

مقایسه‌ی اثرات ضد قارچی فلوکونازول و نانوفلوکونازول بر روی

درماتوفیت‌های حیوان‌گرای جدا شده از انسان و حیوان

نجم‌السادات موسوی‌بفروئی^۱، سیدجمال‌هاشمی^{۲*}، منصور بیات^۱

چکیده

یکی از شایع‌ترین عفونت‌های قارچی در انسان و حیوانات درماتوفیتوزیس می‌باشد. امروزه در برخی موارد بیماری، مقاومت‌های دارویی و درمانی در برابر داروهای رایج مشاهده شده است لذا طراحی و استفاده از داروهای ضد قارچی جدید جهت درمان این بیماری ضروری به نظر می‌رسد. در این مطالعه فرم نانوفلوکونازول دارو طراحی و تست‌های حساسیت دارویی برای گونه‌های درماتوفیتی انجام شد. از بیماران مشکوک به درماتوفیتوزیس آزمایش مستقیم و کشت به عمل آمد و درماتوفیت‌های جدا شده توسط تعیین توالی ژنومی ناحیه‌ی ITS1-5.8S-ITS2 تعیین هویت شدند. تست حساسیت دارویی برای ایزوله‌های درماتوفیتی با پروتکل استاندارد CLSI M38-A2 انجام گردید و MIC₉₀ و MIC₅₀ برای هر گونه محاسبه شد. ۴۷ مورد کلنی درماتوفیت شناسایی شد که شامل ۲۳ مورد ترایکوفایتون متاگروفیتس، ۱۲ مورد ترایکوفیتون وروکوزوم و ۱۲ مورد میکروسپوروم کنیس بود. نتایج MIC₅₀ برای ترایکوفایتون متاگروفیتس، ترایکوفیتون وروکوزوم و میکروسپوروم کنیس به ترتیب برابر ۳۲، ۳۲ و ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای فلوکونازول و ۱۶، ۸ و ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای نانوفلوکونازول و همچنین MIC₉₀ برای این سه گونه به ترتیب ۶۴، ۶۴ و ۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای فلوکونازول و ۱۶، ۳۲ و ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای نانوفلوکونازول بدست آمد. نتیجه‌گیری: فرم نانوفلوکونازول در مقایسه با فرم معمول فلوکونازول دارای مقادیر MIC پایین تری در برابر گونه‌های حیوان‌گرای درماتوفیت می‌باشد و در غلظت‌های پایین تری از دارو باعث مهار رشد درماتوفیت‌ها شد.

واژگان کلیدی: فلوکونازول، نانوذره، درماتوفیت، تست حساسیت دارویی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۸/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۳/۱۱

مقدمه

درماتوفیت‌ها گروهی از قارچ‌های رشته‌ای هستند که به دلیل خاصیت کراتین دوست بودن تمایل به تهاجم به بافت‌های کراتینی پوست، مو و ناخن در انسان و حیوانات را دارند و طیفی از بیماری‌های جلدی تحت عناوین درماتوفیتوزیس، کچلی یا تینه‌آ (Tinea) را بوجود می‌آورند (۳). درماتوفیتوزیس در انسان دارای ۷ فرم بالینی کچلی سر، کچلی بدن، کچلی ناخن، کچلی پا، کچلی دست، کچلی کشاله‌ی ران و کچلی

ریش می‌باشد. بطور کلی درماتوفیت‌ها بر اساس تکثیر غیر جنسی به سه گروه ترایکوفیتون، اپیدرموفیتون و میکروسپوروم و بر اساس تاکسونومی جدید به هفت گروه ترایکوفیتون، اپیدرموفیتون، نانیزیا، میکروسپوروم، لوفوفیتون، آرترودرما و پارافیتون تقسیم‌بندی می‌شوند (۲). گونه‌های حیوان‌گرا و خاک‌گرا درماتوفیتی به دلیل تطابق کمتر با میزبان‌های انسانی علایم کلینیکی حادتری را بروز می‌دهند و در صورت عدم درمان مناسب ممکن است باعث ایجاد اسکار دائمی و یا تاسی شوند (۱۸). انواع مختلف درماتوفیتوزیس معمولاً بصورت سیستمیک یا موضعی توسط دو گروه از داروهای ضدقارچی بنام آلیل آمین‌ها و آزول‌ها درمان می‌شوند. با وجودی که اکثر گونه‌های درماتوفیتی در شرایط *In vitro* نسبت به این ترکیبات دارویی حساس هستند، اما بخاطر شکست درمان و عود بیماری همچنان درمان برخی فرم‌های کچلی با چالش روبرو است (۱۶ و ۱۷). از این رو استفاده از ترکیبات ضدقارچی جدید ضروری به نظر می‌رسد. امروزه استفاده از نانوتکنولوژی در داروسازی به ویژه سیستم‌های دارورسانی اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است. مزایای استفاده از نانوذرات شامل بهبود زیست‌فراهمی دارو، حلالیت و نفوذ دارو می‌شود (۱۵). درمان با ترکیبات ضدقارچی به خصوص فلوکونازول در درمان برخی از موارد درماتوفیتوزیس در نظر گرفته شده است اما مواردی از مقاومت دارویی و عوارض جانبی برای این دارو گزارش شده است (۶). بنابراین استفاده از استراتژی‌های جدید درمانی ضروری به نظر می‌رسد. در مطالعه‌ی حاضر اثرات ضد قارچی دو داروی فلوکونازول و نانوفلوکونازول بر روی ایزوله‌های حیوان‌گرای درماتوفیتی بررسی و با هم مقایسه شده‌اند.

۱- گروه قارچ‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۲- استاد دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه قارچ‌شناسی، دانشکده بهداشت، تهران، ایران (sjhashemi@tums.ac.ir)

مواد و روش کار

ایزوله‌های درماتوفیتی

در این مطالعه از ایزوله‌های حیوان‌گرای ترایکوفیتون متاگروفیتس، ترایکوفیتون وروکوزوم و میکروسپوروم کنیس استفاده شد. این ایزوله‌ها از بیماران مبتلا به درماتوفیتوزیس مراجعه کننده به دانشکده‌ی بهداشت دانشگاه تهران و همچنین حیوانات مبتلا به درماتوفیتوزیس مراجعه کننده به کلینیک‌های دامپزشکی شهر تهران جدا شدند. در ابتدا از بیماران نمونه‌های پوست، مو و ناخن جمع‌آوری و آزمایش مستقیم با هیدروکسید پتاسیم ۱۰٪ صورت گرفت و از نظر میکروسکوپی آزمایش شدند. سپس مقداری از نمونه‌ها در محیط سابورو دکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل و سیکلوهاگزامید کشت داده شد و در دمای ۳۰°C به مدت سه هفته نگهداری شدند. برای کلنی‌های جدا شده آزمایش PCR (Polymerase chain reaction) با استفاده از پرایمرهای ناحیه‌ی ITS1 و ITS4 (Internal Transcribed Spacer) انجام و از محصولات PCR جهت تعیین توالی (Sequencing) ناحیه ژنی ITS1-5.8S-ITS2 استفاده شد و گونه‌های مسبب بیماری شناسایی شدند.

تهیه داروهای فلوکونازول و نانوفلوکونازول

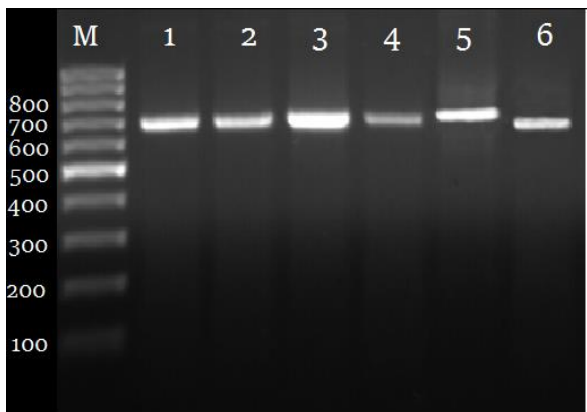
پودر دارویی فلوکونازول بصورت تجاری (Sigma-Germany) خریداری شد. فرمولاسیون لیپوزومی فلوکونازول به روش هیدراتاسیون لایه نازک تهیه گردید. جهت تهیه لایه یا فیلم نازک، ابتدا مقدار ۵/۱۲ میلی‌گرم از پودر فلوکونازول را وزن و به ترتیب در یک میلی‌لیتر آب مقطر استریل و دی متیل سولفوکساید حل نموده و سپس در ۶ میلی‌لیتر حلال آلی کلروفرم متانول (به نسبت ۱:۱) حل و سپس ۵۰ میلی‌گرم لسیتین، ۵ میلی‌گرم کلسترول (جهت تهیه فرمولاسیون لیپیدی فلوکونازول) را وزن و به محلول حاوی حلال آلی فوق که دارو را در آن حل شده بود، اضافه گردید و با استفاده از همزن مغناطیسی محلول یکنواخت و همگنی به دست آمد. در مرحله بعد به وسیله دستگاه تبخیر روتاری لایه نازکی بر اثر تبخیر

حلال آلی تحت شرایط خلاء و چرخیدن بالن داخل حمام آبی دستگاه در دمای گذار لیپید (۴۵ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد) تشکیل شد. در نهایت برای تهیه فرمولاسیون نهایی مرحله هیدراتاسیون به وسیله ۱۰ میلی‌لیتر سوکروز ۹٪ هیدراتاسیون انجام شد. در ادامه حجم فرمولاسیون به ۴۰ میلی‌لیتر رسانده شد تا با غلظت ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای فرمولاسیون فلوکونازول آماده گردد (۱۵). در آخر سایز و مورفولوژی با میکروسکوپ الکترونی و پتانسیل زتای نانوذره با زتامتر جهت اطمینان از نانوداروی سنتز شده بررسی شد.

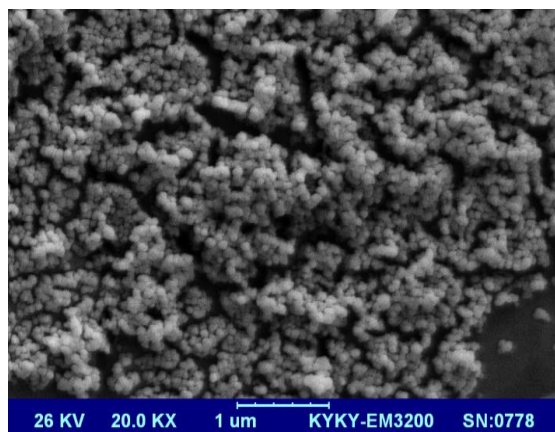
تست حساسیت دارویی

تست حساسیت دارویی برای داروهای فلوکونازول و نانوفلوکونازول طبق پروتکل استاندارد CLSI M38-A2 انجام شد (۹). فلوکونازول و نانوفلوکونازول در محیط استاندارد RPMI-1640 حاوی ال - گلوتامین فاقد بیکربنات و مورفولین پروپان سولفونیک اسید رقیق‌سازی شد و درون چاهک‌های ۹۶ خانه با غلظت‌های ۰/۲۵ تا ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر و با حجم ۱۰۰ میکرولیتر اضافه شد و تا زمان انجام تست حساسیت دارویی در دمای منهای ۷۰°C نگهداری شدند. در مرحله‌ی بعد ایزوله‌های درماتوفیتی بر روی محیط Potato dextrose agar (PDA, Difco) کشت داده شد و جهت اسپورولاسیون بهتر به مدت دو هفته در دمای ۳۰°C نگهداری شدند. سپس روی کلنی‌های رشد کرده مقداری سرم فیزیولوژی استریل ریخته و مایع در لوله استریل جمع‌آوری شد. برای حذف قطعات میسلومی و بدست آوردن سوسپانسیون خالص حاوی اسپور از کاغذ صافی (واتمن ۴۰ - برزیل) با قطر ۰/۸ میکرو متر استفاده شد. پس از تعیین غلظت سوسپانسیون در جذب نوری ۵۳۰ نانومتر و نور عبوری ۶۵-۷۰ درصد، سوسپانسیون حاصله توسط محیط RPMI با نسبت ۱ به ۵۰ رقیق و در این حالت غلظت اسپورها در محلول اصلی برابر با $1 \times 10^3 - 3$ اسپور در میلی‌لیتر شد. در نهایت ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی به چاهک‌های حاوی دارو اضافه گردید و

برای ترایکوفیتون متاگروفیتس، ترایکوفیتون وروکوزوم و میکروسپوروم کنیس به ترتیب برابر با ۳۲، ۳۲ و ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای فلوکونازول و ۱۶، ۸ و ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای نانوفلوکونازول بود. همچنین MIC₉₀ برای این سه گونه به ترتیب ۶۴، ۶۴ و ۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای فلوکونازول و ۱۶، ۳۲ و ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای نانوفلوکونازول بود. سایز نانوذرات، میزان انکپسولاسیون دارو و پتانسیل زتا فرمولاسیون لیپوزومی حاوی فلوکونازول در جدول ۳ نمایش داده شده است. مطالعات میکروسکوپ الکترونی نشان داد که نانوذرات کروی بود و سایز مولکولی برابر با ۸۸/۹±۱۲/۱۴ نانومتر داشتند (نگاره ۲). میزان پتانسیل زتا نیز برابر با منفی ۲۰ میلی‌ولت شد (نگاره ۳).



نگاره ۱- نتایج الکتروفورز محصولات PCR مربوط به ایزوله‌های درماتوفیتی



نگاره ۲- تصویر میکروسکوپ الکترونی نانوداروی فلوکونازول

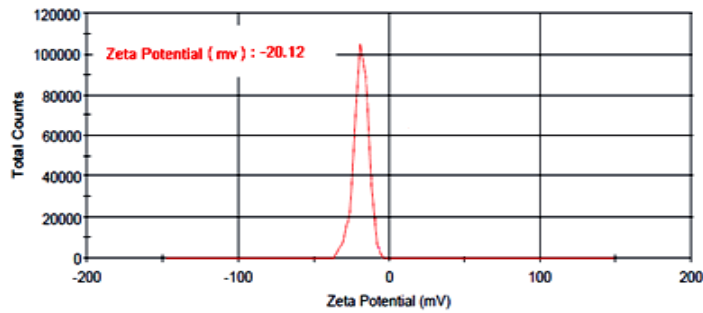
پلیت‌ها به مدت ۹۶ ساعت در دمای ۳۵°C انکوبه شدند. آخرین چاهکی که ۸۰٪ ممانعت از رشد را در مقایسه با چاهک کنترل داشت بعنوان حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد یا MIC (Minimal Inhibitory Concentration) تلقی می‌گردد. تمامی تست‌ها بصورت دوتایی انجام و جهت کنترل کیفی مراحل انجام آزمایش از سویه‌های استاندارد درماتوفیتی شامل *T. rubrum* (ATCC 4438) و *mentagrophytes* (ATCC4439) استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات دارویی بدست آمده توسط نرم‌افزار SPSS version 18 آنالیز گردید. توضیح مقادیر MIC برای داروهای فلوکونازول و نانوفلوکونازول در گونه‌های درماتوفیتی مختلف با استفاده از آزمون t-test مقایسه شد و مقادیر P value کمتر مساوی ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

در مجموع تعداد ۴۷ ایزوله‌ی درماتوفیتی حیوان‌گرا از بیماران و نیز حیوانات آورده شده به کلینیک‌های دامپزشکی جدا شد که توسط تعیین توالی ناحیه‌ی ژنی 1-5.8S-ITS2 تعیین هویت شدند (جدول ۱). نتایج اولیه‌ی PCR در نگاره ۱ آورده شده است. بیشترین درماتوفیت حیوان‌گرای جدا شده، ترایکوفیتون متاگروفیتس (آرترودرما بنهامی) با تعداد ۲۳ مورد و پس از آن دو گونه‌ی ترایکوفیتون وروکوزوم و میکروسپوروم کنیس از هر یک ۱۲ ایزوله جداسازی و شناسایی گردید. نتایج تعیین حساسیت دارویی مربوط به این ایزوله‌ها در جدول ۲ آورده شده است. همان گونه که نتایج نشان می‌دهد مقادیر MIC تمامی ایزوله‌ها در برابر نانوفلوکونازول مقادیر پایین‌تری را در مقایسه با فرم معمول فلوکونازول نشان می‌دهد و بیشترین MIC₅₀ مربوط به گونه‌ی ترایکوفیتون وروکوزوم و کمترین مقادیر مربوط به میکروسپوروم کنیس می‌باشد. نتایج MIC₅₀



نگاره ۳- نمودار پتانسیل زتا داروی نانوفلوکونازول

جدول ۱- فراوانی گونه‌های درماتوفیتی جدا شده از انسان و حیوان

منبع جدا شده				گونه‌ی درماتوفیت
خوکچه‌ی هندی	گره	سگ	انسان	
۲	۰	۰	۲۱	ترایکوفیتون منتاگروفیتس (آرترودرما بنهامی) (۲۳)
۰	۱	۱	۱۰	ترایکوفیتون وروکوزوم (۱۲)
۰	۵	۲	۵	میکروسپوروم کنیس (۱۲)
۲	۶	۴	۳۵	مجموع (۴۷)

جدول ۲- نتایج تست حساسیت دارویی ۴۷ ایزوله‌ی بالینی درماتوفیتی حیوان‌گرا در برابر فلوکونازول و نانوفلوکونازول

P-value	MIC ₉₀	MIC ₅₀	دامنه‌ی MIC (میکروگرم/میلی‌لیتر)	ترکیب ضدقارچی	گونه‌ی درماتوفیت (تعداد)
>0.01	۶۴	۳۲	۴-۶۴	فلوکونازول	ترایکوفیتون منتاگروفیتس (۲۳)
	۱۶	۸	۱-۳۲	نانوفلوکونازول	
>0.01	۶۴	۳۲	۳۲-۶۴	فلوکونازول	ترایکوفیتون وروکوزوم (۱۲)
	۳۲	۱۶	۸-۳۲	نانوفلوکونازول	
>0.01	۱۶	۸	۴-۱۶	فلوکونازول	میکروسپوروم کنیس (۱۲)
	۸	۴	۱-۸	نانوفلوکونازول	
>0.01	۶۴	۳۲	۴-۶۴	فلوکونازول	مجموع (۴۷)
	۱۶	۸	۱-۳۲	نانوفلوکونازول	

سایز نانوذرات، پتانسیل زتا و میزان انکپسولاسیون دارو به ترتیب توسط میکروسکوپ الکترونی، دستگاه زتامتر و رسم منحنی کالبراسیون بدست آمده است.

جدول ۳- خصوصیات فیزیکوشیمیایی نانوفلوکونازول

سایز نانوذرات (نانومتر)	پتانسیل زتا (میلی‌ولت)	میزان انکپسولاسیون (درصد)
۸۸/۹±۱۲/۱۴	۲۰/۱۲±۳/۸	۷۵/۴±۱/۲

بحث

گونه‌های درماتوفیت در مقایسه با فرم رایج فلوکونازول طراحی شد. سایز نانوذرات، پتانسیل زتا و میزان داروی بارگذاری شده به ترتیب $88/9 \pm 12/14$ نانومتر، $20/12 \pm 3/8$ میلی‌ولت و $75/4 \pm 1/2$ درصد بود. سایز ذرات و دامنه‌ی توزیع آنها اغلب بعنوان مهمترین پارامتر از لحاظ کنترل کیفیت نانوداروی سنتز شده محسوب شده و دیگر خصوصیات ماکروسکوپی نانوذره را تحت تاثیر قرار می‌دهد. نانوذرات با قطر بیش از ۱ میکرومتر می‌توانند از نظر فیزیکی ناپایدار باشند (۱۲). پتانسیل زتا بعنوان یکی از پارامترهای مهم در تعیین پایداری سیستم کلوئیدال بوده و بهترین اندیکاتور برای وضعیت پراکندگی بار الکتریکی سطحی می‌باشد و مقادیر بالای ۲۰ میلی‌ولت مطلوب می‌باشد (۱۵). در این مطالعه پتانسیل زتا برای نانوفلوکونازول برابر با $20/12 \pm 3/8$ میلی‌ولت بود که پایداری دارو را اثبات می‌کند.

به منظور ارزیابی اثرات ضدقارچی ترکیبات ضد قارچی جدید، تست‌های حساسیت دارویی در شرایط آزمایشگاهی و همچنین کار روی مدل‌های حیوانی نیاز است. در این مطالعه تست حساسیت دارویی بر روی ایزوله‌های حیوان‌گرای درماتوفیتی که از انسان و حیوانات جدا شدند طبق پروتکل استاندارد CLSI M38-A2 برای فلوکونازول و نانوفلوکونازول انجام شد. مقادیر MIC بدست آمده برای فرم نانو دارو در تمام ایزوله‌های درماتوفیتی پایین‌تر از فلوکونازول بود. صرفاً و همکاران نیز مقادیر MIC پایین‌تری را برای نانوفلوکونازول بر علیه گونه‌های اسپرژیلوس گزارش کردند (۱۵). گوپتا و همکاران نشان دادند که لیپیدها باعث نفوذ بهتر فلوکونازول در پوست می‌شود (۸). همچنین استفاده از فرم نانوفلوکونازول در گونه‌های کاندیدای حساس و مقاوم به فلوکونازول اثرات بهتری را در مقایسه با فرم معمول دارو نشان داده است (۱۰). مطالعات زیادی اثرات ضد قارچی فلوکونازول را بر روی درماتوفیت‌ها گزارش کرده‌اند (۵ و ۱۰). اما اثرات نانوفلوکونازول بر روی درماتوفیت‌ها ناشناخته است. نکته‌ی قابل ملاحظه در این

در این مطالعه فعالیت ضدقارچی نانوفلوکونازول علیه ایزوله‌های درماتوفیتی حیوان‌گرای جدا شده از انسان و حیوان بررسی شد. همانگونه که در جدول ۱ نشان داده شده است ترایکوفیتون متناگروفیتس بیشترین ایزوله درماتوفیت حیوان‌گرای جدا شده از بیماران بوده است. تمام ایزوله‌ها پس از کشت توسط آزمایش مولکولی PCR و تعیین توالی محصول PCR تعیین هویت شدند که این امر در مطالعات اپیدمیولوژیک و نیز درمان موثرتر از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۳). با ظهور مقاومت‌های دارویی نیاز به ترکیبات ضدقارچی جدید جهت غلبه بر گونه‌های مقاوم ضروری به نظر می‌رسد. آزل‌ها محلولیت پایینی در آب دارند و بنابراین فراهمی زیستی پائینی دارند. بطور معمول دارو بطور راندم در بدن توزیع می‌شود و سلول‌ها بخشی از دارو را از جریان خون می‌گیرند، در نتیجه قسمتی از دارو بدون استفاده از بدن دفع می‌گردد. از مهمترین معایب روش‌های قدیم، به هدر رفتن دارو، بروز عوارض ناخواسته مرتبط با دوز، هزینه‌های بالای مواد اولیه، ناسازگاری‌های فیزیکیوشیمیایی و همچنین تداخلات بالینی داروها هستند. به منظور جلوگیری و کاهش این معایب، صنعت داروسازی نوین قدم در تولید و استفاده از سیستم‌های نوین دارو رسانی نمود. از مهمترین این سیستم‌ها که امروزه تحقیقات گسترده‌ای روی آنها انجام می‌شود می‌توان به هیدروژل‌ها، نانوفیبرها، نانولیپوزوم‌ها، نیوزوم‌ها، نانودرخت سانو غیره اشاره کرد (۱۱). لیپوزوم‌ها و نانولیپوزوم‌های پوشش داده شده با پلی مرها، دارای خواص مناسبی از جمله چسبندگی بهتر به سلول‌های مخاطی و نفوذپذیری بهتر از دیواره دستگاه گوارش هستند. تحقیقات صورت گرفته روی داروی کلسی تونین گواه بر این ادعا بوده است (۱۷). به منظور درمان عفونت‌های قارچی پوست نفوذپذیری داروی انتخابی به لایه‌های عمیق‌تر پوست ضروری است (۱۴). در مطالعه‌ی حاضر فرمولاسیون لیپیدی فلوکونازول به منظور بارگذاری و اثرگذاری بیشتر دارو علیه

- delivery of fluconazole against cutaneous candidiasis. *Pharm Dev Technol.* 18(3):550-9.
9. John H. (2008): Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi, approved standard. M38-A2. *Clin Lab Stand Inst.* 28(16):1-35.
 10. Mehrdad A, Jamal HS, Hamed H, Parivash K, Zeinab G, Didehdar M, et al. (2016): In vitro evaluation of antifungal effects of nanoliposomal fluconazole against fluconazole susceptible and resistant *Candida* species isolated from patients. *J Bio Biotech Res.* 9(4):633-42.
 11. Moghimipour E, Handali S. (2013): Liposomes as drug delivery systems: properties and applications. *J Pharm bio Che.* 4(1):169-85.
 12. Patravale V, Ambarkhane A. (2003): Study of solid lipid nanoparticles with respect to particle size distribution and drug loading. *J Pharma Sci.* 58(6):392-5.
 13. Rezaei-Matehkolaei A, Khodavaisy S, Alshahni MM, Tamura T, Satoh K, Abastabar M, et al. (2018): In vitro antifungal activity of novel triazole efinaconazole and five comparators against dermatophyte isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 62(5):e02423-17.
 14. Samnani A, Shahwal V, Bhowmick M, Joshi A, Dubey B. (2012): Design and evaluation of ultradeformable soft elastic nano vesicle ethosomes for dermal delivery. *Int J Biomed Adv Res.* 3(02):111-7.
 15. Sarrafha MR, Hashemi SJ, Rezaei S, Bayat M. (2018): In vitro Evaluation of the Effects of Fluconazole and Nano-Fluconazole on *Aspergillus flavus* and *Aspergillus fumigatus* Isolates. *Jundishapur J Microbiol.* (In Press).
 16. Succi IB, Bernardes-Engemann AR, Orofino-Costa R. (2013): Intermittent therapy with terbinafine and nail abrasion for dermatophyte toe onychomycosis: a pilot study. *Mycoses.* 56(3):327-32.
 17. Takeuchi H, Sugihara H. (2010): Absorption of calcitonin in oral and pulmonary administration with polymer-coated liposomes. *Yakugakuzasshi.* 130(9):1135-42.
 18. Weitzman I, Summerbell RC. (1995): The dermatophytes. *ClinMicrobiolRev.* 8(2):240-59.

مطالعه این بود که نانوفلوکونازول در مقایسه با فلوکونازول قدرت ممانعت از رشد بیشتری بر روی درماتوفیتها داشت. در نتیجه نتایج مطالعه نشان دهندهی این نکته است که فرم نانوفلوکونازول باعث بهبود اثرات ضدقارچی دارو در مقایسه با فرم معمول دارو بر روی ایزوله‌های درماتوفیتی می‌شود.

فهرست منابع

1. Ansari S, Hedayati MT, Zomorodian K, Pakshir K, Badali H, Rafiei A, et al. (2016): Molecular characterization and in vitro antifungal susceptibility of 316 clinical isolates of dermatophytes in Iran. *Mycopathologia.* 181(1-2):89-95.
2. de Hoog GS, Dukik K, Monod M, Packeu A, Stubbe D, Hendrickx M, et al. (2017): Toward a novel multilocus phylogenetic taxonomy for the dermatophytes. *Mycopathologia.* 182(1-2):5-31.
3. Farokhipor S, Ghiasian S, Nazeri H, Kord M, Didehdar M. (2018): Characterizing the clinical isolates of dermatophytes in Hamadan city, Central west of Iran, using PCR-RLFP method. *J Mycol Med.* 28(1):101-5.
4. Favre B, Hofbauer B, Hildering K-S, Ryder NS. (2003): Comparison of in vitro activities of 17 antifungal drugs against a panel of 20 dermatophytes by using a microdilution assay. *J ClinMicrobiol.* 41(10):4817-9.
5. Fernández-Torres B, Carrillo A, Martín E, Del Palacio A, Moore M, Valverde A, et al. (2001): In vitro activities of 10 antifungal drugs against 508 dermatophyte strains. *Antimicrob Agents Chemother.* 45(9):2524-8.
6. Gupta AK, Cooper EA. (2008): Dermatophytosis (Tinea) and other superficial fungal infections. *Diagnosis and treatment of human mycoses: Springer.* p. 355-81.
7. Gupta AK, Cooper EA. (2008): Update in antifungal therapy of dermatophytosis. *Mycopathologia.* 166(5-6):353-67.
8. Gupta M, Tiwari S, Vyas SP. (2013): Influence of various lipid core on characteristics of SLNs designed for topical