



مقایسه آزمایشگاهی میزان اثربخشی عصاره حنا، هیپوکلرید سدیم و نیستاتین در کنترل پلاک کاندیدا بی موجود بر روی قطعات رزین آکريل آلوده

نویسندگان: عباسعلی جعفری^۱، عباس فلاح تفتی^۲، سحر زراعتکار دوانی^۳، حسین جعفری^۴

۱. دانشیار گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

۲. استادیار گروه پروتوزهای دندانی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

۳. نویسنده مسئول: دانشجوی دندانپزشکی، گروه پروتوزهای دندانی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید

صدوقی یزد. تلفن تماس: ۰۹۱۷۱۰۶۷۰۳۳. Email: Jaabno@gmail.com

۴. دانشجوی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

چکیده

مقدمه: استئوماتیت ناشی از دندان های مصنوعی یکی از مشکلات رایج در استفاده کنندگان از دندان های مصنوعی می باشد. این پدیده، ناشی از چسبندگی و کلونیزاسیون کاندیدا آلیکنس بر روی آن می باشد. ضد عفونی کردن پروتز با ضد عفونی کننده های شیمیایی رایج می تواند منجر به ضایعات آلرژیک دهانی گردد. هدف از انجام این مطالعه مقایسه اثر بخشی عصاره آبی حنا و هیپوکلریت سدیم جهت ضد عفونی قطعات رزین آکريل که به صورت تجربی به کاندیدا آلیکنس آلوده شده اند، می باشد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ابتدا تعداد ۱۰۰ قطعه مربعی شکل به ابعاد ۱۰×۱۰×۱ mm رزین آکريل تهیه و سپس برای تشکیل پلاک تجربی کاندیدایی با سوسپانسیون کاندیدا آلیکنس آلوده شدند. میانگین تعداد سلولهای کاندیدا متصل به قطعات رزین قبل از انجام ضد عفونی ۱۲ قطعه پلاک تعیین گردید. سپس ۸۸ پلاک آلوده به چهار گروه تقسیم و هر گروه به ترتیب به مدت ۸ ساعت در ۵mg/CC عصاره ی آبی حنا، سدیم هیپوکلریت ۲٪ (گروه تست)، محلول ۱۰۰۰۰۰ واحدی نیستاتین (کنترل مثبت)، و آب مقطر استریل (کنترل منفی) به صورت غوطه وری بر روی شیکر در حرارت ۳۷°C قرار گرفتند. میزان پایداری کاندیدا با کشت محلول شستشوی قطعات آکريل بر روی محیط سابورو و مقایسه میانگین کلنیهای کاندیدا باقیمانده بر روی قطعات با کمک آزمونهای کروسکال والیس و من ویتنی با نرم افزار آماری SPSS با هم مقایسه شد.

یافته ها: با مقایسه میانگین کاهش تعداد کلنی کاندیدا جدا شده از قطعات آکريل قبل و بعد از ضد عفونی با مواد مورد بررسی، این تفاوت برای پلاکهای رزین آکريل ضد عفونی شده با عصاره آبی حنا، سدیم هیپوکلرید، و نیستاتین معنی دار بود ($P=0/0001$). در این مطالعه محلول سدیم هیپوکلرید به میزان ۱۰۰٪ در حالیکه محلول عصاره آبی رقیق حنا توان کاهش بیش از ۸۰٪ بیوفیلم کاندیدایی تجربی روی قطعات آکريل داشت. آب مقطر استریل تنها با کاهش ۲۴/۷٪ کمترین اثر در کاهش میزان کلونیزاسیون کاندیدا بر روی قطعات آکريل را نشان داد.

نتیجه گیری: نتایج بدست آمده نشان می دهد که که با توجه به ارزان بودن و همچنین نداشتن عوارض، می توان غوطه وری دست دندان در محلول رقیق عصاره حنا را جهت کنترل بیوفیلم کاندیدا و جلوگیری از استئوماتیت ناشی از دندان مصنوعی پیشنهاد کرد.

واژه های کلیدی: استئوماتیت دندان مصنوعی، کاندیدا آلیکنس، رزین آکريل، حنا، هیپوکلرید سدیم

این مطالعه حاصل پایان نامه تحقیقاتی دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد می باشد.

طلوع بهداشت

دو ماهنامه علمی پژوهشی

دانشکده بهداشت یزد

سال سیزدهم

شماره: دوم

خرداد و تیر ۱۳۹۳

شماره مسلسل: ۴۴

تاریخ وصول: ۱۳۹۲/۳/۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۱۱

مقدمه

استئوماتیت ناشی از دندان های مصنوعی در ۱۱ تا ۶۷ درصد از افرادی که از دندان های مصنوعی کامل استفاده می کنند گزارش شده است که به صورت التهاب منتشر نواحی تحت پوشش دست دندان ماگزیلار (فوقانی) و ماندیبولار (تحتانی) دیده می شود. این عارضه اغلب در افراد استفاده کننده از دست دندان کامل دیده می شود و در حداقل ۷۰٪ از افراد با نشانه های بالینی استئوماتیت ناشی از استفاده از دست دندان مصنوعی یا دست دندان، رشد و تکثیر بیش از حد کاندیدا در دهان این افراد گزارش شده است (۱). گونه های مختلف کاندیدا از قارچ های مخمری فلور نرمال حفره دهانی انسان می باشند که توانایی چسبندگی و کلونیزاسیون بر روی پروتزه های مختلف از جمله پروتزه های دندانی دارد. گونه کاندیدا آلیکنس از شایعترین گونه های کاندیدایی دهانی می باشد که در مقایسه با سایر گونه ها توان چسبندگی به دندان های مصنوعی آکرلیک را دارد (۲). مطالعات متعدد نشان دهنده نقش مهم کاندیدا از جمله گونه کاندیدا آلیکنس در چسبندگی بر روی سطوح مخاطی دست دندان، تحریک و واکنش آلرژیک بافت مخاط و بروز کاندیدیازیس دهانی ناشی از دست دندان می باشد (۳). فاکتورهای مختلف مربوط به قارچ کاندیدا و همچنین بعضی تغییرات مربوط به میزبان در ایجاد استئوماتیت ناشی از دندان های مصنوعی دخیل هستند. علاوه بر توانایی چسبندگی قارچ، تولید آنزیم های پروتئولیتیک که موجب توانایی نفوذ قارچ به بافت ها می شود، تغییر فنوتیپ قارچ از فرم مخمری به فرم هیف و توانایی مقابله با بعضی از مکانیسم های ایمنی بدن از سایر فاکتور



های ویروالانس یا بیماریزایی این قارچ معرفی شده است (۴). از فاکتور های مربوط به میزبان می توان به کاهش جریان بزاق، سطوح متخلخل و دارای حفره آکرلیک، ترومای ناشی از دست دندانهای نو و بد ساخت، تغییر pH در پلاک دندانی، استفاده طولانی مدت از داروهای آنتی بیوتیک و استروئیدها، ابتلای به دیابت و نارسای در سیستم ایمنی استفاده کنندگان از دست دندان از عوامل مؤثر در بروز درماتیت ناشی از استفاده دندان های مصنوعی می باشند (۵). مطالعات اخیر و گزارش های قبلی نشان می دهد که سطوح ناصاف و شکاف و شکستگی های آکرلیک، موجب افزایش سطح بالاتری از کلونیزه شدن کاندیدا نسبت به ماده های با سطح صاف می شود (۶،۷). اتصال و کلونیزه شدن کاندیدا بر روی سطح دندان مصنوعی موجب تولید بیوفیلم کاندیدایی (Candidal biofilm) می شود که منبعی از کاندیدا را در محیط دهانی فراهم می کند. ترومای ناشی از دست دندان بر روی مخاط دهان می تواند باعث کاهش مقاومت بافت مخاط در برابر عفونت و افزایش نفوذ پذیری اپی تلیوم به آنتی ژنهای کاندیدا و توکسین های این قارچ و در نتیجه باعث استئوماتیت ناشی از دست دندان شود. این عارضه به خصوص بدنبال استفاده از دست دندان قدیمی یا دست دندان با تطابق ضعیف شایعتر و شدیدتر است (۸). این عارضه ممکن است موجب گسترش کاندید یازیس در بیماران دچار نقص ایمنی و افرادی که از دندان مصنوعی استفاده می کنند و بهداشت دهانی پایینی دارند شود (۴،۹). یافته های قبلی حاکی از آن است که مسواک زدن با خمیر دندان یکی از معمول ترین روش های بهداشت دندان های



یک عامل فعال زیستی شناخته شده است. در طب سنتی از حنا برای رفع عفونتهای قارچی بین انگشتان پا، زیر سینه و کشاله ران و همچنین رفع جوشهای دهان استفاده شده و مطالعات جدیدی نیز اثرات ضد باکتریال، ضد انگلی و ضد قارچی این گیاه را نشان داده است (۱۶، ۱۷). هیپوکلریت سدیم یک تا دو درصد نیز به عنوان یک ماده آنتی میکروبیال مفید و مورد استفاده در دندانپزشکی می باشد (۱۸، ۱۹). با توجه به اینکه حنا گیاهی ارزان و در دسترس است و با توجه به اینکه هنوز عارضه ای در استفاده از آن گزارش نشده، هدف از انجام مطالعه حاضر مقایسه میزان اثربخشی حنا (*lawsonia inermis*) و محلول هیپوکلریت سدیم در کنترل پلاک کاندیدا بر روی قطعات رزین آکریل در شرایط آزمایشگاهی می باشد.

روش بررسی

الف: ساخت قطعات آکریل: جهت انجام این مطالعه تجربی (Lab trial) در سال ۱۳۹۱ در دانشکده دندانپزشکی یک قالب گچی درون مفل گذاشته و با استفاده از گچ مولدستن (پارس دندان، ایران) تهیه شد. برای این منظور یک لایه موم نازک (تکفام- ایران) در ابعاد $55 \times 55 \times 0.5$ mm مفل گذاری شده و بعد از مرحله حذف موم، به قالب گچی بیوفیلم (آکروپارس، مارلیک- تهران) زده شد. در زمان خشک شدن بیوفیلم، پودر و مونومر آکریل پختنی (آکروپارس، مارلیک- تهران) در یک لیوان شیشه ای با هم مخلوط شدند و سپس در مرحله خمیری (Dough) آکریل گذاری انجام و مفل در دستگاه پرس هیدرولیک (Kavo- آلمان) قرار گرفت. پس از ۴۵ دقیقه مفل تحت فشار، در ظرف

مصنوعی می باشد (۱۰، ۱۱). مسواک زدن روشی ساده، ارزان و مؤثر برای از بین بردن بیوفیلم دندان مصنوعی می باشد. با توجه به اینکه افراد دارای دست دندان اغلب مسن بوده و ممکن است دچار محدودیت حرکتی دستها باشند و یا به دلیل عدم آگاهی از اهمیت بهداشت دهان و دست دندان به طور مرتب از این روش استفاده نکرده و به همین دلیل میزان شیوع عوارض ناشی از دست دندان در آنها همچنان بالاست (۱۲، ۱۳). استفاده از روش های شیمیایی برای تمیز کردن دندان های مصنوعی به طور عمده شامل قرار دادن آنها در محلول های تمیز کننده تجاری و انواع خانگی آن می باشد. آنها معمولاً سطح صاف رزین آکرلیک را حفظ کرده و تغییری در آن ایجاد نمی کنند و بنابراین احتمال تجمع بیوفیلم را کاهش می دهند. به هر حال تعدادی از محلولهایی که در این روش جهت تمیز کردن دندان های مصنوعی استفاده می شود گران بوده و یا ممکن است که به رزین آکرلیک و آلیاژهای فلزی مورد استفاده در ساخت دست دندان مصنوعی آسیب برسانند و در بسیاری از موارد استفاده از این مواد باعث عوارض جانبی از جمله حساسیتهای مخاط دهانی شده است (۱۴، ۱۵). به همین دلیل اخیراً گرایش زیادی از افراد دارای دست دندان و دندانپزشکان به استفاده از داروها و عصاره های گیاهی به عنوان مواد ضد عفونی کننده دست دندان شده است. حنا گیاه بومی ایران است که هر چند خواص دارویی برای آن گزارش شده اما به طور سنتی از حنا برای رنگ کردن بدن استفاده می شود. حنا حاوی مانیتول، اسید تانیک، موسیلاژ و اسید گالیک می باشد اما مهمترین ماده تشکیل دهنده آن ۲-هیدروکسی ناپتوکوینون یا لازون است که به عنوان



ج: روش انجام آزمایش حساسیت دارویی و قدرت ضد عفونی کنندگی عصاره آبی حنا: جهت آزمایش ضد عفونی کنندگی ابتدا با استفاده از یک کلنی تازه از سوش استاندارد کاندیدا آلیکنس (PTCC 5027) تهیه شده از مرکز تحقیقات علمی و صنعتی ایران سوسپانسیون 1×10^7 CFU/ml کاندیدا در محیط سابوروراث (Oxoid, UK) با استفاده از لام هماتوسیترت تهیه شد (۲۰). سپس تمام قطعات رزین آکريل تهیه شده را به منظور تشکیل بیوفيلم تجربی داخل این سوسپانسیون کاندیدا به مدت ۷۲ ساعت بر روی شیکر روتاتور (۱۰۰ rpm) در حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد انکوباسیون شدند (۲۱). سپس تمامی قطعات سه بار با آب مقطر استریل و به مدت ۵ دقیقه بر روی شیکر (۱۰۰ rpm) شستشو داده شدند. تعداد ۱۲ قطعه رزین آکريل آلوده شده را به طور تصادفی از بین قطعات با استفاده از پنس استریل انتخاب کرده و هر کدام را جدا گانه در داخل لوله های آزمایش استریل حاوی ۲ میلی لیتر آب مقطر استریل قرار داده و با دستگاه سونیکاسیون (Elma, Germany) به مدت ۵ دقیقه اولتراسونیک نموده (۴۵ کیلوهرتز) تا سلولهای کاندیدای زنده چسبیده به قطعه رزین آکريل جدا شوند. در پایان ۱۰۰ میکرولیتر از محلول شستشو سونیکاسیون شده را بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار (Merck, Germany) به صورت چمنی کشت و به مدت ۴۸ ساعت در حرارت ۳۰ درجه قرار گرفت تا هر سلول زنده تشکیل یک کلنی بدهد (۲۲). در پایان با شمارش تعداد کلنیهای کاندیدا جدا شده از هر قطعه رزین آکريل میانگین تعداد سلولهای کاندیدا

مخصوص پخت آکريل گذاشته شد و بعد از به جوش آمدن آب، به مدت ۲۰ دقیقه درون ظرف نگهداشته و سپس مفل باز گردید و ورقه آکريلي حاصله با احتیاط برداشته شد. برای برش ورقه آکريلي به قطعات $10 \times 10 \times 1$ mm از دیسک فلزی و هندپیس استفاده گردید. با چند بار تکرار این مراحل، تعداد ۱۲۰ قطعه آکريلي یک شکل و یک اندازه و با ضخامت یکسان به دست آمد. برای جلوگیری از دهیدراته شدن قطعات آکريلي، آنها درون یک ظرف استریل حاوی آب مقطر استریل غوطه ور و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در حرارت ۱۲۱ درجه و فشار یک اتمسفر اتوکلاو و تا زمان استفاده، در یخچال نگهداری شدند.

ب: تهیه عصاره آبی حنا: میزان یک گرم برگهای خشک حنای کشت شده و فراوری شده در شهر یزد (*Lawsonia inermis*) را در شرایط استریل در آسیاب برقی کاملاً خرد کرده و در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر استریل حل نموده و به مدت ۲۴ ساعت در حرارت محیط بر روی شیکر (۱۰۰ rpm) مخلوط شدند. سپس مخلوط حاصله را به کمک قیف بوختر با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ (که وزن آن محاسبه شده) صاف گردید. پس از خشک شدن کاغذ صافی و ذرات باقیمانده بر روی صافی وزن خشک آنها را محاسبه و با محاسبه اختلاف وزن اولیه و ثانویه میزان حنای حل شده در آب مقطر محاسبه گردید که محلول ۵ mg/CC عصاره آبی حنا بدست آمد. عصاره صاف شده را با عبور از صافی ۰/۲۴ میکرون میلیپور (Millipore, Germany) استریل نموده و در یخچال تا موقع آزمایش نگهداری شدند.



چسبیده قبل از ضد عفونی برآورد شدند (CFU/ml).

تعداد ۸۸ قطعه رزین آلوده شده باقیمانده را به طور تصادفی به ۴ گروه: شامل دو گروه ۳۲ تایی (به عنوان گروههای تست) و دو گروه ۱۲ تایی (کنترل مثبت و منفی) تقسیم کرده و به مدت ۸ ساعت در محلولهای تقسیم شده قرار داده شدند (۲۰). گروه اول هر قطعه جداگانه در داخل لوله های آزمایش استریل حاوی ۲ میلی لیتر عصاره آبی حنا، گروه دوم هر قطعه جداگانه داخل لوله های آزمایش استریل حاوی ۲ میلی لیتر سدیم هیپوکلریت ۰.۲٪، گروه سوم داخل لوله های آزمایش استریل حاوی ۲ میلی لیتر محلول ۱۰۰۰۰۰ واحدی نیستاتین (کنترل مثبت) و گروه چهارم داخل لوله های آزمایش استریل حاوی ۲ میلی لیتر آب مقطر استریل (کنترل منفی) قرار داده شدند. تمامی لوله ها را به مدت ۲ ساعت بر روی شیکر روتاتور (۱۰۰ rpm) در حرارت ۳۷ درجه شیکر نموده و در پایان سه بار مجدداً با ۱ میلی لیتر آب مقطر استریل شستشو داده شدند. در نهایت با افزودن یک میلی لیتر آب مقطر استریل بر روی هر قطعه و سونیکاسیون، میزان ۱۰۰ میکرولیتر از محلول شستشو سونیکیت شده هر قطعه را جداگانه بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار (Merck, Germany) به صورت چمنی کشت و به مدت ۴۸ ساعت در

حرارت ۳۰ درجه قرار دادیم تا مانند قبل، هر سلول زنده تشکیل یک کلنی دهد. در پایان با شمارش تعداد کلنیهای کاندیدای جدا شده از هر قطعه رزین آکریل، میانگین تعداد سلولهای کاندیدا چسبیده شده بعد از ضد عفونی نیز برآورد گردید (CFU/ml). داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS 17 و آزمون های آماری Kruskal-Wallis و Mann-Whitney با در نظر گرفتن سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها

با عصاره گیری از حنا محلول ۵ mg/ CC عصاره آبی حنا به دست آمد که برای بررسی میزان ضد عفونی کنندگی قطعات آکریل رزین مورد استفاده در ساخت دست دندان به کار رفت. میانه و میانگین و انحراف معیار تعداد سلولهای زنده متصل به قطعات رزین آکریل (که پس از جدا سازی با سونیکاسیون و کشت بر روی محیط کشت هر سلول به صورت یک کلنی مجزا رشد نموده) قبل و بعد از ضد عفونی با مواد مورد بررسی در گروههای مورد مقایسه در جدول ۱ نشان داده شده است و با توجه به آزمون Kruskal-Wallis و کای اسکوار اختلاف بین میانه های تعداد کلنی در گروههای مختلف معنی دار می باشد (p = ۰/۰۰۰۱).

جدول ۱: میانگین، میانه و انحراف معیار تعداد کلنی های کاندیدا آلیکانس جدا شده از ۲۰ قطعه آکریل قبل و بعد از ضد عفونی با مواد مورد بررسی

گروه ها	میانگین	میانه	انحراف معیار
قبل از ضد عفونی	۶۱۰/۳۵	۶۲۰	۱۲/۲۲
عصاره حنا	۱۲۱	۱۲۲/۵	۴۸/۳
هیپوکلریت سدیم	۰	۰	۰
نیستاتین	۲/۰۵	۱/۰۷	۲
آب مقطر	۴۶۷	۴۶۰	۸۸/۳



جدول ۲: میزان کاهش میانگین تعداد کلنی های کاندیدا آلیکانس جدا شده از قطعات آکريل بعد از ضد عفونی با مواد مورد مطالعه

موارد مورد مطالعه	درصد میزان کاهش
عصاره حنا	۸۰/۵٪
هیپوکلریت سدیم	۱۰۰٪
نیستاتین	۹۹/۷
آب مقطر	۲۴/۷٪

به منظور مقایسه ی دو به دوی گروهها و اینکه کدامیک از گروهها با یکدیگر اختلاف دارند از آزمون Mann-Whitney استفاده شد و این آزمون نشان داد که با مقایسه دو به دو مواد با یکدیگر تفاوت معنی دار آماری بین میانگین تعداد کلنی جدا شده از پلاکهای ضد عفونی شده با مواد مورد بررسی وجود دارد ($p=0/001$). نتایج در جدول ۳ به صورت مقایسه ای آورده شده است.

هیپوکلریت سدیم دارای بیشترین میزان اثربخشی در ضد عفونی بیوفیلیم کاندیدا آلیکانس بود بطوریکه هیچگونه آلودگی کاندیدیایی بر روی پلاکهای آکريل ضد عفونی شده با این ماده مشاهده نشد. آب مقطر استریل تنها با کاهش ۳۰٪ از کل سلولهای کاندیدا متصل به قطعات آکريل کمترین میزان پاک کنندگی را داشت. با مقایسه میانگین تعداد کلنی کاندیدای جدا شده از قطعات آکريل قبل و بعد از ضد عفونی با مواد مورد بررسی، این تفاوت برای پلاکهای رزین آکريل ضد عفونی شده با عصاره آبی حنا، سدیم هیپوکلرید، و نیستاتین معنی دار بود ($p=0/0001$). هیپوکلریت سدیم، نیستاتین و حنا به ترتیب بیشترین میزان کاهش در میانگین تعداد کلنیهای کاندیدا جدا شده از قطعات آکريل را نشان دادند. بطوریکه محلول عصاره ۱۰۰ CC/ ۵۰۰mg عصاره حنا توان کاهش بیش از ۸۰٪ قارچ کاندیدا پس از ضد عفونی را داشت (جدول ۲).

جدول ۳: مقایسه دو به دو میانگین تعداد کلنی های کاندیدا آلیکانس جدا شده از پلاکهای آکريل ضد عفونی با مورد بررسی (Mann-Whitney test)

PV	میانگین	مواد ضد عفونی کننده
۰/۰۱	۱۲۱-۴۶۷	آب مقطر - حنا
۰/۰۰۰۱	۰-۴۶۷	آب مقطر - هیپوکلرید سدیم
۰/۰۰۱	۱۲۱-۲/۰۵	نیستاتین - حنا
۰/۰۰۱	۰-۲/۰۵	نیستاتین - هیپوکلرید سدیم
۰/۰۰۰۱	۰-۱۲۱	حنا - هیپوکلرید سدیم



بحث و نتیجه گیری

ضایعات استوماتیت ناشی از دندان های مصنوعی از عوارض رایج در استفاده کنندگان از دست دندان مصنوعی است که ناشی از چسبیدن کاندیدا به سطوح فیزیکی و متخلخل آکریلی دندان مصنوعی می باشد. اولین مرحله اساسی در شروع و پیشرفت این بیماری اتصال و کلونیزاسیون کاندیدا بر روی سطوح دنچر (دست دندان) در افراد دارای آن می باشد (۲۳). چسبندگی و کلونیزاسیون کاندیدا بر روی سطوح مخاطی دنچر، تحریک و تولید آنزیمهای قارچ منجر به بروز علائم بالینی ضایعات می شود (۲۴،۲۵).

مطالعات متعدد نشان دهنده ضرورت ضد عفونی و پاک کردن پلاک میکروبی از جمله بیوفیلم کاندیدایی بر روی سطوح دنچر با روشهای مکانیکی، شیمیایی و یا هر دو باهم در جلوگیری از استوماتیت ناشی از دنچر در افراد بی دندان می باشد (۳۱-۲۵، ۳). تا کنون مواد شیمیایی متعددی بدین منظور استفاده شده اند که هر کدام مزایا و معایب خود را دارند و متاسفانه هنوز ماده ضد عفونی کننده ای که کاملاً ایده آل باشد، معرفی نشده است. بعنوان نمونه مصرف سدیم هیپوکلریت علی رغم نقش مفید آن در ضد عفونی کامل بیوفیلم میکروبی بر روی دنچر، باعث تغییر رنگ و تخریب ساختار دنچر شده و بوی نامطبوع آن موجب عدم رغبت در استفاده از آن برای ضد عفونی دنچر می شود (۱۹، ۱۸) سایر مواد شیمیایی رایج مورد استفاده برای ضد عفونی دنچر می تواند باعث تغییر رنگ دنچر، تحریک بافتهای مخاط دهان و احساس طعم ناخوشایند در دهان شوند (۳۱-۲۸).

روشهای مختلفی برای ارزیابی قدرت ضد عفونی کنندگی و پاک کنندگی پلاک میکروبی محلولها بر روی دنچر وجود دارد. تشکیل پلاک کاندیدایی تجربی بر روی قطعات رزین آکریل و ارزیابی کمی سلولهای کاندیدای زنده باقیمانده بر روی پلاکها پس از ضد عفونی، دقیقتر از روشهای دیگر مانند رنگ آمیزی و وزن کردن می باشد (۳۲).

بشر از قرنهای گذشته با داروهای گیاهی (۳۳، ۳۴) از جمله حنا (۳۵) آشنا بوده و اثرات درمانی بسیاری از داروهای گیاهی بر روی یک سری از بیماریها توسط بسیاری از محققان و متخصصین طب قدیمی گزارش شده است. از جمله مطالعات متعددی در رابطه با خواص ضد قارچی عصاره حنا بر علیه قارچهای کپکی و مخمری شده است. در این تحقیق از عصاره آبی حنا استفاده شد زیرا در مطالعاتی که بر روی عصاره های آبی، هیدرو الکلی و کلروفرمی حنا بر علیه قارچها و باکتریهای مختلف شده نشان داده شده که عصاره آبی تام حنا مشابه عصاره ای که در این مطالعه استفاده شده دارای بیشترین تاثیر ضد قارچی و ضد باکتریال بوده است (۳۷، ۳۶). در مطالعه ای که Saddabi و همکاران با هدف بررسی اثرات ضد قارچی سه نوع عصاره تام الکلی، آبی و کلروفرمی برگهای گیاه حنا بر روی قارچ کاندیدا آلیکنس، تعدادی از قارچهای درماتوفیت و چند گونه باکتری با روش ایجاد هاله عدم رشد بر روی محیط کشت انجام شد، عصاره تام آبی حنا دارای بیشترین اثر را بر روی قارچها و باکتریهای مورد مطالعه داشت که با نتایج مطالعه حاضر مشابه است (۳۶). به همین دلیل در مطالعه



به علت بوی نامطبوع آن و خاصیت رنگ بری آن توصیه نمی شود (۳۹، ۳۸).

نتایج حاضر نیز در گروه های مختلف مواد ضد عفونی کننده نشان از کاهش بیش از ۸۰٪ قارچ کاندیدای چسبیده به قطعات آکریل بعد از ضد عفونی با عصاره حنا داشت. با توجه به اینکه حنا گیاهی ارزان و در دسترس است و هنوز عارضه ای از استفاده آن گزارش نشده لذا به طور ویژه به نقش عصاره این گیاه دارویی در پاکسازی کاندیدای کلونیزه شده بر روی دنچر باید توجه نمود. پیشنهاد می شود با انجام مطالعات بیشتری در آینده می توان در صورت موثر بودن این عصاره گیاهی در ضد عفونی دنچر و نداشتن عوارض مخاطی در استفاده کنندگان، آن را برای کنترل پلاک کاندیدایی دنچرو جلوگیری از استوماتیت کاندیدایی در افراد دارای دنچر پیشنهاد نمود.

تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه و دانشکده دندان پزشکی بخاطر کمک به تصویب و حمایت مالی از این پایان نامه، از سرکار خانم غفورزاده کارشناس آزمایشگاه قارچ شناسی دانشکده پیراپزشکی که در انجام آزمایشات این پایان نامه با ما همکاری داشته اند و همچنین از آقای مهدی دهقان و وحید هرندی که در ویرایش این مقاله کمک نمودند کمال تشکر و قدردانی بعمل می آورند.

References

- 1- Arendorf TM, Walker DM. Denture stomatitis: a review. J Oral Rehabil 1987; 14(3):217-27.
- 2- Webb BC. Candida-associated denture stomatitis. Aetiology and management: a review. Part 3. Treatment of oral candidosis. Aust Dent J 1998; 43 (4): 244-9.

حاضر هم از عصاره آبی سرشاخه و برگهای گیاه حنا استفاده شد. در این مطالعه هم مانند مطالعه Saddabi و همکاران اثر ضد قارچی عصاره حنا بر علیه کاندیدا آلیکنس بر روی قطعات رزین آکریل را نشان داد.

همچنین Sritrairat و همکاران در مطالعه ای جهت مقایسه ی اثر ضد قارچی عصاره الکی حنا و کلرهگزیدین مشاهده کردند که مشابه نتایج مطالعه حاضر Lawsonia methyl ether دارای اثر ضد قارچ علیه کاندیدای دهانی می باشد. آنها همچنین گزارش کردند که مانند مطالعه حاضر این عصاره می تواند یک دهانشویه ی مناسب در پیشگیری افراد ایدزی مبتلا به کاندیدیازیس و همچنین در افراد استفاده کننده از دنچر یا دیگر بیمارانی که دچار اختلال سیستم ایمنی بوده و در معرض کاندیدا قرار دارند، باشد. هر چند Sritrairat و همکاران از عصاره حنا به عنوان دهان شویه در افراد دارای دست دندان استفاده کرده و با کلرهگزیدین مقایسه نمودند (۳۷) در این مطالعه هم از عصاره حنا به عنوان محلول ضد عفونی کننده رزین آکریل که در ساخت دنچر بکار می رود استفاده و با هیپوکلرید سدیم مقایسه شد که نتایج مشابهی بدست آمد. هیپوکلرید سدیم از محلولهای ضد عفونی کننده مناسب و رایج مورد استفاده دندان پزشکی است که بخصوص در ضد عفونی وسایل مورد استفاده در دندان پزشکی کاربرد فراوانی دارد ولی برای ضد عفونی دست دندان مصنوعی



- 3- Salerno C, Pascale M, Contaldo M, Esposito V, et al. Candida-associated denture stomatitis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2011;16 (2):139-43.
- 4-Jafari AA, Falah-Tafti A, Lotfi-Kamran MH, Zahraei A, Kazemi A. Vinegar as a Removing Agent of *Candida albicans* From Acrylic Resin Plates. *Jundishapur J Microbiol* 2012; 5(2):388-92
- 5- Pires FR, Santose EDB, Bonan PRF, Almeida OPD, Lopes MA. Denture stomatitis and salivary *Candida* in Brazilian edentulous patients. *J Oral Rehabil* 2002. 29(11):1115-19.
- 6- Blair Y, Bagg J, MacFarlane TW, Chestnutt I. Microbiological assessment of denture hygiene among patients in longstay and daycare community places. *Community Dent Oral Epidemiol* 1995;23(2):100-3.
- 7- Ramage G, Tomsett K, Wickes BL, Lopez-Ribot JL, Redding SW. Denture stomatitis: a role for *Candida* biofilms. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* 2004; 98(1):53-59.
- 8- Hibino K, Samaranayake LP, Hagg U, et al. The role of salivary factors in persistent oral carriage of *Candida* in humans. *Arch Oral Biol* 2009;54(7):678-83
- 9- Douglas LJ. *Candida* biofilms and their role in infection. *Trends in microbiology* 2003;(1)11.: 30-6.
- 10- Nikawa, H, Hamad T, Yamashiro H, Kumagai H. A review of in vitro and in vivo methods to evaluate the efficacy of denture cleansers. *Int J Prosthodont* 1999; 12(2):153-9
- 11- Jagger D , Harrison A. Denture cleansing--the best approach. *British Dental Journal*1995; 178(11):413-17.
- 12-Haselden CA, Hobkirk JA, Pearson GJ, Davies EH. A comparison between the wear resistance of three types of denture resin to three different dentifrices. *J Oral Rehabil* 1998; 25:335-9.
- 13-Mendonca, MJ. Weight loss and surface roughness of hard chairside reline resins after toothbrushing: influence of postpolymerization treatments. *Int J Prosthodont* 2006; 19(3):281-7
- 14- Shay K. Denture hygiene: a review and update. *The journal of contemporary dental practice* 2000; 1(2): 28-41
- 15-Arita M. Microbicidal efficacy of Ozonated water against *Candida albicans* adhering to acrylic denture plates. *Oral Microbiol Immunol* 2005;20(4):206-10.
- 16- Austin DF. *Handbook of Medicinal Herbs. Economic Botany* 2003; 5(2):290.
- 17- Jeyathilakan N, Murali K, Anandaraj A, Abdul Basith S. In vitro evaluation of anthelmintic property of ethno-veterinary plant extracts against the liver fluke *Fasciola gigantica*. *J Parasit Dis* 2012;36(1):26-30.



- 18- Kuruvilla JR , Kamath MP. Antimicrobial activity of 2.5% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants. *Journal of Endodontics* 1998; 24(7):472-76.
- 19- Estrela C. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. *Brazilian dental journal* 2003;14(1):58-62.
- 20- He X. In vitro adhesion of *Candida* species to denture base materials. *Mycoses* 2006;49(2): 80-4.
- 21- Pavarina AC, Pizzolitto AC, Machado AI, Vergani CE, Giampaolo ET. An infection control protocol: Effectiveness of immersion solutions to reduce the microbial growth on dental prostheses. *J Oral Rehabil* 2003;30:532-36.
- 22-National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: fifteenth informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute 2005; 27(1):15-18
- 23-Fukazawa Y, Kagaya K. Molecular bases of adhesion of *Candida albicans*. *Medical Mycology* 1997; 35(2):87-99.
- 24-Samaranayake L, MacFarlane T. An in-vitro study of the adherence of *Candida albicans* to acrylic surfaces. *Archives of Oral Biology* 1980; 25(8):603-9.
- 25- Sherman RG, Prusinski L, Ravenel MC, Joralmon RA. Oral candidosis. *Quintessence Int* 2002;33 (7):521-32.
- 26- Budtz-Jorgensen E, Mojon P, Rentsch A, Deslauriers N. Effects of an oral health program on the occurrence of oral candidosis in a long-term care facility. *Community Dent Oral Epidemiol* 2000; 28 (2):141-9.
- 27-Consani RL, Azevedo DD, Mesquita MF, Mendes WB, Saquy PC. Effect of repeated disinfections by microwave energy on the physical and mechanical properties of denture base acrylic resins. *Braz Dent J* 2009;20 (2):132-7.
- 28-Cunegatti Zottis A, Caldas Cosme D, Brasiliense Elsemann R, Mitsuo Silva Oshima H, Arai Shinkai RS. Changes in hardness and surface topography of tissue conditioner submitted to chemical disinfection. *Minerva Stomatol* 2008;57 (11-12):577-85.
- 29-Paranhos Hde F, Davi LR, Peracini A, Soares RB, Lovato CH, Souza RF. Comparison of physical and mechanical properties of microwave- polymerized acrylic resin after disinfection in sodium hypochlorite solutions. *Braz Dent J* 2009;20 (4):331-5.



- 30-Pinto Lde R, Acosta EJ, Tavora FF, Da Silva PM, Porto VC. Effect of repeated cycles of chemical disinfection on the roughness and hardness of hard relin acrylic resins. *Gerodontology* 2010; 27(2):147-53
- 31-Jnanadev KR, Satish Babu CL, Shilpa Shetty S, Surendra Kumar GP, Disinfecting the acrylic resin plate using electrolyzed acid water and 2% glutaraldehyde: a comparative microbiological study. *The Journal of Indian Prosthodontic Society* 2011. 11:(1): 36-44.
- 32-Skupien JA, Valentini F, Boscato N, Pereira-Cenci T. Prevention and treatment of Candida colonization on denture liners: A systematic review. *J Prosthet Dent* 2013; 30 (13): 3913
- 33-Bonjar S. Evaluation of antibacterial properties of some medicinal plants used. *Iran. J. Ethnopharmacol* 2004;94(2-3):301-5.
- 34-Duarte MC, Figueira GM, Sartoratto A, Rehder VL, Delarmelina C. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 2005;97(2):305-11.
- 35-Chaudhary G, Goyal S, Poonia P. *Lawsonia inermis* linnaeus: A phytopharmacological review. *International journal of pharmaceutical sciences and drug research* 2010; 2(2): 91-8
- 36-Saadabi MA. Evaluation of *Lawsonia inermis* Linn.(Sudanese Henna) Leaf Extracts as an Antimicrobial Agent. *Research Journal of Biological Sciences* 2007; 2(4): 419-23.
- 37- Sritrairat N, Nukul N, Inthasame P, Sansuk A, Prasirt J, Leewatthanakorn T, et al. Antifungal activity of lawsone methyl ether in comparison with chlorhexidine. *Journal of oral pathology & medicine* 2011; 40(1): 90-96.
- 38-Falah-Tafti A, jafari AA, Lotfi-Kamran MH. Comparison of the Effectiveness of Sodium Hypochlorite and Dentamize Tablet for Denture Disinfection. *World J Med Sci* 2008;3 (1):10-14.
- 39-Paranhos F, Davi LR, Peracini A, Soares RB, Lovato CH, Souza RF. Comparison of physical and mechanical properties of microwave-polymerized acrylic resin after disinfection in sodium hypochlorite solutions. *Braz Dent J* 2009; 20 (4):331-5.



Comparison the Effectiveness of Lawsonia Inermis Extract, Sodium Hypochlorite and Nystatin in controlling of Candida Biofilm on Contaminated Resin Acryl plates

Jafari AA(Ph.D)¹, Fallah-tafti A(DDS,MS)², Zratkar-davani S(DDS)³, Jafari H(Pharm.D)⁴

1. Associate Professor, Department of Parasitology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
2. Assistant Professor, Department of Prosthodontics, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
3. Dentistry student, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
4. Pharmacy students, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Abstract

Introduction: Denture stomatitis is known as common complications in denture users, caused by adherence and colonization of *Candida albicans* on denture surfaces. Decontamination of dental prostheses using common chemical disinfectants brings about allergic disorders. The aim of this study was to compare the effectiveness of *Lawsonia inermis* extracts and Sodium hypochlorite for disinfection of resin acryl plaques, which experimentally contaminated with *C. albican*.

Methods: In present experimental study 100 square shape, 10×10×1 mm acrylic resin plates were inoculated in *C. albicans* suspension. The average number of *Candida* cells which adhered to 12 randomly selected acryl resin plates was firstly determined and 88 remaining plates were divided in 4 groups that were immersed for 8 hours in 500mg/100cc lawsonia inermis extracts 2% Sodium Hypochlorite as test groups, and 100000 IU Nystatin and distilled water as positive and negative control groups respectively. The *Candida* removing ability of 2 disinfectants and the control groups was assessed by comparing the number of colony forming units per 1 ml of the plates washing solution cultivated on Sabouraud dextrose agar plates before and after the removing protocol. Data was analyzed using Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests.

Results: There was seen a statistically significant differences in average viable *C. albicans* cells isolated from acryl resin plates before and after disinfection with lawsonia inermis extract, Sodium hypochlorite and Nystatin ($P=0.0001$). Sodium hypochlorite reduced 100% of attached *Candida* on the rein acryl plates; *Lawsonia inermis* extract more than 80% and only less than 25% by distilled water.

Conclusions: According to present results, it seems that lawsonia inermis extracts, which is inexpensive and without any side effects, it can be suggested for controlling of *Candida* biofilm and prevention of denture stomatitis.

Keywords: Denture stomatitis, *Candida albicans*, Acryl Resin, lawsonia inermis, Sodium hypochlorite