تأثیر داروهای ضدّ قارچی فلوکونازول، ایتراکونازول و کتوکونازول به صورت منفرد و مخلوط با یکدیگر بر روی مخمرهای بیماریزا

دکتر معصومه شمس قهفرخی[1] - آتوسا رزاق‌پرست[2] - دکتر محمدحسین یادگاری[1] - دکتر مهدی رزاقی ابیانه[3]

چکیده

زمینه و هدف: در سالهای اخیر، عفونتهای سیستمیک قارچی که به وسیله مخمرهای بیماریزا ایجاد شده‌اند ، از مهمترین عوامل مرگ و میر بخصوص در بیماران بستری در بیمارستان بوده و درمانهای ضدّ قارچی رایج با استفاده از داروهای متداول کاملاً مؤثر نمی‌باشد. تحقیقات نشان می‌دهد که اشکال مختلفی از داروهای ضدّ قارچی ترکیبی مورد آزمایش قرار گرفته‌اند که در برابر برخی از قارچ‌های بیماریزا اثرات هم افزایی خوبی نشان داده‌اند.

روش تحقیق: تحقیق حاضر به منظور تعیین حساسیت برخی از مخمرهای بیماریزا نسبت به داروهای فلوکونازول، ایتراکونازول وکتوکونازول در شرایط آزمایشگاهی و ارزیابی فعالیت آزمایشگاهی این داروها در ترکیب با یکدیگر برروی مخمرهای بیماریزا شامل کاندیدا آلبیکنس PTCC۵۰۵۷، کاندیدا دوبلینینسیس CD۳۶، کریپتوکوکوس نئوفرمنس CNE1 و مالاسزیا فورفور MF1 انجام شد. روش رقیق‌سازی در محیط کشت مایع جهت ارزیابی فعالیت ضدّ قارچی داروهای مذکور در دو محیط کشت سابورودکستروز براث (برای همه قارچها به جز مالاسزیافورفور) و محیط دیکسون براث تغییریافته (فقط برای مالاسزیا فورفور) مورد استفاده قرار گرفت. مقادیر MIC وMFC برای هر یک از ترکیبات بر اساس شمارش تعداد کلنی‌های قارچی در مقایسه با گروه شاهد ۱ (به جای دارو سرم فیزیولوژی استریل اضافه گردید) و شاهد ۲ (به جای دارو از بالاترین غلظت حلال استفاده شد) محاسبه شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که داروهای مذکور از طریق وابسته به غلظت قادر به مهار رشد عوامل‌قارچی می‌باشند؛ به طوری که میزان محدوده MIC داروی فلوکونازول برای کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا دابلینینسیس،کریپتوکوکوس نئوفرمنس و مالاسزیا فورفور به ترتیب برابر ۲۵۶-۱، ۳۲-۰/۵، ۶۴-۰/۵ و ۱۲۸-۱ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید؛ میزان محدوده MIC داروی ایتراکونازول نیز به ترتیب برابر ۱۶-۰/۵، ۸-۰/۱۲۵، ۳۲-۰/۱۲۵ و ۶۴-۱ میکروگرم در میلی لیتر محاسبه گردید. میزان محدوده MIC داروی کتوکونازول نیز ۶۴-۰/۵، ۸-۰/۵، ۶۴-۰/۲۵ و ۳۲-۰/۵ میکروگرم در میلی لیتر تعیین گردید. بررسی تأثیر ترکیب داروها نشان داد که فعالیت ضدّ قارچی در همه اشکال ترکیبی در مقایسه با شکل منفرد دارو افزایش می‌یابد (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌های این تحقیق، داروهای فلوکونازول و ایتراکونازول بیشترین تأثیر را بر روی کاندیدا دابلینینسیس دارند و این تأثیر در ترکیب این دو دارو نیز نسبت به سایر ترکیبات دارویی بیشتر است. ترکیب داروهای فلوکونازول و کتوکونازول بیشترین تأثیر را بر روی مالاسزیا فورفور و کریپتوکوکوس نئوفرمنس و ترکیب داروهای ایتراکونازول و کتوکونازول بیشترین تأثیر را بر روی کاندیدا دابلینینسیس، کریپتوکوکوس نئوفرمنس و مالاسزیا فورفور دارد.

کلید واژه‌ها: فلوکونازول؛ ایتراکونازول؛ کتوکونازول؛ حساسیت ضدّ قارچی؛ اثرات هم افزایی داروها؛ مخمرهای بیماریزا

افق‌دانش؛ مجله دانشکده علوم‌پزشکی و خدمات بهداشتی،درمانی گناباد (دوره ۱۳؛ شماره ۴؛ زمستان سال ۱۳۸۶)

دریافت: ۱۳۸۶/۷/۱۴ اصلاح نهایی: ۱۳۸۷/۳/۱۲ پذیرش: ۱۳۸۷/۳/۲۱

[1] استادیار گروه آموزشی قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

[2] نویسنده مسؤول؛ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

آدرس: مشهد- بلوار وکیل آباد- خیابان سروش- نبش سروش ۴- پلاک ۸- طبقه اول

تلفن: ۰۵۱۱-۵۲۲۲۲۵۲ نمابر: ۰۵۱۱-۷۶۴۹۸۶۴ پست الکترونیکی: arazzagh@yahoo.com

[3] استادیار بخش قارچ شناسی، انستیتو پاستور ایران

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمــه

افزایش عفونتهای قارچی ناشی از قارچهای بیماری‌زا و فرصت‌طلب، بویژه در بیماران با ضعف سیستم ایمنی از اوایل‌دهه ۹۰، به عنوان یکی از مهمترین عوامل مرگ و میر بخصوص در بیماران بستری در بیمارستان مطرح شده است. پاتوژن‌های فرصت‌طلب مهم مانند کاندیدا آلبیکنس* و سایر گونه‌های کاندیدا در این میان نقش بسزایی دارند؛ هر چند کاندیدا آلبیکنس به عنوان یک بیماریزای فرصت‌طلب دهانی، همچنان فراوانترین گونه جداشده نسبت به سایر عوامل قارچی است (۱) امّا سایر گونه‌های کاندیدا، بخصوص کاندیدا دابلینینسیس† در بیماران با نقص سیستم ایمنی (بیماران مبتلا به ایدز، سرطان و بیماران پیوندی) سبب ایجاد عفونتهای سیستمیک می‌شوند و گونه‌های کاندیدا به عنوان چهارمین عامل عفونتهای خونی بیماران بستری در بیمارستان مطرح شده‌اند که مسؤول تقریباً ۴۰٪ موارد مرگ و میر می‌باشند (۲). عفونتهای سیستمیک ناشی از کریپتوکوکوس نئوفرمنس‡ و کاندیدا در بیماران مبتلا به ایدز افزایش چشمگیری داشته است؛ همچنین عفونتهای سیستمیک ناشی از گونه‌های مالاسزیا§ و بخصوص مالاسزیا فورفور** در نوزادان به دنبال آلودگیهای بیمارستانی و در افرادی که از طریق کاتترهای وریدی ترکیبات چربی دریافت می‌کنند، به وفور مشاهده گردیده است که این گونه عفونتها اصولاً با داروهای ضدّ قارچی آزولی بویژه فلوکونازول†† درمان می‌شوند. درمان طولانی و تکراری، سبب ظهور و پیدایش ایزوله‌های مقاوم به فلوکونازول در میان گونه‌های کاندیدا شده است؛ بنابراین استفاده ازداروهای ضدّ قارچی به صورت ترکیبی می‌تواند سبب پیشگیری و یا تعویق گسترش مقاومت عوامل قارچی نسبت به داروهای ضدّ قارچی گردد و همچنین مصرف مقادیر ترکیبی از داروهای ضدّ قارچی سبب کاهش سمّیت ناشی از مصرف دوزهای بالا و منفرد هر یک از ترکیبات می‌گردد. تاکنون مطالعات فراوانی بر روی فعالیت ضدّ قارچی داروهای مختلف نسبت به مخمرهای بیماریزا در دنیا صورت گرفته است که مختصری از آن در ذیل آورده شده است:

در سال ۱۹۸۶ اثرات داروهای کتوکونازول‡‡ و ایتراکونازول§§ بر روی رشد و سنتز استرول‌ها در پتی‌روسپوروم اوال*** بررسی گردید (۳). در سال ۱۹۹۷ فعالیت ضدّ قارچی کتوکونازول وآزول‌های دیگر نسبت به مالاسزیا فورفور در شرایط In- vivo و In- vitro بررسی شد (۴).

در سال ۱۹۹۸ حساسیت ایزوله‌های کریپتوکوکوس نئوفرمنس نسبت به فلوکونازول و ایتراکونازول مورد مطالعه قرار گرفت (۵). در سال ۱۹۹۹ بررسیهایی بر روی حساسیت گونه‌های جداسازی شده از گردش خون نسبت به فلوکونازول انجام شد (۶).

در سال ۲۰۰۱ تأثیر فلوکونازول و ایتراکونازول در درمان کاندیدیازیس††† در بیماران مبتلا به ایدز بررسی گردید (۷)؛ در همان سال فعالیت پساکونازول‡‡‡ در مقایسه با ایتراکونازول و فلوکونازول نسبت به ایزوله‌های بالینی گونه‌های کاندیدا و کریپتوکوکوس مورد بررسی قرار گرفت (۸).

در سال ۲۰۰۲ حضور کاندیدا دابلینینسیس مقاوم به فلوکونازول در میان ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس جدا شده از مبتلایان به ایدز گزارش شد (۹).

در سال ۲۰۰۴ ارتباط میان حساسیت نسبت به ایتراکونازول و فلوکونازول و پیدایش بیماران با ولوواژینیت کاندیدایی§§§ بررسی گردید (۱۰).

تحقیق حاضر از نظر ترکیب داروها و بررسی اثرات هم‌افزایی داروهای آزولی بر روی مخمرهای بیماریزا اولین مطالعه‌ای است که صورت گرفته است؛ در ایران نیز بررسیهای مشابهی با استفاده از عصاره‌های گیاهی انجام شده است (۱۱-۱۳).

روش تحقیق

ارگانیسم‌ها

به منظور تعیین حساسیت دارویی عوامل مخمری نسبت به داروهای ضدّ قارچی فلوکونازول، ایتراکونازول و کتوکونازول به

* -Candida albicans
† -Candida Dubliniensis
‡ -Cryptococcus Neoformans
§ -Malassezia
** -Malassezia Furfur
†† -Fluconazole

‡‡ -Ketoconazole
§§ -Itraconazole
*** -Pityrosporum Ovale
††† -Candidiasis
‡‡‡ _Posaconazole
§§§ -Vulvovaginal Candidiasis

Archive of SID

www.SID.ir

تنهایی و در ترکیب با یکدیگر از مخمرهای بیماریزا کاندیدا آلبیکنس PTCC۵۰۵۷، کاندیدا دابلینینسیس CD۳۶، کریپتوکوکوس نئوفرمنس CNE۱ و مالاسزیا فورفور MF۱ که از موارد بالینی جداسازی شده‌بودند، استفاده گردید.

داروهای ضد قارچی

به منظور تهیه محلول‌های دارویی، ۲۰۴۸ میکروگرم از پودر فلوکونازول و ۲۰۴۸ میکروگرم نیز از پودر ایتراکونازول و ۲۰۴۸ میکروگرم از پودر کتوکونازول (که از شرکت پارس دارو خریداری شده بود)، هر یک در یک میلی‌لیتر دی متیل سولفوکساید به طور جداگانه حل گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار گرفت تا استوک‌های دارویی استریل گردد و سپس حجم‌های یک میلی‌لیتر از استوک‌های دارویی در ویال‌های استریل تهیه گردید و در دمای ۷۰- درجه سانتیگراد جهت مصارف بعدی نگهداری شد.

تهیه سوپانسیون قارچی جهت تلقیح

سوسپانسیونی از هر یک از کشت‌های ۲۴-۴۸ ساعت کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا دابلینینسیس، کشت ۴۸ ساعت‌کریپتوکوکوس نئوفرمنس و کشت ۵ روزه مالاسزیا فورفور توسط سرم فیزیولوژی استریل تهیه گردید؛ عناصر قارچی با استفاده از لام نئوبار شمارش شد و غلظتی معادل ۱/۵ × ۱۰۳ Cells/mL تعیین گردید.

تعیین حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد با استفاده از روش میکروبراث*

روش بررسی حساسیت دارویی در حقیقت روش رقیق‌سازی در محیط مایع می‌باشد؛ این روش به دو صورت ماکرو و میکرو دایلوشن† انجام می‌شود که در این تحقیق از روش دوم استفاده شد. این روش توسط کمیته استانداردهای بین‌المللی برای مخمرها ‡(NCCLSM27-A) و قارچهای رشته‌ای (NCCLS M38-P) ارائه گردیده است (۱۵،۱۴).

جهت تهیه رقت‌های متوالی دو برابر از داروهای ضدّ قارچی فلوکونازول، ایتراکونازول و یا کتوکونازول، ابتدا ۵۰ میکرولیتر از استوک داروی مورد نظر با غلظت ۲۰۴۸ میکروگرم در میلی‌لیتر به اولین گوده پلیت ۹۶ خانه که حاوی ۵۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی استریل بود، افزوده شد و به ترتیب رقت‌های متوالی دو برابر تهیه گردید؛ سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محیط دیکسون تغییر یافته مایع§ جهت تلقیح مالاسزیا فورفور و ۱۰۰ میکرولیتر از محیط سابورو براث** جهت تلقیح سایرمخمرها به هر گوده اضافه شد؛ پس از آن، ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلول‌های مخمری در حجم‌های معادل ۱/۵ ×۱۰۳ Cells/mL به همه گوده‌های پلیت تلقیح گردید.

سپس پلیت‌های حاوی کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا دابلینینسیس و کریپتوکوکوس نئوفرمنس، به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۵درجه سانتیگراد و پلیت‌های حاوی مالاسزیا فورفور به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۲ درجه سانتیگراد در داخل شیکرانکوباتور با ۱۰۰ دور در دقیقه نگهداری شدند.

لازم به ذکر است که هر یک از رقت‌های دارویی به صورت سه‌تایی تهیه‌گردید و از بیشترین غلظت حلال بدون حضور دارو به عنوان شاهد ۲ استفاده شد؛ همچنین از سرم فیزیولوژی استریل در مواردی که دارو نیاز به حلال آلی نداشت، به عنوان شاهد ۱ استفاده گردید.

پس از زمان انکوباسیون ۱۰ میکرولیتر از محتویات هر یک از گوده‌ها برداشته شد و در مورد مالاسزیا فورفور بر روی محیط دیکسون آگار تغییریافته†† و در مورد سایر مخمرها بر روی محیط سابورو دکستروز آگار‡‡ کشت داده شد و سپس پلیت‌های مربوط به مالاسزیافورفور به مدت ۵ روز در دمای ۳۲ درجه سانتیگراد و پلیت‌های مربوط به کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا دابلینینسیس به مدت ۲۴-۴۸ ساعت و پلیت‌های مربوط به کریپتوکوکوس نئوفرمنس به مدت ۴۸-۷۲ ساعت در دمای ۳۲ درجه سانتیگراد قرار گرفتند و پس از طی زمان بر اساس شمارش تعداد کلنی‌های قارچی در هر یک از رقت‌های دارویی نسبت به گروه شاهد، میزان §§MIC (حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد) و ***MFC (حداقل غلظت قارچ کشی دارو) محاسبه گردید.

*-Microbroth
†-Macro and Microdilution
‡ -National Committee for Clinical Laboratory Standards

§ Modified Dixon Broth
** Sabouraud Broth
†† Modified Dixon Agar
‡‡Sabouraud Dextrose Agar
§§ -Minimum Inhibitory Concentration
***- Minimum Fungicidal Concentration

Archive of SID

www.SID.ir

تعیین حساسیت مخمرهای مذکور نسبت به ترکیب داروهای فلوکونازول و ایتراکونازول

به منظور تهیه رقت‌های متوالی دو برابر از ترکیب داروهای مذکور، ابتدا ۲ میلیگرم از پودر فلوکونازول، ۱ میلیگرم از پودر ایتراکونازول به طور جداگانه هر یک در ۱ میلی‌لیتر دی‌متیل سولفو کساید حل گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای‌آزمایشگاه قرار گرفت تا استوک‌های دارویی استریل گردید؛ سپس از هر یک از داروها غلظت ۱۰۲۴ میکروگرم در میلی‌لیترتهیه شد؛ پس از آن ۲۵ میکرولیتر از هر یک از داروها به اولین گوده پلیت ۹۶ خانه که حاوی ۵۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی‌استریل بود، افزوده شد و به ترتیب رقت‌های متوالی دو برابر تهیه گردید و بقیه مراحل مطابق قبل انجام گرفت.

تعیین حساسیت مخمرهای مذکور نسبت به ترکیب داروهای فلوکونازول و کتوکونازول

جهت تهیه رقت‌های متوالی دو برابر از ترکیب داروهای فلوکونازول و کتوکونازول، ابتدا ۲ میلی‌گرم از پودر فلوکونازول در ۱ میلی‌لیتر دی متیل سولفوکساید و ۲ میلیگرم از پودر کتوکونازول در ۱ میلی‌لیتر دی‌متیل سولفوکساید حل‌گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار گرفت تا استوک‌های دارویی استریل گردید؛ سپس از هر یک داروها غلظت۱۰۲۴ میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه شد و میزان ۲۵ میکرولیتر از داروی فلوکونازول با غلظت ۱۰۲۴ میکروگرم در لیتر و ۲۵میکرولیتر نیز از داروی کتوکونازول با غلظت ۱۰۲۴ میکروگرم در میلی‌لیتر به اولین گوده پلیت ۹۶ خانه که حاوی ۵۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی استریل می‌باشد، افزوده شد و به ترتیب رقت‌های متوالی دو برابر تهیه گردید، ادامه مراحل قبلاً ذکر شده است.

تعیین حساسیت مخمرهای مذکور نسبت به ترکیب داروهای ایتراکونازول و کتوکونازول

به منظور تهیه رقت‌های متوالی دو برابر از ترکیب داروهای ایتراکونازول و کتوکونازول ابتدا ۲ میلی‌گرم از پودرکتوکونازول در ۱ میلی‌لیتر دی متیل سولفوکساید و ۱ میلیگرم از پودر ایتراکونازول در ۱ میلی‌لیتر دی متیل سولفوکساید حل شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار گرفت تا استوک‌های داروی استریل تهیه گردید؛ سپس از هر یک از داروها غلظت ۱۰۲۴ میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه شد و میزان ۲۵ میکرولیتر از داروی کتوکونازول با غلظت۱۰۲۴ میکروگرم در میلی‌لیتر و ۲۵ میکرولیتر نیز از داروی ایتراکونازول با غلظت ۱۰۲۴ میکرو گرم در میلی‌لیتر به گروه اول پلیت ۹۶ خانه که حاوی ۵۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی استریل می‌باشد، افزوده شد و به ترتیب رقت‌های متوالی دوبرابر تهیه گردید و ادامه مراحل مانند قبل تکرار شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از تعیین حساسیت مخمرهای مذکور نسبت به داروی فلوکونازول

بررسی اثرات غلظت مختلف داروی فلوکونازول در محدوده ۰/۰۳-۲۵۶ میکروگرم در میلی‌لیتر بر رشد مخمرهای کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا دابلینینسیس، کریپتوکوکوس نئوفرمنس و مالاسزیا فورفور نشان داد که این دارو از طریق وابسته به غلظت قادر به مهار رشد ارگانیسم‌ها در تمام غلظتهای به کار گرفته شده می‌باشد (جدول ۱). نتایج به دست آمده در تمامی غلظتهای مورد بررسی به استثنای غلظتهای ۰/۰۳ و ۰/۰۶ میکروگرم در میلی‌لیتر در مورد کاندیدا آلبیکنس، کاندیدادابلینینسیس، کریپتوکوکوس نئوفرمنس و غلظتهای ۰/۰۳-۰/۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر در مورد مالاسزیا فورفور در مقایسه با گروه شاهد ۱ و شاهد ۲ از نظر آماری معنی‌دار گزارش گردید (P<۰/۰۵). MIC۵۰ دارو (حداقل غلظتی از دارو که از رشد ۵۰٪ قارچها ممانعت می‌کند) ۱، ۰/۵،۰/۵ و ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر، MIC ۹۰ (حداقل غلظت دارو که از رشد ۹۰٪ قارچها ممانعت می‌کند) ۴، ۱، ۰/۵و ۸ میکروگرم در میلی‌لیتر و MFC ۲۵۶، ۳۲، ۶۴ و ۱۲۸ میکروگرم در میلی‌لیتر به ترتیب برای کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا دابلینینسیس، کریپتوکوکوس نئوفرمنس و مالاسزیا فورفور تعیین‌گردید (جدول ۱).

نتایج حاصل از تعیین حساسیت مخمرهای مذکور نسبت به داروهای ایتراکونازول

بررسی تأثیر غلظتهای مختلف داروی ایتراکونازول در محدوده ۰/۰۳-۲۵۶ میکروگرم در میلی‌لیتر بر رشد مخمرهای فوق الذکر نشان داد که این دارو نیز در تمام غلظتهای به کار گرفته شده از طریق وابسته به غلظت قادر به مهار رشد عوامل قارچی مذکور می‌باشد (جدول ۱).

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج به دست آمده در تمامی غلظتهای مورد بررسی به استثنای غلظتهای ۰/۰۳ و ۰/۰۶ میکروگرم در میلی‌لیتر در مورد کاندیدا آلبیکنس و مالاسزیا فورفور و غلظت ۰/۰۳ میکروگرم در میلی‌لیتر در مورد کریپتوکوکوس نئوفرمنس در مقایسه با گروه شاهد ۱ و شاهد ۲ از نظر آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). MIC۵۰ دارو به ترتیب برای کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا دابلینینسیس، کریپتوکوکوس نئوفرمنس و مالاسزیا فورفور ۰/۵، ۰/۱۲۵، ۰/۱۲۵ و ۱ میکرو گرم در میلی‌لیتر، MIC۹۰ ۲، ۰/۲۵، ۰/۲۵ و ۴ میکروگرم در میلی‌لیتر و MFC ۱۶، ۸، ۳۲ و ۶۴ میکروگرم در میلی‌لیتر محاسبه شد (جدول ۱).

نتایج حاصل از تعیین حساسیت مخمرهای مذکور نسبت به داروی کتوکونازول

بررسی اثرات غلظتهای مختلف داروی کتوکونازول در محدوده ۰/۰۳-۲۵۶ میکروگرم در میلی‌لیتر بر رشد مخمرهای مذکور نشان داد که این داده در تمامی غلظتهای به کار گرفته شده، قادر به مهار رشد ارگانیسم می‌باشد (جدول ۱). این مهار رشد از طریق وابسته به غلظت انجام می‌گیرد. نتایج به دست آمده در تمامی غلظتهای مورد بررسی به استثنای غلظتهای ۰/۰۳-۰/۱۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر در کاندیدا آلبیکنس، غلظت ۰/۰۳ میکروگرم در میلی‌لیتر در کاندیدا دابلینینسیس و کریپتوکوکوس نئوفرمنس و غلظتهای ۰/۰۳ و ۰/۰۶ میکروگرم در میلی‌لیتر در مالاسزیا فورفور درمقایسه با گروه شاهد ۱ و شاهد ۲ از نظر آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). MIC۵۰ دارو به ترتیب برای‌کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا دوبلینینسیس، کریپتوکوکوس نئوفرمنس و مالاسزیا فورفور ۰/۵، ۰/۵، ۰/۲۵ و ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر MIC۹۰ ۴، ۱، ۰/۵ و ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر و MFC ۶۴، ۸، ۶۴، ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر محاسبه شد (جدول ۱).

نتایج حاصل از تعیین حساسیت مخمرهای مذکور نسبت به ترکیب داروهای فلوکونازول و ایتراکونازول

بررسی اثرات غلظتهای مختلف ترکیب دو داروی فلوکونازول و ایتراکونازول در محدوده ۰/۰۱۵-۱۲۸ میکروگرم در میلی‌لیتر برای هر یک از داروها به نسبت مساوی ۱:۱ بر رشد مخمرهای مذکور نشان داد که ترکیب دارویی فوقِ در تمامی غلظتهای به‌کار گرفته شده از طریق وابسته به غلظت، قادر به مهار رشد عوامل مخمری می‌باشند (جدول ۱).

نتایج به دست آمده در تمامی غلظتهای مورد بررسی به استثنای غلظتهای ۰/۰۱۵-۰/۰۳میکروگرم در میلی‌لیتر در مورد کاندیدا آلبیکنس و کریپتوکوکوس نئوفرمنس و غظت ۰/۰۳ میکروگرم در میلی‌لیتر در مورد کاندیدا دابلینینسیس و غلظت ۰/۰۱۵میکروگرم در میلی‌لیتر در مورد مالاسزیا فور فور از هر یک از داروها در مقایسه با گروه شاهد۱ و شاهد۲ از نظر آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) و مقادیر MIC۵۰ هر یک از داروها به طور جداگانه به ترتیب برای کاندیداآلبیکنس، کاندیدا دابلینینسیس، کریپتوکوکوس نئوفرمنس و مالاسزیا فورفور برابر ۰/۱۲۵، ۰/۰۶، ۰/۱۲۵ و ۰/۰۶میکروگرم در میلی‌لیتر، MIC۹۰، ۰/۵، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵ و ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر و MFC ۱۶، ۲، ۴ و ۴ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید (جدول ۱).

نتایج حاصل از تعیین حساسیت مخمرهای مذکور نسبت به ترکیب داروهای فلوکونازول و کتوکونازول

بررسی اثرات غلظتهای مختلف ترکیبی داروهای فلوکونازول و کتوکونازول در محدوده ۰/۰۱۵-۱۲۸ میکروگرم در میلی‌لیتر برای هریک از داروها به نسبت مساوی ۱:۱ بر رشد مخمرهای مذکور نشان داد که ترکیب دارویی مذکور در تمامی غلظتهای به کارگرفته شده قادر به مهار رشد ارگانیسم‌ها از طریق وابسته به غلظت می‌باشد (جدول ۱).

نتایج به دست آمده در تمامی غلظتهای مورد بررسی به استثنای غلظتهای ۰/۰۱۵-۰/۰۶ میکروگرم در میلی‌لیتر در مورد کاندیدا آلبیکنس و غلظتهای ۰/۰۳ و ۰/۰۶ میکروگرم در میلی‌لیتر در مورد کاندیدا دابلینینسیس و غلظت ۰/۰۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر در مورد کریپتوکوکوس نئوفرمنس و غلظتهای ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ میکروگرم در میلی‌لیتر در مورد مالاسزیا فورفور از هر یک از داروها در مقایسه با گروه شاهد ۱ و شاهد ۲ از نظر آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) و مقادیر MIC۵۰ هر یک از داروها به طور جداگانه به ترتیب برای کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا دابلینینسیس، کریپتوکوکوس نئوفرمنس و مالاسزیا فورفور برابر ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۱۲۵ و ۰/۰۶ میکروگرم در میلی‌لیتر، MIC۹۰، ۱، ۰/۵، ۰/۲۵ و ۰/۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر و MFC ۱۶، ۸، ۲ و ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید (جدول ۱).

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج حاصل از تعیین حساسیت مخمرهای مذکور نسبت به ترکیب داروهای ایتراکونازول و کتوکونازول

بررسی اثرات غلظتهای مختلف ترکیب داروهای ایتراکونازول و کتوکونازول در محدوده ۰/۰۱۵-۱۲۸ میکروگرم در میلی‌لیتر برای هر یک از داروها به نسبت مساوی ۱:۱ بر رشد مخمرهای مذکور نشان داد که ترکیب دارویی مذکور در تمامی غلظتهای به کار گرفته شده از طریق وابسته به غلظت قادر به مهار رشد ارگانسیم‌ها می‌باشد (جدول ۱). نتایج به دست آمده در تمامی غلظتهای مورد بررسی به استثنای غلظتهای ۰/۰۱۵-۰/۰۶ میکروگرم در میلی‌لیتر در مورد کاندیدا آلبیکنس، غلظتهای ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ میکروگرم در میلی‌لیتر در مورد کاندیدا دابلینینسیس، غلظت ۰/۰۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر در مورد کریپتوکوکوس نئوفرمنس و مالاسزیا فوفور از هر یک از داروها و غلظت هر یک از ترکیبات به طور جداگانه، در مقایسه با گروه شاهد ۱ و شاهد ۲ از نظر آماری معنی‌دار بود ($P<0/05$) و مقادیر MIC۵۰ هر یک از داروها به طور جداگانه به ترتیب برای کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا دوبلینینسیس، کریپتوکوکوس نئوفرمنس و مالاسزیافورفور برابر ۰/۰۶، ۰/۰۶، ۰/۰۶ و ۰/۰۶ میکروگرم در میلی‌لیتر، MIC۹۰، ۰/۲۵، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵ و ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر و MFC ۸، ۴، ۴ و ۴ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید (جدول ۱).

جدول ۱- بررسی تأثیر داروهای فلوکونازول، ایتراکونازول و کتوکونازول به صورت منفرد و مخلوط با یکدیگر بر روی برخی از مخمرهای بیماریزا

ارگانیسم	دارو	محدوده غلظت (میکروگرم/میلی‌لیتر)	میزان MIC (میکروگرم بر میلی لیتر) MIC۵۰	MIC۹۰	میزان MFC (میکروگرم بر میلی‌لیتر)
کاندیدا آلبیکنس- PTCC ۵۰۵۷	Flu	۰,۰۳-۲۵۶	۱	۴	۲۵۶
	It	۰,۰۳-۲۵۶	۰,۵	۲	۱۶
	Kcz	۰,۰۳-۲۵۶	۰,۵	۴	۶۴
	Flu+It	۰,۰۱۵-۱۲۸	۰,۱۲۵	۰,۵	۱۶
	Flu+Kcz	۰,۰۱۵-۱۲۸	۰,۱۲۵	۱	۱۶
	It+Kcz	۰,۰۱۵-۱۲۸	۰,۰۶	۰,۲۵	۸
کاندیدا دابلینینسیس CD-۳۶	Flu	۰,۰۳-۲۵۶	۰,۵	۱	۳۲
	It	۰,۰۳-۲۵۶	۰,۱۲۵	۰,۲۵	۸
	Kcz	۰,۰۳-۲۵۶	۰,۵	۱	۸
	Flu+It	۰,۰۱۵-۱۲۸	۰,۰۶	۰,۱۲۵	۲
	Flu+Kcz	۰,۰۱۵-۱۲۸	۰,۲۵	۰,۵	۸
	It+Kcz	۰,۰۱۵-۱۲۸	۰,۰۶	۰,۱۲۵	۴
کریپتوکوکوس نئوفرمنس CNE-۱	Flu	۰,۰۳-۲۵۶	۰,۵	۰,۵	۶۴
	It	۰,۰۳-۲۵۶	۰,۱۲۵	۰,۲۵	۳۲
	Kcz	۰,۰۳-۲۵۶	۰,۲۵	۰,۵	۶۴
	Flu+It	۰,۰۱۵-۱۲۸	۰,۱۲۵	۰,۲۵	۴
	Flu+Kcz	۰,۰۱۵-۱۲۸	۰,۱۲۵	۰,۲۵	۲
	It+Kcz	۰,۰۱۵-۱۲۸	۰,۰۶	۰,۲۵	۴
مالاسزیا فورفور MF-۱	Flu	۰,۰۳-۲۵۶	۱	۸	۱۲۸
	It	۰,۰۳-۲۵۶	۱	۴	۶۴
	Kcz	۰,۰۳-۲۵۶	۰,۵	۲	۳۲
	Flu+It	۰,۰۱۵-۱۲۸	۰,۰۶	۰,۵	۴
	Flu+Kcz	۰,۰۱۵-۱۲۸	۰,۰۶	۰,۲۵	۲
	It+Kcz	۰,۰۱۵-۱۲۸	۰,۰۶	۰,۵	۴

Flu:(Fluconazole) It:(Itraconazole) Kcz:(Ketoconazole)

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

عفونتهای سیستمیک ناشی از مخمرهای بیماریزا در طیّ چهار دهه اخیر به دلیل افزایش بیماریهای سرکوب‌کننده سیستم ایمنی نظیر بیماری ایدز، انواع بدخیمی‌های خونی و همچنین مصرف بی رویه آنتی‌بیوتیک‌ها و ... به عنوان یکی از مهمترین عوامل مرگ و میر بخصوص برای بیماران بستری در بیمارستان مطرح شده است که این مسأله انتخاب روشهای درمانی مناسب و مؤثر را در یک دوره زمانی مشخص اجتناب‌ناپذیر می‌سازد (۱۶-۱۹).

مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده است که عفونتهای با اهمیت قارچی عمدتاً به وسیله گونه‌های مقاوم به داروهای ضدّ قارچی ایجاد می‌شود. این موضوع بویژه در مورد گونه‌های کاندیدا در رابطه با تأثیر داروی ضدّ قارچی فلوکونازول مورد تأکید قرار گرفته است.

بنابر دلایل فوقِ و بویژه ایجاد مقاومت دارویی، گرایش نسبت به یافتن ترکیبات ضدّ قارچی جدید افزایش یافته است؛ همچنین استفاده از ترکیب داروهای ضدّ قارچی منجر به جلوگیری یا تأخیر در گسترش عناصر قارچی نسبت به داروی ضدّ قارچی می‌گردد و به جای استفاده از دوزهای منفرد سمّی سبب استفاده از مقادیر غیر سمّی دو یا چند داروی ضدّ قارچی مورد نیاز می‌گردد (۲۰-۲۳).

مقاومت نسبت به فلوکونازول به فراوانی در میان بیماران مبتلا به کاندیدیازیس دهانی و مبتلایان به ایدز مشاهده می‌شود و ممکن است با ایتراکونازول تداخل مقاومت داشته باشد. گزارشاتی از مقاومت بالینی کاندیدا آلبیکنس در شرایط In-vitro نسبت به فلوکونازول در مبتلایان به ایدز وجود دارد. عوامل زمینه‌ساز برای ایجاد ایزوله‌های مقاوم، مهار شدید سیستم ایمنی و استفاده قبلی فلوکونازول مطرح شده‌اند؛ بخصوص در برخی مطالعات مقادیر بیشتر از ۱۰ گرم (در مجموع) بیان شده است،در بیماران دیگر (غیر ایدزی) مقاومت نسبت به فلوکونازول شایع نیست (۶).

حساسیت کاندیدا دابلینینسیس در شرایط آزمایشگاهی نسبت به تری‌آزول‌های* جدید بررسی و مشاهده شده است که حساسیت نسبت به فلوکونازول در این گونه کاهش یافته است (MIC مساوی یا بیشتر از ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر)، میزان MIC در ایتراکونازول مساوی و یا کمتر از ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش شده است (۱۶).

حساسیت آزمایشگاهی کاندیدا دابلینینسیس نسبت به عوامل ضدّقارچی مختلف بررسی شده است؛ بیشتر ایزوله‌ها به داروهای ضدّقارچی حساس بودند که در این میان ۷۵/۹٪ به کتوکونازول حساس و ۸۶/۲٪ به فلوکونازول و ایتراکونازول حساس بودند (۲۳).

فعالیت چند داروی ضدّ قارچی نظیر کتوکونازول، میکونازول†، وریکونازول‡، ایتراکونازول و فلوکونازول نسبت به مالاسزیا فورفور در شرایط آزمایشگاهی بررسی شده است و نتایج نشان داد که داروها دارای فعالیت قابل توجهی می‌باشند؛ کتوکونازول و ایتراکونازول از سایر داروها فعالیت بیشتری داشتند (۲۴).

در مطالعه‌ای دیگر حساسیت دارویی مالاسزیا فورفور نسبت به عوامل ضدّقارچی فلوکونازول، ایتراکونازول و کتوکونازول بررسی شد؛ میزان MIC کتوکونازول نسبت به مالاسزیا فورفور ۰/۰۲ میکروگرم در میلی‌لیتر و برای ایتراکونازول و فلوکونازول به ترتیب ۰/۰۵ و ۰/۰۹ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید (۲۵).

در یک بررسی حساسیت دارویی ایتراکونازول و فلوکونازول نسبت به ایزوله‌های بالینی کریپتوکوکوس ارزیابی شد؛ حساسیت به ایتراکونازول و فلوکونازول ۹۳/۲٪ و ۸۴/۱٪ تعیین گردید (۲۶).

گاهی ممکن است در برخی از قارچها وجود توأم دو دارو باعث تضعیف اثرات یکی از آنها یا هر دو شود؛ به طور مثال در حالی که هر دو داروی مایکونازول و آمفوتریسین B§ از فعالیت ضدّ قارچی بالایی برخوردارند ولی وجود مایکونازول در محیط به علت ممانعت از سنتز ارگوسترول نوسط سلول قارچی موجب تضعیف فعالیت آمفوتریسین B می‌گردد (۲۲).

فعالیت ضدّ قارچی فلوکونازول در ترکیب با لواستاتین** و تأثیر آنها بر روی بیان ژن در مسیر بیوسنتز ارگوسترول و

* Triazoles

† Miconazole
‡ Voriconazole
§ Amphotericin B
** Lovastatin

Archive of SID

www.SID.ir

پرینیلیشن* در کاندیدا آلبیکنس ارزیابی شد. مطالعات بر روی حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی از رشد نشان داد که لواستاتین به صورت سینرژیستیکی† با فلوکونازول در شرایط آزمایشگاهی عمل می‌کند. بیان ژن‌ها در بخش اول مسیر استرول مانند HMG1 و ERG20 در حضور ترکیب فلوکونازول با لواستاتین تغییری نمی‌کند؛ در حالی که بیان ژن‌های دخیل در مرحله بعدی مسیر استرول مانند ERG9 و ERG11 در پاسخ به این داروها افزایش می‌یابد (۲۷).

همچنین افزایش فعالیت فلوکونازول در ترکیب با آنتی‌اکسیدان‌ها بر روی ارگانیسم‌های مقاوم به فلوکونازول مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که فلوکونازول به تنهایی هیچ فعالیتی بر روی ارگانیسم‌های مقاوم ندارد و آنتی‌اکسیدان‌ها فعالیت فلوکونازول را از طریق افزایش نفوذپذیری غشای سلولی افزایش می‌دهند (۱۳).

در همین راستا تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر داروهای ضدّ قارچی فلوکونازول و ایتراکونازول و کتوکونازول به صورت جداگانه و در ترکیب با یکدیگر بر روی مخمرهای بیماریزا شامل کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا دابلینینسیس، کریپتوکوکوس نئوفرمنس و مالاسزیا فورفور انجام شد. نتایج به دست آمده نشان داد که داروهای مذکور از طریق وابسته به غلظت قادر به مهار نسبی یا کامل رشد عوامل مخمری می‌باشند و میزان مهار رشد بر حسب نوع ارگانیسم و غلظت و نوع ترکیب مورد استفاده متفاوت است. در بررسی اثرات ضدّ قارچی فلوکونازول مشخص گردید که این دارو بیشترین اثر را بر روی کاندیدا دابلینینسیس و کریپتوکوکوس نئوفرمنس دارد و دامنه MIC به ترتیب ۰/۵-۳۲ و ۰/۵-۶۴ میکروگرم در میلی‌لیتر برای این ارگانیسم‌ها می‌باشد؛ در حالی که دامنه MIC دارو در مورد مالاسزیا فوفور و کاندیدا آلبیکنس به ترتیب برابر۱-۱۲۸ و ۱-۲۵۶ میکروگرم در میلی‌لیتر می‌باشد (جدول ۱).

در رابطه با بررسی اثرات داروی ایتراکونازول مشخص گردید که این دارو بر روی کاندیدا آلبیکنس و کریپتوکوکوس نئوفرمنس نسبت به دو داروی دیگر مؤثرتر است و دامنه MIC دارو در مورد کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا دابلینینسیس، کریپتوکوکوس نئوفرمنس و مالاسزیا فورفور به ترتیب برابر ۰/۵-۱۶، ۰/۱۲۵-۸، ۰/۱۲۵-۳۲ و ۱-۶۴ میکروگرم در میلی‌لیتر می‌باشد (جدول ۱).

در بررسی اثرات ضدّ قارچی داروی کتوکونازول مشخص گردید که تأثیر این دارو بر روی کاندیدا دابلینینسیس بیش از سایر عوامل قارچی است و محدوده MIC دارو برای این ارگانیسم ۰/۵-۸ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید. محدوده MIC کتوکونازول برای مالاسزیا فورفور ۰/۵-۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر و برای کریپتوکوکوس نئوفرمنس ۰/۲۵-۶۴ میکروگرم در میلی‌لیتر و در مورد کاندیدا آلبیکنس ۰/۵-۶۴ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید (جدول ۱).

در حالی که به دنبال ترکیب فلوکونازول با کتوکونازول میزان MIC۵۰، MIC۹۰ و MFC در مورد هر یک از عوامل مخمری‌کاهش یافت و به دنبال ترکیب داروی ایتراکونازول و کتوکونازول نیز کاهش محدوده MIC برابر ۰/۰۶-۴ میکروگرم در میلی‌لیتر برای هر یک از ترکیبات به طور جداگانه در مورد عوامل مخمری کاندیدا دابلینینسیس، کریپتوکوکوس نئوفرمنس و مالاسزیا فورفور و محدوده ۰/۰۶-۸ میکروگرم در میلی‌لیتر برای کاندیدا آلبیکنس تعیین گردید (جدول ۱). به دنبال ترکیب دو داروی کتوکونازول و فلوکونازول با یکدیگر بخوبی اثرات هم‌افزایی ترکیبات مذکور در مهار رشد عوامل مخمری مشاهده گردید و میزان محدوده MIC برای مالاسزیا فوفور، کریپتوکوکوس نئوفرمنس، کاندیدا دوبلینینسیس و کاندیدا آلبیکنس به ترتیب برابر ۰/۰۶-۲، ۰/۱۲۵-۲، ۰/۲۵-۸ و ۰/۱۲۵-۱۶ میکروگرم در میلی‌لیتر برای هر یک از ترکیبات به تنهایی محاسبه شد (جدول ۱).

به دنبال ترکیب فلوکونازول و ایتراکونازول کاهش میزان MIC، ۵۰، MIC۹۰ و MFC در مورد هر یک از عوامل مخمری مشاهده می‌گردد؛ به طوری که دامنه MIC برای هر یک از عوامل مخمری مذکور به ترتیب برابر ۰/۱۲۵-۱۶، ۰/۰۶-۲، ۰/۱۲۵-۴ و ۰/۰۶-۴ میکروگرم در میلی‌لیتر برای هر یک از ترکیبات به طور مجزا در مورد کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا دابلینینسیس، کریپتوکوکوس نئوفرمنس و مالاسزیا فورفور تعیین گردید (جدول ۱).

مطالعات سایر محققان نشان داده است که داروهای

* Prenylation
† Synergistical

Archive of SID

www.SID.ir

فلوکونازول، ایتراکونازول و کتوکونازول بر روی گونه‌های کاندیدا نظیر کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا گلابرانا (Candida Glabrata)، کاندیدا تروپیکالیس (Candida Tropicalis) و کاندیدا پاراپسیلوزیس (Candida Parapsilosis) به ترتیب در محدوده ۱۲۸≤- ۰/۰۶، ۸≤-۰/۰۳ و ۱۶-۰/۰۶ میکروگرم در میلی‌لیتر مؤثر می‌باشند (۲۸).

همچنین در بررسی بر روی ۳۰ ایزوله کاندیدا آلبیکنس میزان محدوده MIC داروهای ایتراکونازول و فلوکونازول به ترتیب ۴>- ۰/۱۲۵ و ۶۴> -۲ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید (۷). در بررسی اثرات ضدّ قارچی داروی کتوکونازول نیز بر روی ۳۰ ایزوله مالاسزیا فورفور دامنه MIC دارو در محدوده ۰/۰۶-۰/۱۲ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید. این محققین نشان دادند که داروی کتوکونازول در مقایسه با داروهای بیفونازول (Bifonazole)، کلوتریمازول و کلیمبازول تأثیر بیشتری بر روی مالاسزیا فورفور دارد (۳۰،۲۸،۱۲،۴).

نتیجه‌گیری

مطالعات سایر محققان نیز نتایج مشابهی را اذعان می‌دارد و مقایسه نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر با نتایج سایرین نشان می‌دهد که نوع و روش تعیین حساسیت دارویی ایزوله‌های بررسی شده می‌تواند در نتیجه به دست آمده تأثیرگذار باشد و این امر بایستی مورد توجه ویژه قرار گیرد.

منابع:

1- Kantarcioglu AS, Yucel A. The presence of fluconazole-resistant candida dubliniensis strain among candida albicans isolated from immunocompromised or otherwise debilitated HIV-negative Turkish patients. Rev Iberoam Mycol. 2002; 19 (1): 44-48.

2- Anaissie EJ, Mc Ginnis MR, Pfaller MA. Clinical Mycology. UK: Mosby; 2003. pp: 195-96.

3- Marichal P, Gorrens J, Van Cutsem J, Van Gerven E, Vanden Boss H. Effects of ketoconazole and Itraconazole on growth and sterol synthesis in pityrosporum ovale. J Med Vet Mycol. 1986; 24 (6): 487-89.

4- Strippoli U, Piacentini AD, Auria FD, Simonetti N. Antifungal activity of Ketoconazole and other azoles against Malassezia furfur in vitro and in vivo. Infection. 1997; 25 (5): 303-306.

5- Davey KG, Johnson EM, Holmes AD, Szekely A, Warnock DW. In vitro susceptibility of cryptococcus neoformans isolates to fluconazole and Itraconazole. Antimicrob Chemother. 1998; 24 (2): 215-20.

6- Canton E, Peman J, Carrillo-Mucoz A, Orero A, Vbeda P, Gobernado M. Fluconazole susceptibilities of blood stream candida spp.isolates and determined by national Committee for clinical laboratory standards method M27-A and two other methods. J Clinical Microbiol. 1999; 37 (7): 2197-2200.

7--Menon T, Umamaheswari K, Kumarasamy N, Solomon S, Thyagar SP. Efficacy of fluconazole and itraconazole in the treatment of a Candidiasis in HIV patients. Acta Trop. 2001; 80 (2): 151-54.

8- Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN. In vitro activities of posaconazole (sch 56692) compared with those of Itraconazole and fluconazole against 3,685 clinical isolates of candida spp.and cryptococcus neoformans. Antimicrob Agents Chemother. 2001; 45 (10): 2862-64.

9- Sullivan DJ, Moran GP, Pinjon E, AL-Mosaid, Stokes G, Vanghar-Coleman DC. Comparison of the epidemiology, drug resistance mechanism and virulence of candida dubliniensis and candida albicans. FEMS Yeast Res. 2004; 4 (4-5): 369-76.

10- Costa M, Passos XS, Miranda AT, de Araujo RS, Paula CR, Silva MR. Correlation of in vitro Itraconazole and fluconazole susception with clinical outcome for patients with vulvovaginal candida. Mycopathologia. 2004; 157 (1): 43-7.

11- Refaee G. The effect of Allium Cepa extract on lipase activity and the growth of Malassezia furfur invitro. [dissertation]. Department of Medical Mycology, Faculty of Medicine, Tarbiat Modaress University, Tehran, Iran, 2001.

12- Shokooh Amiri MR. Antifungal effects of aqueous Allium sativum,Allium cepa and Melia azedarach extract against 25 clinical isolates of Malassezia furfur.[dissertation] Department of Medical Mycology, Faculty of Medicine, Tarbiat

Archive of SID

www.SID.ir

Modaress University,Tehran, Iran. 2003.

13- Moghaddasi B. Antifungal effects of aqueous Allium sativum, Allium cepa and Melia azedarach extract against Candida species (albicans,tropicalis,glabrata and pseudotropicalis). [dissertation]. Department of Medical Mycology, Faculty of Medicine, Tarbiat Modaress University, Tehran, Iran, 2003.

14- NCCLS document M27-A. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Clin Lab Standards Inst. 1977; 17 (9) 1: 1-29.

15- NCCLS document M38-P. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of condition-forming filamentous fungi. Clin Lab Standards Inst. 1998; 22 (16): 1-29.

16- Pfaller MA, Messer SA, Gee S, Joly S, Pujol C, Sulliveun DJ. In- vitro susceptibilities of candida dubliniensis isolates tested against the new Triazole and echinocandin Antifungal agents. J Clinical Microbiol. 1999; 37 (3): 870-72.

17- Gutierrez J, Morales P, Gonzalez MA, Quindos G. Candida dubliniensis, a new fungal pathogen. J Basic Microbial. 2002; 42 (3): 207-27.

18- Davey KG, Holmes AD, Johnson EM, Szekely A, Warnock DW. Comparative evaluation of FUNGITEST and broth microdilution methods of antifungal drug susceptibility testing of candida species and Cryptococcus neoformans. J Clinical Microbiol. 1998; 36 (4): 926-30.

19- Zaini F, Mahbod A, Emami M. Comprehensive Medical Mycology. 1st ed. Tehran: Tehran University Press: 1998; 330-48

20- Hassan HA, Mahmoud Al. Inhibitory effects of spice oil on lipase and mycotoxin production. Zentralbl Microbiol. 1993; 148 (8): 543-48.

21- Zohri AN, Gawad K, Saber S. Antibacterial antidermatophytic and antitoxinogenic activities of Onion (Allium cepa) oil. Microbiol Res. 1995; 150 (2): 167-72.

22- Shams M, Razafsha M, Allameh A, Razzaghi M. Inhibitory effects of aqueous onion and garlic extracts or growth and keratinase activity in Tricophyton mentagrophytes. Iran Biomed J. 2003; 7: 113-18.

23- Quindos G, Carrillo Munoz AJ, Arevalo MP, Salgado J, Alonso Va R, Rodrigo JM, et al. In-vitro susceptibility of candida dubliniensis to current and antifungal agents.Chemotherapy. 2000; 46 (6): 395-401.

24- Gupta AK, Kohli Y, Li A, Faergemann J, Summerbell RC. In-vitro susceptibility of the seven Malassezia species to Ketoconazole, Voriconazole, Itraconazole and Terbinafine. Br J Dermatol. 2000; 42 (4): 758-65.

25- Zissova LG, Kantarjiev TB, Kuzmanov AH. Drug susceptibility testing of Malassezia furfur strains to antifungal agents.Folia Med (Plovdiu). 2001; 43 (4): 10-12.

26- Datta K, Jain N, Sethi S, Rattan A, Casadevall A, Banerjee U. Fluconazole and Itraconazole susceptibility of clinical isolates of Crypyococcus neoformans at a tertiary care center in India: a need for care. Antimicrobe Chemother. 2003; 52 (40: 683-6.E Pub 2003 Sepol).

27-Song JL, Lyons CN, Holleman S, Oliver BG, White TC. Antifungal activity of fluconazole in combination with lovastatin and their effects on gene expression in the ergosterol and prenylation pathways in candida albicans. Med Mycol. 2003; 41(5): 417-25.

28- Laverdirere M, Hoban D. In vitro activity of three new triazoles and one echinocandin against candida blood stream isolates from cancer patients. J Antimicrobial Chemotherapy. 2002; 50: 119-23.

29- Murai T, Nakamura Y, Kano R, Watanabe S, Hasegawa A. Susceptibility testing of Malassezia Pachydermatis using the broth microdilution method. Mycoses. 2002; 45 (3-4): 84-87.

30- Marichal P, Gorrens J, Van Cusem J, Van Gerven F, Vanden Boss H. Effects of Ketoconazole and Itraconazole on growth and sterolsynthesis in Pityrosporum ovale. J Med Vet Mycol. 1986; 24 (6): 487-89.

Archive of SID

www.SID.ir

Title: Antifungal effects of Fluconazole, Itraconazole and Ketoconazole in intact forms and also combinations to each other against some pathogenic yeasts

Authors: M. Shams Ghahfarrokhi[1], A. Razzaghparast[2], MH. Yadegari[1], M. Razzaghi Abyaneh[3]

Background and Aim: In recent years, fungal systematic infection due to pathogenic yeast have been considered as the most important causes of dead . Current antifungal therapies using routine antifungal drugs have not completely effective,. .In last decade, different formulations of combined antifungals have tested against some pathogenic fungi which shown good synergistic effects.

In present work, antifungal effects of some azoles e.g .fluconazole (flu). Itraconazole (it) and ketoconazole (kcz) were studied in intact forms and also in combinations to each other against some pathogenic yeast including Candida albicans PTCC5057,Candida dubliniensis CD36,Cryptococcus neoformance CNE1 and Malassezia furfur MF1,invitro .

Materials and Methods: In present work, antifungal effects of some azoles e.g .fluconazole (flu). Itraconazole (it) and ketoconazole (kcz) were studied in intact forms and also in combinations to each other against some pathogenic yeast including Candida albicans PTCC5057,Candida dubliniensis CD36,Cryptococcus neoformance CNE1 and Malassezia furfur MF1,invitro. The microdilution method was used for assessing antifungal susceptibility of above-mentioned compouneds in two culture media sabouraud dextrose broth (for all fungi except M.furfur) and modified Dixon broth (for only M.furfur). MIC and MFC values were calculated for each compound based on comparing colony counts of test and control samples.

Results: On the basis of obtained results, all drugs were inhibited the growth of all fungi tested in a dose-dependent manner. MIC ranges of Flu,It and Kcz for C.albicans(1-256,0.5-16,0.5-64microgram/ml),Candida dubliniensis (0.5-32,0.125-8,0.5-8 microgram/ml), C. neoformance (0.5-64,0.125-32,0.25-64 microgram/mL) and M. furfur (1-128,1-64,0.5-32 microgram/mL) were obtained, respectively.

Results: Our results showed that the most effective drugs against Candida dubliniensis were Itraconazole and Fluconazole in intact forms and in combination to each other. Fluconazole and Ketoconazole in combination to each other are the most effective drugs against Malassezia furfur and Cryptococcus neoformans. Also Ketoconazole and Itraconazole in combination to each other are the most effective drugs against Candida dubliniensis, Cryptococcus neoformans and Malassezia furfur ($P<0.05$).

Key Words: Fluconazole; Itraconazole; Ketoconazole; Pathogenic yeasts; Synergistic effects; Antifungal susceptibility

[1]Assistant Professor, Department of Medical Mycology, Faculty of Medicine, Tarbiat Modaress University, Tehran, Iran
[2] Corresponding Author; MSc degree in Medical Mycology , Tarbiat Modaress University, Tehran, Iran arazzagh@yahoo.com
[3] Assistant Professor, Department of Mycology, Institute Pasture, Tehran, Iran

Archive of SID
www.SID.ir