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

سیدمسعود هاشمی کروئی[1]

تاریخ دریافت:۱۳۹۵/۴/۱۱
تاریخ پذیرش :۱۳۹۵/۱۲/۱۱

چکیده

وجود و یا ورود کاندیدا در دهان بهمراه عوامل زمینه ساز مختلف در ایجاد دنچراستئوماتیس کاندیدیائی نقش دارند. انواعی از کاندیدا بخصوص کاندیدا آلبیکنس قادر به ایجاد آن می‌باشند که در درمان نسبت به داروهای ضد قارچ واکنش‌های متفاوت نشان میدهند. هدف از این تحقیق تعیین میزان شیوع دنچراستئوماتیس کاندیدیائی و تعیین حساسیت آنها نسبت به داروهای ضد قارچ بوده که با آزمون‌های آزمایشگاهی به روش انتشار در ژل با استفاده از دیسک انجام شد. در این تحقیق از ۴۳ نمونه تهیه شده از افراد دچار دنچراستئوماتیس 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٪) سایرکاندیدا بوده است. در این مطالعه تحقیقاتی با مقایسه میانگین‌های 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 رشد۴/۵۲ ± ۳۴/۱۵ میلی متر و گریزوفولوین با میانگین قطر هاله ممانعت از رشد برابر با ۶/۴۰ ± ۸/۲۵ میلی متر بترتیب بیشترین و کمترین اثر ضد قارچی را داشته و این تفاوت با ۰/۰۰۱ >P_v معنی دار بوده است.

واژه‌های کلیدی: میزان بروز، دنچراستوماستیس کاندیدائی، دندانپزشکی، داروهای ضد قارچ

مقدمه

مخمر کاندیدا یکی از عوامل میکروبی می‌باشد که در بدو تولد از مادر به حفره دهان نوزاد وارد شده وتا مدتهای زیادی در دهان تحت عنوان فلور طبیعی فعالیت می‌نماید. بر همین اساس کاندیدا آلبیکنس فلور طبیعی ۶۰-۴۰ درصد از افراد سالم می‌باشد و در شرایط نرمال ایجاد بیماری نمی‌کند و برای میزبان خود مفید می‌باشد(Ortega et al, 2011 and Pfaller et al, 2009). در ۷/۱ درصد نوزادان در روز تولد کاندیدا وارد حفره دهانی شده کلونیزه می‌شود و بعد از یک ماه این میزان به ۹۶٪ افزایش می‌یابد. رشد روی سطوح بیولوژیکی از ویژگیهای زندگی طبیعی کاندیدا می‌باشد و خصوصیات میزبان تعیین می‌کند که کاندیدا کمومنسال باقی بماند یا بیماریزا گردد (Eggimann et al,2003 and Sardi et al 2013 and Pfaller et al, 2009).

در بیماریزائی کاندیدا ایمنی میزبان، عملکرد پوست و مخاط و وضعیت فلورنرمال بدن میزبان موثر می‌باشند. (Ortega et al, 2011 and Silva et al, 2011) در مواقعی که به هر دلیلی مثلا با پروتز دندان (Denture) این تعادل بهم بخورد

---

۱. استادیار گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، ایران
* (نویسنده مسئول: **mssepid4977@gmail.com**)

ایجاد عفونت و بیماری می‌کند. تحقیقات نشان داده که بیشتر از ۸۰-۷۰ درصد افرادی کـه در دهـان کاندیـدا را بصـورت فلـور دارند با دریافت پروتز به کاندیدیاز دچار می‌شوند(۹ و۸). معمولا در چسبیدن میکروارگانیزم‌هـای وارد شـده بـه دهـان جریـان بزاق و حرکات زبان باعث کاهش چسبیدن و کلونیزاسیون میکرو ارگانیزم در دهان می‌شود. بنابراین در حالت نرمـال و سـلامت فعالیت مخمر وارد شده به دهان تحت کنترل عوامل مختلفی بوده که برآیند آنها کنترل رشد مخمر و به دنبال آن مهـار تکثیـر زیاد و ایجاد بیماری می‌باشد. اختلالات فیزیکی و مکانیکی وارد شده به مخاط دهان یکی از مهمتـرین عوامـل مـوثر در ایجـاد تغییرات واکنشهای مخاطی است که از مهمترین آنها می‌توان به پروتز در حفره دهان اشاره نمود. نصب پروتز از یـک طـرف بـا تحریک تولید و ترشح موکوس در سلولهای مخاطی و از طرف دیگر با ایجاد زخم در لثه زمینه را برای فعالیت بیشتر انـواعی از میکروارگانیزم‌ها مساعد نموده و در لثه دنچراستئوماتیس(Denture stomatitis) ایجاد می‌شـود (Ortega et al, 2011 and Silva et al, 2011 and Webb et al, 1998).

اگر چه کاندیدا آلبیکنس در اکثر مواقع عامل ایجاد بیماری می‌باشد، ایجاد بیماری توسط گونه‌های غیر آلبیکـنس در حـال 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(Horn et al, 2009).

از آنجائیکه کاندیداهای غیر آلبیکنس در برابر داروهای ضد قـارچ واکنشـی متفـاوتی نشـان داده و مقـاوم تـر از آلبیکـنس می‌باشند افزایش شیوع عفونت‌های ایجاد شده توسط غیر آلبیکنس نگران کننده می‌باشد. بعنـوان مثـال کاندیـدا تروپیکـالیس نسبت به آلبیکنس حساسیت کمتری نسبت به فلوکونازول دارد و یا کاندیدا گلابراتـا بـه اکثـر داروهـای ضـد قـارچ بخصـوص فلوکونازول مقاوم می‌باشد. کاندیدا کروزه‌ای ذاتاً بـه فلوکونـازول مقـاوم مـی‌باشـد لـذا عامـل اصـلی عفونـت در مـواقعی کـه از فلوکونازول برای پیشگیری استفاده می‌شود می‌باشد. انواع کاندیداها قادر به ایجاد این نوع اختلال بوده که به درمان با داروهای ضـد قـارچ واکـنش‌هـای مختلـف نشـان مـی‌دهنـد(Cruciani et al, 2008). لـذا هـدف از ایـن تحقیـق تعیـین میـزان شـیوع دنچراستوماتیس کاندیدیائی در بیماران مراجعه کننده به مراکز دندان پزشـکی شهرسـتان کـرج و تعیـین حساسـیت آنهـا بـه 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 انتخـاب شـد. بعـد از انتخـاب مراکـز دندانپزشکی با هماهنگی با دندانپزشکان محترم وشناسائی بیماران دارای اختلال دنچراستئوماتیس 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 کلرامفنیکل (SC) و سابورو دکستروز آگار دارای کلرامفنیکل و سیکلوهکزامید(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 کلرامفنیکل (SC) و سابورو دکستروز آگار دارای کلرامفنیکل و سیکلوهگزامید مورد نیاز در این تحقیق بعد از اتوکلاو با اضافه کردن مقدار ۵۰ میلی گرم در لیتر کلرامفنیکل تهیه شده از کمپانی اپلیکم کشور آلمان (Germany Aplichem- A1806) و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر سیکلوهگزامید تهیه شده از کمپانی سروآ کشور آمریکا (USA Serva- 10700.C4) به محیط آماده شد. در این ارتباط ابتدا کلرامفنیکل را در ۱۰ میلی لیتر الکل و سیکلو هگزامید را در ۱۰ میلی لیتر استون حل کرده بعد به محیط اضافه گردید (Janelle et al, 2013).

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 نمونه‌هائی که در SC و SCC رشد مخمر و ایجاد کلنی صورت گرفت با مشاهده میکروسکوپی و ماکروسکوپی وجود بیماری تشخیص داده شد. بعد ازتائید 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 میکروسکپی

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 آگاردر شرایط استریل به کورن میل آگار مربوطه تلقیح از آن بشکل خطی کشت تهیه و در ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه نموده بعد از انکوباسیون از آن لام میکروسکوپی تهیه کرده و با رنگ آمیزی ایجاد کلامیدوکونیدی درمخمر مربوطه بررسی شد. در این روش کلامیدوکونیدی متورم یا وزیکول‌ها ی بزرگ در انتها، اطراف و وسط مسیلیوم‌های کاذب قابل مشاهده می‌شوند. در روش دیگربشکل 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 لولهء آزمایش تلقیح کرده سوسپانسیون حاصله ۳ -۲ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد 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 مخمربررسی 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 بهمراه 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 کلنی‌هائی به رنگ سبز، کاندیدا کروزه‌ای به رنگ صورتی، کاندیدا

تروپیکالیس به رنگ آبی، کاندیدا کفیر و کلابراتا برنگ بنفش تا قهوه‌ای و سایر کاندیدا کلنی برنگ 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 اانجام تست ابتدا ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند کاندیدای شناسائی شده به سابورو دکستروز آگار کشت سفره‌ای تهیه شد. دیسک‌های آماده شده روی محیط قرار داده شد. بعد از ۴۸-۲۴ ساعت انکوباسیون در در ۳۰ درجه سانتی‌گراد با اندازه گیری قطر هاله‌های ممانعت از رشد ایجاد شده حساسیت یا مقاومت کاندیدا مورد بررسی قرار گرفت(Wayne PA, 2008).

نتایج

در تحقیق مربوطه از ۴۳ نمونه سوآب کشت داده شده در محیط کشت سابورو دکستروز آگار دارای کلرام فنیکل و سیکلوهگزامید 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 تائید 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 شناسائی صورت گیرد (جدول۱). 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 نام گذاری 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 کروزه ای، ۱ نمونه مخمر (۵٪) کاندیدا تروپیکالیس و ۲ نمونه مخمر (۱۰٪) سایرکاندیدا تشخیص داده شد (جدول۲). 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 رشد۴/۵۲ ± ۳۴/۱۵ میلی متر و داروی ضد قارچ گریزوفولوین با میانگین قطر هاله ممانعت از رشد برابر با ۶/۴۰ ± ۸/۲۵ 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 آلبیکنس۱۵ و کاندیدا آلبیکنس۲۵ حساسترین گونه و کاندیدا کروزه ای۱۰و 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 آلبیکنس۱۵ حساسترین گونه بود.

در آنالیز داروی ایتراکونازول۲ تفاوت معنی‌داری (0.033) وجود دارد و کاندیدا آلبیکنس۵ حساسترین گونه بود.

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

شکل ۱: کلنی کاندیدا آلبیکنس۴ درمحیط کشت sc

شکل ۲: کلنی کاندیدا کروزه ای۲۰ درمحیط کشت sc

شکل ۳: جرم تیوپ در کاندیدا آلبیکنس۴دربزرگنمایی ۱۰۰۰ میکروسکوبنوری

شکل ۴: کلامیدوکونیدی در کاندیدا آلبیکنس۴ دربزرگنمایی ۱۰۰۰ میکروسکوبنوری

شکل 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 نهائی
۱	–	–	–	–		منفی
۲	–	–	–	–		منفی
۳	+	–	–	–	سفید	سایر کاندیدا
۴	+	–	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس ۴
۵	+	–	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس ۵
۶	–	–	–	–		منفی
۷	–	–	–	–		منفی
۸	–	–	–	–		منفی
۹	–	–	–	–		منفی
۱۰	+	–	–	–	صورتی	کاندیدا کروزه ای ۱۰
۱۱	+	–	+	–	سفید	کاندیدا آلبیکنس ۱۱
۱۲	+	–	–	–	سفید	سایر کاندیدا
۱۳	–	–	–	–		منفی
۱۴	–	–	–	–		منفی
۱۵	+	–	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس۱۵
۱۶	+	–	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس۱۶
۱۷	+	–	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس ۱۷
۱۸	–	–	–	–		منفی
۱۹	–	–	–	–		منفی
۲۰	+	–	–	–	صورتی	کاندیدا کروزه ای ۲۰
۲۱	+	–	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس ۲۱
۲۲	–	–	–	–		منفی

ادامه 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 نهائی
۲۳	+	-	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس۲۳
۲۴	-	-	-	-		منفی
۲۵	+	-	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس۲۵
۲۶	-	-	-	-		منفی
۲۷	-	-	-	-		منفی
۲۸	-	-	-	-		منفی
۲۹	-	-	-	-		منفی
۳۰	+	-	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس ۳۰
۳۱	-	-	-	-		منفی
۳۲	+	-	-	-	صورتی	کاندیدا کروزه ای۳۲
۳۳	+	-	-	+	آبی	کاندیدا تروپیکالیس
۳۴	-	-	-	-		منفی
۳۵	-	-	-	-		منفی
۳۶	+	-	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس ۳۶
۳۷	+	-	-	-	صورتی	کاندیدا کروزه ای۳۷
۳۸	-	-	-	-		منفی
۳۹	-	-	-	-		منفی
۴۰	+	-	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس ۴۰
۴۱	-	-	-	-		منفی
۴۲	-	-	-	-		منفی
۴۳	+	-	+	+	سبز	کاندیدا آلبیکنس ۴۳
جمع ٪ مثبت ٪	۲۰ ۴۵/۵۱	۰ ٪۰	۱۴ ٪۷۰	۱۴ ٪۷۰		
منفی ٪	۲۳ ٪۵۳/۴۹	۴۳ ٪۱۰۰	۷ ٪۳۰	۷ ٪۳۰		

جدول۲: فراوانی انواع کاندیدای عامل دنچراستئوماتیس

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

جدول۲: مقایسه میانگین‌های قطر هاله ممانعت از رشد انواع کاندیدا در برابر داروهای ضد قارچ با آزمون دانکن

دارو / کاندیدا	تربینافین ۵	فلوکونازول ۴	نیستاتین	ایتراکونازول۲	گریزوفولوین ۵	میکونازول ۰/۲	کتوکونازول ۰/۲	کلوتریمازول ۰/۱	P-Val
کاندیدا spp1	32.00±2.83 b	23.00±4.24 a, b	17.00±1.41a	19.00±9.90 a	24.00±0.00 a, b	25.00±1.41 a, b	18.00±2.83 a	31.00±1.41b	0.04
کاندیدا آلبیکنس ۴	31.00±1.41	19.00±7.07	13.00±1.41	26.00±14.14	13.00±9.99	20.00±5.65	16.50±2.12	19.00±7.86	0.33
کاندیدا آلبیکنس ۵	39.00±1.41	27.00±4.24	25.00±7.07	31.50±2.12	21.00±12.73	24.50±7.78	24.00±8.48	24.00±8.48	0.32
کاندیدا کروزه ای۱۰	35.00±15.55 b	9.00±4.24 a	13.00±1.41a	17.00±8.90 a	10.00±5.66 a	23.00±1.41 a, b	16.00±2.82 a	16.00±0.00 a	0.08
کاندیدا آلبیکنس ۱۱	29.00±1.41 c	28.00±0.00 c	19.00±1.41b	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	27.00±1.41 c	27.00±1.41c	18.00±5.66 b	<0.001
کاندیدا spp2	35.00±7.07 e	17.00±4.24 d	20.00±0.00b,c,d	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	22.00±0.00 c,d	17.50±0.71 b, c	14.50±0.71 b	<0.001
کاندیدا آلبیکنس۱۵	40.00±0.00 c	36.00±5.66 b,c	22.00±11.31b	24.00±8.48 b	0.00±0.00 a	30.50±2.12 b,c	30.00±2.82 b,c	26.00±8.48 b,c	0.01
کاندیدا آلبیکنس۱۶	33.50±2.12 e	31.50±2.12 d,e	22.50±3.53 c	17.00±1.41 b	0.00±0.00 a	29.00±1.41 d,e	27.00±1.41 c, d	23.00±1.41 c	<0.001
کاندیدا آلبیکنس ۱۷	34.50±0.71 d	27.50±2.12 c	25.50±2.12c	21.00±1.41 b	15.50±0.71 a	12.50±0.71a	21.00±1.41b	21.50±2.12 b	<0.001
کاندیدا کروزه ای۲۰	32.00±8.48 d	32.00±0.00 c	21.00±1.41 b,c,d	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	29.00±9.90 c,d	19.00±1.41b, c	15.00±1.41 a, b	0.002
کاندیدا آلبیکنس ۲۱	35.00±1.41d	32.00±2.82 c, d	21.50±2.12 b	26.00±1.41 b, c	14.00±1.41 a	29.00±1.41 c,d	21.50±4.95, b	20.50±3.53 b	0.001
کاندیدا آلبیکنس۲۳	35.50±0.71 f	31.00±1.41e	19.00±1.41 b, c	20.00±0.00 c	13.00±1.41 a	25.50±2.12 d	17.5±2.12 b, c	16.00±0.00 a, b	<0.001
کاندیدا آلبیکنس۲۵	35.00±0.00 b,c	35.00±0.00 b, c	31.00±1.41 b, c	27.00±4.24 b	14.00±1.41 a	36.50±0.71 b,c	31.00±8.48 b, c	16.50±0.71 a	0.001
کاندیدا آلبیکنس ۳۰	31.50±6.36 c	16.00±2.83 a, b	13.00±1.41 a, b	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	10.50±6.36 a,b	18.00±2.82 b	18.00±5.65 b	0.004
کاندیدا کروزه ای۳۲	34.50±2.12 c	32.00±2.83 c	25.00±1.41 b, c	11.00±0.07 a	14.00±11.31 a, b	26.00±5.66 b,c	28.50±6.36 c	31.50±0.71 c	0.03
کاندیدا تروپیکالیس	33.50±0.71 e	29.00±1.41 d	22.00±0.00	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	19.50±2.12 c	16.50±0.71 b	15.00±1.41 b	0.04
کاندیدا آلبیکنس ۳۶	33.50±0.71 d	32.00±2.82 d	18.00±0.00 b, c	21.00±1.41 c	13.50±0.71 a	19.50±2.12 b,c	17.00±1.41 b	18.00±0.00 b, c	<0.001
کاندیدا کروزه ای۳۷	30.00±8.48 c,d	25.00±4.24 c,d	20.00±2.82 b, c	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	22.00±2.82 b,c,d	16.50±2.12 b, c	14.50±0.71 a, b	0.002
کاندیدا آلبیکنس ۴۰	37.00±1.41 b	23.00±9.90 a	17.50±2.12 a	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	0.02
کاندیدا آلبیکنس ۴۳	36.50±0.71 d	30.50±3.53 d	16.50±0.71 a, b, c	13.00±9.90 a, b	0.00±0.00 a	30.50±3.53 d	24.00±8.48 b,c,d	28.50±6.36 c,d	0.006
جمع	34.15±4.53 f	27.27±7.18 e	20.02±5.19 c	14.55±9.23 b	8.35±6.40 a	24.27±6.73 d	21.12±5.87 c	20.22±6.00 c	<0.001

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، تضیف سیستم ایمنی بدن، قدرت بیماریزائی کاندیدا و مصرف آنتی بیوتیک‌های ضد باکتری اشاره نمود. بر همین اساس میزان شیوع دنچراستئوماتیس کاندیدائی ۶۰ ٪ درافراد دارای پروتز بوده که این میزان ممکن است بنابر شرایط خاصی تا ۷۵ ٪ هم برسد(Webb et al, 1998 and Carmen et al, 2011).

در تحقیق انجام گرفته میزان شیوع دنچراستئوماتیس کاندیدیائی ۴۶/۵۱٪ تعیین شده است. از آنجائیکه در دنچراستئوماتیس کاندیدائی معمولا کاندیدا به تنهائی قادر به ایجاد علائم نیست، میزان شیوع آن به عوامل اشاره شده در بالا ارتباط تنگاتنگی داشته واین امر سبب اختلاف بین میزان شیوع در تحقیقات مختلف می‌شود. مقدار و نوع رزین موجود در پروتز، وجود پلاک دندان ومیزان 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 (Carmen et al, 2011 and Pietruski et al 1997). از کاندیدای جدا شده در این تحقیق ۶۵ ٪ کاندیدا آلبیکنس، ۲۰٪ کاندیدا کروزه ای، ۵٪ کاندیدا تروپیکالیس و ۱۰٪ سایرکاندیدا تشخیص داده شد. (۶۵ ٪) کاندیدا آلبیکنس، ۴ نمونه مخمر(۲۰٪) کاندیدا کروزه ای، ۱ نمونه مخمر (۵٪) کاندیدا تروپیکالیس و ۲ نمونه مخمر (۱۰٪) سایرکاندیدا 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(Webb et al, 1998).

تحقیقی که دانیلوک (Daniluk) و همکاران(۲۰۰۶) 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 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.

در ایجاد دنچراستئوماتیس 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 (PV=۰/۰۴) وجود داشته و کاندیدا آلبیکنس۱۵ و کاندیدا آلبیکنس۲۵ حساسترین گونه و کاندیدا کروزه ای۱۰و 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 (PV=۰/۰۳۹) وجود داشته و کاندیدا آلبیکنس۱۵ حساسترین گونه بود.

در تحقیقی که توسط متابا (Mathaba)و همکاران انجام گرفت رابطه ژنوتیپی کاندیدا آلبیکنس‌های جدا شده از بیماران دارای دنچراستئوماتیس با روش هیبریدزاسیون بررسی و مشخص شد که سویه‌های مختلف کاندیدا آلبیکنس وجود داشته که ممکن است موجب دنچراستئوماتیتیس شوند. در این تحقیق همچنین مشخص شد که این بیماری در نتیجه رشد زیاد و بیش از حد کاندیدا آلبیکنس کمونسال ایجاد می‌شود(Mathaba et al, 1995). 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 شناسائی 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، پروتئین 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 (Sardi et al, 2011 and Staib et al, 2000).

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. Roskiewicz, 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: 77-80.

Eggimann, P. Garbino, J. & Pittet, D. (2003). Epidemiology of Candida species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. Lancet Infection Disease 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. Clinical Infection Disease 48: 1695–1703

J. C. O. Sardi, 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

L. T. Mathaba, G. Davies and J. R. Warmington (1995). The genotypic relationship of Candida albicans strains isolated from the oral cavity of patients with denture stomatitis. Journal of Medical Microbiology. Vol. 42: 372-379.

Ortega, M. Marco, F. Soriano, A. Almela, M. Martı´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. Journal Hospital Infection 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 Clinical Microbiology 47: 3185–3190.

Pietruski, JK. Sacha, P. Zaremba, M. Gołębiewska, M. Stokowska, W (1997). Yeast infection in denture stomatitis patients. Part I. Fungal floraassessment. 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. Archive Oral Biology 56: 951–959.

Staib, P. Kretschmar, M. Nichterlein, T. Ko¨ hler, G. & Morschha¨ user, J (2000). Expression of virulence genes in Candida albicans. Advenced Exp Medical Biology 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^{et} ed. Springer New York Heidelberg Dordercht 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. Austeralian Dental Jounal 43:160-6.

Occurrence Rate Determination of *Candidian Denture Stomatitis* in Patients of Dentistry Centers and Survey Susceptibility Them to Antifungal Agents

S. M. Hashemi Karouei[1]

Received: 2016.7.1
Accepted: 2017.3.1

Abstract

The presence or entry of Candida yeast to the oral cavity with underlying conditions plays an essential role in the formation of Denture stomatitis. Different types of Candida especially C. albicans able to create Denture stomatitis that shows different reacts to antifungal drugs. The aim of this study was determination of Candidian denture stomatitis and sensitive of them to antifungal drugs that was performed with laboratory tests and gel diffusion method. In this research Candida yeast isolated and identified in 20 samples (%46.51) of 43 samples of Denture stomatitis that were 13 cases (65%) C. albicans, 4 cases (20%) C.kerosei, 1 cases (5%) C.tropicalis and 2 cases (10%) other Candida. By comparing the average diameter of growth inhibition zoon of Candida according to kind of antifungal drug by Duncan test it was found that with P v < 0.001 Terbinafine with growth inhibition zoon Equal to 43.15 ± 4.52 and Griseofulvin with growth inhibition zoon Equal to 8.25 ± 6.40 had highest and the lowest effect respectively.

Key words: Antifungal Agents , Candidian Denture Stomatitis, Dentistry Centers, Occurrence Rate.

1. Department of Biology, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran
(Corresponding Author: mssepid4977@gmail.com)