

بررسی حساسیت دارویی گونه‌های اسپرژیلوس جدا شده از مبتلایان به اتومایکوزیس در شرایط آزمایشگاهی

غلامعباس سبزی^۱، مارال قرقانی^۲، بنفشه عباسی^۳، صادق نوری پور سی سخت^۴

^۱ گروه گوش، حلق و بینی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، ^۲ مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، ^۳ مرکز تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، ^۴ گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران
تاریخ وصول: ۱۴۰۰/۰۵/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۲۲

چکیده

زمینه و هدف: اتومایکوزیس، عفونت قارچی حاد، تحت حاد و مزمن کانال شنوایی خارجی گوش است، شایع‌ترین قارچ‌های شناخته شده ایجاد کننده اتومایکوزیس گونه‌های *آسپرژیلوس* و *کاندیدا* هستند. میزان بروز و گزارش مقاومت به داروهای ضد قارچی در قارچ‌های جنس *آسپرژیلوس* و *کاندیدا* با افزایش استفاده طولانی مدت از داروهای ضد قارچ، دسترسی به تست‌های حساسیتی تشخیصی استاندارد افزایش یافته است. لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی حساسیت دارویی گونه‌های *آسپرژیلوس* جدا شده از مبتلایان به اتومایکوزیس مراجعه کننده به کلینیک شهید مفتاح شهر یاسوج در شرایط آزمایشگاهی بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۷ انجام شد، ۱۶۰ ایزوله‌ی بالینی *آسپرژیلوس*، شامل ۶۰ سویه *آسپرژیلوس فلاووس*، ۵۳ سویه *آسپرژیلوس توبینجنسیس*، ۴۳ سویه *آسپرژیلوس نایجر*، ۳ سویه *آسپرژیلوس ترئوس* و ۱ سویه *آسپرژیلوس فومیگاتوس*، جدا شده از بیماران مبتلا به اتومایکوزیس روی محیط PDA کشت داده شد و میزان حساسیت دارویی برای آمفوتریسین ب، ایتراکونازول، وریکونازول و کلوتریمازول بر اساس دستورالعمل CLSI M38A2 تعیین شد. بر این اساس با استفاده از روش برات میکروبدایلوشن رقت‌های دارویی مختلف تهیه و به سوسپانسیون‌های استاندارد قارچی تهیه شده اضافه گردید. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار اکسل تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: MIC₉₀ و MIC₅₀ داروهای آمفوتریسین ب، ایتراکونازول، وریکونازول و کلوتریمازول به ترتیب برای سویه‌های *آسپرژیلوس فلاووس* (۱ و ۲، ۰/۰۱۵۶ و ۰/۰۶۲۵، ۰/۱۲۵ و ۰/۲۵، ۰/۲۵ و ۱)، *آسپرژیلوس نایجر* (۲ و ۴، ۰/۰۶۲۵ و ۰/۲۵، ۰/۲۵ و ۱) و *آسپرژیلوس توبینجنسیس* (۲ و ۴، ۰/۱۲۵ و ۰/۵، ۰/۲۵ و ۱) میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده است. تمام سویه‌های *آسپرژیلوس* به ایتراکونازول و وریکونازول حساس بودند.

نتیجه‌گیری: اطلاعات آزمایشگاهی به دست آمده از این تحقیق نشان داد که ایتراکونازول بهترین اثر ضدقارچ علیه سویه‌های *آسپرژیلوس* را دارد و پس از آن به ترتیب وریکونازول، کلوتریمازول و آمفوتریسین قرار دارند. به نظر می‌رسد ایتراکونازول و وریکونازول داروهای مناسبی در درمان عفونت‌های مرتبط با گونه‌های *آسپرژیلوس* جدا شده از اتومایکوزیس هستند.

واژه‌های کلیدی: اتومایکوزیس، *آسپرژیلوس*، حساسیت به داروهای ضد قارچی

* نویسنده مسئول: صادق نوری پور سی سخت، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، گروه میکروبیولوژی

Email: nooripoor8561@gmail.com

مقدمه

ایتراکونازول (ITC)^(۱)، وریکونازول (VOR)^(۲)، داروهای پلی‌ان مثل آمفوتریسین ب (AMP)^(۳) و داروهای اکینوکاندین مثل کاسپوفونژین برای درمان اتومایکوزیس مؤثر هستند (۴-۲). کلوتریمازول به عنوان درمان تک دارویی بهترین اثربخشی را در درمان اتومایکوزیس داشته است (۱۱).^(۱)

میزان بروز و گزارش مقاومت‌ها به داروهای ضدقارچی در گونه‌های جنس *آسپرژیلوس* و *کاندیدا* با افزایش استفاده از این داروها و دسترسی به تست‌های حساسیتی تشخیصی افزایش یافته است (۱۲). در بین مراجعه‌کننده‌های به کلینیک گوش، حلق و بینی در شهر یاسوج شاهد بروز بیماری اتومایکوزیس با عامل قارچی جنس *آسپرژیلوس* بوده (۱۳) و با توجه به این که تاکنون در خصوص حساسیت دارویی ایزوله‌های بالینی جنس *آسپرژیلوس* در شهر یاسوج بررسی انجام نشده است؛ هدف از این مطالعه ارزیابی حساسیت دارویی (حساس، نیمه‌حساس و مقاوم) ایزوله‌های بالینی *آسپرژیلوس* جدا شده از مبتلایان به اتومایکوزیس حاد و مزمن مراجعه‌کننده به کلینیک شهید مفتح شهر یاسوج نسبت به داروهای ضدقارچی کلوتریمازول، آمفوتریسین ب، ایتراکونازول و وریکونازول در شرایط درون آزمایشگاهی است.

عفونت گوش خارجی، عفونت مزمن سطحی کانال گوش خارجی است که دارای انتشار جهانی بوده و تخمین زده می‌شود شیوعی برابر با ۱۳-۱ درصد دارد (۱). در مناطق معتدل، اتومایکوزیس اغلب در ماه‌های تابستان دیده می‌شود، اتومایکوزیس در بزرگسالان در همه سنین و در هر دو جنس رخ می‌دهد، ولی کودکان کمتر دچار می‌شوند (۲). بیشترین میزان بروز اتومایکوزیس در سن ۲۱ تا ۳۰ سالگی و کمترین میزان بروز آن در سنین زیر ۱۰ سال و بالای ۶۰ سال است (۳). به نظر می‌رسد شیوع بیماری تحت تأثیر عوامل مستعد کننده متعددی از قبیل: آب و هوا (محیط بسیار گرم و مرطوب)، عفونت باکتریایی کانال خارجی گوش، شنا، درماتومایکوزیس (عفونت قارچی پوست)، قرار دادن اشیاء خارجی در گوش، سیستم ایمنی ضعیف و افزایش استفاده از داروهای موضعی و استروئیدها بوده است (۴-۶). عوامل قارچی مختلفی به عنوان علت‌های این بیماری معرفی شده‌اند که گونه‌های مختلف *آسپرژیلوس* شایع‌ترین این عوامل هستند (۷-۹). درمان‌های توصیه شده جهت اتومایکوزیس شامل شستشوی موضعی گوش، عوامل خشک‌کننده موضعی، داروهای ضدالتهاب، ساکشن، قطع آنتی‌بیوتیک موضعی، استفاده از عوامل ضدقارچی موضعی و سیستمیک است (۱۰ و ۱۱).

انواع آنزول‌ها مانند کلوتریمازول (CLT)^(۱)،

فلوکونازول، کتوکونازول، میکونازول و هم‌چنین

1-Clotrimazole
2-Itraconazole
3-Voriconazole
4-Amphotericin B

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۷ انجام شد، ۱۶۰ ایزوله آسپرژیلوس جدا شده از مبتلایان به اتومایکوزیس حاد و مزمن که در پژوهش مطالعات قبلی جداسازی و به روش واکنش زنجیره ای پلی مران و تعیین توالی شناسایی شده بودند، مورد استفاده قرار گرفتند. تمامی ایزوله ها در تیوب های حاوی آب مقطر استریل نگهداری شده بودند و برای آماده سازی نمونه ها، تمامی ایزوله ها بر روی محیط پتیتو دکستروز آگار (PDA)^(۱) کشت شدند.

در این مطالعه از روش استاندارد براث میکرودابیلوشن بر اساس دستورالعمل CLSI M38A2 جهت بررسی و ارزیابی حساسیت هر یک از سویه های بالینی آسپرژیلوس جدا شده از مبتلایان به اتومایکوزیس در مقابل داروهای ضدقارچی کلوتریمازول، وریکونازول، آمفوتریسین ب و ایتراکونازول استفاده شد.

مطابق دستورالعمل CLSI سویه های آسپرژیلوس بر روی محیط PDA کشت داده شده و به مدت ۷- روز در انکوباتور در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. در مرحله بعد با استفاده از آب مقطر استریل حاوی توئین، از هر ایزوله آسپرژیلوس سوسپانسیون اسپور تهیه گردید. سوسپانسیون به دست آمده، سه مرتبه و هر بار به مدت ۱۵ تا ۳۰ ثانیه به وسیله ورتکس همگن و سپس به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر میزان انتقال نور^(۲) خوانش و مطابق دستورالعمل برابر با استاندارد نیم مک فارلند $10^6 \times 0.01$ تعداد کلنی تشکیل شده به ازای هر میلی لیتر

تنظیم شد. در مرحله آخر سوسپانسیون استاندارد خوانش شده با محیط کشت RPMI 1640 به نسبت ۱ به ۵۰ رقیق گردید.^۲

به منظور تعیین حساسیت نسبت به داروهای ضدقارچی رقت های سریال برای هر دارو شامل ۳۲ میکروگرم بر میلی لیتر برای آمفوتریسین ب، ایتراکونازول و وریکونازول و ۱۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر برای کلوتریمازول با استفاده از محیط کشت RPMI 1640 تهیه گردید. سپس به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از هر کدام از غلظت ها به ترتیب درون چاهک هر کدام از میکروپلیت های ۹۶ خانه ای ریخته شد و در پایان مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون قارچی رقیق شده که در مرحله قبل تهیه شده بود به آن اضافه گردید. در هر پلیت کنترل مثبت شامل سوسپانسیون قارچی بدون دارو به همراه RPMI 1640 و کنترل منفی شامل دارو بدون سوسپانسیون قارچی جهت کنترل صحت تست قرار داده شد. تمامی پلیت ها در ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸- ۲۴ ساعت انکوبه شدند.

در این مطالعه حداقل غلظت مهار کننده محاسبه شد. سپس حداقل غلظت مهار کننده ۵۰ درصد و ۹۰ درصد یا کمترین غلظت مانع کنندگی رشد به ترتیب ۵۰ و ۹۰ درصد ایزوله ها برای هر دارو به تفکیک گونه محاسبه شد. همچنین بر اساس نقطه شکست تعریف شده در دستورالعمل CLSI میزان مقاومت برای هر ایزوله نسبت به داروهای مورد بررسی تعیین گردید. از آن جا که در برخی از

1-Potato Dextrose Agar(PDA)
2-Transmitant

تمامی گونه‌های آسپرژیلوس، آسپرژیلوس توینجنسیس، بالاترین فراوانی (۸۱/۲ درصد) را ایزوله‌های Non-wild type نسبت به داروی آمفوتریسین ب داشته‌اند. در مقایسه با داروی آمفوتریسین ب، داروهای ایتراکونازول، وری کونازول و کلوتریمازول دارای محدوده و میزان MIC کمتری علیه کلیه ایزوله‌های آسپرژیلوس داشتند. نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که داروی وریکونازول دارای کمترین دامنه حداقل غلظت مهارتی^(۱) (۰/۰۱۵۶-۰/۰۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در بین ایزوله‌های آسپرژیلوس بوده است. این در حالی است که از میان داروهای خانواده آزول کلوتریمازول بالاترین دامنه حداقل غلظت مهارتی (۰/۰۳۱۲-۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر) را داشته است.

ایزوله‌ها نقطه شکست تعریف نشده است، از Epidemiological cutoff value (ECV) برای تعیین ایزوله wild type استفاده گردید (۱۳) (جدول ۱).

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۶ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

حساسیت دارویی ایزوله‌های آسپرژیلوس نسبت به ۴ داروی مورد بررسی در جدول ۲ نشان داده شده است. در این مطالعه محدوده‌ی گسترده و همین‌طور میزان MIC بالا از کلیه ایزوله‌های نسبت به داروی آمفوتریسین ب را شاهد بودیم و در مجموع تعدادی (۴۳ درصد) از ایزوله‌ها از گونه‌های مختلف نسبت به این دارو مقاوم بودند. هم‌چنین از میان

جدول ۱: ECV تعریف شده بر اساس دستورالعمل CLSI M59 برای ایزوله‌های آسپرژیلوس^۳

داروی ضد قارچی	گونه آسپرژیلوس	ECV% (میکروگرم بر میلی لیتر)
آمفوتریسین ب	آسپرژیلوس فلاووس	۴
	آ. فومیگاتوس	۲
	آ. نایجر	۲
	آ. ترئوس	۴
ایتراکونازول	آ. فلاووس	۱
	آ. فومیگاتوس	۱
	آ. نایجر	۴
	آ. ترئوس	۲
وریکونازول	آ. فلاووس	۲
	آ. فومیگاتوس	۱
	آ. نایجر	۲
	آ. ترئوس	۲

1-Minimum Inhibitory Concentration(MIC)

جدول ۲: نتایج حساسیت به داروهای ضد قارچی بر علیه سویه‌های اسپرژیلوس جدا شده از بیماران اتومایکوزیس

ECV	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC _{GM}	دامنه حداقل غلظت مهاري (میکروگرم بر میلی لیتر)	داروی ضد قارچی	گونه اسپرژیلوس
۱۰۰	/۰.۶۲۵	/۰.۱۵۶	-/۰.۳	۰/۵ - -/۰.۱۵۶	ایتراکونازول	آسپرژیلوس فلاووس (۶۰)
۱۰۰	-/۲۵	-/۱۲۵	-/۱۲	۰/۵ - -/۰.۳۱۲	وری کونازول	
ND	۱	-/۲۵	-/۲۴	۲ - -/۰.۳۱۲	کلوتریمازول	
۹۶/۶	۲	۱	۱/۱	۴ - -/۰.۶۲۵	آمفوتریسین ب	آسپرژیلوس توبینجنسیس (۵۳)
۱۰۰	/۵	/۱۲۵	-/۱۴	۱ - -/۰.۱۵۶	ایتراکونازول	
۱۰۰	-/۲۵	-/۲۵	/۱۸	۰/۵ - -/۰.۶۲۵	وری کونازول	
ND	۱	۱	-/۷۷	۲ - -/۱۲۵	کلوتریمازول	آسپرژیلوس نیچر (۴۳)
۱۸/۸	۴	۲	۲/۵	۴ - -/۱۲۵	آمفوتریسین ب	
۱۰۰	-/۲۵	/۰.۶۲۵	-/۰.۷	۱ - -/۰.۱۵۶	ایتراکونازول	
۱۰۰	-/۲۵	-/۱۲۵	-/۱۲	۰/۲۵ - -/۰.۱۵۶	وری کونازول	آسپرژیلوس ترئوس (۳)
ND	۱	/۵	-/۶	۲ - -/۰.۶۲۵	کلوتریمازول	
۲۳/۲۵	۴	۲	۱/۸	۴ - -/۱۲۵	آمفوتریسین ب	
۱۰۰				۰/۰.۶۲۵ - -/۰.۱۵۶	ایتراکونازول	آسپرژیلوس فومیگتوس (۱)
۱۰۰				-/۲۵	وری کونازول	
ND				۲ - -/۱۲۵	کلوتریمازول	
۱۰۰				۲ - ۱	آمفوتریسین ب	آسپرژیلوس فومیگتوس (۱)
۱۰۰				۰/۰.۶۲۵	ایتراکونازول	
۱۰۰				۰/۰.۳۱۲	وری کونازول	
ND				۲	کلوتریمازول	جمع کل
.				۲	آمفوتریسین ب	
۱۰۰	-/۲۵	-/۰.۶۲۵	-/۰.۹۸	۱ - -/۰.۱۵۶	ایتراکونازول	
۱۰۰	-/۲۵	-/۱۲۵	-/۱۳۶	۰/۵ - -/۰.۱۵۶	وری کونازول	جمع کل
ND	۱/۶	-/۵	-/۴۵	۲ - -/۰.۳۱۲	کلوتریمازول	
	۴		۱/۵	۴ - -/۰.۶۲۵	آمفوتریسین ب	

بحث

باشد، لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی حساسیت دارویی گونه‌های اسپرژیلوس جدا شده از مبتلایان به اتومایکوزیس مراجعه کننده به کلینیک شهید مفتح شهر یاسوج در شرایط آزمایشگاهی بود. در مطالعه حاضر تمامی ایزوله‌های اسپرژیلوس نسبت به داروی ایتراکونازول و وریکونازول بنابر ECV تعریفی شده در رده Wild-type قرار داشتند. حسین‌نژاد و همکاران نیز تمامی ایزوله‌های اسپرژیلوس فلاووس با منشأ بالینی و محیطی را حساس به وریکونازول گزارش کرده و تنها

گونه‌های مختلف اسپرژیلوس عامل اشکال مختلفی از بیماری‌های قارچی سطحی، آلرژیک و سیستمیک هستند. از این میان، اتومایکوزیس یکی از بیماری‌های شایع قارچی است که گونه‌های اسپرژیلوس از جمله اسپرژیلوس نایجر به عنوان شایع‌ترین عوامل آن مطرح هستند. مدیریت درمانی موفقیت‌آمیز و استفاده از درمان‌های به روز و کارآمد همراه با شناسایی دقیق ایزوله‌های مسبب بیماری می‌تواند در جلوگیری از عود بیماری کمک کننده

دامنه MIC به دست از ۱۲۴ آسپرژیلوس کمپلکس نایجر را در داروی فوق‌الذکر برابر با ۱۶ - ۰/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر عنوان کرده‌اند (۱۶).

به طور کلی به علت سمیت بالا، عوارض جانبی متعدد و تداخلات دارویی ایجاد شده به وسیله داروهای تری‌آوزل کلوتریمازول به عنوان درمان تک دارویی، بهترین اثربخشی را در درمان اتومایکوزیس داشته است (۱۱). در این مطالعه تمام سویه‌ها نسبت به کلوتریمازول دارای MIC_{GM} برابر با ۰/۴۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و دامنه MIC برابر با ۲ - ۰/۰۳۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر داشته‌اند. نتایج حاصل با مطالعه نعمتی و همکاران که سویه‌های آسپرژیلوس نایجر را نسبت به کلوتریمازول ۲ - ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کرده‌اند تا حدودی همخوانی دارد (۴). با این حال مطالعه حسین و همکاران میزان MIC ایزوله آسپرژیلوس نایجر را برای داروی کلوتریمازول برابر با ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش کرده است. به نظر می‌رسد تفاوت در میزان MIC در مطالعه حاضر با مطالعه حسین و همکاران به نوع روش تعیین حساسیت دارویی بر می‌گردد که در مطالعه حاضر برات میکرودایلوشن و در مطالعه حسین و همکاران دیسک دیفیوژن بوده است.

آمفوتریسین ب به طور معمول طی سالیانتمادی به عنوان درمان انتخابی برای آسپرژیلوزیس مهاجم مورد استفاده بوده است و هم اکنون نیز یکی از داروهای انتخابی است. با وجود فعالیت ضدقارچی این دارو در شرایط آزمایشگاهی در مقابل سویه‌های

در دو ایزوله MIC بالاتر از ECV داشته‌اند. به طور کلی مقایسه MIC_{GM}، MIC₉₀ و MIC₅₀ به دست آمده برای دو داروی فوق‌الذکر با سایر پژوهش‌های انجام شده در ایزوله‌های آسپرژیلوس در سراسر جهان همخوانی دارد (۱۷-۱۵). با این حال، نتایج مطالعه حاضر با مطالعه چوکری و همکاران که حساسیت ایزوله بالینی آسپرژیلوس فومیگاتوس را نسبت به داروی ایتراکونازول ۸ > میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای داروی وریکونازول ۴ > میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کرده است، مغایرت دارد (۱۴). همچنین، کیا و همکاران نیز مقاومت نسبت به داروی ایتراکونازول را در ۱۰۰ و ۵۰ درصد از ایزوله‌های آسپرژیلوس فومیگاتوس و آسپرژیلوس نایجر جدا شده از نمونه اتومایکوزیس گزارش کردند (۲). همچنین این محقق MIC₉₀ ایزوله‌های آسپرژیلوس را برای داروی ایتراکونازول برابر با ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کرده است. وجود تفاوت در حساسیت نسبت به داروی ایتراکونازول در ایزوله‌های مورد بررسی در این مطالعه با بررسی کیا و همکاران می‌تواند بیانگر این مطلب باشد که در مناطق جغرافیایی مختلف ایزوله‌های آسپرژیلوس می‌توانند مقاومت اولیه یا اکتسابی نسبت به یک داروی ضد قارچی خاص داشته باشند. علاوه بر این، قرقانی و همکاران دامنه MIC برای داروی ایتراکونازول در ایزوله‌های آسپرژیلوس نایجر جدا شده از اتومایکوزیس را ۲ - ۰/۰۳۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند که با بررسی مطالعه حاضر همخوانی دارد (۱۵). با این وجود بدلی و همکاران

است که در بررسی دانویی و همکاران ایزوله‌های آسپرژیلوس نایجر بیشترین حساسیت نسبت به آمفوتریسین ب را داشتند (۲۰).

با توجه به عدم وجود ایزوله‌های محیطی برای مقایسه با ایزوله‌های بالینی پیشنهاد می‌شود این مطالعه در سطح وسیع‌تر با تنوع گسترده از نمونه‌های بالینی و محیطی جهت اطلاع دقیق از وضعیت حساسیت دارویی ایزوله‌های جنس آسپرژیلوس انجام شود.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد ایتراکونازول و ریکونازول داروهای مناسبی در درمان عفونت‌های مرتبط با گونه‌های آسپرژیلوس جدا شده از اتومایکوزیس هستند، اما پژوهش‌های بیشتری جهت بررسی میزان مقاومت سویه‌های مختلف آسپرژیلوس برای داروهای مختلف ضد قارچ مورد نیاز است.

تقدیر و تشکر

مطالعه حاضر برگرفته از پایان نامه پزشکی با کد اخلاق IR.YUMS.REC.1397.054 دانشگاه علوم پزشکی یاسوج می‌باشد، که با حمایت مالی این دانشگاه انجام شد.

آسپرژیلوس، پژوهش‌های بالینی نشان داده است که میزان بقا در بیماران مبتلا به آسپرژیلوزیس مهاجم که تحت درمان با آمفوتریسین ب هستند، زیر ۶۰ درصد است (۱۷). برخی از پژوهش‌ها گزارش داده‌اند که استفاده زیاد از آمفوتریسین ب علیه عفونت‌های قارچی موجب کاهش حساسیت سویه‌های قارچی به ویژه آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس ترئوس می‌شود (۱۸). در این مطالعه آمفوتریسین ب دارای بیشترین میزان MIC (۴-۰/۰۶۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بوده و بیشترین میزان مقاومت را نشان در بین ایزوله‌های مورد بررسی داشته است. برخی از پژوهش‌ها ایزوله‌ها آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس لنتوس و آسپرژیلوس ترئوس را واجد مقاومت ذاتی به آمفوتریسین ب ذکر کرده‌اند. این در حالی است که در مطالعه حاضر تمامی ایزوله‌های آسپرژیلوس ترئوس مورد بررسی MIC پایین‌تر از ECV داشته و در رده حساس بودند و این مقدار در ایزوله‌های آسپرژیلوس فلاووس تنها در ۳/۴ درصد از ایزوله‌ها دیده شده است. شیواپراکش و همکاران میزان MIC داروی آمفوتریسین ب را در ایزوله‌های آسپرژیلوس فلاووس دو کشور هند و هلند برابر با ۲-۰/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کرده‌اند که با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد (۱۹). همچنین، به طور کلی بیشترین میزان مقاومت نسبت به داروی آمفوتریسین ب (۲/۵ درصد) در کمپلکس گونه‌های آسپرژیلوس نایجر شامل آسپرژیلوس نایجر و آسپرژیلوس توبینجنسیس دیده شد. این در حالی

REFERENCES

- 1.Zhang L, Wang X, Houbraken J, Mei H, Liao W, Hasimu H, et al. Molecular identification and in vitro antifungal susceptibility of aspergillus isolates recovered from otomycosis patients in Western China. *Mycopathologia* 2020; 185(3): 527-35.
- 2.Kaya AD, Kiraz N. In vitro susceptibilities of *Aspergillus* spp. causing otomycosis to amphotericin B, voriconazole and itraconazole. *Mycoses* 2007; 50(6): 447-50.
- 3.Gharaghani M, Seifi Z, Mahmoudabadi AZ. Otomycosis in iran: a review. *Mycopathologia* 2015; 179(5-6): 415-24.
- 4.Nemati S, Hassanzadeh R, Jahromi SK, Abadi ADN. Otomycosis in the north of Iran: common pathogens and resistance to antifungal agents. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology* 2014; 271(5): 953-7.
- 5.Prasad SC, Kotigadde S, Shekhar M, Thada ND ,Prabhu P, D'Souza T, et al. Primary otomycosis in the Indian subcontinent: predisposing factors, microbiology, and classification. *International Journal of Microbiology* 2014; 2014: 636493.
- 6.Aboutalebian S, Mahmoudi S, Mirhendi H, Okhovat A, Abtahi H, Chabavizadeh J. Molecular epidemiology of otomycosis in Isfahan revealed a large diversity in causative agents. *Journal of Medical Microbiology* 2019; 68(6): 918-23.
- 7.Hagiwara S, Tamura T, Satoh K, Kamewada H, Nakano M, Shinden S, et al. The molecular identification and antifungal susceptibilities of *Aspergillus* species causing otomycosis in Tochigi, Japan. *Mycopathologia* 2019; 184(1): 13-21.
- 8.Agarwal P, Devi LS. Otomycosis in a rural community attending a tertiary care hospital: assessment of risk factors and identification of fungal and bacterial agents. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR* 2017; 11(6): DC14.
- 9.Li Y, He L. Diagnosis and treatment of otomycosis in southern China. *Mycoses* 2019; 62(11): 1064-8.
- 10.Ho T, Vrabec JT, Yoo D, Coker NJ. Otomycosis: clinical features and treatment implications. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery* 2006; 135(5): 787-91.
- 11.Westby D, Fenton JE. A review of the treatments for otomycosis. *Mesentery and Peritoneum* 2018; 2(2): AB083.
- 12.Arendrup M. Update on antifungal resistance in *Aspergillus* and *Candida*. *Clinical Microbiology and Infection* 2014; 20: 42-8.
- 13.Clinical, Institute LS. Epidemiological cutoff values for antifungal susceptibility testing. *CLSI Supplement M59* 2016.
- 14.Choukri F, Botterel F, Sitterlé E, Bassinet L, Foulet F, Guillot J, et al. Prospective evaluation of azole resistance in *Aspergillus fumigatus* clinical isolates in France. *Medical Mycology* 2015; 53(6): 593-6.
- 15.Gharaghani M, Halvaezadeh M, Jalaee GA, Taghipour S, Kiasat N, Mahmoudabadi AZ. Antifungal susceptibility profiles of otomycosis etiological agents in Ahvaz, Iran. *Current Medical Mycology* 2020; 6(2): 18.
- 16.Badali H, Fakhim H, Zarei F, Nabili M, Vaezi A, Poorzad N, et al. In vitro activities of five antifungal drugs against opportunistic agents of *Aspergillus Nigri* complex. *Mycopathologia* 2016; 181(3-4): 235-40.
- 17.Elefanti A, Mouton J, Verweij P, Zerva L, Meletiadis J. Susceptibility breakpoints for amphotericin B and *Aspergillus* species in an in vitro pharmacokinetic-pharmacodynamic model simulating free-drug concentrations in human serum. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2014; 58(4): 2356-62.
- 18.Gomez-Lopez A, Garcia-Effron G, Mellado E, Monzon A, Rodriguez-Tudela JL, Cuenca-Estrella M. In vitro activities of three licensed antifungal agents against Spanish clinical isolates of *Aspergillus* spp. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2003; 47(10): 3085-8.

19. Shivaprakash M, Geertsen E, Chakrabarti A, Mouton JW, Meis JF. In vitro susceptibility of 188 clinical and environmental isolates of *Aspergillus flavus* for the new triazole isavuconazole and seven other antifungal drugs. *Mycoses* 2011; 54(5): e583-e9.

20. Dannaoui E, Persat F, Monier M-F, Borel E, Piens M-A, Picot S. In-vitro susceptibility of *Aspergillus* spp. isolates to amphotericin B and itraconazole. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1999; 44(4): 553-5.

Evaluation of Drug Susceptibility of *Aspergillus* Species Isolated from Patients with Otomycosis in Vitro

Sabz GH¹, Gharghani M², Abbasi B³, Nouripoor Sisakht S⁴

¹Department of Otolaryngology, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, ²Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, ³Student Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, ⁴Department of Microbiology, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Received: 19 Aug 2021 Accepted: 21 Des 2021

Abstract:

Background & aim: Atomycosis is an acute, subacute and chronic fungal infection of the external auditory canal. The most common known fungi that cause atomycosis are *Aspergillus* and *Candida* species. Incidence and report of resistance to antifungal drugs in *Aspergillus* and *Candida* fungi with increasing long-term use of antifungal drugs, access to standard diagnostic allergy tests has increased. Therefore, the aim of the present study was to determine and evaluate the drug susceptibility of *Aspergillus* species isolated from patients with otomycosis referred to Shahid Mofatteh Clinic in Yasuj in laboratory conditions.

Methods: In the present experimental study conducted in 2018, 160 clinical isolates of *Aspergillus*, including 60 strains of *Aspergillus flavus*, 53 strains of *Aspergillus tubingensis*, 43 strains of *Aspergillus niger*, 3 strains of *Aspergillus treus* and 1 isolated strain of *Aspergillus fumigaranus*, with otomycosis was cultured on PDA medium and drug susceptibility for amphotericin B, itraconazole, vriconazole and clotrimazole was determined according to CLSI M38A2 instructions. Based on this, using microdilution broth method, different drug dilutions were prepared and added to standard fungal suspensions. The collected data were analyzed using Excel 2016 software.

Results: MIC50 and MIC90 of amphotericin B, itraconazole, vriconazole and clotrimazole for *Aspergillus flavus* strains (1 and 2, 0.0156 and 0.025, 0.125 and 0.25, 0.25 and 1, respectively), *Aspergillus niger* (2 and 4, 0.025 and 0.25, 0.125 and 0.25, 0.5 and 1) and *Aspergillus tubinogenesis* (2 and 4, 0.125 and 0.5, 0.25 and 0.25, 1 and 1) micrograms per milliliter. All strains of *Aspergillus* were sensitive to itraconazole and vriconazole.

Conclusion: The laboratory data obtained from the present study indicated that itraconazole had the best antifungal effect against *Aspergillus* strains, followed by vriconazole, clotrimazole and amphotericin, respectively. Itraconazole and vriconazole appeared to be suitable drugs in the treatment of infections associated with *Aspergillus* species isolated from atomycosis.

Keywords: Atomycosis, *Aspergillus*, Allergy to antifungal drugs

***Corresponding author:** Nouripoor Sisakht S, Department of Microbiology, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Email: nooripoor8561@gmail.com

Please cite this article as follows: Sabz GH, Gharghani M, Abbasi B, Nouripoor Sisakht S. Evaluation of Drug Susceptibility of *Aspergillus* Species Isolated from Patients with Otomycosis in Vitro. Armaghane-danesh 2022; 27(1): 1-10.