Archive of SID

مجله دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دوره ۶۷ ، شماره ۱۱، بهمن ۱۳۸۸، ۷۹۸-۷۹۳

بررسی حساسیت گونه‌های کاندیدای جدا شده از مبتلایان به ولوواژینیت کاندیدایی نسبت به چند داروی ضد قارچی: روش میکرودایلوشن برات

مهناز محمودی‌راد[1*]
آمنه شیرین ظفرقندی[2]
مهتاب شیوایی[2]
نیکی محمودی‌راد[1]
بهنوش عباس آبادی[2]
مریم عامل ذبیحی[2]
زهره امیری[3]

۱- مرکز تحقیقات پوست
۲- گروه بیماری‌های زنان و زایمان و نازایی، بیمارستان مهدیه
۳- گروه علوم پایه، دانشکده تغذیه
دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

* نویسنده مسئول: تهران، بیمارستان شهدای تجریش، مرکز تحقیقات پوست تلفن: ۲۲۷۴۴۳۹۴
email: mahnazrad@gmail.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۰۶/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۰۹/۰۸

چکیده

زمینه و هدف: این تحقیق به‌منظور بررسی میزان تأثیر ایتراکونازول، میکونازول، فلوکونازول و فلوسیتوزین در شرایط آزمایشگاهی به‌روش میکرودایلوشن برات، بر روی ۱۹۱ گونهٔ کاندیدای جدا شده از ۱۷۵ بیمار مبتلا به ولوواژینیت کاندیدایی که بین سال‌های ۱۳۸۵ تا ۱۳۸۷ به بیمارستان مهدیه مراجعه کرده بودند، صورت گرفت. ***روش بررسی:*** ۱۹۱ گونهٔ کاندیدا از نمونه‌های بالینی جدا گردید. تست حساسیت داروهای ضد قارچی بر اساس روش میکرودایلوشن برات NCCLS انجام شد و نتایج بعد از ۴۸ ساعت قرائت گردید. ***یافته‌ها:*** *C. albicans* نسبت به هر چهار نوع داروی بررسی شده حساسیت قابل قبولی (<۹۰٪) داشت. *C. glabrata* نسبت به میکونازول و سپس نسبت به فلوسیتوزین حساسیت قابل قبولی داشت ولی نسبت به ایتراکونازول و فلوکونازول مقاوم‌تر بود. *C. tropicalis* به‌ترتیب به میکونازول و بعد به فلوکونازول حساسیت قابل قبولی داشت و مقاومت دارویی ناچیزی در برابر چهار داروی بررسی شده نشان داد که بیشترین مقاومت آن در برابر فلوسیتوزین بود. *C. krusei* بیشترین حساسیت را نسبت به میکونازول داشت و حساسیتش نسبت به سه داروی دیگر بیشتر وابسته به دوز بود و بیشترین مقاومت را نیز نسبت به فلوکونازول نشان می‌داد. ***نتیجه‌گیری:*** گونه‌های بررسی شده در این مطالعه بیشترین حساسیت دارویی را نسبت به میکونازول و همچنین حساسیت قابل قبولی نیز نسبت به سایر داروهای فوق داشتند. شیوع موارد مقاومت دارویی در گونه‌های *C. krusei* و *C. glabrata* نسبت به سایر گونه‌ها بالاتر بود.

کلمات کلیدی: ولوواژینیت کاندیدایی، حساسیت دارویی، ایتراکونازول، میکونازول، فلوکونازول.

مقدمه

ولوواژینیت قارچی fungal vulvovaginitis یک عفونت شایع قارچی می‌باشد که توسط مخمرهای ساپروفیت فرصت‌طلب جنس Candida ایجاد می‌شود.[1] *کاندیدا آلبیکنس C. albicans* عامل ۸۵ تا ۹۰٪ از موارد کاندیدیازیس ولوواژینال می‌باشد.[2] برخی از تحقیقات افزایش شیوع‌سایر گونه‌های کاندیدا به‌خصوص *گلابراتا C. glabrata*، *کروزی C. krusei* و *پاراپسیلوزیس C. parapsilosis* را گزارش کرده‌اند[3] که احتمالاً به‌علت استفادهٔ گسترده و یا کوتاه‌مدت از داروهای ضدقارچی می‌باشد. همچنین تحقیقات نشان می‌دهد تفاوت قابل توجهی در انتشار گونه‌های کاندیدا و حساسیت دارویی آن‌ها در کشورهای مختلف وجود دارد که این امر، اهمیت بررسی پیوستهٔ انتشار این قارچ و حساسیت دارویی آن را نشان می‌دهد.[4]

گونه‌های کاندیـدا به تعدادی از داروهای ضد قارچی پلی‌اِن و آزول حساس هستند. پلی‌اِن‌ها نظیر آمفوتریسین B و نیستاتین با اتصال به ارگوسترول در دیوارهٔ سلولی قارچ و با ایجاد منافذی در آن قارچ را از بین می‌برند. در حالی که آزول‌ها مانع از سنتز ارگوسترول می‌شوند.[5و6]

۷/۵٪ کاندیداها، به‌خصوص *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا کروزه‌ای* به یک یا چند آزول که معمولاً برای درمان به‌کار می‌روند، مقاومت نشان می‌دهند که این مقاومت‌های دارویی نقش مهمی در بروز موارد ولوواژینیت کاندیدایی راجعه دارند.[7] از آنجا که اطلاعات کمی در مورد حساسیت دارویی گونه‌های کاندیدا در ایران در دسترس می‌باشد، لذا در این تحقیق بر آن شدیم تا حساسیت گونه‌های *کاندیدای آلبیکنس* و *غیر آلبیکنس* جدا شده از نمونه‌های واژینال را، نسبت به ایتراکونازول، میکونازول، فلوکونازول و فلوسایتوزین به‌روش میکرودایلوشن برات بررسی کنیم.

www.SID.ir

Archive of SID

روش بررسی

ارگانیسم‌ها: این مطالعهٔ مقطعی بر روی ۱۹۱ گونهٔ کاندیدای جدا شده از ترشحات واژینال ۱۷۵ بیمار مبتلا به ولوواژینیت کاندیدایی (۸۳ نمونه ولوواژنیت راجعهٔ کاندیدایی و ۹۲ نمونه ولوواژنیت غیر راجعهٔ کاندیدایی) که بین سال‌های ۱۳۸۵ تا ۱۳۸۷ به بیمارستان مهدیه مراجعه کرده بودند انجام شد. از همهٔ بیماران قبل از نمونه‌گیری رضایت‌نامهٔ کتبی اخذ گردید. گونه‌ها به‌روش تولید جرم تیوب، ایجاد کلامیدوسپور روی محیط کورن میل آگار، ایجاد کلنی‌های رنگی روی محیط کروم آگار کاندیدا (CHROMagar Company, Paris, France) و جذب کربوهیدرات‌ها با استفاده از کیت API 20C-AUX (bioM´erieux, Paris, France) شناسایی شدند و تا زمان انجام تست حساسیت دارویی در آب مقطر استریل در دمای اتاق ذخیره شدند. در ضمن دو نمونهٔ *C. krusei* ATCC 6258 و *C. parapsilosis* ATCC 22019 برای کنترل کیفی آزمایش به‌کار رفت.

داروهای ضدقارچی: داروهای ایتراکونازول، میکونازول، فلوکونازول و فلوسایتوزین همگی از شرکت سیگما (Sigma) خریداری شدند.

تست حساسیت داروهای ضد قارچی: برای تست حساسیت دارویی به‌روش میکرودایلوشن برات در شرایط آزمایشگاه، در این مطالعه چهار داروی ایتراکونازول، میکونازول، فلوکونازول و فلوسیتوزین به‌کار رفت. در این روش از محیط RPMI 1640 (Sigma) دارای گلوتامین و فاقد بی‌کربنات سدیم استفاده شد. برای این منظور ۱۰/۴ گرم RPMI 1640 را با ۳۴/۵۳ گرم MOPS (Sigma) مخلوط کرده و حجم آن را با آب مقطر به ۵۰۰ میلی‌لیتر رساندیم (pH محیط را با NaOH روی هفت تنظیم نمودیم). فلوکونازول و فلوسیتوزین در آب مقطر، ایتراکونازول در پلی‌اتیلن گلیکول ۴۰۰ و میکونازول را در دی‌متیل‌سولفوکساید (Sigma) حل کرده و استوک ۱۰۰۰mg/L از هر کدام تهیه شد و در نهایت برای میکونازول رقت‌های ۰/۰۳ تا ۱۶ برای فلوکونازول و فلوسیتوزین رقت‌های ۰/۱۲۵ تا ۶۴ و برای ایتراکونازول رقت‌های ۰/۰۱۵ تا هشت میلی‌گرم در لیتر تهیه شد و در حفره‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای (Dynex) ریخته شد. سپس ۱۰۰µl از سوسپانسیون سویه‌های قارچی با تعداد $۱۰^{۳}\times۵-۱$ سلول در هر میلی‌لیتر را به داخل حفره‌ها افزوده تا رقت نهایی $۱۰^{۳}\times۲/۵-۰/۵$ به‌دست آمد و در ۳۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت انکوبه شد. یک کنترل بدون دارو و یک کنترل بدون کاندیدا نیز برای هر نمونه گذاشته شد. حداقل غلظت ممانعت‌کننده (MIC) هر دارو، حداقل غلظتی از دارو در نظر گرفته شد که ۵۰٪ ممانعت رشد را نسبت به نمونهٔ فاقد دارو (کنترل مثبت رشد) نشان می‌داد. همهٔ استرین‌ها دو بار آزمایش شدند.[۳و۸]

یافته‌ها

در این مطالعه ۱۷۵ خانم مبتلا به ولوواژنیت کاندیدایی مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین سنی آن‌ها ۳۱/۳۸ سال با SD=۸/۲۲ بود. میانگین سنی بیماران مبتلا به ولوواژنیت کاندیدایی غیر راجعه ۳۱/۳۲ سال با SD=۹/۱۶ و میانگین سنی بیماران مبتلا به ولوواژنیت کاندیدایی راجعه ۳۱/۴۶ سال با SD=۷/۰۸ بود که اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها به‌دست نیامد (p=۰/۹۰۹). ۹۲ نفر (۵۲/۶٪) کمتر از چهار بار در سال (غیر راجعه) و ۸۳ نفر (۴۷/۴٪) بیشتر یا مساوی چهار بار در سال (راجعه) مبتلا به ولوواژنیت کاندیدایی شده بودند. از ۱۵۷ بیمار (۸۹/۷٪) تنها یک گونهٔ کاندیدا و از ۱۸ بیمار (۱۰/۳٪) چند گونهٔ کاندیدا جدا گردید. شیوع انواع گونه‌های کاندیدا در بیماران مبتلا به ولوواژنیت کاندیدایی راجعه و غیر راجعه در جدول ۱ نشان داده شده است. در بیماران مبتلا به کاندیدیاز ولوواژینال غیر راجعه، در ۸۳ بیمار (۹۰/۲٪) یک گونهٔ کاندیدا و در ۹ بیمار (۹/۸٪) بیشتر از یک گونهٔ کاندیدا عامل بیماری بودند. در حالی‌که در بیماران مبتلا به کاندیدیاز ولوواژینال راجعه، در ۷۴ بیمار (۸۹/۷٪) یک گونهٔ کاندیدا و در ۹ بیمار (۱۰/۸٪) بیش از یک گونه عامل ایجاد بیماری بودند که اختلاف آماری معنی‌داری بین دو گروه وجود نداشت (p=۱). از نظر حساسیت کاندیداها نسبت به فلوکونازول نتایج زیر به‌دست آمد:

گونه‌های *C. albicans* در یک مورد (۰/۸٪) مقاوم، در ۱۲۵ مورد (۹۷/۷٪) حساس و در دو مورد (۱/۶٪) حساسیت وابسته به دوز داشتند گونه‌های *C. krusei*، در سه مورد (۲۷/۳٪) مقاوم، در یک مورد (۹/۱٪) حساس و در هفت مورد (۶۳/۶٪) حساسیت وابسته به دوز داشتند. گونه‌های *C. glabrata*، در ۱۱ مورد (۳۱/۴٪) مقاوم، در شش مورد (۱۷/۱٪) حساس و در ۱۸ مورد (۵۱/۴٪) حساسیت وابسته به دوز داشتند. گونه‌های *C. tropicalis* در ۱۲ مورد (۹۲/۳٪) حساس و در یک مورد (۷/۷٪) حساسیت وابسته به دوز داشتند. گونهٔ *C. guilliermondii* در یک مورد (۱۰۰٪) حساسیت وابسته به دوز و

www.SID.ir

Archive of SID

جدول-۱: مقایسهٔ گونه‌های کاندیدا در مبتلایان به ولوواینیت کاندیدایی مراجعه کننده به بیمارستان مهدیه تهران بر حسب نوع ولوواژینیت

نوع کاندیدا	ولوواژینیت راجعه	ولوواژینیت غیر راجعه	مجموع
آلبیکنس	۵۶(٪۶۷/۶)	۵۸(٪۶۳)	۱۱۴(٪۶۵/۱)
گلابراتا	۷(٪۸/۴)	۱۶(٪۱۷/۴)	۲۳(٪۱۳/۱)
تروپیکالیس	۶(٪۷/۲)	۵(٪۵/۴)	۱۱(٪۶/۲)
آلبیکنس / گلابراتا	۶(٪۷/۲)	۴(٪۴/۳)	۱۰(٪۵/۷)
کروزه‌ای	۴(٪۴/۸)	۳(٪۳/۳)	۷(٪۴)
آلبیکنس / پاراپسیلوزیس	۱(٪۱/۲)	۱(٪۱/۱)	۲(٪۱/۱)
پاراپسیلوزیس	۱(٪۱/۲)	۰(٪۰)	۱(٪۰/۶)
گیلرموندی	۰(٪۰)	۱(٪۱/۱)	۱(٪۰/۶)
تروپیکالیس / گلابراتا	۱(٪۱/۲)	۰(٪۰)	۱(٪۰/۶)
تروپیکالیس / کروزه‌ای	۱(٪۱/۲)	۰(٪۰)	۱(٪۰/۶)
آلبیکنس / تروپیکالیس	۰(٪۰)	۱(٪۱/۱)	۱(٪۰/۶)
آلبیکنس / کروزه‌ای	۰(٪۰)	۱(٪۱/۱)	۱(٪۰/۶)
کروزه‌ای / گلابراتا	۰(٪۰)	۱(٪۱/۱)	۱(٪۰/۶)
آلبیکنس / کروزه‌ای / گلابراتا	۰(٪۰)	۱(٪۱/۱)	۱(٪۰/۶)
مجموع	۸۳(٪۴۷/۴)	۹۲(٪۵۲/۶)	۱۷۵(٪۱۰۰)

گونه‌های *C. parapsilosis* در دو مورد (٪۶۶/۷) حساس و در یک مورد (٪۳۳/۳) حساسیت وابسته به دوز داشتند که از نظر آماری اختلاف معنی‌دار با p<۰/۰۰۱ داشت. از نظر حساسیت کاندیداها نسبت به فلوسیتوزین نتایج بررسی به‌ترتیب زیر بود:

C. albicans در ۱۲۶ مورد (٪۹۸/۴) حساس و در دو مورد (٪۱/۶) حساسیت وابسته به دوز، *C. krusei* در دو مورد (٪۱۸/۲) مقاوم، در دو مورد (٪۱۸/۲) حساس و در هفت مورد (٪۳۶/۶) حساسیت وابسته به دوز داشت. نمونه‌های *C. glabrata* در ۳۴ مورد (٪۹۷/۱) حساس و در یک مورد (٪۲/۹) حساسیت وابسته به دوز داشتند، *C. tropicalis* در دو مورد (٪۱۵/۴) مقاوم و در ۱۱ مورد (٪۸۴/۶) حساس بودند. *C. guilliermondii* در یک مورد (٪۱۰۰) حساس و *C. parapsilosis*، در سه مورد (٪۱۰۰) حساس بودند که از نظر آماری نیز اختلاف معنی‌داری با p<۰/۰۰۱ داشتند. از نظر حساسیت گونه‌های کاندیدای بررسی شده نسبت به ایتراکونازول نتایج به این صورت بود: نمونه‌های *C. albicans* در چهار مورد (٪۳/۲) مقاوم، در ۱۱۶ مورد (٪۹۰/۶) حساس و در هشت مورد (٪۶/۲) حساسیت وابسته به دوز داشتند. نمونه‌های *C. krusei* در سه مورد (٪۲۷/۳) مقاوم، در سه مورد (٪۲۷/۳) حساس و در پنج مورد (٪۴۵/۴) حساسیت وابسته به دوز داشتند. نمونه‌های *C. glabrata*، در ۲۶ مورد (٪۷۴/۳) مقاوم، در چهار مورد (٪۱۱/۴) حساس و در پنج مورد (٪۱۴/۳) حساسیت وابسته به دوز داشتند. نمونه‌های *C. tropicalis* در ۱۰ مورد (٪۷۶/۹) حساس و در سه مورد (٪۲۳/۱) حساسیت وابسته به دوز و نمونه‌های *C. guilliermondii* در یک مورد (٪۱۰۰) مقاوم و نمونه‌های *C. parapsilosis* در یک مورد (٪۳۳/۳) حساس و در دو مورد (٪۶۶/۷) حساسیت وابسته به دوز داشتند که از نظر آماری نیز اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها با p<۰/۰۰۱ وجود داشت. تمامی گونه‌های کاندیدای بررسی شده نسبت به میکونازول حساس بودند. میانگین MIC ۴۸ ساعته فلوکونازول در *C. albicans* برابر ۳/۴۷ با SD=۶/۵۲ و حداقل ۰/۱۲۵ و حداکثر ۶۴، در *C. glabrata* برابر ۳۳/۵۲ با SD=۲۳/۰۸ و حداقل ۰/۵ و حداکثر ۶۴ و در *C. krusei* برابر ۳۲/۳۶ با SD=۲۲/۰۸ با حداقل چهار و حداکثر ۶۴، در *C. tropicalis* برابر ۲/۶۷ با SD=۴/۲۶ و حداقل ۰/۲۵ و حداکثر ۱۶، در یک مورد *C. guilliermondii* برابر ۳۲ و در *C. parapsilosis* برابر ۸/۱۶ با SD=۷/۷۵ و حداقل ۰/۵ و حداکثر ۱۶ بود که اختلاف آماری معنی‌دار با p<۰/۰۰۱ داشتند. میانگین MIC ۴۸ ساعته فلوسیتوزین در *C. albicans* برابر ۲/۲۴ با SD=۱/۷۸ و حداقل ۰/۱۲۵ و حداکثر هشت، در *C. krusei* برابر ۱۱/۸۴ با SD=۱۰/۷۲ و حداقل ۰/۲۵ و حداکثر ۳۲، در *C. glabrata* برابر ۲/۵۶ با SD=۲/۷۶ و حداقل ۰/۱۲۵

www.SID.ir

Archive of SID

و حداکثر ۱۶، در *C. tropicalis* برابر ۵/۶۱ با SD=۱۱/۷۲ و حداقل ۰/۲۵ و حداکثر ۳۲، در *C. parapsilosis* برابر ۱/۵۱ با SD=۲/۱۶ و حداقل ۰/۰۳ و حداکثر چهار و در یک مورد *C. guilliermondii* برابر ۰/۲۵ بود که اختلاف آماری معنی‌داری با p<۰/۰۰۱ داشتند. میانگین MIC ۴۸ ساعته میکونازول در *C. albicans* برابر ۰/۴۵ با SD=۰/۴ و حداقل ۰/۰۳ و حداکثر یک، در *C. glabrata* برابر ۰/۷ با SD=۰/۶۵ و حداقل ۰/۰۶ و حداکثر دو، در *C. krusei* برابر ۲/۱۸ با SD=۱/۲۵ و حداقل یک و حداکثر چهار، در *C. tropicalis* برابر ۰/۸۸ با SD=۰/۷۳ و حداقل ۰/۰۳ و حداکثر دو، در *C. parapsilosis* برابر ۰/۳۷۵ با SD=۰/۲۱ و حداقل ۰/۱۲۵ و حداکثر ۰/۵ و در یک مورد *C. guilliermondii* برابر یک بود که از نظر آماری نیز اختلاف موجود با p<۰/۰۰۱ معنی‌دار بود. میانگین MIC ۴۸ ساعته ایتراکونازول در *C. albicans* برابر ۰/۲۰۱ با SD=۰/۸ و حداقل ۰/۰۱۵ و حداکثر هشت، در *C. krusei* برابر ۰/۶۴۷ با SD=۰/۷۱۵ و حداقل ۰/۱۲۵و حداکثر دو، در *C. glabrata* برابر ۱/۲۸ با SD=۰/۷۶ و حداقل ۰/۰۶ و حداکثر دو، در *C. tropicalis* برابر ۰/۱۴۳ با SD=۰/۱۲۸ و حداقل ۰/۰۳ و حداکثر ۰/۵، در *C. parapsilosis* برابر ۲/۹۱ با SD=۴/۴ و حداقل ۰/۲۵ و حداکثر هشت و در یک مورد *C. guilliermondii* برابر یک بود که از نظر آماری نیز با p<۰/۰۰۱ اختلاف معنی‌دار داشتند.

بحث

در این مطالعه ۱۷۵ بیمار مبتلا به ولوواژنیت کاندیدایی بررسی شدند. عده‌ای از بیماران به علل مختلف از جمله عدم همکاری و یا ولوواژنیت‌های غیرکاندیدایی از مطالعه حذف شدند. ۸۹/۷٪ بیماران توسط یک نوع کاندیدا مبتلا به ولوواژنیت شدند و در ۱۰/۳٪ موارد عامل بیماری بیش از یک نوع کاندیدا بود. از این نظر در مبتلایان ولوواژنیت کاندیدایی راجعه و غیرراجعه، اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت. در مطالعهٔ Fan در ۱۰۷۰ بیمار با ولوواژنیت کاندیدایی، تنها در ۰/۰۲٪ بیش از یک گونه کاندیدا عامل بیماری بود.[9] در مطالعهٔ دیگر توسط Richter، در ۴/۸٪ عامل بیماری بیشتر از یک گونه کاندیدا بود که باز هم نسبت به مطالعه ما کمتر می‌باشد.[10] اما از نظر شیوع گونه‌های مختلط در یک بیمار، نتایج این مطالعه مشابه نتایج ما می‌باشد. شایع‌ترین حالت، جداسازی گونه‌های *C. albicans* و *C. glabrata* از یک بیمار بوده و سایر موارد مختلط نیز شیوعی کم و بیش مشابه داشتند. در مطالعات Willinger، Kunzelmann و Abu-Elteen، شیوع موارد بیشتر از یک گونه کاندیدا در یک‌بیمار به‌ترتیب ۱۳٪، ۵٪، ۰/۱۲٪ بوده است.[11-13] به‌نظر می‌رسد شیوع موارد ولوواژنیت کاندیدایی که چند گونهٔ کاندیدا در آن دخیل هستند در بیماران مورد بررسی ما نسبت به مقالات مشابه افزایش نشان می‌دهد که این موضوع می‌تواند از نظر بهداشتی مهم باشد اما نیازمند مطالعه‌ای گسترده در سطح کشور می‌باشد. شایع‌ترین عوامل بیماری ولوواژنیت کاندیدایی به‌ترتیب *C. albicans*، *C. glabrata*، *C. tropicalis*، *C. krusei*، *C. parapsilosis* و *C. guilliermondii* بودند و بین‌دو گروه بیماران ولوواژنیت کاندیدایی راجعه و غیرراجعه نیز از نظر شیوع انواع کاندیدا اختلاف آماری معنی‌دار به‌دست نیامد. در گزارشات مشابه، بیشترین عامل ولوواژنیت کاندیدایی *C. albicans* با شیوع ۴۳٪ تا ۹۱٪ بوده است.[2و3و8و10و14-16] در مطالعهٔ ما *C. glabrata* از نظر شیوع در ردهٔ دوم قرار داشت که در سایر مطالعات نیز همین نتیجه به‌دست آمد و طیف شیوع آن از ۴/۹٪ تا ۳۴/۵٪ بوده است.[2و8و10و14-16] به‌همین ترتیب شیوع گونه‌های دیگر نیز در مطالعه ما مشابه مقالات گزارش شده است.[2و3و8و10و14-16] بیشترین حساسیت را نسبت به فلوکونازول *C. albicans* (۹۷/۷٪) و بیشترین مقاومت را *C. glabrata* (۳۱/۴٪) داشت که نتایج آن مشابه نتایج Arechavala می‌باشد.[17] در مورد فلوسیتوزین به‌جز *C. krusei* در بقیه گونه‌های بررسی‌شده حساسیت به‌این دارو بیش از ۸۵٪ بوده است و *C. krusei* بیشترین شیوع مقاومت به آن‌را (۱۸/۲٪) داشته است. در مورد ایتراکونازول بیشترین شیوع حساسیت را *C. albicans* و بیشترین شیوع مقاومت را *C. guilliermondii* (۱۰۰٪) و *C. glabrata* (۷۴/۳٪) داشتند. نسبت به میکونازول نیز تمامی گونه‌ها (۱۰۰٪) حساس بوده‌اند. از نظر MIC ۴۸ ساعته، نسبت به داروی فلوکونازول بیشترین MIC مربوط به *C. glabrata* (۳۳/۵۲)، و کمترین MIC مربوط به *C. tropicalis* (۲/۶۷) بود. MIC ۴۸ ساعته نسبت به داروی فلوسیتوزین: بیشترین مربوط به *C. krusei* (۱۱/۸۴) و کمترین مربوط به *C. guilliermondii* (۰/۲۵) و بعد *C. parapsilosis* (۱/۵۱) بود. MIC ۴۸ ساعته داروی میکونازول: بیشترین مربوط به *C. krusei* و کمترین مربوط به *C. parapsilosis* (۰/۳۷) بود. MIC ۴۸ ساعته داروی ایتراکونازول: بیشترین مربوط به *C. parapsilosis* (۲/۱۹) و کمترین مربوط به *C. tropicalis* (۰/۱۴) بود. بدین‌ترتیب نتایج

www.SID.ir

Archive of SID

حساسیت و MICهای ۴۸ ساعته به‌دست آمده در این پژوهش تقریباً مشابه یافته‌های مطالعات دیگر می‌باشد.[۹و۱۰و۱۵-۱۷۱۹] از نتایج این مطالعه چنین بر می‌آید که *C. albicans* نسبت به هر چهار نوع داروی بررسی شده حساسیت بیش از ۹۰٪ داشته و در موارد بروز مقاومت دارویی می‌توان از میکونازول با اطمینان جهت درمان استفاده نمود. *C. glabrata* نسبت به میکونازول و سپس نسبت به فلوسیتوزین حساسیت داشته ولی نسبت به ایتراکونازول و فلوکونازول مقاوم‌تر است. *C. tropicalis* به‌ترتیب به میکونازول و بعد به فلوکونازول حساسیت قابل قبولی داشته و مقاومت دارویی ناچیزی در برابر چهار داروی بررسی شده داشت که بیشترین مقاومت آن در برابر فلوسیتوزین بود. *C. krusei* بیشترین حساسیت را نسبت به میکونازول داشته و حساسیتش نسبت به سه داروی دیگر بیشتر وابسته به دوز بود و بیشترین مقاومت را نسبت به فلوکونازول نشان داد. حساسیت *C. parapsilosis* نسبت به میکونازول و فلوسیتوزین ۱۰۰٪ بود. این کاندیدا نسبت به فلوکونازول و سپس ایتراکونازول نیز حساس بود ولی مقاومت دارویی در آن مشاهده نگردید. *C. guilliermondii* نسبت به میکونازول و فلوسیتوزین ۱۰۰٪ حساس و نسبت به فلوکونازول ۱۰۰٪ حساسیت وابسته به دوز و نسبت به ایتراکونازول ۱۰۰٪ مقاوم بود. نتایج مربوط به گونه‌هایی که تعداد نمونه‌های آن‌ها در این مطالعه کم بود، قابل استناد نمی‌باشد. گونه‌های بررسی شده در این مطالعه بیشترین حساسیت دارویی را نسبت به میکونازول، و همچنین حساسیت قابل قبولی نسبت به سایر داروهای مورد بررسی داشتند. لذا بهتر است میکونازول به‌عنوان خط اول دارویی صرفاً در موارد مقاومت دارویی استفاده شود. همچنین با توجه به وجود اختلاف قابل توجه در حساسیت دارویی در گونه‌های *C. krusei* و *C. glabrata* نسبت به سایر گونه‌ها و شیوع موارد مقاومت دارویی بالا در آن‌ها پیشنهاد می‌شود که در موارد مشکوک به کاندیدیاز ولوواژینال قبل از شروع درمان، در صورت امکان از نمونهٔ ترشحات بیمار کشت تهیه شده و آنتی‌بیوگرام و تعیین حساسیت دارویی جهت شناسایی عامل بیماری و تعیین نوع داروی مناسب انجام شود.

References

1. MacNeill C, Carey JC. Recurrent vulvovaginal candidiasis. *Curr Womens Health Rep* 2001;1(1):31-5.
2. Sojakova M, Liptajova D, Borovsky M, Subik J. Fluconazole and itraconazole susceptibility of vaginal yeast isolates from Slovakia. *Mycopathologia* 2004;157(2):163-9.
3. Kalkanci A, Berk E, Aykan B, Caglar K, Hizel K, Arman D, et al. Epidemiology and antifungal susceptibility of Candida species isolated from hospitalized patients. *J de Mycologie Me´dicale* 2007;17:16-20.
4. Magiorakos AP, Hadley S. Impact of real-time fungal susceptibility on clinical practices. *Curr Opin Infect Dis* 2004;17(6):511-5.
5. Sanglard D, Ischer F, Calabrese D, Micheli M, Bille J. Multiple resistance mechanisms to azole antifungals in yeast clinical isolates. *Drug Resist Updat* 1998;1(4):255-65.
6. Ghannoum MA, Rice LB. Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. *Clin Microbiol Rev* 1999;12(4):501-17.
7. Mardh PA, Rodrigues AG, Genç M, Novikova N, Martinez-de-Oliveira J, Guaschino S. Facts and myths on recurrent vulvovaginal candidosis: a review on epidemiology, clinical manifestations, diagnosis, pathogenesis and therapy. *Int J STD AIDS* 2002;13(8):522-39.
8. Gualco L, Debbia EA, Bandettini R, Pescetto L, Cavallero A, Ossi MC, et al. Antifungal resistance in Candida spp. isolated in Italy between 2002 and 2005 from children and adults. *Int J Antimicrob Agents* 2007;29(2):179-84.
9. Fan SR, Liu XP, Li JW. Clinical characteristics of vulvovaginal candidiasis and antifungal susceptibilities of Candida species isolates among patients in southern China from 2003 to 2006. *J Obstet Gynaecol Res* 2008;34(4):561-6.
10. Richter SS, Galask RP, Messer SA, Hollis RJ, Diekema DJ, Pfaller MA. Antifungal susceptibilities of Candida species causing vulvovaginitis and epidemiology of recurrent cases. *J Clin Microbiol* 2005;43(5):2155-62.
11. Willinger B, Manafi M. Evaluation of CHROMagar candida for rapid screening of clinical specimens for Candida species. *Mycoses* 1999;42(1-2):61-5.
12. Kunzelmann V, Tietz HJ, Rossner D, Czaika V, Hopp M, Schmalreck A, et al. Prerequisites for effective therapy of chronic recurrent vaginal candidiasis. *Mycoses* 1996;39 Suppl 1:65-72.
13. Abu-Elteen KH. Increased incidence of vulvovaginal candidiasis caused by Candida glabrata in Jordan. *Jpn J Infect Dis* 2001;54(3):103-7.
14. Falleiros de Pádua RA, Guilhermetti E, Svidzinski TIE. In vitro activity of antifungal agents on yeasts isolated from vaginal secretion. *Acta Scientiarum Health Sci Maringá* 2003;25(1):51-4.
15. Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ, Messer SA, Tendolkar S, Diekema DJ. In vitro susceptibilities of clinical isolates of Candida species, Cryptococcus neoformans, and Aspergillus species to itraconazole: global survey of 9,359 isolates tested by clinical and laboratory standards institute broth microdilution methods. *J Clin Microbiol* 2005;43(8):3807-10.
16. Arzeni D, Del Poeta M, Simonetti O, Offidani AM, Lamura L, Balducci M, et al. Prevalence and antifungal susceptibility of vaginal yeasts in outpatients attending a gynecological center in Ancona, Italy. *Eur J Epidemiol* 1997;13(4):447-50.
17. Arechavala AI, Bianchi MH, Robles AM, Santiso G, Negroni R. Identification and susceptibility against fluconazole and albaconazole of 100 yeasts' strains isolated from vaginal discharge. *Rev Iberoam Micol* 2007;24(4):305-8.
18. Skliar TV, Krysenko AV, Sirokvasha EA, Vinnikov AI. Isolation frequency and spectrum of sensitivity to antifungal preparations of vulvovaginal candidiasis pathogens. *Mikrobiol Z* 2007;69(3):57-62.
19. Liu XP, Fan SR, Bai FY, Li J, Liao QP. Antifungal susceptibility and genotypes of Candida albicans strains from patients with vulvovaginal candidiasis. *Mycoses* 2009;52(1):24-8.

www.SID.ir

Archive of SID

Tehran University Medical Journal; Vol. 67, No. 11, Feb 2010: 793-798

Antifungal susceptibility testing of vaginal candida isolates: the broth microdilution method

Mahmoudi Rad M.[1*]
Zafarghandi AS.[2]
Shivaei M.[2]
Mahmoudi Rad N.[1]
Abbasabadi B.[2]
Amel Zabihi M.[2]
Amiri Z.[3]

1- Skin Research Center
2- Department of Gynecology and Obstetrics, Mahdieh Hospital
3- Department of Basic Sciences, Nutrition School

Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: September 01, 2009 Accepted: November 29, 2009

Abstract

Background: Vulvovaginal candidiasis is a common mucosal infection among immunocompetent, healthy women, and is caused by opportunistic yeasts that belong to genus *Candida*. In this study, we isolated and identified the *Candida* species in the vagina of patients who admitted in Gynecology Department of Mahdieh Hospital in Tehran, Iran to evaluate the in vitro activities of fluconazole, miconazole, itraconazole and flucytosine against 191 clinical *Candida* isolates by the NCCLS microdilution method.

Methods: 191 *Candida* were isolated from vaginal secretions and identified with conventional mycological methods in the diagnosis of *Candida* species. The identity of all strains was confirmed genotypically by multiplex PCR. In vitro susceptibility testing of vaginal *Candida* isolates was performed by the NCCLS broth microdilution method. The results were read at 48 h.

Results: Most *C. albicans* isolates (>90%) were sensitive in vitro to the antifungal agents tested. Most *C. glabrata* isolates showed sensitivity to miconazole and then flucytosine while they were more resistant to Itraconazole and fluconazole. Many isolates of *C. tropicalis* were susceptible to miconazole and then fluconazole. They showed a little resistance to all antifungals tested and flucytosine-resistance was the most frequent in the *C. tropicalis* isolates. High susceptibility to miconazole was observed in isolates of *C. krusei* and their susceptibility to the rest of the antifungals tested was dose-dependent. fluconazole -resistance was the most frequent in the *C. krusei* isolates.

Conclusion: Most isolates tested were susceptible to miconazole. A trend toward increased resistance among *C. glabrata* and *C. krusei* strains to antifungals tested was noted. Our findings suggest that, miconazole should be the agent of choice for the treatment of resistant vaginal candidiasis.

Keywords: *Candida*, vulvovaginitis, drug sensitivity, itraconazole, miconazole, fluconazole.

* Corresponding author: Skin Research Center, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Shohada-e Tajrish Hospital, Tehran, Iran
Tel: +98-21-22744394
email: mahnazrad@gmail.com

www.SID.ir