

مقایسه میزان حساسیت کاندیدای دهانی جدا شده از مبتلایان به دیابت کنترل نشده نسبت به نیستاتین و فلوکونازول در شرایط آزمایشگاهی

مهديه عزيزى لارى^۱، سميرا حاجى مقصودى^۲، عباسعلى جعفرى^۳، محمد حسن اخوان كرباسى^۱، مریم دهقان^۴

^۱ گروه دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران، ^۲ گروه بیماری‌های دهان و فک و صورت، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران، ^۳ گروه فارچ شناسی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران، ^۴ گروه بیماری‌های داخلی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

تاریخ وصول: ۱۴۰۰/۱۲/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۲۲

چکیده

زمینه و هدف: استوماتیت ناشی از دنچر، شایع‌ترین عفونت فرصت طلب با منشا کاندیدا در کام افرادی است که از دنچر استفاده می‌کنند و این عفونت در بیماران مبتلا به دیابت، شایع‌تر و شدت آن بیشتر است. پژوهش‌های متعددی تاکنون به بررسی تأثیر داروهای مختلف برای درمان کاندیدیازیس دهانی پرداخته‌اند و مواردی از مقاومت دارویی گونه‌های غیرآلبیکنس کاندیدا نسبت به داروهای رایج ضد قارچ گزارش شده است. لذا هدف از این مطالعه، تعیین و مقایسه‌ی میزان حساسیت گونه‌های کاندیدای جدا شده از استوماتیت ناشی از دنچر در افراد با دیابت کنترل نشده نسبت به نیستاتین و فلوکونازول در شرایط آزمایشگاهی بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۹ انجام شد، از کام ۴۳ بیمار مبتلا به دیابت کنترل نشده و دارای ضایعه استوماتیت ناشی از دنچر، که به مرکز تحقیقات دیابت شهرستان یزد مراجعه کرده بودند، با استفاده از سوآپ استریل، نمونه‌گیری انجام شد و سپس در آزمایشگاه، کشت میکروبی برای بررسی تعداد کلونی‌های گونه‌های مختلف کاندیدا از طریق افتراق رنگ کلونی‌های به وجود آمده، هم‌چنین تعیین حداقل غلظت بازدارندگی نیستاتین و فلوکونازول به دو روش انتشار دیسک و میکرودايلوشن براث انجام شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری کروسکال والیس و من ویتنی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: در مجموع ۳۸/۳ درصد از گونه‌های جدا شده، کاندیدا آلبیکنس، ۱۴/۹ درصد کاندیدا تروپیکالیس، ۱۰/۶ درصد کاندیدا کروزه‌ای، ۸/۵ درصد کاندیدا گلابراتا و ۲۷/۷ درصد از سایر گونه‌های کاندیدا بود. طبق نتایج هر دو روش تعیین حساسیت دارویی، کاندیدا آلبیکنس، حساس‌ترین گونه نسبت به هر دو داروی فلوکونازول و نیستاتین بود. مقاوم‌ترین گونه نسبت به نیستاتین، کاندیدا گلابراتا و نسبت به فلوکونازول، کاندیدا کروزه‌ای بود. در غلظت ۱۰۰ درصد، به جز کاندیدا آلبیکنس، حساسیت سایر گونه‌های کاندیدا نسبت به نیستاتین به طور معنی‌داری بالاتر از حساسیت به فلوکونازول بود ($p=0/05$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که برای درمان استوماتیت ناشی از دنچر در افراد مبتلا به دیابت کنترل نشده، نیستاتین نسبت به فلوکونازول تأثیر بیشتری دارد.

واژه‌های کلیدی: کاندیدیازیس، ضد قارچ، دیابت، انتشار دیسک، کاندیدا آلبیکنس

*نویسنده مسئول: سمیرا حاجی مقصودی، یزد، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، گروه بیماری‌های دهان و فک و صورت
Email: azizi7294@yahoo.com

مقدمه

شیوع عفونت‌های قارچی پوستی مخاطی در سراسر جهان در حال افزایش است. کاندیدیازیس دهانی، شایع‌ترین عفونت فرصت‌طلبی است که مخاط دهان را درگیر می‌کند. این عفونت می‌تواند پیامدی از یک بیماری سیستمیک، نظیر دیابت ملیتوس باشد و همچنین یک مشکل شایع بین افراد با ضعف سیستم ایمنی است (۱).

مهم‌ترین انواع قارچ کاندیدا شامل؛ کاندیدا آلبیکنس (شایع‌ترین)، تروپیکالیس، گلابراتا، سودوتروپیکالیس، اگیلموند، کروز، لوسیتانیا و پاراپسیلوزیس هستند (۱). میزان شیوع کاندیدا آلبیکنس جدا شده از حفره دهان، ۲۰ تا ۷۵ درصد در جمعیت عمومی است. در افراد با ضعف سیستم ایمنی، عفونت می‌تواند در جریان خون یا دستگاه گوارش فوقانی انتشار یابد و موجب عفونت شدید شود (۲).

استوماتیت ناشی از دنچر، شایع‌ترین عفونت فرصت‌طلب با منشأ کاندیدا، در کام افرادی است که از دنچر استفاده می‌کنند (۳). مشخصه بالینی این ضایعه، قرمزی و ادم مخاط در سطح تماس با دنچر است. اتیولوژی اولیه این ضایعه، رشد بیش از حد کاندیدای موجود در بزاق بین سطح دنچر و کام، به دلیل محدودیت جریان طبیعی بزاق است (۴). بیماران، معمولاً بدون علامتند، اما ممکن است دچار سوزش مختصر و التهاب گوشه لب شوند. استوماتیت ناشی از دنچر مرتبط با کاندیدا، بر حسب شدت ضایعه، به سه زیر گروه تقسیم شده است. استوماتیت ناشی از

دنچر، در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲، نسبت به افراد با متابولیسم گلوکز نرمال که از دنچر استفاده می‌کنند، شایع‌تر و شدیدتر است. علل شیوع بیشتر عفونت در افراد دیابتی، کاهش ایمنی هومورال و سلولی، آنژیوپاتی، نوروپاتی و مصرف داروهای مختلف می‌باشد (۵).

درمان رایج شامل؛ بهداشت دهان و دنچر، خارج کردن دنچر در شب، اصلاح نواقص دنچر، استفاده از عوامل ضد قارچ موضعی و سیستمیک مثل نیستاتین، آزول و آمفوتریسین B است (۶). پژوهش‌های اپیدمیولوژیک نشان داده است که عفونت‌های مهم قارچی، به وسیله گونه‌های مقاوم به داروهای ضدقارچ ایجاد می‌شود. این موضوع به خصوص در مورد مقاومت گونه‌های کاندیدا نسبت به داروهای ضدقارچ مورد تأکید قرار گرفته است (۷).

پژوهش‌های متعددی تا کنون تأثیر استفاده از عوامل ضدقارچ مختلف در درمان انواع عفونت‌های کاندیدیازیس، از جمله عفونت مرتبط با دنچر را مورد بررسی و مقایسه قرار داده‌اند و نتایج متفاوت و ضد و نقیضی از پژوهش‌های مذکور حاصل شده است.

گونه‌های کاندیدا، مرتباً در دهان بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس یافت شده است و کاندیدا آلبیکنس، شایع‌ترین گونه یافت شده در دهان این بیماران است. به علاوه، بیشترین میزان کلونیزاسیون کاندیدا در افراد مبتلا به دیابت کنترل نشده اتفاق می‌افتد (۸). شیوع عفونت کاندیدیازیس دهانی در بیماران دیابتی ۱۳/۷ تا ۶۴ درصد و شیوع استوماتیت ناشی از دنچر

مشابه، تعداد ۴۳ نمونه در نظر گرفته شد. در ضمن، هدف از انجام مطالعه برای افراد مورد بررسی، تبیین و از ایشان رضایت‌نامه کتبی جهت انجام نمونه‌گیری دهان گرفته شده است.

بیماران مبتلا به دیابت کنترل نشده که یک آزمایش هموگلوبین A1c بالای ۷/۵ مربوط به حداکثر ۳ ماه گذشته داشتند (۵) و دارای دنچر بودند، از نظر وجود ضایعات کاندیدیازیس دهانی ناشی از دنچر بررسی شدند و فرم پرسشنامه شامل؛ اطلاعات دموگرافیک، سابقه استفاده از دنچر، میزان قندخون ناشتا و میزان هموگلوبین A1c تکمیل گردید. افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ کنترل نشده که دارای پروتز کامل یا پارسیل فک بالا و استوماتیت ناشی از دنچر در ناحیه کام سخت بودند و حداقل از ۶ ماه پیش مبتلا به دیابت و تحت درمان با داروهای خوراکی قندخون بوده و در بازه سنی ۲۰ تا ۷۰ سال قرار داشتند، مورد بررسی قرار گرفتند.

هم‌چنین این افراد در هنگام نمونه‌برداری از دهانشویه استفاده نکرده بودند و عدم مصرف داروهای کورتیکواستروئید، آنتی‌بیوتیک، تضعیف‌کننده سیستم ایمنی یا هر گونه دارویی که عامل خشکی دهان باشد، عدم مصرف سیگار، فقدان هر نوع بیماری سیستمیک تضعیف‌کننده سیستم ایمنی به جز دیابت و فاصله حداقل دو ساعت از غذا خوردن، مسواک زدن یا شست و شوی دنچر به وسیله بیمار از دیگر معیارهای ورود به مطالعه بود.

نوع ۲ در بین افراد مبتلا به دیابت نوع ۲، ۵۷/۳ درصد گزارش شده است (۱۰ و ۹).

نیستاتین، رایج‌ترین عامل درمان عفونت‌های قارچی سطحی ایجاد شده به وسیله کاندیدا آلبیکنس است. بسته به غلظت تجویز شده، این دارو می‌تواند هم خواص کشندگی و هم مهار کنندگی قارچ را داشته باشد (۱۱).

از سوی دیگر استفاده از آزول‌ها در درمان کاندیدیازیس دهانی در حال افزایش است. در واقع، فلوکونازول دارویی مؤثر در درمان کاندیدیازیس دهانی-حلقی در مبتلایان به HIV است. کتوکونازول، فلوکونازول و ایتراکونازول، برای درمان کاندیدیازیس موضعی و سیستمیک قابل استفاده هستند (۱۲).

با توجه به شیوع بالای عفونت کاندیدیازیس در افراد مبتلا به دیابت و ضعف سیستم ایمنی در این بیماران که می‌تواند منجر به پاسخ نامناسب به درمان دارویی شود، لذا هدف از این مطالعه، تعیین و مقایسه میزان حساسیت گونه‌های کاندیدای جدا شده از استوماتیت ناشی از دنچر در افراد با دیابت کنترل نشده نسبت به نیستاتین و فلوکونازول در شرایط آزمایشگاهی بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۹ انجام شد، با در نظر گرفتن پژوهش‌های مشابه و سطح معنی‌داری ۵ درصد و توان آزمون ۸۰ درصد و با توجه به مقدار انحراف معیار هاله عدم رشد از مطالعه

با استفاده از سوپ از نواحی مبتلا به استوماتیت ناشی از دنچر، نمونه گرفته شده و روی محیط کشت کاندیدا کروم آگار کشت داده شد. کشت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس به وسیله کارشناس آزمایشگاه، میزان کلونیزاسیون هر کشت، بررسی و نوع گونه کاندیدا با استفاده از رنگ کلنی جدا شده تعیین گردید.

در محیط کروم آگار، کلونی‌های به رنگ سبز روشن، کاندیدا آلبیکنس، آبی با هاله قهوه‌ای تیره تا ارغوانی، تروپیکالیس، صورتی با سطح ناصاف و دارای حاشیه، کروزه‌ای و ارغوانی تیره با کناره‌های صورتی و سطح صاف، گلابراتا در نظر گرفته شدند. جهت تهیه غلظت‌های مختلف دارویی طبق پژوهش‌های انجام شده قبلی پودر نیستاتین ۱۰۰۰۰۰ واحد (پارس دارو، ایران) را از داروخانه تهیه کرده و طبق دستور، با اضافه کردن آب مقطر استریل، سوسپانسیون تهیه گردید (۱۳).

همچنین ۵۰ میکروگرم از پودر فلوکونازول (پارس دارو، ایران) در ۱۰۰ میکرولیتر دی‌متیل سولفوکساید (سیگما، انگلستان) حل شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری و برای آزمایش استفاده شد (۱۴). سپس از غلظت‌های اولیه نیستاتین و فلوکونازول، سریال رقت با نسبت‌های ۱ به ۲، ۱ به ۴، ۱ به ۸، ۱ به ۱۶، ۱ به ۳۲، ۱ به ۶۴، ۱ به ۱۲۸، ۱ به ۲۵۶، ۱ به ۵۱۲، ۱ به ۱۰۲۴، ۱ به ۲۰۴۸ و ۱ به ۴۰۹۶ به دست آمد. همچنین قبل از انجام آزمایش، از هر

کدام از گونه‌های کاندیدا، با استفاده از لام نئوبار (Haematocytometer slide)، سوسپانسیون^۶ ۱×۱۰ در محیط سابورودا، تهیه شد.

انجام روش میکرودايلوشن برات: در این روش از میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای الیزا استفاده شد، به این صورت که در هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون کاندیدی، به علاوه ۱۰۰ میکرولیتر از رقت خاص داروی مورد نظر ریخته شد. سپس درب میکروپلیت‌ها با استفاده از پارافیلیم، کاملاً بسته شد و به مدت ۴۸ ساعت شیک و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس از محتوای هر چاهک، ۱۰ میکرولیتر برداشته و با ۹۰ میکرولیتر آب مقطر استریل، مخلوط و روی محیط کشت سابورودکستروز آگار به صورت چمنی کشت داده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری و بعد از لحاظ وجود رشد و تعداد کلونی مورد بررسی قرار گرفت.

جهت انجام روش انتشار دیسک: دیسک‌های استریل بلانک، در سوسپانسیون‌های دارویی با رقت‌های مختلفی که گفته شد، غوطه‌ور گردید و برای ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد. سپس، با استفاده از پنس استریل و در کنار شعله، داخل پلیت‌های استریل قرار داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد خشک شد. در هر دو روش مورد استفاده، غلظت اولیه فلوکونازول، ۵۰ میکروگرم در هر میلی‌لیتر و غلظت اولیه نیستاتین،

مختلف کاندیدا نسبت به فلوکونازول نشان داد ($p=0/0001$)، اما تفاوت آماری معنی‌داری بین میزان حساسیت گونه‌های مختلف کاندیدا نسبت به نیستاتین وجود نداشت، در تمامی گونه‌ها میانگین غلظت بازدارنده نیستاتین به طور مشخصی از فلوکونازول پایین‌تر بود ($p=0/12$) (جدول ۲).

میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) گونه‌های کاندیدای جدا شده از ضایعات استوماتیت ناشی از دنچر با روش انتشار دیسک در رقت‌های مختلف نیستاتین و فلوکونازول به ترتیب در جداول ۳ و ۴ آورده شده است.

با استفاده از آزمون آماری کراس کال والیس، بین قطر هاله عدم رشد کاندیدا آلیککس با سایر گونه‌های کاندیدا در غلظت‌های مختلف فلوکونازول تفاوت آماری معنی‌داری وجود داشت ($p=0/001$)، اما در مورد نیستاتین تفاوت معنی‌داری در قطر هاله عدم رشد بین گونه‌های مختلف وجود نداشت ($p=0/3$) (جدول ۴ و ۳).

در مورد کاندیدا آلیککس، بین میانگین قطر هاله عدم رشد نیستاتین با رقت ۱ و فلوکونازول با رقت ۱، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p=0/2$)، ولی در مورد گونه‌های غیر آلیککس، تأثیر نیستاتین به طور معنی‌داری بالاتر بود ($p=0/05$) (جدول ۴ و ۳).

۱/۱۰۰۰۰۰ واحد، معادل ۰/۳۳۳ میکروگرم در هر میلی‌لیتر بود. برای کشت گونه‌ها، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون با رقت 10^6 واحد کلونی در هر میلی‌لیتر (معادل ۰/۵ مک فارلند) از هر گونه، به صورت چمنی روی محیط سابورو دکستروز آگار کشت و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس با استفاده از پنس استریل و در کنار شعله، دیسک‌ها با فاصله ۳ سانتی‌متری از هم، روی محیط کشت قرار داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و بعد، از لحاظ وجود هاله ی عدم رشد، مورد بررسی قرار گرفت.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری کروسکال والیس و من ویتنی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

از ۴۳ فرد مورد بررسی، ۳۹ فرد دارای کشت مثبت کاندیدا و ۴ بیمار، فاقد هر گونه کلونی بودند. توزیع فراوانی گونه‌های کاندیدای جدا شده از کشت نمونه‌ها در جدول ۱ آمده است.

حساسیت گونه‌های کاندیدا نسبت به نیستاتین و فلوکونازول طبق روش میکرودايلوشن برات در جدول ۲ آمده است.

در این روش، آزمون آماری من ویتنی تفاوت آماری معنی‌داری بین میزان حساسیت گونه‌های

جدول ۱: توزیع فراوانی گونه‌های کاندیدای جدا شده از کشت نمونه‌های مورد مطالعه

گونه کاندیدا	تعداد نمونه با کشت مثبت	درصد نمونه با کشت مثبت	میانگین تعداد کلونی در نمونه‌ها	انحراف معیار	حداقل تعداد کلونی در نمونه‌ها	حداکثر تعداد کلونی در نمونه‌ها
کاندیدا آلیکس	۱۸	۳۸/۳	۱۲۹/۷	۲۷۷/۶	۴	۱۲۰۰
کاندیدا کروزه ای	۵	۱۰/۶	۱۲۵/۲	۲۰۱/۳	۲	۴۸۰
کاندیدا تروپیکالیس	۷	۱۴/۹	۸۳	۵۹/۴	۱۱	۱۶۰
کاندیدا گلابراتا	۴	۸/۵	۲۹۱/۲	۱۲۵/۸	۲۵	۵۴۰
سایر گونه های کاندیدا	۱۳	۲۷/۷	۸۲۹۳	۲۷۵۵/۸	۴	۱۰۰۰۰۰

جدول ۲: مقایسه میانگین حداقل غلظت بازدارنده نیستاتین و فلوکونازول به روش میکرودیولوشن برات

گونه ی کاندیدا	میانگین حداقل غلظت بازدارنده ی نیستاتین	سطح معنی داری	میانگین حداقل غلظت بازدارنده ی فلوکونازول	سطح معنی داری
کاندیدا آلیکس	غلظت ۱ به ۴۰۹۶ معادل		غلظت ۱ به ۱۲۸ معادل ۰/۳۹	
کاندیدا کروزه ای	۰/۰۰۰۰۸۱۳ میکروگرم در میلی لیتر		غلظت ۱ به ۸ معادل ۶/۲۵	
کاندیدا تروپیکالیس	غلظت ۱ به ۲۰۴۸ معادل ۰/۰۰۰۱۶	۰/۱۲	غلظت ۱ به ۱۶ معادل ۳/۱۲	۰/۰۰۰۱
کاندیدا گلابراتا	غلظت ۱ به ۱۰۲۴ معادل ۰/۰۰۰۳۲		غلظت ۱ به ۳۲ معادل ۱/۵۶	
سایر گونه های کاندیدا	غلظت ۱ به ۲۰۴۸ معادل ۰/۰۰۰۱۶		غلظت ۱ به ۶۴ معادل ۰/۷۸	

* مان ویتنی وی

جدول ۳: میانگین قطر هاله عدم رشد (به میلی متر) گونه‌های کاندیدا با روش انتشار دیسک در رقت‌های مختلف نیستاتین

گونه کاندیدا	رقت نیستاتین											
	۱	۲ به ۱	۴ به ۱	۸ به ۱	۱۶	۳۲	۶۴	۱۲۸	۲۵۶	۵۱۲	۱۰۲۴	۲۰۴۸
کاندیدا آلیکس	۱۸	۱۸	۱۶	۱۳/۵	۸	۸	۴/۸	۴	۳/۳	۲/۸	۱/۳	۱
کاندیدا کروزه ای	۱۶/۵	۱۵	۱۵	۱۲	۹	۷/۳	۶	۴/۵	۴	۲/۳	۱/۱	۰
کاندیدا تروپیکالیس	۱۸/۶	۱۸	۱۶/۱	۱۴/۱	۱۱/۳	۱۰	۶	۵/۹	۵	۴/۸	۳/۲	۰/۵
کاندیدا گلابراتا	۱۶/۳	۱۵	۱۵	۱۲	۹	۶	۶	۶	۵	۳	۱/۲	۰
سایر گونه های کاندیدا	۱۷/۳	۱۵/۸	۱۴/۵	۱۲/۳	۹	۷/۲	۵/۳	۵/۳	۵	۴	۱/۲	۱

* کروسکال وایس (p=۰/۳)

جدول ۴: میانگین قطر هاله عدم رشد (به میلی‌متر) گونه‌های کاندیدا با روش انتشار دیسک در رقت‌های مختلف فلوکونازول

گونه کاندیدا	رقت فلوکونازول								
	۱	۲ به ۱	۴ به ۱	۸ به ۱	۱۶ به ۱	۳۲ به ۱	۶۴ به ۱	۱۲۸ به ۱	۲۵۶ به ۱
کاندیدا آلبیکنس	۱۷	۱۱/۱	۷/۴	۶	۵	۵	۲/۵	۱/۱	۰
کاندیدا کروزه ای	۴/۳	۳/۳	۲/۲	۱/۳	۰	۰	۰	۰	۰
کاندیدا تروپیکالیس	۵/۶	۳/۴	۳/۵	۲/۱	۱	۰	۰	۰	۰
کاندیدا گلابراتا	۶/۵	۶	۴/۸	۴	۳/۱	۱/۲	۰	۰	۰
سایر گونه های کاندیدا	۶/۳	۵/۶	۵/۲	۴	۳/۵	۳/۲	۲/۱	۰	۰

* کروسکال والیس (p=۰/۰۰۱)

بحث

گرفت درصد فراوانی گونه‌های آلبیکنس ۵۰، گلابراتا ۲۱/۴، کروزه‌ای ۹/۸، تروپیکالیس ۰/۸ و سایر گونه‌ها ۸ درصد بود. در مطالعه دیاز و همکاران (۱۶) با تعداد ۱۴۵ نمونه که بر روی مخاط دهان انجام شده بود درصد فراوانی گونه‌های آلبیکنس ۸۶، گلابراتا ۱۱، تروپیکالیس ۰/۶ و سایر گونه‌ها ۱/۲ درصد بود. مطالعه مواچینگا و همکاران (۱۷) هم با ۲۰۷ نمونه از مخاط دهان مبتلا به کاندیدیا زیز نشان داد آلبیکنس بیشترین و کروزه‌ای کمترین فراوانی را داراست و در مطالعه زمردیان و همکاران (۱۸) که مشابه مطالعه حاضر بر روی مخاط مبتلا به استوماتیت دنچر با تعداد ۱۱۴ نمونه انجام شده بود، آلبیکنس بیشترین و سایر گونه‌های غیر معمول کمترین درصد فراوانی را داشتند.

در مطالعه حاضر نتایج به دست آمده از دو روش میکرودايلوشن براث و انتشار دیسک مورد بررسی قرار گرفتند. طبق نتایج مطالعه حاضر، بیشترین میزان حساسیت نسبت به نیستاتین، به ترتیب در: آلبیکنس، تروپیکالیس، کروزه‌ای و سایر

پژوهش‌های متعددی تاکنون تأثیر استفاده از عوامل ضدقارچ مختلف در درمان انواع عفونت‌های کاندیدیا زیز، از جمله عفونت مرتبط با دنچر را مورد بررسی و مقایسه قرار داده اند و نتایج متفاوت و ضد و نقیضی از پژوهش‌های مذکور حاصل شده است (۸). با توجه به شیوع بالای عفونت کاندیدیا زیز در افراد مبتلا به دیابت و ضعف سیستم ایمنی در این بیماران که می‌تواند منجر به پاسخ نامناسب به درمان دارویی شود، لذا هدف از این مطالعه، تعیین و مقایسه میزان حساسیت گونه‌های کاندیدای جدا شده از استوماتیت ناشی از دنچر در افراد با دیابت کنترل نشده نسبت به نیستاتین و فلوکونازول در شرایط آزمایشگاهی بود. فراوانی گونه‌های مختلف کاندیدا در مطالعه حاضر به این صورت بود: آلبیکنس (۳۸/۳ درصد)، تروپیکالیس (۱۴/۹ درصد)، کروزه‌ای (۱۰ درصد)، گلابراتا (۸/۵ درصد) و سایر گونه‌ها (۲۷/۷ درصد). در مطالعه البرزی و همکاران (۱۵) با تعداد ۲۷۳ نمونه که بر روی مخاط دهان بیمار مبتلا به HIV انجام

بر گونه‌های تروپیکالیس، آلبیکنس، گلابراتا و کروزه‌ای بود.

از لحاظ مقایسه تأثیر فلوکونازول با نیستاتین طبق هر دو روش تعیین MIC در ایمن مطالعه (میکرودیالوژن برات و انتشار دیسک) نیستاتین از فلوکونازول مؤثرتر بود. در حالی که در غلظت ۱۰۰ درصد این دو دارو (یعنی سوسپانسیون نیستاتین ۱/۱۰۰۰۰۰ واحد و محلول ۵۰ میکروگرم در ۱۰۰ میکرولیتر فلوکونازول)، قطره‌اله عدم رشد کاندیدا آلبیکنس در مورد فلوکونازول و نیستاتین تفاوت آماری معنی‌داری نداشت، اما در گونه‌های دیگر، حساسیت نسبت به نیستاتین به طور معنی‌داری بالاتر از حساسیت به فلوکونازول بود.

طبق مطالعه فان و همکاران که روی ۲۸۳ نمونه از افراد مبتلا به کاندیدیازیس واژینال و با استفاده از اسپیلومتر تست انجام شد، کاندیدا آلبیکنس و گونه‌های دیگر کاندیدا نسبت به نیستاتین حساس بودند، اما مقاومت اندکی نسبت به فلوکونازول از خود نشان دادند (۲۷) که این نتیجه با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد.

در مطالعه کانتارسیگلو و همکاران، نیستاتین و فلوکونازول هر دو در درمان کاندیدیازیس ناشی از کاندیدا آلبیکنس و تروپیکالیس مؤثر بودند، اما در درمان کاندیدیازیس ناشی از کاندیدا کروزه‌ای و گلابراتا، نیستاتین تأثیر بیشتری داشت که مشابه نتایج این مطالعه بود (۲۰).

گونه‌های کاندیدا بود. هم‌چنین بیشترین حساسیت گونه‌ها به فلوکونازول، به ترتیب در؛ آلبیکنس، گونه‌های کمتر شایع، گلابراتا، تروپیکالیس و کاندیدا کروزه‌ای دیده شد. نتایج به دست آمده طی دو روش میکرودیالوژن برات و انتشار دیسک با یکدیگر مطابقت داشت.

در بین مطالعاتی که با روش میکرودیالوژن برات انجام گرفته بود در مطالعه چوکری و همکاران (۱۹) تأثیر داروی نیستاتین بر همه گونه‌ها یکسان بود. در مطالعه کانتارسیگلو و همکاران (۲۰) بیشترین تأثیر نیستاتین به ترتیب بر روی گونه‌های آلبیکنس، تروپیکالیس، گلابراتا و کروزه‌ای بود. در مطالعه کاریلو و همکاران (۲۱) نیز بیشترین تأثیر نیستاتین به ترتیب بر روی گونه‌های کروزه‌ای، تروپیکالیس، آلبیکنس و گلابراتا بود.

هم‌چنین در پژوهش‌های انجام شده با روش میکرودیالوژن برات در زمینه تأثیر فلوکونازول بر گونه‌های مختلف کاندیدا در مطالعه اشپینل و همکاران (۲۲) بیشترین تأثیر به ترتیب بر گونه‌های آلبیکنس، گلابراتا، تروپیکالیس و کروزه‌ای بود. هم‌چنین در پژوهش‌های کانتارسیگلو و همکاران (۲۰)، فالر و همکاران (۲۳)، راموس و همکاران (۲۴)، مطالعه دیگری از فالر و همکاران (۲۵) و جانگ و همکاران (۲۶) بیشترین تأثیر به ترتیب بر گونه‌های آلبیکنس، تروپیکالیس، گلابراتا، و کروزه‌ای بود. هم‌چنین در مطالعه کاریلو و همکاران (۲۱) بیشترین تأثیر به ترتیب

طبق مطالعه دیاز و همکاران که روی ۱۴۵ نمونه و با روش میکرودايلوشن براث انجام شد، تمام گونه‌های کاندیدا نسبت به نیستاتین حساس بودند، اما بعضی موارد از گونه‌های آلبیکنس و تروپیکالیس نسبت به فلوکونازول مقاومت نشان دادند (۱۶). در مطالعه حاضر نیز حد اقل غلظت بازدارندگی نیستاتین در تمامی گونه‌های کاندیدا بیشتر از فلوکونازول بود.

مطالعه فلاح تفتی و همکاران نشان داد نیستاتین در همه غلظت‌ها می‌تواند کاملاً از اتصال و کلونیزاسیون کاندیدا آلبیکنس جلوگیری کند، اما فقط غلظت ۱۰ درصد یا بیشتر فلوکونازول این تأثیر را دارد (۲۸). لذا تمام پژوهش‌های مذکور با مطالعه حاضر هم‌سو بوده‌اند.

در مطالعه مارتینز و همکاران، که روی ۱۱۱ نمونه واژینال، قبل و بعد از درمان با فلوکونازول و نیستاتین انجام شد، مشاهده شد که هر دوی این داروها در زنان مبتلا به واژینیت مربوط به کاندیدا آلبیکنس مؤثر بود، ولی در زنان مبتلا به واژینیت مربوط به کاندیدا غیر آلبیکنس، فقط فلوکونازول تأثیر کافی داشت که این نتیجه با نتیجه حاصل از مطالعه حاضر مغایر است (۲۹). از دلایل این مغایرت، می‌توان به نوع مطالعه توجه نمود که مطالعه مارتینز یک کارآزمایی بالینی می‌باشد. همچنین، نمونه‌ها از ناحیه واژینال تهیه شده که می‌تواند متفاوت در میزان تأثیر داروهای موضعی و سیستمیک، از لحاظ در دسترس بودن نواحی درگیر نسبت به داروها باشد.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که تمامی گونه‌های کاندیدای جدا شده از استوماتیت ناشی از دنچر در افراد مبتلا به دیابت کنترل نشده نسبت به نیستاتین و

طبق مطالعه دیاز و همکاران که روی ۱۴۵ نمونه و با روش میکرودايلوشن براث انجام شد، تمام گونه‌های کاندیدا نسبت به نیستاتین حساس بودند، اما بعضی موارد از گونه‌های آلبیکنس و تروپیکالیس نسبت به فلوکونازول مقاومت نشان دادند (۱۶). در مطالعه حاضر نیز حد اقل غلظت بازدارندگی نیستاتین در تمامی گونه‌های کاندیدا بیشتر از فلوکونازول بود.

مطالعه فلاح تفتی و همکاران نشان داد نیستاتین در همه غلظت‌ها می‌تواند کاملاً از اتصال و کلونیزاسیون کاندیدا آلبیکنس جلوگیری کند، اما فقط غلظت ۱۰ درصد یا بیشتر فلوکونازول این تأثیر را دارد (۲۸). لذا تمام پژوهش‌های مذکور با مطالعه حاضر هم‌سو بوده‌اند.

در مطالعه مارتینز و همکاران، که روی ۱۱۱ نمونه واژینال، قبل و بعد از درمان با فلوکونازول و نیستاتین انجام شد، مشاهده شد که هر دوی این داروها در زنان مبتلا به واژینیت مربوط به کاندیدا آلبیکنس مؤثر بود، ولی در زنان مبتلا به واژینیت مربوط به کاندیدا غیر آلبیکنس، فقط فلوکونازول تأثیر کافی داشت که این نتیجه با نتیجه حاصل از مطالعه حاضر مغایر است (۲۹). از دلایل این مغایرت، می‌توان به نوع مطالعه توجه نمود که مطالعه مارتینز یک کارآزمایی بالینی می‌باشد. همچنین، نمونه‌ها از ناحیه واژینال تهیه شده که می‌تواند متفاوت در میزان تأثیر داروهای موضعی و سیستمیک، از لحاظ در دسترس بودن نواحی درگیر نسبت به داروها باشد.

فلوکونازول حساس هستند، اما نسبت به نیستاتین حساسیت بیشتری نشان می‌دهند و برای درمان به غلظت کمتری از دارو نیاز است. هم‌چنین نسبت به نیستاتین، کاندیدا آلبیکنس حساس‌ترین گونه و کاندیدا گلابراتا مقاوم‌ترین گونه و نسبت به فلوکونازول، کاندیدا آلبیکنس حساس‌ترین گونه و کاندیدا کروزه‌ای مقاوم‌ترین گونه می‌باشد.

تقدیر و تشکر

این مقاله بر گرفته از پایان نامه دکترای رشته مصوب دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد با کد اخلاق IR.SSU.REC.1397.080 می‌باشد، که با حمایت مالی این دانشگاه انجام شد.

REFERENCES

- 1.Samaranayake L. Essential Microbiology for Dentistry. 5th ed. United States of America: Elsevier Health Sciences; 2018; 110-40.
- 2.Ghannoum MA. Candida Adherence to Epithelial Cells. Kuwait: CRC Press; 2018; 11-14.
- 3.Figueiral MH, Azul A, Pinto E, Fonseca P, Branco FM, Scully C. Denture-related stomatitis: identification of aetiological and predisposing factors—a large cohort. Journal of Oral Rehabilitation 2007; 34(6): 448-55.
- 4.Salerno C, Pascale M, Contaldo M, Esposito V, Busciolano M, Milillo L, et al. Candida-associated denture stomatitis. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2011; 16(2): e139-43.
- 5.Glick M. Burket's Oral Medicine. 12th ed. Connecticut: People's Medical Publishing House USA; 2015; 23.
- 6.Alonso GC, Klein MI, Jordão CC, Carmello JC, Pavarina AC. Gene expression of candida albicans strains isolates from patients with denture stomatitis submitted to treatments with photodynamic therapy and nystatin. Photodiagnosis Photodyn Ther 2021; 35: 102292.
- 7.Pristov KE, Ghannoum MA. Resistance of candida to azoles and echinocandins worldwide. Clin Microbiol Infect 2019; 25(7): 792-8.
- 8.Javed F, Al-Kheraif AA, Kellesarian SV, Vohra F, Romanos GE. Oral candida carriage and species prevalence in denture stomatitis patients with and without diabetes. J Biol Regul Homeost Agents 2017; 31(2): 343-6.
- 9.Belazi M, Veleglaki A, Fleva A, Gidarakou I, Papanau L, Baka D, et al. Candidal overgrowth in diabetic patients: potential predisposing factors. Mycoses 2005; 48(3): 192-6.
- 10.Dorocka-Bobkowska B, Zozulinska-Ziolkiewicz D, Wierusz-Wysocka B, Hedzelek W, Szumala-Kakol A, Budtz-Jørgensen E. Candida-associated denture stomatitis in type 2 diabetes mellitus. Diabetes Research and Clinical Practice 2010; 90(1): 81-6.
- 11.Samaranayake LP, Keung Leung W, Jin L. Oral mucosal fungal infections. Periodontology 2009; 49(1): 39-59.
- 12.Goldman M, Cloud GA, Wade KD, Reboli AC, Fichtenbaum CJ, Hafner R, et al. AIDS Clinical Trials Group Study Team 323; Mycoses Study Group Study Team 40. A randomized study of the use of fluconazole in continuous versus episodic therapy in patients with advanced HIV infection and a history of oropharyngeal candidiasis: AIDS Clinical Trials Group Study 323/Mycoses Study Group Study 40. Clin Infect Dis 2005; 41(10): 1473-80.
- 13.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. Dental Research Journal 2010; 7(1): 18-20.
- 14.Jafari A, Jafari H, Dehghanbandkoki A, Baghbanian M. Antifungal activity of aqueous extracts from ferula assa foetida aerial parts on candida albicans and its comparison with fluconazole in vitro. TB 2014; 13(3): 171-81.
- 15.Alborzi A, Davarpanah MA. Distributions and antifungal susceptibility of candida species from mucosal sites in HIV positive patients. Archives of Iranian Medicine 2010; 13(4): 253-82.
- 16.Diaz MC, Camponovo R, Araya I, Cerda A, Santander MP, Carrillo-Munoz AJ. Identification and in vitro antifungal susceptibility of vaginal Candida spp. isolates to fluconazole, clotrimazole and nystatin. Revistaespanola de Quimioterapia: Publicacionoficial De La Sociedad Espanola de Quimioterapia 2016; 29(3): 151-4.
- 17.Muadcheingka T, Tantivitayakul P. Distribution of candida albicans and non-albicans candida species in oral candidiasis patients: correlationbetween cell surface hydrophobicity and biofilm forming activities. Archives of Oral Biology 2015; 60(6): 894-901.
- 18.Zomorodian K, Haghghi NN, Rajaei N, Pakshir K, Tarazooie B, Vojdani M, et al. Assessment of candida species colonization and denture-related stomatitis in complete denture wearers. Medical Mycology 2011; 49(2): 208-11.
- 19.Choukri F, Benderdouche M, Sednau P. In vitro susceptibility profile of 200 recent clinical isolates of candida spp. to topical antifungal treatments of vulvovaginal candidiasis, the imidazoles and nystatin agents. Journal of Medical Mycology 2014; 24(4): 303-7.
- 20.Kantarcioğlu AS, Kiraz N, Aydin A. Microbiota–gut–brain axis: Yeast species isolated from stool samples of children with suspected or diagnosed autism spectrum disorders and in vitro susceptibility against nystatin and fluconazole. Mycopathologia 2016; 181(1-2): 1-7.
- 21.Carrillo-Munoz A, Quindos G, Tur C, Ruesga M, Miranda Y, Valle Od, et al. In-vitro antifungal activity of liposomal nystatin in comparison with nystatin, amphotericin B cholesteryl sulphate,

- liposomal amphotericin B, amphotericin B lipid complex, amphotericin B desoxycholate, fluconazole and itraconazole. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1999; 44(3): 397-401.
22. Espinel-Ingroff A, Pfaller M, Bustamante B, Canton E, Fothergill A, Fuller J, et al. A multi-laboratory study of epidemiological cutoff values for azole-resistance detection of eight *Candida* spp. to fluconazole, posaconazole, and voriconazole. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2014; 26(2):13-5.
23. Pfaller M, Messer S, Boyken L, Hollis R, Rice C, Tendolkar S, et al. In vitro activities of voriconazole, posaconazole, and fluconazole against 4169 clinical isolates of *Candida* spp and *Cryptococcus neoformans* collected during 2001 and 2002 in the ARTEMIS global antifungal surveillance program. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2004; 48(3): 201-5.
24. Ramos G, Cuenca-Estrella M, Monzón A, Rodríguez-Tudela JL. In-vitro comparative activity of UR-9825, itraconazole and fluconazole against clinical isolates of *Candida* spp. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1999; 44(2): 283-6.
25. Pfaller M, Boyken L, Hollis R, Kroeger J, Messer S, Tendolkar S, et al. Validation of 24-hour fluconazole MIC readings versus the CLSI 48-hour broth microdilution reference method: results from a global *Candida* antifungal surveillance program. *Journal of Clinical Microbiology* 2008; 46(11): 3585-90.
26. Jang MJ, Shin JH, Lee WG, Kim MN, Lee K, Lee HS, et al. In vitro fluconazole and voriconazole susceptibilities of *Candida* bloodstream isolates in Korea: use of the CLSI and EUCAST epidemiological cutoff values. *Annals of Laboratory Medicine* 2013; 33(3): 167-73.
27. Fan S, Liu X. In vitro fluconazole and nystatin susceptibility and clinical outcome in complicated vulvovaginal candidosis. *Mycoses* 2011; 54(6): 501-5.
28. 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*. *Dental Research Journal* 2010; 7(1): 18-20.
29. Martins HPR, Da Silva MC, Paiva LCF, Svidzinski TIE, Consolaro MEL. Efficacy of fluconazole and nystatin in the treatment of vaginal *Candida* species. *Acta Dermato-Venereologica* 2012; 92(1): 78-82.
30. Isah Y, Obilom R, Yohanna S. Comparison of the efficacy of fluconazole tablet and oral nystatin suspension in the treatment of oral candidiasis in HIV/AIDS patients seen in DalhatuAraf Specialist Hospital (DASH), Lafia. *Nigerian Journal of Family Practice* 2016; 7(3): 5-15.

Comparison of the *in Vitro* Susceptibility of Isolated Oral *Candida* Species of Uncontrolled Diabetic Patients Against Nystatin and Fluconazole

Azizi Iari M¹, Hajimaghsodi S^{2*}, Jafari AA³, Akhavan Karbassi MH¹, Dehghan M⁴

¹Department of Dental, Shahid Sadoughi University of Medical Science, Yazd, Iran, ²Department of Oral Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Science, Yazd, Iran, ³Department of Medical Mycology, Shahid Sadoughi University of Medical, Science, Yazd, Iran, ⁴Department of Internal Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Science, Yazd, Iran.

Received: 08 Mar 2022 Accepted: 13 Sep 2022

Abstract:

Background & aim: Denture stomatitis is the most common opportunistic infection caused by *Candida* in denture wearer's palate, which is more common and severe among diabetic patients. Several studies have already been conducted to examine various drugs for treatment of candidiasis. Recently, some cases of drug resistance of *Candida albicans* species to antifungal drugs have been reported. The aim of the present study was to compare the in vitro susceptibility of isolated *Candida* species of uncontrolled diabetic patients against Nystatin and Fluconazole.

Methods: In the present lab trial study, 43 patients with uncontrolled diabetes mellitus and denture stomatitis referred to Yazd Diabetes Research Center and Clinics were screened and sample were collected from the palate using sterile swabs. At that point samples were cultured to determine the differential colony counts through the color difference between the colonies and furthermore MIC of Nystatin and Fluconazole by two different methods (Broth microdilution & Disk diffusion). Data were analyzed using SPSS₂₃ and Kruskal-Wallis test.

Results: In the present study, the most commonly isolated species were: *Candida albicans* (38/3%), followed by *Candida tropicalis* (14/9%), *Candida krusei* (10/6%), *Candida glabrata* (8/5%) and other species (27/7%). According to both methods, *Candida albicans* was the most sensitive to both Nystatin and Fluconazole. The most resistant species to Nystatin and Fluconazole were *Candida glabrata* and *Candida Krusei* respectively. In 100% concentration, sensitivity of *Candida* species to Nystatin was significantly higher than Fluconazole, except for *Candida albicans* (p-value=0/05).

Conclusion: The present study indicated that Nystatin was better than Fluconazole for treatment of denture stomatitis in uncontrolled diabetic patients.

Keywords: Candidiasis, Antifungal, Diabetes, Disc diffusion, *Candida albicans*

*Corresponding Author: Hajimaghsodi S, Department of Oral Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Science, Yazd, Iran.

Email: shmaghsoodi@yahoo.com

Please cite this article as follows: Azizi Iari M, Hajimaghsodi S, Jafari AA, Akhavan Karbassi MH, Dehghan M. Comparison of the *in Vitro* Susceptibility of Isolated Oral *Candida* Species of Uncontrolled Diabetic Patients Against Nystatin and Fluconazole. Armaghane-danesh 2022; 27(5): 651-663.