

ارزیابی اثر داروهای ضد قارچی کتوکونازول و فلوکونازول روی گونه های مالاسزیا

مهدی ناظری^۱ رضوان منیری^۲ محمد رضا شکوه امیری^۳ محمد رضا معیری^۴ سید علیرضا مروجی^۵

چکیده

سابقه و هدف: مالاسزیا، قارچ مخمری شکل فلور نرمال پوست است و با بیماری های مختلف پوست و عفونت های سیستمیک همراه می باشد. هدف این مطالعه تعیین حساسیت دارویی کتوکونازول و فلوکونازول در شرایط آزمایشگاهی روی گونه های مالاسزیا بود.

مواد و روش ها: در این مطالعه با استفاده از معیارهای مورفولوژی و بیوشیمیایی، ۹۹ ایزوله ی مالاسزیای جدا شده از بیماران مبتلا به پیتیریا زیس و ورسیکالر شناسایی شد. تست حساسیت دارویی با روش رقت ماکرو برات مطابق با دستورالعمل NCCLS-M27 و با استفاده از داروهای کتوکونازول و فلوکونازول انجام و میزان حداقل غلظت کشندگی ضد قارچی (MFC) و حداقل غلظت مهاري روی ۹۰ درصد سويه ها (MIC90) برای هر دو دارو به صورت جداگانه تعیین گردید. از آزمون من-ویتنی برای تحلیل یافته ها استفاده شد.

یافته ها: ۹۹ ایزوله ی مالاسزیای شناسایی شده شامل ۴۲ سويه مالاسزیا گلوبوزا، ۳۹ سويه مالاسزیا فورفور، ۱۰ سويه مالاسزیا ابتوزا، ۶ سويه مالاسزیا سیمپودیالیس و ۲ سويه مالاسزیا اسلوفیه بود. MFC داروی کتوکونازول در محدوده غلظت ۰/۰۶-۲ میکروگرم در میلی لیتر، MFC فلوکونازول در محدوده ۲-۶۴ میکروگرم در میلی لیتر، حداقل غلظت مهاري روی ۹۰ درصد ایزوله ها برای داروی کتوکونازول در محدوده ۰/۰۳-۱ میکروگرم در میلی لیتر و حداقل غلظت مهاري روی ۹۰ درصد ایزوله ها برای داروی فلوکونازول در محدوده ۰/۵-۳۲ میکروگرم در میلی لیتر تعیین شد.

استنتاج: گرچه فلوکونازول می تواند انتخاب درمانی موثری برای پیتیریا زیس و ورسیکالر باشد ولی در مطالعه ما MIC فلوکونازول بیشتر از کتوکونازول بود.

واژه های کلیدی: گونه های مالاسزیا، حساسیت ضد قارچی، کتوکونازول، فلوکونازول

مقدمه

مخمرهای جنس مالاسزیا، ارگانیزم های فلور نرمال پوست به ویژه در ناحیه گردن، سینه، بازو، پشت، شکم و صورت می باشند (۱، ۲). این مخمرها عوامل اتیولوژی بیماری های پوستی از جمله پیتیریا زیس و ورسیکالر می باشند (۳-۵). مشکل بودن کشت گونه های مالاسزیا در شرایط آزمایشگاهی، تعیین و شناسایی تاکسونومی این مخمرها را با تاخیر مواجهه

مؤلف مسئول: دکتر رضوان منیری - کاشان، دانشگاه علوم پزشکی، گروه میکروبیولوژی و ایمونولوژی ص پ: ۱۱۱-۸۷۱۵۵ E-mail: moniri@kaums.ac.ir

۴. متخصص پوست، استادیار دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۵. متخصص پزشکی اجتماعی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۱. دانشجوی دکترای قارچ شناسی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲. دکترای میکروبیولوژی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۳. دانشجوی دکترای قارچ شناسی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: ۸۷/۷/۲۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۷/۱۱/۱۳ تاریخ تصویب: ۸۸/۲/۲

مواد و روش ها

نمونه‌ها از بیماران مبتلا به پیتریازیس و رسیکالر مراجعه کننده به بخش پوست جمع آوری و در آزمایشگاه قارچ شناسی دانشگاه علوم پزشکی کاشان در سال ۱۳۸۷ مورد بررسی قرار گرفتند. پس از کسب رضایت نامه و جلب همکاری بیماران، نمونه گیری بوسیله اسکالپل استریل انجام شد. قسمتی از پوسته‌ها برای آزمایش مستقیم و قسمتی برای کشت در پلیت استریل جمع آوری گردید. نمونه‌های مثبت حاوی دسته‌های مخمری یا میسلیومی روی محیط کشت دیکسون آگار تغییر یافته، تلقیح و در دمای ۳۲ درجه به مدت ۳ تا ۴ روز نگهداری شدند. تفریق و شناسایی گونه‌های مالا‌سزیا با استفاده از تست‌های بیو شیمیایی و فیزیو لوژیک انجام شد. تست حساسیت دارویی روی ۹۹ ایزوله نسبت به داروهای کتوکونازول و فلوکونازول با روش برات ماکرو دایلوژن انجام پذیرفت. از پودر خالص داروهای کتوکونازول و فلوکونازول تهیه شده از شرکت GIBCO BRL کشور آلمان به ترتیب دامنه رقت‌های ۰/۱۵-۱۶ و ۰/۲۵-۶۴ میکرو گرم در میلی لیتر در محلول دی متیل سولفو کساید (DMSO) تهیه شد (۸،۷). طبق روش پیشنهادی NCCLS-M27 (۱۴) در سرم فیزیولوژی استریل حاوی ۰/۰۵ درصد توین، ۸۰ سوسپانسیون حاوی ۲۵۰۰ سلول مخمری که با لام نئوبار شمارش شده بود، تهیه گردید و با رقت‌های داروهای مورد نظر در محیط دیکسون برات مجاور شده و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۲ درجه داخل شیکر انکوباتور قرار گرفت. در کنار هر یک از رقت ها یک لوله حاوی سوسپانسیون مخمری و بیشترین غلظت دی متیل سولفو کساید به عنوان کنترل مورد استفاده قرار گرفت. از هر یک از لوله‌های حاوی ۲۵۰۰ سلول مخمری در میلی لیتر و رقت‌های دارویی سریال در محیط دیکسون برات، به میزان ۵ میکرو لیتر برداشته و در محیط دیکسون آگار تغییر یافته تلقیح شد و میزان MIC

می‌کند. امروزه بر اساس خصوصیات مورفولوژی و فیزیولوژی و استفاده از توین ۸۰ و مطالعات بیولوژی مولکولی گونه‌های مالا‌سزیا به ۱۱ گونه: مالا‌سزیا فوفور، مالا‌سزیا سیمپودیالیس، مالا‌سزیا اسلوفیه، مالا‌سزیا ابتوسا، مالا‌سزیا گلوبوزا، مالا‌سزیا رستریکا، مالا‌سزیا پاکیدرماتیس، مالا‌سزیا یاماتوانسیس، مالا‌سزیا نانا، مالا‌سزیا جاپونیکا، و مالا‌سزیا درماتیس طبقه‌بندی شده است (۶،۷).

آزول‌ها ترکیباتی هستند که با اثر و ترکیب با آنزیم‌های سیستم سیتوکروم P-450 سلول‌های قارچی، موجب اختلال در سنتز ارگوسترول، احتباس استرول‌های غیرطبیعی، ساخته شدن دیواره سلولی ناقص و در نهایت مرگ سلول‌های قارچی می‌شوند. کتوکونازول یکی از مشتقات ضد قارچی آزولی است که در درمان پیتریازیس و رسیکالر مورد استفاده قرار می‌گیرد. فلوکونازول از مشتقات تری آزولی جدید است که به واسطه نفوذپذیری بسیار خوب در درمان عفونت‌های ادراری به ویژه در مبتلایان به ایدز به کار می‌رود. در حال حاضر طبق پرتکول NCCLS از روش برات میکرو دایلوژن (microdilution broth) برای تست‌های حساسیت دارویی گونه‌های مخمری مثل کاندیدا و کریپتوکوکوس استفاده می‌شود، لیکن در زمینه مخمرهای جنس مالا‌سزیا که لیپوفیلیک هستند، کار کمتری انجام شده است؛ تا این زمان طبق اطلاعات ما چنین مطالعه ای در ایران انجام نشده است. با توجه به اهمیت مقاومت دارویی آزول‌ها در درمان عفونت‌های قارچی، آمار متفاوت میزان مقاومت دارویی گونه‌های مالا‌سزیا نسبت به این داروها در مناطق مختلف دنیا (۱۳-۸)، عدم آگاهی از میزان مقاومت دارویی گونه‌های مالا‌سزیا نسبت به کتوکونازول و فلوکونازول در ایران و با هدف تعیین حساسیت دارویی و مقایسه MFC (حداقل غلظت کشندگی ضد قارچی) و MIC90 (حداقل غلظت مهار روی ۹۰ درصد سویه‌ها) این دو دارو، در شرایط آزمایشگاهی این مطالعه انجام پذیرفت.

جدول شماره ۱: پروفیل حساسیت ضد قارچی داروهای فلوکونازول و کتوکونازول روی ۹۹ ایزوله از گونه های مالاسزیا

گونه های مالاسزیا			MIC (µg/ml)	
عوامل ضد قارچی			MIC90	دامنه
M. globosa (۴۲ ایزوله)				
فلوکونازول	۰/۵-۳۲	۱۶	<۸	
کتوکونازول	۰/۰۳-۱	۰/۲۵	<۰/۱۲۵	
M. furfur (۳۹ ایزوله)				
فلوکونازول	۱-۳۲	۱۶	<۸	
کتوکونازول	۰/۰۳-۱	۰/۵	<۰/۲۵	
M. obtusa (۱۰ ایزوله)				
فلوکونازول	۰/۵-۸	۴	<۴	
کتوکونازول	۰/۰۳-۰/۵	۰/۵	<۰/۱۲۵	
M. sympodialis (۶ ایزوله)				
فلوکونازول	۰/۵-۳۲	۱۶	<۸	
کتوکونازول	۰/۰۳-۱	۰/۲۵	<۰/۱۲۵	
M. slooffiae (۲ ایزوله)				
فلوکونازول	۲-۸	۸	<۴	
کتوکونازول	۰/۱۲۵-۰/۲۵	۰/۲۵	<۰/۱۲۵	

MIC: حداقل غلظت مهار

MIC90: حداقل غلظت مهار که ۹۰ درصد ایزوله ها را مهار می کند.

جدول شماره ۲: مقایسه MFC، MIC50 و MIC90 غلظت های مختلف کتوکونازول روی ۹۹ ایزوله از گونه های مالاسزیا

کتوکونازول µg/ml	MFC تعداد (درصد)	MIC50 تعداد (درصد)	MIC90 تعداد (درصد)
۲	۳ (۳)	-	-
۱	۱۶ (۱۶/۲)	۱ (۱)	۳ (۳)
۰/۵	۳۸ (۳۸/۴)	۳ (۳)	۱۶ (۱۶/۲)
۰/۲۵	۱۹ (۱۹/۲)	۱۶ (۱۶/۲)	۳۸ (۳۸/۴)
۰/۱۲۵	۲۰ (۲۰/۲)	۳۷ (۳۷/۴)	۱۹ (۱۹/۲)
۰/۰۶	۳ (۳)	۱۹ (۱۹/۲)	۲۰ (۲۰/۲)
۰/۰۳	-	۲۰ (۲۰/۲)	۳ (۳)
۰/۰۱۵	-	۳ (۳)	-
جمع	۹۹ (۱۰۰)	۹۹ (۱۰۰)	۹۹ (۱۰۰)

MIC50: حداقل غلظت مهار که باعث مهار ۵۰ درصد ایزوله ها می گردد

MFC: حداقل غلظت کشندگی قارچی

جدول شماره ۳: مقایسه MFC، MIC50 و MIC90 غلظت های مختلف فلوکونازول روی ۹۹ ایزوله از گونه های مالاسزیا

فلوکونازول µg/ml	MFC تعداد (درصد)	MIC50 تعداد (درصد)	MIC90 تعداد (درصد)
۶۴	۶ (۶/۱)	-	-
۳۲	۱۲ (۱۲/۱)	-	۶ (۶/۱)
۱۶	۴۹ (۴۹/۵)	۶ (۶/۱)	۱۲ (۱۲/۱)
۸	۲۴ (۲۴/۲)	۱۹ (۱۹/۲)	۴۸ (۴۸/۵)
۴	۷ (۷/۱)	۳۸ (۳۸/۴)	۲۴ (۲۴/۲)
۲	۱ (۱)	۲۷ (۲۷/۳)	۷ (۷/۱)
۱	-	۷ (۷/۱)	۱ (۱)
۰/۵	-	۲ (۲)	۱ (۱)
جمع	۹۹ (۱۰۰)	۹۹ (۱۰۰)	۹۹ (۱۰۰)

و MFC با توجه به کنترل تعیین شد (۹،۱۰). اطلاعات جمع آوری شده با استفاده از آمار توصیفی و با به کارگیری آزمون من-ویتی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها

ایزوله های جدا شده به ترتیب ۴۲/۴ درصد مالاسزیا فورفور، ۴۲/۴ درصد مالاسزیا گلوبوزا، ۱۰/۱ درصد مالاسزیا ابتوزا، ۶/۱ درصد مالاسزیا سیمپودیالیس و ۲/۰۲ درصد مالاسزیا اسلوفیه بود. پروفیل حساسیت ضد قارچی داروهای فلوکونازول و کتوکونازول روی ۹۹ ایزوله از گونه های مالاسزیا در جدول شماره ۱ ارائه شده است. مقایسه MFC، MIC50 و MIC90 کتوکونازول و فلوکونازول در جدول شماره ۲ و ۳ نشان داده شده است.

MFC داروی کتوکونازول در محدوده غلظت ۰/۰۶-۲ میکروگرم در میلی لیتر بود. بیشترین ایزوله ها (۳۸/۵ درصد) دارای MFC ۰/۵ میکروگرم در میلی لیتر بودند. MFC فلوکونازول در محدوده ۲-۶۴ میکروگرم در میلی لیتر بود. بیشترین ایزوله ها (۴۹/۵ درصد) دارای MFC ۱۶ میکروگرم در میلی لیتر بودند. MIC90 داروی کتوکونازول در محدوده ۰/۰۳-۱ میکروگرم در میلی لیتر تعیین شد که بیشترین ایزوله ها (۳۸/۴ درصد) دارای MIC90 ۰/۲۵ میکروگرم در میلی لیتر بودند. MIC90 فلوکونازول در محدوده ۰/۵-۳۲ میکروگرم در میلی لیتر تعیین شد که بیشترین ایزوله ها (۴۸/۵ درصد) دارای MIC90 ۸ میکروگرم در میلی لیتر داشتند.

بحث

در مطالعه ما MIC کتوکونازول برای گونه های مالاسزیا کمتر از ۰/۰۳-۱ µg/ml بود. در مطالعه Hammer و همکاران روی ۵۴ ایزوله ی مالاسزیا تست شده، دامنه ی کتوکونازول ۰/۲۵-۰/۰۳ µg/ml بود. این

بررسی نشان داد که کتوکونازول موثرترین ایمیدازول است و این حساسیت نسبت به دارو با نوع گونه متفاوت بود (۸). نتایج ما مشابه اطلاعات ارائه شده توسط Gupta و همکاران بوده که MIC کتوکونازول کمتر از $0.03 \mu\text{g/ml}$ را برای ۹۵ درصد ایزوله‌های آزمایش شده، گزارش نموده است (۱۰). بر طبق مطالعه Strippoli و همکاران در سال ۱۹۹۷ حساسیت گونه‌های مالاسزیا نسبت به داروی فلوکونازول دارای دامنه MIC محدوده $0.03 - 0.25$ میکروگرم در میلی‌لیتر بوده و کتوکونازول موثرترین دارو در برابر ایزوله‌های M. furfur بود (۱۱) در مطالعه ما MIC₉₀ کتوکونازول برای گونه‌های مالاسزیا کمتر از فلوکونازول بود. $96/7$ درصد از گونه‌های مالاسزیا دامنه‌ی MIC₉₀ کمتر از 0.5 تا 0.03 میکروگرم در میلی‌لیتر را در برابر کتوکونازول نشان دادند. در $38/4$ درصد از گونه‌های مالاسزیا MIC₉₀ برابر با $0.25 \mu\text{g/ml}$ برای کتوکونازول بود. مطالعه Miranda و همکاران روی حساسیت داروهای کتوکونازول و فلوکونازول روی ۹۵ ایزوله مالاسزیا، نشان داد که دامنه MIC در محدوده $0.03 - 0.4$ میکروگرم در میلی‌لیتر برای کتوکونازول و بین 125 و بیشتر از 64 میکروگرم در میلی‌لیتر برای فلوکونازول بود (۱۵) آنها MIC فلوکونازول را بیشتر از سه آزمون مورد آزمایش گزارش نمودند و دامنه‌ی آن را بین 0.125 و بیشتر از 64 نشان دادند. اگرچه فلوکونازول داروی انتخابی و موثر در درمان پیتیریاژیس و رسیکالرمی باشد (۱۶) ولی مطالعه Hammer و همکاران نشان داد که کتوکونازول نسبت به فلوکونازول تاثیر بیشتری در درمان پیتیریاژیس و رسیکال دارد (۸). در مطالعه ما MIC فلوکونازول بیشتر بوده و دامنه‌ی آن کمتر از $32 - 0.5$ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. در مجموع $12/1$ درصد از ایزوله‌های مالاسزیا MIC₉₀ 16 میکروگرم در میلی‌لیتر برای فلوکونازول نشان دادند، در صورتی که در $48/5$ درصد از ایزوله‌ها MIC₉₀ 8 میکروگرم در میلی‌لیتر بودند. Garau و همکاران با بررسی 170 ایزوله، از 4 گونه‌ی

مالاسزیا، نسبت به 5 داروی کتوکونازول، فلوکونازول، ایتراکونازول، 5 -فلوروسایتوزین و وریکونازول نشان دادند که دامنه MIC برای کتوکونازول و فلوکونازول به ترتیب کمتر از 0.03 و $0.4 - 0.25$ میکروگرم در میلی‌لیتر می‌باشد (۱۲). Sugita و همکاران حساسیت گونه‌های مالاسزیا را در برابر کتوکونازول، فلوکونازول، ایتراکونازول و وریکونازول مورد ارزیابی قرار دادند، نتایج نشان داد که دامنه‌ی حساسیت سه داروی کتوکونازول، ایتراکونازول و وریکونازول بین 0.016 تا 0.25 میکروگرم در میلی‌لیتر بود در حالی که دامنه داروی فلوکونازول بین $0.5 - 0.05$ میکروگرم در میلی‌لیتر بود (۱۳). مقایسه تاثیر دو داروی ضد قارچی با اهمیت کتوکونازول و فلوکونازول، روی گونه‌های مالاسزیا نشان داد که MFC کتوکونازول در محدوده غلظت $2 - 0.06$ میکروگرم در میلی‌لیتر بوده در حالی که این دامنه حساسیت برای فلوکونازول $64 - 2$ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. بالاترین میزان MFC برای کتوکونازول و فلوکونازول به ترتیب 0.5 و 16 میکروگرم در میلی‌لیتر برای اکثریت ایزوله‌ها بود. در این مطالعه MIC₉₀ برای 80 درصد ایزوله‌ها نسبت به کتوکونازول در محدوده $0.03 - 0.25$ میکروگرم در میلی‌لیتر بود و این یافته با نتایج مطالعات Gupta، Sugita و Miranda همخوانی دارد (۱۵، ۱۰، ۱۳). نتایج این مطالعه نشان داد که کتوکونازول MIC کمتری نسبت به فلوکونازول در شرایط آزمایشگاهی دارد؛ پس احتمالاً در درمان نتیجه بهتری خواهد داشت. در تحقیق حاضر MIC₉₀ نسبت به داروی کتوکونازول بین گونه‌های فورفور و گلوبوزا که اکثریت ایزوله‌های جدا شده را تشکیل داده بود، در دامنه غلظت‌های پایین‌تر ($0.125 - 0.03$ میکروگرم در میلی‌لیتر) اختلاف معنی‌داری داشت ($P = 0.024$)، و حساسیت گونه فورفور نسبت به کتوکونازول در مقایسه با گونه گلوبوزا کمتر بود که این نتایج با سایر مطالعات مشابهت دارد (۸). حساسیت نسبت به داروی فلوکونازول در دو گونه فورفور و گلوبوزا اختلاف معنی‌دار نداشت که این امر

مصرف بیش از اندازه دارو و جلوگیری از ایجاد مقاومت های دارویی ناخواسته کمک فراوانی خواهد کرد. تحقیق حاضر نشان می دهد که توانایی مهار رشد گونه های مالاسزیا از داروی کتوکانازول به فلوکانازول کاهش می یابد همچنین این نتایج نشان می دهد که حساسیت نسبت به داروهای فوق در قارچ مالاسزیا وابسته به سویه می باشد. مقایسه دو دارو در شرایط آزمایشگاهی روی گونه های مالاسزیا نشان داد که کتوکانازول در شرایط آزمایشگاهی موثرتر از فلوکانازول می باشد.

سپاسگزاری

از کلیه ی بیماران که اجازه دادند تا این تحقیق انجام شود، نهایت تقدیر و تشکر را داریم. از معاون محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان جهت تصویب این طرح تحقیقاتی قدردانی می گردد.

References

1. Salah SB, Makni F, Marrakchi S, Sellami H, Cheikhrouhou F, Bouassida S, et al. Identification of *Malassezia* species from Tunisian patients with pityriasis versicolor and normal subjects. *Mycoses* 2005; 48: 242-245.
2. Morishita N, Sei Y, Sugita T. Molecular analysis of *Malassezia* microflora from patients with pityriasis versicolor. *Mycopathologia* 2006; 161: 61-65.
3. Tarazooie B, Kordbacheh P, Zaini F, Zomorodian K, Saadat F, Zeraati H, et al. Study of the distribution of *Malassezia* species in patients with pityriasis versicolor and healthy individuals in Tehran, Iran. *BMC Dermatol* 2004; 4: 5.
4. Fauchet NC, Botterel F, Legrand P, Guillot J, Bretagne S. Frequency of intravascular catheter colonization by *Malassezia* spp. in adult patients. *Mycoses* 2004; 47: 491-494.
5. Giusiano G, Mangiaterra M, Saito VG, Rojas F, Gomez V, Diaz MC. Etiology of fungaemia and catheter colonization in Argentinean pediatric patients. *Mycoses* 2006; 49:49-54.
6. Gu'cho E, Midgley G, Guillot J. The genus *Malassezia* with description of four new species. *Antonie Van Leeuwenhoek* 1996; 69: 337-355.
7. Sugita T, Tajima M, Ito T, Saito M, Tsuboi, Nishikwa A. Antifungal activities of tacrolimus and azole agents against the eleven currently accepted *Malassezia* species. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 2824-2829.
8. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. In vitro activities of ketoconazole, econazole, miconazole, and *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil against *Malassezia* species. *Antimicrob Agents Ch* 2000; 44(2): 467-469.
9. Uchida Y, Nakade T, Kitazawa K. In vitro activity of five antifungal agents against

می تواند ناشی از حساسیت متغیر ایزوله های مختلف باشد. میانگین غلظت MIC90 نسبت به داروی فلوکانازول $8/8 \pm 7$ و نسبت به کتوکانازول $0/24 \pm 0/2$ بود که این اختلاف از نظر آماری معنی دار بود ($P < 0/001$). (با آزمون کلموگروف-اسپیرونف نرمال بودن توزیع رد شد و لذا از آزمون من-وینتی استفاده شد). بدین معنی که کتوکانازول در غلظت های کمتری موثر بوده است و به عبارت دیگر حساسیت بیشتری نسبت به کتوکانازول در مقایسه به فلوکانازول داشت.

با توجه به آثار جانبی و سوء داروهای خانواده آزول بر میزبان، به ویژه در مصرف مقادیر بالا و دوره های زمانی طولانی، تعیین حساسیت دارویی ایزوله ها و گونه های مختلف مالاسزیا به منظور انتخاب بهترین دارو و حداقل دوز دارویی موثر بر مالاسزیا اجتناب ناپذیر است. این امر به کوتاه شدن دوره درمان، پرهیز از

- Malassezia pachydermatis*. Nippon Juigaku Zasshi 1990; 52(4): 851-853.
10. Gupta AK, Kohli Y, Li A, Faergemann J, Summerbell RC In vitro susceptibility of the seven *Malassezia* species to ketoconazole, voriconazole, itraconazole and terbinafine. Br J Dermatol 2000; 142(4): 758-765.
 11. Strippoli V, Piacentini A, D'Auria FD, Simonetti N. Antifungal activity of ketoconazole and other azoles against *Malassezia furfur* in vitro and in vivo. Infection 1997; 25(5): 303-306.
 12. Miranda KC, De Araujo CR, Costa CR, Passos XS, De Fátima Lisboa Fernandes O, do Rosário Rodrigues Silva M. Antifungal activities of azole agents against the *Malassezia* species. Int J Antimicrob Agents 2007; 29(3): 281-284.
 13. Garau M, Pereiro MJR, Del Palacio A. In vitro susceptibilities of *Malassezia* species to a new triazole, albaconazole (UR-9825), and other antifungal compounds. Antimicrob Agents Ch 2003; 47(7): 2342-2344.
 14. Sugita T, Tajima M, Ito T, Saito M, Tsuboi R, Nishikawa A. Antifungal activities of tacrolimus and azole agents against the eleven currently accepted *Malassezia* species. J Clin Microbiol 2005; 43(6): 2824-2829.
 15. National committee for clinical laboratory students. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard. M27-A2. Wayne, PA: NCCLS; 2002.
 16. Nakamura Y, Kano R, Murai T, Watanabe S, Hasegawa A. Susceptibility testing of *Malassezia* species using the urea broth microdilution method. Antimicrob Agents Ch 2000; 44: 2185-2186.