

بررسی حساسیت دارویی گونه‌های درماتوفیتی جداشده از بیماران مبتلا به درماتوفیتوزیس

حسین شریفی^۱
انسیه لطفعلی^{۲*}

۱. کمیته پژوهشی دانشجویان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲. گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

زمینه و هدف: با توجه به افزایش موارد ابتلا به درماتوفیتوزیس به‌ویژه کچلی بدن و کشاله ران به‌وسیله گونه‌های مقاوم به تربینافین و سرعت بالای انتقال بیماری به‌منظور انتخاب درمان مناسب، در نظر گرفتن مدت زمان لازم برای درمان بیماری و نیز تشخیص زودهنگام موارد مقاوم به درمان الزامی است. مطالعه حاضر به‌منظور تعیین حساسیت دارویی سویه‌های تریاکوفایتون روبروم، میکروسپوروم کنیس و اپیدرموفایتون فلوکوزوم نسبت به داروهای ضدقارچی رایج انجام گرفت.

روش اجرا: تست حساسیت دارویی (میکرودايلوشن براث) برای ۲۰ نمونه به‌دست‌آمده از بیماران طبق پروتکل CLSI-M38-3rd ED (Clinical and Laboratory Standard Institute) نسبت به داروهای تربینافین، اریتروکونازول و وریکونازول انجام شد.

یافته‌ها: براساس تست، نتایج دارویی ۵ بیمار به تربینافین مقاوم بوده و حداقل غلظت مهارتی بیشتر از ۲ و ۳ بیمار نسبت به تربینافین تولرنت بوده و حداقل غلظت مهارتی بین ۰/۵ تا ۱ نشان دادند. براساس تست نتایج دارویی، ۷ بیمار نسبت به ایتراکونازول تولرنت بوده و حداقل غلظت مهارتی بین ۰/۵ تا ۱ نشان دادند. تمام ایزوله‌ها به وریکونازول پاسخ مناسب نشان دادند.

نتیجه‌گیری: نتایج تست حساسیت دارویی، بررسی اهمیت تست‌های قارچ‌شناسی را در مورد ضایعات پوستی درماتوفیتی برای جلوگیری از گسترش گونه‌های مقاوم به دارو برجسته می‌کند.

کلیدواژه‌ها: حساسیت قارچی، درماتوفیت، داروی ضدقارچی

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۰۸/۰۷ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۰۹/۱۳

پوست و زیبایی؛ پاییز ۱۴۰۲، دوره ۱۴ (۳): ۱۵۶-۱۵۲

نویسنده مسئول:
انسیه لطفعلی

تهران، خیابان ولنجک، بلوار دانشجو
پست الکترونیک:
ensiehlutfali@yahoo.com

تعارض منافع: اعلام نشده است.

مقدمه

درماتوفیتوزیس می‌باشند^{۸،۹}. مکانیسم مقاومت تربینافین در میان گونه‌های درماتوفیتی به پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNPs) در ژن اسکوالن اپوکسیداز نسبت داده می‌شود که عمدتاً در نمونه‌های بالینی موتاسیون در ناحیه ژن کدکننده فنیل آلانین ۳۹۷ به لوسین نسبت داده شده است^{۱۰،۱۱}.

با توجه به افزایش موارد ابتلا به درماتوفیتوزیس به‌ویژه کچلی بدن و کشاله ران به‌وسیله گونه‌های مقاوم به تربینافین و سرعت بالای انتقال بیماری

موارد ابتلا به درماتوفیتوزیس در سطح ایران و جهان رو به افزایش است. گزارش‌های فراوان از موارد ریکلسی ترنت بیماری و شکست درمان ثبت شده است. ظهور گونه‌های مقاوم به درمان تربینافین از دانمارک، سوئیس، چین، بلژیک، آلمان، ژاپن، ایران، فنلاند، سوئیس، فرانسه، عراق و بحرین نیز شناخته شده است^{۱-۷}. تریاکوفایتون کمپلکس منتاگروفایتس (اینتردیجتال، منتاگروفایتس ژنوتایپ VIII / ایندوتینه‌آ) و تریاکوفایتون روبروم، شایع‌ترین عوامل درماتوفیتی مقاوم به تربینافین در بیماران مبتلا به

کلنی عوامل درماتوفیتی تعیین گونه شدند.

تست حساسیت دارویی میکرودایلوشن براث طبق پروتکل CLSI-M38-A2

تست حساسیت دارویی (میکرودایلوشن براث) برای ۲۰ نمونه به دست آمده از بیماران طبق پروتکل CLSI-M38-3rd ED (Clinical and Laboratory Standard Institute) نسبت به داروهای، تربینافین، ایتراکونازول و وریکونازول انجام شد.

یافته‌ها

با توجه به ویژگی‌های مورفولوژیکی کلنی (ماکروسکوپی و میکروسکوپی)، جدایه‌ها به‌عنوان تریاکوفایتون روبروم (۸)، میکروسپوروم کنیس (۱۰) و اپیدرموفایتون فلوکوزوم (۲) شناسایی شد. نتایج تست حساسیت دارویی ایزوله‌های مورد بررسی در جدول ۱ ارائه شده است.

بحث

مطالعات نشان می‌دهد که عامل اصلی درماتوفیتوزیس تا سال ۲۰۱۵ در ۶۰ درصد موارد درماتوفیتوز *T. rubrum* بوده است. از آن زمان *T. mentagrophytes/T. interdigitale* کمپلکس مقام اول را به خود اختصاص داده است و ۶۴ درصد از کل موارد در هند را تشکیل می‌دهد. در میان جدایه‌های مقاوم با حداقل غلظت مهاری بیش از ۰/۲ mg/mL، در برخی گزارش‌ها از هند تا ۷۵ درصد موارد متعلق به *T. indotinea* بود.

در مطالعه ما، ۱۵ بیمار سابقه دریافت درمان ترکیبی با استفاده از فلوکونازول، ایتراکونازول، یا

به‌منظور انتخاب درمان مناسب، در نظر گرفتن مدت زمان لازم برای درمان بیماری و نیز تشخیص زودهنگام موارد مقاوم به درمان الزامی است. تاکنون بیشتر مطالعات انجام شده راجع به گونه‌های کمپلکس تریاکوفایتون منتاگروفایتیس صورت گرفته است و اطلاعات اندکی پیرامون سایر گونه‌های شایع موجود است. مطالعه حاضر به منظور تعیین حساسیت دارویی سویه‌های تریاکوفایتون روبروم، میکروسپوروم کنیس و اپیدرموفایتون فلوکوزوم نسبت به داروهای ضدقارچی رایج انجام گرفت.

روش اجرا

جمع‌آوری نمونه پوسته

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

آزمایش مستقیم و کشت

مقداری از نمونه پوسته ۲۰ بیمار (۳۰ بیمار با عامل کمپلکس تریاکوفایتون منتاگروفایتیس شناسایی شدند و از روند بررسی کنار گذاشته شدند) بر روی لام تمیز گذاشته شد و یک قطره از 10% Potassium Hydroxide به آن افزوده شد. سپس یک لامل تمیز بر روی آن قرار گرفته و نمونه زیر میکروسکوپ، از نظر وجود آرتروکنیدی هایف قارچی بررسی گردید. مقداری از پوسته هر بیمار بر روی محیط کشت مایکوزیل (مرک، آلمان) کشت داده و در دمای محیط به مدت ۲۱-۱۴ روز گرماگذاری شد و در نهایت با استفاده از روش اسلاید، کالچر و رنگ پشت

جدول ۱: نتایج تست حساسیت دارویی ایزوله‌های مورد بررسی.

Terbinafine (µg/mL)	Fluconazole (µg/mL)	Itraconazole (µg/mL)	Voriconazole (µg/mL)	MICs	گونه‌های قارچی
۰/۱۲۵-۰/۵	۰/۱۲۵-۰/۵	۰/۱۲۵-۰/۵	۰/۰۳	Range	M. canis (10)
۰/۵-۲	۱۶	۰/۱۲۵-۱	۰/۲۵-۰/۵	Range	T. rubrum (8)
۰/۵	۰/۲۵-۰/۵	۰/۵	۰/۰۳	Range	E. floccosum (2)

در مطالعه Saunte و همکاران، ۱۲ بیمار مبتلا به درماتوفیتوزیس مقاوم به تربینافین شناسایی شدند که با جدایه ترایکوفایتون روبروم آلوده شده بودند. با استفاده از روش تعیین توالی ژن اسکوالن اپوکسیداز تغییر در اسید آمینه‌های F397L، L393F، L393S، F415S، H440Y، F484Y و I121M V237I شناسایی شد.

از این مطالعه نتیجه می‌گیریم که درماتوفیتوزیس یک بیماری بسیار واگیردار است و نگرانی در مورد گسترش بیشتر ایزوله‌های مقاوم به ضدقارچ وجود دارد. متخصصین پوست برای تشخیص صحیح باید شرح حال کامل پزشکی را برای بیماران تهیه کنند. تشویق به شناسایی دقیق عامل اتیولوژیک در برخی موارد نامشخص، اهمیت بالایی دارد. نتایج تست حساسیت دارویی، بررسی اهمیت تست‌های قارچ‌شناسی را در مورد ضایعات پوستی درماتوفیتی برای جلوگیری از گسترش گونه‌های مقاوم به دارو برجسته می‌کند.

تربینافین خوراکی به همراه کرم‌های ضدقارچ موضعی مانند تربینافین، کلوتریمازول و سرتاکونازول را داشتند. از این تعداد، ۷ بیمار در بالین به ایتراکونازول و ۸ بیمار در بالین به تربینافین پاسخ ندادند.

براساس تست نتایج دارویی ۵ بیمار به تربینافین مقاوم بوده و حداقل غلظت مهارتی بیشتر از ۲ و ۳ بیمار نسبت به تربینافین تولرنت بوده و حداقل غلظت مهارتی بین ۰/۵ تا ۱ نشان دادند. براساس تست نتایج دارویی ۷ بیمار نسبت به ایتراکونازول تولرنت بوده و حداقل غلظت مهارتی بین ۰/۵ تا ۱ نشان دادند. تمام ایزوله‌ها به وریکونازول پاسخ مناسب نشان دادند.

در مطالعه Applet و همکاران، بیمار مبتلا به اونیکومایکوزیس مقاوم به تربینافین شناسایی شد که بیمار با جدایه ترایکوفایتون روبروم آلوده شده بود. با استفاده از روش تعیین توالی ژن اسکوالن اپوکسیداز تغییر در اسید آمینه‌های F397L و L393F شناسایی شد.

References

1. 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.
2. 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.
3. 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* 61: e00115-17.
4. 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; 60:686-0692.
5. 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: 1084-091.
6. Järv H, Uhrlaß S, Simkin S, et al. Terbinafine resistant *Trichophyton mentagrophytes* genotype VIII, Indian type, isolated in Finland. *J Fungi* 2019;95: P39.
7. Süß A, Uhrlaß S, Ludes A, et al. Ausgeprägte tinea corporis durch ein terbinafin-resistentes *Trichophyton-mentagrophytes*-Isolat vom indischen Genotyp bei einem Söugling aus Bahrain in Deutschland. *Hautarzt* 2019;70: 888-96.

8. Mukherjee PK, Leidich SD, Isham N, et al. Clinical *Trichophyton rubrum* strain exhibiting primary resistance to terbinafine. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47: 82-6.
9. Osborne CS, Leitner I, Favre B, et al. Amino acid substitution in *Trichophyton rubrum* squalene epoxidase associated with resistance to terbinafine. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49: 2840-844.
10. 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.
11. Sharquie KE, Jabbar RI. New multiple therapy of resistant and relapsing dermatophyte infections during epidemic status. *J Pak Assoc Dermatol* 2022;32: 464-71.

Investigation of antifungal sensitivity of dermatophytes species isolated from patients with dermatophytosis

Hossein Sharifi, MD¹
Ensieh Lotfali, PhD^{2*}

1. Student Research Committee, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: Oct 29, 2023
Accepted: Dec 04, 2023
Pages: 152-156

Corresponding Author:
Ensieh Lotfali, PhD

Daneshjoo Blvd., Velenjak St., Teharn,
Iran
Email: ensiehlotfali@yahoo.com

Conflict of interest: None to declare

Background and Aim: Considering the increase of dermatophytosis trough the Iran and world as well, especially ringworm of the body and groin due to terbinafine-resistant species and the high speed of disease transmission, in order to choose the appropriate treatment, considering the time required for the treatment of the disease and early detection of resistant cases treatment is required. The present study was conducted to determine the antifungal sensitivity of *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis* and *Epidermophyton floccosum* strains to common antifungal drugs.

Methods: Antifungal sensitivity test (broth microdilution) was performed for 20 specimens obtained from patients according to CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute) M38-3rd ED protocol, for terbinafine, itraconazole and voriconazole.

Results: According to the antifungal susceptibility test results, 5 patients were resistant to terbinafine and showed a minimum inhibitory concentration more than 2, 3 patients were tolerant to terbinafine and showed a minimum inhibitory concentration between 0.5 and 1. Based on the results of the antifungal susceptibility test, 7 patients were tolerant to itraconazole and showed the minimum inhibitory concentration between 0.5 and 1. All isolates responded well to voriconazole.

Conclusion: The results of the antifungal sensitivity test highlight the importance of mycological tests on dermatophytic skin lesions to prevent the spread of drug-resistant species.

Keywords: antifungal sensitivity, dermatophyte, antifungal agent

