بررسی رابطه استعمال سیگار با تعداد کلنی های قارچ کاندیدای بزاق

دکتر سیمین لسان[#1] دکتر علیرضا دارنهال[2] دکتر محمد رهبر[3] دکتر فرنازحاجی فتاحی [1]

۱- استادیار بخش تشخیص و بیمار های دهان، فک و صورت دانشگاه آزاد اسلامی واحد دندانپزشکی تهران

۲- دندانپزشک

۳- استاد میکروبیولوژی پزشکی و عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دندانپزشکی تهران

خلاصه:

سابقه و هدف: کاندیدیازیس دهانی شایعترین عفونت قارچی در انسانهاست. مصرف سیگار یکی از عوامل مستعد کننده موضعی کاندیدیاز دهانی می باشد. این تحقیق با هدف بررسی رابطه‌ی استعمال سیگار با تعداد کلونی‌های قارچ کاندیدای بزاق انجام گرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه Historical cohort، ۶۰ نفر وارد مطالعه شدند، ۳۰نفردر گروه مورد (افراد سیگاری) و ۳۰نفر در گروه شاهد (افراد غیر سیگاری)که از نظر سن و جنس مشابه سازی شده بودند. یک سی سی بزاق غیر تحریکی به روش spitting از نمونه ها گرفته شد و در محیط کشت بلاد آگار و سابوره دکستراز آگار کشت داده شده و در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد انکوبه و از کلونیهای مشکوک به کاندیدا رنگ‌آمیزی گرم تهیه شد و برای تعیین گونه‌ی کاندیدا آلبیکانس از تست germ tube استفاده شد و تعداد کلونی آنها شمرده شده و در یک سی سی بزاق محاسبه گردید. اطلاعات بدست آمده با آزمون MAN-U-WHITNEY آنالیز شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که میانگین تعداد کلونی‌های کاندیدا آلبیکانس در گروه سیگاری (۱/۳۷ ±۳/۴۵) به طور معنی‌داری نسبت به گروه غیر سیگاری (۱/۵۳ ± ۱/۲۳) بالاتر بود. (P=۰/۰۰۰۱)

نتیجه گیری: میزان فراوانی قارچ کاندیدا البیکنز در بزاق افراد سیگاری بطور معنی‌داری بالاتر افراد غیر سیگاری است که نشان دهنده ی نقش اتیولوژیک سیگار در افزایش تعداد کلونی قارچ کاندیدا در این تحقیق می باشد

واژگان کلیدی: سیگاری،کاندیدیازیس دهانی، عفونت قارچی، بزاق

وصول مقاله: ۹۴/۷/۱۴ اصلاح نهایی: ۹۴/۱۱/۲ پذیرش مقاله: ۹۴/۱۱/۲۲

مقدمه:

کاندیدیازیس دهانی شایعترین عفونت قارچی درانسانها است که مخاط دهان را تحت تاثیر قرار می دهد.کاندیدا یک ارگانیسم همزیست در حفره دهان است و جداسازی آن در غیاب تظاهرات بالینی نشاندهنده ی عفونت فعال نیست.[1] فراوانی کاندیدا ۴۵ تا ۶۵درصد در نوزادان سالم و ۳۰ تا ۵۵ درصد در بالغین سالم متنوع است. [2] تعدادی از عوامل مستعد کننده می توانند آنرا از حالت همزیست به پاتوژن تبدیل کنند[1،3].عوامل داخلی و خارجی متعدد بر روی ایجاد عفونت فعال کاندیدا تاثیر گذارند [3،4]

مصرف سیگار یکی از عوامل مستعد کننده موضعی برای پاتوژن شدن کاندیداآلبیکنز می‌باشد.[1] مصرف سیگار باعث افزایش کراتینیزاسیون اپیتلیوم دهان و متعاقب آن افزایش هیدروفوبیسیته مخاط دهان میشود که ممکن است فرد سیگاری را مستعد کلونیزاسیون کاندیدا نماید.[2] در منابع مختلف نشان داده شده است که میزان ناقلین کاندیدای دهانی در مصرف کنندگان سیگار نسبت به غیر سیگاری ها به طور معنی داری بالاتراست. [3-5] اما در مطالعه انجام شده توسط بعضی دیگر از محققین تفاوت معنی‌داری در فراوانی ناقلین کاندیدای دهانی در دو گروه سیگاری و غیر سیگاری به دست نیامده است. [6،7] علی رغم تحقیقات وسیع بر روی نقش سیگار بر اپیتلیوم مخاط دهان میزبان و کمبود اطلاعات در تاثیر تنباکو بر روی ویرولانس میکرو ارگانیسم‌ها ووجود تناقضات و نا مشخص بودن تاثیر سیگار بر روی ویرولانس کاندیدا این تحقیق با هدف بررسی رابطه ی سیگار با تعداد کلنی‌های کاندیدا در بزاق بیماران مراجعه کننده به بخش بیماریهای دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران انجام گرفت.

نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر سیمین لسان تلفن: ۳-۲۲۵۶۴۵۷۱ پست الکترونیک: siminlesan@yahoo.com

مواد و روش ها:

در این تحقیق Historical cohort، با توجه به تحقیقات مشابه و طراحی تحقیق ،۶۰نمونه (۳۰نفردر گروه مورد و۳۰نفر در گروه شاهد) از بین مراجعه کنندگان به بخش بیماریهای دهان انتخاب شدند. نمونه گیری به صورت مبتنی بر هدف بر حسب ترتیب مراجعه بیماران به بخش بیماری های دهان دانشکده دندانپزشکی انجام شد. افرادی سیگاری در نظر گرفته شدند که بنابر تعریف انجمن بین المللی مبارزه با سل و بیماریهای ریوی در یک ماه اخیر ۱۰۰ نخ یا بیشتر سیگار یا معادل آن تنباکو مصرف کرده باشند. این مصرف میتواند گاه به گاه یا حتی در عرض یک تعطیلی آخر هفته باشد. [۸] معیارهای ورود به مطالعه شامل افراد سیگاری و غیر سیگاری بود که خشکی دهان نداشتند و از لحاظ سیستمیک سالم بودند واز نظر سن و جنس مشابه‌سازی شده بودند. افراد با سابقه مصرف آنتی بیوتیک در یک ماه گذشته، مصرف استرویید خوراکی، استنشاقی و موضعی، وجود پروتز کامل متحرک، دستگاه ارتودنسی، مصرف دهانشویه، بارداری، مصرف کنتراسپتیو و یا مصرف عوامل تدخینی دیگر و افراد مبتلا به ضایعات ناشی از کاندیدا از مطالعه خارج شدند. بعد از معاینه دهان بیمار و تکمیل فرم اطلاعاتی جهت بررسی خشکی دهان از روش Spitting استفاده شد، در صورتی که میزان بزاق غیر تحریکی جمع آوری شده از این طریق کمتر از ۱سی سی بود بیمار دارای خشکی دهان تلقی شده و از مطالعه خارج می شد.[۹] به بیماران در مورد انجام طرح آگاهی کامل داده شد و از همه‌ی بیماران قبل ازانجام مطالعه رضایت نامه کتبی گرفته شد. برای جمع آوری داده‌ها از مشاهده و معاینه کلینیکی و پرسش از بیمار استفاده شد و داده ها در فرم اطلاعاتی ثبت شد. افراد مورد مطالعه آموزش داده شد که حداقل یک ساعت قبل از جمع آوری بزاق، سیگار نکشند و دو ساعت قبل از نمونه گیری از خوردن و آشامیدن اجتناب کنند و در بین ساعات ۱۲-۱۱ صبح بعد از شستشوی دهان با آب در حالت استراحت حداقل ۱ سی سی بزاق غیر تحریکی به روش spitting از نمونه‌ها گرفته شد و در عرض دو ساعت جهت کشت به آزمایشگاه ارسال گردید. اگر فاصله بین جمع‌آوری نمونه وکشت پیش از دو ساعت طول می‌کشید نمونه‌ها حداکثر تا ۲۴ ساعت در دمای یخچال نگهداری می‌شدند و تمامی نمونه‌ها در داخل Cold box به آزمایشگاه میکروب‌شناسی ارسال می‌شدند. در آزمایشگاه مقدار یک دهم سی سی از بزاق بیمار در محیط کشت بلاد آگار و سابرو دکستروز آگار (ساخت شرکت مرک آلمان) کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵درجه سانتی‌گراد انکوبه شد کلونیهای مشکوک به کاندیدا رنگ‌آمیزی گرم شده و برای تعیین گونه‌ی کاندیدا آلبیکنز از تست germ tube استفاده شد و تعداد کلونی آنها شمرده شده و در ۱ سی سی بزاق محاسبه شد. این آزمایشات هم در گروه شاهد و هم در گروه مورد انجام شد و داده های بدست آمده توسط آزمون آماریMAN-U-WHITNEY آنالیز شدند و P<۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها:

تحقیق بر روی۶۰ نمونه شامل ۳۰ فرد سیگاری (گروه مورد) و ۳۰ فرد غیرسیگاری (گروه شاهد) انجام گرفت .توزیع افراد مورد مطالعه بر حسب خصوصیات فردی در جدول ۱ ارائه شده است و نشان می دهد که افراد دو گروه از لحاظ سن و جنس مشابه بودند. هیچ یک از بیماران دارو مصرف نمیکردند وبه بیماری سیستمیک مبتلا نبودند.

جدول ۱- توزیع افراد مورد مطالعه بر حسب خصوصیات فردی

خصوصیات / گروه	سن (میانگین)	جنس	
		مرد	زن
غیر سیگاری	۳۸/۳	۲۶ (۸۷٪)	۴ (٪۱۳)
سیگاری	۳۸/۷	۲۶ (۸۷٪)	۴ (۱۳٪)
Pvalue	۰/۱۵	۰/۰۹	

تعداد کلونی ها بر حسب گروه های مورد مطالعه در جدول ۲ ارائه شده و نشان می دهد که تعداد کلونی کاندیدا در افراد غیر سیگاری ۱/۲۳ و در افراد سیگاری ۳/۴۵ بود که در افراد سیگاری ۲/۸ برابر بیشتر از افراد غیر سیگاری مبتلا بودند و

آزمون MAN-U-WHITNEY این اختلاف را به لحاظ آماری معنی دار نشان داد. (P=۰/۰۰۰۱)

جدول ۲- میزان کلونی کاندیدا آلبیکانز بزاق به تفکیک گروه مورد و شاهد

کلونی کاندیدا / گروه	تعداد	دامنه
غیر سیگاری	۱/۲۳±۱/۵۳	۰-۳/۳۰
سیگاری	۳/۴۵±۱/۳۷	۰-۴/۹۰
P value	۰/۰۰۰۱	

در پیش بینی تعداد کلونیهای کاندیدا آلبیکنز در جامعه آماری سن و جنس افراد تأثیر ندارد (P>۰/۰۵) ولی سیگاری بودن یا نبودن آنها اثر دارد. (P=۰/۰۰۰۱)

بحث:

نتایج این تحقیق نشان داد که تعداد کلونی‌های کاندیدا آلبیکنز در افراد سیگاری بیش از دو برابر افراد غیر سیگاری است. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تعدادی از مطالعات همسو می‌باشد. [۱۰-۱۵] ولی در مقایسه با تعدادی از تحقیقات نتایج متفاوتی بدست آمد. [۱۶-۱۹] نظریه های متفاوتی در مورد تاثیر مصرف سیگار بر ایجاد ناقل کاندیدا وجود دارد: تدخین سیگار سبب افزایش ضخامت کراتین اپیتلیوم،کاهش میزان ایمونوگلوبولینA بزاق سرکوب شدن فعالیت لکوسیتهای پلی مورفونوکلوئر، شده و به این شکل سبب تسهیل پرولیفراسیون انواع کاندیدا می شود. [۲۰-۲۲] هم چنین سیگار می تواند حاوی عوامل تغذیه ای برای کاندیدا آلبیکنز باشد. [۱۳] نیکوتین موجود در تنباکو سبب تغییرات ساختمانی و عملکردی در کراتینوسیت ها می شود و سایر ترکیبات تنباکو قادر به کاهش سلول های اپیتلیالی و فعالیت ضد قارچی هستند [۲۳،۲۴] در اثر مصرف سیگار،ترشح آنزیم های هیستولیتیک و در نتیجه بیماریزایی کاندیدا آلبیکنز افزایش می یابد [۳] دود سیگار باعث افزایش چسبندگی، رشد و همچنین تشکیل بیوفیلم کاندیدا آلبیکنز می شود، این اثرات به وسیله بروز بالای ژنهای EAP1، HWP1، Sap2 ایجاد می شود که نقش مهمی در بیماریزایی کاندیدا آلبیکانز دارند. [۱۴] دود سیگار سبب تغییر شکل کاندیدا آلبیکانز از فرم بلاستواسپور به فرم هیفه می شود. [۱۵] یکی از دلایل پاتوژنز کاندیدا توانایی تغییر شکل از فرم بلاستواسپور به هیفه است. فرم هیفه برای رشد تهاجمی قارچ لازم است [۲۵] دود سیگار به وسیله ایجاد افزایش چسبندگی کاندیدا و پرولیفراسیون فیبروبلاست های لثه سبب اثر متقابل این قارچ با میزبان می شود. [۱۵]

در تحقیقBaboni و همکاران فراوانی کاندیدا البیکنز پس از مواجهه با دود سیگار افزایش معنی داری نشان نداد. [۶] علت تفاوت نتایج این تحقیق با تحقیق حاضر احتمالا مغایر بودن روش تحقیق می باشد، تحقیق فوق بصورت in vitro انجام شده و همچنین میزان استرپتوکوک موتانس نیز مورد بررسی قرار گرفته است واحتمال میرود عدم افزایش قارچ کاندیدا به علت افزایش استرپتوکوک موتانس می باشد. مکانیسم چسبندگی احتمالا در میزان چسبندگی استرپتوکوک موتانس دخیل بوده که ممکن است باعث کاهش کلونی کاندیدا شده باشد .

Guggenheimer و همکاران نشان دادند که افزایش قارچ کاندیدا در افراد دیابتی بیشتر است وسیگار به عنوان عامل اصلی مطرح نیست، که احتمالا به دلیل بررسی بیشتر عوامل دیگری مانند دیابت است که باعث خشکی دهان و آتروفی پاپی های زبان می‌شود و تاثیر سیگار به درستی مشخص نشده است. [۷] در صورتیکه در تحقیق حاضر افراد مورد بررسی فاقد هر گونه بیماری سیستمیک بودند و بنابراین تنها اثر سیگار بررسی شده است .هم چنین در این تحقیق برای نمونه گیری از روش اسمیر استفاده شده است که با روش مورد استفاده در تحقیق حاضر متفاوت است.

در مطالعه Kadir افزایش معنی داری درتعداد کلونی کاندیدا در افراد دیابتیک سیگاری در مقایسه با گروه کنترل دیده نشده است. [۱۸] علت تفاوت با مطالعه حاضر احتمالا مساوی بودن نسبی تعداد افراد سیگاری در هر دو گروه دیابتیک وغیر دیابتیک میباشد. همچنین در آن مطالعه از روش سواب با کمک آبسلانگ جهت بررسی کاندیدا در نواحی مختلف دهان

استفاده شده بود ولی در تحقیق حاضر از روش نمونه بزاق استفاده شده است.

در مطالعه Campizi و همکاران مصرف سیگار به عنوان عامل اتیولوژیک در ایجاد کاندیدیاز شناخته نشده است.[۱۶] علت تفاوت این مطالعه با تحقیق حاضر احتمالا به علت کم بودن تعداد افراد سیگاری در مقایسه با افراد غیر سیگاری در هر دو گروه مورد و شاهد می‌باشد و همچنین در این مطالعه بررسی کاندیدا با استفاده از روش سواب با کمک رول پنبه استریل بوده است و بررسی بیشتر بر عوامل خطرزای مرتبط مانند استفاده از دنچر و خشکی دهان بوده است و به مصرف سیگار به طور ویژه توجه نشده است.

در مطالعه انجام شده به وسیله Saleh و همکاران تفاوت معنی‌داری در جداسازی قارچ در دو گروه سیگاری و غیر سیگاری دیده نشد و دلیل بیان شده توسط محقق افزایش درجه حرارت حفره دهان تا دمای ۴۲ درجه سانتی گراد توسط سیگار می‌باشد که سبب دناتوره شدن پروتئین های غشای مخاطی می شود و از چسبندگی قارچ جلوگیری می کند.[۱۹]

از محدودیت‌های انجام این تحقیق انتقال نمونه‌ها به بیمارستان میلاد با توجه به محدودیت زمانی نگهداری نمونه ها، کمیاب بودن محیط کشت، سختی نگهداری بزاق پس از جمع آوری وعدم همکاری برخی بیماران بود.

پیشنهاد می‌شود که سایر عوامل موثر در ایجاد کاندیدا و تفکیک انواع کاندیدا بصورت جداگانه بررسی گردد وهمچنین این تحقیق در افراد با تعداد متفاوت سیگار در روز (heavy smoker, light smoker) انجام گردد.

نتیجه گیری:

میزان فراوانی قارچ کاندیدا آلبیکنز در بزاق افراد سیگاری بطور معنی داری بالاتر از میزان آن در بزاق افراد غیر سیگاری بود که نشان دهنده ی نقش اتیولوژیک سیگار در افزایش تعداد کلونی کاندیدا آلبیکنز می باشد.

تقدیر و تشکر:

نویسندگان ازخانم محمدپور در بخش میکروبیولوژی بیمارستان میلاد تشکر می نمایند

References:

1. Glick M. Burket's Oral Medicine. 12nd ed. People's medical Publishing house- USA Shelton: Connecticut; 2015.P:93-99
2. Arendorf TM, Walker DM. The prevalence and intra-oral distribution of Candida albicans in man. Arch Oral Biol 1980; 25(1):1-10.
3. Baboni FB, Barp D, Izidoro AC, Samaranayake LP, Rosa EA. Enhancement of Candida albicans virulence after exposition to cigarette mainstream smoke. Mycopathologia 2009; 168(5):227-35.
4. Johnson GK, Slach NA. Impact of tobacco use on periodontal status. J Dent Educ 2001; 65(4):313-21
5. Arendorf TM, Walker DM. Tobacco smoking and denture wearing as local aetiological factors in median rhomboid glossitis. Int J Oral Surg 1984; 13(5):411-15.
6. Baboni FB, Guariza Filho O, Moreno AN, Rosa EA. Influence of cigarette smoke condensate on cariogenic and candidal biofilm formation on orthodontic materials. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2010; 138(4):427-34.
7. Guggenheimer J, Moore PA, Rossie K, Myers D, Mongelluzzo MB, Block HM, et al. Insulin-dependent diabetes mellitus and oral soft tissue pathologies: II. Prevalence and characteristics of Candida and Candidal lesions. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2000; 89(5):570-6.
8. Karen S. Tobacco control and prevention Paris, France. International union against Tuberculosis and Lung disease. A founding member of INGCAT; 1998; 27
9. Glick M. Burket's Oral Medicine. 12nd ed. People's medical Publishing house- USA Shelton:Connecticut; 2015.P:221-222
10. Shin ES, Chung SC, Kim YK, Lee SW, Kho HS. The relationship between oral Candida carriage and the secretor status of blood group antigens in saliva. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2003; 96(1):48-53.
11. Martins M, Henriques M, Ribeiro AP, Fernandes R, Goncalves V, Seabra A, et al. Oral Candida carriage of patients attending a dental clinic in Braga, Portugal. Rev Iberoam Micol 2010; 27(3):119-24.
12. Mun MS, Yap T, Alnuaimi AD, Adams GG, McCullough MJ. Oral candidal carriage in asymptomatic patients. Aust Dent J. 2015
13. Keten HS, Keten D, Ucer H, Yildirim F, Hakkoymaz H, Isik O. Prevalence of oral candida carriage and candida species among cigarette and maras powder users.Int j clin Exp Med 2015; 8(6):9847-54
14. Semlali A, Killer K, Alanazi H, Chmielewski W, Rouabhia M. Cigarette smoke condensate increases C. albicans adhesion, growth, biofilm formation, and EAP1, HWP1 and SAP2 gene expression. BMC Microbiol 2014;14:61
15. Alanazi H, Semlali A, Perraud L, Chmielewski W, Zakrzewski A, Rouabhia M. Cigarette smoke-exposed Candida albicans increased Chitin production and modulated human Fibroblast cell responses. Biomed Res Int 2014;2014:963156
16. Campisi G, Panzarella V, Matranga D, Calvino F, Pizzo G, Lo Muzio L, et al. Risk factors of oral candidosis: a twofold approach of study by fuzzy logic and traditional statistic. Arch Oral Biol 2008; 53(4):388-97.
17. Belazi M, Velegraki A, Koussidou-Eremondi T, Andreadis D, Hini S, Arsenis G, et al. Oral Candida isolates in patients undergoing radiotherapy for head and neck cancer: prevalence, azole susceptibility profiles and response to antifungal treatment. Oral Microbiol Immunol 2004; 19(6):347-51.
18. Kadir T, Pisiriciler R, Akyuz S, Yarat A, Emekli N, Ipbuker A. Mycological and cytological examination of oral candidal carriage in diabetic patients and non-diabetic control subjects: thorough analysis of local etiologic and systemic factors. J Oral Rehabil 2002; 29(5):452-7.
19. Saleh GM, Najim SS, Hindal AS. Comparative study of oral bacterial composition and neutrophil count between smokers and non-smokers. World J Exp Biosci 2016;4(1);20-4
20. Banoczy J, Gintner Z, Dombi C. Tobacco use and oral leukoplakia. J Dent Educ 2001;65(4):322-7
21. Bennet KR, Reade PC. Salivary immunoglobulin A levels in tobacco smokers and patients with minor aphthous ulceration. Oral surg Oral med Oral pathol 1982; 53(5):461-5
22. Berman J, Sudbery PE. Candida albicans: a molecular revolution built on lessons from budding yeast. Nat Rev Genet 2002;3(12):918-30
23. Arrendondo J, Nguyen VT, Chernyavsky AL, Jolkovsky DL, Pinkerton KE, Grando SA. A receptor –mediated mechanism of nicotine toxicity in oral keratinocytes. Lab Invest 2001;81(12):1653-68
24. Soysa NS, Ellepola ANB. The impact of cigarette/tobacco smoking on oral candidosis: an overview. Oral Dis 2005;11(5):268-73.
25. Finkel JS, Xu W, Huang D, Hill EM, Desai JV, Woolford CA , et al. Portrait of candida albicans adherence regulators. PLoS Pathog 2012; 8(2): e1002525