

بررسی الگوی مقاومت دارویی گونه‌های درماتوفیت جدا شده از ۲۷ بیمار مراجعه کننده به بیمارستان پوست رازی

صفورا شکوئی نژاد

گروه پوست، مجتمع بیمارستانی امام
خمینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران،
تهران، ایران

زمینه و هدف: به موازات افزایش موارد ابتلا به درماتوفیتوزیس بدن و درماتوفیتوزیس کشاله ران، موارد گونه‌های مقاوم به داروهای ضدقارچی به‌ویژه تربینافین رو به افزایش است. مطالعه حاضر به منظور بررسی الگوی مقاومت دارویی گونه‌های درماتوفیت جدا شده از ۲۷ بیمار مراجعه کننده به بیمارستان پوست رازی طراحی شد.

روش اجرا: نمونه پوسته بیماران از ناحیه کشاله ران، باتک و بدن از حاشیه فعال ضایعه جمع‌آوری شد. مقداری از نمونه پوسته بیمار زیر میکروسکوپ، از نظر وجود آرتروکنیدی و هایف قارچی بررسی شد. کشت بروی محیط اختصاصی سابورو دکستروز آگار ۲٪ همراه با کلرامفنیکل و سیکلوهازمید جهت تعیین هویت اولیه گونه‌های درماتوفیتی، از خصوصیات مرفولوژیک استفاده شد. برای شناسایی دقیق ترایکوفایتون‌های جدا شده از پوسته بیماران به روش ژنوتایپینگ (مولکولی)، از آغازگرهای ITS1 و ITS4 (آغازگرهای یونیورسال) استفاده شد. انجام تست حساسیت دارویی میکرودایلوشن برات طبق پروتکل - CLSI-M38-3rd ed برای ایزوله‌های درماتوفیتی نسبت به داروهای تربینافین، اریتروکونازول، فلوکونازول و وریکونازول انجام شد.

یافته‌ها: ۲۵ بیمار با جدایه ترایکوفایتون ایندوتینه‌آ آلوده شده بودند. ۲ بیمار با جدایه ترایکوفایتون اینتردیجیتال آلوده شده بودند. در مطالعه حاضر ۴/۲۷ (۱۴/۸۱٪) از بیماران دارای مقاومت ضدقارچی (۱ میکروگرم در میلی‌لیتر > حد اقل غلظت مهار رشد قارچ برای تربینافین) بودند.

نتیجه‌گیری: عدم انجام معاینات قارچ‌شناسی قبل از شروع درمان می‌تواند منجر به تشخیص اشتباه شود. عدم استفاده از تست حساسیت ضدقارچی مدیریت موارد مقاوم به درمان را چالش‌برانگیز می‌کند. ترکیبات درمانی ناکافی و نامناسب می‌تواند تعداد گونه‌های مقاوم در سراسر جهان را افزایش دهد.

نویسنده مسئول:

صفورا شکوئی نژاد

تهران، بلوار کشاورز، خیابان دکتر قریب
پست الکترونیک:

کلیدواژه‌ها: ترایکوفایتون ایندوتینه‌آ، مقاومت تربینافین، درماتوفیتوزیس

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۱۲/۰۱ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۱۲/۱۹

پوست و زیبایی؛ زمستان ۱۴۰۲، دوره ۱۴ (۴): ۲۰۹-۲۱۴

dr.shakoei@gmail.com

تعارض منافع: اعلام نشده است.

مقدمه

در سال‌های اخیر تغییر در اپیدمیولوژی درماتوفیتوز از ترایکوفایتون روبروم به ترایکوفایتون منتاگروفیتس/ اینتردیجیتال گزارش شده است.^۱ در حال حاضر نام ترایکوفایتون منتاگروفیتس سروتایپ ۸ به ترایکوفایتون ایندوتینه‌آ تغییر یافته است که

شیوع درماتوفیتوزیس در جهان ۲۵-۲۰ درصد تخمین زده شده است.^۱ این بیماری بسیار مسری بوده و با ایجاد درگیری التهابی جلدی به‌نام کچلی در نواحی موی سر (به‌خصوص در کودکان)، کشاله ران، ناخن و بدن کیفیت زندگی را تحت تأثیر قرار می‌دهد.^۱

می‌شود جلوگیری کند. مطالعه حاضر به منظور بررسی الگوی مقاومت دارویی گونه‌های درماتوفیت جدا شده از ۲۷ بیمار مراجعه کننده به بیمارستان پوست رازی طراحی شد.

روش اجرا

جمع‌آوری نمونه پوسته

نمونه پوسته بیماران از ناحیه کشاله ران، باتک و بدن با استفاده از بیستوری مناسب از حاشیه فعال ضایعه جمع‌آوری شد.

آزمایش مستقیم

مقداری از نمونه پوسته بیمار را بر روی لام تمیز گذاشته و یک قطره از 10% Potassium Hydroxide به آن افزوده خواهد شد. سپس یک لامل تمیز بر روی آن قرار گرفته و نمونه زیر میکروسکوپ، از نظر وجود آرتروکنیدی و هایف قارچی بررسی شد.

کشت بر روی محیط اختصاصی سابورو دکستروز آگار ۲٪ همراه با کلرامفنیکل و سیکلوهاگزامید

مقادیر کافی از نمونه بالینی بیماران درماتوفیتی را بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار حاوی آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل و سیکلوهاگزامید کشت داده و در انکوباتور تا ۱۴ هفته در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد و پس از ۷ تا ۱۴ روز از نظر رشد بررسی شد. جهت تعیین هویت اولیه گونه‌های درماتوفیتی، از خصوصیات مرفولوژیک استفاده شد.

تعیین هویت عوامل درماتوفیتی به واسطه روش‌های مولکولی

برای شناسایی تریکوفایتون‌های جدا شده از پوسته بیماران به روش ژنوتایپینگ (مولکولی)، از آغازگرهای ITS1 و ITS4 (آغازگرهای یونیورسال) استفاده خواهد شد.

از ایزوله‌های کشت مثبت درماتوفیتی بعد از استخراج DNA به واسطه روش

بیشترین گونه درماتوفیتی مقاوم به تربینافین قلمداد می‌شود^۳. تریکوفایتون ایندوتینه آ مسئول عفونت‌های مزمن یا عودکننده گسترده پوست است^۳. استفاده از ترکیب موضعی ضدقارچ و استروئید در مرحله درمان اولیه به‌ویژه در ضایعات التهابی رایج است؛ با این حال، شواهد در مورد مزایای این ترکیب نسبت به تک‌درمانی ضدقارچ موضعی کم و غیرقابل قبول است.

درمان سیستمیک معمولاً شامل ایتراکونازول خوراکی و تربینافین است^۴. سایر گزینه‌های مؤثر عبارتند از فلوکونازول، وریکونازول و سایر آزول‌ها که در موارد مقاوم به درمان استفاده می‌شود. فلوکونازول، ایتراکونازول و وریکونازول مهارکننده CYP3A4 هستند از این رو قادر به تداخلات دارویی متعدد هستند. همچنین هر ۴ هفته یکبار تست کبدی باید انجام شود. از آنجایی که بخش بزرگی از جمعیت میان‌سال و سالمند به دلیل ابتلا به بیماری‌های مختلف تحت درمان دارویی متعدد هستند، تربینافین خوراکی باید در این گروه سنی ترجیح داده شود.

موارد ظهور گونه‌های مقاوم به درمان از دانمارک، سوئیس، چین، بلژیک، آلمان، ژاپن، ایران، فنلاند، سوئیس، فرانسه، عراق و بحرین گزارش شده است^{۱۴-۵}. تریکوفایتون کمپلکس منتاگروفایتس (اینتردیجتال/ منتاگروفایتس ژنوتایپ VIII و ایندوتینه‌آ)، تریکوفایتون روبروم و تریکوفایتون تونسورس به ترتیب شایع‌ترین عوامل درماتوفیتی مقاوم به تربینافین در بیماران مبتلا به درماتوفیتوزیس می‌باشند^۴.

تست حساسیت به داروی ضدقارچی هنوز به صورت روتین برای مدیریت درماتوفیتوز قارچی در همه آزمایشگاه‌ها مرسوم نیست. اعتقاد قوی بر این است که تست حساسیت داروی ضدقارچی می‌تواند اطلاعات ارزشمندی را به پزشکان در انتخاب درمان مناسب ارائه دهد و از طریق، ارائه یک رویکرد درمانی هدفمند، مدت زمان درمان را کاهش دهد و همچنین از تغییرات ژنتیکی و مولکولی بیشتر که منجر به مقاومت دارویی

در مطالعه حاضر ۷/۷۲ بیمار حساسیت وابسته به دوز داشتند (حداقل غلظت مهار رشد قارچ ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر برای یک دارو یا بیشتر). پنج بیمار حساسیت وابسته به دوز به ایتراکونازول، یک بیمار حساسیت وابسته به دوز به فلوکونازول و یک بیمار بیمار حساسیت وابسته به دوز به تربینافین شناسایی شد.

بحث

یک مطالعه آینده‌نگر برای تعیین فراوانی نسبی جدایه‌های تریکوفایتون ایندوتینه‌آ مقاوم به تربینافین در فرانسه (پاریس) انجام گرفت. جدایه‌های مقاوم به تربینافین با روش محیط آگار حاوی تربینافین (TCAM) غربالگری و توسط EUCAST تأیید شدند. روش‌های توالی‌یابی برای شناسایی جدایه‌ها در سطح گونه/ژنوتیپ و تجزیه و تحلیل تغییر در ژن اسکوالن اپوکسیداز (SQLE) استفاده شد. در مجموع، ۳ جدایه از ۵۸۰ جدایه (n=۱) *T. rubrum*؛ *T. indotineae*, n=۱ و *T. interdigitale*, n=1 روی محیط آگار حاوی تربینافین رشد کردند^{۱۵}.

در مطالعه Jabet و همکاران، بیمار مبتلا به درماتوفیتوزیس مقاوم به تربینافین شناسایی شد. بیمار با جدایه تریکوفایتون ایندوتینه‌آ آلوده شده بود. در مطالعه Saunte و همکاران، ۱۴ بیمار مبتلا به درماتوفیتوزیس مقاوم به تربینافین شناسایی شدند. ۱۲ بیمار با جدایه تریکوفایتون روبروم و ۲ بیمار با تریکوفایتون اینتردیجیتال آلوده شده بودند^{۱۶}.

در مطالعه فتاحی و همکاران، جدایه تریکوفایتون منتاگروفایتس ژنوتایپ VIII از خانواده ۴ نفره شناسایی شد. کاهش حساسیت به تربینافین در بالین و شرایط آزمایشگاهی مشاهده شد^{۱۷}.

در مطالعه Siopi و همکاران، جدایه‌های تریکوفایتون که طی ۱۰ سال از بیماران مصر جمع‌آوری شده بود، به‌منظور ارزیابی الگوی حساسیت

از Phenochlerophorm Glass Bead با استفاده از پرایمرهای ITS 1,4 آزمایش مولکولی PCR انجام شد و نتایج محصول PCR مورد توالی‌یابی قرار خواهد گرفت و تعیین هویت عوامل قارچی بدین‌صورت حاصل خواهد شد.

انجام تست حساسیت دارویی میکرودایلوشن براث طبق پروتکل ed-CLSI-M38-3rd

تست حساسیت دارویی (میکرودایلوشن براث) برای تمامی ایزوله‌های درماتوفیتی به‌دست‌آمده از بیماران طبق پروتکل ed-CLSI-M38-3rd (Clinical and Laboratory Standard Institute)، برای ایزوله‌های درماتوفیتی نسبت به داروهای تربینافین، اریتروکونازول، فلوکونازول و وریکونازول انجام شد. گونه استاندارد حساسیت دارویی نیز در کنار هر تست مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حداقل غلظت مهار رشد قارچ بعد از ۷۲ ساعت قرائت شد.

یافته‌ها

تحقیق حاضر بر روی ۲۷ بیمار درماتوفیتوزیس که به یک دارو مقاوم بودند انجام شد. ۱۲ نفر از بیماران زن و ۱۵ نفر از بیماران مرد بودند. سن جمعیت مورد مطالعه ۳۹/۲۲±۱۴/۰۳ سال (میانگین±انحراف معیار) با دامنه سنی ۷۴-۱۰ سال بود.

با توجه به نتایج، ۱۱/۲۷ نفر (۵۱/۹٪) مبتلا به درماتوفیتوزیس بدن و ۱۶/۲۷ نفر (۴۰/۷٪) درماتوفیتوزیس کشاله ران و ۲ نفر توأمان (۷/۴٪) درماتوفیتوزیس کشاله ران و درماتوفیتوزیس دست داشتند.

۲۵ بیمار با جدایه تریکوفایتون ایندوتینه‌آ آلوده شده بودند. ۲ بیمار با جدایه تریکوفایتون اینتردیجیتال آلوده شده بودند.

در مطالعه حاضر ۴/۲۷ (۱۴/۸۱٪) از بیماران دارای مقاومت ضدقارچی (۱ میکروگرم در میلی‌لیتر > حداقل غلظت مهار رشد قارچ برای تربینافین) بودند.

در جدایه ترایکوفایتون ایندوتینه‌آ کاهش حساسیت به ترینافین در بالین و شرایط آزمایشگاهی مشاهده شد.^{۲۰} در مطالعه sighn و همکاران، از بین ۹۷ جدایه ترایکوفایتون که از بیماران جمع‌آوری شده بود، در ۴۰ جدایه ترایکوفایتون ایندوتینه‌آ کاهش حساسیت به ترینافین مشاهده شد.^{۲۱}

نتیجه‌گیری می‌شود که عدم انجام معاینات قارچ شناسی قبل از شروع درمان می‌تواند منجر به تشخیص اشتباه شود. عدم استفاده از تست حساسیت ضدقارچی مدیریت موارد مقاوم به درمان را چالش‌برانگیز می‌کند. ترکیبات درمانی ناکافی و نامناسب می‌تواند تعداد گونه‌های مقاوم در سراسر جهان را افزایش دهد.

به ترینافین مورد ارزیابی قرار گرفتند. در جدایه‌های ترایکوفایتون منتاگروفایتس ژنوتایپ VIII کاهش حساسیت به ترینافین مشاهده شد.^{۱۷}

در مطالعه Burmester و همکاران، در جدایه‌های ترایکوفایتون منتاگروفایتس ژنوتایپ VIII کاهش حساسیت به ترینافین مشاهده شد.^{۱۸} در مطالعه Yamada و همکاران، از بین ۲۰۵۶ جدایه ترایکوفایتون که از بیماران جمع‌آوری شده بود، در ۱۷ جدایه کاهش حساسیت به ترینافین مشاهده شد.^۷ در مطالعه Kong و همکاران، از بین ۱۳۵ جدایه ترایکوفایتون که از بیماران جمع‌آوری شده بود، در ۳۴ جدایه ترایکوفایتون ایندوتینه‌آ کاهش حساسیت به ترینافین مشاهده شد.^{۱۹} در مطالعه فتاحی و همکاران،

References

1. Havlickova B, Czaika VA, Friedrich M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. *Mycoses* 2008; 51: 2-15.
2. Zhan P, Liu W. The changing face of dermatophytic infections worldwide. *Mycopathologia* 2017; 182: 77-86.
3. Kupsch C, Czaika VA, Deutsch C, Gräser Y. Trichophyton mentagrophytes-a new genotype of zoophilic dermatophyte causes sexually transmitted infections. *J Dtsch Dermatol Ges* 2019; 17: 493-501.
4. Leyden J. Pharmacokinetics and pharmacology of terbinafine and itraconazole. *J Am Acad Dermatol*. 1998; 38: S42-7.
5. Sacheli R, Harag S, Dehavay F, et al. Belgian national survey on tinea capitis: Epidemiological considerations and highlight of terbinafine-resistant *T. mentagrophytes* with a mutation on SQLE gene. *J Fungi* 2020; 6: E195.
6. Nenoff P, Verma SB, Ebert A, et al. Spread of terbinafine-resistant *Trichophyton mentagrophytes* type VIII (India) in Germany-the tip of the iceberg? *J Fungi* 2020; 6: E207.
7. Yamada T, Maeda M, Alshahni MM, et al. Terbinafine resistance of *Trichophyton* clinical isolates caused by specific point mutations in the squalene epoxidase gene. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61: e00115-17.
8. Fattahi A, Shirvani F, Ayatollahi A, et al. Multidrug-resistant *Trichophyton mentagrophytes* genotype VIII in an Iranian family with generalized dermatophytosis: report of four cases and review of literature. *Int J Dermatol* 2021; 60: 686-92.
9. Taghipour S, Pchelin IM, Zarei Mahmoudabadi A, et al. *Trichophyton mentagrophytes* and *T. interdigitale* genotypes are associated with particular geographic areas and clinical manifestations. *Mycoses* 2019; 62: 1084-91.
10. Järvi H, Uhrlaß S, Simkin, et al. Terbinafine resistant *Trichophyton mentagrophytes* genotype VIII, Indian type, isolated in Finland. *J Fungi* 2019; 95: P39.

11. Süß A, Uhrlaß S, Ludes A, et al. Tinea corporis durch ein terbinafin-resistentes Trichophyton-mentagrophytes-isolat vom indischen genotyp bei einem Söugling aus Bahrain in Deutschland. *Hautarzt* 2019;70: 888-96.
12. Mukherjee PK, Leidich SD, Isham N, et al. Clinical Trichophyton rubrum strain exhibiting primary resistance to terbinafine. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 82-6.
13. Osborne CS, Leitner I, Favre B, Ryder NS. Amino acid substitution in Trichophyton rubrum squalene epoxidase associated with resistance to terbinafine. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 2840-844.
14. Saunte DML, Hare RK, Jørgensen KM, et al. Emerging terbinafine resistance in Trichophyton: Clinical characteristics, squalene epoxidase gene mutations, and a reliable EUCAST method for detection. *Antimicrob Agents Chemother* 2019; 63: e01126-19.
15. Moreno-Sabater A, Normand AC, Bidaud AL, et al. Terbinafine resistance in dermatophytes: A French multicenter prospective study. *J Fungi* 2022 Feb 23; 8: 220.
16. Jabet A, Brun S, Normand AC, et al. Extensive dermatophytosis caused by terbinafine-resistant Trichophyton indotineae France. *Emerg Infect Dis* 2022; 28: 229.
17. Siopi M, Efstathiou I, Theodoropoulos K, et al. Molecular epidemiology and antifungal susceptibility of Trichophyton isolates in Greece: emergence of terbinafine-resistant Trichophyton mentagrophytes type VIII locally and globally. *J Fungi* 2021; 7: 419.
18. Burmester A, Hipler UC, Hensche R, et al. Point mutations in the squalene epoxidase gene of Indian ITS genotype VIII T. mentagrophytes identified after DNA isolation from infected scales. *Med Mycol Case Rep* 2019; 26: 23-24.
19. Kong X, Tang C, Singh A, et al. Antifungal susceptibility and mutations in the squalene epoxidase gene in dermatophytes of the Trichophyton mentagrophytes species complex. *Antimicrob Agents Chemother* 2021; 65: e00056-21.
20. Firooz A, Lotfali E, Fattahi M, et al. A case of terbinafine-resistant tinea cruris caused by trichophyton tonsurans. *Case Rep Dermatol Med* 2021; 2021.
21. Singh A, Singh P, Dingemans G, et al. Evaluation of DermaGenius resistance real-time polymerase chain reaction for rapid detection of terbinafine-resistant Trichophyton species. *Mycoses* 2021; 64: 721-6.

Evaluate drug resistance pattern of dermatophyte species isolated from 27 patients referred to Razi Hospital

Safoura Shakoeinejad, MD

Department of Dermatology, Imam Khomeini Hospital Complex, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: Feb 20, 2024
Accepted: Mar 09, 2024
Pages: 209-214

Corresponding Author:
Safoura Shakoeinejad

Qarib St., Keshavarz Blvd., Tehran, Iran
Email: dr.shakoei@gmail.com

Conflict of interest: None to declare

Background and Aim: In line with the increase in cases of dermatophytosis of the body and dermatophytosis of the groin, the cases of species resistant to antifungal drugs, especially terbinafine, are increasing. The present study was designed to investigate the drug resistance pattern of dermatophyte species isolated from 27 patients referred to Razi Skin Hospital.

Methods: Skin samples of patients were collected from the groin, buttock and body from the active margin of the lesion. Some of the sample was examined under the microscope for the presence of arthroconidia and fungal hyphae. Cultivation on Saburo dextrose agar 2% special medium with chloramphenicol and cyclohexamide was used to determine the primary identity of dermatophyte species, morphological characteristics were used. To accurately identify trichophytons isolated from the skin of patients by (molecular) genotyping method, ITS1 and ITS4 primers were used. Universal primers) were used. Microdilution broth drug sensitivity test was performed according to M38-3rd ed - CLSI protocol for dermatophyte isolates to terbinafine, itraconazole, fluconazole and voriconazole.

Results: 25 patients were infected with *Trichophyton indotinae*. 2 patients were infected with *Trichophyton interdigitale*. In the present study, 4.27 (14.81%) of the patients had antifungal resistance ($1 \mu\text{g/ml} \leq$ the minimum concentration of fungal growth inhibition for terbinafine).

Conclusion: Failure to perform mycological examinations before initiating treatment can result in misdiagnosis. Do not use the antifungal susceptibility test lead to challenging to manage treatment-refractory cases. inadequate and inappropriate treatment combinations can increase the number of resistant species worldwide.

Keywords: trichophyton indotinae, terbinafine resistance, dermatophytosis

Copyright © 2024 Published by Tehran University of Medical Sciences.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.



2023, Volume 14, Number 4