افزایش مقاومت دارویی درماتوفیت‌ها، اهمیت انجام تست حساسیت دارویی و بررسی روش‌های آن

آذین آیت‌اللهی[1]
پگاه تمیمی[2]
علی‌اصغر قادری[1]
مهسا فتاحی[3و4*]

۱. مرکز آموزش و پژوهش بیماری‌های پوست و جذام، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۲. دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳. مرکز تحقیقات ایمونولوژی، آسم و آلرژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۴. مرکز طبی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

نویسنده مسئول:
مهسا فتاحی

تهران، بلوار کشاورز، خیابان قریب، پلاک ۶
پست الکترونیک:
dr.mahsafattahi@gmail.com

تعارض منافع: اعلام نشده است.

اخیراً موارد ابتلا به درماتوفیتوزیس به‌شدت افزایش یافته است که با گزارش‌های مکرری از موارد مزمن بیماری، تظاهرات پوستی غیرشایع و شکست درمان همراه است. موارد ظهور گونه‌های مقاوم به درمان در سایر نقاط جغرافیایی مانند دانمارک، سوئیس، چین، بلژیک، آلمان، ژاپن، ایران، فنلاند، سوئیس، فرانسه، عراق و بحرین نیز شناخته شده است. تست حساسیت دارویی ضدقارچی برای گونه‌های جنس درماتوفیت هنوز استانداردسازی نشده است. تست حساسیت ضدقارچی (Antifungal Susceptibility Tests [AFST]) برای تعیین حداقل غلظت مهاری رشد در شرایط آزمایشگاهی (Minimal Inhibitory Concentration [MIC]) یک داروی خاص با هدف پیش‌بینی اینکه آیا بیمار به درمان استاندارد ضدقارچی پاسخ می‌دهد یا خیر، استفاده می‌شود. در ادامه این مقاله مروری کلی برتست حساسیت ضدقارچی ازجمله نقاط قوت و نقاط ضعف و نقش آن در کمک به تصمیم‌گیری‌های درمانی پرداختیم.

کلیدواژه‌ها: مقاومت، تربینافین، درماتوفیت

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۱۱/۰۸ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۱۱/۲۸

پوست و زیبایی؛ زمستان ۱۴۰۲، دوره ۱۴ (۴): ۲۳۰-۲۲۱

مقدمه

عفونت‌های قارچی جلدی در انسان شامل انواع زیادی از بیماری‌هایی است که پوست، مو و ناخن را درگیر می‌کند. این عفونت‌ها معمولاً محدود به نواحی شاخی و غیرزنده می‌شوند و تغییرات پاتولوژیک در میزبان غالباً به‌دلیل وجود عامل عفونت و فراورده‌های متابولیکی آن می‌باشد. اکثر این عفونت‌ها توسط یک گروه همگن از قارچ‌های کراتین‌دوست که درماتوفیت نامیده می‌شوند، ایجاد می‌گردند[1].

درماتوفیت‌ها دسته‌ای از قارچ‌های کراتولیتیک می‌باشند که ازنظر خصوصیت ساختمانی شباهت زیادی به یکدیگر دارند و مسئول طیف وسیعی از بیماری‌های پوستی هستند که مشترکاً کچلی یا درماتوفیتوزیس نامیده می‌شوند. بسته به محل آناتومیک، درماتوفیتوزیس شامل چندین فرم کلینیکی می‌باشد. آسیبی که در بدن میزبان ایجاد می‌شود، درواقع یک واکنش اگزمایی بوده و به‌دنبال آن تظاهرات آلرژیک و التهابی ایجاد می‌شود. این واکنش‌ها، با سیستم ایمنی میزبان و نیز سوش‌ها و گونه‌های عامل عفونت ارتباط دارند[2].

تاکنون بیش از چهل‌گونه درماتوفیت شناخته شده

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-06-28]

که مجموعاً در سه جنس میکروسپوروم، ترایکوفایتون و اپیدرموفیتون طبقه‌بندی شده‌اند. درماتوفیت‌ها ازنظر منشأ آلودگی به سه دسته انسان‌دوست، حیوان‌دوست و خاک‌دوست تقسیم می‌شوند[۳].

درماتوفیتوزیس یک بیماری با انتشار جهانی است که به‌عنوان یک بیماری زئونوز از دسته بزرگی از حیوانات به انسان قابل انتقال است. در سال‌های اخیر وفور و شیوع عفونت‌هایی که به‌وسیله قارچ‌ها ایجاد می‌شوند، روزبه‌روز در حال افزایش است. این عفونت‌ها به‌خصوص در افراد با نقص ایمنی بسیار افزایش یافته‌اند. بیماری به‌ویژه در انواع مزمن برای سال‌ها با بیمار باقی می‌ماند و به درمان‌های رایج با داروهای ضدقارچی سنتتیک نظیر آزول‌ها، گریزئوفولوین و تربینافین پاسخ نمی‌دهد (به‌دلیل ایجاد مقاومت دارویی). هم‌چنین داروهای سنتتیک موجود، عوارض جانبی فراوان نظیر سمیت شدید کبدی، مشکلات جدی نادر پوستی مثل سندرم استیون جانسون و برهمکنش احتمالی دارو ـ دارو به‌دلیل متابولیسم از راه سیستم سیتوکروم P-450 دارند[۴و۵].

اخیراً موارد ابتلا به درماتوفیتوزیس به‌شدت افزایش یافته است که با گزارش‌های مکرری از موارد مزمن بیماری، تظاهرات پوستی غیرشایع و شکست درمان همراه است. افزایش استفاده غیرمنطقی از ترکیبات ضدقارچی حاوی کورتیکواستروئید که بدون نسخه به‌فروش می‌رسند، در روند مقاومت اکتسابی درماتوفیت‌ها به عوامل ضدقارچی رایج نقش دارد[۶و۷].

موارد ظهور گونه‌های مقاوم به درمان در سایر نقاط جغرافیایی مانند دانمارک، سوئیس، چین و بلژیک[۸]، آلمان[۹]، ژاپن و ایران[۱۰و۱۱]، فنلاند[۱۲]، سوئیس[۱۳] و فرانسه، عراق و بحرین[۱۴] نیز شناخته شده است. ترایکوفایتون کمپلکس منتاگروفایتس (اینتردیجیتال / منتاگروفایتس ژنوتایپ VIII)، ترایکوفایتون روبروم[۱۵-۱۸] و ترایکوفایتون تونسورس به‌ترتیب شایع‌ترین عوامل درماتوفیتی مقاوم به تربینافین در بیماران مبتلا به درماتوفیتوزیس می‌باشند. رنج این مقاومت بین ۷۱-۱۷ درصد برحسب مطالعات مختلف متفاوت است[۱۹و۲۰]. شایع‌ترین فرم ابتلا در بیماران مقاوم به تربینافین، کچلی بدن و به‌دنبال آن کچلی کشاله ران است[۲۱]. کچلی بدن عارضه درماتوفیتی قسمت‌های مختلف پوست است. در این بیماری ضایعات از فرم پوسته‌دار ساده تا فرم گرانولوم زخمی عمیق در تغییرند. قارچ در طبقه شاخی اپیدرم جایگزین شده و علائم بالینی ایجادشده درنتیجه مواد مترشحه توسط قارچ به‌وجود می‌آید[۵].

مکانیسم مقاومت تربینافین در میان گونه‌های ترایکوفایت22ون به پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNPs) در ژن اسکوالن اپوکسیداز نسبت داده می‌شود. جهش نقطه‌ای در ژن اسکوالن اپوکسیداز منجر به جایگزینی اسید آمینه عمدتاً در یکی از چهار موقعیت (Leu 393، Phe 397، Phe 415 و His 440)، در ترایکوفایتون روبروم می‌شود. جایگزینی اسید آمینه Phe397Leu عمدتاً در ژن اسکوالن اپوکسیداز ترایکوفایتون منتاگروفایتیس مقاوم به تربینافین می‌شود[۱۹]. جایگزینی اسید آمینه Q408L در ژن اسکوالن اپوکسیداز ترایکوفایتون منتاگروفایتیس مقاوم به تربینافین در فرد مبتلا به درماتوفیتوزیس بدن گزارش شده است[۱۰].

در ادامه این مقاله، مروری کلی بر تست حساسیت ضدقارچی ازجمله نقاط قوت و نقاط ضعف و نقش آن در کمک به تصمیم‌گیری‌های درمانی پرداختیم.

تست حساسیت دارویی ضدقارچی برای گونه‌های جنس درماتوفیت هنوز استانداردسازی نشده است. تست حساسیت ضد قارچی (Antifungal Susceptibility Tests, [AFST]) برای تعیین حداقل غلظت مهاری رشد در شرایط آزمایشگاهی (Minimal Inhibitory Concentration; [MIC]) یک داروی خاص با هدف پیش‌بینی اینکه آیا بیمار به درمان استاندارد ضدقارچی پاسخ می‌دهد یا خیر،

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-06-28]

استفاده می‌شود. براساس مستندات موجود داده‌های حداقل غلظت مهاری رشد در شرایط آزمایشگاهی در مواردی با نتایج بالینی مطابقت ندارد. با این وجود، با افزایش موارد مقاومت به داروی تربینافین به‌ویژه در میان گونه‌های ترایکوفایتون، شناسایی زودهنگام جدایه‌های درماتوفیت مقاوم به تربیتافین برای مدیریت درمان مناسب بیماری الزامی است. به‌منظور تعیین حساسیت به داروی قارچی، از روش‌های مبتنی‌برکشت و روش‌های غیر مبتنی‌برکشت استفاده می‌شود.

روش‌های مبتنی‌بر کشت عبارتند از دیسک دیفیوژن، براث میکرودایلوشن، E-Test و آگار دایلوشن. اگرچه مطالعاتی به‌منظور مقایسه نتایج تست حساسیت داروی ضدقارچی به روش تست دیسک دیفیوژن و براث میکرودایلوشن موجود است؛ ولی طبق دستورالعمل استاندارد CLSI، تست دیسک دیفیوژن و E-Test و آگار دایلوشن برای تست حساسیت ضدقارچی درماتوفیت‌ها توصیه نمی‌شود.

براساس مطالعات انجام‌شده مشخص شده است که تست براث میکرودایلوشن CLSI-M38-A2، دستورالعمل استاندارد برای انجام تست حساسیت داروی ضدقارچی علیه درماتوفیت‌ها است. علی‌رغم وجود دستورالعمل استاندارد، تفسیر بالینی مقادیر MIC یا Breakpoint برای بررسی اینکه آیا عامل آزمایش‌شده ازنظر بالینی حساس است یا مقاوم، هنوز به وضوح تعریف نشده است. در بالین، برای مدیریت بهتر بیماران، نقطه شکست بالینی درمان (CBP) نقش مهمی دارد. CBP به عوامل متعددی مانند توزیع MIC، داده‌های فارماکوکینتیک/فارماکودینامیک (PK/PD) داروی ضدقارچ‌ها و مهم‌تر از همه، نتیجه درمان بیماری بستگی دارد[۲۲].

به‌دلیل کمبود اطلاعات در مورد نتایج بالینی با داده‌های حساسیت ضدقارچی، تصمیم‌گیری در مورد CBP برای یک گونه خاص دشوار است بنابراین، در چنین شرایطی، ممکن است مقدار Cutoff اپیدمیولوژیک (ECV) برای هرگونه معین و عامل ضدقارچی تعیین شود. مقدار MIC برای متمایزکردن جدایه‌های نوع وحشی (که عموماً حساس در نظر گرفته می‌شوند) از انواع غیروحشی (به‌طور کلی به‌عنوان جدایه‌های مقاوم درنظر گرفته می‌شوند) استفاده می‌شود[۲۳]. نتایج MIC به سه صورت تفسیر می‌شود: (S) حساس، رژیم درمانی با دوز استاندارد دارو احتمال موفقیت درمانی بالایی دارد؛ (I) حساس اما مستلزم افزایش قرارگرفتن در معرض عامل ضدقارچی با دوز بالا است و (R) مقاوم، حتی درصورت افزایش مواجهه احتمال شکست درمانی زیاد است[۲۴].

از آنجایی که تکنیک براث میکرودایلوشن پرزحمت است و نیاز به تخصص دارد، تنها چند آزمایشگاه قارچ‌شناسی می‌توانند این آزمایش را انجام دهند. در سناریوی فعلی افزایش مقاومت به درماتوفیت‌ها، حداقل در مواردی که درماتوفیتوز مزمن/عودکننده یا شکست/عود درمان وجود دارد، نیاز به انجام تست‌های حساسیت دارویی ضدقارچی است. ازآنجایی که هنوز CBP تعریف نشده است، نیاز فوری به ECV برای درماتوفیت‌ها وجود دارد و این مقدار ممکن است پزشک را حین مدیریت درماتوفیتوزیس مقاوم به درمان راهنمایی کند[۲۱].

روش‌های ارزیابی ترکیبات ضدقارچی

تست حساسیت ضدقارچی به‌منظور ارائه اطلاعاتی به پزشکان انجام می‌شود که به هدایت درمان در بیماران مبتلا به عفونت قارچی کمک می‌کند.

روش‌های رقیق‌سازی

در روش مذکور از رقت‌های مختلف عامل ضدمیکروبی استفاده می‌شود که خود در قالب چند روش مختلف انجام می‌شود:

۱. روش لوله

این روش خود به دو صورت است:

- Microdilution Method
- Macrodilution Method

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-06-28]

این روش علی‌رغم اینکه بسیار دقیق است؛ اما به‌علت طولانی بودنش ازلحاظ اقتصادی مقرون‌به‌صرفه نبوده، لذا معمولاً استفاده نمی‌شود مگر در مواردی نظیر تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد عوامل ضدقارچی. در این روش رقت‌های مختلف عامل ضدمیکروبی به همراه محیط کشت مایع در مجاورت غلظت ثابتی از کشت قارچی با رعایت زمان مناسب قرار می‌گیرد، سپس رشد یا عدم رشد میکروارگانیسم موردآزمایش با توجه به غلظت عامل ضد قارچی تعیین می‌شود، سپس کم‌ترین غلظت از عوامل ضدمیکروبی که از رشد قارچ‌ها جلوگیری می‌کند، به‌عنوان MIC تعیین می‌گردد[۶و۷].

تست حساسیت دارویی درحقیقت فعالیت یک ماده ضدقارچ خاص را در شرایط آزمایشگاهی برروی ارگانیسم قارچی نشان می‌دهد. با این حال، مقادیر MIC به‌تنهایی برای ایجاد تفاسیر حساس یا حساس وابسته به دوز و مقاوم کافی نیست و باید به فاکتورهای محیطی دخیل در نتایج و فارماکوکینتیک دارو نیز توجه شود. فارماکوکینتیک دارو شامل دوز مصرف و محل ضایعه می‌باشد.

۲. روش پلیت با استفاده از محیط جامد[۲۱]

در این روش به‌جای محیط مایع از محیط جامد استفاده می‌شود. دقت آن نسبت به روش لوله کمتر است. در این روش غلظت‌های مختلفی از عوامل ضدمیکروبی را به داخل پلیت‌های آگار وارد کرده به این صورت که برای هر غلظت یک پلیت مورداستفاده قرار می‌گیرد.

میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش در سرم فیزیولوژی را به‌گونه‌ای حل کرده که کدورت برابر استاندارد نیم مک‌فارلند باشد. بعد از یک شب گرم خانه‌گذاری، رشد میکروارگانیسم‌ها در پلیت‌های فاقد غلظت کافی از عوامل ضدمیکروبی بررسی شده و درنهایت کم‌ترین غلظت عامل موردنظر که اجازه رشد به میکروارگانیسم‌ها را نداده است، به‌عنوان MIC تعیین می‌گردد.

۳. روش گرادیانت پلیت[۲۵]

در این روش از محیط جامد به‌جای محیط مایع استفاده می‌شود. ممکن است برای هر یک از غلظت‌های ماده مورد آزمایش چندین میکروارگانیسم بررسی شود. تلقیح‌کننده‌های چند نقطه‌ای قادرند که چندین میکروارگانیسم را بر روی یک پلیت بررسی کنند.

جهت انجام این تست به محیط، نوترینت آگار ذوب‌شده از محلول مورد آزمایش اضافه می‌شود. سپس این مجموعه را به داخل پلیت استریلی ریخته، پلیت را کج قرار داده تا محیط داخلی آن به‌صورت یک گوِه سفت شود، سپس باقی‌مانده آگار به داخل گوه ریخته می‌شود و با قراردادن پلیت بر روی محیط صاف آگار به‌صورت صاف، در پلیت قرار می‌گیرد.

پلیت‌ها را یک شب در گرمخانه گذاشته تا محلول مورد آزمایش به سطح خشک نفوذ کند. میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش باید به‌طور خطی از سمت بالاترین غلظت به پایین‌ترین غلظت حرکت کنند. در این روش امکان بررسی شش میکروارگانیسم وجود دارد. برای ارزیابی نتایج، طول رشد قارچ و طول کلی آگار سطحی که کشت داده‌شده اندازه‌گیری می‌شود.

روش کدورت‌سنجی[۲۲]

روش فوق در مورد ترکیباتی کاربرد دارد که قدرت انتشار آن‌ها به داخل آگار کم باشد. در این روش محیط کشت مایع مورد استفاده قرار می‌گیرد. در روش کدورت‌سنجی کشت میکروارگانیسم‌های مورد نظر در محیط کشت مایع و در مجاورت غلظت‌های مختلف از ماده ضدمیکروب موردنظر انجام می‌شود و با سنجش کدورت‌های حاصل در لوله‌ها، می‌توان مقدار ماده مورد آزمایش را تعیین کرد.

به‌علت اینکه مدت کشت در گرم‌خانه کوتاه است، کنترل حرارت گرم‌خانه بسیار مهم است. بدین جهت حرارت باید کاملاً یکنواخت باشد؛ لذا از بن‌ماری مجهز به دستگاه دوران آب استفاده می‌شود و چون آب،

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-06-28]

انتقال حرارت را سریع‌تر انجام می‌دهد، به هوای گرم ترجیح دارد. برای سنجش کدورت‌ها از دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده می‌شود.

لوله‌هایی که در این روش مورد استفاده قرار می‌گیرند باید هم‌قطر و هم‌ضخامت باشند و خراش، لکه یا هرگونه عیبی در لوله نباشد، چون قطره‌های مختلف اختلاف دمایی ایجاد می‌کند (ظروف یکسان ــ دمای یکسان). ظروف باید به‌دقت شسته و آب کشیده شوند تا کوچکترین آثار میکروارگانیسم روی لوله‌ها باقی نماند.

روش انتشار[۲۳]

در روش انتشار، ماده مورد آزمایش روی محیط جامد قرار می‌گیرد تا به داخل آگار انتشار پیدا کند. چنانچه ماده موردآزمایش از عوامل باکتریواستاتیکی یا باکتریوسیدی باشد، نتیجه به‌صورت یک هاله عدم رشد ظاهر می‌شود.

اندازه هاله‌ها به غلظت ماده مورد اندازه‌گیری و مقدار آن بستگی دارد. ارتباط بین اندازه هاله‌ها و لگاریتم غلظت ماده مورد آزمایش خطی است. با اندازه گیری فاصله‌ای که ماده مورد آزمایش انتشار پیدا نموده، به‌صورت رشد یا عدم رشد میکروب مورد آزمایش و مقایسه آن با استاندارد مشخص، قدرت نمونه مورد آزمایش محاسبه می‌گردد.

عوامل مؤثر در اندازه‌گیری به روش انتشار

الف) آگار

آگار یکی از مهم‌ترین عوامل در این روش می‌باشد. اندازه‌گیری به روش انتشار بستگی به انتشار ماده مورد سنجش در آگار دارد.

۱. عمق آگار: آگار را در پلیت‌های نازک تقسیم می‌کنند؛ چون لایه‌های نازک، هاله‌های بزرگتر ایجاد می‌کند. بدین جهت اکثر محققین، لایه‌هایی با قطر ۵-۳ میلی‌متر را برای اندازه‌گیری مناسب می‌دانند. ضخامت لایه‌ها بسیار مهم است چون لایه‌های آگار خیلی نازک یا خیلی ضخیم باعث می‌شوند که منحنی لگاریتمی به‌صورت خطی به دست نیاید. به همین دلیل باید توجه داشت که تمام پلیت‌ها به یک ضخامت پر شده باشند.

۲. خشکی آگار: خشکی آگار یک مورد بسیار مهم است چراکه خشک‌نبودن آن به حد کافی باعث ایجاد هاله‌هایی با کناره‌های نامشخص می‌شود. خشک‌کردن آگار باید به‌صورتی انجام گیرد که از ورود هرگونه آلودگی ازطریق هوا جلوگیری به‌عمل آید. این مشکل را می‌توان با برگرداندن پلیت‌ها روی در آنها برطرف نمود[۱۸].

۳. مقدار آگار: با کم‌کردن مقدار آگار، جنس و منبع آگار در محیط کشت، می‌توان حساسیت روش انتشار را افزایش داد[۱۸].

ب) pH آگار و محلول مورد اندازه‌گیری

تغییرات pH در فعالیت و پایداری مواد مورداندازه‌گیری مؤثر می‌باشد. انتخاب pH آگار باید به‌صورتی انجام شود که مناسب برای رشد میکروارگانیسم‌ها، فعالیت و پایداری ماده مورد آزمایش باشد. اندازه و قطر هاله با تغییر pH آگار و همچنین pH محلول مورد اندازه‌گیری تغییر می‌نماید[۱۹].

ج) شرایط کشت در گرم‌خانه

زمان لازم و درجه حرارت برای نگهداری کشت‌ها در گرم‌خانه نسبت به نوع میکروب و مواد سنجش متفاوت بوده و تنظیم این دو عامل بستگی به خصوصیات و شرایط لازم در هر اندازه‌گیری دارد.

چون هر دو مورد در اندازه هاله‌های به‌دست‌آمده تأثیرگذارند، درنتیجه اگر بخواهیم هاله‌های بزرگتری داشته باشیم، باید فاز وقفه رشد میکروب‌ها را تغییر داد. بدین‌منظور جهت انتشار بهتر و ایجاد هاله‌های بزرگتر، نمونه‌ها را در یخچال یا در حرارت آزمایشگاه قرار می‌دهند.

طرز قراردادن میکروارگانیسم‌ها روی آگار

میکروارگانیسم‌ها به طرق مختلف در پلیت‌ها قرار داده می‌شوند که سه روش اصلی آن عبارتند از:

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-06-28]

۱. مقداری از سوسپانسیون میکروبی را در سطح آگار ریخته به‌طوری که تمام سطح به آن آغشته شود، سپس سوسپانسیون اضافی از روی آگار تخلیه می‌شود. در این روش رشد یکنواختی به‌علت ناهمگن‌بودن پخش میکروبی حاصل نخواهد شد.
۲. سوسپانسیون میکروبی در تمام سطح آگار ریخته و سپس آن‌را در پلیت‌ها تقسیم می‌کنند. برخلاف روش قبل در این روش پخش کامل و یکنواخت سوسپانسیون میکروبی انجام می‌گیرد.
۳. یک لایه از آگار محتوی سوسپانسیون میکروبی در روی آگار مغذی موجود در پلیت‌ها ریخته می‌شود. این روش نسبت به روش دوم مستلزم وقت بیشتری جهت پرکردن پلیت‌ها است؛ اما هاله‌هایی یک اندازه و مناسب به‌دست خواهند آمد. درجه حرارت آگار مذاب باید مورد توجه باشد. درصورتی که در موقع ریختن میکروارگانیسم‌ها آگار داغ باشد، باعث کشته‌شدن تعدادی از میکروارگانیسم‌ها شده و اگر سرد باشد، منجمد می‌گردد و نمی‌توان از آن استفاده کرد.

بهترین درجه حرارت برای آگار مذاب جهت ریختن سوسپانسیون میکروبی در آگار، ۵۰-۴۵ درجه سانتی گراد است.

ه) ماده مورد اندازه‌گیری

۱. خصوصیات لازم: ماده‌ای که برای تعیین مقدار به‌کار می‌رود، بایستی خصوصیات زیر را داشته باشد:
   - اثر محرک یا جلوگیری‌کننده نسبت به رشد میکروارگانیسم داشته باشد؛
   - در حلالی قابل انحلال بوده و در آن غلظت با اندازه‌گیری تداخل نداشته باشد و
   - قابل انتشار در آگار باشد.
۲. مقدار لازم برای تعیین مقدار: انتخاب مقدار لازم از ماده مورد سنجش، بستگی به فعالیت آن ماده نسبت به میکروارگانیسم آزمایش دارد[۲۰].

هاله‌های رشد و عدم رشد

ممکن است هاله‌های مختلفی درنتیجه رشد یا عدم رشد ایجاد گردد که در محاسبه و به‌دست‌آوردن نتایج، مؤثرند. غلظت و سن میکروب مورد آزمایش در ایجاد هاله‌های مناسب مؤثر است. در ایجاد هاله‌های نادرست نوع ترکیبات محیط کشت و محلول مورد اندازه‌گیری دخالت دارند.

خط‌کش، کپیلر یا وسایل مخصوص دیگری جهت اندازه‌گیری قطر هاله‌های رشد یا عدم رشد استفاده می‌شود. برای دقت بیشتر می‌توان پلیت‌ها را روی جعبه‌هایی در زیر نور مناسب قرار داده و سپس آن‌ها را با کمک ذره‌بین با بزرگنمایی بالا مشاهده و قطر هاله‌ها را اندازه‌گیری کرد.

صحت نتایج حاصل

در روش انتشار، فاکتورهایی در ایجاد خطاها دخالت دارند. این فاکتورها عبارتند از:

۱. مهارت شخص آزمایش‌کننده، اصلاحات در کلینیک
۲. توسط افرادی که کار می‌کنند، تعداد دیسک‌ها، سیلندرها یا چاهک‌ها که برای هر رقت مصرف می‌شوند.

بهترین روش برای کاهش خطاها، ایجاد تعداد زیادی هاله می‌باشد. در مواردی که به نتایج دقیق‌تری نیاز است، بهتر است آزمایش را تکرار نموده و میانگین نتایج را به‌دست آورد.

حداقل غلظت مهاری

حداقل غلظت مهاری عبارت است از غلظتی از آنتی‌بیوتیک که لازم است تحت شرایط استاندارد، رشد میکروب مشخصی را مهار کند.

روش‌های تعیین MIC[۲۱]

- Broth Serial Microdilution
- Broth Serial Macrodilution
- Agar serialdilution

عوامل مؤثر در تعیین MIC

میزان نمونه اسپور تلقیحی: معمولاً هرچه مقدار باکتری که به‌کار می‌رود بیشتر از حد استاندارد باشد،

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-06-28]

اثر ضدمیکروبی دارد و متعاقباً مقدار MIC کمتر از میزان واقعی تعیین می‌شود.

۱. سرعت رشد باکتری؛
۲. مدت زمان قرارگیری میکروب در انکوباتور؛
۳. ماهیت محیط کشت مورد استفاده و عدم آلودگی آن؛
۴. pH محیط؛
۵. عمق محیط کشت؛
۶. پایداری ماده ضدمیکروبی؛
۷. فعالیت متابولیک میکروارگانیسم؛
۸. خلوص و سن کشت میکروبی و
۹. شرایط گرم‌خانه‌گذاری که شامل دما، مدت زمان گرم‌خانه‌گذاری و فشار هوای داخل گرم‌خانه است. انتخاب شرایط گرم‌خانه‌گذاری با توجه به خصوصیات میکروارگانیسم و همچنین ماده مورد بررسی می‌باشد[۲۱].

حداقل غلظت کشندگی

حداقل غلظت کشندگی عبارت است از غلظتی از آنتی‌بیوتیک که تحت شرایط استاندارد ۹۹/۹ درصد از میکروب‌های تلقیح اولیه را می‌کشد. در برخی از عفونت‌ها ضروری است که میکروارگانیسم‌های عامل به‌طور کامل کشته شوند. برای تعیین توانایی عامل ضدمیکروبی در ازبین‌بردن و کشتن میکروارگانیسم عامل، انجام آزمایشات تعیین MBC / MFC ضروری است.

روش مولکولی[۲۴]

روش‌های غیرمبتنی‌بر کشت متعددی برای تشخیص مؤثر SNPهای موردنظر در سایر قارچ‌ها ارزیابی شده‌اند. SNPها را می‌توان با تکنیک‌های پیشرفته مانند سنجش Ligation-Dependent Probe Amplification (MLPA)، اسپکتروفتومتری MALDI TOF MS، سنجش مبتنی‌بر پروب و توالی‌یابی مستقیم DNA شناسایی کرد؛ اما این تکنیک‌ها یا در اکثر آزمایشگاه‌های معمولی موجود نیستند یا به‌دلیل پیچیدگی و هزینه بالای این روش‌ها امکان‌پذیر نیستند. در میان این روش‌ها، توالی‌یابی DNA بهترین ابزار تعیین ژنوتیپ است؛ اما این روش گران و زمان‌بر است و در اکثر آزمایشگاه‌های تشخیصی معمولی در دسترس نیست. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (ARMS PCR) که به‌عنوان واکنش زنجیره‌ای پلیمراز اختصاصی آلل نیز شناخته می‌شود، یک تکنیک کارآمد برای شناسایی SNPها و جهش‌های نوع حذفی است. اخیراً محققان از روش Real-Time PCR برای شناسایی گونه‌های مقاوم به داروهای ضدقارچی و میکروبی استفاده کردند. محققان با روش Resistance Real-Time PCR به‌طور مؤثر گونه‌های ترایکوفایتون را شناسایی کرد و سویه‌های مقاوم با ژنوتیپ جهش یافته اسکوالن اپوکسیداز متمایز کرد که شامل Phe397Leu و Leu393Phe است.

References

1. Zhan P, Liu W. The changing face of dermatophytic infections worldwide. Mycopathologia 2017; 182: 77-86.
2. Havlickova B, Czaika VA, Friedrich M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. Mycoses 2008; 51: 2-15.
3. Symoens F, Jousson O, Packeu A, et al. The dermatophyte species Arthroderma benhamiae: Intraspecies variability and mating behaviour. J Med Microbiol 2013; 62: 377-85.
4. Leyden J. Pharmacokinetics and pharmacology of terbinafine and itraconazole. J Am Acad Dermatol 1998; 38: S42-7.
5. Hayette MP, Sacheli R. Dermatophytosis, trends in epidemiology and diagnostic approach. Curr Fungal Infect Rep 2015; 9: 164-79.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-06-28]

6. Singh A, Masih A, Khurana A, et al. High terbinafine resistance in Trichophyton interdigitale isolates in Delhi, India harbouring mutations in the squalene epoxidase gene. Mycoses 2018; 61: 477-84.
7. Gupta AK, Foley KA, Versteeg SG. New antifungal agents and new formulations against dermatophytes. Mycopathologia 2017; 182: 127-41.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. Taghipour S, Pchelin IM, Zarei Mahmoudabadi A, et al. Trichophyton mentagrophytes and T. interdigitale genotypes are associated with particular geographic areas and clinical manifestations. Mycoses2019; 62: 1084-91.
13. Järv H, Uhrlass S, Simkin T, et al. Terbinafine resistant Trichophyton mentagrophytes genotype VIII, Indian type, isolated in Finland. J Fungi 2019; 5:P039.
14. Süß A, Uhrlaß S, Ludes A, et al. Extensive tinea corporis due to a terbinafine-resistant Trichophyton mentagrophytes isolate of the Indian genotype in a young infant from Bahrain in Germany. Der Hautarzt 2019;70: 888-96.
15. Mukherjee PK, Leidich SD, Isham N, et al. Clinical Trichophyton rubrum strain exhibiting primary resistance to terbinafine. Antimicrob Agents Chemother 2003;47: 82-6.
16. 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; 2840: 4-49.
17. 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: 10-1128.
18. Noguchi H, Matsumoto T, Hiruma M, et al. Tinea unguium caused by terbinafine-resistant Trichophyton rubrum successfully treated with fosravuconazole. J dermatol 2019; 46: e446-e47.
19. Ebert A, Monod M, Salamin K, et al. Alarming India-wide phenomenon of antifungal resistance in dermatophytes: A multicentre study. Mycoses 2020;63:717-28.
20. Rudramurthy SM, Shankarnarayan SA, Dogra S, et al. Mutation in the squalene epoxidase gene of Trichophyton interdigitale and Trichophyton rubrum associated with allylamine resistance. Antimicrob Agents Chemother 2018; 62: 10-128.
21. CLSI. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. M38Ed3ed. Clinical and Laboratory Standards Institute 2017.
22. Espinel-Ingroff A, Arthington-Skaggs B, Iqbal N, 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; 45: 1811-20.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-06-28]

23. Pfaller MA, Barry A, Bille J, et al. Quality control limits for voriconazole disk susceptibility tests on Mueller-Hinton agar with glucose and methylene blue. J clin microbiol 2004; 42: 1716-8.

24. 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: 721-26.

25. Arendrup M, Meletiadis J, Mouton J, et al. EUCAST definitive document e.Def 9.3.1: method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for conidia forming moulds. Basel: EUCAST 2017.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-06-28]

Increasing the drug resistante dermatophytes, the importance of antifungal susceptibility testing and its methods

Azin Ayatollahi, MD[1]
Pegah Tamimi, MD[2]
Aliasghar Ghaderi, MD[2]
Mahsa Fattahi, PhD[3,4*]

1. Center for Research and Training in Skin Disease and Leprosy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Immunology, Asthma and Allergy Research Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4. Children's Medical Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: Jan 28, 2024
Accepted: Feb 17, 2024
Pages: 221-230

Corresponding Author:
Mahsa Fattahi, PhD

No. 6, Qarib St., Keshavarz Blvd., Tehran Iran
Email: dr.mahsafattahi@gmail.com

Conflict of interest: None to declare

Recently, the cases of dermatophytosis have increased sharply, which is associated with frequent reports of chronic cases of the disease, uncommon skin manifestations, and treatment failure. Cases of emergence of resistant species in other geographical areas such as Denmark, Switzerland, and China, Belgium, Germany, Japan, Iran, Finland, Switzerland, France, Iraq and Bahrain are also known. Antifungal drug susceptibility testing for dermatophyte species has not yet been standardized. Antifungal Susceptibility Tests (AFST) are used to determine the minimum growth inhibitory concentration (MIC) of a specific drug in laboratory conditions with the aim of predicting whether a patient will respond to standard antifungal treatment or not. In the continuation of this article, we gave an overview of the antifungal sensitivity test, including its strengths and weaknesses and its role in helping to make therapeutic decisions.

Keywords: resistant, terbinafine, dermatophte

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-06-28]

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.