تحقیقی

# حساسیت سویه‌های مختلف قارچ کاندیدا قبل و بعد از تابش اشعه اولتراویوله نسبت به ایتراکونازول، فلوکونازول و آمفوتریسین B

دکتر حسین نوروزی*[1]، دکتر علی کاظمی[2]، مرحوم دکتر مسعود تشفام[3]، دکتر شهرام تیموریان[4]، دکتر پروانه عدیمی[5]، دکتر محسن بشاشتی[6]

۱- استادیار گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران (ایران). ۲- استادیار گروه پرستاری و مامایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا.
۳- استادیار گروه فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم وتحقیقات تهران. ٤- استادیار گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران (ایران).
۵- استادیار گروه قارچ شناسی، دانشکده پزشکی ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال. ٦- مربی گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران.

## چکیده

**زمینه و هدف :** *اشعه اولتراویوله (UV) به عنوان یک ضدعفونی کننده قوی مطرح است. عفونت ناشی از گونه‌های مختلف مقاوم قارچی در بیماران منجر به برگشت بیماری با شدت بیشتر می‌شود. این مطالعه به منظور ارزیابی تست حساسیت دارویی سویه‌های مختلف قارچ کاندیدا قبل و بعد از تابش اشعه اولتراویوله نسبت به داروهای ایتراکونازول، فلوکونازول و آمفوتریسین B انجام شد.*

**روش بررسی :** *این مطالعه آزمایشگاهی روی ۱۲ سوش قارچ کاندیدا جدا شده از بیمار طبق روش (NCCLS M27-A) انجام شد. نمونه‌ها با سالین استریل به صورت سوسپانسیون درآمدند و جذب نوری با اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر خوانده شد. رقت‌های سریالی µg/ml ۰/۰۳۱۳-۱٦ برای ایتراکونازول و آمفوتریسین B و µg/ml ۰/۰۳۱۳-۱۲۸ برای فلوکونازول تهیه گردید و حداقل میزان مهارکنندگی (MIC) بعد از ٤۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد تعیین شد. اشعه UV به مدت ۱ ، ۲ ، ۵ ، ۱۰ ، ٦۰ ، ۹۰ ، ۱۲۰ ثانیه در فاصله یک متری به قارچ‌ها تابانده شد و MIC تعیین گردید.*

**یافته‌ها :** *بیشترین MIC قبل از تابش UV در استفاده از فلوکونازول با میزان بیش از µg/ml ۱۲۸ مشاهده شد. بعد از تابش UV میزان MIC برای سه داروی مورد مطالعه کاهش یافت؛ به طوری که بعد از ۱۰ ثانیه MIC برای داروهای ایتراکونازول و آمفوتریسین B بیش از µg/ml ۰/۰۳۱۳ تعیین شد. MIC فلوکونازول بعد از ٦۰ ثانیه تابش اشعه اولتراویوله بیش از µg/ml ۰/۰۳۱۳ بود. با مقایسه MIC قبل و بعد از تابش اشعه اولتراویوله، داروهای مختلف سبب کاهش آماری معنی‌داری نسبت به قبل از تابش UV گردید (P<۰/۰۵).*

**نتیجه‌گیری :** *اشعه UV باعث کاهش MIC سویه‌های قارچی کاندیدا نسبت به داروهای ایتراکونازول، فلوکونازول و آمفوتریسین B می‌گردد.*

**کلید واژه‌ها :** *قارچ ، کاندیدا ، اشعه اولتراویوله ، ایتراکونازول، فلوکونازول ، آمفوتریسین B ، مقاومت دارویی*

* نویسنده مسؤول : دکتر حسین نوروزی ، پست الکترونیکی nowrozi_h@tums.ac.ir
نشانی : تهران ، دانشگاه علوم پزشکی تهران (ایران) ، دانشکده پیراپزشکی ، گروه علوم آزمایشگاهی ، تلفن ۸٦۷۰٤۷۳۸-۰۲۱ ، نمابر ۸۸۳۰۱۵۰۵
وصول مقاله : ۹۱/۲/۲٤ ، اصلاح نهایی : ۹۱/۹/۷ ، پذیرش مقاله : ۹۱/۹/۲۵

### مقدمه

عفونت‌های قارچی یکی از عوامل مرگ و میر به خصوص در بیماران دارای نقص سیستم ایمنی است. مهم‌ترین و شایع‌ترین عفونت قارچی بیمارستانی، کاندیدیازیس است که از نظر میزان بروز در رده چهارم کل عفونت‌های بیمارستانی قرار دارد و در ۳۵درصد موارد منجر به مرگ می‌شود. جنس کاندیدا دارای گونه‌های متعددی است و بیشترین گونه‌ای که سبب کاندیدیازیس می‌شود؛ کاندیدا آلبیکنس است. در سال‌های اخیر عفونت‌های کاندیدیازیس ناشی از سویه‌های غیرکاندیدا آلبیکنس نظیر کاندیدا گلابراتا، کاندیدا کروزئی و کاندیدا تروپیکالیس افزایش چشمگیری داشته است (۱و۲).

گونه‌های مختلف کاندیدا نه تنها از جنبه عفونت‌زایی بلکه از جنبه مقاومت دارویی نیز دارای اهمیت زیادی هستند. عمده داروهای پرمصرف در درمان کاندیدیازیس آزول‌ها، پلی‌ان‌ها و اکینوکاندین‌ها هستند (۳). آزول‌ها با مهار آنزیم ۱۴- α دی متیلاز اثر ضدقارچی خود را اعمال می‌کنند. آمفوتریسین B (از دسته پلی‌ان‌ها) و اکینوکاندین‌ها نیز به ترتیب با برهم زدن بالانس یونی غشاء سلول قارچی و مهار سنتز ۱و۳ β گلوکان اثرات قارچ‌کشی خود را اعمال می‌کنند. نحوه ایجاد مقاومت به اکینوکاندین‌ها در کاندیدا از طریق ایجاد جهش‌های نقطه‌ای در ژن FKS است؛ اما در

مورد آزول‌ها با تغییردر ژن CYP51، قارچ‌ها به داروهای آزولی مقاوم می‌شوند. مبنای تأیید سوش مقاوم در قارچ‌ها، انجام تست حساسیت دارویی و در کنار آن ارزیابی بالینی و ژنتیک قارچ‌ها است. ارزیابی تست حساسیت دارویی ساده‌ترین راه ارزیابی مقاومت دارویی در سویه‌های قارچی است. بیشترین مقاومت‌های دارویی در مورد کاندیدا به آزول‌ها و اکینوکاندین‌ها گزارش شده است (۴و۵).

از اشعه اولتراویوله برای ضدعفونی کردن وسایل و محیط بیمارستان‌ها و آزمایشگاه‌ها و نیز مواد تخریب شونده در اثر حرارت استفاده می‌شود. اشعه اولتراویوله از لحاظ طیف موج به سه دسته UVA، UVB و UVC تقسیم می‌شود (۶). UVA دارای طول موجی بین ۴۰۰-۳۲۰ نانومتر، UVB دارای طول موجی بین ۳۲۰-۲۸۰ نانومتر و UVC دارای طول موجی بین ۲۸۰-۱۰۰ نانومتر است و عمدتاً UVB به دلیل خاصیت نفوذ بالا به عنوان ضدعفونی کننده به‌کار می رود. مکانیسم ضدعفونی کنندگی اشعه UV از طریق ایجاد دایمر تیمین در DNA میکروارگانسیم و اثر روی میکروتوبول، منجر به مرگ میکروارگانسیم می‌شود (۷). عامل مهم و اثرگذار بر خاصیت ضدعفونی کنندگی اشعه UV، مدت زمان تابش اشعه است که ممکن است بعضاً در اثر ناکافی بودن زمان تابش اشعه، ارگانسیم‌های مقاوم پدیدار گردند (۸).

کاندیدا دارای گونه‌های متعددی است که در بین آنها کاندیدا آلبیکنس اختصاصاً فلور مخاط حفره دهان، واژن و دستگاه گوارش است و سایر گونه‌ها در خارج از این مخاط قادر به بقاء هستند؛ لذا شناخت عوامل موثر در مقاومت دارویی این خانواده قارچ مخمری در مراکز تشخیصی، درمانی و آزمایشگاهی استفاده کننده از لامپ UV به عنوان ضدعفونی کننده، ضرورت دارد؛ زیرا اشعه UV در طولانی مدت قادر به ایجاد جهش ژنی در قارچ است (۶).

عفونت ناشی از گونه‌های مختلف مقاوم مخمرکاندیدا در بیماران بستری در بیمارستان و عدم بهبودی کامل بیماران منجر به برگشت بیماری با شدت بیشتر می‌شود. این مطالعه به منظور ارزیابی تست حساسیت دارویی سویه‌های مختلف قارچ کاندیدا قبل و بعد از تابش اشعه اولتراویوله در زمان‌های مختلف نسبت به داروهای ایتراکونازول، فلوکونازول و آمفوتریسین B انجام شد.

## روش بررسی

در این مطالعه آزمایشگاهی ۱۲ سوش قارچ کاندیدا شامل ۴ سوش کاندیدا آلبیکنس، ۴ سوش کاندیدا کروزئی و ۴ سوش کاندیدا گلابراتا از بیماران بستری در بیمارستان‌های آموزشی دانشگاه علوم پزشکی تهران جدا شد. مطالعه در آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران (ایران) از سال ۱۳۸۹ به مدت دو سال انجام شد. اگرچه قارچ‌های مورد مطالعه در این مرکز، تعیین هویت شده بودند؛ اما به منظور بالا بردن درصد صحت کار، از آزمایشات تکمیلی نظیر تست جرم تیوپ، کشت در محیط کورن میل آگار حاوی توین ۸۰ و محیط‌های هفت‌گانه تغذیه‌ای، تست بتاگلوکوزیداز و تست اوره استفاده گردید.

**تهیه سوسپانسیون قارچی استاندارد**

نمونه‌های قارچی در محیط سابورودکستروز آگار در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند. سپس سوسپانسیون کلونی‌ها با ۵ میلی‌لیتر نرمال سالین ۰/۸۵ درصد تهیه و در لوله‌های استریل ریخته شدند.

سوسپانسیون‌های قارچی حاصل از هر سوش با دستگاه میکسر به خوبی مخلوط شد. سپس جذب نوری و میزان optical density (OD) آن به وسیله دستگاه اسپکترفوتومتردر طول موج ۵۳۰ نانومتر ثبت گردید. تعداد سلول قارچی نمونه مورد بررسی در محدوده $1\times10^{6}$-$5\times10^{6}$ cell/ml بود. طبق استاندارد NCCLS M27-A (National Committee for Clinical Laboratory Standards) محدوده سلولی قارچ در نمونه بایستی $2/5\times10^{6}$-$5\times10^{6}$ cell/ml باشد که در ابتدا سوسپانسیون اولیه با نرمال سالین به نسبت ۱:۱۰۰ رقیق شد. سپس به نسبت ۱:۲۰ با محیط RPMI 1640 مخلوط شد تا نسبت مورد انتظار استاندارد حاصل گردد.

**تهیه رقت‌های دارویی**

پودر استاندارد داروهای ایتراکونازول (شرکت روز دارو، تهران)، فلوکونازول (شرکت زهراوی تهران) و آمفوتریسین B (شرکت سیپلاهند) تهیه گردید. داروهای ایتراکونازول و آمفوتریسین B به دلیل نامحلول بودن در آب و به منظور تهیه رقت‌های دارویی در دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) حل شدند. ۱۰ رقت سریالی نهایی برای ایتراکونارول و آمفوتریسین B (۱۶-۰/۰۳۱۲۵ µg/ml) و ۱۳ رقت برای فلوکونازول (داروی محلول در آب) (۱۲۸-۰/۰۳۱۲۵ µg/ml) طبق استاندارد NCCLS M27-A تهیه گردید. بدین ترتیب که ابتدا غلظت نهایی محلول استوک دارویی (×۱۰۰)، با حل کردن ۰/۰۸ گرم از داروهای ایتراکونازول و آمفوتریسین B در ۵۰ میلی‌لیتر دی متیل سولفوکساید حاصل گردید و سپس با محیط RPMI 1640 (حاوی گلوتامین و بدون بی‌کربنات، بافر شده با مورفولینوپروپان سولفونیک اسید) به (×۱۰) غلظت نهایی رسید. استوک دارویی فلوکونازول نیز با حل کردن ۰/۲۵۶ گرم پودر استاندارد دارو در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به غلظت ۵۱۲ µg/ml رسید که با محیط RPMI 1640 با نسبت ۱:۸ به غلظت ۶۴۰ µg/ml که (×۵) غلظت نهایی است؛ رسید و رقت‌های سریالی از ۱۲۸-۰/۰۳۱۲۵ µg/ml از آن تهیه گردید.

**انجام تست میکرودایلوشن و تعیین حداقل میزان مهارکنندگی (MIC) داروها قبل از تابش اشعه UV**

پس از تهیه رقت‌های سریالی از داروهای ایتراکونازول و آمفوتریسین B، ۱۰۰ میکرولیتر از داروها به چاهک‌های ۱ تا ۱۰ میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ته صاف ریخته شد. سپس ۹۰۰ میکرولیتر رقت سوسپانسیون قارچی تهیه شده با محیط RPMI 1640 به چاهک‌ها اضافه شد. پس از تهیه ۱۳ رقت سریالی برای داروی فلوکونازول، ۱۰۰ میکرولیتر از دارو به چاهک ۱ تا ۱۳ میکروپلیت ریخته شد. سپس سوسپانسیون قارچی به آن اضافه گردید. دو چاهک به عنوان کنترل در نظر گرفته شدند. چاهک اول شامل یک میلی‌لیتر از دارو بدون محیط RPMI 1640 به عنوان شاهد تعیین آلودگی دارو و چاهک دیگر شامل یک میلی‌لیتر سوسپانسیون قارچی با محیط RPMI 1640 به عنوان شاهد رشد قارچ تعیین شدند. در هنگام کدورت چاهک، نتایج بررسی شد. میکروپلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. پایین‌ترین غلظت دارو که قارچ بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون در آن غلظت دارویی رشد قابل ملاحظه‌ای نداشت و رشد قارچ مهار گردید؛ به عنوان MIC در نظر گرفته شد.

**تعیین MIC داروها بعد از تابش اشعه UV**

پس از تهیه سوسپانسیون‌های قارچی یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون رقیق شده با نرمال سالین در محیط سابورودکستروز آگار کشت داده شدند. پس از رشد قارچ در هر پلیت با دقت در تاریکی در زیر Safety Cabinet به مدت ۱، ۲، ۵، ۱۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ ثانیه در فاصله یک متری اشعه UV به مقدار $60\ J/cm^2$ توسط لامپ UV (نیوجرسی آمریکا 0100 A 79) تابانیده شد. سپس به نسبت ۱ به ۲۰ با محیط RPMI 1640 رقیق شد و مراحل ذکر شده در قسمت‌های قبلی روی این سوسپانسیون‌های قارچی نیز انجام شد و MIC داروهای مذکور روی سوش‌های متفاوت کاندیدا (آلبیکنس، کروزئی و گلابراتا) پس از تابش UV نیز تعیین شد.

**آزمون‌های آماری**

برای تجزیه و تحلیل آماری نتایج از نرم‌افزاری SPSS-16، آزمون آماری ANOVA برای داده‌های تکراری و نیز آزمون Friedman استفاده گردید. سطح معنی‌داری آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

قبل از تابش UV کمترین و بیشترین MIC به دست آمده برای داروی فلوکونازول نسبت به سوش‌های مختلف کاندیدا به ترتیب ۶۴ میکروگرم در میلی‌لیتر و بیش از ۱۲۸ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. در حالی که کمترین و بیشترین MIC برای داروی

*جدول ۱: میزان حداقل میزان مهارکنندگی داروهای ضدقارچ قبل و بعد از تابش اشعه اولتراویوله در زمان‌های مختلف نسبت به سوش‌های مختلف کاندیدا*

| دارو | زمان تابش اشعه اولتراویوله | کاندیدا آلبیکنس (µg/ml) (n=4) | کاندیدا کروزئی (µg/ml) (n=4) | کاندیدا گلابراتا (µg/ml) (n=4) |
|---|---|---|---|---|
| فلوکونازول | قبل از تابش | ۱۲۸ - ٦٤ | ۱۲۸ | >۱۲۸ |
| | ۱ ثانیه | ٦٤ | ۱۲۸ | ۱۲۸ |
| | ۲ ثانیه | ۳۲ | ۳۲ | ۱٦ |
| | ۵ ثانیه | ۸ | ۸ | ٤ |
| | ۱۰ ثانیه | ۰/۵ * | ۰/۵ * | ۰/۵ * |
| | ٦۰ ثانیه | < ۰/۰۳۱۳ * | < ۰/۰۳۱۳ * | < ۰/۰۳۱۳ * |
| | ۹۰ ثانیه | < ۰/۰۳۱۳ * | < ۰/۰۳۱۳ * | < ۰/۰۳۱۳ * |
| | ۱۲۰ ثانیه | < ۰/۰۳۱۳ * | < ۰/۰۳۱۳ * | < ۰/۰۳۱۳ * |
| آمفوتریسین B | قبل از تابش | ٤ - ۲ * | ۲ - ۱ * | ۲ - ۱ * |
| | ۱ ثانیه | ۲ | ۲-۱ | ۲ - ۱ |
| | ۲ ثانیه | ۱ | ۱ | ۱ |
| | ۵ ثانیه | ۰/۱۲۵ | ۰/۱۲۵ | ۰/۱۲۵ |
| | ۱۰ ثانیه | ۰/۰۳۱۳ | ۰/۰۳۱۳ | ۰/۰۳۱۳ |
| | ٦۰ ثانیه | < ۰/۰۳۱۳ * | < ۰/۰۳۱۳ * | < ۰/۰۳۱۳ * |
| | ۹۰ ثانیه | < ۰/۰۳۱۳ * | < ۰/۰۳۱۳ * | < ۰/۰۳۱۳ * |
| | ۱۲۰ ثانیه | < ۰/۰۳۱۳ * | < ۰/۰۳۱۳ * | < ۰/۰۳۱۳ * |
| ایتراکونازول | قبل از تابش | ۱٦ - ۸ | ٤ - ۲ | >۱٦ - ۸ |
| | ۱ ثانیه | ۱٦ - ۸ | ٤ - ۲ | >۱٦ - ۸ |
| | ۲ ثانیه | ۸ | ۲ | ۸ |
| | ۵ ثانیه | ٤ | ۱ | ٤ |
| | ۱۰ ثانیه | ۰/۱۲۵ * | ۰/۱۲۵ | ۰/۱۲۵ |
| | ٦۰ ثانیه | < ۰/۰۳۱۳ * | < ۰/۰۳۱۳ * | < ۰/۰۳۱۳ * |
| | ۹۰ ثانیه | < ۰/۰۳۱۳ * | < ۰/۰۳۱۳ * | < ۰/۰۳۱۳ * |
| | ۱۲۰ ثانیه | < ۰/۰۳۱۳ * | < ۰/۰۳۱۳ * | < ۰/۰۳۱۳ * |

*تجزیه و تحلیل داده‌های درون گروهی و بین گروهی به ترتیب با استفاده از آزمون‌های آماری ANOVA و Friedman انجام شد.*
*$P<۰/۰۵$ **

آمفوتریسین B به ترتیب ۱ و ۴ میکروگرم در میلی‌لیتر و برای داروی ایتراکونازول به ترتیب ۲ و بیش از ۱۶ میکروگرم در میلی‌لیتر بود.

با افزایش مدت زمان تابش اشعه UV در زمان‌های مختلف، میزان MIC داروی فلوکونازول به تدریج کاسته شد؛ به طوری که پس از ۶۰ ثانیه تابش اشعه UV میزان MIC حاصله برای سوش‌های مختلف کاندیدا بیشتر از ۰/۰۳۱۳ µg/ml بود که حاکی از نابود شدن سوش‌های قارچی در مدت زمان تابش اشعه است. در مورد داروهای آمفوتریسین B و ایتراکونازول نیز بعد از تابش اشعه UV به تدریج با بیشتر شدن مدت زمان تابش اشعه UV و از بین رفتن بیشتر سلول‌های قارچی، میزان MIC حاصله کمتر شد؛ به طوری که بعد از ۱۰ ثانیه تابش اشعه UV به سوش‌های مختلف کاندیدا، MIC حاصله برای داروهای ایتراکونازول و آمفوتریسین B به ترتیب ۰/۱۲۵ µg/ml و ۰/۰۳۱۳ µg/ml بود (جدول یک).

کمترین MIC حاصله بعد از تابش اشعه UV در مورد داروی آمفوتریسین B برای سوش‌های کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا گلابراتا ۰/۰۳۱۲۵ µg/ml بود؛ اما بیشترین MIC برای کاندیدا آلبیکنس با ۲ µg/ml بعد از یک ثانیه تابش اشعه UV بود. کمترین و بیشترین MIC داروی ایتراکونازول بعد از تابش اشعه UV در زمان‌های مختلف به ترتیب برای کاندیدا کروزئی (۰/۱۲۵ µg/ml) و کاندیدا گلابراتا (۸ µg/ml) بود.

با توجه به مقایسه درون گروهی، میانگین حداقل میزان مهارکنندگی‌های حاصله در داروهای ضدقارچی فلوکونازول، ایتراکونازول و آمفوتریسین B در سوش‌های مختلف کاندیدا حاکی از آن است که این مقادیر برای داروی آمفوتریسین B قبل و بعد از تابش اشعه UV کاهش معنی‌داری نسبت به دو داروی دیگر داشته است (P<۰/۰۵). همچنین مقایسه حداقل میزان مهارکنندگی‌های داروهای آمفوتریسین B، فلوکونازول و ایتراکونازول قبل و بعد از تابش اشعه UV نشان داد که با افزایش زمان تابش، کاهش معنی‌داری در آن مقادیر حاصل شده است (P<۰/۰۵).

با توجه به مقایسه بین گروهی، حداقل میزان مهارکنندگی‌های حاصله برای داروی فلوکونازول قبل و بعد از تابش اشعه UV افزایش معنی‌داری نسبت به دو داروی دیگر نشان داد (P<۰/۰۵).

## بحث

در مطالعه حاضر بیشترین میزان MIC قبل از تابش اشعه UV برای کاندیدا گلابراتا نسبت به داروی فلوکونازول بود که با مطالعات دیگر هم‌خوانی دارد (۱۱-۹). کاندیدا گلابراتا به عنوان دومین عامل کاندیدیازیس مهاجم مطرح است. این عامل در این مطالعه در برابر داروهای آزولی MIC بیشتری را نشان داد و طبق مطالعه Mario و همکاران این قارچ تمایل بیشتری نسبت به مقاومت به داروهای آزولی در مقابل پلی‌ان‌ها دارد (۱۲). در این مطالعه با تابش اشعه UV به تدریج محدوده MIC کاهش یافت؛ به طوری که بعد از ۱۰ ثانیه محدوده MIC برای کاندیدا کروزئی به ۲-۰ µg/ml و کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا گلابراتا به ۴-۰ µg/ml رسید. کمترین MICهای حاصله قبل و بعد از تابش اشعه UV برای سوش‌های مختلف کاندیدا نسبت به آمفوتریسین B بود که در مقایسه با داروهای دیگر کاهش معنی‌داری داشت. بیشترین MIC نسبت به آمفوتریسین B نیز در ارتباط با کاندیدا آلبیکنس بود که با مطالعات Marco و همکاران (۹) و Ostrosky–Zeichner و همکاران (۱۳) هم‌خوانی دارد. تمام سوش‌های مورد مطالعه نسبت به آمفوتریسین B حساس بودند که با مطالعه Park و همکاران (۱۴) هم‌خوانی دارد. بیشترین MIC در مورد ایتراکونازول مربوط به سوش کاندیدا گلابراتا بود که با مطالعات Mario و همکاران (۱۲) و Tortorano و همکاران (۱۵) که میزان MIC کاندیدا گلابراتا را در برابر ایتراکونازول ۸ µg/ml< اعلام کردند؛ هم‌خوانی ندارد. شاید علت این امر بروز مقاومت در سویه‌های کاندیدا گلابراتا و همچنین عدم کفایت دارو باشد.

در این مطالعه MIC ها برای داروهای آمفوتریسین B، ایتراکونازول و فلوکونازول به تدریج با تابش مدت زمان بیشتر اشعه UV کاهش نشان داد. بعد از ۱۰ ثانیه تابش UV میزان MIC کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا کروزئی و کاندیدا گلابراتا به ۰/۰۳۱۳ µg/ml نسبت به آمفوتریسین B رسید. در صورتی که بعد از ۱۰ ثانیه تابش UV میزان MIC برای سویه‌های مختلف کاندیدا (۰/۵ µg/ml) رسید. بعد از ۱۰ ثانیه میزان MIC برای ایتراکونازول، کاندیدا کروزئی (۰/۰۳۱۳ µg/ml >) و برای سوش‌های کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا گلابراتا (۰/۱۲۵ µg/ml) بود. در مطالعه Rodloff و همکاران که روی ۱۲۸۶۲۵ سویه کاندیدا آلبیکنس انجام شد؛ بیش از ۹۸/۵ درصد سویه مذکور به فلوکونازول حساس بود. در صورتی که از ۲۳۳۰۵ گونه کاندیدا گلابراتا ۶۷/۸ درصد به فلوکونازول حساس و ۱۵/۷ درصد مقاوم بود و ۱۶/۵ درصد باقی مانده وابسته به دوز بودند. از ۵۰۷۹ سویه کاندیدا کروزئی ۸۳/۲ درصد به وریکونازول حساس و ۷/۶ درصد به داروی مذکور مقاوم بودند (۱۶). مطالعه مشابه در این زمینه بعد از تابش UV در مورد گونه‌های قارچ کاندیدا یافت نشد که امکان مقایسه تحقیقات میسر باشد. در مطالعه انجام شده بهزادی و همکاران روی اثر اشعه UV بر قارچ‌های درماتوفیت؛ با افزایش زمان پرتودهی، مرگ سلول‌های قارچی، کاهش تعداد ماکروکونیدی و میکروکونیدی، کم‌شدن قطر ظاهری کلونی‌های قارچی و تغییر در پیگمانتاسیون برخی گونه‌های درماتوفیت گزارش شد (۱۷) که نتایج حداقل دوز مهارکنندگی بعد از تابش اشعه UV در این مطالعه را تایید می‌کند.

## نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که اشعه UV باعث کاهش MIC سویه‌های قارچی کاندیدا نسبت به داروهای ایتراکونازول، فلوکونازول و آمفوتریسین B می‌گردد.


## تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب (شماره ۰۰۴۹/د/۳) دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران (ایران) بود.


## References


1. Kuo D, Tan K, Zinman G, Ravasi T, Bar-Joseph Z, Ideker T. Evolutionary divergence in the fungal response to fluconazole revealed by soft clustering. Genome Biol. 2010;11(7):R77.

2. Gudlaugsson O, Gillespie S, Lee K, Vande Berg J, Hu J, Messer S, et al. Attributable mortality of nosocomial candidemia, revisited. Clin Infect Dis. 2003 Nov;37(9):1172-7.

3. Diekema DJ, Messer SA, Brueggemann AB, Coffman SL, Doern GV, Herwaldt LA, et al. Epidemiology of candidemia: 3-year results from the emerging infections and the epidemiology of Iowa organisms study. J Clin Microbiol. 2002 Apr;40(4):1298-302.

4. Axner-Elings M, Botero-Kleiven S, Jensen RH, Arendrup MC. Echinocandin susceptibility testing of Candida isolates collected during a 1-year period in Sweden. J Clin Microbiol. 2011 Jul; 49(7):2516-21.

5. Pasquale T, Tomada JR, Ghannoun M, Dipersio J, Bonilla H. Emergence of Candida tropicalis resistant to caspofungin. J Antimicrob Chemother. 2008 Jan;61(1):219.

6. Begum M, Hocking AD, Miskelly D. Inactivation of food spoilage fungi by ultra violet (UVC) irradiation. Int J Food Microbiol. 2009 Jan;129(1):74-7.

7. Coohill TP, Sagripanti JL. Bacterial inactivation by solar ultraviolet radiation compared with sensitivity to 254 nm radiation. Photochem Photobiol. 2009 Sep-Oct;85(5):1043-52.

8. Watanabe M, Masaki H, Mori T, Tsuchiya T, Konuma H, Hara-Kudo Y, et al. Inactivation effects of UV irradiation and ozone treatment on the yeast and the mold in mineral water. J Food Prot. 2010 Aug;73(8):1537-42.

9. Marco F, Pfaller MA, Messer S, Jones RN. In vitro activities of voriconazole (UK-109,496) and four other antifungal agents against 394 clinical isolates of Candida spp. Antimicrob Agents Chemother. 1998 Jan;42(1):161-3.

10. Karlowsky JA, Hoban DJ, Zhanel GG, Goldstein BP. In vitro interactions of anidulafungin with azole antifungals, amphotericin B and 5-fluorocytosine against Candida species. Int J Antimicrob Agents. 2006 Feb;27(2):174-7.

11. Kanafani ZA, Perfect JR. Antimicrobial resistance: resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact. Clin Infect Dis. 2008 Jan;46(1):120-8.

12. Mario DA, Denardi LB, Bandeira LA, Antunes MS, Santurio JM, Severo LC, et al. The activity of echinocandins, amphotericin B and voriconazole against fluconazole-susceptible and fluconazole-resistant Brazilian Candida glabrata isolates. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2012 May;107(3):433-6.

13. Ostrosky-Zeichner L, Rex JH, Pappas PG, Hamill RJ, Larsen RA, Horowitz HW, et al. Antifungal Susceptibility Survey of 2,000 Bloodstream *Candida* Isolates in the United States. Antimicrob Agents Chemother. 2003 Oct; 47(10):3149-54.

14. Park BJ, Arthington-Skaggs BA, Hajjeh RA, Iqbal N, Ciblak MA, Lee-Yang W, et al. Evaluation of Amphotericin B Interpretive Breakpoints for *Candida* Bloodstream Isolates by Correlation with Therapeutic Outcome. Antimicrob Agents Chemother. 2006 Apr; 50(4): 1287-92.

15. Tortorano AM, Kibbler C, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Grillot R. Candidaemia in Europe: epidemiology and resistance. Int J Antimicrob Agents. 2006 May;27(5):359-66.

16. Rodloff C, Koch D, Schaumann R. Epidemiology and antifungal resistance in invasive candidiasis. Eur J Med Res. 2011 Apr; 16(4):187-95.

17. Behzadi P, Rezaee S, Khorrami zadeh MR, Behzadi E, Emami M. [Effect of UVB on dermatophytes]. Journal of Science University of Tehran. 2003; 29(2): 327-42. [Article in Persian]

**Original Paper**

# Efficacy of ultraviolet radiation on drug susceptibility of Candida Spp. to itraconazole, fluconazole and amphotericin B

**Nowrozi H (PhD)*[1], Kazemi A (PhD)[2], Teshfam M (PhD)[3], Temorian Sh (PhD)[4] Adimi P (PhD)[5], Bashashati M (MSc)[6]**

**[1]Assistant Professor, Department of Medical Laboratory Sciences, School of Allied Medical Sciences, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [2]Assistant Professor, Department of Nursing and Midwifery, Islamic Azad University, Varamin - Pishva Branch, Varamin, Iran. [3]Assistant Professor, Department of Physiology, Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. [4]Assistant Professor, Department of Genetics, Faculty of Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [5]Assistant Professor, Department of Medical Mycology, Faculty of Medical Sciences, Islamic Azad University, North Branch, Tehran, Iran. [6]Academic Instructor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran, Iran.**

---

## Abstract

**Background and Objective:** Ultraviolet (UV) radiation is a important disinfectant. Fungal infections with resistant isolates in patients culminate in recurrence of disease even with worse condition. This study was done to evaluate the efficacy of ultraviolet radiation on drug susceptibility of Candida Spp. to itraconazole, fluconazole and amphotericin B.

**Materials and Methods:** This laboratory study was done on 12 Candida spp. isolated from patients according to NCCLS M27- A method. Samples were suspended with sterile saline and optical density was read by spectrophotometer at the wavelength of 530 nm. Serial dilutions (0.0313-16 µg/ml) and (0.0313-128 µg/ml) were supplied for itraconazole, amphotericin and fluconazole, respectively. MICs were determined after 48h incubation at 35°C. Following UV radiation for 1, 2, 5, 10, 60, 90 and 120 seconds MICs were determined, subsequently.

**Results:** The highest MIC pre UV radiation was (>128 µg/ml) for fluconazole. After UV radiation, MICs were steadily decreased for all mentioned drugs while after 10 sec, MICs of itraconazole and amphotericin B were >0.0313 µg/ml. Secondary MICs significantly decreased with respect to MICs obtained in pre UV radiation ($P<0.05$).

**Conclusion:** UV radiation reduces MICs of Candida spp. to itraconazole, fluconazole, amphotericin B.

**Keywords:** Candida, Ultraviolet radiation, Itraconazole, Fluconazole, Amphotericin B, Drug resistance

---

*** Corresponding Author: Nowrozi H (PhD), E-mail: nowrozi_h@tums.ac.ir**

**Received** 13 May 2012 **Revised** 27 November 2012 **Accepted** 15 December 2012

This paper should be cited as: Nowrozi H, Kazemi A, Teshfam M, Temorian Sh, Adimi P, Bashashati M. [Efficacy of ultraviolet radiation on drug susceptibility of Candida Spp. to itraconazole, fluconazole and amphotericin B]. J Gorgan Uni Med Sci. 2014; 15(4): 53-58. [Article in Persian]