

تحقیقی

حساسیت دارویی سویه‌های بالینی اسپرژیلوس فلاووس و فومیگاتوس

نسبت به داروهای ایتراکونازول و آمفوتریسین B

دکتر علی کاظمی*^۱، دکتر حسین نوروزی^۲، مرحوم دکتر مسعود تشفام^۳، دکتر شهرام تیموریان^۴

۱- استادیار گروه فارماکولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران. ۲- استادیار گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران (ایران).

۳- دانشیار گروه فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران. ۴- استادیار گروه ژنتیک، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران (ایران).

چکیده

زمینه و هدف: اسپرژیلوزیس شایع‌ترین عامل ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی قارچی با منشا خارجی است. این مطالعه به منظور ارزیابی حساسیت دارویی سویه‌های بالینی اسپرژیلوس فلاووس و فومیگاتوس نسبت به داروهای ایتراکونازول و آمفوتریسین B انجام شد. **روش بررسی:** این مطالعه آزمایشگاهی روی ۲۵ سویه اسپرژیلوس فلاووس و ۲۵ سویه اسپرژیلوس فومیگاتوس جدا شده از بیماران دریافت کننده عضو پیوندی انجام شد. تست حساسیت دارویی طبق استاندارد NCCLS M 38-P انجام شد. سوسپانسیون قارچی از قارچ‌های مذکور با محدوده سلولی CFU/ml $10^5-0/5$ توسط اسپکتروفوتومتر در 530 نانومتر تهیه گردید. رقت‌های سریالی از داروها از $16-0/3125$ $\mu g/ml$ تهیه و میزان MIC داروها بعد از 48 ساعت انکوباسیون در دمای 35 درجه سانتی‌گراد تعیین گردید.

یافته‌ها: محدوده MIC به دست آمده در مورد سویه اسپرژیلوس فومیگاتوس و اسپرژیلوس فلاووس در برابر ایتراکونازول به ترتیب $1-4$ و $0/5-4$ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. در حالی که محدوده MIC برای سویه‌های اسپرژیلوس فومیگاتوس و اسپرژیلوس فلاووس در برابر آمفوتریسین B به ترتیب $2-0/5$ و $2-0/25$ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. میزان MIC آمفوتریسین B به طور معنی‌داری کمتر از ایتراکونازول بود ($P < 0/05$).

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

کلید واژه‌ها: اسپرژیلوس فلاووس، اسپرژیلوس فومیگاتوس، حساسیت دارویی، آمفوتریسین B، ایتراکونازول

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

نشانی: تهران، بالاتر از میدان پونک، میدان دانشگاه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تلفن ۰۲۱-۸۶۷۰۴۷۳۸، نمابر ۸۸۳۰۱۵۰۵

وصول مقاله: ۹۱/۵/۹، اصلاح نهایی: ۹۱/۶/۱۱، پذیرش مقاله: ۹۱/۶/۲۸

مقدمه

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

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

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

رشته‌های قارچ اسپرژیلوس مسبب بیش از ۹۰ درصد عفونت‌های قارچی حاد هستند. گونه‌های قارچ اسپرژیلوس به علت انتشار وسیع در محیط می‌توانند موجب بروز عفونت‌های بیمارستانی گردند. به طوری که مهم‌ترین عامل ایجاد کننده عفونت بیمارستانی با منشاء اگزوزن هستند (۱). هوا مهم‌ترین وسیله انتقال اسپور این قارچ است و مهم‌ترین راه ورود اسپور قارچ به بدن میزبان، راه تنفسی است (۲). در بین ۶۰۰ گونه قارچ اسپرژیلوس، گونه‌های فلاووس،

۲۵ نفر (۱۴ مذکر و ۱۱ مؤنث) با محدوده سنی ۶۵-۱۹ سال و میانگین سنی $43/6 \pm 12/8$ سال بودند.

بیماران مبتلا به آسپرژیلوزیس با عامل آسپرژیلوس فلاووس ۲۵ نفر (۱۵ مذکر و ۱۰ مؤنث) با محدوده سنی ۶۹-۱۹ سال و میانگین سنی $44/5 \pm 3/05$ سال بودند.

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

تعیین دقیق گونه آسپرژیلوس بر مبنای شکل کلونی و مشخصات میکروسکوپی قارچ انجام گرفت. سویه‌ها پس از تعیین گونه در محیط پوتیتو دکستروز آگار (PDA) کشت داده شدند. از کشت‌های ۷ روزه با ریختن نرمال سالین ۰/۸۵ درصد استریل روی محیط و ایجاد خراش در سطح کلونی‌ها با سر آنس استریل، سوسپانسیون تهیه شده به لوله استریل دیگر منتقل شد. پس از ته نشین شدن ذرات به مدت ۵-۳ دقیقه، محلول رویی به لوله‌های استریل دیگر منتقل و به مدت ۱۵ ثانیه ورتکس شدند. جذب نوری سوسپانسیون‌ها با اسپکتروفوتومتر در 530 nm نانومتر خوانده شد؛ به طوری که محدوده سلولی حاصل $10^4 \times 0.5 - 5$ بود. سوش استاندارد کاندیدا کروژنی ATCC 6258 به عنوان کنترل انجام تست در نظر گرفته شد.

پودر استاندارد داروهای آمفوتریسین B با پوتنسی $750 \mu\text{g/ml}$ (شرکت سیپلا، هند) و ایتراکونازول با پوتنسی $990 \mu\text{g/ml}$ (شرکت روز دارو، ایران) تهیه گردید.

به منظور تهیه رقت‌های دارویی از داروهای مذکور، به علت نامحلول بودن داروها در آب از محلول دی‌متیل سولفو کساید (DMSO) استفاده شد. در نهایت ۱۰ رقت سریالی برای داروهای ایتراکونازول و آمفوتریسین B از $16 - 0.3125 \mu\text{g/ml}$ طبق روش استاندارد تهیه گردید. برای تهیه محلول استوک دارویی با غلظت نهایی ($10 \times$) ابتدا ۸۰ میلی‌گرم از داروهای مذکور وزن شد و در ۵۰ میلی‌لیتر دی‌متیل سولفو کساید حل گردید و رقت $1600 \mu\text{g/ml}$ حاصل شد. سپس با محیط RPMI 1640 (حاوی گلوتامین و بدون بی‌کربنات، بافر شده با مورفولینوپروپان سولفونیک اسید) به نسبت ۱:۵۰ رقیق شد و رقت‌های سریالی از $16 - 0.3125 \mu\text{g/ml}$ تهیه شد. پس از تهیه رقت‌های سریالی از داروهای ایتراکونازول و آمفوتریسین B ۱۰۰ میکرولیتر از داروها به چاهک ۱ تا ۱۰ میکروپلیت‌های ۹۶ خانه ته صاف ریخته شدند. سپس به همان نسبت سوسپانسیون قارچی به میکروپلیت‌ها اضافه شد. دو چاهک به عنوان

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

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

روش بررسی

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

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

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

یافته‌ها

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

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

بیشترین محدوده MIC به دست آمده در مورد سویه‌های قارچ اسپرژیلوس فومیگاتوس در برابر داروی ایتراکونازول به میزان

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

میانگین MIC حاصله برای داروی آمفوتریسین B در مورد قارچ اسپرژیلوس فومیگاتوس ۰/۱۲±۰/۲۲ μg/ml بود. در حالیکه این میزان برای داروی ایتراکونازول در مورد قارچ اسپرژیلوس فومیگاتوس ۰/۲۲±۰/۳۳ μg/ml تعیین شد.

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

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

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

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

تعیین شد.

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

در مطالعه دیگری Espinel-Ingroff حساسیت دارویی داروهای مختلف را با روش دیسک‌های دارویی ارزیابی کرد و میزان MIC سویه‌های آسپرژیلوس فومیگاتوس ۲-۰/۵ $\mu\text{g/ml}$ در برابر آمفوتریسین B تعیین شد (۱۸) که با مطالعه حاضر همخوانی داشت. در مطالعه ما میان MIC حاصله و ارگانی که سوش قارچی از آن جدا گردید؛ ارتباط آماری معنی‌داری نبود. مطالعه دیگری یافت نشد که این ارتباط را معنی‌دار گزارش کرده باشد.

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

نتیجه‌گیری

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

تشکر و قدردانی

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

References

1. Bueid A, Howard SJ, Moore CB, Richardson MD, Harrison E, et al. Azole antifungal resistance in *Aspergillus fumigatus*: 2008 and 2009. *J Antimicrob Chemother.* 2010 Oct;65(10):2116-8.
2. Diekema DJ, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN, Pfaller MA. Activities of caspofungin, itraconazole, posaconazole, ravuconazole, voriconazole, and amphotericin B against 448 recent clinical isolates of filamentous fungi. *J Clin Microbiol.* 2003 Aug;41(8):3623-6.

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

بحث

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

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

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

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

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

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

5. Lass-Flörl C. Azole resistance in aspergillosis: the next threat? *Curr Fungal Infect Rep.* 2009 Sep;3(4):236-42.
6. Howard SJ, Arendrup MC. Acquired antifungal drug resistance in *Aspergillus fumigatus*: epidemiology and detection. *Med Mycol.* 2011 Apr;49 Suppl 1:S90-5.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved standard M38-p. 2002. Wayne, PA.
8. Pfaller MA, Duncanson F, Messer SA, Moet GJ, Jones RN, Castanheira M. In vitro activity of a novel broad-spectrum antifungal, E1210, tested against *Aspergillus* spp. determined by CLSI and EUCAST broth microdilution methods. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Nov;55(11):5155-8.
9. Espinel-Ingroff A, Canton E, Fothergill A, Ghannoum M, Johnson E, Jones RN et al. Quality control guidelines for amphotericin B, itraconazole, posaconazole, and voriconazole disk diffusion susceptibility tests with nonsupplemented Mueller-Hinton Agar (CLSI M51-A Document) for nondermatophyte filamentous fungi. *J Clin Microbiol.* 2011 July; 49(7): 2568-71.
10. Chen A, Sobel JD. Emerging azole antifungals. *Expert Opin Emerg Drugs.* 2005 Feb;10(1):21-33.
11. Barnes PD, Marr KA. Aspergillosis: spectrum of disease, diagnosis, and treatment. *Infect Dis Clin North Am.* 2006 Sep; 20(3):545-61, vi.
12. Rex JH, Pfaller MA, Walsh TJ, Chaturvedi V, Espinel-Ingroff A, Ghannoum M, et al. Antifungal susceptibility testing: practical aspects and current challenges. *Clin Microbiol Rev.* 2001 Oct; 14(4): 643-58.
13. Shi JY, Xu YC, Shi Y, Lü HX, Liu Y, Zhao WS, et al. In vitro susceptibility testing of *Aspergillus* spp. against voriconazole, itraconazole, posaconazole, amphotericin B and caspofungin. *Chin Med J (Engl).* 2010 Oct;123(19):2706-9.
14. Mosquera J, Warn PA, Morrissey J, Moore CB, Gil-Lamainere C, Denning DW. Susceptibility testing of *Aspergillus flavus*: inoculum dependence with itraconazole and lack of correlation between susceptibility to amphotericin B in vitro and outcome in vivo. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001 May; 45(5):1456-62.
15. Te Dorsthorst DT, Mouton JW, van den Beukel CJ, van der Lee HA, Meis JF, Verweij PE. Effect of pH on the in vitro activities of amphotericin B, itraconazole, and flucytosine against *Aspergillus* isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004 Aug; 48(8):3147-50.
16. Hashemi SJ, Zaini F, Daie R, Zibafar E, Zakeri MA. [In-vitro susceptibility of *Aspergillus* species isolated from cutaneous and visceral lesions to antifungal agents]. *Tehran Univ Med J.* 2011; 69(2) :83-91. [Article in Persian]
17. Badiie P, Alborzi A, Moeini M, Haddadi P, Farshad S, Japoni A, Ziyaeyan M. Antifungal susceptibility of the aspergillus species by Etest and CLSI reference methods. *Arch Iran Med.* 2012 Jul;15(7):429-32.
18. Espinel-Ingroff A, Arthington-Skaggs B, Iqbal N, Ellis D, Pfaller MA, Messer S, et al. Multicenter evaluation of a new disk agar diffusion method for susceptibility testing of filamentous fungi with voriconazole, posaconazole, itraconazole, amphotericin B, and caspofungin. *J Clin Microbiol.* 2007 Jun;45(6):1811-20.

Original Paper

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

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

¹Assistant Professor, Department of Pharmacology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.

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

Abstract

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

Materials and Methods: This Laboratory study was done on 25 *Aspergillus fumigatus* and 25 *Aspergillus flavus* species isolated from transplant's patients. Drug susceptibility test was done according to NCCLS M38-P document. Fungal suspensions of mentioned fungi were supplied with ranges $0.5-5 \times 10^4$ by spectrophotometer at 530 nm. Serial dilutions of drugs were supplied from 0.03125 to 16 $\mu\text{g/ml}$ and MICs determined following 48h incubation at 35°C.

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

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

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

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

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