

## بررسی اثر سدیم بی کربنات بر روی کاندیدای آلیکانس در دنچر استوماتیت (مطالعه آزمایشگاهی)

دکتر شمس الملوک نجفی<sup>۱</sup> - دکتر رضا یزدانی<sup>۲</sup> - دکتر بهزاد سالاری<sup>۳\*</sup> - هما فروهش تهرانی<sup>۴</sup> - دکتر محمد جواد خرازی فرد<sup>۵</sup>

۱- استادیار گروه آموزشی بیماری‌های دهان، دانشکده دندانپزشکی، پردیس بین الملل دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران

۲- استادیار گروه آموزشی سلامت دهان، دانشکده دندانپزشکی، پردیس بین الملل دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران

۳- دانش آموخته دانشکده دندانپزشکی، پردیس بین الملل دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران؛ دستیار تخصصی گروه آموزشی ارتودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

۴- میکولوژیست، گروه آموزشی میکروبیولوژی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۵- مشاور آماری، دانشکده دندانپزشکی، پردیس بین الملل دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی، تهران، ایران

### Effect of sodium bicarbonate against *Candida albicans* in denture stomatitis: An in vitro study

Shamsolmoulouk Najafi<sup>1</sup>, Reza Yazdani<sup>2</sup>, Behzad Salari<sup>3\*</sup>, Homa Forouhesh Tehrani<sup>4</sup>,  
Mohammad Javad Kharrazi Fard<sup>5</sup>

1<sup>†</sup>- Assistant Professor, Department Oral Medicine, School of Dentistry, International Campus of Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2- Assistant Professor, Department of Community Oral Health, School of Dentistry, International Campus of Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Graduated of School of Dentistry, International Campus of Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran; Resident of Orthodontics, Department of Orthodontics, School of dentistry, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

4- Mycologist, Department of Microbiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5- Statistical Consultant, Dental Research Center, School of Dentistry, International Campus of Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

**Background and Aims:** The aim of this study was to investigate the effects of sodium bicarbonate against candida albicans, the main infectious factor of denture stomatitis, and to compare it with other common anti-candida medications.

**Materials and Methods:** Three concentrations of *Candida albicans* ( $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  CFU/mL) were prepared. Experimental substances were 5% sodium bicarbonate, nystatin, chlorhexidine, and sterile saline (as control). Each of them was added separately to the same amounts of *Candida albicans* of different concentrations, and sampled at the intervals of 1, 2, 3 and 4 min. Then, the samples were cultured and incubated. The number of formed colonies was counted for each plate. The data were analyzed, using ANOVA and Tukey test.

**Results:** Sodium bicarbonate showed a noticeable anti-candida effect on the concentrations of  $10^5$  and  $10^6$  CFU/mL, with almost similar anti-candida effect as nystatin and chlorhexidine ( $P=0.29$ ,  $P=0.32$ ). Nystatin was the most effective medication on the concentration of  $10^7$  CFU/mL of candida ( $P=0.03$ ,  $P=0.01$ ). Sodium bicarbonate and chlorhexidine were less effective in this concentration with no statistically significant difference ( $P=1.00$ ).

**Conclusion:** Sodium bicarbonate showed a significant anti-candida effect at low and medium concentrations of *Candida albicans*, but nystatin was more effective in the higher concentrations.

**Key Words:** Sodium bicarbonate, Chlorhexidine, Nystatin, *Candida albicans*, Denture stomatitis

Journal of Dental Medicine-Tehran University of Medical Sciences 2016;29(2):92-100

\* مؤلف مسؤول: نشانی: تهران - خانی آباد نو - خیابان ماهان - دانشکده دندانپزشکی پردیس بین الملل دانشگاه علوم پزشکی تهران  
تلفن: ۵۵۸۵۱۱۴۹ نشانی الکترونیک: b.salarii@gmail.com

## چکیده

**زمینه و هدف:** هدف از این مطالعه بررسی اثر سدیم بی‌کربنات به عنوان ماده‌ای ارزان، در دسترس و با حداقل اثرات جانبی، بر روی کاندیدا آلبیکانس (عامل عفونی اصلی ایجاد کننده دنچر استوماتیت) و مقایسه آن با درمان‌های رایج ضد کاندیدایی بود.

**روش بررسی:** غلظت‌های  $10^5$ ،  $10^6$ ،  $10^7$  سلول زنده در میلی لیتر (CFU/mL) از کاندیدا آلبیکانس تهیه و انکوبه شدند. مواد مورد آزمایش به ۴ گروه سدیم بی‌کربنات، کلرهگزیدین، نیستاتین و استریل سالین (گروه کنترل) تقسیم شدند. هر کدام از آن‌ها به صورت جداگانه به سه غلظت تهیه شده از کاندیدا اضافه شده و در زمان‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ دقیقه مورد نمونه‌برداری و کشت قرار گرفتند (مجموعاً ۴۸۰ پلیت). در نهایت، بعد از انکوباسیون تعداد کلونی‌های رشد کرده کاندیدا آلبیکانس در پلیت‌ها، مورد شمارش و تحلیل قرار گرفتند. آستانه معنی‌داری در این مطالعه  $0/05$  در نظر گرفته شد ( $P < 0/05$ ). داده‌های به دست آمده با نرم‌افزار IBM SPSS Statistics توسط آزمون پارامتریک تحلیل واریانس (ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** سدیم بی‌کربنات در غلظت‌های  $10^5$  و  $10^6$  CFU/mL کاندیدا آلبیکانس، اثر ضد کاندیدایی قابل ملاحظه‌ای از خود نشان داد. اثر آن در این دو غلظت تفاوت معنی‌داری با کلرهگزیدین و نیستاتین نداشت ( $P = 0/32$ ،  $P = 0/29$ ). در غلظت  $10^7$  CFU/mL کاندیدا آلبیکانس، نیستاتین موثرترین ماده بود ( $P = 0/01$ ،  $P = 0/03$ ) ولی سدیم بی‌کربنات و کلرهگزیدین تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ( $P = 1/00$ ).

**نتیجه‌گیری:** سدیم بی‌کربنات در غلظت‌های پایین و متوسط کاندیدا آلبیکانس، بسیار مؤثر بوده و تأثیری مشابه با نیستاتین و کلرهگزیدین نشان داد ولی در غلظت‌های بالاتر کاندیدا آلبیکانس، نیستاتین مؤثرتر بود.

**کلید واژه‌ها:** سدیم بی‌کربنات، کلرهگزیدین، نیستاتین، کاندیدا آلبیکانس، دنچر استوماتیت

وصول: ۹۴/۱۱/۱۸ اصلاح نهایی: ۹۵/۰۵/۱۱ تأیید چاپ: ۹۵/۰۶/۱۰

## مقدمه

در خط اول درمان دارویی دنچر استوماتیت قرار داشته است. این دارو به ارگوسترول که ماده اصلی تشکیل دهنده دیواره سلولی قارچ‌ها می‌باشد باند شده و با نشت یون پتاسیم و اسیدیدیفیکاسیون باعث تخریب آن می‌شود (۱۰).

کلرهگزیدین سال‌ها به عنوان یک دهانشویه کارآمد در حیطه بیماری‌های لته استفاده شده است. در سال‌های اخیر مطالعات زیادی اثر آن را به عنوان یک ضد عفونی کننده وسیع‌الطیف قوی روی عوامل عفونی مختلف در حوزه بیماری‌های دهان، از جمله روی کاندیدا آلبیکانس بررسی کرده‌اند (۱۱). این ماده اثر خود را از طریق انعقاد نوکلئوپروتئین‌ها و تغییرات سیتوپلاسمی با خروج مواد سازنده و پروتئین‌های سلول اعمال می‌کند (۱۲).

سدیم بی‌کربنات با نام رایج جوش شیرین به دلیل خاصیت قلیایی‌اش مدت‌ها در پزشکی برای درمان سوزش و مشکلات گوارشی استفاده شده است. این ماده به صورت سنتی برای تسکین زخم‌ها، سوزش و ضایعات دهان توسط افراد عادی خصوصاً افراد دارای دنچر استفاده می‌شده است. در دندانپزشکی معاصر استفاده از این ماده به دلیل ارزان و در دسترس بودن، حداقل اثرات جانبی و طعم و مزه نسبتاً مطلوب، مورد توجه قرار گرفته است (۱۳). این ماده با توانایی افزایش pH محیط توانایی تأثیر روی کلونی‌های میکروبی دهان را نشان داده

دنچر استوماتیت یک پاسخ التهابی مزمن توسط مخاط دهان به محرک‌های آسیب رسان مختلف در افراد معمولاً بی‌دندان می‌باشد. این ضایعه به عنوان شایع‌ترین ضایعه مخاطی در افراد استفاده کننده از دنچر شناخته می‌شود و در  $1/3$  تا  $2/3$  این افراد دیده می‌شود (۱،۲). عوامل ایجاد کننده این ضایعه به دو دسته عفونی و غیر عفونی طبقه‌بندی شده است. عوامل غیر عفونی عبارتند از بهداشت پایین دهان، سن بالا، تحریکات فیزیکی مزمن، سرکوب ایمنی، اختلالات تغذیه‌ای (۳-۵). مهم‌ترین عامل عفونی مؤثر در ایجاد این بیماری، خانواده کاندیدا (مخصوصاً کاندیدا آلبیکانس) می‌باشد (۶).

به دلیل ماهیت مولتی فاکتوریال دنچر استوماتیت، درمان آن پیچیده می‌باشد. پروتکل درمانی رایج برای درمان آن شامل افزایش بهداشت دهان، بهبود تطابق دنچر با مخاط، بر طرف کردن عوامل موضعی و استفاده از عوامل ضد قارچی موضعی مثل نیستاتین و خانواده آزول‌ها می‌باشد (۷،۸). داروهای ضد قارچ سیستمیک به دلیل عوارض جانبی زیاد از جمله قیمت بالا، تأثیر روی فلور نرمال بدن و ایجاد مقاومت دارویی مصرف محدودی دارند (۹).

نیستاتین یک دارو ضد قارچ قوی از خانواده poly-ene‌ها می‌باشد. این دارو به دلیل اثر ضد قارچی مطلوب روی کاندیدا آلبیکانس، مدت‌ها

**- آماده‌سازی گروه‌های مورد آزمایش:**

در ادامه موارد مورد آزمایش به چهارگروه تقسیم شدند (جدول ۱). محلول سدیم بی‌کربنات ۵٪ با اضافه پودر سدیم بی‌کربنات به آب مقطر به دست آمد. حجم ۱۰ سی سی از آن به حجم مشابهی از سوسپانسیون A اضافه شد و هم‌زمان با لغزش روی ویبراتور (HY-4 Mechanical Vibrator, Winex Instrument, London, UK) در زمان‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ دقیقه بعد از اضافه شدن، نمونه‌برداری شدند. در هر کدام از این زمان‌ها ۱۰ بار نمونه‌برداری صورت گرفت (مجموعاً ۴۰ نمونه). به منظور به حداقل رساندن سوءگیری مطالعه هر کدام از پلیت‌ها به صورت تصادفی کد گذاری عددی شدند و در محیط Sabouraud's dextrose agar کشت داده و برای ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. زمان‌های مشخص شده برای نمونه‌گیری براساس آزمون time-kill test تخمین زده شده بودند.

در ادامه سدیم بی‌کربنات به صورت مجزا به دو سوسپانسیون دیگر (B, C) اضافه شد و مراحل مشابه با آنچه برای سوسپانسیون A انجام شده بود، برای این دو سوسپانسیون نیز طی شد، به صورتی که در انتهای این مرحله از مجموع سه سوسپانسیون A, B, C کاندیدا آلیکانس ترکیب شده با سدیم بی‌کربنات ۵٪ در چهار زمان تعیین شده ۱۲۰ پلیت کشت داده وجود داشت. در ادامه برای کلرگزیدین ۰/۱۲٪، نیستاتین ۱۰۰/۰۰۰ واحد و گروه کنترل (استریل سالین) نیز همین مراحل تکرار شد، به صورتی که در پایان نمونه‌برداری از چهار گروه مورد آزمایش (سدیم بی‌کربنات، کلرگزیدین، نیستاتین و کنترل) در چهار زمان (۱، ۲، ۳ و ۴ دقیقه) بعد از اضافه شدن به سه غلظت اولیه کاندیدا آلیکانس (A, B, C) مجموع ۴۸۰ پلیت کشت شده وجود داشت. بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تعداد کلونی‌های رشد کرده کاندیدا آلیکانس در هر پلیت توسط دستگاه کلونی کانتز (TSC6, Techne Inc, NJ, US) شمارش شد. در پایان داده‌های به دست آمده با نرم‌افزار IBM SPSS Statistics توسط آزمون پارامتریک تحلیل واریانس (ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey تحلیل شدند. آزمون Friedman نیز به منظور رتبه‌بندی تأثیر زمان‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفت. آستانه معنی‌داری در این مطالعه کمتر از ۰/۰۵ (P<۰/۰۵) در نظر گرفته شد.

است (۱۴)، اگرچه در حوزه دندانپزشکی مطالعات زیادی روی اثر ضد قارچی این ماده انجام نشده، مطالعات متعددی در حوزه آفت‌شناسی و پزشکی این قابلیت را تأیید کرد است.

اگرچه نیستاتین به عنوان خط اول درمان ضد قارچی دنچر استوماتیت معرفی شده است، می‌تواند داری عوارضی چون درجاتی از مقاومت دارویی گونه‌های قارچی، تغییر در تعادل فلور میکروبی دهان و موارد نادرتری چون سوزش و زخم در نتیجه بیماری‌هایی همچون سندرم استوین جانسون شود. قیمت نسبتاً بالا و طعم و مزه نامطلوب نیز از جمله مشکلات نیستاتین هستند (۱۶، ۱۵، ۱۰). کلرگزیدین نیز به عنوان یک داروی مؤثر بر علیه کاندیدا آلیکانس دارای عوارضی همچون مزه بد و تغییر رنگ دندان‌ها می‌باشد.

لذا هدف ما در این مطالعه بررسی اثر سدیم بی‌کربنات به عنوان یک ماده ارزان، در دسترس با حداقل اثرات جانبی و دارای طعم و مزه قابل قبول بر روی کاندیدا آلیکانس (به عنوان عامل عفونی اصلی دنچر استوماتیت) و مقایسه اثر آن با اثر نیستاتین و کلرگزیدین به عنوان داروهای مؤثر بر روی کاندیدا آلیکانس بود.

**روش بررسی****- آماده‌سازی سوسپانسیون کاندیدا آلیکانس:**

این مطالعه به روش تجربی-آزمایشگاهی انجام گرفت. کاندیدا آلیکانس ATCC1880 به عنوان سوش استاندارد و خالص شده کاندیدا آلیکانس تهیه و توسط محلول سالین استریل (NaCl 0.85%) به غلظت  $10^8 \times 1/5$  CFU/mL رقیق شد و برای ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در دستگاه انکوباتور نگهداری شد. در ادامه سه غلظت از کاندیدا آلیکانس با رقیق کردن این سوسپانسیون توسط محلول سالین استریل به غلظت‌های  $10^5$  سلول زنده در میلی لیتر (سوسپانسیون A)،  $10^6$  سلول زنده در میلی لیتر (سوسپانسیون B) و  $10^7$  سلول زنده در میلی لیتر (سوسپانسیون C) صورت گرفت. این سوسپانسیون‌ها براساس غلظت اولیه کاندیدا آلیکانس در مخاط افراد مبتلا به دنچر استوماتیت انتخاب شده بودند (۱۸، ۱۷، ۶). غلظت تمامی سوسپانسیون‌ها قبل از شروع مرحله بعدی، توسط دستگاه اسپکتوفتومتر UV-1203 Shimadzu (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) مورد تأیید قرار گرفتند.

## یافته‌ها

### تأثیر زمان مجاورت مواد مورد آزمایش با غلظت‌های مختلف کاندیدا، بر تعداد کلونی‌های نهایی کاندیدا آلبیکانس:

تعداد کلونی‌های باقی مانده کاندیدا آلبیکانس در هیچ کدام از گروه‌های مورد آزمایش تفاوت معنی‌داری بین زمان‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ دقیقه نداشتند. این وضعیت برای هر سه سوسپانسیون کاندیدا آلبیکانس صادق بود.

### تأثیر مواد مورد آزمایش بر تعداد کلونی‌های کاندیدا آلبیکانس:

به دلیل مشابه بودن نتایج در زمان‌های مختلف در این بخش صرفاً نتایج در زمان یک دقیقه ذکر می‌شود. نیستاتین:

در سوسپانسیون A (غلظت  $10^5$  CFU/mL) تعداد کلونی‌های گروه نیستاتین فقط با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری داشت ( $P=0/00$ ) و با گروه‌های کلرهگزیدین و سدیم بی‌کربنات ( $P=0/32$ ) تفاوت معنی‌داری نشان نداد. در سوسپانسیون B (غلظت  $10^6$  CFU/mL) نیز تعداد کلونی‌ها در گروه نیستاتین فقط با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان داد ( $P=0/00$ ) اما این تفاوت با گروه سدیم بی‌کربنات ( $P=0/29$ ) و گروه کلرهگزیدین معنی‌دار نبود. در سوسپانسیون C (غلظت  $10^7$  CFU/mL) تعداد کلونی‌ها در گروه نیستاتین با هر سه گروه کلرهگزیدین ( $P=0/03$ )، سدیم بی‌کربنات ( $P=0/01$ ) و کنترل ( $P=0/00$ ) تفاوت معنی‌داری نشان داشت (جداول ۲ و ۳). کلرهگزیدین:

در سوسپانسیون A (غلظت  $10^5$  CFU/mL) تعداد کلونی‌ها در گروه کلرهگزیدین فقط با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان داد ( $P=0/02$ ) ولی با نیستاتین و سدیم بی‌کربنات ( $P=0/32$ ) تفاوت معنی‌داری نداشت. در سوسپانسیون B (غلظت  $10^6$  CFU/mL) نیز تعداد کلونی‌های گروه کلرهگزیدین فقط با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان داد ( $P=0/00$ ) و با نیستاتین و سدیم بی‌کربنات

( $P=0/29$ ) تفاوت معنی‌داری نداشت. در سوسپانسیون C (غلظت  $10^7$  CFU/mL) تعداد کلونی‌های گروه کلرهگزیدین با نیستاتین ( $P=0/03$ ) و گروه کنترل ( $P=0/00$ ) تفاوت معنی‌داری نشان داد ولی تفاوت تعداد کلونی‌های آن با سدیم بی‌کربنات ( $P=1/00$ ) معنی‌دار نبود (جداول ۲ و ۴).

سدیم بی‌کربنات:

در سوسپانسیون A (غلظت  $10^5$  CFU/mL) تعداد کلونی‌های گروه سدیم بی‌کربنات فقط با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان داد ( $P=0/02$ ) ولی با نیستاتین ( $P=0/32$ ) و کلرهگزیدین ( $P=0/32$ ) تفاوت معنی‌داری نداشت. در سوسپانسیون B (غلظت  $10^6$  CFU/mL) نیز تعداد کلونی‌های گروه سدیم بی‌کربنات فقط با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان داد ( $P=0/00$ ) و با نیستاتین ( $P=0/29$ ) و کلرهگزیدین ( $P=0/29$ ) تفاوت معنی‌داری نداشت. در سوسپانسیون C (غلظت  $10^7$  CFU/mL) تعداد کلونی‌های گروه سدیم بی‌کربنات فقط با گروه نیستاتین ( $P=0/01$ ) و کنترل ( $P=0/00$ ) تفاوت معنی‌داری نشان داد ولی با کلرهگزیدین ( $P=1/00$ ) تفاوت معنی‌داری نداشت (جداول ۲ و ۵).

### تأثیر غلظت‌های مختلف مواد مورد آزمایش کاندیدا بر تعداد کلونی‌های نهایی کاندیدا آلبیکانس:

درمورد نیستاتین  $100/000$  واحد تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف کاندیدا آلبیکانس ( $10^5, 10^6, 10^7$  CFU/mL) دیده نشد ( $P=0/00$ ). درمورد کلرهگزیدین  $12/0\%$  تفاوت معنی‌داری بین اثرگذاری آن در غلظت  $10^7$  CFU/mL با دو سوسپانسیون دیگر وجود داشت ( $P=0/00$ ) به صورتی که بیشترین تأثیر آن بر روی سوسپانسیون‌های A و B (غلظت‌های  $10^5, 10^6$  CFU/mL) بود. درمورد سدیم بی‌کربنات  $5\%$  نیز تفاوت معنی‌داری بین اثر آن در غلظت  $10^7$  CFU/mL با دو غلظت دیگر وجود داشت ( $P=0/00$ ) وجود داشت و بیشترین تأثیر آن بر روی سوسپانسیون‌های A و B (غلظت‌های  $10^5, 10^6$  CFU/mL) بود. در گروه کنترل در هیچ یک از زمان‌ها تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف کاندیدا آلبیکانس دیده نشد ( $P=1/00$ ) (جدول ۲).

## جدول ۱- گروه‌های مورد آزمایش

5% sodium bicarbonate solution (Humco Holding Group, Texarkana, TX, US).	گروه ۱
0.12% chlorhexidine gluconate (Peridex, Proctor and Gamble, Cincinnati, Ohio, US)	گروه ۲
100,000 units/mL nystatin (Lehigh Valley Technologies Inc., Allentown, US);	گروه ۳
Sterile saline as placebo	گروه ۴

## جدول ۲- جدول توصیفی مواد مورد آزمایش در غلظت‌های مختلف در زمان یک دقیقه

مواد	غلظت	تعداد نمونه	میانگین	انحراف معیار
Nystatin	۱.۵	۱۰	۰/۰۰	۰/۰۰۰
	۱.۶	۱۰	۰/۰۰	۰/۰۰۰
	۱.۷	۱۰	۰/۰۰	۰/۰۰۰
Chlorhexidin	۱.۵	۱۰	۰/۰۰	۰/۰۰۰
	۱.۶	۱۰	۰/۰۰	۰/۰۰۰
	۱.۷	۱۰	۱۵۱۴۲/۸۶	۷۴۱۷/۷۳
Sodium bicarbonate	۱.۵	۱۰	۱۸۰/۰۰	۱۹۸/۸۸
	۱.۶	۱۰	۲۸۲۵/۰۰	۲۵۵۳/۲۸
	۱.۷	۱۰	۱۳۷۰۰/۰۰	۵۹۹۷/۲۲
Control	۱.۵	۱۰	۲۲۶۶/۶۷	۹۲۷/۳۶
	۱.۶	۱۰	۱۶۳۰۰/۰۰	۳۹۴۲/۰۸
	۱.۷	۱۰	۶۷۴۴۰/۰۰	۱۷۴۶۴/۸۳

## جدول ۳- مقایسه اثر نیستاتین با گروه‌های دیگر مورد آزمایش در غلظت‌های مختلف کاندیدا آلبیکانز در زمان یک دقیقه

غلظت	مواد مورد استفاده (I)	مواد مورد استفاده (J)	اختلاف میانگین کلونی‌های کاندیدا (I-J)	معناداری
NYS (10 <sup>5</sup> CFU/mL)	CHX	CHX	۰/۰۰	-
	NYS (10 <sup>5</sup> CFU/mL)	SB 5%	-۱۸۰/۰۰	۰/۳۲
		CTRL	-۲۲۶۶/۶۶	۰/۰۰
NYS (10 <sup>5</sup> CFU/mL)	CHX	CHX	۰/۰۰	-
	NYS (10 <sup>5</sup> CFU/mL)	SB 5%	-۲۸۲۵/۰۰	۰/۲۹
		CTRL	-۱۶۳۰۰/۰۰	۰/۰۰
NYS (10 <sup>5</sup> CFU/mL)	NYS	NYS	۱۸۰/۰۰	۰/۳۲
	NYS (10 <sup>5</sup> CFU/mL)	CHX	۱۸۰/۰۰	۰/۳۲
		CTRL	-۲۰۸۶/۶۶	۰/۰۰

NYS=Nystatin, CHX=Chlorhexidin, SB 5%=Sodium bicarbonate 5%, CTRL=Control

جدول ۴- مقایسه اثر کلرهگزیدین ۰/۱۲٪ با گروه‌های دیگر مورد آزمایش در غلظت‌های مختلف کاندیدا آلبیکانوس در زمان یک دقیقه

غلظت	مواد مورد استفاده (I)	مواد مورد استفاده (J)	اختلاف میانگین کلونی‌های کاندیدا (I-J)	معناداری
CHX (10 <sup>5</sup> CFU/mL)	NYS		۰/۰۰	-
	SB 5%		-۱۸۰/۰۰	۰/۳۲
	CTRL		-۲۲۶۶/۶۶۷*	۰/۰۰
CHX (10 <sup>5</sup> CFU/mL)	NYS		۰/۰۰۰	.
	SB 5%		-۲۸۲۵/۰۰	۰/۲۹
	CTRL		-۱۶۳۰/۰۰۰	۰/۰۰
CHX (10 <sup>5</sup> CFU/mL)	NYS		۱۵۱۴۲/۸۵	۰/۰۳۴
	SB 5%		۱۴۴۲/۸۵	۱/۰۰
	CTRL		-۵۲۲۹۷/۱۴	۰/۰۰

NYS=Nystatin, CHX=Chlorhexidin, SB 5%=Sodium bicarbonate 5%, CTRL=Control

جدول ۵- مقایسه اثر سدیم بی‌کربنات ۵٪ با گروه‌های دیگر مورد آزمایش در غلظت‌های مختلف کاندیدا آلبیکانوس در زمان یک دقیقه

غلظت	مواد مورد استفاده (I)	مواد مورد استفاده (J)	اختلاف میانگین کلونی‌های کاندیدا (I-J)	معناداری
SB 5% (10 <sup>5</sup> CFU/mL)	NYS		۱۸۰/۰۰	۰/۳۲
	CHX		۱۸۰/۰۰	۰/۳۲
	CTRL		-۲۰۸۶/۶۶	۰/۰۰
SB 5% (10 <sup>5</sup> CFU/mL)	NYS		۲۸۲۵/۰۰	۰/۲۹
	CHX		۲۸۲۵/۰۰	۰/۲۹
	CTRL		-۱۳۴۷۵/۰۰	۰/۰۰
SB 5% (10 <sup>5</sup> CFU/mL)	NYS		۱۳۷۰/۰۰۰	۰/۰۰
	CHX		-۱۴۴۲/۸۵	۱/۰۰
	CTRL		-۰۰۵۳۷۴۰	۰/۰۰

NYS=Nystatin, CHX=Chlorhexidin, SB 5%=Sodium bicarbonate 5%, CTRL=Control

## بحث و نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد اثر بخشی هیچ کدام از مواد مورد مطالعه در هیچ کدام از سه سوسپانسیون مورد آزمایش تحت تأثیر زمان‌های مختلف نمونه‌برداری (۱، ۲، ۳ و ۴ دقیقه) قرار نگرفتند. به عبارت دیگر افزایش زمان تماس کلرهگزیدین ۰/۱۲٪ و نیستاتین با سوسپانسیون‌های حاوی کاندیدا در بازه‌های زمانی انتخاب شده باعث افزایش اثر بخشی آن‌ها و کاهش تعداد کلونی‌های باقی مانده کاندیدا

در این مطالعه اثر سدیم بی‌کربنات ۵٪، کلرهگزیدین ۰/۱۲٪ و نیستاتین ۱۰۰۰۰۰ واحد بر روی کلونی‌های کاندیدا آلبیکانوس به عنوان عامل اصلی عفونی در ایجاد دنچر استوماتیت مورد مطالعه قرار گرفت. اثر این مواد بر روی سه غلظت ۱۰<sup>۵</sup>، ۱۰<sup>۶</sup> و ۱۰<sup>۷</sup> CFU/mL از کاندیدا آلبیکانوس در زمان‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ دقیقه بررسی شدند.

CFU/mL از کاندیدا آلبیکانس، سدیم بی‌کربنات ۰/۵٪، کلرهگزیدین ۰/۱۲٪ و نیستاتین از نظر تأثیر روی کلونی‌های کاندیدا آلبیکانس تفاوت معنی‌داری نداشتند. لذا می‌توان این گونه نتیجه گرفت که در این دو غلظت، سدیم بی‌کربنات و کلرهگزیدین می‌توانند به خوبی نیستاتین در نابود کردن کاندیدا آلبیکانس مؤثر باشند. البته این نکته شایان ذکر است که در دو غلظت ذکر شده، کلرهگزیدین ۰/۱۲٪ و نیستاتین تعداد کلونی‌های کاندیدا آلبیکانس را به صفر CFU/mL کاهش داده بودند در صورتی که در مورد سدیم بی‌کربنات این اتفاق نیفتاده بود. مطالعات مکانیسم اثر کلرهگزیدین بر روی کاندیدا را به صورت انعقاد نوکلئو پروتئین‌ها و مهار جوانه زدن مخمر ذکر کرده‌اند (۲۴،۲۵).

برخلاف نتایج این مطالعه Sousa و همکاران (۱۸) مشاهده کردند کلرهگزیدین در غلظت ۱۰۶ CFU/mL کاندیدا آلبیکانس به صورت معنی‌داری از سدیم بی‌کربنات مؤثرتر بوده. این اختلاف را می‌توان به تفاوت در متدولوژی این دو مطالعه نسبت داد. در مطالعه Sousa و همکاران اثر کلرهگزیدین ۰/۱۲٪ و سدیم بی‌کربنات بر چسبندگی کاندیدا آلبیکانس به آکریل رزینی بررسی شده در صورتی که در مطالعه حال حاضر اثرات این موارد بر روی محیط مایع مشابه مخاط دهان بررسی شده است.

Sharon و همکاران (۲۶) مشاهده کردند کلرهگزیدین با وجود اثربخشی آزمایشگاهی مطلوب بر روی خانواده کاندیدا، اثر کمی بر مهار آن در بیماران مبتلا به لوسمی داشته است. این نتیجه‌گیری بالینی ممکن است تحت تأثیر مقاومت دارویی ایجاد شده در این افراد قرار باشد. بیماران لوسمیک به دلیل نقص ایمنی، برای پیشگیری و درمان عفونت‌های فرصت طلب از داروهای ضد قارچ سیستمیک و موضعی استفاده می‌کنند که ممکن است باعث ایجاد گونه‌های کاندیدای مقاوم به داروهای ضعیف‌تر از جمله کلرهگزیدین شده باشد.

در مطالعه حال حاضر، سدیم بی‌کربنات ۰/۵٪ در غلظت ۱۰<sup>۵</sup> و ۱۰<sup>۶</sup> CFU/mL اثری مشابه با نیستاتین بر روی کاندیدا آلبیکانس داشت. در مطالعه ما سدیم بی‌کربنات تقریباً معادل غلظتی تهیه شد که به صورت سنتی در جامعه مورد مصرف و توصیه قرار می‌گیرد. اثر ضد کاندیدایی سدیم بی‌کربنات در مطالعات دیگر نیز تأیید شده است (۲۷،۲۸). اگرچه Patel و همکاران (۲۹) در مطالعه خود ادعا

آلبیکانس نشده بود. این موضوع می‌تواند بیان‌کننده این حقیقت باشد که هر دو ماده بیشترین اثر خود را در طی یک دقیقه اول مجاورتشان با سوسپانسیون‌های کاندیدا آلبیکانس می‌گذارند و بعد از این زمان تأثیر معنی‌داری در کاهش کلونی‌های کاندیدا آلبیکانس ایجاد نمی‌کنند. لذا شاید بتوان این گونه برداشت کرد که استفاده از آن‌ها به میزان بیشتر از یک دقیقه سودی نداشته و فقط باعث ایجاد ناراحتی برای بیمار می‌گردد. این نتایج می‌توانند در ارتباط با ویژگی‌ای به نام post anti-fungal effect توضیح داده شوند که برای هر دو ماده کلرهگزیدین و نیستاتین گزارش شده است (۱۹،۲۰)، در این پدیده مواد ضد قارچ بعد از زمان اکسپوزر کوتاه مدت به محیط آلوده اثر خود را برای مدت طولانی‌تری اعمال خواهند کرد.

براساس این یافته‌ها در ادامه فقط به بحث در مورد اثرات مواد مورد آزمایش در زمان یک دقیقه پرداخته شده و به دلیل مشابه بودن نتایج در تمام زمان‌ها، از بحث در مورد دیگر زمان‌ها خودداری شده است.

در سوسپانسیون ۱۰<sup>۷</sup> CFU/mL، نیستاتین در از بین بردن کاندیدا آلبیکانس به صورت معنی‌داری مؤثرتر از کلرهگزیدین ۰/۱۲٪ و سدیم بی‌کربنات عمل کرده است. هم راستا با نتایج مطالعه حال حاضر، تأثیر چشمگیر نیستاتین و خانواده Poly-ene‌ها بر علیه خانواده کاندیدا در مطالعات متعددی ذکر شده است. بر همین اساس Poly-ene‌ها مدت‌ها به عنوان خط اول درمان بر علیه کاندیدا آلبیکانس در بیماران مبتلا به دنچر استوماتیت شناخته می‌شده‌اند. Falah-Tafti و همکاران (۲۱) مشاهده کردند که نیستاتین به صورت کامل باعث مهار کلونیزاسیون کاندیدا آلبیکانس روی سافت لاینر دنچر شد. Bergendal و Isacson (۲۲) نیز مشاهده کردند طی یک دوره مصرف نیستاتین علایم بالینی دنچر استوماتیت ناشی از کاندیدا کاملاً از بین رفت. برخلاف نتایج این مطالعه Epstein و همکاران (۲۳) در مطالعه خود مشاهده کردند نیستاتین نمی‌تواند یک دارو مناسب برای درمان عوارض دهانی بعد از پیوند مغز استخوان مانند موکوزیت دهان در افراد مبتلا به لوسمی باشد (۲۲). برخلاف پیش فرض مطالعه ذکر شده، عامل اصلی ایجاد موکوزیت بعد پیوند استخوان، باکتری‌های گرم منفی هستند و قارچ‌ها نقش کوچکی در ایجاد این ضایعات بر عهده دارند، لذا اثر کم نیستاتین بر روی آن‌ها دلیل بر ضعف دارو نمی‌باشد بلکه در نتیجه انتخاب نامناسب دارو بوده است. در غلظت‌های ۱۰<sup>۵</sup> و ۱۰<sup>۶</sup>

آلبیکانس برای ایجاد دنچر استوماتیت را مشخص کرده باشند. دوم، نبود مطالعاتی که در آن‌ها به صورت دقیق تعیین کرده باشند دنچر استوماتیت در حضور چه غلظتی از کاندیدا آلبیکانس بر روی مخاط، از نظر بالینی درمان شده در نظر گرفته می‌شود. سدیم بی‌کربنات به عنوان یک ماده کم خطر، ارزان و در دسترس، احتمالاً می‌تواند در غلظت‌های پایین و متوسط کاندیدا آلبیکانس به خوبی عمل کرده و جایگزین مناسبی برای نیستاتین در درمان دنچر استوماتیت داشته باشد. در غلظت‌های بالای کاندیدا آلبیکانس، با وجود اثر بخشی چشمگیر سدیم بی‌کربنات بر روی کاندیدا آلبیکانس، نیستاتین گزینه بهتری برای از بین بردن آن و احتمالاً درمان دارویی دنچر استوماتیت می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان‌نامه دانشجویی به شماره ثبت ۱ یک در دانشکده دندانپزشکی پردیس دانشگاه علوم پزشکی تهران منتج شده است.

کردند که اثر ضد قارچی سدیم بی‌کربنات در بیماران مبتلا به ایدز تفاوت معنی‌داری با گروه پلاسبو نداشته است. برخلاف مطالعات محدود انجام شده در حوزه دندانپزشکی، در حیطه آفت و گیاه شناسی مطالعات متعددی اثر ضد کاندیدایی سدیم بی‌کربنات را نشان داده‌اند. در این مطالعات مکانیسم اثر ضد قارچی این ماده به مواردی چون مهار تولید اسپور، کشیده شدن جرم تیوب و انبساط کلونی‌ها نسبت داده شده است (۳۰). افزایش pH و تغییرات در غشا پلاسمایی نیز از دیگر مکانیسم‌های احتمالی اثر این ماده هستند (۳۱). Schmidt و همکاران نشان دادند که افزایش pH باعث اختلال در فرآیند تولید پروتین و در نتیجه مهار فرایند تولید اسپور در برخی پاتوژن‌های قارچی می‌شود، به علاوه تغییرات pH احتمالاً می‌تواند با اختلال در فعالیت‌های آنزیمی و تغییرات ساختاری دیواره مخمرها باعث تخریب آن‌ها شود (۳۲).

تفسیر نتایج این مطالعه در سایه دو محدودیت انجام شد. اول، نبود مطالعات بالینی قوی که به صورت مجزا آستانه بیماری‌زایی کاندیدا

### منابع:

- Cueto A, Martinez R, Niklander S, Deichler J, Barraza A, Esguep A. Prevalence of oral mucosal lesions in an elderly population in the city of Valparaiso, Chile. *Gerodontology*. 2013;30(3):201-6.
- Zissis A, Yannikakis S, Harrison A. Comparison of denture stomatitis prevalence in 2 population groups. *Int J Prosthodont*. 2006;19(6):621-5.
- Wilson J. The aetiology, diagnosis and management of denture stomatitis. *Br Dent J*. 1998;185(8):380-4.
- Dorko E, Jenca A, Pilipcinec E, Danko J, Svicky E, Tkacikova L. Candida-associated denture stomatitis. *Folia Microbiol (Praha)*. 2001;46(5):443-6.
- Paillaud E, Merlier I, Dupeyron C, Scherman E, Poupon J, Bories PN. Oral candidiasis and nutritional deficiencies in elderly hospitalised patients. *Br J Nutr*. 2004;92(5):861-7.
- Ramage G, Tomsett K, Wickes BL, Lopez-Ribot JL, Redding SW. Denture stomatitis: a role for Candida biofilms. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2004;98(1):53-9.
- Pires FR, Santos EB, Bonan PR, De Almeida OP, Lopes MA. Denture stomatitis and salivary Candida in Brazilian edentulous patients. *J Oral Rehabil*. 2002;29(11):1115-9.
- Bilhan H, Sulun T, Erkose G, Kurt H, Erturan Z, Kutay O, et al. The role of Candida albicans hyphae and Lactobacillus in denture-related stomatitis. *Clin Oral Investig*. 2009;13(4):363-8.
- Girois SB, Chapuis F, Decullier E, Revol BG. Adverse effects of antifungal therapies in invasive fungal infections: review and meta-analysis. *Eur J Clin Microbiol*. 2006;25(2):138-49.
- Pfaller MA. Antifungal drug resistance: mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment. *Am J Med*. 2012 Jan;125(1 Suppl):S3-13.
- Barasch A, Safford MM, Dapkute-Marcus I, Fine DH. Efficacy of chlorhexidine gluconate rinse for treatment and prevention of oral candidiasis in HIV-infected children: a pilot study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2004;97(2):204-7.
- Nittayananta W, DeRouen TA, Arirachakaran P, Laothumthut T, Pangsomboon K, Petsantad S, et al. A randomized clinical trial of chlorhexidine in the maintenance of oral candidiasis-free period in HIV infection. *Oral Dis*. 2008;14(7):665-70.
- Choo A, Delac DM, Messer LB. Oral hygiene measures and promotion: review and considerations. *Aust Dent J*. 2001;46(3):166-73.
- Xing Y LX, Xu QL, Yun J, Lu YQ. Antifungal activities of

- cinnamon oil against *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus flavus* and *Penicillium expansum* in vitro and in vivo fruit test. *Food Sci Technol Int*.2010; 45 1837-42.
- 15- Athar MA, Winner HI. The development of resistance by candida species to polyene antibiotics in vitro. *J Med Microbiol*. 1971;4(4):505-17.
- 16- Garty BZ. Stevens-Johnson syndrome associated with nystatin treatment. *Arch Dermatol*. 1991;127(5):741-2.
- 17- Chandra J, Kuhn DM, Mukherjee PK, Hoyer LL, McCormick T, Ghannoum MA. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *J Bacteriol*. 2001;183(18):5385-94.
- 18- Sousa FA, Paradella TC, Koga-Ito CY, Jorge AO. Effect of sodium bicarbonate on *Candida albicans* adherence to thermally activated acrylic resin. *Braz Oral Res*. 2009;23(4):381-5.
- 19- Samaranayake YH, Yau JY, Thein ZM, Jayatilake JA, Yeung KW, Samaranayake LP. The post-antifungal effect (PAFE) of amphotericin B, nystatin, ketoconazole and 5-fluorocytosine and its impact on the colonization traits of *Candida glabrata*. *Med mycol*. 2010;48(5):725-34.
- 20- Calamari SE, Bojanich MA, Barembaum SR, Berdicevski N, Azcurra AI. Antifungal and post-antifungal effects of chlorhexidine, fluconazole, chitosan and its combinations on *Candida albicans*. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011;16(1):e23-8.
- 21- Falah-Tafti A, Jafari AA, Lotfi-Kamran MH, Fallahzadeh H, Hayan RS. A Comparison of the efficacy of Nystatin and Fluconazole Incorporated into Tissue Conditioner on the In Vitro Attachment and Colonization of *Candida Albicans*. *Dent Res J (Isfahan)*. 2010;7:18-22.
- 22- Bergendal T, Isacson G. Effect of nystatin in the treatment of denture stomatitis. *Scand J Dent Res*. 1980;88:446-54.
- 23- Epstein JB, Vickars L, Spinelli J, Reece D. Efficacy of chlorhexidine and nystatin rinses in prevention of oral complications in leukemia and bone marrow transplantation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1992;73(6):682-9.
- 24- Fathilah AR, Himratul-Aznita WH, Fatheen AR, Suriani KR. The antifungal properties of chlorhexidine digluconate and cetylpyridinium chloride on oral *Candida*. *J Dent*. 2012;40(7):609-15.
- 25- Pizzo G, Giuliana G. Antifungal activity of chlorhexidine containing mouthrinses. An in vitro study. *Minerva Stomatol*. 1998;47(12):665-71.
- 26- Sharon A, Berdicevsky I, Ben-Aryeh H, Gutman D. The effect of chlorhexidine mouth rinses on oral *Candida* in a group of leukemic patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1977;44(2):201-5.
- 27- Gawande PV, LoVetri K, Yakandawala N, Romeo T, Zhanel GG, Cvitkovitch DG, et al. Antibiofilm activity of sodium bicarbonate, sodium metaperiodate and SDS combination against dental unit waterline-associated bacteria and yeast. *J Appl Microbiol*. 2008;105(4):986-92.
- 28- Letscher-Bru V, Obszynski CM, Samsoen M, Sabou M, Waller J, Candolfi E. Antifungal activity of sodium bicarbonate against fungal agents causing superficial infections. *Mycopathologia*. 2013;175(1-2):153-8.
- 29- Patel M, Shackleton JA, Coogan MM, Galpin J. Antifungal effect of mouth rinses on oral *Candida* counts and salivary flow in treatment-naive HIV-infected patients. *AIDS Patient Care STDS*. 2008;22(8):613-8.
- 30- Lai T, Bai X, Wang Y, Zhou J, Shi N, Zhou T. Inhibitory effect of exogenous sodium bicarbonate on development and pathogenicity of postharvest disease *Penicillium expansum*. *Sci Hortic (Amsterdam)*. 2015;187:108-14.
- 31- Manteau S, Abouna S, Lambert B, Legendre L. Differential regulation by ambient pH of putative virulence factor secretion by the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*. *FEMS Microbiol Lett*. 2003;1;43(3):359-66.
- 32- Schmidt P, Walker J, Selway L, Stead D, Yin Z, Enjalbert B, et al. Proteomic analysis of the pH response in the fungal pathogen *Candida glabrata*. *Proteomics*. 2008;8(3):534-44.