

بررسی خاصیت ضدقارچی لیزر کم توان در حضور دو نوع رنگ (تلوتئیدن بلو و متیلن بلو) بر چهار سوژ کاندیدا

دکتر محمدمهدی فانی^۱ دکتر عبدالمهدی عراقی زاده^۲

^۱ دانشیار گروه بیماریهای دهان، مرکز تحقیقات طب سنتی و تاریخ طب، دانشگاه علوم پزشکی شیراز^۲ استادیار گروه پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان

مجله پزشکی هرمزگان سال شانزدهم شماره دوم خرداد و تیر ۹۱ صفحات ۱۰۰-۹۵

چکیده

مقدمه: کاندیدازیس در بیماران مبتلا به ضعف سیستم ایمنی یکی از عمده ترین عفونت‌های دهانی می‌باشد. درمان متداول این بیماری استفاده از داروهای آنتی فانگال است. هدف از انجام این مطالعه، استفاده از تکنیک فتودینامیک تراپی با استفاده از لیزر کم توان با طول موج (685 nm) در حضور دو نوع رنگ متیلن بلو و تلوتئیدن بلو بر روی چهار گونه کاندیدیایی آلیکانس، گلابراتا، تروپیکالیس و کروزبی می‌باشد.

روش کار: در این مطالعه تجربی، ۶۰ نمونه از سوسپانسیون سلولی (از هر سوژ کاندیدیایی ۶ گروه ۱۰ عددی) در حضور رنگ تلوتئیدن بلو یا متیلن بلو به تنهایی یا همراه با پرتو لیزر با میزان رقت 10^{-2} و 10^{-3} در محیط کشت سابور و دکستروز آگار کشت داده شدند. پس از اینکوبه شدن در دمای $37^{\circ}C$ به مدت ۴۸ ساعت، تعداد واحدهای کلونی CFU/ml شمارش گردیده و یافته‌ها بوسیله آزمون آنالیز واریانس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و $P < 0.05$ معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج: نمونه‌هایی که با حضور رنگ پرتوتالی شده‌اند، کمترین میزان CFU/ml را داشته‌اند که رنگ تلوتئیدن بلو در ۸۷٪ درصد موارد و رنگ متیلن بلو ۸۳٪ درصد موارد در سوژ کاندیدا آلیکانس باعث جلوگیری از رشد کلونیا شده است. کمترین خاصیت آنتی فانگال نیز در گروهی که فاقد پرتو تالی با لیزر و عدم حضور رنگ دیده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان دهنده تأثیر مثبت لیزر کم توان در حضور رنگ بر جلوگیری از رشد کاندیدا می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: کم توان - کاندیدا - متیلن بلو - تلوتئیدن بلو

نویسنده مسئول:

دکتر محمدمهدی فانی

بخش بیماریهای دهان و دندان

دانشگاه دندانپزشکی دانشگاه علوم

پزشکی شیراز

شیراز - ایران

تلفن: ۸۵۸۳ ۱۱۱ ۹۸۸۰۸۳+

پست الکترونیکی:

fanim@fums.ac.ir

دریافت مقاله: ۸۹/۷/۱۱ اصلاح نهایی: ۹۰/۹/۷ پذیرش مقاله: ۹۰/۱۰/۵

مقدمه:

ایمنی به طور زیادی دیده می‌شود. درصد شیوع کاندیدا آلیکانس در دهان نوزادان تا ۴۵٪، کودکان سالم ۶۵-۴۵ درصد، بالغین سالم ۴۵-۳۰ درصد، افرادی که از دست دندان مصنوعی استفاده می‌کنند ۶۵-۵۰ درصد، در بیماران مبتلا به لوسمی حاد ۹۰٪ و در بیماران مبتلا به HIV تا ۹۵٪ دیده می‌شود (۴).

در دهه‌های اخیر با افزایش ابتلا بیماران مبتلا به نقص سیستم ایمنی توجه به این میکروارگانیسم بیشتر شده است.

روش درمانی متداول جهت درمان ضایعات دهانی کاندیدازیس استفاده از داروهای موضعی مثل نیستاتین و آمفوتریسین B می‌باشد. اگرچه در بیماران مبتلا به ضعف

کاندیدای دهانی یکی از عفونت‌های شایع محیط دهان بوده و شایع‌ترین فرم آن با ۶۰ تا ۷۰ درصد فراوانی، C.albicans است. پس از آن سوژهای C.tropicalis و C.glabrata می‌باشند (۱). این میکروارگانیسم در واقع به فرم بی‌آزار در دهان تمامی افراد یافت می‌شود اما در شرایط خاصی ممکن است که به حالت پرازیت تغییر حالت دهد که در این مواقع باعث ایجاد کاندیدازیس دهانی خواهد شد (۲،۳).

این حالت خصوصاً در افراد سالمندی که از دست دندان استفاده می‌کنند و یا بیماران مبتلا به دیابت و یا نقص سیستم

مجاورت دو نوع رنگ متیلن بلو و تولوئیدن بلو و مقایسه اثر آنان با یکدیگر می‌باشد.

روش کار:

الف: کاندیدا

ابتدا سوسپانسیون استاندارد (10^6 میلی لیتر در سلول) از کاندیدا آلیکانس (AT cc 18804) و کاندیدا گلابراتا (AT cc 3108) و کاندیدا تروپیکالیس (AT cc 13803) و کاندیدا کروز (AT cc 6258) تهیه گردید. از میکروبهای فوق‌الذکر با استفاده از محیط کشت سابور و دکستروز آگار (آلمان، Merk) که در دمای 37°C به مدت ۴۸ ساعت اینکوبه شده بودند، کشت میکروبی تهیه گردید. سپس به این محیط ۵ میلی لیتر از مایع فیزیولوژیک استریل اضافه گردید و ماده حاصل به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. از سوسپانسیون استاندارد متعلق به هر سوژ میکروبی تعداد ۶۰ نمونه به دست آمد.

۱۰ نمونه بدون حضور رنگ با نور لیزر پرتوتابی شدند. L (M-T-) +، ۱۰ نمونه بدون حضور لیزر فقط در حضور رنگ متیلن بلو قرار گرفتند (L - M +). ۱۰ نمونه بدون حضور لیزر فقط در حضور رنگ تولوئیدن بلو (L - T +) ۱۰ نمونه در حضور رنگ تولوئیدن بلو، با لیزر کم توان پرتوتابی شدند (L + T +). ۱۰ نمونه بدون حضور لیزر و یا رنگ متیلن بلو یا تولوئیدن بلو قرار داشتند (M & T) - L و ۱۰ نمونه در حضور رنگ متیلن بلو با لیزر کم توان پرتو تابی شدند. (L + M +)

ب: لیزر و رنگ

۲ نوع رنگ بعنوان حساس کننده نوری (photosensitizer) در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت که عبارتند از متیلن بلو و تولوئیدن بلو هر یک به میزان 0.1 mg/ml دستگاه لیزر کم توان نیز از نوع لیزر دیودی Ga Al قدرت خروجی 0.035 w و طول موج 685 nm بوده است. منطقه مورد تابش در هر پالس 0.28 cm^2 و زمان تابش نیز ۵ دقیقه بوده است که باعث خروج پرتوی لیزری با دوز انرژی 28 j/cm^2 شده است.

از هر سوژ کاندیدایی مقدار 0.1 میلی لیتر به همراه 0.1 میلی لیتر از رنگ یا مایع فیزیولوژیک (در گروه های-M یا

سیستم ایمنی معمولاً این داروها مؤثر نبوده و تجویز کتوکنازول، فلوکنازول یا ایتراکونازول ضروری می‌شود (۵).

به طور قطع، استفاده از آنتی فانگالهای موضعی و سیستمیک باعث افزایش مقاومت نسبت به دارو خصوصاً در بیمارانی که زمان طولانی از آنان استفاده می‌کنند، خواهد شد. به طوری که تقریباً ۸۰٪ بیماران مبتلا به ایدز به آنتی فانگالهای معمولی مقاوم شده‌اند (۶). به همین دلیل درمانهای جایگزین همواره مورد نظر محققین بوده است که یکی از این روشهای جدید استفاده از فتودینامیک‌تراپی است.

فتودینامیک‌تراپی تکنیکی است که بر اساس آن با تابش اشعه لیزر در حضور رنگ (Dye) باعث افزایش اکسیداسیون در سلولهای هدف شده و در نتیجه با تخریب دیواره سلولی و غیرفعال شدن پروتئین سلولی باعث نابودی کاندیدا خواهد شد (۷). فتودینامیک‌تراپی در درمان نئوپلازمهای بدخیم خصوصاً ناحیه سروگردن کاربرد وسیعی یافته است. هم اکنون از این روش در درمان بیماری روماتید آرتریت و عفونتهای قارچی و باکتریال نیز استفاده می‌شود (۸،۹).

Suki گزارش نموده که باکتریهای دهانی در حضور لیزر کم توان و رنگ تولوئیدن بلو غیرفعال می‌شوند (۱۰). میزان تخریب میکروارگانیزمهای موجود در حفره دهان به فاکتورهای از قبیل طول موج لیزر، قدرت و میزان نفوذ اشعه نیز بستگی دارد. به نظر می‌رسد که علت تخریب این میکروبها تغییر غلظت سلولی میتوکندریال، تداخل در سیستم تنفس سلولی، جلوگیری از ساخت و یا تداخل در عمل سنتز ATP و یا ایجاد اکسیژن آزاد باشد (۱۱). Chan در مطالعه‌های خود مشخص نمود که باکتریهای *Actinobacillus actinomyceten comitans* و *Fusibacterium Prophyromonas gingivals nucleatom* پس از پرتوتابی با لیزر هلیم - نئون (632 nm) در حضور یا غیاب رنگ متیلن بلو تا ۶۰٪ نابود شده‌اند (۱۲).

در پژوهش مشابهی همین ۳ میکروارگانیزم با چندین رنگ مختلف پرتوتابی شده‌اند و مشخص گردیده که فقط دو رنگ متیلن بلو و تولوئیدن بلو خاصیت کشندگی میکروبی را پس از پرتودرمانی نشان داده‌اند (۱۳).

هدف از انجام این تحقیق، یافتن یک روش درمانی جایگزین جهت درمان کاندیدیازیس دهانی با استفاده از لیزر کم توان در

نتایج:

گروهی که هم لیزر تراپی شده و هم در مجاورت رنگ قرار داشته‌اند (L+T+) و (L+M+) کمترین تعداد CFU/ml رشد کلونی میکروبی را داشته‌اند که در مقایسه این دو گروه نیز ماده رنگی تلوئیدین بلو (L+T+) خاصیت جلوگیری از رشد بیشتری نسبت به متیلن بلو در گروه (L+M+) داشته است (جدول شماره ۱).

در گروه سوم که تنها از پرتوتابی لیزر بدون حضور رنگ استفاده شده بود (L+M-T-) نیز تعداد کلونی رشد کرده CFU/ml در مقایسه با گروههای فقدان پرتوتابی و تنها مجاورت با رنگ تلوئیدین بلو (L-T+) یا متیلن بلو (L-M+) کمتر بوده است. همانگونه که در گروه (L-M-T-) نیز مشاهده می‌شود، تعداد رشد کلونیهای کاندیدیایی همه سوژها CFU/ml با مقایسه دیگر گروهها بیشتر می‌باشد.

(T-) در پلیت های استریل قرار داده شد. سپس پلیتهای مذکور در صورتی که در گروههای L+ قرار داشتند به مدت ۵ دقیقه با لیزر کم توان 28 j/cm^2 تحت پرتوتابی قرار گرفتند. پس از پرتوتابی، رقت سریالی با غلظت 10^{-2} و 10^{-3} از هر نمونه تهیه گردید و مقدار ۰/۱ از میلی‌لیتر از آنها به محیط کشت سابوردکستروز آگار (Merk - آلمان) منتقل شد. پس از اینکوبه شدن در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۴۸ ساعت، تعداد کلونیهای فرم گرفته در هر میلی‌لیتر (CFU/ml) شمارش گردید.

یافته‌های به دست آمده بوسیله ANOVA و Tukeys test آنالیز گردید ($P < 0/05$) و درصد کاهش CFU/ml برای هر سوژ محاسبه گردید.

جدول شماره ۱- میانگین تعداد واحد کلونی (CFU/ml) سوژهای کاندیدیایی در گروههای مختلف

L-(T & M)-	L-M+	L-T+	L+(T & M)-	L+T+	L+M+	سوژ کاندیدیایی
۰/۶۹±۰/۰۸	۰/۶۰±۰/۱۵	۰/۵۹±۰/۱۰	۰/۵۶±۰/۰۹	۴/۳۰±۰/۰۸	۴/۳۹±۰/۲۹	کاندیدا آلبیکانس
۰/۶۴±۰/۴۵	۰/۴۹±۰/۱۷	۰/۴۳±۰/۱۱	۰/۴۱±۰/۱۲	۴/۴۹±۰/۱۱	۴/۴۵±۰/۸۵	کاندیدا گلابراتا
۰/۶۱±۰/۰۶	۰/۵۷±۰/۲۳	۰/۵۵±۰/۱۸	۰/۵۲±۰/۱۱	۴/۲۳±۰/۵۶	۴۳۴±۰/۶۵	کاندیدا کروززی
۰/۶۹±۰/۰۵	۰/۴۹±۰/۱۸	۰/۵۶±۰/۰۶	۰/۲۸±۰/۱۲	۴/۳۶±۰/۰۶	۴/۴۵±۰/۵۲	کاندیدا تروپیکالیس

L+M+ = پرتو لیزر + رنگ متیلن + L+T = پرتو لیزر + رنگ تلوئیدین بلو - L+(T&M) = عدم حضور رنگ متیلن بلو یا تلوئیدین بلو
L-M+ = عدم وجود لیزر + رنگ متیلن بلو - L-T+ = عدم وجود لیزر + حضور رنگ تلوئیدین بلو - L-(T&M) = عدم حضور رنگ متیلن بلو یا تلوئیدین بلو

میزان ۸۸/۶ درصد شده است. همین میزان کشندگی در مورد متیلن بلو ۸۳/۲ درصد بوده است. در مطالعات قبلی این میزان کاهش ۴۲ درصد در کاندیدا آلبیکانس گزارش شده است. در آن مطالعه از ۰/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر متیلین بلو همراه با لیزر 660 nm با دوز انرژی 2.04 j/cm^2 استفاده شده بود (۱۳).

احتمالاً اختلاف بین این نتایج مربوط به تفاوت در پارامترهای استفاده شده در تابش لیزر می‌باشد. کاندیدا کروززی (C.krusei) بیشترین درصد کاهش CFU/ml در حضور رنگ تلوئیدین بلو را داشته است (۹۱/۶ درصد) و پس از آن کاندیدا آلبیکانس ۸۸/۶ درصد، کاندیدا گلابراتا ۸۴/۸ درصد و در انتها کاندیدا تروپیکالیس ۸۲/۳ درصد بوده است. همین سوژها در حضور رنگ متیلن بلو کاهش به میزان ۸۵/۳ درصد در مورد کاندیدا کروززی، ۸۳/۲ درصد در مورد کاندیدا آلبیکانس ۷۹/۸

بحث و نتیجه‌گیری:

در مطالعات زیادی از روش فتودینامیک تراپی به عنوان روش درمان جایگزین (آلتراتیو) برای داروهای آنتی‌فانگال متداول نام برده شده است و مطالعات (In vitro) نشان‌دهنده تأثیر ممانعتی لیزر کم توان بر روی باکتری‌ها، ویروسها، قارچها و پارازیتها می‌باشد.

فاکتورهای مهمی که کاربرد لیزر تراپی و روش فتودینامیک‌تراپی را تحت تأثیر قرار می‌دهد، عبارتند از: نوع و غلظت رنگ، وضعیت فیزیولوژیک میکروارگانیسمهای هدف پرپودزمانی تابش و میزان انرژی خروجی از دستگاه لیزر (۱۳). در این مطالعه، تأثیر آنتی‌فانگال پرتوتابی لیزر کم توان 685 nm با قدرت خروجی 28 j/cm^2 در حضور ۰/۱ میلی‌لیتر از رنگ تلوئیدین بلو باعث کاهش تعداد کلونیهای کاندیدا آلبیکانس به

بیوفیلم زیرلته‌ای همراه با تلوئیدن بلو در پرتوتابی لیزر He-Ne در مطالعه Sarkar نابود شده بوده‌اند.

در همین مطالعه عنوان شده که سوژهای کاندیدای در هنگام مجاورت رنگ و بدون لیزر هیچ گونه خاصیت کشندگی ندارد (۱۷). سیتوتوکسیک بودن متیلن بلو بر روی باکتریها بدون حضور لیزرتراپی در مطالعات دیگری نیز گزارش شده است (۱۸،۱۹). در مورد تأثیر لیزر در عدم حضور رنگ نیز در هر ۴ سوژ کاندیدایی کاهش تعداد CFU/lm دیده می‌شود.

به طور خلاصه مطالعه ما نشان می‌دهد که سوژهای مختلف کاندیدایی در مطالعات (in vitro) به پرتوتابی لیزر کم توان با حضور هر دو رنگ تلوئیدن بلو و میتلن بلو حساس بوده‌اند که این حساسیت در مورد تلوئیدن بلو مشخص‌تر است. در صورتی که موارد مشابه در مدل‌های جانوری نیز تکرار شود، ممکن است به روش درمانی جدیدی در کاندیدازیس دهانی بیماران مبتلا به ضعف سیستم ایمنی ختم شود.

سپاسگزاری:

این مطالعه با یاری معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شیراز و طی طرح تحقیقاتی شماره " ۴۳۵۲ " انجام گرفته که بدینوسیله قدردانی می‌گردد.

درصد، در مورد کاندیدا گلابراتا و ۷۸/۳ در مورد کاندیدا تروپیکالیس داشته است. Wilsonz پس از پرتوتابی با لیزر He-Ne (632 nm) و در حضور رنگ تلوئیدن بلو کاهش CFU/ml را برای کاندیدا آلیکانس ۷ درصد و برای کاندیدا تروپیکالیس ۶۵ درصد و برای کاندیدا استلاتوئید C.Stellatoides ۶۳ درصد و برای کاندیدا کفیر (C.Kefyr) ۴۰ درصد یافته است (۱۳).

Bliss و همکاران (۱۴) از ماده Photofrin به عنوان رنگ استفاده کرده‌اند و کاهش مشابهی را در کاندیدا آلیکانس و کاندیدا کروزی یافته‌اند. اگرچه کاندیدا گلابراتا به این ماده رنگی مقاومت نشان داده است.

نتایج این مطالعات بیانگر این مطلب است که سوژهای مختلف کاندیدایی پاسخ‌های متفاوتی را به فتودینامیک‌تراپی نشان داده‌اند که می‌توان در این زمینه تحقیقات بیشتری انجام شود.

در مقایسه با کاندیدا، باکتریها حساسیت بیشتری به درمان فتودینامیک را نشان می‌دهند. به طوری که فتوتراپی در مجاورت تلوئیدن بلو (25 g/ml) خاصیت کشندگی زیادی بر روی باکتریهای گرم مثبت و منفی داشته‌اند اما همین تکنیک بر Yeast خاصیت کشندگی نداشته است (۱۵).

ONeill و همکاران (۱۶) کاهش ۹۷/۴ درصدی باکتریهای موجود در بیوفیلم دندان را در پرتوتابی لیزر He-Ne (632 nm) در حضور رنگ تلوئیدن بلو گزارش کرده‌اند. حتی ۹۱/۶ درصد باکتریهای هوازی و ۹۶/۶ درصد باکتریهای غیرهوازی

References

منابع

1. Stenderup A, oral mycology. *Acta Odontol Scand.* 1990;48:3-10.
2. Samaranayake LP, MacFarlane TW. Oral candidosis. London: Wright Press; 1990;265.
3. Farah CS, Ashman RB, Challacombe SJ. Oral candidosis. *Clin Dermatol.* 2000;18:553-562.
4. Reed MF, Scragg MA, Williams DM, Soames JV. In vitro effects of candida albicans products on rat oral epithelium. *Journal of Oral Pathology and Medicine.* 1990;19:326-329.
5. Allen CM. Animal models of oral candidiasis. A review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1994;78:216-221.
6. Johnson EM, Warnak DW, Lucker J, Porter SR, Scully C. Emergence of azole drug resistance in candida species from HIV-infected patients receiving prolonged fluconazole therapy for oral candidiasis. *J Antimicrob Chemother.* 1995;35:103-114.
7. Teichert MC, Jones JW, Usacheva MN, Biel MA. Treatment of oral candidiasis with methylene Blue Mediated photodynamic therapy in an immunodeficient murine model. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 2002;93:155-160.
8. Williams JA, Pearson GJ, Coles MJ, Wilson M. The effects of variable energy input from novel lights source on the photoactivated bactericidal action of toluidines blue on streptococcus mutans. *Caries Res.* 2003;37:190-193.
9. Usacheva MN, Teichert MC, Biel MA. Comparison of the methylene blue and toluidine blue photobacteriocidal efficacy against gram – positive and gram – negative microorganisms. *Lasers Surg Med.* 2001; 29:165-173.
10. Soukos NS, Wilson M, Buins T, Sepigt PM. Photodynamic effects of toluidine blue on human oral keratinocytes and fibroblasts and streptococcus. *Sanguis evaluated in Vitro. Lasers Surg Med.* 1996;18:253-259.
11. Bortoletto R, Silva NS, Zangaro RA, Pacheco MT, Da Matta RA, Pacheco-Saques C. Mitochondrial membrane potential after low-power laser irradiation. *Lasers Med Sci.* 2004;18:204-206.
12. Chan Y, Lai CH. Bactericidal effects of different laser wavelengths on periodontopathic germ in photodynamic therapy. *Lasers Med Sci.* 2003;18:51-55.
13. Wilson M, Mia N. Sensitization of candida albicans to killing by low-power laser light. *J Oral Pathol Med.* 1993;22:354-357.
14. Bliss JM, Bigelow CE, Foster TH, Haidaris CG. Susceptibility of candida species to photodynamic effects of photo frin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48:2000-2006.
15. Wilson M, Dobson J, Sarkar S. Sensitization of periodontopathogenic bacteria to killing by light from low-power laser. *Oral Microbiol Immunol.* 1993;8:182-187.
16. O'Neill JF, Hope CK, Wilson M. Oral bacteria in multiple – species biofilms can be killed by red light in presence of toluidine blue. *Lasers Surg Med.* 2002;31:86-90.
17. Sarkar S, Wilson M. Lethal photosensitization of bacteria in subgingival plaque from patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* 1993;28:204-210.
18. Burns T, Wilson M, Pearson GJ. Killing of cariogenic bacteria by light from a gallium aluminum arsenide diode laser. *J Dent.* 1994;22:273-278.
19. Wilson M, Pratten J. Lethal photosensitization of staphylococcus aureus in vitro : effect of growth phase, serum, and pre-irradiation time. *Lasers Surg Med.* 1995;16:272-276.

Antifungal effects of low level laser on Candida species with using Methylene blue and toluidine blue dyes

M. Fani, DMD¹ A. Araghizadeh, DMD²

Associate Professor Department of Oral Medicine, Research Center for Traditional Medicine & Medical History¹, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran. Assistant Professor Department of Community Medicine², Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.

(Received 3 Oct, 2010 Accepted 26 Dec, 2011)

ABSTRACT

Introduction: Oral Candidiasis is the most common lesion in Immuno compromised patients. Using antifungal drugs are routine treatment for this condition. The aim of this study was incorporating photodynamic therapy with low level laser (685 nm), in presence of 2 dyes (methylene blue and toluidine blue), as a photosensitizer on *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* and *C. tropicalis*.

Methods: In this experimental study, 60 samples (10 sample in 6 group) from candida suspension were radiated with laser (685 nm - 28 j/cm²) in presence or absence of methylene blue or toluidine blue. 0.1 mg/ml from each sample serial dilutions of 10⁻² and 10⁻³ were obtained and aliquots of 0.1 ml of each dilution were cultured on Sabouraud dextrose agar. After incubation at 37°C for 48h, the number of colony (CFU/ml) was counted. ANOVA was used for statistical analysis.

Results: Low level laser in presence of methylene blue reduced the number of CFU/ml in 83.2% for *C. albicans* and toluidine blue as 88.6%.

Conclusion: Our invitro study findings, show that low level laser in presence of dye (toluidine blue more effective than methylene blue) can reduce the number of candida.

Key words: Low Level – Candida – Methylene Blue – Toluidine Blue

Correspondence:

M. Fani, DMD.

Department of Oral
Medicine Dental School.

Shiraz University of Medical
Sciences.

Shiraz, Iran

Tel: +98 917 111 8583

Email:

fanim@fums.ac.ir