حساسیت گونه‌های کاندیدای دهانی افراد آلوده به HIV نسبت به داروهای ضد قارچی تحت شرایط برون تنی در ایران

فرزاد کتیرائی،[۱*] علیرضا خسروی،[۲] وحید خلج،[۳] محبوبه حاجی عبدالباقی،[۴] علی‌اصغر خاکسار،[۳] مهرناز رسولی نژاد[۴]

۱- مرکز تحقیقات قارچ‌شناسی، دانشکده علوم دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران.
۲- گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۳- مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران.
۴- مرکز تحقیقات ایدز ایران، بیمارستان امام خمینی (ره)، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

[*] نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات قارچ‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، بالاتر از میدان سرو، نرسیده به فروشگاه شهروند، نبش فراز یکم
تلفن: ۶۰۴۷۳۱۱-۰۹۱۲
E-mail: katiraee_f@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۹/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۱/۰۱

چکیده

زمینه و هدف: مقاومت عوامل ایجاد کاندیدیازیس دهانی به داروهای ضد قارچی از مشکلات بیماران آلوده به HIV است. افزایش مقاومت و استفاده بیش از پیش از داروها، اهمیت بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی را نشان می‌دهد. مطالعه حاضر میزان حساسیت گونه‌های کاندیدای جدا شده از بیماران آلوده به HIV را به داروهای ضد قارچی بررسی می‌کند. ***روش بررسی:*** ۱۵۰ نمونه دهانی از بیماران آلوده به HIV بر روی محیط‌های کروم آگار و سابورو آگار کشت داده شد. جدایه‌های رشد یافته بر اساس روش‌های متداول تشخیص مخمرها تعیین هویت شدند. با روش‌های انتشار دیسک و میکرودایلوشن براث الگوی حساسیت به شش داروی ضد قارچی تعیین گردید. ***یافته‌ها:*** *کاندیدا آلبیکنس* (۵۰/۲٪) و *کاندیدا گلابراتا* (۲۲٪) شایع‌ترین گونه‌های جدا شده بودند. ۲۵/۷٪ از جدایه‌های *کاندیدا آلبیکنس* نسبت به داروی فلوکونازول مقاوم بودند و این میزان برای کتوکونازول و کلوتریمازول به ترتیب ۲۱/۹٪ و ۱۶/۴٪ بوده است. مقاومت نسبت به داروهای آمفوتریسین، نیستاتین و داروی کاسپوفانژین دیده نشد. از طرفی ۵۷/۷٪ از جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* نسبت به فلوکونازول مقاوم بودند و این میزان برای کتوکونازول و کلوتریمازول به ترتیب ۳۱٪ و ۳۵٪ بود. ***نتیجه‌گیری:*** مقاومت گونه‌های کاندیدا به داروی آزولی، به‌خصوص فلوکونازول رو به افزایش است. بررسی مقاومت جدایه‌های کاندیدا به‌روش انتشار دیسک و یا میکرودایلوشن براث در آزمایشگاه‌ها جهت کنترل عفونت کاندیدیازیس دهانی مطلوب است. هرچند داروی نیستاتین به‌وفور برای بیماران مورد استفاده قرار می‌گیرد اما مقاومت به این دارو ناچیز است. استفاده از داروی کاسپوفانژین نیز با توجه به عدم مقاومت توصیه می‌گردد.

کلمات کلیدی: کاندیدیازیس دهانی، گونه‌های کاندیدا، مقاومت دارویی، بیماران آلوده به HIV.

مقدمه

اهمیت بیماری‌های قارچی فرصت طلب در بیماران مبتلا به نقایص سیستم ایمنی و خصوصا ایمنی سلولی بر کسی پوشیده نیست. کاندیدیازیس دهانی (Oral candidiasis) رایج‌ترین عفونت قارچی فرصت طلب در بیماران آلوده به ویروس نقص سیستم ایمنی است و از طرفی بیماری‌های کاندیدایی شایع‌ترین عفونت قارچی در انسان و حیوان نیز می‌باشند و این اهمیت بررسی بر روی این گونه‌های قارچی را نشان می‌دهد.[۱و۲] حفره دهانی انسان و حیوان حاوی مقادیر اندکی از گونه‌های مخمری به صورت هم‌زیست است و البته گونه‌های کاندیدایی به طور معمول حفره دهانی بیماران HIV را بیش از حد طبیعی کولونیزه می‌کنند که خود از عوامل مستعد کننده برای ایجاد بیماری کاندیدایی است. امروزه از مشکلات اصلی در راه درمان بیماران مبتلا به عفونت‌های قارچی و خصوصا بیماری‌های کاندیدایی بروز مقاومت‌های دارویی است و همان‌طور که می‌دانید درمان عفونت‌های قارچی به دلیل طول مدت درمان، عود مکرر، عدم وجود تنوع در انتخاب داروهای مختلف به‌طور اولیه مشکل است.[۳و۴] ازدیاد گزارش‌های مختلف و متفاوت از سراسر دنیا در رابطه با بروز

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-01]

و افزایش مقاومت‌های دارویی در بین گونه‌های قارچی و کاندیدایی و هم‌چنین کمک و تهییج پزشکان به تجویز داروی مناسب و کارا برای بیماران، و در کنار آن تولید داروهای ضد قارچی جدید نیاز به انجام آزمایش‌های تعیین حساسیت را به داروهای مذکور نشان می‌دهد و محققان را مشتاق به تعیین الگوی حساسیت به داروهای مختلف ضد قارچی می‌کند.[۵]

با وجود درمان وسیع ضد قارچی و درمان ضد ویروسی موثر که منجر به بهبود سیستم ایمنی در بیماران HIV می‌گردد، بیماری کاندیدیازیس دهانی در این بیماران رایج است و البته میزان بروز بیماری وابسته به گونه عامل ایجاد بیماری، شیوع مقاومت دارویی، درمان قبلی با داروی ضد قارچی و شرایط سیستم ایمنی میزبان دارد. مطالعات مختلفی بر روی میزان حساسیت گونه‌های کاندیدای جدا شده از بیماران HIV در سراسر دنیا انجام شده است اما میزان شیوع گونه‌های کاندیدای مقاوم به داروهای ضد قارچی در بیماران آلوده به HIV در ایران مورد بررسی قرار نگرفته است. پر واضح است تعیین الگوی حساسیت به داروهای ضد قارچی گونه‌های کاندیدای جدا شده از بیماران نقص ایمنی و از جمله بیماران آلوده به HIV در پیشگیری و درمان صحیح این بیماران موثر و اساسی است. تعیین حساسیت به روش انتشار دیسک که یک روش ساده و پذیرفته شده در آزمایشگاه‌ها است جهت تعیین حساسیت گونه‌های کاندیدا به داروهای ضد قارچی به خوبی ارایه شده و گسترش یافته است و با وجود آن‌که در تعیین دقیق مقاومت به دارو با مشکلاتی مواجه هستیم اما به نظر می‌رسد روش انتشار دیسک یک روش ساده و به نسبت ارزان برای آزمایش تعیین حساسیت در آزمایشگاه‌های بالینی مختلف است.[۶-۹] مطالعه حاضر میزان حساسیت گونه‌های کاندیدای جدا شده از بیماران آلوده به HIV را به برخی داروهای ضد قارچی نشان می‌دهد و در این مطالعه جهت تعیین هر چه بهتر میزان مقاومت از دو روش انتشار دیسک و میکرودایلوشن براث استفاده شده است.

روش بررسی

این مطالعه یک مطالعه توصیفی- تحلیلی است. در این مطالعه حساسیت گونه‌های کاندیدای به‌کار رفته در این مطالعه از ۱۵۰ بیمار آلوده به ویروس نقص سیستم ایمنی مراجعه کننده به مرکز مشاوره بیماری‌های رفتاری واقع در بیمارستان امام خمینی تهران در سال ۱۳۸۷ به‌دست آمده‌اند. عفونت بیماران به ویروس HIV با روش الایزا و وسترن بلات به تایید رسیده بود و بیماران دارای پرونده پزشکی در رابطه با عفونت HIV بوده‌اند. ضایعات دهانی در کلیه بیماران از نظر بالینی بررسی شد و از هر بیمار نمونه سواب دهانی از نواحی مخاط دهان، زبان و لثه در محیط سابورو دکستروز آگار (Merck) و محیط کروم آگار کاندیدا (Paris France company) به‌طور مستقیم کشت داده شد. هم‌چنین نمونه دهانی با استفاده از پتاس ۱۰٪ به‌روش میکروسکوپی از نظر وجود هایف کاذب و سلول‌های مخمری بررسی شدند. پلیت‌های کشته داده شده کروم آگار برای تشخیص احتمالی گونه‌های مخمری و شکل و رنگ کلنی به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۵ $^{\circ}C$ و در تاریکی انکوبه شدند و پلیت‌های سابورو دکستروز آگار در شرایط هوازی به‌مدت هفت روز در دمای ۳۰ $^{\circ}C$ انکوبه گردیدند تا تمام عوامل احتمالی در این محیط رشد یابند. پس از طی زمان انکوباسیون گونه‌های مخمری با روش‌های مختلف از جمله تشکیل کلامیدوسپور در محیط کورن میل آگار حاوی توین ۸۰ و جذب کربوهیدرات‌ها (Rap IDTM yeast identification system remel) شناسایی شدند.[۱۰-۱۳]

- آزمایش تعیین حساسیت به داروهای ضد قارچی

روش انتشار دیسک: این روش برای پنج داروی ضد قارچی بر اساس روش پیشنهادی Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) تحت عنوان M44-A انجام گرفت.[۱۴و۱۵] بدین منظور دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی فلوکونازول (۲۵µg)، کتوکونازول (۱۵µg)، کلوتریمازول (۱۰µg)، نیستاتین (۵۰µg) و آمفوتریسین B (۱۰µg) تهیه و مورد استفاده قرار گرفت (Mast group Ltd, UK). از دو سویه استاندارد *کاندیدا آلبیکنس* (ATCC1023) و *کاندیدا دابلی نینسیس* (CD 36) در کنار سایر جدایه‌های کاندیدایی به‌کار برده شده در این مطالعه به‌عنوان کنترل استفاده شد. پلیت‌های مولر هینتون آگار (MHA) حاوی ۲٪ گلوکز و متیلن بلو (GMB) با قطر چهار میلی‌متر بر طبق دستورالعمل شرکت سازنده تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. سوسپانسیون سلول‌های مخمری در سرم فیزیولوژی استریل مطابق با کدورت نیم مک فارلند (که حاوی $۱-۵\times۱۰^{۶}$ سلول است) تهیه گردید. سپس سطح محیط کشت آماده شده به‌وسیله سوآب استریل آغشته شده به سوسپانسیون سلول‌های مخمری تازه کشت داده شده

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-01]

تلقیح گردید. پلیت‌های تلقیح شده به‌مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ °C انکوبه گردیدند. قطر هاله عدم رشد از نقطه‌ای که رشد مخمر به میزان ۸۰٪ کاسته شده بود محاسبه گردید. سپس MIC 90 گونه‌های مخمری متناسب با قطر هاله عدم رشد و بر اساس معیار توصیف شده از طرف CLSI و شرکت سازنده دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی محاسبه گردید.

روش میکرودایلوشن براث: در کنار روش انتشار دیسک و با هدف مقایسه و تایید از روش رقت‌سازی سریالی در محیط مایع در میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای بر طبق روش پیشنهادی CLSI تحت عنوان M27-A2 استفاده گردید.[۱۶] در این روش با استفاده از محیط RPMI1640 حاوی گلوتامین و گلوکز به‌همراه بافر MOPS با pH:۷ حداقل غلظت مهاری تعیین گردید. در ابتدا غلظت‌های استوک پنج داروی مورد نظر بر طبق دستورالعمل CLSI در محیط RPMI تهیه گردید و در هنگام آزمایش در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای با استفاده از محیط RPMI به رقت مورد نظر رسانده شد. در کنار رقت‌های سریالی تهیه شده از دو چاهک برای کنترل مثبت و کنترل منفی استفاده شد. سوسپانسیون سلول‌های مخمری در سرم فیزیولوژی استریل با استفاده از سلول‌های مخمری تازه کشت داده شده در محیط SDA آماده شد و به میزانی از آن برداشت گردید که پس از افزودن آن به چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای حاوی محیط کشت و دارو شمارش نهایی آن در محدوده $۰/۵-۲/۵\times۱۰^{۳}$/ml قرار گیرد. پلیت‌های تلقیح شده به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ °C انکوبه گردیدند و سپس در یک محیط SDA جهت شمارش تعداد کلنی رشد یافته مجددا کشت داده شدند و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ °C انکوبه گردیدند. حداقل غلظت داروی ضد قارچی که به میزان ۹۰٪ مانع از رشد قارچ در مقایسه با چاهک کنترل مثبت شده باشد به عنوان MIC90 تلقی می‌گردد. ملاک حساسیت یا مقاومت برای برخی از داروها توسط CLSI پیشنهاد شده است. برای فلوکونازول MIC≤۸μg/ml به عنوان حساس، MIC:۱۶-۳۲μg/ml به عنوان حساس وابسته به دوز و MIC≥۶۴μg/ml به عنوان مقاوم شناخته می‌شود. در رابطه به کتوکونازول و کلوتریمازول MIC>۰/۱۲۵μg/ml به عنوان حساس شناخته می‌شود. این میزان برای داروهای آمفوتریسین B و نیستاتین و کاسپوفانژین MIC≤۱/۰μg/ml است و MIC>۱/۰μg/ml به عنوان مقاوم شناخته شده است.[۱۷و۱۸]

یافته‌ها

بر اساس جدول ۱ *کاندیدا آلبیکنس* (۵۰/۲٪) و به‌دنبال آن *کاندیدا گلابراتا* (۲۲٪) شایع‌ترین گونه‌های جدا شده از حفره دهانی بیماران آلوده به ویروس HIV بودند. در رابطه با میزان شیوع کاندیدیازیس دهانی و اشکال بالینی مختلف آن در این بیماران در مقاله دیگری به تفصیل پرداخته‌ایم.[۱۹] دویست جدایه کاندیدا از نظر حساسیت به پنج داروی ضد قارچی مورد بررسی قرار گرفتند. جدول ۲ میزان حساسیت گونه‌های کاندیدای مورد بررسی را به داروهای کلوتریمازول، کتوکونازول، کلوتریمازول، آمفوتریسین، نیستاتین و کاسپوفانژین را نشان می‌دهد. بر اساس روش انتشار دیسک از ۱۰۵ جدایه *کاندیدا آلبیکنس* مورد بررسی ۲۵/۷٪ به فلوکونازول مقاومت نشان دادند (MIC≥۶۴μg/ml)، هم‌چنین ۲۱/۹٪ و ۱۶/۴٪ از *کاندیدا آلبیکنس‌های* مورد بررسی به ترتیب به کتوکونازول و کلوتریمازول مقاومت نشان دادند (MIC>۰/۱۲۵μg/ml). مقادیر MIC-۹۰٪ و محدوده MIC به‌دست آمده به‌روش میکرودایلوشن براث برای سایر جدایه‌های کاندیدا مورد بررسی در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول- ۱: فراوانی گونه‌های کاندیدای جدا شده از بیماران آلوده به HIV

گونه‌ها	فراوانی	درصد
ک. آلبیکنس	۱۰۳	۵۰/۲
ک. گلابراتا	۴۵	۲۲
ک.دابلی نینسیس	۹	۴/۴
ک. تروپیکالیس	۷	۳/۴
ک. کفیر	۷	۳/۴
ک. پاراپسلیوزیس	۶	۲/۹
ک. فاماتا	۲	۱/۰
ک. گلیرموندی	۱	۰/۵
ک. کروزه‌ای	۱	۰/۵
ساکارومایسس	۲	۱/۰
تریکوسپورون	۲	۱/۰
سایر مخمرها	۱	۰/۵
گونه‌های کاندیدا	۱۹	۹/۰
مجموع	۲۰۵	۱۰۰

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-01]

جدول- ۲: حساسیت جدایه‌های کاندیدای جدا شده از بیماران آلوده به HIV بر اساس میکرودایلوشن براث و انتشار دیسک

داروهای ضد قارچی	گونه‌های مخمری	میکرودایلوشن براث		انتشار دیسک		
		MIC Rang	MIC_{90} µg/ml	حساس ٪	وابسته به دوز ٪	مقاوم ٪
آمفوتریسین B	*کاندیدا آلبیکنس*	۰/۰۳-۴	۰/۱۲۵	۹۶/۲	۱	۲/۹
	کاندیدا گلابراتا	۰/۰۳-۰/۵	۰/۱۲۵	۹۵/۶	۴/۴	۰
	کاندیدا دابلی نینسیس	۰/۰۶-۰/۵	۰/۱۲۵	۱۰۰	۰	۰
	کاندیدا تروپیکالیس	۰/۰۳-۱	۰/۱۲۵	۹۲/۳	۷/۷	۰
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	۰/۱۲۵-۰/۲۵	۰/۱۲۵	۱۰۰	۰	۰
	کاندیدا کفیر	۰/۰۶-۰/۱۲۵	۰/۱۲۵	۱۰۰	۰	۰
	سایر گونه‌های کاندیدا	۰/۰۶-۱	۰/۱۲۵	۸۵	۱۱/۷	۳/۳
نیستاتین	*کاندیدا آلبیکنس*	۰/۰۶-۱	۰/۱۲۵	۹۸/۱	۱/۹	۰
	کاندیدا گلابراتا	۰/۰۶-۰/۲۵	۰/۱۲۵	۱۰۰	۰	۰
	کاندیدا دابلی نینسیس	۰/۰۶-۰/۲۵	۰/۱۲۵	۱۰۰	۰	۰
	کاندیدا تروپیکالیس	۰/۰۶-۰/۲۵	۰/۱۲۵	۱۰۰	۰	۰
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	۰/۰۶-۰/۱۲۵	۰/۱۲۵	۱۰۰	۰	۰
	کاندیدا کفیر	۰/۰۳-۰/۲۵	۰/۱۲۵	۱۰۰	۰	۰
	سایر گونه‌های کاندیدا	۰/۰۳-۰/۲۵	۰/۱۲۵	۱۰۰	۰	۰
فلوکونازول	*کاندیدا آلبیکنس*	۱-۱۲۸	۸	۵۵/۲	۱۹/۱	۲۵/۷
	کاندیدا گلابراتا	۲-۱۲۸	۱۲۸	۳۷/۹	۴/۴	۵۷/۷
	کاندیدا دابلی نینسیس	۱-۱۲۸	۴	۷۷/۸	۱۱/۱	۱۱/۱
	کاندیدا تروپیکالیس	۲-۱۲۸	۸	۵۶/۲	۱۷/۷	۲۶/۲
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	۱-۱۲۸	۱۶	۶۰	۱۶/۷	۲۳/۳
	کاندیدا کفیر	۲-۱۲۸	۴	۶۷/۱	۰	۳۲/۹
	سایر گونه‌های کاندیدا	۱-۱۲۸	۱۶	۶۴	۲۵/۲	۱۰/۸
کتوکونازول	*کاندیدا آلبیکنس*	۰/۰۶-۸	۰/۱۲۵	۶۳/۳	۱۴/۸	۲۱/۹
	کاندیدا گلابراتا	۰/۰۶-۸	۰/۱۲۵	۵۵/۶	۱۳/۳	۳۱/۱
	کاندیدا دابلی نینسیس	۰/۰۶-۰/۱۲۵	۰/۰۶	۱۰۰	۰	۰
	کاندیدا تروپیکالیس	۰/۰۶-۸	۰/۱۲۵	۵۶/۲	۲۳/۱	۲۰/۸
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	۰/۰۶-۰/۵	۰/۰۶	۷۶/۷	۲۳/۳	۰
	کاندیدا کفیر	۰/۰۶-۴	۰/۱۲۵	۶۷/۱	۰	۳۲/۹
	سایر گونه‌های کاندیدا	۰/۰۶-۴	۰/۰۶	۷۹/۶	۱۰/۲	۱۰/۲
کلوتریمازول	*کاندیدا آلبیکنس*	۰/۰۶-۸	۰/۱۲۵	۷۵/۷	۱۱/۹	۱۶/۴
	کاندیدا گلابراتا	۰/۰۳-۸	۰/۲۵	۶۰	۴/۴	۳۵/۶
	کاندیدا دابلی نینسیس	۰/۱۲۵-۰/۲۵	۰/۰۶	۱۰۰	۰	۰
	کاندیدا تروپیکالیس	۰/۰۶-۴	۰/۰۶	۷۹/۲	۱۵/۴	۵/۴
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	۰/۱۲۵-۱	۰/۱۲۵	۶۰	۲۸/۳	۱۱/۷
	کاندیدا کفیر	۰/۰۶-۸	۰/۱۲۵	۶۷/۱	۰	۳۲/۹
	سایر گونه‌های کاندیدا	۰/۱۲۵-۰/۲۵	۰/۱۲۵	۱۰۰	۰	۰
کاسپوفانژین	*کاندیدا آلبیکنس*	۰/۰۶-۱	۰/۱۲۵	۱۰۰	۰	۰
	کاندیدا گلابراتا	۰/۰۶-۰/۲۵	۰/۱۲۵	۱۰۰	۰	۰
	کاندیدا دابلی نینسیس	۰/۰۶-۰/۲۵	۰/۱۲۵	۱۰۰	۰	۰
	کاندیدا تروپیکالیس	۰/۰۶-۰/۲۵	۰/۱۲۵	۱۰۰	۰	۰
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	۰/۰۶-۰/۱۲۵	۰/۱۲۵	۱۰۰	۰	۰
	کاندیدا کفیر	۰/۰۳-۰/۲۵	۰/۱۲۵	۱۰۰	۰	۰
	سایر گونه‌های کاندیدا	۰/۰۳-۰/۲۵	۰/۱۲۵	۱۰۰	۰	۰

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-01]

مقدار MIC-۹۰٪ داروی فلوکونازول برای *کاندیدا آلبیکنس* ۸µg/ml به‌دست آمده است. این مقدار برای داروی کتوکونازول و کلوتریمازول برابر با ۰/۱۲۵µg/ml می‌باشد. در رابطه با جدایه استاندارد (ATCC 10231) *کاندیدا آلبیکنس* به‌عنوان یک نمونه مقاوم وابسته به دوز داروی آزول نتایج به‌دست آمده با وابسته به دوز بودن آن مطابقت داشت، هم‌چنین جدایه استاندارد Candida dubliniensis (CD36) به عنوان جدایه حساس به داروی آزول نتایج به‌دست آمده با حساس بودن آن مطابق بود. میزان مقاومت *کاندیدا آلبیکنس* به داروهای گروه پلی ان شامل آمفوتریسین و نیستاتین در حد پایینی به‌دست آمد (به ترتیب ۲/۹ و صفر درصد). *کاندیدا گلابراتا* – دومین گونه جدا شده از نظر شیوع در این مطالعه– مقاومت قابل توجهی به داروی فلوکونازول نشان داد به‌طوری که ۵۷/۷٪ از جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* دارای MIC>۱۲۵µg/ml برای این دارو بوده‌اند. هم‌چنین میزان مقاومت به داروهای کتوکونازول و کلوتریمازول به ترتیب ۳۱ و ۳۵ درصد به‌دست آمد (MIC range:۰/۰۶–۸µg/ml). در رابطه با *کاندیدا دابلی نینسیس* میزان حساسیت بالایی نسبت به داروهای گروه آزول به‌دست آمد به‌طوری‌که ۷۷/۸٪ جدایه‌ها نسبت به فلوکونازول حساسیت نشان دادند و ۱۱/۱٪ نیز حساسیت وابسته به دوز داشتند. هم‌چنین ۱۰۰٪ از جدایه‌های *کاندیدا دابلی نینسیس* به کتوکونازول و کلوتریمازول حساسیت نشان دادند. کاندیدا کفیر به‌عنوان یک گونه حساس به داروهای آزول شناخته شده است، در صورتی‌که ۳۲/۹٪ از جدایه‌های به‌دست آمده در این مطالعه به داروهای آزول مقاومت نشان دادند و تمام این جدایه‌های مقاوم از بیماران مبتلا به بیماری عود کننده کاندیدایی به‌دست آمده است. در مجموع میزان مقاومت به داروهای آزول فراگیر است. تفاوت قابل توجهی بین بیمارانی که داروهای آزول دریافت کردند و آن‌دسته که این داروهای را دریافت نمی‌کردند در جداسازی گونه‌های کاندیدای مقاوم به آزول مشاهده گردید (P:۰/۰۲). کلیه جدایه‌های به‌دست آمده گونه‌های کاندیدایی در این مطالعه به داروی نیستاتین، آمفوتریسین B و کاسپوفانژین حساسیت نشان دادند.

بحث

ظهور گونه‌های کاندیدای مقاوم به داروهای ضد قارچی و افزایش بیماران مبتلا به نقایص سیستم ایمنی از مهم‌ترین عوامل یا فاکتورهای دخیل در اپیدمیولوژی بیماری کاندیدیازیس و خصوصا کاندیدیازیس دهانی است. تعیین الگوی حساسیت به داروهای ضد قارچی و شناسایی یا تشخیص ظهور مقاومت از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است زیرا مقاومت به داروها مهم‌ترین معضل بر سر راه درمان این بیماری‌ها است. در مطالعه حاضر دو روش انتشار دیسک و میکروبراث دایلوشن برای ۲۰۰ گونه کاندیدای جدا شده از بیماران آلوده به HIV به‌کار برده شد که ۹۸ گونه آن گونه‌های غیر آلبیکنس بوده‌اند و این مطالعه جدیدترین بررسی انجام شده در راستای تعیین حساسیت دارویی بر روی این بیماران در ایران است. نتایج به‌دست آمده در این مطالعه نشان می‌دهد انواع مختلفی از گونه‌های غیر آلبیکنس شامل *کاندیدا تروپیکالیس*، *کاندیدا پاراپسیلوزیس*، *کاندیدا گیلرموندی* و *کاندیدا گلابراتا* از این بیماران جدا می‌شود. در بین این گونه‌های غیر آلبیکنس کاندیدا دابلی نینسیس با ایجاد بیماری کاندیدیازیس دهانی– حلقی در بیماران HIV مثبت در ارتباط است.[۲۰] مطابق با بسیاری از مطالعات صورت گرفته در سراسر دنیا *کاندیدا آلبیکنس* شایع‌ترین گونه کاندیدا در ایجاد بیماری و شایع‌ترین گونه جدا شده از بیماران HIV است، هرچند میزان جداسازی کاندیدا گلابراتا قابل توجه و دور از انتظار بوده است. بر اساس مطالعات صورت گرفته در سایر کشورها *کاندیدا گلابراتا* به عنوان اولین یا دومین گونه شایع غیر آلبیکنس در بیماران مبتلا به HIV گزارش شده است.[۲۱-۲۳] ذکر این نکته ضروری به‌نظر می‌رسد که کلونیزاسیون با *کاندیدا گلابراتا* پس از درمان با فلوکونازول افزایش می‌یابد.[۲۴] در رابطه با آزمایشات تعیین حساسیت به داروهای ضد قارچی از دو روش مورد تایید CLSI استفاده شده است که البته در رابطه با مزایا و معایب و نکات تکنیکی این روش‌ها بحث بسیار است و مجال آن نیست. به‌طور معمول مقاومت به داروی آمفوتریسین B در بین گونه‌های کاندیدا درصد کمی را شامل می‌شود[۲۵] و در مطالعه حاضر حساسیت به داروی آمفوتریسین B و نیستاتین که از داروهای خانواده پلی انها داروی کاسپوفانژین از خانواده اکینوکاندین‌ها قابل توجه بود، هر چند در موارد اندکی نیز نسبت به داروی آمفوتریسین در بین گونه‌های کاندیدا مقاومت مشاهده گردید (کم‌تر از ۳٪). این یافته مطابق با سایر مطالعات انجام گرفته است نشان می‌دهد میزان مقاومت به این دارو پایین است، هر چند Badiee در بیماران نقص ایمنی میزان

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-01]

مقاومت به دارو را در *کاندیدا آلبیکنس* در حدود ۷٪ گزارش نموده و در برخی مطالعات دیگر این میزان تا حدود ۸٪ بوده است.[۲۲و۲۶-۲۸] علی‌رغم سایر مطالعات انجام شده، با وجود آن‌که در بیماران مورد بررسی در این مطالعه تجویز نیستاتین رایج بوده است اما هیچ مقاومتی به این دارو دیده نشد و نشان می‌دهد این دارو هم‌چنان به عنوان یک داروی موثر برای پیشگیری از کاندیدیازیس دهانی مناسب است. هرچند که مصرف موضعی و فقدان جذب سیستمیک در مورد این دارو از دلایل عدم کاربرد آن برای بیماری سیستمیک و کاندیدیازیس مری است. مقاومت به داروی فلوکونازول در اثر استفاده طولانی مدت از این دارو توسط سایر محققین به اثبات رسیده است.[۲۹] بنابراین این‌که فلوکونازول داروی کاملا موثری در برابر گونه‌های کاندیدا و به‌طور خاص *کاندیدا آلبیکنس* (به‌عنوان شایع‌ترین گونه در ایجاد بیماری‌های کاندیدایی) نباشد دور از ذهن نیست، به‌طوری‌که در حدود ۲۵٪ از جدایه‌های *کاندیدا آلبیکنس* مقاومت به فلوکونازول را نشان دادند. یافته اخیر تا حدودی از نظر درجه و میزان مقاومت به این دارو با سایر گزارشات ارایه شده متفاوت است. هرچند در بسیاری از مطالعات مقاومت به این دارو گزارش شده است اما درصد مقاومت نسبت به این مطالعه کم‌تر بوده است.[۲۹-۳۲] احتمال می‌رود با توجه به این‌که جمعیت مورد بررسی بیماران مبتلا به ویروس نقص سیستم ایمنی بوده است و این بیماران در بیش‌تر موارد سابقه درمان‌های قبلی و مداوم را داشته‌اند، میزان مقاومت در آن‌ها بیش‌تر بوده است. با توجه به آزمایشات انجام شده در این مطالعه میزان حساسیت در بین گونه‌های کاندیدا به‌ترتیب زیر است:

C. dubliniensis> C. kefyr > C. parapsilosis > C. tropicalis > C. albicans > C. Krusei > C.glabrata.

متاسفانه به‌دلیل در دسترس نبودن داروی جدید ضد قارچی و یا در پاره‌ای موارد گرانی برخی داروها بیماران راهی جز مصرف داروی فلوکونازول را ندارند. به‌نظر می‌رسد پزشکان می‌بایست توجه و تمایل به تجویز داروهای جدید داشته باشند و ارگان‌های ذیربط به‌نحوی باید شرایط واردات یا تولید داروهای جدید را مهیا کنند. در مقایسه با روش میکرودایلوشن، در روش انتشار دیسک نیز نتایج قابل قبولی به‌دست آمد و اختلاف معنی‌داری بین این دو روش دیده نشد. به‌نظر می‌رسد استفاده از روش‌های تعیین حساسیت به داروهای ضد قارچی نیز به‌راحتی با استفاده از روش انتشار دیسک در آزمایشگاه‌های روتین قابل انجام باشد و به‌نحوی باید در دستور کار قرار گیرد. به‌طور خلاصه، در این تحقیق الگوی حساسیت به داروهای ضد قارچی گونه‌های کاندیدا به‌دست آمده از بیماران آلوده به HIV مراجعه کننده به مرکز تحقیقات ایدز ایران واقع در بیمارستان امام‌خمینی تهران بررسی شد. درصد بالای جداسازی گونه‌های کاندیدای غیر آلبیکنس زنگ خطر تغییر در اپیدمیولوژی کاندیدیازیس دهانی را در بیماران ایرانی در آورده است. بر اساس نتایج به‌دست آمده، نویسندگان این مقاله بررسی و ردیابی جدایه‌های کاندیدای مقاوم به دارو را با روش انتشار دیسک و رقت‌سازی مایع در آزمایشگاه‌های بالینی برای ارایه خدمات بهتر به بیماران مبتلا توصیه می‌کنند. با وجود آن‌که نیستاتین به‌طور گسترده در این بیماران مورد مصرف بوده است و مقاومتی در برابر این دارو دیده نشد تجویز این دارو برای پیشگیری از بیماری کاندیدیازیس دهانی توصیه می‌شود. از طرفی میزان بالای مقاومت به داروهای آزول، خصوصا فلوکونازول ما را در استفاده از این دارو به عنوان داروی پیشگیری کننده از بیماری دهانی کاندیدا با تردید مواجه می‌کند.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه تحت عنوان "تعیین ژنوتایپ و الگوی حساسیت گونه‌های کاندیدای جدا شده از بیماران آلوده به ویروس HIV مبتلا به کاندیدیازیس دهانی در ایران"، در مقطع دکترای تخصصی در سال ۱۳۸۸ به کد ۳۸۰ می‌باشد که با حمایت دانشگاه تهران انجام شده است. نویسندگان مقاله از کلیه همکارانی که در این تحقیق ما را یاری نمودند، تقدیر و تشکر می‌نمایند و بر سفید جامگان علوم آزمایشگاهی و پرستاری درود می‌فرستند.

References

1. Pelletier R, Peter J, Antin C, Gonzalez C, Wood L, Walsh TJ. Emergence of resistance of Candida albicans to clotrimazole in human immunodeficiency virus-infected children: in vitro and clinical correlations. *J Clin Microbiol* 2000;38(4):1563-8.

2. M. Bharathi and A. Usha Rani. Pathogenic fungal isolates in sputum of HIV positive patients. Journal of AIDS and HIV Research, June 2011, Vol. 3(6), pp. 107-113.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-01]

3. Morgan J. Global trends in candidemia: review of reports from 1995-2005. *Curr Infect Dis Rep* 2005;7(6):429-39.
4. Jabra-Rizk MA, Falkler WA, Meiller TF. Fungal biofilms and drug resistance. *Emerg Infect Dis* 2004;10(1):14-9.
5. White TC, Holleman S, Dy F, Mirels LF, Stevens DA. Resistance mechanisms in clinical isolates of Candida albicans. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46(6):1704-13.
6. Espinel-Ingroff A, Barchiesi F, Hazen KC, Martinez-Suarez JV, Scalise G. Standardization of antifungal susceptibility testing and clinical relevance. *Med Mycol* 1998;36 Suppl 1:68-78. Erratum in: *Med Mycol* 1999;37(2):147.
7. Pfaller MA, Dupont B, Kobayashi GS, Müller J, Rinaldi MG, Espinel-Ingroff A, et al. Standardized susceptibility testing of fluconazole: an international collaborative study. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36(9):1805-9.
8. Barry AL, Brown SD. Fluconazole disk diffusion procedure for determining susceptibility of Candida species. *J Clin Microbiol* 1996;34(9):2154-7.
9. Pfaller MA, Diekema DJ, Boyken L, Messer SA, Tendolkar S, Hollis RJ. Evaluation of the Etest and disk diffusion methods for determining susceptibilities of 235 bloodstream isolates of Candida glabrata to fluconazole and voriconazole. *J Clin Microbiol* 2003;41(5):1875-80.
10. P. Saravana Bhavan, Culture and Identification of *Candida Albicans* from Vaginal Ulcer and Separation of Enolase on SDS-PAGE, *International Journal of Biology* 2010, Vol 2 No10 p: 84-93
11. Odds FC, Bernaerts R. CHROMagar Candida, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important Candida species. *J Clin Microbiol* 1994;32:1923-9.
12. Sanguinetti M, Porta R, Sali M, La Sorda M, Pecorini G, Fadda G, et al. Evaluation of VITEK 2 and RapID yeast plus systems for yeast species identification: experience at a large clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol* 2007;45(4):1343-6.
13. Odds FC, Davidson A. "Room temperature" use of CHROMagar Candida. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000;38(3):147-50.
14. Wayne P. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts: approved guideline M44-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2004
15. Hazen KC, Baron EJ, Colombo AL, Girmenia C, Sanchez-Sousa A, del Palacio A, et al. Comparison of the susceptibilities of Candida spp. to fluconazole and voriconazole in a 4-year global evaluation using disk diffusion. *J Clin Microbiol* 2003;41(12):5623-32.
16. Wayne P. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution testing of yeasts. Approved standard. 2nd ed. M27-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002
17. Rex JH, Pfaller MA, Galgiani JN, Bartlett MS, Espinel-Ingroff A, Ghannoum MA, et al. Development of interpretive breakpoints for antifungal susceptibility testing: conceptual framework and analysis of in vitro-in vivo correlation data for fluconazole, itraconazole, and candida infections. Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing of the National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Clin Infect Dis* 1997;24(2):235-47.
18. Matar MJ, Ostrosky-Zeichner L, Paetznick VL, Rodriguez JR, Chen E, Rex JH. Correlation between E-test, disk diffusion, and microdilution methods for antifungal susceptibility testing of fluconazole and voriconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(5):1647-51.
19. Katiraee F, Khosravi AR, Khalaj V, Hajiabdolbaghi M, Khaksar AA, Rasoulinjad M. Oral candidiasis in Human Immunodeficiency Virus (HIV) infected individuals in Iran. *Tehran Univ Med J (TUMJ)*;68(1):37-44.
20. Repentigny LD, Lewandowski D, Jolicoeur P. Immunopathogenesis of oropharyngeal candidiasis in human immunodeficiency virus infection. *Clin Microbiol Rev* 2004;17(4):729-59.
21. Blignaut E, Messer S, Hollis RJ, Pfaller MA. Antifungal susceptibility of South African oral yeast isolates from HIV/AIDS patients and healthy individuals. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002;44(2):169-74.
22. Enwuru CA, Ogunledun A, Idika N, Enwuru NV, Ogbonna F, Aniedobe M, et al. Fluconazole resistant opportunistic oro-pharyngeal Candida and non-Candida yeast-like isolates from HIV infected patients attending ARV clinics in Lagos, Nigeria. *Afr Health Sci* 2008;8(3):142-8.
23. Lyon JP, Moreira LM, Cardoso MAG, Saade J, Resende MA. Antifungal susceptibility profile of Candida spp. oral isolates obtained from denture wearers. *Brazil J Microbiol* 2008;39:668-72.
24. Sobel JD, Ohmit SE, Schuman P, Klein RS, Mayer K, Duerr A, et al. The evolution of Candida species and fluconazole susceptibility among oral and vaginal isolates recovered from human immunodeficiency virus (HIV)-seropositive and at-risk HIV-seronegative women. *J Infect Dis* 2001;183(2):286-93.
25. Ruhnke M, Eigler A, Tennagen I, Geiseler B, Engelmann E, Trautmann M. Emergence of fluconazole-resistant strains of Candida albicans in patients with recurrent oropharyngeal candidosis and human immunodeficiency virus infection. *J Clin Microbiol* 1994;32(9):2092-8.
26. Mokaddas EM, Al-Sweih NA, Khan ZU. Species distribution and antifungal susceptibility of Candida bloodstream isolates in Kuwait: a 10-year study. *J Med Microbiol* 2007;56(Pt 2):255-9.
27. Powderly WG, Kobayashi GS, Herzig GP, Medoff G. Amphotericin B-resistant yeast infection in severely immunocompromised patients. *Am J Med* 1988;84(5):826-32.
28. Badiee P, Alborzi A, Shakiba E, Ziyaeyan M, Rasuli M. Molecular identification and in-vitro susceptibility of Candida albicans and C. dubliniensis isolated from immunocompromised patients. *Iran Red Crescent Med J* 2009;11(4):391-7.
29. Lewis RE, Klepser ME, Pfaller MA. Update on clinical antifungal susceptibility testing for Candida species. *Pharmacotherapy* 1998;18(3):509-15.
30. Haberland-Carrodeguas C, Allen CM, Beck FM, Buesching WJ, Koletar SL, Sundstrom P. Prevalence of fluconazole-resistant strains of Candida albicans in otherwise healthy outpatients. *J Oral Pathol Med* 2002;31(2):99-105.
31. Rubio Calvo MC, Gil J, Ramírez de Ocáriz I, Benito R, Rezusta A. In vitro activity of fluconazole, voriconazole and posaconazole against Candida spp. *Rev Esp Quimioter* 2003;16(2):227-32.
32. Bailey DA, Feldmann PJ, Bovey M, Gow NA, Brown AJ. The Candida albicans HYR1 gene, which is activated in response to hyphal development, belongs to a gene family encoding yeast cell wall proteins. *J Bacteriol* 1996;178(18):5353-60.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-01]

Tehran University Medical Journal; Vol. 70, No. 2, May 2012: 96-103

In vitro antifungal susceptibility of oral candida species from Iranian HIV infected patients

Farzad Katiraee Ph.D.[1*]
Ali Reza Khosravi Ph.D.[2]
Vahid Khalaj Ph.D.[3]
Mahbobeh Hajiabdolbaghi M.D.[4]
Ali Asghar Khaksar D.V.M.[3]
Mehrnaz Rasoulinejad M.D.[4]

1- Mycology Research Center, Faculty of Veterinary Medicine, Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.
2- Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Iran.
3- Biotechnology Research Center, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran.
4- IRCHA, Imam Khomeini Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[*] Corresponding author: Mycology Research Center, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Sarv Sq., Before Shahrvand Shop, Tehran, Iran.
Tel: +98- 912- 6047311
E-mail: katiraee_f@yahoo.com

Received: December 08, 2011 Accepted: January 21, 2012

Abstract

***Background*:** Oropharyngeal candidiasis and antifungal drug resistance are major problems in HIV positive patients. The increased reports of antifungal resistance and expanding therapeutic options prompted the determination of antifungal susceptibility profile of Candida species isolates in Iranian patients living with HIV/AIDS (PLWHA) in the present study.

***Methods*:** One hundred fifty oral samples from Iranian HIV positive patients were obtained and cultured on CHROMagar and Sabouraud's dextrose agar. All isolates were identified according to assimilation profile, germ tube, colony color and other conventional methods. Disk diffusion testing and Broth Microdilution of six antifungal agents were performed according to the methods described in CLSI.

***Results*:** Candida albicans (50.2%) was the most frequent isolated yeast, followed by C. glabrata (22%). Non-Candida albicans species were isolated from 71 (61%) positive cultures. 25.7% of Candida albicans isolates were resistant to fluconazole (MIC≥64 µg/ml) as were 21.9% and 16.4% to ketoconazole and clotrimazole (MIC>0.125 µg/ml), respectively. Resistance to polyene antifungals including amphotericin B and nystatin, and caspofungin were scarce. 57.7% of candida glabrata isolates were resistant to fluconazole, 31% to ketoconazole and 35% to clotrimazole.

Conclusion: Screening for antifungal resistant candida isolates by disk diffusion or broth dilution methods in clinical laboratories is an ideal surveillance measure in the management of oral thrush in patients with HIV/AIDS. Although nystatin is widely used in clinical practice for HIV positive patients, there was no evidence of enhanced resistance to it. Regarding no resistance to caspofungin, its administration is suggested.

Keywords: Antifungal drug resistance, azoles, candida species, HIV infections, oral candidiasis, patients.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-01]