مقایسه اثر ضد قارچ نوعی دهان‌شویه تجربی فلوکونازول با دهان‌شویه نیستاتین در محیط آزمایشگاهی

دکتر احسان مؤمنی[۱]، دکتر نادر نوابی*، دکتر سید امین آیت‌اللهی موسوی[۲]، دکتر پیام خزائلی[۳]، دکتر عباس پرداختی دوخانی[۳]

چکیده

مقدمه: درمان کاندیدیازیس دهانی با استفاده از دهان‌شویه ضد قارچ مزایای زیادی را به همراه دارد. هدف از این مطالعه، ارزیابی تأثیر نوعی دهان‌شویه فلوکونازول بر قارچ کاندیدا آلبیکانس و مقایسه آن با دهان‌شویه نیستاتین بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی، دهان‌شویه فلوکونازول $^{mg}/_{ml}$ ۱۰ با طراحی یک سیستم سوسپانسیون در پایه آبی، فرموله و تهیه شد. تعیین اندازه ذره‌ای، تغییرات شکل و اندازه ذره‌ای برای فرمولاسیون سوسپانسیون تهیه شده توسط ویسکومتر بروکفیلد انجام و روند انحلال سوسپانسیون تهیه شده خارجی مورد بررسی قرار گرفت. همچنین از سوسپانسیون دهانی نیستاتین ۱۰۰۰۰۰ واحد بر میلی‌لیتر موجود در بازار جهت مقایسه استفاده شد. سوش استاندارد کاندیدا آلبیکانس با PTCC5027 از کلکسیون‌های قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی عفونی ایران تهیه شد. نمونه‌های بالینی کاندیدا آلبیکانس تحت اثر داروهای ضد قارچ سوسپانسیون فلوکونازول و نیستاتین به روش فلوسیتومتری و ماکرودیلوشن قرار گرفتند. نتایج آزمایش‌ها ثبت و با استفاده از روش توصیفی- مشاهده‌ای آنالیز شدند. حداقل غلظت مهاری برای هر دو سوسپانسیون فلوکونازول و نیستاتین اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: سوسپانسیون نیستاتین و سوسپانسیون فلوکونازول ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر قادر به از بین بردن میکروارگانیسم‌های کاندیدا آلبیکانس می‌باشند. حداقل غلظت مهاری نیستاتین ۱ به ۴۰ و حداقل غلظت مهاری فلوکونازول ۱ به ۳۰ بود.

نتیجه‌گیری: سوسپانسیون‌های فلوکونازول و نیستاتین در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، هر دو قادر به از بین بردن و جلوگیری از رشد کاندیدا آلبیکانس می‌باشند. در عین حال با توجه به نتایج حداقل غلظت مهاری به دست آمده، نیستاتین در رقت کمتر دارای اثر قوی‌تری نسبت به فلوکونازول بود و فلوکونازول از این نظر برتری خاصی نسبت به نیستاتین نداشت.

کلید واژه‌ها: سوسپانسیون‌ها، نیستاتین، فلوکونازول، کاندیدا آلبیکانس

* استادیار، گروه بیماری‌های دهان، فک و صورت، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران (مؤلف مسؤول)

N_navabi@kmu.ac.ir

۱: استادیار، گروه بیماری‌های دهان، فک و صورت، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

۲: دانشیار، گروه انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

۳: دانشیار، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

این مقاله در تاریخ ۹۲/۱/۲۴ به دفتر مجله رسیده، در تاریخ ۹۲/۳/۱۱ اصلاح شده و در تاریخ ۹۲/۳/۲۶ تأیید گردیده است.

مجله دانشکده دندان‌پزشکی اصفهان
۱۳۹۲؛ ۹(۳): ۲۰۷ تا ۲۱۵

مقدمه

کاندیدا آلبیکانس، شایع‌ترین پاتوژن فرصت‌طلب حفره دهان و جزیی از میکروفلور این حفره محسوب می‌شود[۱]. کلونیزاسیون دهانی کاندیدا در هنگام تولد یا کمی بعد از آن رخ می‌دهد و تعداد ناقلین کاندیدا با افزایش سن افزایش می‌یابد[۲]. محل اصلی کلونیزاسیون آن، قسمت خلفی سطح پشتی زبان است[۳]. کاندیدیازیس دهانی اغلب در اثر برخی از عوامل موضعی یا سیستمیک مانند IVH (Intraventricular hemorrhage) رخ می‌دهد[۶-۴]. از انواع کلینیکی این عفونت می‌توان به کاندیدیازیس غشا کاذب، کاندیدیازیس اریتماتوز، کاندیدیازیس مزمن ندولر و پلاک مانند استوماتیت ناشی از دنچر، التهاب گوشه لب و التهاب لوزی شکل میانی زبان اشاره نمود[۷]. انواع پلاک مانند و ندولر کاندیدیازیس مزمن با تغییرات بدخیمی ارتباط دارند[۹، ۸]. قبل از آغاز درمان دارویی ضد قارچ، حذف یا کاهش عوامل مستعد کننده عفونت کاندیدا بایستی مدنظر قرار گیرد[۱۰]. داروهای ضد قارچ مهم برای درمان کاندیدیازیس دهانی، پلی ان‌ها و آزول‌ها می‌باشند که فرم‌های مصرف موضعی و سیستمیک دارند[۱۱].

مصرف داروهای موضعی، اثرات جانبی و تداخل دارویی کمتری نسبت به فرم‌های سیستمیک دارد. بسیاری از عوامل دارویی موضعی قادر به درمان عفونت‌های حاد دهانی هستند[۱۲]. در هنگام انتخاب یک داروی ضد قارچی موضعی، فاکتورهایی مانند طعم، راحتی استفاده، قدرت حساسیت یا مقاومت به دارو و قیمت آن بایستی مدنظر قرار گیرد. همچنین، سوسپانسیون‌های دهانی انتخاب بهتری در بیماران با خشکی دهان می‌باشند[۱۳]. از سویی دیگر وجود دهان‌شویه‌های متعدد به دلیل عوارض کمتر و کاربرد آسان باعث شده است که بسیاری از بیماران از استفاده آن‌ها رضایت داشته و همچنین باعث همکاری بیشتر بیماران در این زمینه شده است.

معروف‌ترین داروی پلی‌ان، نیستاتین است که به صورت یک پودر خشک و نسبتاً نامحلول و ناپایدار در آب می‌باشد و سوسپانسیون آن از پراکنده کردن پودر در آب گرم به دست می‌آید[۱۴]. این دارو قدرت زیادی برای از بین بردن عفونت ندارد[۱۵]. فلوکونازول، قوی‌ترین آزول ضد قارچ برای کاندیدیازیس دهانی محسوب می‌شود[۱۶]. فرم موضعی فلوکونازول فاقد اثرات جانبی سیستمیک و تداخلات دارویی است[۱۷]. سوسپانسیون‌های دهانی فلوکونازول دارای مزایا برای بیمارانی است که دارای مشکل در بلع قرص یا کپسول هستند[۱۸] و میزان غلظت و پایداری فلوکونازول در بزاق در استفاده موضعی نسبت به مصرف سیستمیک این دارو بیشتر است[۱۹].

تعدادی از مطالعات نشان داده است که سوسپانسیون دهانی فلوکونازول، به عنوان یک درمان موضعی، مؤثرتر از محلول آبی نیستاتین است[۲۳-۲۰]. همچنین برخی مطالعات نشان داده است که دهان‌شویه فلوکونازول در درمان کاندیدیازیس دهانی بسیار مؤثر است[۲۵، ۲۴]. اما مطالعات دیگر نشان داده‌اند که سودمندتر بودن دهان‌شویه فلوکونازول نسبت به نیستاتین قطعی نمی‌باشد[۲۶، ۱۹].

امروزه فقدان یک دهان‌شویه ضد قارچ مؤثر برای درمان کاندیدیازیس دهانی در بازار دارویی محسوس می‌باشد. از یک سو نیستاتین، دارای مزه تلخ است و به صورت آماده و مستقیم برای استفاده کلینیکی در دسترس نمی‌باشد چرا که بیمار جهت استفاده از آن نیازمند مخلوط نمودن آب گرم با پودر نیستاتین و صرف وقت است، به همین دلیل انگیزه بسیاری از بیماران جهت استفاده از دارو کاهش می‌یابد، از سوی دیگر تداخلات دارویی و عوارض متعدد مصرف سیستمیک آزول‌ها و در عین حال مؤثرتر بودن آن‌ها برای درمان عفونت‌های قارچی و فقدان یک دهان‌شویه با ساختار آزول در بازار دارویی، موجب شد تا مطالعه حاضر به منظور تأیید تأثیر ضد قارچ قابل قبول فرمولاسیون جدید دهان‌شویه فلوکونازول در غلظت‌های مختلف در مقایسه با دهان‌شویه نیستاتین در محیط کشت آزمایشگاهی و بر روی سوش استاندارد کاندیدا آلبیکانس انجام گردد. این مطالعه اولین مرحله جهت ساخت دهان‌شویه فلوکونازول بوده است تا در صورت مناسب بودن نتایج در مراحل بعدی برای استفاده از یک دهان‌شویه ضد قارچ آماده برای درمان کاندیدیازیس دهانی بهره برده شود.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع آزمایشگاهی بود و در آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشکده پزشکی کرمان انجام شد. فرمولاسیون

www.mui.ac.ir

دهان‌شویه فلوکونازول (Merck, Darmstadt Germany) با طراحی یک سیستم سوسپانسیون در پایه آبی صورت گرفت[۲۷]. پودر فلوکونازول، در فرمولاسیونی شامل مخلوط توین و اسپان ۶۰ به عنوان مرطوب کننده، H_2PO_4 (Merck, Darmstadt Germany) به عنوان فلکوله کننده، کاربوپول (Merck, Darmstadt Germany) به عنوان قوام دهنده، به صورت سوسپانسیون مطلوب دارویی با خواص پراکندگی مناسب، عدم ته نشینی و ایجاد رسوب کیک و نیز خواص مکانیکی مناسب تهیه شد[۲۸]. فرمولاسیون تهیه شده حاوی ۱ درصد ماده مؤثره فلوکونازول (Fluconazole, Merck, Germany) بود و از نظر مشخصات فیزیکوشیمیایی و آزادسازی ماده مؤثره مورد آزمون و تأیید قرار گرفت[۲۹]. برای انتخاب سورفاکتانت مناسب، درصدهای مختلف توین ۶۰ و اسپان ۶۰ استفاده گردید و سری HLB (Hydrophile-lipophile balance) بین ۵ تا ۹ تهیه، به کمک معادله Paddy زاویه تماس اندازه‌گیری و بهترین مخلوط سورفاکتانت با HLB = ۷ انتخاب شد. در مرحله بعدی، از درصدهای مختلف دو الکترولیت معمول یعنی $AlCl_3$ و KH_2PO_4 استفاده و KH_2PO_4 با غلظت مناسب به عنوان فلوکولانت انتخاب گردید. برای کاهش سرعت ته‌نشینی از دو عامل قوام دهنده سدیم کربوکسی متیل سلولز و کاربوپول ۹۳۴ استفاده شد و با محاسبه پارامترهای مختلف، سدیم کربوکسی متیل سلولز با غلظت ۱/۵ درصد به عنوان عامل قوام دهنده انتخاب گردید. نتایج این مرحله نشان داد که فرمولاسیون مناسبی از فلوکونازول به شکل سوسپانسیون با خواص مناسبی از قبیل ویسکوزیتی، اندازه ذره‌ای، پایداری و سرعت انحلال تهیه گردیده است. از سوسپانسیون دهانی نیستاتین ۱۰۰۰۰۰ واحد در میلی‌لیتر موجود در بازار نیز استفاده شد.

سوش استاندارد کاندیدا آلبیکانس با PTCC5027 از کلکسیون‌های قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی عفونی ایران خریداری شد. از سوش تهیه شده، غلظت ۰/۵ درصد McFarland در سرم فیزیولوژی استریل تهیه گردید[۳۰]. محیط کشت سابوراد دکستروز آگار (Merck, Darmstadt Germany) برای رشد قارچ کاندیدا آلبیکانس مناسب است و برای تهیه آن ۶۵ گرم از پودر محیط مربوطه در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و تا حرارت جوش، به ملایمت گرم شد تا کاملاً یکنواخت شود. سپس جهت استریل نمودن در اتوکلاو تحت فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع و حرارت ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲۰ دقیقه قرار داده شد. محیط کشت (Roswell park memorial RPMI 1640 (institute, Merck, Darmstadt Germany برای انواع سلول‌های خونی از جمله لکوسیت‌ها، لنفوسیت‌ها و بسیاری از سلول‌ها و میکرو ارگانیسم‌هایی که به صورت سوسپانسیون رشد می‌کنند کاربرد دارد. برای تهیه سوسپانسیون تلقیحی، رقت حاصل شده طوری تهیه شد که مقدار سلول‌های موجود در آن $۱۰^{۶}$ سلول به ازای هر میلی‌لیتر سوسپانسیون مخمری باشد. سوسپانسیون حاصل در طول موج ۵۳۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. مایع تلقیحی تهیه شده باید بلافاصله مورد استفاده قرار گیرد تا در فاصله زمانی پس از استاندارد کردن، تکثیر صورت نگیرد[۳۱].

MIC (Minimum inhibitory concentration) یا حداقل غلظت مهاری، حداقل میزان غلظت نیستاتین یا فلوکونازول برای از بین بردن کاندیدیازیس است. در روش اندازه‌گیری MIC در محیط مایع به روش ماکرودیلوشن براث ابتدا یک میلی‌لیتر محلول ساخته شده از هر یک از داروهای مورد آزمایش با ۹ میلی‌لیتر از محیط مایع استریل رقیق شده و غلظت نهایی ۱۲۸ میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد. برای فلوکونازول از غلظت نهایی ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر استفاده شد. برای آزمایش هر یک از داروها بر روی قارچ، ۱۱ لوله در پیچدار (۱۶ mm × ۱۱۰) که هر یک حاوی ۱ میلی‌لیتر محیط مایع استریل بوده در جا لوله‌ای قرار داده و از شماره ۱ تا ۱۱ شماره‌گذاری شد. سپس یک میلی‌لیتر از داروی مورد آزمایش رقیق شده (۱۲۸ میکروگرم در میلی‌لیتر) به اولین لوله اضافه کرده و پس از مخلوط کردن، ۱ میلی‌لیتر از محتویات لوله اول به لوله دوم انتقال یافت و این ترتیب رقیق شدن پی در پی تا لوله نهم ادامه یافته و از این لوله ۱ میلی‌لیتر مخلوط ماده دارویی و محیط کشت مایع خارج و دور ریخته شد. بدین ترتیب غلظت‌های (۶۴ تا ۲۵ درصد) میکروگرم در میلی‌لیتر ماده مورد نظر آزمایش و برای فلوکونازول، غلظت‌های ۱۶ تا ۰/۰۳ میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد. به کمک سمپلر ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون قارچی مورد آزمایش به ۱۰ لوله

www.mui.ac.ir

اول اضافه گردید. لوله شماره ۱۰، شاهد مثبت و فاقد دارو و حاوی آب مقطر و لوله شماره ۱۱ شاهد منفی بوده و فاقد دارو و میکروارگانیسم بود. لوله‌ها در گرمخانه ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت مورد بررسی قرار گرفتند. کمترین غلظتی که از رشد قارچ جلوگیری کرده بود به عنوان MIC دارو برای گونه مربوط ثبت گردید[۳۲، ۳۱]. برای آزمایش هر یک از داروها بر روی هر قارچ، ۱۱ لوله در پیچ‌دار (۱۶ mm × ۱۱۰) که هر یک حاوی نیم میلی‌لیتر $RPMI_{1640}$ حاوی گلوتامین بدون بی‌کربنات که با MOPS (Morpholino prpoane sulfonic acid) در pH = ۷ بافری شده بود در جا لوله‌ای قرار گرفت و از شماره ۱ تا ۱۱ شماره‌گذاری شد. نیم میلی‌لیتر از داروی مورد آزمایش، رقیق و به اولین لوله اضافه شد و پس از مخلوط کردن، نیم میلی‌لیتر از محتویات لوله اول را به لوله دوم انتقال داده و به این ترتیب رقیق شدن پی در پی تا لوله نهم ادامه یافت و از این لوله، نیم میلی‌لیتر دور ریخته شد. سپس نیم میلی‌لیتر از سوسپانسیون مخمری به نیم میلی‌لیتر رقت دارویی سریال اضافه و در ۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. لوله کنترل مثبت حاوی سوسپانسیون مخمری و محیط $RPMI_{1640}$ بدون دارو و لوله کنترل منفی حاوی محیط کشت بدون مخمر بود. مخلوط دارو و سوسپانسیون مخمری برای فلوکونازول ۴-۲ ساعت و برای نیستاتین ۶-۴ ساعت انکوبه شدند. سدیم داکسی کلات و پروپیدیوم یدید (Propidium iodide) در پایان انکوباسیون اضافه و شدت فلورسنت با فلوسیتومتری FACS (Fluorescence activated cell sorter)، Calibour (Becton dickinson) اندازه‌گیری شد[۳۳-۳۱].

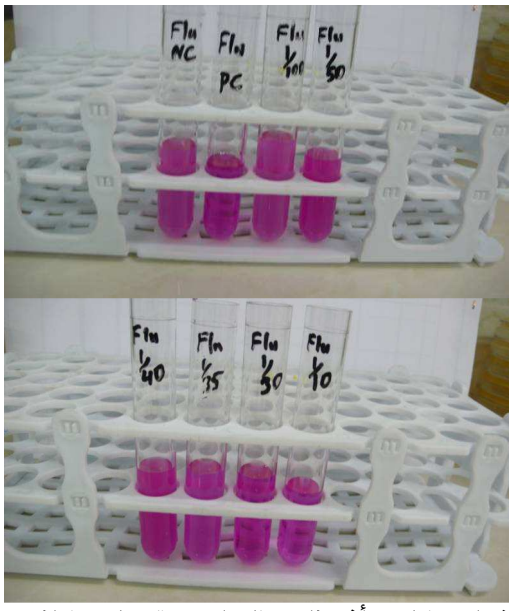
با مشاهده به لوله‌های آزمایش در صورت تبدیل محیط کدر لوله حاوی محیط کشت به محیط شفاف نتیجه‌گیری شد که سوسپانسیون قادر به از بین بردن کاندیدا شده است، اما در صورت باقی ماندن حالت کدر در لوله آزمایش، این نتیجه حاصل شد که سوسپانسیون قدرت لازم برای از بین بردن میکروارگانیسم را نداشته است. غلظت‌های خالص هر دو سوسپانسیون (نیستاتین و فلوکونازول) به عنوان غلظت ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شد و هر دو به تدریج رقیق شدند تا قدرت آن‌ها در از بین بردن میکروارگانیسم کاندیدا آزمایش شود. کمترین غلظتی که در آن سوسپانسیون مورد نظر (فلوکونازول یا نیستاتین) قادر به از بین بردن میکروارگانیسم بود به عنوان MIC برای آن سوسپانسیون در نظر گرفته شد. کمترین غلظت دارو که ۵۰ درصد افزایش در فلوسیتومتری در مقایسه با کنترل مثبت نشان می‌دهد، به عنوان MIC برگزیده شد. مشخصات نمونه‌های نتایج هر یک از آزمایش‌ها در فرمی جداگانه ثبت گردید.

یافته‌ها

در این مطالعه، عمده نتایج که بر پایه روش رقیق‌سازی محیط کشت مایع انجام شده بود، نشان داد هر دو سوسپانسیون نیستاتین و فلوکونازول $۱۰^{mg}/_{ml}$ قادر به از بین بردن میکروارگانیسم‌های کاندیدا آلبیکانس و تشکیل لوله آزمایش شفاف عاری از میکروارگانیسم می‌باشند. در این تحقیق، آب مقطر هم به عنوان کنترل منفی به کار برده شد و هیچ اثری در از بین بردن میکروارگانیسم‌های کاندیدا آلبیکانس نداشت. یک لوله آزمایش حاوی سوسپانسیون فلوکونازول خالص و یک لوله حاوی سوسپانسیون نیستاتین خالص به عنوان کنترل مثبت فلوکونازول و نیستاتین در نظر گرفته شده بود که هر دو باعث از بین بردن میکروارگانیسم کاندیدا آلبیکانس و تشکیل محیط شفاف شدند. نتایج تأثیر سوسپانسیون‌های نیستاتین و فلوکونازول $۱۰^{mg}/_{ml}$ در رقت‌های مختلف بر لوله‌های آزمایش کدر حاوی کاندیدا آلبیکانس در جدول ۱ و اشکال ۱ و ۲ آمده است. MIC نیستاتین $^{۱}/_{۴۰}$ و MIC فلوکونازول $^{۱}/_{۳۰}$ رقت اولیه اندازه‌گیری شد.

جدول ۱. نتایج تأثیر نیستاتین و فلوکونازول در رقت‌های مختلف بر لوله‌های آزمایش کدر حاوی کاندیدا آلبیکانس

رقت نیستاتین یا فلوکونازول	$^{۱}/_{۲}$	$^{۱}/_{۱۰}$	$^{۱}/_{۲۰}$	$^{۱}/_{۳۰}$	$^{۱}/_{۴۰}$	$^{۱}/_{۵۰}$	$^{۱}/_{۱۰۰}$
شفافیت یا کدورت نیستاتین	شفاف	شفاف	شفاف	شفاف	شفاف	کدورت	کدورت
شفافیت یا کدورت فلوکونازول	شفاف	شفاف	شفاف	شفاف	کدورت	کدورت	کدورت



شکل ۱. نتایج تأثیر فلوکونازول در رقت‌های مختلف بر لوله‌های آزمایش کدر حاوی کاندیدا آلبیکانس

شکل ۲. نتایج تأثیر نیستاتین در رقت‌های مختلف بر لوله‌های آزمایش حاوی کاندیدا آلبیکانس و لوله‌های آزمایش کنترل

بحث

نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد، دهان‌شویه فلوکونازول ساخته شده بر حذف عفونت کاندیدا آلبیکانس مؤثر است اما در مقایسه، دهان‌شویه نیستاتین نسبت به فلوکونازول با رقت‌های پایین‌تر قادر به از بین بردن کاندیدا آلبیکانس می‌باشد، بنابراین دارای اثر قوی‌تری در مقایسه با دهان‌شویه فلوکونازول ساخته شده می‌باشد.

در مطالعه حاضر از سوسپانسیون فلوکونازول ۱۰ $^{mg}/_{ml}$ در غلظت‌های مختلف و نیستاتین استاندارد موجود در بازار ۱۰۰۰۰۰ واحد استفاده شد. در حالی‌که در تحقیق Pons و همکاران[۲۰] از سوسپانسیون فلوکونازول ۱۰۰ mg و نیستاتین ۵۰۰۰۰۰، Epstein و همکاران[۱۹] از دهان‌شویه فلوکونازول ۲ $^{mg}/_{ml}$، Taillandier و همکاران[۲۴] از سوسپانسیون دهانی فلوکونازول ۱۰ $^{mg}/_{ml}$، در مطالعه Groll و همکاران[۲۶] از سوسپانسیون فلوکونازول ۳ $^{mg}/_{ml}$ و سوسپانسیون نیستاتین ۵۰۰۰۰ واحد استفاده شد. در هیچ کدام از مطالعات مشابه، دلیل انتخاب غلظت به کار برده شده برای دهان‌شویه فلوکونازول ذکر نشده است، اما دلیل انتخاب غلظت ۱۰ $^{mg}/_{ml}$ فلوکونازول در این مطالعه، استفاده از همین غلظت در بازار خارج از کشور است.

در مطالعه حاضر، نشان داده شد که دهان‌شویه فلوکونازول ۱۰ $^{mg}/_{ml}$ و نیستاتین هر دو قادر به از بین بردن میکروارگانیسم‌های کاندیدا آلبیکانس در محیط کشت می‌باشند، اما دهان‌شویه فلوکونازول ۱۰ $^{mg}/_{ml}$ بر نیستاتین در محیط آزمایشگاهی برتری ندارد. نتیجه این مطالعه، موافق با مطالعه Groll و همکاران[۲۶] و Epstein و همکاران[۱۹] بود که نتیجه گرفتند مصرف فلوکونازول دارای اثری مشابه نیستاتین در کنترل و پیشگیری از عفونت کاندیدا می‌باشد.

تفاوت بارز مطالعه حاضر با بسیاری از مطالعات تقریباً مشابه در این است که فلوکونازول به صورت سوسپانسیون به کار برده شده و مطالعه در محیط in vitro انجام شده است [۳۰-۲۸، ۲۶، ۱۹] و متأسفانه هیچ مطالعه مشابهی که سوسپانسیون فلوکونازول را در محیط in vitro آزمایش کرده باشد یافت نشد. مطالعات متعددی سودمند بودن فلوکونازول را در بیماران مختلف نشان دادند[۳۵، ۳۴، ۲۵، ۲۴، ۲۱، ۱۹] که همسو با نتیجه مطالعه حاضر بوده است، اما تفاوت آن‌ها با مطالعه حاضر، استفاده از فرم‌های دیگر فلوکونازول (قرص مکیدنی، فرم سیستمیک و ...) و مقایسه نکردن اثر فلوکونازول با دهان‌شویه‌های استاندارد دیگر مانند نیستاتین بود. برخی

مطالعات نشان دادند که فلوکونازول نسبت به نیستاتین برای از بین بردن کاندیدیازیس مؤثرتر است[۲۳، ۲۰]. که نتیجه این مطالعات، مخالف نتیجه مطالعه کنونی بود که شاید به دلیل به کارگیری فرم دیگر فلوکونازول با غلظت متفاوت در محیط بیولوژیک دهان است. همچنین مطالعات ذکر شده بر روی گروه‌های مختلف بررسی شده است (بیماران مبتلا به ایدز، لوسمی و ...) و این‌که نتایج تست‌های آزمایشگاهی in vitro همیشه صحیح و قابل اعتماد نیستند[۳۶].

در مطالعه Sholapurkar و همکاران[۲۵]، عوارض جانبی تنها در ۱ بیمار مصرف کننده دهان‌شویه فلوکونازول مشاهده شد که به طور خود به خود بر طرف شد. به نظر می‌رسد که بیشترین عوارض گزارش شده به دلیل مصرف سیستمیک فلوکونازول می‌باشد، بنابراین علت تفاوت در بروز عوارض جانبی دارو را می‌توان در نحوه مصرف، مدت مصرف، تعداد دفعات مصرف و غلظت استفاده شده دارو دانست. از مجموع برخی از مطالعات انجام شده[۲۶، ۲۴، ۲۳، ۱۶] چنین برداشت می‌شود که مصرف داروی فلوکونازول چه به صورت موضعی و چه سیستمیک، یک داروی ایمن شمرده می‌شود. مطالعه کنونی به دلیل انجام شدن در محیط آزمایشگاه قادر به نشان دادن ایمن بودن دهان‌شویه فلوکونازول و امکان بروز عوارض جانبی آن نبود.

تعدادی از مطالعات نشان داده‌اند که در بیماران مصرف کننده فلوکونازول، کلونیزاسیون گونه‌های دیگر کاندیدا غیر از کاندیدا آلبیکانس (مانند کاندیدا گلابراتا و کاندیداکروزئی) وجود ندارد[۳۳-۳۱، ۲۶، ۲] اما در مطالعه کنونی، بررسی، تنها بر گونه کاندیدا آلبیکانس صورت گرفت. دلیل حضور عفونت کاندیدا با وجود استفاده فلوکونازول، به طور کامل روشن نشده است. یکی از احتمالات، تشکیل ارگانیسم‌های مقاوم به فلوکونازول مانند کاندیدا گلابراتا و کاندیدا Krusei در طی درمان پیشگیرانه (Chemoprophylaxis) در بیماران دچار ضعف سیستم ایمنی بود[۳۷، ۳۶] اما تمام مقالات، گونه‌های مختلف قارچی را بررسی نکرده‌اند و شاید یکی از دلایل تفاوت نتیجه مقالات، همین موضوع باشد. از محدودیت‌های این مطالعه، عدم بررسی تأثیر دهان‌شویه در محیط بیولوژیک دهان و عدم مشاهده عوارض جانبی مربوطه است. پیشنهاد می‌شود تا در گام بعدی تأثیر دهان‌شویه فلوکونازول در مقایسه با نیستاتین در محیط دهان بررسی شود تا در صورت مؤثر بودن به صورت بالینی بتوان از آن استفاده کرد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج پژوهش حاضر، سوسپانسیون‌های فلوکونازول و نیستاتین $^{mg}/_{ml}$ ۱۰ هر دو قادر به جلوگیری از رشد کاندیدا آلبیکانس می‌باشند و با توجه به نتایج حداقل غلظت مهاری به دست آمده نیستاتین در رقت کمتر، نیستاتین دارای اثر قوی‌تری نسبت به فلوکونازول می‌باشد و فلوکونازول برتری خاصی از این نظر نسبت به نیستاتین ندارد. مزیت سوسپانسیون فلوکونازول به نیستاتین، آماده بودن و نداشتن طعم تلخ آن است.

تشکر و قدردانی

از معاونت تحقیقات و فناوری و مرکز تحقیقات بیماری‌های دهان و دندان دانشگاه علوم پزشکی کرمان برای تأمین بودجه مالی تحقیق حاضر (طرح تحقیقاتی ۹۱/۳۳) قدردانی می‌گردد. این مقاله از پایان‌نامه تخصصی دکتر احسان مؤمنی (شماره ۴۹ت) منتج شده است.

References

1. Marsh Ph, Martin MV. Oral Microbiology. 4th ed. Atlanta, GA: Wright; 1999. p. 153-61.
2. Scully C, el-Kabir M, Samaranayake LP. Candida and oral candidosis: a review. Crit Rev Oral Biol Med 1994; 5(2): 125-57.
3. Samaranayake LP, Yaacob HB. Classification of Oral Candidosis. In: Samaranayake LP, MacFarlane TW, editors. Oral Candidosis.London: Wright; 1990. p. 32.
4. Chowta MN, Adhikari P, Rajeev A, Shenoy AK. Study of risk factors and prevalence of invasive candidiasis in a tertiary care hospital. Indian J Crit Care Med 2007; 11(2): 67-73.
5. Akpan A, Morgan R. Oral candidiasis. Postgrad Med J 2002; 78(922): 455-9.

6. Silverman J, Migliorati CA, Epstein JB, amaranayake LP. Candida associated denture stomatitis and angular cheilitis. In: Samaranayake LP, MacFarlane TW, editors. Oral candidosis.London: Wright; 1990. p. 213-37.
7. McCullough MJ, Savage NW. Oral candidosis and the therapeutic use of antifungal agents in dentistry. Aust Dent J 2005; 50(4 Suppl 2): S36-S39.
8. Sitheeque MA, Samaranayake LP. Chronic hyperplastic candidosis/candidiasis (candidal leukoplakia). Crit Rev Oral Biol Med 2003; 14(4): 253-67.
9. Farah CS, Ashman RB, Challacombe SJ. Oral candidosis. Clin Dermatol 2000; 18(5): 553-62.
10. Ellepola AN, Samaranayake LP. Oral candidal infections and antimycotics. Crit Rev Oral Biol Med 2000; 11(2): 172-98.
11. Ball K, Sweeney MP, Baxter WP, Bagg J. Fluconazole sensitivities of Candida species isolated from the mouths of terminally ill cancer patients. Am J Hosp Palliat Care 1998; 15(6): 315-9.
12. Epstein JB. Antifungal therapy in oropharyngeal mycotic infections. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1990; 69(1): 32-41.
13. Rinaldi MG. Antifungal drugs. In: Lorian V, Editor. Antibiotics in laboratory Medicine. Baltimore vs, NY: Lippincott Williams & Wilkins; 1996. p. 176-211.
14. Wood NK, Goaz PW. Differential diagnosis of oral lesions. 4th ed. St. Louis: Mosby Year Book; 1991. p. 60-3.
15. McCullough M, Jaber M, Barrett AW, Bain L, Speight PM, Porter SR. Oral yeast carriage correlates with presence of oral epithelial dysplasia. Oral Oncol 2002; 38(4): 391-3.
16. Lewis MA, Samaranyake LP, Lamey PJ. Diagnosis and treatment of oral candidosis. J Oral Maxillofac Surg 1991; 49(9): 996-1002.
17. Bensadoun RJ, Patton LL, Lalla RV, Epstein JB. Oropharyngeal candidiasis in head and neck cancer patients treated with radiation: update 2011. Support Care Cancer 2011; 19(6): 737-44.
18. Williams D, Lewis M. Pathogenesis and treatment of oral candidosis. J Oral Microbiol 2011; 3.
19. Epstein JB, Gorsky M, Caldwell J. Fluconazole mouthrinses for oral candidiasis in postirradiation, transplant, and other patients. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2002; 93(6): 671-5.
20. Pons V, Greenspan D, Lozada-Nur F, McPhail L, Gallant JE, Tunkel A, et al. Oropharyngeal candidiasis in patients with AIDS: randomized comparison of fluconazole versus nystatin oral suspensions. Clin Infect Dis 1997; 24(6): 1204-7.
21. Flynn PM, Cunningham CK, Kerkering T, San Jorge AR, Peters VB, Pitel PA, et al. Oropharyngeal candidiasis in immunocompromised children: a randomized, multicenter study of orally administered fluconazole suspension versus nystatin. The Multicenter Fluconazole Study Group. J Pediatr 1995; 127(2): 322-8.
22. Violaris K, Carbone T, Bateman D, Olawepo O, Doraiswamy B, LaCorte M. Comparison of fluconazole and nystatin oral suspensions for prophylaxis of systemic fungal infection in very low birthweight infants. Am J Perinatol 2010; 27(1): 73-8.
23. Young GA, Bosly A, Gibbs DL, Durrant S. A double-blind comparison of fluconazole and nystatin in the prevention of candidiasis in patients with leukaemia. Antifungal Prophylaxis Study Group. Eur J Cancer 1999; 35(8): 1208-13.
24. Taillandier J, Esnault Y, Alemanni M. A comparison of fluconazole oral suspension and amphotericin B oral suspension in older patients with oropharyngeal candidosis. Multicentre Study Group. Age Ageing 2000; 29(2): 117-23.
25. Sholapurkar AA, Pai KM, Rao S. Comparison of efficacy of fluconazole mouthrinse and clotrimazole mouthpaint in the treatment of oral candidiasis. Aust Dent J 2009; 54(4): 341-6.
26. Groll AH, Just-Nuebling G, Kurz M, Mueller C, Nowak-Goettl U, Schwabe D, et al. Fluconazole versus nystatin in the prevention of candida infections in children and adolescents undergoing remission induction or consolidation chemotherapy for cancer. J Antimicrob Chemother 1997; 40(6): 855-62.
27. Fluconazole Oral Suspension. [cited 2013 Jul 9]. Available from: http://www.Drugs.com/pro/ fluconazole-oral-suspension.html
28. Atai Z, Ansari M, Mousavi A, Mousavi A. In-vitro study of antifungal effects of selected herbal extracts on standard and wild strains of Candida albicans. Majallah-I-Dandanpizishki 2007; 19(2): 91-7.
29. O'Gorman MR, Hopfer RL. Amphotericin B susceptibility testing of Candida species by flow cytometry. Cytometry 1991; 12(8): 743-7.
30. Martins MD, Rex JH. Fluconazole suspension for oropharyngeal candidiasis unresponsive to tablets. Ann Intern Med 1997; 126(4): 332-3.

www.mui.ac.ir

31. Ellis ME, Clink H, Ernst P, Halim MA, Padmos A, Spence D, et al. Controlled study of fluconazole in the prevention of fungal infections in neutropenic patients with haematological malignancies and bone marrow transplant recipients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994; 13(1): 3-11.
32. Menichetti F, Del FA, Martino P, Bucaneve G, Micozzi A, D'Antonio D, et al. Preventing fungal infection in neutropenic patients with acute leukemia: fluconazole compared with oral amphotericin B. Ann Intern Med 1994; 120(11): 913-8.
33. Laine L, Rabeneck L. Prospective study of fluconazole suspension for the treatment of oesophageal candidiasis in patients with AIDS. Aliment Pharmacol Ther 1995; 9(5): 553-6.
34. Koletar SL, Russell JA, Fass RJ, Plouffe JF. Comparison of oral fluconazole and clotrimazole troches as treatment for oral candidiasis in patients infected with human immunodeficiency virus. Antimicrob Agents Chemother 1990; 34(11): 2267-8.
35. Fan-Havard P, Capano D, Capano SM, Mangia A, Eng RH. Development of resistance in candida isolates from patients receiving prolonged antifungal therapy. Antimicrob Agents Chemother 1991; 35(11): 2302-5.
36. Anaissie E. Opportunistic mycoses in the immunocompromised host: experience at a cancer center and review. Clin Infect Dis 1992; 14 Suppl 1: S43-S53.
37. Stark A, Dale B, Toolis F. Fluconazole chemopriphilaxis in neutropenic patients. British Journal of Haematology 1993; 83(2): 384.

www.mui.ac.ir

Comparison of antifungal effects of an experimental fluconazole mouthwash and nystatine mouthwash: An in vitro study

Ehsan Momeni, Nader Navabi*, Amin Ayatollahi, Payam Khazaeli, Abbas Pardakhti Dokhani

Abstract

Introduction: *Treatment of oral candidiasis with mouthwashes has several advantages. The aim of the present study was to evaluate the clinical efficacy of a new fluconazole suspension on the Candida albicans and compare its effects with those of nystatin.*
Materials and Methods: *In the present in vitro study 10-mg/mL fluconazole mouthwash was formulated in an aqueous suspension. Brookfield viscometer was used to determine particle size and shape for the suspension formulation prepared and the dissolution process of foreign suspension was evaluated. Nystatin suspension (100,000 U/mL) available on the market was used in this study. PTCC5027 standard strains of Candida albicans were provided by the Iranian Collection Center for Infectious Bacteria and Fungi. Clinical samples of Candida albicans were exposed to fluconazole and nystatin suspensions by flow cytometry and macrodilution methods. Experimental results were recorded and analyzed by descriptive-observational method. MICs for both fluconazole and nystatin suspensions were measured.*
Results: *The results showed that 10-mg/mL nystatin and fluconazole suspensions are able to eliminate Candida albicans. MICs for fluconazole and nystatin suspensions were* $\frac{1}{30}$ *and* $\frac{1}{40}$ *respectively.*
Conclusion: *Both fluconazole and nystatin suspensions were able to eliminate Candida albicans at a concentration of 10-mg/mL but the results of MIC showed that nystatin had a more potent effect at lower concentrations compared to fluconazole and fluconazole had no particular superiority over nystatin in this respect.*

Key words: *Candida albicans, Fluconazole, Nystatin, Suspensions*

Received: 13 Apr, 2013 **Accepted:** 16 Jun, 2013

Address: Assistant Professor, Department of Oral and Maxillofacial Medicine, School of Dentistry, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
Email: N_navabi@kmu.ac.ir

Citation: Momeni E, Navabi N, Ayatollahi A , Khazaeli P, Pardakhti Dokhani A. **Comparison of antifungal effects of an experimental fluconazole mouthwash and nystatine mouthwash: An in vitro study.** J Isfahan Dent Sch 2013; 9(3): 207-15.