دانشور
پزشکی

دوماهنامه علمی – پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال شانزدهم – شماره ۷۸
دی ۱۳۸۷

ارزیابی اثر داروی کتوکونازول بر رشد ایزوله‌های کاندیدای جدا شده از موارد ولوواژینیت در شرایط آزمایشگاهی

نویسندگان: بهناز مقدسی[۱]، دکتر معصومه شمس‌قهفرخی[*۲]، دکتر فریده زینی[۳] و دکتر مهدی رزاقی‌ابیانه[٤]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد دانشکده علوم‌پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
۲. استادیار دانشکده علوم‌پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
۳. استاد دانشکده بهداشت دانشگاه علوم‌پزشکی تهران
٤. دانشیار پژوهش انستیتو پاستور ایران

*** نویسنده مسئول:** E-mail: shamsm@modares.ac.ir

وصول: ۸۶/۷/۲۵
ارسال اصلاحات: ۸۷/۱/۲۷
دریافت اصلاحات: ۸۷/۲/۲۹
پذیرش: ۸۷/۷/۳۰

چکیده

مقدمه و هدف: گونه‌های کاندیدا نقش مهمی در ایجاد عفونت‌های ولوواژینال دارند. این قارچ ها بعنوان عوامل ولوواژینیت کاندیدایی جزء دومین عوامل شایع بیماری‌های تناسلی در زنانند. حدود ۵ درصد زنان با ولوواژینیت‌های کاندیدایی عودکننده یا مزمن به درمان‌های ضدقارچی مقاومت نشان می‌دهند. در این تحقیق، اثر ضد قارچی داروی کتوکونازول علیه ۲۸ ایزوله کاندیدایی جدا شده از موارد ولوواژینیت در شرایط آزمایشگاهی بررسی گردید.

مواد و روش‌ها: روش تهیه رقت در براث (Broth dilution method) برای تعیین فعالیت ضدقارچی کتوکونازول مورد استفاده قرار گرفت. ایزوله‌های کاندیدا در حضور غلظت‌های مختلف کتوکونازول در محیط سابوروبراث کشت داده شدند و مقادیر حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC) هر یک از آن‌ها جداگانه تعیین گردید.

یافته‌ها: حساسیت ایزوله‌های کاندیدا نسبت به داروی کتوکونازول از نوع وابسته به غلظت و مرتبط با ایزوله قارچ گزارش گردید. مقادیر MIC کتوکونازول برای ایزوله‌های *کاندیدا آلبیکنس* در محدوده ۵۷۰-۰/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر، برای ایزوله‌های *کاندیدا گلابراتا* ۵۷۰-۰/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر، برای ایزوله‌های *کاندیدا تروپیکالیس* ۲۸۰-۰/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر و برای *کاندیدا کفایر* ۳۰-۰/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد.

نتیجه‌گیری: ارزیابی حساسیت دارویی ایزوله‌های جدا شده از بیمار قبل از انتخاب داروی ضد قارچی و شروع درمان به دلیل اختلاف حساسیت دارویی ایزوله‌های مختلف کاندیدا و پاسخ‌های متفاوت نسبت به درمان، برای کسب نتایج درمانی مناسب و جلوگیری از ایجاد مقاومت دارویی در ایزوله‌های قارچی ضروری است.

واژه‌های کلیدی: کاندیدا، فعالیت ضد قارچی، کتوکونازول، ولوواژینیت، روش تهیه رقت در براث

مقدمه

ولوواژینیت‌های کاندیدایی طی دهه گذشته افزایش چشمگیری داشته‌اند. امروزه در آمریکا، کاندیدا، دومین عامل عفونت‌های واژینال شناخته شده‌است [۱]. کاندیدا از دستگاه ژنیتال حدود ۲۰ درصد زنان سالم که در دوران باروری هستند، جداسازی گردیده و توسط روش انگشت نگاری (Fingerprinting method) توانسته‌اند کلونیزاسیون طولانی مدت استرین خاصی از کاندیدا را برای ماه‌ها و سال‌ها در واژن به اثبات برسانند [۱].

حدود ۸۵ تا ۹۰ درصد مخمرهای جداشده از واژن، استرین‌های *کاندیدا آلبیکنس* هستند. کاندیدا برای کلونیزاسیون، ابتدا نیاز دارد که به سلول‌های پوششی واژن بچسبد [۱]. ژرمیناسیون کاندیدا باعث کلونیزاسیون بیش‌تر و افزایش تهاجم به بافت واژن می‌شود. از جمله فاکتورهای بیماری‌زایی کاندیدا می‌توان از آنزیم‌های پروتئولیتیک، سموم قارچی، فسفولیپاز و توانایی استفاده از آهن نام برد [۱].

کاندیدا آلبیکنس می‌تواند در مدت زمان کوتاهی از آغاز رشد و تنها در یک سیکل سلولی، تغییرات آشکاری را در مورفولوژی خود به وجود آورد و اشکالی مثل کروی، بلاستوکونیدی، هیف حقیقی و هیف کاذب تولید کند [۱]. دیمورفیسم به *کاندیدا آلبیکنس* توانایی تبدیل از شکل کومنسال به بیماری‌زا را می‌دهد، چنان‌که شکل میسلیومی آن باعث بیماری‌زایی بیش‌تر و ظهور ترکیبات آنتی‌ژنی خاص می‌شود. البته شکل مخمری کاندیدا نیز همانند شکل میسلیومی قادر به نفوذ در سلول‌های پوششی واژن است [۱]. تغییرات فنوتیپی *کاندیدا آلبیکنس* که در نتیجه جهش ژنی صورت می‌گیرد، باعث تطابق بیش‌تر با محیط اطراف می‌شود. این تغییرات فنوتیپی همچنین باعث تبدیل کلونی سفید به کلونی کدر در *کاندیدا آلبیکنس* می‌شود[۱]. در چنین استرین‌هایی، ژن‌های تنظیم‌کننده‌ای کشف شده‌اند که نسخه‌برداری از DNA خاصی را کنترل کرده، باعث دیمورفیسم می‌شوند[۱].

از میان زمینه‌های مستعدکننده میزبان برای ابتلا به ولوواژینیت کاندیدایی می‌توان از بارداری، مصرف داروهای ضدبارداری با دوز بالای استروژن، دیابت ملیتوس، مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و سرکوب فلور لاکتو-باسیلی واژن نام برد [۲و۳]. افزایش سن، خود درمانی و استفاده ناصحیح از ترکیبات ضد قارچی، از عوامل مؤثر در ایجاد واژینیت‌های عودکننده غیرآلبیکنسی با عوامل *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا تروپیکالیس* هستند که این انواع غیرآلبیکنسی معمولاً به درمان‌های متداول، مقاوم هستند[٤]. داروهای گروه آزول در درمان واژینیت‌های کاندیدایی بسیار مفیدند. استفاده از داروهای آزولی خوراکی، اثر درمانی بالاتری نسبت به داروهای آزولی موضعی دارد و این داروها با سهولت بیش‌تری توسط بیماران مصرف می‌شوند. البته داروهای آزولی خوراکی دارای قابلیت توکسیسیتی سیستمیک هستند که به‌عنوان مثال باعث محدودیت استفاده از کتوکونازول شده‌است. سردرد و راش به دلیل مصرف فلوکونازول نیز از همین موارد به شمار می‌رود [۵]. بیش‌تر زنان، مصرف داروهای خوراکی را ترجیح می‌دهند. کتوکونازول، فلوکونازول و ایتراکونازول از جمله آزول‌های خوراکی هستند. کتوکونازول در مواردی اثر هپاتو توکسیسیتی دارد، ولی مصرف آن نسبت به دو داروی دیگر، رایج‌تر است[٤]. سرتاکونازول برای درمان واژینیت کاندیدایی به‌کار رفته که دارای خاصیت قارچ‌کشی در مقابل *کاندیدا آلبیکنس* و *کاندیدا گلابراتا* است و هیچ مقاومتی در گونه‌های کاندیدا علیه آن یافته نشده و به‌علاوه، ضد گاردنرلا و ضد تریکوموناس است و هیچ اثری روی فلورلاکتوباسیلی واژن نمی‌گذارد. پس سرتاکونازول می‌تواند داروی مفیدی در درمان عفونت واژینال باشد[٦].

تحقیق حاضر با هدف بررسی انواع ایزوله‌های بومی کاندیدا، جدا شده از موارد ولوواژینیت کاندیدایی، صورت گرفت و در آن، درصد بروز واژینیت‌های کاندیدایی غیرآلبیکنسی در بیماران تحت بررسی مطالعه گردید. در ضمن، حساسیت دارویی هر یک از این

ایزوله‌ها نسبت به داروی کتوکونازول در شرایط آزمایشگاهی و با استفاده از روش رقیق‌سازی در محیط مایع تعیین شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری

در این تحقیق از ٤٢ بیمار مبتلا به واژینیت کاندیدایی که بیماری آن‌ها توسط متخصصین زنان و زایمان تأیید شده بود نمونه‌گیری به عمل آمد. برای نمونه‌برداری با استفاده از سواب استریل، ترشحات سفید و پنیری داخل واژن جمع‌آوری شدند. قسمتی از ترشحات برای کشت و شناسایی عوامل کاندیدایی و قسمتی دیگر برای بررسی مستقیم میکروسکوپی مورد استفاده قرار گرفت.

بررسی مستقیم میکروسکوپی

مقداری از ترشحات به دست آمده از واژن بیماران بر روی یک لام تمیز قرارداده شد و با استفاده از پتاس ۱۰ درصد شفاف گردید و آنگاه برای انجام آزمایش مستقیم میکروسکوپی مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌هایی که در طی مطالعه میکروسکوپی حاوی عناصر قارچی به شکل سلول‌های مخمری گرد و بیضوی به قطر حدود ۵-۳ میکرومتر، همراه یا بدون جوانه و میسلیوم کاذب منشعب بودند، برای کشت، جداسازی و شناسایی گونه‌های کاندیدا مورد استفاده قرار گرفتند.

کشت

برای جداسازی اولیه عناصر قارچی از محیط کشت سابورودکستروزآگار استفاده گردید. ۵۰ میلی‌گرم کلرامفنیکل به ازای هر لیتر محیط کشت اضافه گردید. ترشحات به وسیله سواب استریل بر روی محیط کشت تلقیح شد و در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٨ ساعت نگهداری گردید. پس از مشاهده کلنی‌های مخمری، جداسازی کلنی‌ها بر روی محیط سابورودکستروزآگار حاوی کلرامفنیکل صورت گرفت و از تست‌های تشخیصی افتراقی برای شناسایی هر یک از ایزوله‌ها استفاده گردید[۵].

شناسایی گونه‌های کاندیدا

برای شناسایی و تفریق گونه‌های کاندیدا از تست‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی، نظیر تولید لوله زایا، ایجاد کلامیدیوسپور، و تست جذب قندها استفاده گردید [۲و۱].

با استفاده از نتایج به‌دست‌آمده از تست‌های مذکور، ایزوله‌های مختلف کاندیدا شناسایی و برای بررسی حساسیت نسبت به داروی ضد قارچی کتوکونازول به کار برده شدند.

تست تعیین حساسیت دارویی

تهیه سوسپانسیون قارچی: سوسپانسیونی از هر یک از کشت‌های ٤٨-٢٤ ساعته گونه‌های کاندیدا به وسیله آب مقطر استریل، حاوی ۰/۰۵ درصد توئین ۸۰ تهیه گردید. عناصر قارچی با استفاده از لام نئوبار شمارش گردید و غلظتی معادل ۳×۱۰^{۳} سلول مخمری در میلی‌لیتر برای هر یک از ایزوله‌ها تهیه شد[۷].

تهیه محلول دارویی: برای تهیه استوک دارویی، ۱/۱٤ گرم از پودر کتوکونازول در ۱ میلی‌لیتر حلال دی‌متیل‌سولفوکساید حل گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری شد تا استریل شود. محلول‌های دارویی در مقادیر یک میلی‌لیتری در ویال‌های استریل تقسیم و تا زمان استفاده در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

روش رقیق‌سازی در محیط مایع: با استفاده از روش رفرانس، تعیین حساسیت مخمرها به داروهای ضدقارچی به روش رقیق‌سازی در محیط مایع [۷] و به منظور تعیین حساسیت ایزوله‌های کاندیدا نسبت به داروی کتوکونازول رقت‌های متوالی دو برابر از استوک اولیه، ۱/۱٤ گرم در میلی‌لیتر، در حجم نهایی یک میلی‌لیتر در سرم فیزیولوژی استریل تهیه گردید. محدوده

غلظت دارویی برای کتوکونازول ۵۷۰-۰/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از هر یک از رقت‌های حاصل در هر یک از لوله‌های حاوی ۰/۵ میلی‌لیتر محیط کشت سابوروبراث استریل اضافه گردید. سپس سوسپانسیون سلول‌های مخمری هر یک از ایزوله‌ها حاوی ۳×۱۰^{۳} سلول در میلی‌لیتر به لوله‌های حاوی محیط کشت مایع و رقت‌های دارویی اضافه شد. هر یک از رقت‌های دارویی به صورت سه‌تایی تهیه و از بیش‌ترین غلظت دی‌متیل‌سولفوکساید بدون حضور دارو به‌عنوان کنترل حلال استفاده شد. لوله‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد در داخل شیکرانکوباتور با چرخش ۱۰۰ دور در دقیقه نگهداری شدند. پس از انکوباسیون ۴۸ ساعته، ۱۰ میکرولیتر از هر یک از محتویات لوله‌ها به پلیت‌های حاوی محیط کشت سابورودکستروز آگار تلقیح شد و پلیت‌ها به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بر اساس شمارش تعداد کلنی‌های رشد کرده در هر یک از رقت‌های دارویی و مقایسه آن‌ها با گروه کنترل، مقادیر حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی قارچی (MFC) کتوکونازول محاسبه گردید[۷].

آنالیز آماری

نتایج به‌دست‌آمده با استفاده از آزمون‌های «تی» و آنالیز واریانس یک‌طرفه در محدوده توکی (Tukey) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقادیر $p<۰/۰۵$ از نظر آماری معنادار گزارش گردید.

یافته‌ها

در تحقیق حاضر، اثر داروی کتوکونازول بر رشد ایزوله‌های کاندیدا، جدا شده از نمونه‌های بالینی ۲۸ بیمار مبتلا به ولوواژینیت کاندیدایی، در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. تعداد ۱۸ گونه *کاندیدا آلبیکنس*، ۶ گونه *کاندیدا گلابراتا*، ۳ گونه *کاندیدا تروپیکالیس* و یک گونه *کاندیدا کفایر* جداسازی و شناسایی گردید. بررسی آثار غلظت‌های مختلف داروی کتوکونازول (۵۷۰-۰/۱) میکروگرم در میلی‌لیتر بر رشد گونه‌های کاندیدای مورد بررسی نشان داد که این دارو در تمام غلظت‌های به کار گرفته شده قادر به مهار رشد گونه‌های کاندیدا است (جدول ۱) و این مهار رشد از طریق وابسته به غلظت انجام می‌گیرد. نتایج به‌دست‌آمده در رابطه با تمام گونه‌ها در تمام غلظت‌های مورد بررسی به‌استثنای غلظت ۰/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر در مقایسه با گروه کنترل از نظر آماری معنادار گزارش گردید ($p<۰/۰۵$). مقادیر MIC_{50} دارو برای گونه‌های مورد بررسی در محدوده ۱-۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد. در این رابطه، میزان ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر از داروی کتوکونازول به ترتیب برای ۱۵ ایزوله *کاندیدا آلبیکنس*، ۶ ایزوله *کاندیدا گلابراتا*، ۳ ایزوله *کاندیدا تروپیکالیس* و یک ایزوله *کاندیدا کفایر*، و میزان ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر از دارو برای ۴ ایزوله *کاندیدا آلبیکنس* منجر به ۵۰ درصد مهار رشد گردید.

در رابطه با مقادیر MIC_{90} دارو، محدوده ۲-۱ میکروگرم در میلی‌لیتر برای گونه‌های مورد بررسی در دو سطح ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر برای ۳ ایزوله *کاندیدا آلبیکنس*، ۲ ایزوله *کاندیدا گلابراتا* و یک ایزوله *کاندیدا تروپیکالیس* و *کاندیدا کفایر*، و میزان ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر برای ۱۶ ایزوله *کاندیدا آلبیکنس*، ۴ ایزوله *کاندیدا گلابراتا* و ۲ ایزوله *کاندیدا تروپیکالیس* تعیین گردید (جدول ۱).

حداقل غلظت کشندگی یا MFC داروی کتوکونازول در محدوده ۵۷۰ – ۳۰ میکروگرم در میلی‌لیتر برای گونه‌های مورد بررسی تعیین شد. مقادیر MFC برابر ۳۰ میکروگرم در میلی‌لیتر برای تعداد ۱۱ ایزوله *کاندیدا آلبیکنس* و ۲ ایزوله *کاندیدا گلابراتا*، ۷۰ میکروگرم در میلی‌لیتر برای ۸ ایزوله *کاندیدا آلبیکنس* و یک ایزوله *کاندیدا تروپیکالیس* و *کاندیدا کفایر*، و ۵۷۰ میکروگرم در میلی‌لیتر برای ۴ ایزوله *کاندیدا گلابراتا* و ۲ ایزوله *کاندیدا تروپیکالیس* تعیین گردید (جدول ۱).

جدول ۱- بررسی تعیین میزان حساسیت ایزوله‌های کاندیدای جداسازی شده ازموارد ولوواژینیت نسبت به داروی کتوکونازول

ایزوله‌های کاندیدا	MIC (میکروگرم در میلی‌لیتر)			MFC (میکروگرم در میلی‌لیتر)
	محدوده	پنجاه درصد	نود درصد	
alb – ۵۰۲۷	۰/۱–۵۷۰	۰/۵	۲	۳۰
alb–۱	۰/۱–۵۷۰	۱	۲	۳۰
alb–۲	۰/۱–۵۷۰	۰/۵	۱	۳۰
alb–۳	۰/۱–۵۷۰	۰/۵	۲	۳۰
alb–٤	۰/۱–۵۷۰	۱	۲	۳۰
alb–۵	۰/۱–۵۷۰	۰/۵	۲	۳۰
alb–٦	۰/۱–۵۷۰	۱	۲	۷۰
alb–۷	۰/۱–۵۷۰	۰/۵	۱	۷۰
alb–۸	۰/۱–۵۷۰	۰/۵	۲	۷۰
alb–۹	۰/۱–۵۷۰	۱	۲	۷۰
alb–۱۰	۰/۱–۵۷۰	۰/۵	۲	۷۰
alb–۱۱	۰/۱–۵۷۰	۰/۵	۱	۳۰
alb–۱۲	۰/۱–۵۷۰	۰/۵	۲	۳۰
alb–۱۳	۰/۱–۵۷۰	۰/۵	۲	۳۰
alb–۱٤	۰/۱–۵۷۰	۰/۵	۲	۷۰
alb–۱۵	۰/۱–۵۷۰	۰/۵	۲	۷۰
alb–۱٦	۰/۱–۵۷۰	۰/۵	۲	۷۰
alb–۱۷	۰/۱–۵۷۰	۰/۵	۲	۳۰
alb–۱۸	۰/۱–۵۷۰	۰/۵	۲	۳۰
gla–۱	۰/۱–۵۷۰	۰/۵	۱	۵۷۰
gla–۲	۰/۱–۵۷۰	۰/۵	۱	۳۰
gla–۳	۰/۱–۵۷۰	۰/۵	۲	۳۰
gla–٤	۰/۱–۵۷۰	۰/۵	۲	۵۷۰
gla–۵	۰/۱–۵۷۰	۰/۵	۲	۵۷۰
gla–٦	۰/۱–۵۷۰	۰/۵	۲	۵۷۰
tro–۱	۰/۱–۲۸۰	۰/۵	۱	۷۰
tro–۲	۰/۱–۲۸۰	۰/۵	۲	۵۷۰
tro–۳	۰/۱–۲۸۰	۰/۵	۲	۵۷۰
kef	۰/۱–۳۰	۰/۵	۱	۷۰

alb = *C. albicans*; tro = *C. tropicalis*; gla = *C. glabrata*; kef = *C. kefyr*

بحث و نتیجه‌گیری

ولوواژینیت کاندیدایی از عفونت‌های جلدی- مخاطی نسبتاً شایع در ایران و سایر نقاط جهان است که توسط گونه‌های متعلق به جنس کاندیدا ایجاد می‌شود. واژینیت کاندیدایی در اغلب موارد توسط *کاندیدا آلبیکنس* ایجاد می‌گردد که به‌خوبی نسبت به درمان پاسخ می‌دهد، در حالی که واژینیت ناشی از کاندیدا گلابراتا در اکثر موارد با شکست درمانی مواجه است[٤]. داروهای ضد قارچی مختلفی نظیر بوتوکونازول (کرم ۲ درصد)، کلوتریمازول (کرم‌های ۱ درصد، ۱۰ درصد، قرص‌های ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرمی)، مایکونازول (کرم ۲ درصد)، اکونازول (قرص ۱۵۰ میلی‌گرمی)، ترکونازول (کرم ۰/٤، ۰/۸ درصد و شیاف‌های واژینال ۸۰ میلی‌گرمی)، فلوکونازول (قرص خوراکی تک دوز ۱۵۰ میلی‌گرمی)، کتوکونازول (قرص ۲۰۰ میلی‌گرمی)، و ایترا کونازول (قرص ۱۰۰ میلی‌گرمی) در درمان واژینیت کاندیدایی استفاده می‌شوند. داروهای جدیدی نظیر وریکونازول، اکینوکاندین و کاسپوفونژین نیز به‌تازگی برای درمان این بیماری به کار برده می‌شوند [٤].

در سال‌های اخیر، سازوکارهای مقاومت به داروهای ضدقارچی در گونه‌های مختلف کاندیدا شناسایی شده‌است. تغییر در مسیرهای بیوسنتز ارگوسترول که از اصلی‌ترین ترکیبات غشای سلولی این ارگانیسم‌ها محسوب می‌شود، یکی از این مکانیسم‌ها است. همچنین تغییر در ساختمان گیرنده‌های سطحی غشا که منجر به اختلال در انتقال دارو از طریق غشای پلاسمایی می‌شوند نیز یکی از روش‌های مقاومت دارویی است [٤].

در سال ۲۰۰۲ میلادی، ظهور مقاومت دارویی در استرین‌های کاندیدای جداشده از موارد عفونت‌های خونی نسبت به فلوکونازول و ایتراکونازول توسط کوانکا گزارش شد [۸]. در همین سال پراساد پدیده مقاومت چند دارویی را به ترکیبات ضدقارچی شرح داد و سازوکارهای مولکولی مقاومت دارویی مخمرها را بیان کرد[۹].

در تحقیق حاضر، ایزوله‌های بومی کاندیدا که منجر به ولوواژینیت شده بودند شناسایی گردیدند؛ به‌طوری که گونه‌های *کاندیدا آلبیکنس* (٦٤/۳ درصد)، *کاندیدا گلابراتا* (۲۱/٤ درصد)، *کاندیدا تروپیکالیس* ۱۰/۷ درصد و *کاندیدا کفایر* (۳/٦ درصد) از نمونه‌های بالینی جدا و شناسایی گردیدند. نتایج بررسی نشان داد که شایع‌ترین عامل ایجادکننده واژینیت، *کاندیدا آلبیکنس* است که با نتایج سایر محققین همخوانی دارد [٤،۲،۱و٥]. همچنین در این بررسی مشخص شد که میزان حساسیت گونه‌ها و برخی ایزوله‌های مورد بررسی در مقابل کتوکونازول متفاوت است؛ به‌طوری که حساسیت ایزوله‌های *کاندیدا آلبیکنس* به داروی کتوکونازول بیش‌تر از گونه‌های گلابراتا و تروپیکالیس بوده، بعضی از ایزوله‌های *کاندیدا گلابراتا* و *تروپیکالیس* حساسیت کم‌تری به داروی کتوکونازول از خود بروز می‌دهند که این موضوع می‌تواند باعث شکست درمانی نسبت به کتوکونازول شده، واژینیت کاندیدایی عودکننده با عوامل غیرآلبیکنسی را سبب شود. گزارش‌هایی از شیوع گونه‌های غیرآلبیکنسی نظیر گلابراتا در ایجاد واژینیت کاندیدایی توسط برخی محققین وجود دارد [٤و۱۰]. سفدر در سال ۲۰۰۲ میلادی، مقاومت آزولی را در ایزوله‌های بالینی *کاندیدا گلابراتا* بر حسب نوع و جمعیت بیماران و مناطق مختلف عفونی‌شده آنان گزارش داد؛ به‌طوری که در بیماران ایدزی و سرطانی، مقاومت آزولی در استرین‌های *کاندیدا گلابراتا* بیش‌تر مشاهده می‌گردید [۱۱]. سوبل نیز وجود ترکیبات قارچ‌کش مؤثر بر گونه‌های غیرآلبیکنسی مقاوم به آزول‌ها را ضروری دانست [٤]. در سال ۲۰۰۰ میلادی، لانکارز و همکارانش، شکست درمانی و عود واژینیت‌های غیرآلبیکنسی را به دلیل عدم حساسیت این گونه‌ها به ایمیدازول‌ها گزارش کردند و داروی سرتاکونازول را برای درمان واژینیت‌های کاندیدایی، مناسب‌تر دانستند [۱۲].

در رابطه با محدوده اثر کتوکونازول روی گونه‌های کاندیدا می‌توان از تحقیق لاوردیر و همکارانش نام برد که اثر چند داروی آزولی را روی *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا گلابراتا*، *کاندیدا تروپیکالیس* و *کاندیدا پاراپسیلوزیس* بررسی کردند. محدوده اثر کتوکونازول بر روی تمام ارگانیسم‌ها ۱۶-۰/۰۱۶ میکرو گرم در میلی‌لیتر تعیین گردید. میزان MIC_{50} دارو برای *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا گلابراتا*، *کاندیدا تروپیکالیس* و *کاندیدا پاراپسیلوزیس* به ترتیب ۰/۰۱۶، ۰/۵، ۰/۰۳ و ۰/۰۱۶ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین شد و میزان MIC_{90} برای گونه‌های مذکور به ترتیب ۰/۵، ۱، ۱، ۰/۰۳ میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد [۱۳]. وایت و همکاران او، میزان MIC داروی کتوکونازول را برای ایزوله‌های مختلف *کاندیدا آلبیکنس* در محدوده ۱۶– ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش کردند [۱۴]. همچنین نیمورا میزان MIC دارو را برای ۵ ایزوله *کاندیدا آلبیکنس* در محدوده ۰/۰۶۳ – ۰/۰۱۶ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین کرد [۱۵]. پالاسین اثر داروی کتوکونازول را بر روی ۱۹ ایزوله *کاندیدا آلبیکنس*، ۱۱ ایزوله *کاندیدا تروپیکالیس* و ۶ ایزوله *کاندیدا گلابراتا* بررسی و میزان MIC دارو را برای هرگونه به ترتیب ۰/۰۶، ۰/۸ و ۰/۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش کرد [۱۶].

ستریپولی نیز اثر کتوکونازول را روی ۴۰ ایزوله *کاندیدا آلبیکنس* بررسی کرد و نشان داد که با استفاده از روش کشت در محیط سابورو براث، میزان محدوده MIC دارو برای ایزوله‌ها برابر ۶۴– ۰/۰۶۲ میکروگرم در میلی‌لیتر است [۱۷].

نتایج فوق با نتایج به‌دست‌آمده در تحقیق حاضر همخوانی دارد و در مجموع نشان می‌دهد که حساسیت دارویی قارچ کاندیدا در مقابل کتوکونازول، هم وابسته به گونه و هم وابسته به استرین است. برخی از استرین‌ها در این رابطه بسیار حساس و برخی بسیار مقاوم گزارش می‌گردند و بدین ترتیب، انجام تست آنتی‌مایکوگرام برای انتخاب استراتژی مناسب به منظور درمان عفونت‌های کاندیدایی واژن با داروی کتوکونازول اجتناب‌ناپذیر است؛ زیرا شکست درمانی در این موارد باعث ظهور ولوواژینیت‌های عودکننده و مزمن می‌شود که به نوبه خود باعث طولانی شدن مدت درمان و آزردگی بیمار خواهد شد. مقاومت دارویی گونه‌های کاندیدا باعث عدم ریشه‌کنی عوامل بیماری‌زا در محیط واژن شده، در نتیجه، شخص بیمار به حامل عامل عفونی تبدیل می‌شود و در صورت ایجاد شرایط مناسب برای ارگانیسم، دوباره چرخه جدیدی از عفونت در فرد آغاز خواهد شد. در خاتمه باید یادآور شد که چون هیچ‌یک از تصاویر کلینیکی ولوواژینیت‌های کاندیدایی مزمن، به تشخیص قاطع منجر نمی‌شوند، بهتر است این یافته‌ها با روش‌های آزمایشگاهی تأیید شوند و پس از گرفتن لام مستقیم و کشت، تشخیص قطعی داده شود؛ زیرا در غیر این صورت شاید بسیاری از عفونت‌های کاندیدایی واژینال به‌اشتباه به‌عنوان عفونت باکتریال یا تریکوموناسی تشخیص داده شوند.

منابع

1. Anaissie E.J. Clinical Mycology. The Curtis Center. Philadelphia, 2003.
2. Bennett J.E., Kown – Chung K. J. Medical Mycology. Lea & Febiger. Landon , 1992.
3. Ferrer J. Vaginal Candidosis: epidemiological and etiological factors. International Journal of Gynecology & Obstetric. 71: 21 – 27, 2000.
4. Sobel J. D. Treatment of Vaginal Candida infection. Expert Opinion. 3 (8): 1059 – 1065 , 2002.
۵. زینی فریده .، مهبد امیرسید علی و امامی مسعود – قارچ‌شناسی پزشکی جامع. تهران، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۷۷.
6. Palacin C., Tarrago C. Sertaconazole: pharmacology of a gynecological antifungal agent. International Journal of Gynecology & Obstetrics. 71: 37 – 46 , 2000.
7. NCCLS document M 27 – A. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast. Approved standard. 17: 1 – 29 , 1997.
8. Cuenca – Estrella M., Rodero L. Antifungal susceptibilities of *Candida* spp. isolated from blood in Spain and Argentina. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 49: 981 – 987 , 2002.

9. Prasad R., Panwar S. L. Drug Resistance in Yeasts an Emerging Scenario. Advances in Microbial Physiology. 46: 155 – 200, 2002

10. Czaika V., Tietz H.J. Antifungal susceptibility testing in chronically recurrent vaginal candidosis as basis for effective therapy. Mycoses. 2:45-50, 2000.

11. Safdar A., Chaturvedi V. Prospective, Multi center Surveillance study of *Candida glabrata*: Fluconazole and Itraconazole susceptibility profiles in Blood stream, Invasive and colonizing strains Hospital in New York city. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 46(10): 3268- 3272, 2002.

12. Lanchares J.L., Hernandez M. L. Recurrent Vaginal candidiasis changes in etiopathogenical patterns. International Journal of Gynecology & Obstetric. 71: 29 – 35 , 2000.

13. Laverdiere M., Hoban D. Invitro Activity of three new triazoles and one echinocadin against Candida blood stream isolates from cancer patients. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 50: 119-123,2002.

14. White T. C., Holleman S. Resistance Mechanisms in Clinical isolates of *Candida albicans*. Antimicrobial Agents and chemotherapy. 46(6): 1704-1713, 2002.

15. Nimura K., Niwano Y. Comparsion of invitro antifungal activities of topical antimycotics lanuched in 1990S in Japan. Int J Antimicrob Agants. 18(2):173-8 , 2001.

16. Palacin C., Tarrago C., Agut J., Guglietta A. In vitro activity of sertaconazole, fluconazole, ketoconazole, fenticonazole, clotrimazole and itraconazole against pathogenic vaginal yeast isolates. Methods Find Exp Clin Pharmacol. 23(2):61-4, 2001.

17. Strippoli V., Auria F. D. Propyl gallate increases invitro antifungal imidazole activity against *Candida albicans*. Int J of Antimicrobial Agents. 16: 73-76, 2000.