسته به دوز و ۲۲ نمونه حساس ارزیابی شدند (جدول یک). براساس جدول استاندارد CLSI در روش میکرودایلوشن، در مورد داروی کتوکونازول و آمفوتریسینB تفسیر نتایج بر اساس حساس یا مقاوم بودن مشابه روش انتشار روی دیسک بود (جدول ۲).

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه ۱۰۰درصد نمونه‌های مشکوک قارچی *کاندیدا آلبیکنس* تشخیص داده شدند. محدوده MIC داروی کتوکونازول $\mu g/ml^{-1}$ ۳۲-۰/۵ و داروی آمفوتریسین B $\mu g/ml^{-1}$ ۴-۰/۰۶۲۵ تعیین شد که به ترتیب ۸۳/۳ درصد و ۶/۷ درصد نمونه‌ها به کتوکونازول و آمفوتریسینB مقاوم بودند.

در مطالعه رزاقی ابیانه و همکاران *کاندیدا آلبیکنس* با شیوع ۷۲/۳ درصد اصلی‌ترین علت عفونت‌های کاندیدایی شناخته شد و کمترین حساسیت برای داروی کتوکونازول (۴۲/۸ درصد) و میزان مقاومت دارویی *کاندیدا آلبیکنس* در مورد کتوکونازول بسیار بیشتر (۸۳/۳ درصد) تعیین شد (۷). در مطالعه انجام شده صالحی و همکاران در اهواز روی واژینیت کاندیدایی؛ محدوده MIC کتوکونازول $\mu g/ml^{-1}$ ۴-۱ گزارش شد (۸) که حد بالای آن با مطالعه حاضر همخوانی نداشت.

در مطالعه زمردیان و همکاران اثر چندین داروی ضدقارچی روی سوش‌های مختلف کاندیدا تهیه شده از آزمایشگاه‌های شیراز و اصفهان ارزیابی شد. تمام سوش‌های *کاندیدا آلبیکنس* به آمفوتریسینB حساس بودند؛ اما ۳/۲ درصد سوش‌ها به کتوکونازول مقاوم بودند (۹) که در مورد کتوکونازول با مطالعه حاضر همخوانی نداشت. در مطالعه قبلی ما در زمینه ارزیابی سوش‌های مختلف کاندیدا محدوده MIC آمفوتریسین $\mu g/ml^{-1}$ B ۴-۱ گزارش شد (۵) که حد بالای آن با مطالعه حاضر همخوانی داشت.

در مطالعه حسن بیگی و همکاران روی عفونت دهانی و درماتیت قنداقی در کودکان، حساسیت ۳۷/۵ درصدی نسبت به کتوکونازول گزارش گردید (۱۰).

در مطالعه انجام شده اکبرزاده و همکاران در شیراز بر روی زنان مبتلا به واژینیت، مقاومت تقریباً ۵۰ درصدی برای کتوکونازول و حساسیت ۱۰۰درصدی برای داروی آمفوتریسینB به‌دست آمد (۱۱). در مطالعه محمدی و همکاران در ایلام بر روی گونه‌های جدا شده از زنان مبتلا به واژینیت، مقاومت ۷۲ درصدی به کتوکونازول و صفر درصدی به آمفوتریسینB مشاهده شد (۱۲).

دلایل ابتدایی دراختلاف نتایج گزارش شده می‌تواند عوامل فردی مانند ژنتیک، بیماری‌های زمینه‌ای، سن، جنس و حتی محل جداشدن عامل مسبب عفونت باشد. از طرفی در جامعه عوامل خطرهایی نظیر سیگارکشیدن، منطقه جغرافیایی و الگوهای درمانی اشتباه در جامعه بر روی نتیجه نهایی اثرگذار هستند.

در مطالعه Macura و Skora در لهستان *کاندیدا آلبیکنس* باشیوع ۸۰/۲ درصدی، در صدر عاملین مسبب عفونت‌های کاندیدایی عنوان گردید و بالاترین اثر ضدقارچی درمیان آزول‌ها برای کتوکونازول گزارش گردید (۱۳). درمطالعه حاضر، مقاومت بالایی برای کتوکونازول یافت شد که با مطالعه فوق تناقض داشت. درمطالعه Ma و همکاران در چین ضمن ارزیابی افزایش شیوع کاندیدیازیس به سمت گونه‌های غیر *کاندیدا آلبیکنس* عنوان گردید؛ مقاومت ۶۰ درصدی نسبت به کتوکونازول وجود دارد (۱۴) که تقریباً با مطالعه حاضر همخوانی داشت. در مطالعه Pu و همکاران در چین *کاندیدا آلبیکنس* شایع‌ترین (۴۸/۶ درصد) دلیل عفونت‌های تهاجمی قارچی اعلام گردید. همچنین آمفوتریسینB به عنوان داروی بسیار موثر علیه تمام گونه‌های کاندیدایی معرفی شد (۱۵) که با مطالعه حاضر همخوانی داشت.

در مطالعه Eleonora Milici و همکاران در ارزیابی سویه‌های *کاندیدا آلبیکنس* با مقایسه دو روش میکرودایلوشن و انتشار روی دیسک در مورد داروی کاسپوفونژین میزان توافق دو روش ۸۸ درصد ذکر شد و روش انتشار روی دیسک، برای تعیین میزان حساسیت سویه‌های کلینیکی روشی مطمئن تر ارزیابی گردید (۱۶). در مطالعه López-Oviedo و همکاران در زمینه مقایسه تست حساسیت دارویی سویه‌های کلینیکی قارچ‌های رشته‌ای با دو روش مذکور ابراز شد گرچه اختلاف معنی‌داری بین دو روش مذکور وجود ندارد؛ ولی تا حدودی روش انتشار روی دیسک روش بهتری است (۱۷).

شاید دلیل مطمئن‌تر بودن روش انتشار روی دیسک در مطالعات متعدد استفاده از دیسک‌های دارویی (با دوز مشخص و استاندارد)، کاهش خطای کاربر و تا حدودی آسان‌تر بودن آن روش است. در حالی که در روش میکرودایلوشن احتمال ناخالصی پودر مصرفی داروی استاندارد، خطای بیشتر کاربر و مبدا کشور تولیدکننده دارو در نتایج اثرگذار است. در هر آزمایش، بایستی شرایط یکسان مانند دما، اسیدیته محیط، مدت زمان انکوباسیون، حتی محیط کشت به‌کار رفته رعایت شود. همچنین در هر کشور، حتی در هر منطقه، حساسیت گونه‌ها متفاوت است. این مسأله به نحوه دارودرمانی در کشور و منطقه نیز مربوط می‌شود. نکته تامل‌برانگیز در مطالعات خارج ازکشور، عدم خوددرمانی توسط بیمار و کنترل فروش دارو در داروخانه‌ها توسط داروساز، از عوامل مهم در کاهش میزان مقاومت دارویی نسبت به کشور ایران است که اختلاف نتایج این مطالعه به خصوص با نتایج مطالعات خارج ازکشور دلیل این مدعاست.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که داروی آمفوتریسینB با در نظر گرفتن محدودیت‌های آن در مصرف، دارای بهترین اثر ضد قارچی

است. به‌نظر می‌رسد که مقاومت نسبی بالایی برای کتوکونازول ایجاد شده است که نیازمند مطالعات بیشتر در این زمینه است.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه (شماره ۲۹۱۸) خانم مرسا بدیعی مقدم برای اخذ درجه دکتری عمومی در رشته داروسازی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی بود. بدین‌وسیله از سرکار خانم دکتر شهربانو علوی که کمک شایانی در انجام مطالعه نمودند؛ نهایت سپاس خود را اعلام می‌داریم.

References

1. CDC. Preventing emerging infectious diseases: a strategy for the 21st century. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, Public Health Service, 1998.

2. Ma L, Xie L, Dong X, Shi W. Role of extracellular phospholipase B of Candida albicans as a virulent factor in experimental keratomycosis. Curr Eye Res 2009; 34(9): 761-8.

3. Pfaller MA, Diekema DJ, Procop GW, Rinaldi MG. Multicenter comparison of the VITEK 2 antifungal susceptibility test with the CLSI broth microdilution reference method for testing amphotericin B, flucytosine, and voriconazole against Candida spp. J Clin Microbiol. 2007; 45(11): 3522-28. doi: 10.1128/JCM.00403-07

4. Nowrozi H, Kazemi D, Kazemi A, Khaji L. [Effect of Amphotericin B and Fluconazole on hospital wards fungi]. J Gorgan Uni Med Sci. 2015; 16(4): 121-25. [Article in Persian]

5. Nowrozi H, Kazemi A, Teshfam M, Temorian Sh, Adimi P, Bashashati M. [Efficacy of ultraviolet radiation on drug susceptibility of Candida Spp. to itraconazole, fluconazole and amphotericin B]. J Gorgan Uni Med Sci. 2013; 15(4): 53-58. [Article in Persian]

6. NCCLS, Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast fungi. Approved standard M27-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA. NCCLS. 2002.

7. Razzaghi-Abyaneh M, Sadeghi G, Zeinali E, Alirezaee M, Shams-Ghahfarokhi M, Amani A, et al. Species distribution and antifungal susceptibility of Candida spp. isolated from superficial candidiasis in outpatients in Iran. J Mycol Med. 2014 Jun; 24(2): e43-50. doi: 10.1016/j.mycmed.2014.01.004

8. Salehi Z, Seifi Z, Mahmoudabadi A. Sensitivity of Vaginal Isolates of Candida to Eight Antifungal Drugs Isolated From Ahvaz, Iran. Jundishapur J Microbiol. 2012; 5(4): 574-77. doi: 10.5812/jjm.4556

9. Zomorodian K, Rahimi MJ, Pakshir K, Motamedi M, Rahimi Ghiasi M, Rezashah H. Determination of antifungal susceptibility patterns among the clinical isolates of Candida species. J Glob Infect Dis. 2011; 3(4): 357-60. doi: 10.4103/0974-777X.91059

10. Hasanbeigi A, Shahmir P, Amraie M. Study of antifungal resistance of Candida types against some of common antifungal drugs. Int J Pharm Sci Res. 2015; 6(2): 241-44.

11. Akbarzadeh M, Bonyadpoure B, Pacshir K, Mohagheghzadeh A. [Causes and clinical symptoms of vaginal candidiasis in patients referring to selective clinics of Shiraz University of Medical Sciences (2009)]. J Arak Univ Med Sci. 2010; 13(3): 12-20. [Article in Persian]

12. Mohamadi J, Havasian MR, Panahi J, Pakzad I. Antifungal drug resistance pattern of Candida. spp isolated from vaginitis in Ilam-Iran during 2013-2014 . Bioinformation 2015; 11(4): 203-6.

13. Macura AB, Skora M. Fungi isolated from the vagina and their susceptibility of antifungals. Ginekol Pol. 2012; 83(6):433-8.

14. Ma CF, Li FQ, Shi LN, Hu YA, Wang Y, Huang M, Kong QQ. Surveillance study of species distribution, antifungal susceptibility and mortality of nosocomial candidemia in a tertiary care hospital in China. BMC Infect Dis. 2013 Jul; 13:337. doi: 10.1186/1471-2334-13-337

15. Pu S, Niu S, Zhang C, Xu X, Qin M, Huang S, Zhang. Epidemiology, antifungal susceptibilities, and risk factors for invasive candidiasis from 2011 to 2013 in a teaching hospital in southwest China. J Microbiol Immunol Infect. 2017 Feb; 50(1): 97-103. doi: 10.1016/j.jmii.2015.01.005

16. Eleonora Milici M, Massimo Maida C, Spreghini E, Ravazzolo B, Oliveri S, Scalise G, et al. Comparison between Disk Diffusion and Microdilution Methods for Determining Susceptibility of Clinical Fungal Isolates to Caspofungin. J Clin Microbiol. 2007 Nov; 45(11): 3529-33. doi:10.1128/JCM.00826-07

17. López-Oviedo E, Aller AI, Martín C, Castro C, Ramirez M, Pemán JM, et al. Evaluation of disk diffusion method for determining posaconazole susceptibility of filamentous fungi: comparison with CLSI broth microdilution method. Antimicrob Agents Chemother. 2006 Mar; 50(3): 1108-11.

Original Paper

Drug susceptibility testing of clinical isolates of *Candida albicans* against Amphotericin B and Ketoconazole by microdilution and disk diffusion methods

Kazemi A (Ph.D)[1], Nowrozi H (Ph.D)*[2], Badiee Moghadam M (Pharm.D)[3]

[1]Assistant Professor, Department of Nursing, College of Medical Sciences, Varamin- Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran. [2]Assistant Professor, Department of Laboratory Sciences, Faculty of Allied Medical Sciences, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [3]Departments of Pharmaceutics, Islamic Azad University, Pharmaceutical Sciences Branch, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objective: *Candida albicans* is the normal flora of the body as opportunistic fungi. It causes candidiasis in immunocompromised condition. This study was done to drug susceptibility testing of *Candida albicans* isolated from patients against Amphotericin B and Ketoconazole.

Methods: In this descriptive – analytic study, drug susceptibility of 30 *Candida albicans* isolated from patients admitted to Tehran hospitals, Iran was tested against Amphotericin B and Ketoconazole by micro dilution method in accordance with CLSI M27-A2 guideline and disk diffusion method in accordance with CLSI M44-S2 guideline. Standard isolate *Candida albicans* PTCC (5027) and *Candida krusei* PTCC (5295) were used for quality control.

Results: The minimum and maximum MIC against Amphotrericin B was 0.0625 $\mu g.ml^{-1}$ and 4 $\mu g.ml^{-1}$, respectively. The minimum and maximum MIC against Ketoconazole was 0.5 $\mu g/ml^{-1}$ and 32 $\mu g/ml^{-1}$, respectively. The minimum and maximum zone diameter was 6 and 28 mm for both drugs. The results of drug susceptibility testing by two methods did not show significant differences. 25 isolates (83.3%) against ketoconazole and 2 isolates (6.7%) against Amphotericin B were resistant.

Conclusion: Amphotericin B administration seems better choice in candidiasis treatment in comparision with Ketoconazole.

Keywords: *Candida albicans*, Amphotericin B, Ketoconazole

*** Corresponding Author: Nowrozi H (Ph.D), E-mail: nowrozi.h@iums.ac.ir**

Received 30 Apr 2016 **Revised** 18 Dec 2016 **Accepted** 31 Dec 2016

Cite this article as: Kazemi A, Nowrozi H, Badiee Moghadam M. [Drug susceptibility testing of clinical isolates of *Candida albicans* against Amphotericin B and Ketoconazole by microdilution and disk diffusion methods]. J Gorgan Uni Med Sci. Summer 2017; 19(2): 59-64. [Article in Persian]