



# تعیین میزان شیوع دنچراستوماستیس کاندیدائی (*Candidian Denture stomatitis*) و بررسی حساسیت آنها به

## داروهای ضد قارچ

سیدمسعود هاشمی کروئی<sup>۱</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۴/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۱۱

### چکیده

وجود و یا ورود کاندیدا در دهان به همراه عوامل زمینه ساز مختلف در ایجاد دنچراستوماستیس کاندیدائی نقش دارند. انواعی از کاندیدا بخصوص کاندیدا آلبیکنس قادر به ایجاد آن می باشند که در درمان نسبت به داروهای ضد قارچ واکنش های متفاوت نشان می دهند. هدف از این تحقیق تعیین میزان شیوع دنچراستوماستیس کاندیدائی و تعیین حساسیت آنها نسبت به داروهای ضد قارچ بوده که با آزمون های آزمایشگاهی به روش انتشار در ژل با استفاده از دیسک انجام شد. در این تحقیق از ۴۳ نمونه تهیه شده از افراد دچار دنچراستوماستیس در ۲۰ نمونه (۴۶/۵۱٪) مخمر کاندیدا جدا و شناسائی شد که ۱۳ نمونه (۶۵٪) کاندیدا آلبیکنس، ۴ نمونه (۲۰٪) کاندیدا کروزه ای، ۱ نمونه (۵٪) کاندیدا تروپیکالیس و ۲ نمونه (۱۰٪) سایر کاندیدا بوده است. در این مطالعه تحقیقاتی با مقایسه میانگین های قطر هاله ممانعت از رشد انواع کاندیدا بر اساس نوع داروی ضد قارچ با آزمون دانکن مشخص شده است که داروی ضد قارچ تربینافین با میانگین قطر هاله ممانعت از رشد  $4/52 \pm 34/15$  میلی متر و گریزوفلووین با میانگین قطر هاله ممانعت از رشد برابر با  $6/40 \pm 8/25$  میلی متر بترتیب بیشترین و کمترین اثر ضد قارچی را داشته و این تفاوت با  $P < 0/001$  معنی دار بوده است.

واژه های کلیدی: میزان بروز، دنچراستوماستیس کاندیدائی، دندانپزشکی، داروهای ضد قارچ

### مقدمه

مخمر کاندیدا یکی از عوامل میکروبی می باشد که در بدو تولد از مادر به حفره دهان نوزاد وارد شده و تا مدتهای زیادی در دهان تحت عنوان فلور طبیعی فعالیت می نماید. بر همین اساس کاندیدا آلبیکنس فلور طبیعی ۶۰-۴۰ درصد از افراد سالم می باشد و در شرایط نرمال ایجاد بیماری نمی کند و برای میزان خود مفید می باشد (۹ و ۸). در ۷/۱ درصد نوزادان در روز تولد کاندیدا وارد حفره دهانی شده کلونیزه می شود و بعد از یک ماه این میزان به ۹۶٪ افزایش می یابد. رشد روی سطوح بیولوژیکی از ویژگیهای زندگی طبیعی کاندیدا می باشد و خصوصیات میزان تعیین می کند که کاندیدا کمومنسال باقی بماند یا بیماریزا گردد (۹ و ۴).

۱. استادیار گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، ایران

\* (نویسنده مسئول: mssepid4977@gmail.com)

در بیماریزائی کاندیدا ایمنی میزبان، عملکرد پوست و مخاط و وضعیت فلور نرمال بدن میزبان موثر می‌باشند (۱۳ و ۸). در مواقعی که به هر دلیلی مثلاً با پروتز دندان (Denture) این تعادل بهم بخورد ایجاد عفونت و بیماری می‌کند. تحقیقات نشان داده که بیشتر از ۷۰-۸۰ درصد افرادی که در دهان کاندیدا را بصورت فلور دارند با دریافت پروتز به کاندیدیاژ دچار می‌شوند (۹ و ۸). معمولاً در چسبیدن میکروارگانیزم‌های وارد شده به دهان جریان بزاق و حرکات زبان باعث کاهش چسبیدن و کلونیزاسیون میکروارگانیزم در دهان می‌شود. بنابراین در حالت نرمال و سلامت فعالیت مخمر وارد شده به دهان تحت کنترل عوامل مختلفی بوده که برآیند آنها کنترل رشد مخمر و به دنبال آن مهار تکثیر زیاد و ایجاد بیماری می‌باشد. اختلالات فیزیکی و مکانیکی وارد شده به مخاط دهان یکی از مهمترین عوامل موثر در ایجاد تغییرات واکنش‌های مخاطی است که از مهمترین آنها می‌توان به پروتز در حفره دهان اشاره نمود. نصب پروتز از یک طرف با تحریک تولید و ترشح موکوس در سلولهای مخاطی و از طرف دیگر با ایجاد زخم در لثه زمینه را برای فعالیت بیشتر انواعی از میکروارگانیزم‌ها مساعد نموده و در لثه دنچراستوماتیس (Denture stomatitis) ایجاد می‌شود (۱۶ و ۱۳ و ۸).

اگر چه کاندیدا آلبیکنس در اکثر مواقع عامل ایجاد بیماری می‌باشد، ایجاد بیماری توسط گونه‌های غیر آلبیکنس در حال افزایش می‌باشد که ممکن است مربوط به بیماریها و تضعیف ایمنی بدن، مصرف زیاد و بی رویه آنتی بیوتیک‌های وسیع الطیف و یا پیری باشد (۵).

از آنجائیکه کاندیداهای غیر آلبیکنس در برابر داروهای ضد قارچ واکنشی متفاوتی نشان داده و مقاوم تر از آلبیکنس می‌باشند افزایش شیوع عفونت‌های ایجاد شده توسط غیر آلبیکنس نگران کننده می‌باشد. بعنوان مثال کاندیدا تروپیکالیس نسبت به آلبیکنس حساسیت کمتری نسبت به فلوکونازول دارد و یا کاندیدا گلابراتا به اکثر داروهای ضد قارچ بخصوص فلوکونازول مقاوم می‌باشد. کاندیدا کروزه‌ای ذاتاً به فلوکونازول مقاوم می‌باشد لذا عامل اصلی عفونت در مواقعی که از فلوکونازول برای پیشگیری استفاده می‌شود می‌باشد. انواع کاندیدها قادر به ایجاد این نوع اختلال بوده که به درمان با داروهای ضد قارچ واکنش‌های مختلف نشان می‌دهند (۲). لذا هدف از این تحقیق تعیین میزان شیوع دنچراستوماتیس کاندیدائی در بیماران مراجعه کننده به مراکز دندان پزشکی شهرستان کرج و تعیین حساسیت آنها به داروهای ضد قارچی بوده است.

## مواد و روش کار

### انتخاب نمونه و نمونه گیری

برای این مرحله بعد از شناسائی مراکز دندانپزشکی، از بین آنها بشکل تصادفی چند مرکز انتخاب شد. بعد از انتخاب مراکز دندانپزشکی با هماهنگی با دندانپزشکان محترم و شناسائی بیماران دارای اختلال دنچراستوماتیس ۴۳ بیمار دارای این اختلال

شناسائی و برای تحقیق انتخاب شدند. بعد از انتخاب این بیماران و مراجعه آنها به مرکز دندان پزشکی مربوطه در همان مرکز بوسیله سواب استریل از سطح لثه دارای اختلال نمونه گرفته و در محیط‌های کشت سابورو دکستروز آگار دارای کلرام فنیکل (SC) و سابورو دکستروز آگار دارای کلرام فنیکل و سیکلوهمگزامید (SCC) بطور جداگانه تلقیح و بعد از انتقال به آزمایشگاه، بشکل خطی چند مرحله‌ای کشت داده و انکوبه شدند.

### آماده سازی محیط کشت

محیط‌های کشت سابورو دکستروز آگار دارای کلرام فنیکل (SC) و سابورو دکستروز آگار دارای کلرامفنیکل و سیکلوهمگزامید مورد نیاز در این تحقیق بعد از اتوکلاو با اضافه کردن مقدار ۵۰ میلی گرم در لیتر کلرام فنیکل تهیه شده از کمپانی اپلیکم کشور آلمان (Germany Aplichem- A1806) و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر سیکلوهمگزامید تهیه شده از کمپانی سروا کشور آمریکا (USA Serva- 10700.C4) به محیط آماده شد. در این ارتباط ابتدا کلرامفنیکل را در ۱۰ سی سی الکل و سیکلو همگزامید را در ۱۰ سی سی استون حل کرده بعد به محیط اضافه گردید (۱۴).

### تشخیص بیماری

بعد از انکوباسیون محیط‌های SC و SCC از نظر رشد مخمرها مورد بررسی قرار گرفته و در ارتباط با تشخیص وجود عفونت ایجاد شده توسط مخمرها قضاوت شد. برای این کار در نمونه‌هایی که در SC و SCC رشد مخمر و ایجاد کلنی صورت گرفت با مشاهده میکروسکوپی و ماکروسکوپی وجود بیماری تشخیص داده شد. بعد از تأیید وجود بیماری، تشخیص نوع مخمر عامل بیماری در مراحل زیر صورت گرفت.

### مشاهده ماکروسکوپی

در دو محیط SC و SCC از نظر ماکروسکوپی کلنی‌های ایجاد شده از نظر مخمرها با مشخصه کلنی‌ها مخاطی کوچک و بزرگ گرد و برآمده مورد بررسی قرار گرفتند.

### مشاهده میکروسکوپی

از کلنی ایجاد شده در سطح لام میکروسکوپی گسترش تهیه نموده بعد از رنگ آمیزی با متیلن بلو وجود مخمرها بررسی شد.

## تشخیص هویت مخمرها

### ایجاد کلامیدوکونیدی در مخمر جدا شده

یکی از مشخصه بارز کاندیدا آلبیکنس قدرت تولید کلامیدوکونیدی در محیط کورن میل آگار دارای یک درصد توئین ۸۰ می‌باشد. برای این کار ابتدا محیط کورن میل آگار دارای ۱ درصد توئین ۸۰ را در پلیت تهیه نموده و از کلنی مخمر ایجاد شده در سابورو دکستروز آگار در شرایط استریل به کورن میل آگار مربوطه تلقیح از آن بشکل خطی کشت تهیه و در ۲۵-۳۰ درجه سانتی گراد انکوبه نموده بعد از انکوباسیون از آن لام میکروسکوپی تهیه کرده و با رنگ آمیزی ایجاد کلامیدوکونیدی در مخمر مربوطه بررسی شد. در این روش کلامیدوکونیدی متورم یا وزیکول‌ها ی بزرگ در انتها، اطراف و وسط مسیلیوم‌های کاذب قابل مشاهده می‌شوند. در روش دیگر بشکل خطی از کاندیدای مشکوک در محیط کورن میل آگار دارای ۱ درصد توئین ۸۰ کشت تهیه نموده روی آن لامل گذاشته بعد از انکوباسیون لامل را به آرامی برداشته آن را روی لام دارای یک قطره لاکتوفنل قرار داده تشکل کلامیدوکونیدی بررسی شد.

### تشکیل جرم تیوپ یا لوله زایا یا پدیده RB

از دیگر خصوصیات اختصاصی کاندیدا آلبیکنس ایجاد لوله زایا می‌باشد. برای مشاهده آن از کلنی مخمر جدا شده در نیم سی سی سرم استریل داخل لوله آزمایش تلقیح کرده سوسپانسیون حاصله ۳-۲ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. پس از انکوباسیون قطره‌ای از آن روی لام گذاشته به آن یک قطره لاکتوفنل اضافه نموده روی آن لامل گذاشته بررسی میکروسکوپی صورت گرفت توانائی ایجاد لوله زایا در مخمر بررسی گردید. جرم تیوپ لوله زایائی است که دیواره موازی دارد و نباید با پسودوهایف اشتباه شود.

### انجام تست تخمیر قندها

بعد از خالص سازی مخمر عامل بیماری، با استفاده از محیط کشت مایع فنل رد دارای ۲۰ درصد قندهای گلوکز، مالتوز، ساکاروز، لاکتوز، گالاکتوز و ترهالوز به همراه لوله دورهام قدرت تخمیر قندهای اشاره شده در هر مخمر بطور جداگانه بررسی شد.

### کشت انواع کاندیدای جدا شده در محیط کشت کروم آگار

با توجه به اینکه انواع کاندیدا در این محیط کلنی‌هائی به رنگ‌های مختلف ایجاد می‌نمایند این محیط کشت ارزش تشخیصی

دارد. در این محیط کشت معمولا کاندیدا آلبیکنس کلنی‌هایی به رنگ سبز، کاندیدا کروزه‌ای به رنگ صورتی، کاندیدا تروپیکالیس به رنگ آبی، کاندیدا کفیر و کلابراتا بزرگ بنفش تا قهوه‌ای و سایر کاندیدا کلنی بزرگ سفید تا بنفش ایجاد می‌نمایند.

### تست تعیین حساسیت مخمرها به داروهای ضد قارچ به روش دیسک

در این تست از دیسک‌های دارای ۱۰ میلی گرم تربینافین، ۴ میلی گرم فلوکونازول، ۵۰۰۰ واحد نیستاتین، ۴ میلی گرم ایتراکونازول، ۵ میلی گرم گریزوفولوین، ۰/۴ میلی گرم میکونازول، ۰/۴ میلی گرم کتوکونازول و ۰/۲ میلی گرم کلوتریمازول استفاده شد. برای انجام تست ابتدا ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند کاندیدای شناسایی شده به سابورو دکستروز آگار کشت سفره‌ای تهیه شد. دیسک‌های آماده شده روی محیط قرار داده شد. بعد از ۲۴-۴۸ ساعت انکوباسیون در ۳۰ درجه سانتی‌گراد با اندازه‌گیری قطر هاله‌های ممانعت از رشد ایجاد شده حساسیت یا مقاومت کاندیدا مورد بررسی قرار گرفت (۱۵).

### نتایج

در تحقیق مربوطه از ۴۳ نمونه سوآب کشت داده شده در محیط کشت سابورو دکستروز آگار دارای کلرام فنیکل و سیکلوهمگزامید با هم (SCC) هیچ مخمری رشد نکرده است، اما در محیط کشت سابورو دکستروز آگار دارای کلرام فنیکل از ۴۳ نمونه وارد شده به محیط کشت در ۲۰ نمونه (۴۶/۵۱٪) رشد مخمر مشاهده شد. بعبارت دیگر در ۲۰ بیمار دارای علائم دنچراستئوماتیس رشد مخمر وجود داشته وجود بیماری تأیید شد. بعد از جداسازی مخمرها ابتدا بر اساس شماره‌های انتخابی برای نمونه بیمار به آنها یک کد اختصاص داده شد تا با انجام تست‌های تشخیصی شناسایی صورت گیرد (جدول ۱). این نمونه‌های مثبت ابتدا تحت عنوان مخمرهای ۳، ۴، ۵، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۲۰، ۲۱، ۲۳، ۲۵، ۳۰، ۳۲، ۳۳، ۳۶، ۳۷، ۴۰ و ۴۳ نام‌گذاری شدند. در ادامه با انجام تست‌های تشخیصی اشاره شده مشخص شد که از ۲۰ نمونه مخمر جدا شده، ۱۳ نمونه مخمر (۶۵٪) کاندیدا آلبیکنس، ۴ نمونه مخمر (۲۰٪) کاندیدا کروزه‌ای، ۱ نمونه مخمر (۵٪) کاندیدا تروپیکالیس و ۲ نمونه مخمر (۱۰٪) سایر کاندیدا تشخیص داده شد (جدول ۲). در ۲۳ نمونه (۵۳/۴۹٪) از دنچراستئوماتیس رشد مخمری دیده نشده است.

در این مطالعه تحقیقاتی با مقایسه میانگین‌های قطر هاله ممانعت از رشد انواع کاندیدا بر اساس نوع داروی ضد قارچ مشخص شده است که داروی ضد قارچ تربینافین با میانگین قطر هاله ممانعت از رشد  $4/52 \pm 34/15$  میلی متر و داروی ضد

قارچ گریزوفولویین با میانگین قطر هاله ممانعت از رشد برابر با  $6/40 \pm 8/25$  میلی متر به ترتیب بیشترین و کمترین اثر ضد قارچی را داشته و این تفاوت با  $P_v < 0.001$  معنی دار بوده است (جدول ۳).

درمقایسه میانگین‌های قطر هاله ممانعت از رشد بر اساس نوع کاندیدا، اگرچه داروی تربینافین با قطر هاله ممانعت از رشد متفاوت روی انواع کاندیدا موثر بوده است اما این تفاوت بین قارچ‌های مختلف معنی دار نبوده است.

درمقایسه میانگین‌های قطر هاله ممانعت از رشد بر اساس نوع کاندیدا، در ارتباط با داروی فلوکونازول تفاوت معنی‌داری ( $P_v = 0.04$ ) وجود دارد و کاندیدا آلبیکنس ۱۵ و کاندیدا آلبیکنس ۲۵ حساسترین گونه و کاندیدا کروزه ای ۱۰ و کاندیدا آلبیکنس ۳۰ مقاومترین گونه به این دارو بوده اند.

درمقایسه میانگین‌های قطر هاله ممانعت از رشد بر اساس نوع کاندیدا، در ارتباط با داروی نیستاتین تفاوت معنی‌داری ( $P_v = 0.039$ ) وجود دارد و کاندیدا آلبیکنس ۱۵ حساسترین گونه بود.

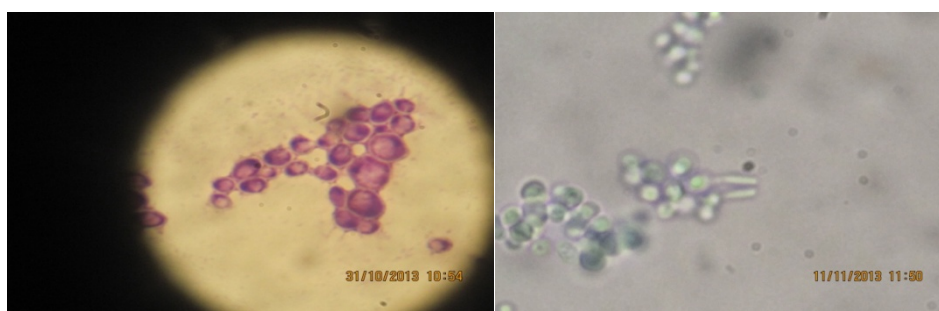
در آنالیز داروی ایتراکونازول ۲ تفاوت معنی‌داری ( $0.033$ ) وجود دارد و کاندیدا آلبیکنس ۵ حساسترین گونه بود.

در آنالیز داروی گریزوفولویین ۵ تفاوت معنی‌داری ( $0.05$ ) وجود دارد و کاندیدا spp1 حساسترین گونه بود.



تصویر ۲: کلنی کاندیدا کروزه ای ۲۰ در محیط کشت sc

تصویر ۱: کلنی کاندیدا آلبیکنس ۴ در محیط کشت sc



تصویر ۴: کلامیدوکونیدی در کاندیدا آلبیکنس ۴

تصویر ۳: جرم تیوپ در کاندیدا آلبیکنس ۴



تصویر ۵: تعیین حساسیت کاندیدا آلبیکنس ۴۳ به انواع داروهای ضد قار

جدول ۱: نتایج تشخیصی نمونه‌های تهیه شده از بیماران دارای علائم دنچراستئوماتیس

نمونه	رشد در SC	رشد در SCC	تولید لوله زایا	تولید کلامیدوکونیدی	رنگ کلنی در کروم آگار	تشخیص نهایی
۱	-	-	-	-		منفی
۲	-	-	-	-		منفی
۳	+	-	-	-	سفید	سایر کاندیدا
۴	+	-	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس ۴
۵	+	-	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس ۵
۶	-	-	-	-		منفی
۷	-	-	-	-		منفی
۸	-	-	-	-		مهمی
۹	-	-	-	-		منفی
۱۰	+	-	-	-	صورتی	کاندیدا کروزه ای ۱۰
۱۱	+	-	+	-	سفید	کاندیدا آلبیکنس ۱۱
۱۲	+	-	-	-	سفید	سایر کاندیدا
۱۳	-	-	-	-		منفی
۱۴	-	-	-	-		منفی
۱۵	+	-	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس ۱۵
۱۶	+	-	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس ۱۶
۱۷	+	-	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس ۱۷
۱۸	-	-	-	-		منفی
۱۹	-	-	-	-		منفی
۲۰	+	-	-	-	صورتی	کاندیدا کروزه ای ۲۰
۲۱	+	-	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس ۲۱
۲۲	-	-	-	-		منفی
۲۳	+	-	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس ۲۳
۲۴	-	-	-	-		منفی



نمونه	رشد در SC	رشد در SCC	تولید لوله زایا	تولید کلامیدوکونیدی	رنگ کلنی در کروم آگار	تشخیص نهائی
۲۵	+	-	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس ۲۵
۲۶	-	-	-	-		منفی
۲۷	-	-	-	-		منفی
۲۸	-	-	-	-		منفی
۲۹	-	-	-	-		منفی
۳۰	+	-	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس ۳۰
۳۱	-	-	-	-		منفی
۳۲	+	-	-	-	صورتی	کاندیدا کروزه ای ۳۲
۳۳	+	-	-	+	آبی	کاندیدا تروپیکالیس
۳۴	-	-	-	-		منفی
۳۵	-	-	-	-		منفی
۳۶	+	-	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس ۳۶
۳۷	+	-	-	-	صورتی	کاندیدا کروزه ای ۳۷
۳۸	-	-	-	-		منفی
۳۹	-	-	-	-		منفی
۴۰	+	-	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس ۴۰
۴۱	-	-	-	-		منفی
۴۲	-	-	-	-		منفی
۴۳	+	-	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس ۴۳
جمع	مثبت ٪	۲۰ ۴۵/۵۱	۱۴ ٪۷۰	۰ ٪۰	۱۴ ٪۷۰	
	منفی ٪	۲۳ ٪۵۳/۴۹	۷ ٪۳۰	۴۳ ٪۱۰۰	۷ ٪۳۰	

جدول ۲: فراوانی انواع کاندیدای عامل دنچراستوماتیس

کاندیدا	تعداد	٪
کاندیدا آلبیکنس	۱۳	۶۵
کاندیدا کروزه ای	۴	۲۰
کاندیدا تروپیکالیس	۱	۵
سایر کاندیدا	۲	۱۰
جمع	۲۰	۱۰۰

جدول ۲: مقایسه میانگین‌های قطر هاله ممانعت از رشد انواع کانیدها در برابر داروهای ضد قارچ با آزمون دانکن

P-Val	کلوتریمازول ۰/۱	کتوکونازول ۰/۲	میکونازول ۰/۲	گریزوفلوین ۵	ایتراکونازول ۲	نیستاتین	فلوکونازول ۴	تریبافین ۵	دارو / کانیدها
0.04	31.00±1.41b	18.00±2.83 a	25.00±1.41 a, b	24.00±0.00 a, b	19.00±9.90 a	17.00±1.41a	23.00±4.24 a, b	32.00±2.83 b	کانیدها spp1
0.33	19.00±7.86	16.50±2.12	20.00±5.65	13.00±9.99	26.00±14.14	13.00±1.41	19.00±7.07	31.00±1.41	کانیدها آلبیکنس ۴
0.32	24.00±8.48	24.00±8.48	24.50±7.78	21.00±12.73	31.50±2.12	25.00±7.07	27.00±4.24	39.00±1.41	کانیدها آلبیکنس ۵
0.08	16.00±0.00 a	16.00±2.82 a	23.00±1.41 a, b	10.00±5.66 a	17.00±8.90 a	13.00±1.41a	9.00±4.24 a	35.00±15.55 b	کانیدها کروزه ای ۱۰
<0.001	18.00±5.66 b	27.00±1.41c	27.00±1.41 c	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	19.00±1.41b	28.00±0.00 c	29.00±1.41 c	کانیدها آلبیکنس ۱۱
<0.001	14.50±0.71 b	17.50±0.71 b, c	22.00±0.00 c,d	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	20.00±0.00b,c,d	17.00±4.24 d	35.00±7.07 e	کانیدها spp2
0.01	26.00±8.48 b,c	30.00±2.82 b,c	30.50±2.12 b,c	0.00±0.00 a	24.00±8.48 b	22.00±11.31b	36.00±5.66 b,c	40.00±0.00 c	کانیدها آلبیکنس ۱۵
<0.001	23.00±1.41 c	27.00±1.41 c, d	29.00±1.41 d,e	0.00±0.00 a	17.00±1.41 b	22.50±3.53 c	31.50±2.12 d,e	33.50±2.12 e	کانیدها آلبیکنس ۱۶
<0.001	21.50±2.12 b	21.00±1.41b	12.50±0.71a	15.50±0.71 a	21.00±1.41 b	25.50±2.12c	27.50±2.12 c	34.50±0.71 d	کانیدها آلبیکنس ۱۷
0.002	15.00±1.41 a, b	19.00±1.41b, c	29.00±9.90 c,d	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	21.00±1.41 b,c,d	32.00±0.00 c	32.00±8.48 d	کانیدها کروزه ای ۲۰
0.001	20.50±3.53 b	21.50±4.95, b	29.00±1.41 c,d	14.00±1.41 a	26.00±1.41 b, c	21.50±2.12 b	32.00±2.82 c, d	35.00±1.41d	کانیدها آلبیکنس ۲۱
<0.001	16.00±0.00 a, b	17.5±2.12 b, c	25.50±2.12 d	13.00±1.41 a	20.00±0.00 c	19.00±1.41 b, c	31.00±1.41e	35.50±0.71 f	کانیدها آلبیکنس ۲۳
0.001	16.50±0.71 a	31.00±8.48 b, c	36.50±0.71 b,c	14.00±1.41 a	27.00±4.24 b	31.00±1.41 b, c	35.00±0.00 b, c	35.00±0.00 b,c	کانیدها آلبیکنس ۲۵
0.004	18.00±5.65 b	18.00±2.82 b	10.50±6.36 a,b	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	13.00±1.41 a, b	16.00±2.83 a, b	31.50±6.36 c	کانیدها آلبیکنس ۳۰
0.03	31.50±0.71 c	28.50±6.36 c	26.00±5.66 b,c	14.00±11.31 a, b	11.00±0.07 a	25.00±1.41 b, c	32.00±2.83 c	34.50±2.12 c	کانیدها کروزه ای ۳۲
0.04	15.00±1.41 b	16.50±0.71 b	19.50±2.12 c	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	22.00±0.00	29.00±1.41 d	33.50±0.71 e	کانیدها تروپیکالینس
<0.001	18.00±0.00 b, c	17.00±1.41 b	19.50±2.12 b,c	13.50±0.71 a	21.00±1.41 c	18.00±0.00 b, c	32.00±2.82 d	33.50±0.71 d	کانیدها آلبیکنس ۳۶
0.002	14.50±0.71 a, b	16.50±2.12 b, c	22.00±2.82 b,c,d	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	20.00±2.82 b, c	25.00±4.24 c,d	30.00±8.48 c,d	کانیدها کروزه ای ۳۷
0.02	18.00±2.82 a	16.00±2.82 a	24.00±5.66 a	16.00±2.82 a	18.00±2.82 a	17.50±2.12 a	23.00±9.90 a	37.00±1.41 b	کانیدها آلبیکنس ۴۰
0.006	28.50±6.36 c,d	24.00±8.48 b,c,d	30.50±3.53 d	0.00±0.00 a	13.00±9.90 a, b	16.50±0.71 a, b, c	30.50±3.53 d	36.50±0.71 d	کانیدها آلبیکنس ۴۳
<0.001	20.22±6.00 c	21.12±5.87 c	24.27±6.73 d	8.35±6.40 a	14.55±9.23 b	20.02±5.19 c	27.27±7.18 e	34.15±4.53 f	جمع

## بحث

عوامل میکروبی و فاکتورهای زیادی قادر به ایجاد دنچراستئوماتیس می‌باشند که از مهمترین آنها می‌توان به انواع باکتریها و قارچ‌ها اشاره نمود. در بین قارچ‌ها انواع مخمرها بخصوص گونه‌های مختلف کاندیدا عامل اصلی در صد زیادی از این اختلال می‌باشند. منبع اصلی کاندیدای عامل دنچراستئوماتیس، کاندیدای فلور طبیعی (Endogenous commensal flora) حفره دهانی می‌باشد و ندرتا ممکن است کاندیدای وارد شده از خارج مثلا وسایل دندانپزشکی آلوده و یا از دندانپزشک هم سبب ایجاد این بیماری شود. عوامل زمینه ساز مختلفی همراه با وجود کاندیدا در دهان در ایجاد دنچراستئوماتیس نقش دارند که از آن جمله می‌توان به وجود پروتز، عوامل تهاجمی مثل جراحی لثه، بیماریها مانند دیابت، سرطان، تزیف سیستم ایمنی بدن، قدرت بیماریزائی کاندیدا و مصرف آنتی بیوتیک‌های ضد باکتری اشاره نمود. بر همین اساس میزان شیوع دنچراستئوماتیس کاندیدائی ۶۰٪ در افراد دارای پروتز بوده که این میزان ممکن است بنا بر شرایط خاصی تا ۷۵٪ هم برسد (۱۶ و ۱).

در تحقیق انجام گرفته میزان شیوع دنچراستئوماتیس کاندیدیدائی ۴۶/۵۱٪ تعیین شده است. از آنجائیکه در دنچراستئوماتیس کاندیدائی معمولا کاندیدا به تنهایی قادر به ایجاد علائم نیست، میزان شیوع آن به عوامل اشاره شده در بالا ارتباط تنگاتنگی داشته و این امر سبب اختلاف بین میزان شیوع در تحقیقات مختلف می‌شود. مقدار و نوع رزین موجود در پروتز، وجود پلاک دندان و میزان و نوع بهداشت دهان و دندان در میزان شیوع دنچراستئوماتیس نقش دارد.

در تحقیقی که توسط پتروسکی (Pietruski) و همکاران انجام شد با میزان شیوع بالائی گونه‌های مختلف کاندیدا از حفره دهانی ۹۴٪ بیماران دارای پروتز، ۷۵٪ افراد سالم دارای پروتز و ۴۱٪ افراد دارای دندان اصلی جدا شد (۱۰ و ۱). از کاندیدای جدا شده در این تحقیق ۶۵٪ کاندیدا آلبیکنس، ۲۰٪ کاندیدا کروزه ای، ۵٪ کاندیدا تروپیکالیس و ۱۰٪ سایر کاندیدا تشخیص داده شد. (۶۵٪) کاندیدا آلبیکنس، ۴ نمونه مخمر (۲۰٪) کاندیدا کروزه ای، ۱ نمونه مخمر (۵٪) کاندیدا تروپیکالیس و ۲ نمونه مخمر (۱۰٪) سایر کاندیدا تشخیص داده شد. وب (Webb) و همکاران در تحقیق خود گزارش کردند که عامل اصلی دنچراستئوماتیس کاندیدائی، کاندیدا آلبیکنس می‌باشد ولی کاندیداهای دیگر مانند دابلینینسیس، پاراپسیلوئیدس، کروزه ای، تروپیکالیس و گلابراتا هم ممکن است سبب ایجاد آن شود (۱۶).

تحقیقی که دانیلوک (Daniluk) و همکاران با هدف تعیین میزان وقوع عفونت قارچی در افراد دارای پروتز دندان در مقایسه با بیماران بدون پروتز روی ۹۵ بیمار، ۵۷ بیمار دارای پروتز و ۳۸ بیمار فاقد پروتز انجام دادند مشخص شد در ۳۸ بیمار از ۵۷ بیمار دارای پروتز (۶۶/۷٪) کاندیدا آلبیکنس رشد نموده است در صورتیکه فقط در ۱۱ بیمار از ۳۸ بیمار بدون پروتز (۲۸/۹٪) کاندیدا آلبیکنس رشد نموده است. این تحقیق نشان می‌دهد که پروتز دندان یکی از عوامل مهم زمینه ساز برای ایجاد دنچر استئوماتیس می‌باشد (۳).

در ایجاد دنچراستوماتیس علاوه بر اینکه انواع گونه‌های کاندیدا قادر به ایجاد آن می‌باشند ممکن است انواع سروتایپ‌های کاندیدا آلبیکنس هم در ایجاد آن نقش داشته باشند که از نظر بسیاری از خصوصیات بخصوص حساسیت به داروهای ضد قارچ با هم متفاوت می‌باشند. بر همین اساس در این تحقیق درمقایسه میانگین‌های قطر هاله ممانعت از رشد فلوکونازول بر اساس نوع کاندیدا با آزمون دانکن، در ارتباط با اثر ضد قارچی داروی فلوکونازول تفاوت معنی‌داری ( $P=0/04$ ) وجود داشته و کاندیدا آلبیکنس ۱۵ و کاندیدا آلبیکنس ۲۵ حساسترین گونه و کاندیدا کروزه ای ۱۰ و کاندیدا آلبیکنس ۳۰ مقاومترین کاندیدا به این دارو بوده است. و یا درمقایسه میانگین‌های قطر هاله ممانعت از رشد بر اساس نوع کاندیدا، در ارتباط با داروی نیستاتین تفاوت معنی‌داری ( $P=0/039$ ) وجود داشته و کاندیدا آلبیکنس ۱۵ حساسترین گونه بود.

در تحقیقی که توسط متابا (Mathaba) و همکاران انجام گرفت رابطه ژنوتیپی کاندیدا آلبیکنس‌های جدا شده از بیماران دارای دنچراستوماتیس با روش هیبریدزاسیون بررسی و مشخص شد که سویه‌های مختلف کاندیدا آلبیکنس وجود داشته که ممکن است موجب دنچراستوماتیتیس شوند. در این تحقیق همچنین مشخص شد که این بیماری در نتیجه رشد زیاد و بیش از حد کاندیدا آلبیکنس کمون‌سال ایجاد می‌شود (۷). از تست تعیین حساسیت انجام گرفته و نتایج حاصل از اثر انواع داروهای ضد قارچ روی انواع کاندیدا موارد زیادی از مقاومت به انواع داروهای ضد قارچ در انواع کاندیدا مشاهده می‌شود. چندین مکانیزم مولکولی مقاومت به داروهای ضد قارچ در انواع کاندیدا آلبیکنس شناسایی شده است. یکی از انواع این مقاومت‌ها افزایش تخلیه داروهای ضد قارچ با پمپ تخلیه (Efflux pump) می‌باشد که در نتیجه بیان زیاد ژن‌های CDR1, CDR2 کد کننده پروتئین‌های انتقالی غشائی ABC، پرتئین باند شونده به ATP و پروتئین تسهیل کننده اصلی یا MDR1 ایجاد می‌شود. روش دیگر مقاومت به داروهای ضد قارچ در نتیجه جابجائی اسید آمینه در آنزیم Erg11 (لانوسترول ۱۴-آلفا دمتیلاز) می‌باشد که در سنتز غشای سیتوپلاسمی قارچ نقش اساسی دارد. این آنزیم با ژنهای ERG11, CDR1 و CDR2 بیان می‌شود (۱۲ و ۱۱).

## سپاسگزاری

این تحقیق در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن انجام گرفت و بدینوسیله از همکاری ریاست و معاونت محترم پژوهشی این واحد دانشگاهی و پرسنل آزمایشگاه میکروبیولوژی نهایت تشکر را دارم.

## منابع

- Carmen, S. , Michelangelo, P., María, C., Vincenzo E., Maurizio, B., Lucio, M. , Agostino, G., Massimo, P., Rosario, S. (2011) Candida-associated denture stomatitis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 1; 16 (2):e139-43.
- Cruciani, M. & Serpelloni, G. (2008) Management of Candida infections in the adult intensive care unit. *Expert*

- Opin Pharmacother 9: 175–191.
- Daniluk, T., Tokajuk, G., Stokowska, W., Fiedoruk, K., Ściepuk, M., Zaremba, ML., Rookiewicz, D., Cylwik-Rokicka, D., Kędra, BA., Anielska, I., Górska, M., Kędra, BR. (2006) Occurrence rate of oral *Candida albicans* in denture wearer patients. *Advances in Medical Sciences · Vol. 51. Suppl. 1.*
- Eggimann, P., Garbino, J. & Pittet, D. (2003) Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis* 3: 685–702.
- Horn, D. L., Neofytos, D., Anaissie, E. J., Fishman, J. A., Steinbach, W. J., Olyaei, A. J., Marr, K. A., Pfaller, M. A., Chang, C. H. & Webster, K. M. (2009) Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapy alliance registry. *Clin Infect Dis* 48, 1695–1703
- Sardi, J. C. O. L., Scorzoni, T., Bernardi, A. M. Fusco-Almeida and M. J. S. (2013). Mendes Giannini: *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *Journal of Medical Microbiology*. 62, 10–24
- Mathaba, L. T. G. Davies and J. R. Warmington (1995) The genotypic relationship of *Candida albicans* strains isolated from the oral cavity of patients with denture stomatitis. *J. Med. Microbiol.* - Vol. 42, 372-379.
- Ortega, M., Marco, F., Soriano, A., Almela, M., Martí'nez, J. A., Lo'pez, J., Pitart, C. & Mensa, J. (2011) *Candida* species bloodstream infection: epidemiology and outcome in a single institution from 1991 to 2008. *J Hosp Infect* 77, 157–161.
- Pfaller, M. A., Messer, S. A., Hollis, R. J., Boyken, L., Tendolkar, S., Kroeger, J. & Diekema, D. J (2009) Variation in susceptibility of bloodstream isolates of *Candida glabrata* to fluconazole according to patient age and geographic location in the United States in 2001 to 2007. *J Clin Microbiol* 47, 3185–3190.
- Pietruski, JK., Sacha, P., Zaremba, M., Gołębiewska, M., Stokowska, W. (1997) Yeast infection in denture stomatitis patients. Part I. Fungal flora assessment. *Prot Stom* 47: 197-202
- Sardi, J. C., Almeida, A. M. & Mendes Giannini, M. J. (2011) New antimicrobial therapies used against fungi present in subgingival sites – a brief review. *Arch Oral Biol* 56, 951–959.
- Staib, P., Kretschmar, M., Nichterlein, T., Kohler, G. & Morschhäuser, J (2000) Expression of virulence genes in *Candida albicans*. *Adv Exp Med Biol* 485, 167–176.
- Silva, S. Negri, M. Henriques, M. Oliveira, R. Williams, D. W. & Azeredo, J (2011). Adherence and biofilm formation of non- *Candida albicans* *Candida* species. *Trends Microbiol* 19, 241–247.
- Janelle, M. H., Sabouraud agar for fungal growth. In: Vijai K G. Maria G T., *Laboratory protocols in fungal biology* (2013) 2<sup>nd</sup> ed. Springer New York Heidelberg Dordrecht London: Springer pp 211-216.
- Wayne, PA. Zone diameter interpretive standards, corresponding minimal inhibitory concentration (MIC) interpretive breakpoints, and quality control limits for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; Informational supplement CLSI document M44-S2. 2nd ed. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
- Webb. BC, Thomas. CJ, Willcox. MD, Harty. DW, Knox. KW. (1998) *Candida*- associated denture stomatitis. Aetiology and management: a review. Part 2. Oral diseases caused by *Candida* species. *Aust Dent J*;43:160-6.