مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و سوم/شماره ۳۶۲/هفته دوم بهمن ماه ۱۳۹٤

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۷/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۹/۲۵

شناسایی گونه‌های کاندیدا در دهان افراد مصرف کننده و غیر مصرف کننده‌ی سیگار

محمدرضا جواهری[۱]، دکتر فائزه محمدی[۲]، دکتر مصطفی چادگانی‌پور[۳]، شهرام نکوئیان[۴]، دکتر پروین دهقان[۵]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: Candida albicans، بیشترین گونه‌ی جدا شده از حفره‌ی دهان می‌باشد. ایجاد Candidiasis دهانی در نتیجه‌ی تشکیل بیوفیلم و رشد بیش از حد گونه‌های Candida است و مصرف سیگار، می‌تواند در کلونیزاسیون Candida در حفره‌ی دهان مؤثر باشد. هدف از این مطالعه، بررسی حضور و شناسایی گونه‌های Candida جدا شده از دهان مصرف کنندگان و غیر مصرف کنندگان سیگار بود.

روش‌ها: نمونه‌ها با استفاده از سواب از حفره‌ی دهان و بزاق دو گروه ۳۸ نفره از مصرف کنندگان سیگار (گروه مورد) با میانگین سنی ۹/۷۵ ± ۴۸/۵۰ سال و غیرمصرف کنندگان آن (گروه شاهد) با میانگین سنی ۱۰/۷۹ ± ۴۴/۶۸ سال، جمع‌آوری گردید. سواب‌ها بر روی محیط Sabouraud dextrose agar کشت داده شد و کلنی خالص به دست آمده، به محیط CHROMagar candida انتقال داده شد. همچنین، میزان قند بزاق و pH دهان هر دو گروه، مشخص گردید. شناسایی گونه‌های Candida با استفاده از Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) تکمیل شد.

یافته‌ها: فراوانی گونه‌های Candida albicans، Candida kefir و Candida krusei در گروه مورد به ترتیب ۴۲/۱۰، ۵/۳۰ و ۲/۶۳ درصد بود و در گروه شاهد، گونه‌های Candida albicans و Candida kefir به ترتیب به میزان ۲۶/۳۱ و ۲/۶۳ درصد مشاهده گردید. لازم به ذکر است که گونه‌های Candida glabrata و Candida dubliniensis در نمونه‌های هیچ یک از دو گروه مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که شدت کلونیزاسیون Candida albicans در گروه مورد، بیش از افراد گروه شاهد بود. میزان قند بزاق، تعداد نخ مصرفی سیگار و عدم رعایت بهداشت دهان، مهم‌ترین عوامل مستعد کننده برای ایجاد کلونیزاسیون کاندیدا در دهان بود.

واژگان کلیدی: گونه‌های Candida، Candidiasis دهانی، Polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism

ارجاع: جواهری محمدرضا، محمدی فائزه، چادگانی‌پور مصطفی، نکوئیان شهرام، دهقان پروین. **شناسایی گونه‌های کاندیدا در دهان افراد مصرف کننده‌ی سیگار و غیر مصرف کننده‌ی سیگار.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۶۲): ۲۱۱۰-۲۱۰۵

مقدمه

Candidiasis، عفونتی است که توسط گونه‌های مختلف Candida به ویژه Candida albicans ایجاد می‌شود. در طی دو دهه‌ی اخیر، شیوع این عفونت‌ها به دلیل عوامل مستعد کننده رو به افزایش می‌باشد. Candida albicans، بیشترین فلور قارچی دهان را تشکیل می دهد. مواد معدنی عاج دندان اغلب از نمک های کلسیم به صورت بلورهای هیدروکسی آپاتیت می باشد که قدرت چسبندگی و حل کنندگی Candida albicans در مجاورت این بلورها زیاد است. Candida albicans با ترشح آنزیم کلاژنولیتیک، از محتویات کلاژن عاج دندان به عنوان منبع نیتروژنی استفاده می نماید و با کاهش در تولید کلاژن، باعث تخریب بافت دهانی می‌گردد (۳-۱).

برخی تغییرات در محیط دهان مانند کاهش جریان بزاق، کاهش pH، سوزش و خشکی، افزایش میزان گلوکز، تجمع پلاک دهانی و تخریب بافت‌های پریودنتال، باعث تغییر در فلور دهان می گردد و رشد بیشتر گونه‌های Candida را فراهم می آورد. این تغییرات، با کاهش یا تغییر نسبی در فلور میکروبی دهان، سبب کاهش مقاومت

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه قارچ و انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی، دانشکده‌ی بهداشت و مؤسسه تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳- استاد، گروه قارچ و انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- کارشناس ارشد، بخش سلولی مولکولی، مرکز بهداشت استان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۵- استادیار، گروه قارچ و انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر پروین دهقان
Email: dehghan@med.mui.ac.ir

بافتی دهان می‌شود (۵-۴).

استفاده از تنباکو، یک عامل محرک موضعی در ایجاد Candidiasis می‌باشد؛ چرا که باعث تغییر موضعی اپی‌تلیوم دهان می شود و این تغییر، باعث تسهیل در کلونیزه شدن گونه‌های Candida می گردد. همچنین، دود سیگار حاوی عوامل تغذیه‌ای برای Candida است؛ در نتیجه موجب فراهم آوردن یک محیط تغذیه‌ای مناسب برای Candida albicans می‌گردد (۶). مطالعات نشان می‌دهند که مصرف سیگار باعث کاهش pH دهان می‌شود و این در کلونیزاسیون گونه‌های Candida دخالت دارد (۷).

این موضوع که «آیا دود سیگار سبب افزایش کلونیزاسیون Candida می‌باشد؟»، در بسیاری از مطالعات مورد بحث است (۹-۸). در گزارش های متعددی، تأثیر دود سیگار به طور مجزا و یا همراه با عوامل زمینه‌ای موضعی و سیستمیک در میزبان مورد مطالعه قرار گرفته است (۹، ۵). با توجه به کلونیزاسیون گونه‌های Candida در دهان افراد مصرف کننده‌ی سیگار و نیز استعمال زیاد سیگار در کشورمان، مطالعه‌ی حاضر با هدف شناسایی گونه‌های Candida در بزاق افراد مصرف کننده و غیرمصرف کننده‌ی سیگار انجام شد.

روش‌ها

نمونه‌گیری: از مراجعه کنندگان به آزمایشگاه بیمارستان سنندج در دو گروه ۳۸ نفره از مردان مصرف کننده‌ی سیگار (گروه مورد) با میانگین سنی ۹/۷۵ ± ۴۸/۵ سال و غیر مصرف کننده‌ی سیگار (گروه شاهد) با میانگین سنی ۱۰/۷۹ ± ۴۴/۶۸ سال، پس از تکمیل پرسش‌نامه و اخذ رضایت‌نامه، بدون شستن دهان، نمونه‌گیری به عمل آمد. مقرر شد افراد گروه مورد، حداقل ۲ ساعت قبل از نمونه‌گیری، سیگار استعمال نکرده باشند؛ هر دو گروه دارای قند خون طبیعی، فاقد دندان مصنوعی، عدم اعتیاد و فاقد هر گونه ضایعات، زخم و آفت دهانی باشند.

جهت اندازه‌گیری pH دهان، با استفاده از دستگاه سنجش pH و قند بزاق با استفاده از دستگاه Autoanalyzer، بزاق دهان در هر دو گروه، به صورت غیر تحریکی جمع‌آوری شد. بدین صورت که به بیمار اجازه داده شد که بزاق خود را در دهان نگه دارد و هر چند ثانیه یک بار در درون دو ظرف استریل درب دار، خارج نماید. نمونه‌گیری در صبح بین ساعات ۱۰-۸ در شرایط ناشتا انجام شد؛ چرا که حجم بزاق در ساعات مختلف شبانه‌روز می تواند متفاوت باشد و همچنین اثر افزایش حجم بزاق ناشی از غذا خوردن خنثی شده باشد.

کشت بر روی محیط‌های CHROMagar candida **و** Sabouraud dextrose agar: نمونه‌گیری از حفره‌ی دهانی تمامی افراد مورد مطالعه با سواب استریل مرطوب، انجام شد و به محیط کشت Sabouraud dextrose agar منتقل و به مدت یک هفته در دمای ۳۰-۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه گردید. سپس، تمام پلیت‌ها از نظر رشد یا عدم رشد بررسی شد. تعداد کلنی رشد یافته، شمارش و از یک کلنی خالص، بر روی محیط کشت CHROMagar Candida کشت داده شد و تمام پلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه‌ی سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت، انکوبه گردید. رشد Candida بر اساس رنگ کلنی ایجاد شده ارزیابی گردید (۱۲-۱۰).

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase chain reaction یا PCR): استخراج DNA با استفاده از روش Glass bead فنل کلروفرم انجام گرفت (۱۵-۱۳). بر اساس مطالعات قبلی، از پرایمرهای ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') و ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') که تنوع کافی جهت افتراق گونه‌های Candida دارند، استفاده گردید (۱۶). برای واکنش PCR، پس از آزمایش‌های متعدد، سرانجام یک واکنش ۵۰ میکرولیتری با ۵ میکرولیتر بافر PCR، ۲/۵ میکرولیتر $MgCl_2$، ۵۰ میلی‌مولار، ۱ میکرولیتر Deoxynucleotide nucleotide triphosphates (dNTP) ۱۰ میلی‌مولار، ۲ میکرولیتر پرایمر رفت (ITS1) و برگشت (ITS4)، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم Taq DNA polymeras ۵ unit/µl، ۵ میکرولیتر DNA الگو و آب مقطر دیونیزه، انجام شد. پروفیل دمای مراحل تکثیر قطعه‌ی مورد نظر در این مطالعه در جدول ۱ آمده است. جهت بررسی باندهای مورد نظر از ژل آگارز ۱ درصد استفاده شد.

هضم محصولات PCR با آنزیم‌های اندونوکلئاز (RFLP یا Restriction fragment length polymorphism): برای ایجاد برش آنزیماتیک در رشته های تکثیر یافته‌ی DNA و تولید الگوهای متفاوت در مخمرهای مختلف، از دو آنزیم محدودالاثر MspI و HinfI (سیناژن) استفاده گردید. آنزیم HinfI قادر است که Candida albicans را از Candida dubliniensis که با آنزیم MspI قابل افتراق نمی‌باشند، تفکیک نماید (۱۷).

جدول ۱. مراحل تکثیر قطعه‌ی مورد نظر در این مطالعه

مرحله	دما (درجه‌ی سانتی‌گراد)	زمان	تعداد چرخه
Denaturation Initial	۹۵	۵ دقیقه	۱
Denaturation	۹۴	۳۰ ثانیه	۳۵
Annealing	۵۶	۶۰ ثانیه	
Extention	۷۲	۶۰ ثانیه	
Final extention	۷۲	۵ دقیقه	۱

جدول ۲. اندازه‌ی قطعات محصول PCR (Polymerase chain reaction) و RFLP (Restriction fragment length polymorphism) (۱۶)

گونه‌های Candida	اندازه‌های باند برش خورده (bp) با آنزیم Hinf I	اندازه‌های باند برش خورده (bp) با آنزیم Hinf I
Candida albicans	۳۰۰ و ۲۴۰	۲۷۰ و ۲۷۰
Candida tropicalis	۳۴۰ و ۱۸۰	۲۶۰ و ۲۶۰
Candida dubliniensis	۳۰۰ و ۲۴۰	۲۶۰ و ۲۹۰
Candida krusei	۲۶۰ و ۲۵۰	۲۴۰ (۱۵۰ و ۱۵۰)
Candida glabrata	۳۳۰ و ۵۷۰	۳۶۰ (۲۷۰ و ۲۷۰)
Candida kefir	۷۲۰	۲۳۶، ۱۳۱ و ۱۱۷

طبق دستورالعمل، ۱۷ میکرولیتر آب مقطر، ۲ میکرولیتر بافر از هر کدام از آنزیم‌های مربوط، ۱۰ میکرولیتر محصول PCR و ۱ میکرولیتر از هر آنزیم مخلوط شد و سپس به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، نگه‌داری شد. جهت بررسی طول قطعات مورد نظر، از ژل ۲ درصد استفاده گردید (جدول ۲).

یافته‌ها

مطالعه‌ی حاضر بر روی دو گروه ۳۸ نفره از مردان مصرف کننده (گروه مورد) و غیر مصرف کننده‌ی سیگار (گروه شاهد)، پس از مراجعه به آزمایشگاه بیمارستان سنندج، انجام گرفت.

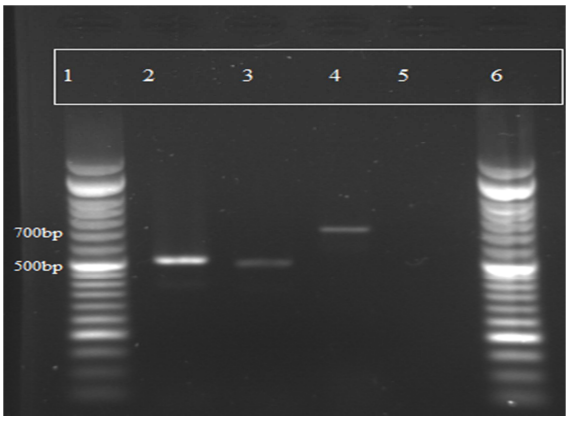
میزان کلونیزاسیون Candida albicans در دهان افراد گروه مورد بیش از افراد گروه شاهد بود؛ به طوری که میانگین سیگار مصرفی در افراد گروه مورد، ۸/۴۱ ± ۲۰/۶۳ نخ در روز و بر روی تعداد کلنی مخمر مؤثر بود ($P < ۰/۰۵$).

همچنین، میانگین میزان pH ارتباط معنی داری با تعداد کلنی جدا شده از دهان در دو گروه مورد مطالعه نشان نداد. میزان قند بزاق دهان نیز در گروه مورد ۰/۴۹ ± ۲/۲۸ و در گروه شاهد ۲۵/۰۰ ± ۲/۱۴ بود که تفاوت معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۵$).

تعداد موارد مسواک زدن و رعایت بهداشت دهان نیز با کاهش کلونیزاسیون Candida در هر دو گروه ارتباط معنی داری نشان داد ($P < ۰/۰۵$).

گونه‌های Candida در افراد گروه مورد، Candida albicans با ۱۶ مورد (۴۲/۱۰ درصد)، Candida krusei با ۱ مورد (۲/۶۳ درصد) و Candida kefir با ۲ مورد (۵/۳۰ درصد) بود؛ اما در گروه شاهد، تنها Candida albicans با فراوانی ۱۰ مورد (۲۶/۳۱ درصد) و Candida kefir با فراوانی ۱ مورد (۲/۶۳ درصد) مشاهده شد.

در شکل‌های ۱ و ۲ نتایج انجام RFLP-PCR و الکتروفورز محصولات و مقایسه‌ی آن در دو گروه قابل مشاهده است. با وجود استفاده از آنزیم HinfI، Candida dubliniensis در هیچ یک از دو گروه مورد و شاهد دیده نشد.

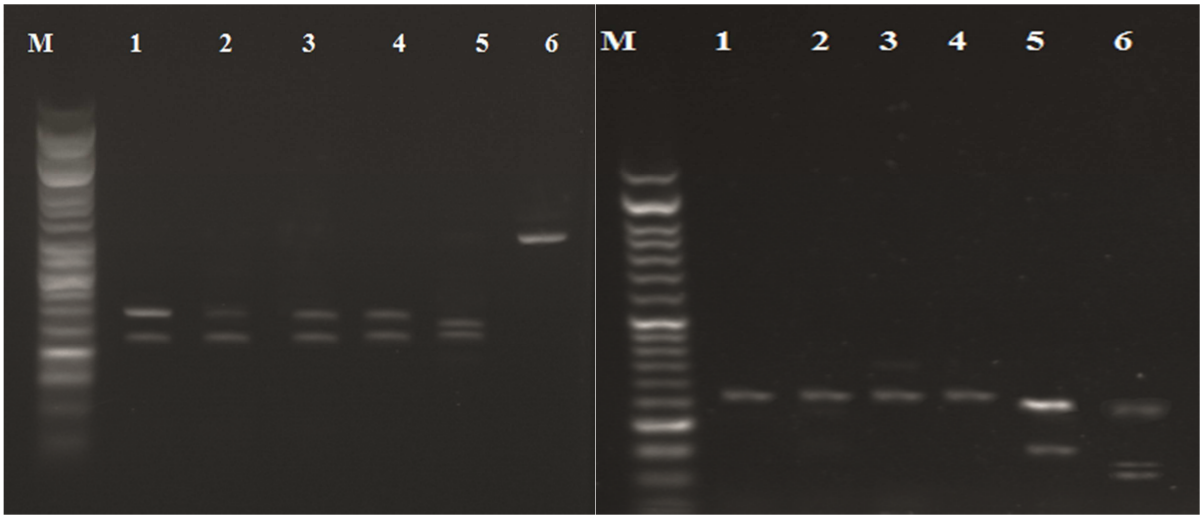


شکل ۱. تکثیر نواحی ITS (Internal transcribed spacer) ریبوزومال با استفاده از پرایمرهای ITS1 و ITS4 (چاهک‌های ۱ و ۶: نشانگر مولکولی bp ۵۰، چاهک ۲: Candida albicans، چاهک ۳: Candida krusei، چاهک ۴: Candida kefir، چاهک ۵: شاهد منفی)

بحث

حدود ۴۰۰ گونه از ارگانیسم‌های مختلف، ساکن حفره‌ی دهان می باشند؛ به طوری که در هر میلی لیتر از بزاق دهان، بیش از ۱۰۶ میکروارگانیسم می توان یافت. یکی از این میکروارگانیسم‌ها Candida albicans می‌باشد که بیشترین گونه‌ی Candida در دهان است و انواع دیگری که کمتر شایع هستند، شامل انواع Candida tropicalis، Candida glabrata، Candida krusei، Candida parapsilosis، Candida guilliermondii و Candida dubliniensis می‌شود (۱۸).

Candidiasis دهانی در نتیجه‌ی تشکیل بیوفیلم و رشد بیش از حد گونه های Candida ایجاد می شود. هر گونه تغییر در محیط دهان مثل افزایش گلوکز بزاق، کاهش pH بزاق، کاهش جریان بزاق، مصرف سیگار، سوزش و خشکی دهان باعث تسهیل در کلونیزاسیون گونه‌های Candida می شوند. ممکن است که سیگار به طور غیرمستقیم باعث افزایش هموگلوبین گلیکوزیله شود (۱۹).



(ب) (الف)

شکل ۲. (الف): الکتروفورز محصولات ITS-RFLP (Internal transcribed spacer- Restriction fragment length polymorphism) با آنزیم HinfI تعدادی از جدایه‌ها: نشانگر bp ۵۰ بوده و چاهک‌های ۶-۱ مربوط به تعدادی از نمونه‌های افراد گروه‌های مورد و شاهد می‌باشد (چاهک‌های ۴-۱: Candida albicans، چاهک ۵: Candida krusei، چاهک ۶: Candida kefir).

(الف): الکتروفورز محصولات ITS-RFLP با آنزیم MSPI تعدادی از جدایه‌ها: نشانگر bp ۵۰ بوده و چاهک‌های ۶-۱ مربوط به تعدادی از نمونه‌های افراد گروه‌های مورد و شاهد می‌باشد (چاهک‌های ۴-۱: Candida albicans، چاهک ۵: Candida krusei، چاهک ۶: Candida kefir).

گونه‌های Candida دارای سیستم آنزیمی می باشد که قادرند هیدروکربن‌های آروماتیک در دود سیگار را به ترکیبات کارسینوژن تبدیل نمایند (۲۰). مطالعات زیادی نشان می‌دهد که اختلاف معنی داری بین شدت کلونیزاسیون Candida در دهان افراد مصرف کننده‌ی و غیر مصرف کننده‌ی سیگار وجود دارد. تعیین میزان دقیق حضور Candida albicans در حفره‌ی دهان، ارتباط به عوامل متعددی همانند سن، میزان سلامت میزبان، آناتومی حفره ی دهان و سلامت دندان‌ها دارد (۱۸).

Arendorf و Walker بر روی دو گروه ۵۴ نفری مصرف کننده و غیر مصرف کننده‌ی سیگار مطالعه و بیان نمودند که میزان Candida در دهان افراد ناقل که به روش کشت ارگانیسم تأیید شده بود، به طور معنی‌داری در افراد مصرف کننده‌ی سیگار بیش از افراد غیر مصرف کننده‌ی سیگار گزارش شده است. همچنین، در این مطالعه میانگین pH دهان افراد ناقل Candida، کمتر (۰/۳ ± ۶/۶) از میانگین pH دهان افراد غیر ناقل (۰/۳ ± ۶/۸) بوده است (۲۱).

در مطالعه‌ی حاضر نیز میزان کلونیزاسیون Candida albicans در دهان افراد مصرف کننده‌ی سیگار بیش از افراد غیر مصرف کننده ی سیگار مشاهده شد؛ به طوری که تعداد نخ مصرفی، قند بزاق و نیز تعداد موارد استفاده از مسواک در روز در افراد مصرف کننده ی سیگار، تفاوت قابل ملاحظه و معنی‌داری به دنبال داشت. همچنین، در مطالعه‌ی اخیر میانگین میزان pH در دو گروه، ارتباط معنی‌داری با تعداد کلنی جدا شده از دهان دو گروه مورد مطالعه نداشت؛ این یافته، با مطالعه‌ی Arendorf و Walker همخوانی دارد.

مصرف سیگار با تغییر در سلول‌های اپی تلیال دهان و کاهش سلول‌های لانگرهانس و لکوسیت‌های دهان، موجب فراهم آوردن کلونیزاسیون قارچ می‌شود (۲۳-۲۲). مطالعه‌ی Shin و همکاران بر روی دو گروه ۱۸۰ نفری مصرف کننده و غیر مصرف کننده‌ی سیگار، حاکی از شدت کلونیزاسیون Candida در گروه مصرف کننده‌ی سیگار نسبت به گروه غیر مصرف کننده‌ی سیگار می‌باشد که با مطالعه‌ی حاضر همخوانی دارد (۲۴).

در مطالعه‌ی طاهری سروتین و همکاران نشان داده شد که از ۳۷ نفر مصرف کننده‌ی سیگار، ۲۷ نفر دارای کلونیزاسیون Candida می‌باشند و اختلاف معنی‌داری بین تعداد گونه‌های Candida albicans، Candida glabrata، Candida krusei و Candida tropicalis در حفره‌ی دهانی افراد مصرف کننده‌ی سیگار و غیر مصرف کننده‌ی سیگار وجود دارد (۲۵).

اگر چه در مطالعه‌ی حاضر نیز Candida albicans در هر دو گروه بیشترین فراوانی را به خود اختصاص داد، اما با وجود استفاده از آنزیم‌های محدودالاثر Msp I و Hinf I، Candida glabrata و Candida dubliniensis مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری نهایی این که مصرف سیگار از عوامل مستعد کننده، جهت تسهیل رشد گونه‌های Candida در دهان می باشد و رعایت

بهداشت دهان همانند مسواک زدن، تعداد نخ مصرفی سیگار، pH و قند بزاق در میزان کلونیزاسیون مخمر مؤثر می‌باشند.

همچنین در این مطالعه، مهم‌ترین گونه ی مخمری جدا شده از دهان افراد مصرف کننده و غیر مصرف کننده‌ی سیگار، گونه‌ی Candida albicans بود و گونه‌های Candida glabrata و Candida dubliniensis به عنوان فلور دهان جدا نگردید.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح تحقیقاتی مرتبط با پایان‌نامه‌ی مصوب دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به شماره طرح ۳۹۳۲۷۲ می‌باشد.

References

1. Sangeorzan JA, Bradley SF, He X, Zarins LT, Ridenour GL, Tiballi RN, et al. Epidemiology of oral candidiasis in HIV-infected patients: colonization, infection, treatment, and emergence of fluconazole resistance. Am J Med 1994; 97(4): 339-46.
2. Nikawa H, Yamashiro H, Makihira S, Nishimura M, Egusa H, Furukawa M, et al. In vitro cariogenic potential of Candida albicans. Mycoses 2003; 46(11-12): 471-8.
3. Kaminishi H, Hagihara Y, Hayashi S, Cho T. Isolation and characteristics of collagenolytic enzyme produced by Candida albicans. Infect Immun 1986; 53(2): 312-6.
4. Moalic E, Gestalin A, Quinio D, Gest PE, Zerilli A, Le Flohic AM. The extent of oral fungal flora in 353 students and possible relationships with dental caries. Caries Res 2001; 35(2): 149-55.
5. Soysa NS, Ellepola AN. The impact of cigarette/tobacco smoking on oral candidosis: an overview. Oral Dis 2005; 11(5): 268-73.
6. Allen CM, Beck FM. Differences in mucosal reaction related to Candida albicans isolates. J Oral Pathol 1987; 16(2): 89-93.
7. Parvinen T. Stimulated salivary flow rate, pH and lactobacillus and yeast concentrations in non-smokers and smokers. Scand J Dent Res 1984; 92(4): 315-8.
8. Darwazeh AM, Al-Dwairi ZN, Al-Zwairi AA. The relationship between tobacco smoking and oral colonization with Candida species. J Contemp Dent Pract 2010; 11(3): 017-24.
9. Kamma JJ, Nakou M, Baehni PC. Clinical and microbiological characteristics of smokers with early onset periodontitis. J Periodontal Res 1999; 34(1): 25-33.
10. Hospenthal DR, Beckius ML, Floyd KL, Horvath LL, Murray CK. Presumptive identification of Candida species other than C. albicans, C. krusei, and C. tropicalis with the chromogenic medium CHROMagar Candida. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2006; 5: 1.
11. Hospenthal DR, Murray CK, Beckius ML, Green JA, Dooley DP. Persistence of pigment production by yeast isolates grown on CHROMagar Candida medium. J Clin Microbiol 2002; 40(12): 4768-70.
12. Niimi K, Shepherd MG, Cannon RD. Distinguishing Candida species by beta-N-acetylhexosaminidase activity. J Clin Microbiol 2001; 39(6): 2089-97.
13. Hoffman CS. Preparation of yeast DNA. Curr Protoc Mol Biol 2001; Chapter 13: Unit13.
14. Barns SM, Lane DJ, Sogin ML, Bibeau C, Weisburg WG. Evolutionary relationships among pathogenic Candida species and relatives. J Bacteriol 1991; 173(7): 2250-5.
15. Yamada Y, Makimura K, Merhendi H, Ueda K, Nishiyama Y, Yamaguchi H, et al. Comparison of different methods for extraction of mitochondrial DNA from human pathogenic yeasts. Jpn J Infect Dis 2002; 55(4): 122-5.
16. Farasat A, Ghahri M, Mirhendi H, Beiraghi S. Identification of candida species screened from catheter using patients with PCR-RFLP method. Euro J Exp Bio 2012; 2(3): 651-6.
17. Zahir RA, Himratul-Aznita WH. Distribution of Candida in the oral cavity and its differentiation based on the internally transcribed spacer (ITS) regions of rDNA. Yeast 2013; 30(1): 13-23.
18. Cannon RD, Chaffin WL. Oral colonization by candida albicans. Crit Rev Oral Biol Med 1999; 10(3): 359-83.
19. Lundman BM, Asplund K, Norberg A. Smoking and metabolic control in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. J Intern Med 1990; 227(2): 101-6.
20. Hsia CC, Sun TT, Wang YY, Anderson LM, Armstrong D, Good RA. Enhancement of formation of the esophageal carcinogen benzylmethylnitrosamine from its precursors by Candida albicans. Proc Natl Acad Sci U S A 1981; 78(3): 1878-81.
21. Arendorf TM, Walker DM. The prevalence and intra-oral distribution of Candida albicans in man. Arch Oral Biol 1980; 25(1): 1-10.
22. Macgregor ID. Effects of smoking on oral ecology. A review of the literature. Clin Prev Dent 1989; 11(1): 3-7.
23. Arendorf TM, Walker DM. Tobacco smoking and denture wearing as local aetiological factors in median rhomboid glossitis. Int J Oral Surg 1984; 13(5): 411-5.
24. 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.
25. Taheri Sarvtin M, Farhang Zand Parsa A, Kordbacheh P, Hashemi J, Mahmoudi M, Daie R, et al. The comparison of oral candida flora in smokers and non-smokers. J Arak Univ Med Sci 2010; 13(1): 78-82. [In Persian].

Journal of Isfahan Medical School

Vol. 33, No. 362, 2nd Week, February 2016

Received: 07.10.2015

Accepted: 16.12.2015

Identification of Candida Species in Oral Cavity of Smokers and Nonsmokers

Mohammad Reza Javaheri[1], Faezeh Mohammadi PhD[2], Mostafa Chadeganipour PhD[3], Shahram Nekoian[4], Parvin Dehghan PhD[5]

Original Article

Abstract

Background: Candida albicans is the most common fungal species isolated from the oral cavity. Oral candidiasis is due to biofilm formation and an overgrowth of Candida species. Cigarette smoking can affect Candida colonization of the oral cavity. This study aimed to investigate the presence and identification of Candida species isolated from oral cavity in smokers and nonsmokers individuals.

Methods: 76 oral cavity and saliva samples were collected during March 2014 to September 2015 from two groups of smokers (n = 38; mean age: 48.50 ± 9.76 years) and nonsmokers (n = 38; mean age: 44.68 ± 10.79 years) as the control group. The swabs were cultured on sabouraud dextrose agar (SDA) media and then, pure colonies were picked to transfer on CHROMagar candida. Likewise, the saliva samples were collected from the both groups for the measurement of salivary glucose and pH. The identification of candida species was completed using the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method.

Findings: The incidence frequencies of Candida albicans, Candida Kefyr and Candida krusei were 42.10%, 5.30% and 2.63%, and 26.31%, 2.63% and 0.0% in smoker and nonsmoker groups, respectively. However, Candida dubliniensis was not detected from the oral cavities in both two groups.

Conclusion: At the present study, the colonization of Candida albicans in smokers was more prevalent compared to nonsmokers. The amount of salivary glucose, the number of cigarette smoked per day and the oral hygiene status were the most important predisposing factors for candida colonization in the mouth.

Keywords: Oral Candidiasis, Candida species, Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)

Citation: Javaheri MR, Mohammadi F, Chadeganipour M, Nekoian Sh, Dehghan P. **Identification of Candida Species in Oral Cavity of Smokers and Non-Smokers.** J Isfahan Med Sch 2016; 33(362): 2105-10

1- MSc Student, Department of Medical Mycology and Parasitology, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Department of Medical Mycology and Parasitology, School of Public Health AND Institute of Public Health Research, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3- Professor, Department of Mycology and Parasitology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Department of Cellular and Molecular Biology, Isfahan Province Health Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
5- Assistant Professor, Department of Mycology and Parasitology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Parvin Dehghan PhD, Email: dehghan@med.mui.ac.ir