

The Effect of Photodynamic Therapy with Photosan and Different Concentrations of Methylene Blue on *Candida Albicans* had been Grown on Denture

Ali Salehi Mazandarani¹ 

Shahram Amini² 

Amir Mansour Shirani³ 

Mones Sanjaripour⁴ 

1. Graduated of Dentistry, School of Dentistry, Islamic Azad University, Isfahan (Khorasgan) Branch, Isfahan, Iran.

2. Assistant Professor, Department of Periodontology, School of Dentistry, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

2. **Corresponding Author:** Assistant Professor, Department of Oral Medicine, School of Dentistry, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

Email: am_shirani@yahoo.com

4. Postgraduate Student, Department of Oral Medicine, School of Dentistry, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

Abstract

Introduction: In some studies, photodynamic therapy with some light sources and light-absorbing materials were used against Candida. In this study, the antifungal effects of 630 nm photosan with different concentrations of methylene blue on *Candida albicans* that had been grown on dentures was investigated. In data searches no similar study was found.

Materials & Methods: This experimental laboratory study was performed in Isfahan Azad University in 2019-2020. On total 26 similar dentures were prepared. Suspension of 0.5 McFarland *Candidia albicans* was inoculated on the dentures. The samples were put into three groups (seven in each) with different concentrations of methylene blue (0.1, 0.01, 0.001 g/l) and photosan with a wavelength of 630 nm was used. Five control samples including untreated control, photosan alone and three controls with methylene blue concentrations only were considered. The number of colonies was counted using manual and ocular methods. Data were analyzed with T-test, ANOVA.

Results: The mean number of *Candida albicans* grown on dentures after photodynamic therapy and different concentrations of methylene blue was significantly different from control groups (p value < 0.05). The mean number of *Candida albicans* grown on dentures after photodynamic therapy were significantly different between the three concentrations of methylene blue (p value < 0.001). Methylene blue with a concentration of 0.1 mg had significantly better efficacy against candida compared with two other concentrations (p value < 0.001).

Conclusion: Photodynamic therapy with photosan and methylene blue with a concentration of 0.1 provided better results compared to others in reducing *Candida albicans*.

Key words: Photochemotherapy, Methylene blue, *Candida albicans*, Dentures.

Received: 18.05.2022

Revised: 23.08.2022

Accepted: 20.09.2022

How to cite: Salehi Mazandarani A, Amini S, Shirani AM, Sanjaripour M. The Effect of Photodynamic Therapy with Photosan and Different Concentrations of Methylene Blue on *Candida Albicans* had been Grown on Denture. J Isfahan Dent Sch 2022; 18(3): 261-8.

بررسی فتودینامیک تراپی با فتوسان و غلظت‌های متیلن‌بلو بر روی کاندیدا آلبیکانس رشد یافته بر روی دنچر

۱. دانش‌آموخته‌ی دندان پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران.
 ۲. استادیار، گروه پرودنتولوژی، دانشکده‌ی دندان پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران.
 ۳. نویسنده مسئول: استادیار، گروه بیماری‌های دهان، دانشکده‌ی دندان پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران.
 ۴. دستیار تخصصی بیماری‌های دهان، دانشکده‌ی دندان پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران.
 Email: am_shirani@yahoo.com

علی صالحی مازندرانی^۱ 

شهرام امینی^۲ 

امیر منصور شیرانی^۳ 

مونس سنجر پور^۴ 

چکیده

مقدمه: در تعدادی از مطالعات، فتودینامیک تراپی با استفاده از منابع نوری و مواد جاذب نور علیه قارچ کاندیدا به کار رفته است. هدف این مطالعه، بررسی اثرات ضدقارچی فتوسان با غلظت‌های مختلف متیلن‌بلو بر روی کاندیدا آلبیکانس رشد یافته بر روی دنچر بود و در جستجوی بانک‌های اطلاعاتی، مطالعه‌ی مشابهی دیده نشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه‌ی تجربی-آزمایشگاهی در دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) در سال ۱۳۹۷-۹۸ انجام شد. ۲۶ دنچر مشابه تهیه گردید. سوسپانسیون کاندیدا معادل ۰/۵ مک‌فارلند بر روی دنچرها تلقیح شد. نمونه‌ها به سه گروه هفت‌تایی با غلظت‌های مختلف متیلن‌بلو (۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱ گرم بر لیتر) انتخاب شدند و فتوسان با طول موج ۶۳۰ نانومتر به کار رفت. پنج نمونه‌ی شاهد شامل شاهد بدون درمان، شاهد فتوسان تنها، سه شاهد با غلظت‌های متیلن‌بلو تنها در نظر گرفته شد. تعداد کلونی‌ها با روش دستی و به طور چشمی شمارش شد. داده‌ها با آزمون‌های ANOVA و T-test تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: میانگین تعداد کاندیدا آلبیکانس رشد یافته بر روی دنچر پس از فتودینامیک تراپی و غلظت‌های مختلف متیلن‌بلو، با گروه‌های شاهد اختلاف معنی‌دار داشت ($p \text{ value} < ۰/۰۵$). میانگین تعداد کاندیدا آلبیکانس رشد یافته بر روی دنچر پس از فتودینامیک تراپی بین سه غلظت متیلن‌بلو اختلاف معنی‌دار داشت ($p \text{ value} < ۰/۰۰۱$) و در متیلن‌بلو با غلظت ۰/۱ به طور معنی‌داری بیشترین کارایی در کاهش کاندیدا داشت ($p \text{ value} < ۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: فتودینامیک تراپی با فتوسان و متیلن‌بلو با غلظت ۰/۱ بیشترین کارایی نسبت به بقیه‌ی موارد در کاهش کاندیدا آلبیکانس را داشت.

کلید واژه‌ها: فتودینامیک تراپی، متیلن‌بلو، کاندیدا آلبیکانس، دنچر.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۲۹

تاریخ اصلاح: ۱۴۰۱/۰۶/۰۱

تاریخ ارسال: ۱۴۰۱/۰۲/۲۸

استناد به مقاله: صالحی مازندرانی علی، امینی شهرام، شیرانی امیر منصور، سنجر پور مونس. بررسی فتودینامیک تراپی با فتوسان و غلظت‌های متیلن‌بلو بر روی کاندیدا آلبیکانس رشد یافته بر روی دنچر. مجله دانشکده دندان پزشکی اصفهان. ۱۴۰۱؛ ۱۸ (۳): ۲۶۸-۲۶۱.

مقدمه

کاندیدا آلیکس، یک فلور شایع بر روی سطوح موکوسی دهان، لوله‌ی گوارش و واژن می‌باشد. کاندیدایازیس دهانی، شایع‌ترین عفونت قارچی موکوس دهانی است. کلونیزاسیون کاندیدا آلیکس طبیعی در نظر گرفته می‌شود اما استفاده‌ی طولانی‌مدت از آنتی‌بیوتیک‌ها و نیز هرگونه اختلال در سیستم ایمنی منجر به رشد بیش از حد قارچی و کاندیدایازیس دهانی شود (۱-۳).

دنچر استوماتیت، شایع‌ترین فرم کاندیدایازیس دهانی با میزان بروز ۶۵-۱۱ درصد در بین افرادی که از دنچر کامل استفاده می‌کنند، می‌باشد (۴، ۵). این بیماری عودکننده با درجات متفاوت از التهاب موکوس در ناحیه‌ی زیر و بالای دنچر مشخص می‌شود (۶، ۷). اگرچه وضعیت سیستمیک بدن با بروز دنچر استوماتیت در ارتباط است اما فاکتورهای موضعی نیز نقش مهمی در اتیولوژی این بیماری دارد (۸، ۹). فاکتورهای اتیولوژیک مرتبط با استفاده از دنچر شامل افزایش سن دنچر، ترومای دنچر، استفاده‌ی مداوم دنچر و بهداشت پایین دنچر می‌شود (۱۰، ۱۱). اگرچه ترکیبات ضد قارچی بسیاری برای درمان دنچر استوماتیت ایجاد شده توسط کاندیدا آلیکس مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما عود عفونت بعد از درمان بسیار شایع بوده و یک مشکل اساسی در مورد استفاده از ترکیبات ضدقارچی گسترش عفونت‌های مقاوم می‌باشد (۱۲، ۱۳). به دلیل اینکه این ترکیبات نمی‌توانند میکروارگانیسم‌هایی که بر روی دنچر کلونیزه می‌شوند را ریشه‌کن کنند، بهبود بهداشت دنچر، عدم استفاده‌ی شبانه از دنچر و جایگزین کردن دنچر پس از گذشت مدتی از استفاده‌ی آن ضروری می‌باشد (۱۴).

فتودینامیک تراپی، به طور گسترده‌ای به عنوان یک روش جایگزین در مطالعات گذشته مورد ارزیابی قرار گرفته است (۱۵-۱۷). در فتودینامیک تراپی، عامل حساس به نور در طول موج مناسب باعث تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود. به دلیل وجود گونه‌های اکسیدکننده‌ی غیراختصاصی، ارگانیسم‌های مقاوم به درمان‌های مرسوم

ضدقارچی می‌توانند به خوبی توسط فتودینامیک تراپی کشته شوند و احتمال کمی وجود دارد که مقاومت به این روش درمانی ایجاد شود (۱۸). در خصوص اثرات فتودینامیک تراپی محدود به استفاده از فتوژن و متیلن بلو به عنوان حساس‌کننده به نور در کاهش عفونت قارچی با کاندیدا آلیکس دارای تناقضات بسیاری می‌باشد (۱۹) و نظر به اینکه تاکنون اربرد دستگاه فتوسان همراه متیلن بلو به عنوان ماده‌ی حساس به نور کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است، نتایج این مطالعه بر روی این گونه‌ی قارچی رشد یافته بر روی دنچر می‌تواند زمینه را برای مطالعات بیشتر به منظور استفاده از این ماده در زمینه‌های درمانی فراهم آورد.

هدف از این مطالعه، بررسی و مقایسه‌ی اثرات ضدقارچی فتوسان ۶۳۰ نانومتری و نیز غلظت‌های مختلف متیلن بلو به عنوان ماده‌ی حساس‌کننده به نور در فتودینامیک تراپی علیه گونه‌ی کاندیدا آلیکس رشد یافته بر روی دنچر است و بر اساس فرضیه‌ی صفر، غلظت‌های مختلف متیلن بلو در فتودینامیک تراپی با فتوسان تفاوتی در کاهش تعداد کاندیدا آلیکس رشد یافته بر روی دنچر ندارد. در بررسی بانک‌های اطلاعاتی مقاله‌ی مشابه این مطالعه دیده نشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه‌ی تحلیلی که به صورت آزمایشگاهی در بخش بیماری‌های دهان دانشکده‌ی دندان پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) در سال ۱۳۹۷ و با شماره‌ی ۲۳۸۱۰۲۰۱۹۵۱۰۱۰ انجام شد. در این مطالعه ۲۶ دنچر انتخاب شد. به منظور تهیه‌ی دنچر بدون دندان یکسان، ابتدا قالب‌گیری اولیه با آلژینات (کروموژل، مارلیک، فست ست)، از روی مانکن انجام شد، سپس کست اولیه با گچ (استون، تایپ III، شرکت تارا) تهیه و سپس تری اختصاصی (آکروپارس، شرکت مارلیک، ساخت ایران) تهیه و برادر ملدینگ و قالب‌گیری نهایی از روی مانکن انجام شد. بیدینگ و باکسینگ و کست نهایی (مستر کست) تهیه گردید. ریکورد بیس تهیه و مفل‌گذاری،

آکريل گذاري (آکروپارس، صورتی، هیت کیور، ساخت ایران) و پختن انجام شد. استريل کردن دنچرها توسط اتيلن اکساید انجام گرفت. دنچرهای تهیه شده چون همه از روی یک مانکن ساخته شده بود، یکسان سازی شده و شکل، اندازه و مساحت همه‌ی دنچرها یکسان بود. سپس از قارچ کاندیدا آلیکنس (با منبع گلوی بیمار) سوسپانسیون معادل ۰/۵ مک فارلند (که معادل $10^8 \times 1/5$ ارگانيسم در هر میلی لیتر است) تهیه کرده و در محیط کشت تريپتيك سوی برات یا TSB (Tryptic soy broth) (مدل بیولایف، نگهدارنده‌ی قارچ) در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی گراد پس از ۲۴ ساعت به دنچر تلقیح شد. پس از انتهای دوره، انکوباسیون هر دنچر وارد بشر ۶۰۰ میلی لیتری شده و توسط ۲۰۰ میلی لیتر سالین استريل شسته شد.

۲۱ دنچر به ۳ دسته‌ی ۷ تایی تقسیم شده و هر دسته ۵ سی سی با غلظت ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ gr/Lit متیلن بلو آغشته شده و سپس مورد تابش دستگاه Fotosan R 630 (CMS dental ساخت دانمارک)، با دوز خروجی 3000 mW/cm^2 و ۳۰ J قرار گرفتند و ۱۰ ثانیه در هر ناحیه تابانده شد. انتخاب این تنظیمات و در نظر گرفتن این سه غلظت از متیلن بلو، با در نظر گرفتن تعدادی از مطالعات گذشته بود (۲۰، ۲۱). پنج نمونه‌ی شاهد، یک نمونه شامل شاهد صفر که صرفاً قارچ روی آن کشت داده شده بود و یک شاهد دیگر که بدون متیلن بلو فوتوسان تنها به آن تابانده شد. سه نمونه‌ی دیگر هم که با سه غلظت مختلف ذکر شده، آغشته شد ولی فوتوسان به آن تابانده نشد. سطح داخلی دنچر به ۴ ناحیه‌ی فرضی وستیول راست، وستیول

چپ، وستیول قدام و کام تقسیم گردید و این تنظیمات برای هر قسمت به کار برده شد. تنها به سمت داخل دنچر فوتوسان تابانده شد چون نور از دنچر عبور می کرد ولی همه‌ی سطوح دنچر به متیلن بلو آغشته بود. تابش فوتوسان به صورت تماس نزدیک و عمود بر سطح دنچر و با یک حرکت چرخشی ملایم بود. سپس مجدداً هر کدام از دنچرها وارد بشر حاوی ۲۰۰ میلی لیتر محلول سالین شدند. بشرهای حاوی سرم و دنچر به مدت یک دقیقه وارد انکوباتور (مدل بهداد) لرزاننده شدند و سپس به مدت ۹ دقیقه ثابت قرار گرفتند. سپس سوسپانسیون ایجاد شده در محیط کشت سابورو یا آگاردکستروز (مدل LAB que) کشت داده شد و به صفحات SDA منتقل شده و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباسیون و در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی گراد قرار می گیرند. سپس تعداد کلونی‌ها با استفاده از روش دستی و چشمی شمارش شد. نمونه‌های شاهد فوتوسان تنها و متیلن بلوی تنها با سه غلظت ذکر شده و شاهد بدون مداخله هم به روش مشابه صورت گرفت (شکل ۱).

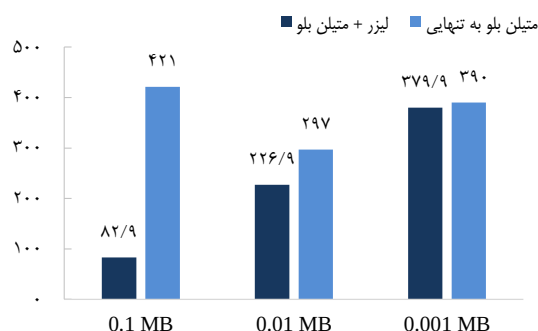
برای مقایسه‌ی اصولی نتایج با مطالعات مشابه قبلی دوز انرژی محاسبه و مقایسه شد. نحوه‌ی محاسبه‌ی دوز انرژی در واحد سطح به این صورت بود که سطح تابش فوتوسان با استفاده از موم که در سطوح تابانده شده قرار داده و اندازه گیری شد و بدین ترتیب سطح مقطع به دست آمد. کل انرژی تابانده شده (انرژی در واحد سطح) بدین ترتیب محاسبه گردید:

$$\frac{4 \times 30 \text{ J ناحیه}}{\text{سطح کل ناحیه}} = \frac{120}{37} = 3/25 \text{ J/cm}^2$$



شکل ۱: تعداد کلونی‌ها در نمونه‌های مورد بررسی

روی دنچر شده است. کاربرد فتوسان به همراه متیلن بلو در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ به ترتیب باعث کاهش ۸۶ و ۶۲ و ۳۶ درصدی در تعداد کلنی‌ها شد (نمودار ۱).



نمودار ۱: میانگین تعداد کاندیدا آلیکس رشد یافته بر روی دنچر پس از فتودینامیک تراپی با فتوسان ۶۳۰ و غلظت‌های مختلف متیلن بلو در مقایسه با متیلن بلو تنها (به تفکیک سه غلظت)

آزمون ANOVA نشان داد که میانگین تعداد کاندیدا آلیکس رشد یافته بر روی دنچر پس از فتودینامیک تراپی با فتوسان ۶۳۰ بین سه غلظت متیلن بلو، اختلاف معنی دار داشت ($p \text{ value} < ۰/۰۰۱$). آزمون تعقیبی Tukey نشان داد که میانگین تعداد کاندیدا آلیکس رشد یافته بر روی دنچر پس از فتودینامیک تراپی با فتوسان ۶۳۰ در متیلن بلو با غلظت ۰/۱ به طور معنی داری کمتر از غلظت ۰/۰۱ و در غلظت ۰/۰۱ به طور معنی داری کمتر از غلظت ۰/۰۰۱ بود ($p \text{ value} < ۰/۰۰۱$).

بحث

در مطالعه‌ی حاضر که به بررسی فتودینامیک تراپی با سه غلظت مختلف متیلن بلو پرداخت، تفاوتی از جهت کاهش تعداد کلونی کاندیدا بین سه غلظت دیده شد. بنابراین فرضیه‌ی صفر رد می‌شود، در مطالعه‌ی حاضر میانگین تعداد کاندیدا آلیکس رشد یافته بر روی دنچر پس از فتودینامیک تراپی با فتوسان ۶۳۰ نانومتري و غلظت‌های مختلف متیلن بلو، هم با تعداد کاندیدا آلیکس رشد یافته بر

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون‌های T-test، ANOVA، Z-test، Kolmogrov-Smirnov با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ (IBM Corporation, Armonk, NY) استفاده شده است. سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

این مطالعه به منظور تعیین تأثیر فتودینامیک تراپی با فتوسان و غلظت‌های مختلف متیلن بلو بر روی نمونه‌های آزمایشگاهی قارچ کاندیدا آلیکس رشد یافته بر روی دنچر صورت گرفت که نتایج در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱: مقایسه‌ی میانگین تعداد کاندیدا آلیکس رشد یافته بر روی دنچر پس از فتودینامیک تراپی با فتوسان ۶۳۰ و غلظت‌های مختلف متیلن بلو با متیلن بلو به تنهایی و شاهد فتوسان به تنهایی

شرایط مورد مطالعه	میانگین ± انحراف معیار
متیلن بلو ۰/۱ با فتوسان	۸۲/۹ ± ۳/۹
متیلن بلو ۰/۰۱ با فتوسان	۲۲۶/۹ ± ۱۳/۰۱
متیلن بلو ۰/۰۰۱ با فتوسان	۳۷۹/۹ ± ۶/۹
شاهد بدون مداخله	۶۰۰
شاهد فتوسان تنها	۴۰۰
شاهد متیلن بلو تنها با غلظت ۰/۱	۴۲۱
شاهد متیلن بلو تنها با غلظت ۰/۰۱	۲۹۷
شاهد متیلن بلو تنها با غلظت ۰/۰۰۱	۳۹۰

آزمون T-test نشان داد که میانگین تعداد کاندیدا آلیکس رشد یافته بر روی دنچر پس از فتودینامیک تراپی با فتوسان ۶۳۰ و غلظت‌های مختلف متیلن بلو، هم با تعداد کاندیدا آلیکس رشد یافته بر روی دنچر با متیلن بلو به تنهایی، شاهد فتوسان به تنهایی و همچنین شاهد صفر اختلاف معنی دار داشت ($p \text{ value} < ۰/۰۵$). به عبارت دیگر فتودینامیک تراپی با فتوسان ۶۳۰ در تمامی غلظت‌های متیلن بلو، باعث کاهش تعداد کاندیدا آلیکس رشد یافته بر

روی دنچر با متیلن بلو به تنهایی، شاهد فتوسان به تنهایی و همچنین شاهد صفر اختلاف معنی دار داشت. به عبارت دیگر فتودینامیک تراپی با فتوسان ۶۳۰ نانومتری در تمامی غلظت های متیلن بلو باعث کاهش تعداد کاندیدا آلیکس رشد یافته بر روی دنچر شده است.

در مطالعه‌ی Diogo و همکاران مشاهده شد، کاربرد تولوئیدین بلو به تنهایی باعث کاهش ۱۶/۶ درصدی کلنی‌ها و در کاربرد ۶۰ ثانیه‌ای فتوسان به طور میانگین باعث کاهش ۵۳ درصدی و در زمان ۹۰ ثانیه‌ای باعث کاهش ۵۸ درصدی کلنی‌ها شد (۲۲). در مطالعه‌ی حاضر نیز کاربرد متیلن بلو در غلظت ۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر باعث کاهش ۲۹ درصدی در تعداد کلنی‌ها شد و کاربرد ۱۰ ثانیه‌ای فتوسان در غلظت های ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ به ترتیب باعث کاهش ۸۶، ۶۲ و ۳۶ درصدی در تعداد کلنی‌ها شد و کارایی در مطالعه‌ی حاضر بیشتر بود. البته در این مطالعه، از غلظت ۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر تولوئیدین بلو و دستگاه FotoSan R:630 و به مدت ۶۰ و ۹۰ ثانیه و ۶۲/۵ میلی وات و دوز انرژی ۳۷۸۰ ژول بر سانتی متر مربع استفاده شد، در حالی که در مطالعه‌ی حاضر از فتوسان با دوز خروجی 3000 mW/cm^2 ، ۳۰ ژول انرژی، دوز انرژی ۳/۲۵ ژول بر سانتی متر مربع و زمان تابش ۱۰ ثانیه‌ای استفاده شد. با وجود یکسان بودن دستگاه و همسو بودن نتایج، تفاوت در درصد کاهش کلنی‌های می‌تواند به علت تفاوت در تنظیمات دستگاه باشد.

در مطالعه‌ی Nielsen و همکاران که از لامپ‌های LED آبی و قرمز علیه کاندیدا آلیکس استفاده شد، مشاهده گردید، کاربرد فتوسان همراه تولوئیدین بلو، کارایی بیشتری داشت (۲۳). کاربرد لیزر به تنهایی و همراه با تولوئیدین بلو (۳۸ درصد کاهش) باعث کاهش قابل ملاحظه‌ی تعداد کلنی‌های کاندیدا آلیکس مشاهده شد. در این مطالعه، منابع نوری استفاده شده توسط دستگاه‌های Fotosan 630 LAD با نور قرمز ۶۳۰ نانومتری به همراه تولوئیدین بلو و FlashMax P3 460 با نور آبی

۴۶۰ نانومتری به همراه ریپوفلاوین تأمین شد. از غلظت ۲۶۶ میکرومول بر لیتر، ماده‌ی حساس به نور و دوز انرژی ۳۷/۳ ژول بر سانتی متر مربع و توان ۰/۴ وات و زمان تابش ۳۰ ثانیه استفاده شد. در حالی که در مطالعه‌ی حاضر، از فتوسان با دوز خروجی 3000 mW/cm^2 ، ۳۰ ژول انرژی، دوز انرژی ۳/۲۵ ژول بر سانتی متر مربع و زمان تابش ۱۰ ثانیه‌ای استفاده شد. با وجود یکسان بودن دستگاه و همسو بودن نتایج، تفاوت در درصد کاهش کلنی‌های می‌تواند به علت تفاوت در تنظیمات دستگاه یا انتخاب ماده‌ی حساس به نور و غلظت آن باشد.

در مطالعه‌ی Filipov و همکاران پس از کاربرد فتوسان کاهش قابل ملاحظه‌ای در کلنی‌های کاندیدا آلیکس مشاهده شد و محققین این روش را کارآمد توصیف کردند (۲۴). در این مطالعه، تأثیر فتودینامیک تراپی به وسیله‌ی Fotosan 630 نانومتری و تولوئیدین بلو با غلظت ۰/۰۱ به عنوان ماده‌ی حساس به نور و با توان ۲۰۰۰ میلی وات بر سانتی متر مربع به مدت ۳۰ ثانیه علیه کاندیدا آلیکس خارج شده از کانال ریشه به کمک میکروسکوپ الکترونی ارزیابی شد. با وجود تفاوت در تنظیمات دستگاه و همسو بودن نتایج کلی و ماده‌ی حساس به نور، روش مطالعه و ارزیابی در دو مطالعه نیز متفاوت بود. در مطالعه‌ی Peloi و همکاران مشاهده شد، فتودینامیک تراپی باعث مهار رشد ۹۳/۳ درصدی کاندیدا آلیکس در غلظت ۴۲/۲ میکرومول پس از ۲۰ دقیقه اکسپوزر شد (۲۵). محققین در نهایت به کارآمدی این روش در مهار رشد میکروارگانیسم‌ها اشاره کرده‌اند. در این مطالعه از نور لامپ‌هایی با طول موج ۶۶۳ نانومتر و ۲، ۴، ۶ و ۱۲ ژول بر سانتی متر مربع به مدت ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه و غلظت ۷ تا ۱۴۰ میکرومول از متیلن بلو استفاده شد. در حالی که در مطالعه‌ی حاضر از فتوسان با دوز خروجی 3000 mW/cm^2 ، ۳۰ ژول انرژی، دوز انرژی ۳/۲۵ ژول بر سانتی متر مربع و زمان تابش ۱۰ ثانیه‌ای استفاده شد. با وجود همسو بودن نتایج، کارآمدی این مطالعه بیشتر بود. تفاوت

در نتایج می‌تواند مربوط به تفاوت در تنظیمات دستگاه و غلظت ماده‌ی حساس به نور باشد.

در مطالعه‌ی حاضر اغلب نتایج، همسو با مطالعات مشابه بود و برخی تفاوت‌ها در نتایج یا میزان کارآیی فتودینامیک تراپی می‌تواند به علت تفاوت روش اجرا با مطالعات دیگر مثل تفاوت در نوع منبع نوری، تنظیمات دستگاه، روش انجام و استفاده از بیس دنچر بود. دیود لیزر کم توان به همراه مواد جاذب نور و دیود پهن باند فتوسان به همراه مواد جاذب نور مثل متیلن‌بلو در چند مطالعه‌ی قبلی بررسی شده‌اند که از مواد مختلف و دوزهای متفاوتی استفاده شده بود.

با توجه به نتایج، در تأیید تمام فرضیه‌ها، فتودینامیک تراپی با فتوسان و با استفاده از متیلن‌بلو با غلظت ۰/۱، ۰/۱ و ۰/۰۱ باعث کاهش تعداد کاندیدا آلیکس رشد یافته بر روی دنچر می‌شود.

کاربرد فتوسان ۶۳۰ نانومتری به تنهایی باعث کاهش ۳۳ درصدی تعداد کلونی‌ها شد. کاربرد متیلن‌بلو به تنهایی در غلظت‌های ۰/۱، کاهش ۲۹ درصد، در غلظت ۰/۰۱، کاهش ۵۱ درصد و در غلظت ۰/۰۱ کاهش ۳۵ درصد در تعداد کلونی‌ها شد. در مقایسه با نتایج سایر مطالعات مشابه در کاربرد متیلن‌بلو به تنهایی، می‌توان گفت کارآیی بیشتری در کاهش تعداد کلونی‌ها مشاهده شد.

می‌توان گفت چنین مطالعه‌ای با این ویژگی‌ها برای اولین بار مورد بررسی قرار گرفته است. لازم به ذکر است مطالعات مشابه به روش‌های مختلفی انجام شده است و در برخی از آن‌ها یک غلظت از متیلن‌بلو در نظر گرفته شده بود

و برخی مقایسه‌ها به دلیل این تفاوت‌ها، ممکن و قابل مقایسه‌ی دقیق نبود. به نظر می‌رسد با توجه انتخاب نوع منبع نور و پارامترهای مربوط به آن، روش شمارش کلونی‌ها، نوع ماده‌ی حساس به نور و نوع میکروارگانیسم مورد مطالعه، مکانیسم، فیزیولوژی و واکنش آن نسبت به ماده‌ی حساس به نور و نوع دستگاه و متعاقباً تأثیر آن، انتخاب تنظیمات دستگاه، غلظت ایده‌آل ماده‌ی حساس به نور و جنس بیس دنچر، امری تأثیرگذار در نتایج فتودینامیک تراپی خواهد بود. در این مطالعه جهت مشابه‌سازی با شرایط دهانی، قارچ بر روی دنچر کشت داده شد.

در انتها پیشنهاد می‌شود تأثیر فتودینامیک تراپی با فتوسان با تنظیمات مختلف، مواد جاذب مختلف یا با شرایط متفاوت مورد بررسی قرار بگیرد. همچنین غلظت‌های مختلفی از مواد مختلف حساس به نور نیز بررسی شود.

نتیجه‌گیری

می‌توان نتیجه گرفت کاربرد فتودینامیک تراپی با فتوسان ۶۳۰ نانومتری همراه با سه غلظت انتخابی متیلن‌بلو به طور معنی‌داری باعث کاهش تعداد کلونی‌ها شد اما غلظت ۰/۱ بیشترین کارآیی را در کاهش تعداد کلونی‌ها داشت.

سپاسگزار

این مطالعه با شماره طرح تحقیقاتی ۲۳۸۱۰۲۰۱۹۵۱۰۱۰ مورد تأیید شورای پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) به شماره ۹۹۸۳-۱۴-۱۴۰۱-۰۴ می‌باشد.

References

1. Hebecker B, Naglik JR, Hube B, Jacobsen ID. Pathogenicity mechanisms and host response during oral *Candida albicans* infections. Expert Rev Anti Infect Ther 2014; 12(7): 867-79.
2. Wilson D. *Candida albicans*. Trends Microbiol 2019; 27(2): 188-9.
3. Naglik JR, Gaffen SL, Hube B. Candidalysin: discovery and function in *Candida albicans* infections. Curr Opin Microbiol 2019; 52: 100-9.
4. Pereira CA, Domingues N, Araújo MDSA, Junqueira JC, Back-Brito GN, Jorge AOC. Production of virulence factors in *Candida* strains isolated from patients with denture stomatitis and control individuals. Diagn Microbiol Infect Dis 2016; 85(1): 66-72.
5. Gendreau L, Loewy ZG. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. J Prosthodont 2011; 20(4): 251-60.
6. Hannah VE, O'Donnell L, Robertson D, Ramage G. Denture stomatitis: causes, cures and prevention.

- Prim Dent J 2017; 6(4): 46-51.
7. Puryer J. Denture stomatitis-a clinical update. Dent Update 2016; 43(6): 529-30, 533-5.
 8. Conrads G. Pathophysiology of dental caries. In: Schwendicke F, Frencken J, Innes N, editors. Caries excavation: Evolution of treating cavitated carious lesions. Basel, Switzerland: Karger Medical and Scientific Publishers; 2018. p. 1-10.
 9. Perić M, Živković R, Lemić AM, Radunović M, Miličić B, Arsenijević VA. The severity of denture stomatitis as related to risk factors and different *Candida* spp. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol 2018; 126(1): 41-7.
 10. Moosazadeh M, Akbari M, Tabrizi R, Ghorbani A, Golkari A, Banakar M, et al. Denture stomatitis and *Candida Albicans* in Iranian population: A systematic review and meta-analysis. J Dent (Shiraz) 2016; 17(3 Suppl): 283-92.
 11. Shi B, Wu T, McLean J, Edlund A, Young Y, He X, et al. The denture-associated oral microbiome in health and stomatitis. mSphere 2016; 1(6): e00215-16.
 12. Al-Kebsi A, Al-Motareb F, Al-Hamzy M, Al-Shamahy H, Al-Sanabani N, et al. Multiple risk factors of *Candida albicans* associated denture stomatitis. On J Dent & Oral Health 2018; 1(3): 1-5.
 13. Yarborough A, Cooper L, Duqum I, Mendonça G, McGraw K, Stoner L. Evidence regarding the treatment of denture stomatitis. J Prosthodont 2016; 25(4): 288-301.
 14. Liu X, Wang D, Yu C, Li T, Liu J, Sun S. Potential antifungal targets against a *Candida* biofilm based on an enzyme in the arachidonic acid cascade-A review. Front Microbiol 2016; 7: 1925.
 15. Pérez-Laguna V, Gilaberte Y, Millán-Lou MI, Agut M, Nonell S, Rezusta A, et al. A combination of photodynamic therapy and antimicrobial compounds to treat skin and mucosal infections: a systematic review. Photochem Photobiol Sci 2019; 18(5): 1020-9.
 16. Davoudi A, Ebadian B, Nosouhian S. Role of laser or photodynamic therapy in treatment of denture stomatitis: A systematic review. J Prosthet Dent 2018; 120(4): 498-505.
 17. Sousa TMS, de Farias OR, Batista AUD, de Medeiros ES, Santiago BM, Cavalcanti YW. Effectiveness of denture microwave disinfection for treatment of denture stomatitis: A systematic review and meta-analysis. Int J Dent Hyg 2021; 19(1): 62-77.
 18. Liang Y, Lu LM, Chen Y, Lin YK. Photodynamic therapy as an antifungal treatment. Exp Ther Med 2016; 12(1): 23-7.
 19. Martins KV, Gontijo S. Treatment of denture stomatitis: literature review. Rev Bras Odomtol 2017; 74(3): 215-20.
 20. Azizi A, Amirzadeh Z, Rezai M, Lawaf S, Rahimi A. Effect of photodynamic therapy with two photosensitizers on *Candida albicans*. J Photochem Photobiol B 2016; 158: 267-73.
 21. de Sousa JNL, de Queiroga BH, de Oliveira Kocerginsky P, Marinho PHC, Araki ÂT. Photoinactivation of *Candida albicans* using methylene blue as photosensitizer. RGO, Rev Gauch Odontol 2015; 63(4): 411-7.
 22. Diogo P, Fernandes C, Caramelo F, Mota M, Miranda IM, Faustino M, et al. Antimicrobial photodynamic therapy against endodontic *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* mono and mixed biofilms in the presence of photosensitizers: a comparative study with classical endodontic irrigants. Front Microbiol 2017; 8: 498.
 23. Nielsen HK, Garcia J, Væth M, Schlafer S. Comparison of riboflavin and toluidine blue O as photosensitizers for photoactivated disinfection on endodontic and periodontal pathogens in vitro. PLoS One 2015; 10(10): e0140720.
 24. Filipov I, Markova K, Boyadzhieva E. Efficiency of photoactivated disinfection on experimental biofilm-scanning electron microscopy results. J IMAB 2013; 19(4): 383-7.
 25. Peloi LS, Soares RRS, Biondo CEG, Souza VR, Hioka N, Kimura E. Photodynamic effect of light-emitting diode light on cell growth inhibition induced by methylene blue. J Biosci 2008; 33(2): 231-7.