Archive of SID

Frequency of Candida species isolated from the Oral Cavity of HIV-Infected Patients referring to Behavioral disease Counseling Center of Isfahan in 2017-2018

Heidarian Asgha[1],Parvin Dehghan[2], Mostafa Chadeganipour[3], Katayon Tayeri[4]

1.MS student of Medical mycology, Department of Mycology and Parasitology, Isfahan University of Medical Sciences .

2. PhD of Medical Mycology, Department of Mycology and Parasitology, Isfahan University of Medical Sciences .ORCID CD:0000-0002-0000-6643

3. PhD of Medical Mycology, Department of Mycology and Parasitology, Isfahan University of Medical Sciences .

4.Infectious Diseases specialist and fellowship of AIDS Research Center ,Tehran University of Medical Sciences.

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 13:46 +0330 on Saturday January 25th 2020

ABSTRACT

Background and Aim: patients infected with HIV are susceptible to opportunistic infections such as candidiasis. In normal individuals, *Candida* spp. exist as normal flora of the mucous membranes. In this study we compared the frequencies of different species of *Candida* between HIV infected patients receiving anti-retroviral therapy (ART) and normal individuals .

Materials and Methods: This case- control study included 60 HIV positive patients receiving antiviral therapy as our case group and 60 normal individuals as control group. Oral samples were prepared by two wet swabs and cultured on *Sabouraud dextrose agar*. Colonies grown on the culture medium were identified by phenotyping and molecular (PCR) methods at two different temperatures.

Results: *Candida* species were isolated from the oral mucosa of 68.3% of HIV positive patients and 53.3% of normal individuals. Rate of colonization of oral cavity by candida showed no significant relationships with the variable parameters of TCD4+ (P = 0.12), viral load (P = 0.24), and duration of HIV infection (P = 0.92), but it had significant relationships with brushing (P = 0.001), smoking (P = 0.043) and drug abuse (P = 0.002).

Conclusion: The result showed an increased shift of the yeast colonization from C.*albicans* to non- albicans species in HIV-infected subjects. Considering the susceptibility of this group to opportunistic infections such as candidiasis, regular and periodic monitoring of these patients is necessary. Tooth brushing, discontinuation of cigarette smoking and drug abuse, together with oral hygiene are recommended.

Keywords: AIDS, HIV, Candida, Viral load, C. *albicans*

Recived: feb3,2019 **Accept: Aug24.2019**

How to cite the article: Elham Razani, Davood Bashash. Frequency of Candida species isolated from the Oral Cavity of HIV-Infected Patients referring to Behavioral disease Counseling Center of Isfahan in 2017-2018. SJKU 2019; 24 (5): 30-41

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBY-NC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

www.SID.ir

Archive of SID

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره بیست و چهارم / آذر و دی ۱۳۹۸/ ۱۴۱-۳۰

بررسی فراوانی گونه‌های کاندیدایی جدا شده از دهان افراد مبتلا به HIV مراجعه کننده به مرکز مشاوره بیماری های رفتاری اصفهان در سال ۱۳۹۶

اصغر حیدریان[۱]، پروین دهقان[۲]، مصطفی چادگانی پور[۳]، کتایون طایری[۴]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد قارچ شناسی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲. دکترای قارچ شناسی گروه قارچ و انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان ، ایران ،تلفن ثابت : dehghan@med.mui.ac.ir، کد ارکید:۶۶۴۳-۰۰۰۰-۰۰۰۰-۰۰۰۲

۳.دکترای قارچ شناسی گروه قارچ و انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴. متخصص بیماری های عفونی فلوشیپ مرکز تحقیقات ایدز، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران ، ایران

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 13:46 +0330 on Saturday January 25th 2020

چکیده

زمینه و هدف: در بیماران آلوده به اچ آی وی زمینه برای ایجاد عفونت های فرصت طلب ازجمله کاندیدیازیس فراهم می شود. کاندیدا در حالت طبیعی به صورت فلور نرمال در مخاطات یافت می شود. در این مطالعه، فراوانی انواع گونه های کاندیدا در دهان بیماران HIV مثبت تحت درمان ضد ویروسی در مقایسه با گروه شاهد مورد بررسی قرار می گیرد.

روش بررسی: در مطالعه مورد – شاهدی حاضر، از ۶۰ بیمار مبتلا به HIV که تحت درمان ضد ویروسی بوده و یک گروه شاهد با روش سواب از حفره دهانی نمونه گیری انجام شد. کشت بر روی محیط سابورو دکستروز آگار انجام گرفت و کلنی‌های رشد کرده با روش فنوتیپیکی، مولکولی (PCR) و رشد در دماهای مختلف شناسایی شدند.

یافته‌ها: از دهان ۶۸/۳٪ افراد مبتلا به HIV و ۵۳/۳٪ از افراد نرمال گونه های کاندیدا جداسازی شد و رابطه معنی داری بین میزان کلونیزاسیون فلور دهانی کاندیدا با متغیرهای میزان+TCD4 (P =۰/۱۲)، بار ویروس (Viral Load) (P =۰/۲۴) و مدت زمان ابتلا به HIV (P =۰/۹۱)، مشاهده نشد ولیکن با مسواک زدن(P =۰/۰۰۱)، سیگار کشیدن(P =۰/۰۴۳) و مصرف مواد مخدر(P =۰/۰۰۲) ارتباط معنی دار مشاهده شد.

نتیجه گیری: این بررسی نشان داد که در بیماران ایدزی یک شیفت و افزایشی به گونه های غیر آلبیکنسی دیده می شود و با توجه به حساسیت این گروه به عفونت‌های فرصت طلب، مانیتورینگ مرتب و دوره‌ای در این گروه پیشنهاد می‌شود. همچنین با توجه به نقش مسواک زدن و عدم مصرف مواد مخدر و سیگار در کاهش فلور کاندیدایی، رعایت بهداشت دهان در این گروه توصیه می شود.

کلیدواژه ها: HIV، کاندیدا، کاندیدا آلبیکنس، بار ویروس (Viral Load)

وصول مقاله:۹۷/۱۱/۱۴ اصلاحیه نهایی:۹۸/۵/۵ پذیرش: ۹۸/۶/۲

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 13:46 +0330 on Saturday January 25th 2020

مقدمه

کاندیدا یکی از قارچ‌های مخمری فرصت‌طلب است که جزو فلور نرمال مخاطات در بدن بوده و در دهان و دستگاه گوارش ۵۰-۳۰٪ از افراد طبیعی یافت می‌شود که البته در بیماران تحت مراقبت پزشکی این مقدار بسیار بیشتر گزارش شده است(۱). بیماری ایدز یکی از مهم‌ترین بیماری‌های نقص سیستم ایمنی سلولی است که توسط ویروس HIV ایجاد شده و با توجه به تهاجم این ویروس به سلول‌های لنفوسیت+ CD4 و از بین بردن این سلول‌ها که به نوعی نقش فرماندهی سیستم دفاع سلولی را بر عهده دارند، زمینه را برای ایجاد بیماری‌های عفونی فرصت طلب از جمله کاندیدیازیس فراهم می‌کند. به طوری که حدود ۹۰ ٪ از افراد مبتلا به HIV حداقل یک‌بار در طول بیماری به ضایعات دهانی ناشی از این مخمر مبتلا می‌شوند(۲). ضایعات دهانی معمولاً اولین علامت بروز یافته در بیماران مبتلا به HIV بوده، که با پیگیری علت آن، منجر به تشخیص ایدز در آن ها شده است و شایع‌ترین ضایعه در بیماران HIV مثبت است(۴و۳). کاندیدا آلبیکنس با فراوانی ۶۰ تا ۸۰ در صد به عنوان شایع‌ترین گونه جدا شده از دهان بیماران و افراد سالم است(۷-۵). در سال ۱۹۹۷ Coleman و همکاران درگزارشی مربوط به بیماری کاندیدیازیس در افراد مبتلا به ایدز به گونه جدیدی از کاندیدا به نام کاندیدا دابلینینسیس اشاره نموده و در مورد این گونه جدید در افراد ایدزی می پردازد که از نظر فنوتیپی خیلی شبیه کاندیدا آلبیکنس است، ولی از نظر ژنوتیپی متفاوت بوده و از نظر شدت بیماری‌زایی و مقاومت به داروی فلوکونازول حائز اهمیت بیشتری است(۸). در مطالعه‌ای که در ایران بر روی ۱۵۰ بیمار مبتلا به ایدز انجام شد، از حفرات دهانی ۷۷/۲ ٪ از بیماران گونه های مخمری جدا کردند که ۵۰ ٪ آن ها کاندیدا آلبیکنس، ۲۲ ٪ کاندیدا گلابراتا و مابقی انواع دیگر کاندیدا بودند(۹). در مطالعه مشابه دیگری که از نمونه دهانی ۱۵۰ بیمار آلوده به ویروس HIV انجام شد، از ۸۹ نفر(۵۹/۳ ٪)آن ها کاندیدا جدا گردید که ۵۲/۹٪ آن‌ها کاندیدا آلبیکنس، ۱۵/۷٪ کاندیدا دابلینینسیس، ۱۱/۸ ٪ کاندیدا تروپیکالیس و ۱۹/۶ ٪ بقیه گونه‌ها تشخیص داده شد(۱۰). در ایتالیا در مطالعه‌ای بر روی ۴۲ بیمار +HIV از ۶۱/۹ ٪ آن‌ها گونه‌های کاندیدا جدا کردند که فراوان‌ترین گونه کاندیدا آلبیکنس با ۷۳/۱ ٪ بود(۱۱) و از تعداد ۷۵ بیمار مبتلا به ایدز، در هندوستان در ۶۵/۳۳٪ آنان مخمّر کاندیدا از دهانشان جدا کردند در حالی که در گروه کنترل این مقدار ۴۲/۳۱ بود و فراوان ترین گونه جداشده کاندیدا آلبیکنس به میزان ۶۹/۳۹ ٪ بود(۱۲).

با توجه به اهمیت پراکندگی گونه‌های متفاوت کاندیدا و تفاوت مقاومت‌های دارویی در گونه‌های متفاوت کاندیدا، هدف اصلی در تحقیق حاضر ارزیابی میزان و نوع فلور دهانی کاندیدایی در بیماران مبتلا به ویروس HIV تحت درمان ضد ویروسی جهت کمک به پزشکان درمانگر این بیماران است.

روش بررسی

این مطالعه از نوع مورد- شاهدی بوده و معیار ورود در مطالعه بیماران HIV مثبت تحت درمان ضد ویروسی می‌باشند که بیماری آن‌ها طبق پروتکل کشوری با روش(ایمنوکروماتوگرافیRapid) و دو کیت متفاوت الایزای نسل چهار مورد تائید آزمایشگاه مرجع سلامت، به اثبات رسیده است(۱۳). جهت دریافت مراقبت های دوره‌ای و درمان به مرکز مشاوره بیماری‌های رفتاری

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 13:46 +0330 on Saturday January 25th 2020

اصفهان در سال ۱۳۹۶ مراجعه می‌کردند و یک گروه کنترل نیز شامل افراد HIV منفی که از نظر سن و جنس مشابه گروه بیماران بودند و بیماری زمینه‌ای خاصی نداشتند، انتخاب شدند.

حجم نمونه نیز بر اساس محاسبات آماری انجام شده توسط مشاور آماری ۶۰ نفر برای هر گروه تعیین شد. معیار خروج از مطالعه افرادی بودند که در یک ماه گذشته داروی ضد قارچی مصرف کرده باشند و یا به هر دلیل از شرکت در مطالعه انصراف دهند. در ابتدا یک رضایت‌نامه بر اساس فرمت تهیه شده در کمیته اخلاق دانشگاه توسط فرد داوطلب تکمیل شد و اطلاعات دموگرافیک شامل جنسیت، سن، مدت ابتلا به ایدز، مسواک زدن، مصرف دهان‌شویه، مصرف سیگار، ابتلا به دیابت، مصرف مواد مخدر، نوع و میزان رابطه جنسی از شخص مراجعه کننده در یک برگه جداگانه ثبت گردید و میزان Viral Load و CD4 آن ها از پرونده پزشکی آن ها استخراج گردید.

سپس با دو عدد سواب از حفره دهانی این افراد با مالش سواب به نقاط مختلف دهان به خصوص اطراف لثه و دندان ها نمونه گیری انجام گرفت .یکی از سواب ها بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار(مرک ، آلمان) به صورت فرشی کشت داده شد و با یکی از سواب ها یک عدد اسمیر بر روی لام تهیه شد.لام ها با روش گیمسا رنگ آمیزی شد و محیط های کشت به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار گرفت.

کلنی های رشد کرده در محیط سابورو دکستروز آگار به عنوان معیاری از میزان و شدت کلونیزاسیون شمارش شد و بر روی یک محیط کروم کاندیدا آگار (هایمدیا، هند) جهت افتراق بر اساس رنگ کلنی، پاساژ داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه انکوبه شد.

انجام آزمایش‌های مولکولی:

استخراج DNA : جهت انجام آزمایش ملکولی بر روی گونه های رشد کرده، از این کلنی ها یک پاساژ بر روی یک محیط سابورو دکستروز آگار دیگر داده شد و برای ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شد. از کلنی‌های رشد کرده به اندازه یک لوپ پر درون یک میکرو تیوب ۲ میلی لیتری حاوی ۵۰ میکرولیتر آب مقطر استریل انتقال داده شد و برای ۱۵ دقیقه در بن ماری جوش قرار داده شد. سپس این میکروتیوپ ها درون میکروسانتریفوژ با دور g۱۲۰۰۰ برای ۵ دقیقه سانتریفوژ شد و از محلول رویی جهت انجام آزمایش‌های مولکولی به یک میکروتیوپ استریل DNA Free انتقال داده شد(۱۴).

انجام واکنش PCR : در مرحله اول واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای ITS1 و ITS4 با حجم کلی ۳۰ میکرولیتر برای یک واکنش (Mastermix ۱۵ میکرولیتر (Amplicon دانمارک)، Primer ITS1 ۰/۵ میکرولیتر با غلظت ۲۵ پیکومول، Primer ITS4 ۰/۵ میکرولیتر با غلظت ۲۵ پیکومول، آب مقطر استریل ۱۲ میکرولیتر، DNA ۲ میکرولیتر) و سیکل دمایی ترموسایکلر [°۹۵ سانتی گراد ۵ دقیقه، °۹۴ سانتی گراد ۳۰ ثانیه، °۵۵ سانتی گراد ۴۵ ثانیه، °۷۲ سانتی گراد ۴۵ ثانیه، از دمای °۹۴ تا °۷۲ (۳۵ سیکل) و در انتها °۷۲ سانتی گراد ۵ دقیقه] انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در واکنش به قرار زیر است:

ITS1= 5'TCC GTA GGT GAA CCT (TGC GG3')

ITS4= 5'TCC TCC GCT TAT TGA (TAT GC3')

از محصول PCR در ژل ۱٪ الکتروفورز انجام گرفت(۱۵).

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 13:46 +0330 on Saturday January 25th 2020

در مرحله بعد با روش PCR-RFLP و استفاده از آنزیم محدودالاثر Msp1 از محصول PCR بالا واکنشی با حجم ۱۵ میکرومتر [شامل آنزیم *Msp*I ۰/۵ میکرولیتر (Thermo Fisher آمریکا)، بافر ۱۰X آنزیم ۱/۵ میکرولیتر، آب مقطر استریل ۳ میکرولیتر و محصول PCR ۱۰ میکرولیتر]در دمای ۳۷° سانتی گراد به مدت ۹۰ دقیقه واکنش انجام شد (۱۳). انجام الکتروفورز با استفاده از ژل آگاروز ۱/۵٪ بر روی محصول واکنش PCR-RFLP انجام گرفت(۱۶).

نظر به اینکه با روش‌های بالا کاندیدا آلبیکنس و دابلینینسیس قابل افتراق نمی‌باشند از روش Duplex-PCR برای تمایز بین این دوگونه با حجم واکنش ۱۵ میکرولیتر (Mastermix ۷/۵ میکرولیتر، ۰/۵ میکرولیتر از Primer CALF با غلظت ۲۰ پیکومول، ۰/۵ میکرولیتر از Primer CALR با غلظت ۲۰ پیکومول، ۰/۵ میکرولیتر از Primer CDUF با غلظت ۲۰ پیکومول، ۰/۵ میکرولیتر از Primer CDUR با غلظت ۲۰ پیکومول، آب مقطر استریل ۳/۵ میکرولیتر و DNA ۲ میکرولیتر) و سیکل دمایی دستگاه ترموسایکلر [۹۵° سانتی گراد ۵ دقیقه، ۹۴° سانتی گراد ۲۰ ثانیه، ۶۰° سانتی گراد ۴۵ ثانیه، ۷۲° سانتی گراد ۳۰ ثانیه، از دمای ۹۴° تا ۷۲° (۳۵ سیکل) و در انتها ۷۲° سانتی گراد ۵ دقیقه] انجام گرفت.

CALF = 5'-(TGGTAAGGCGGGATCGCTT-3')

CALR = 5'-GGTCAAAGTTTGAAGATATAC-(3')

CDUF = 5'-AAACTTGTCACGAGATTATTTTT-(3')

CDUR = 5'-AAAGTTTGAAGAATAAAATGGC-(3')

جهت مشاهده باندهای تکثیر شده، از الکتروفورز با ژل آگاروز ۱/۵٪ استفاده شد که باندهای کاندیدا آلبیکنس در محدوده ۱۰۰bp و کاندیدا دابلینینسیس در محدوده ۳۰۰ bp ظاهر شدند(۱۸و۱۷). همچنین جهت تمایز دو گونه آلبیکنس و دابلینینسیس از کشت در دمای ۴۲ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد نیز استفاده شد که از هر نمونه کلنی مشکوک به این دو گونه بر روی دوسری محیط سابورو دکستروز آگار کشت داده شد و یک سری از محیط‌ها در دمای ۴۲ درجه و سری دیگری در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شد(۱۹).

بمنظور تجزیه و تحلیل؛ داده های دموگرافیک بیماران و نتایج تشخیص آزمایش‌های در برنامه نرم افزاری SPSS 20 وارد شد و با آزمون های آماری ANOVA جهت مقایسه چند گروهی و آزمون اسپیرمن جهت بررسی همبستگی متغیرهای کمی مورد تحلیل قرار گرفت.ضمناکد اخلاق مربوط به مطالعه در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به IR.MUI.REC.1396.3.602 ثبت گردیده است.

یافته‌ها

از ۶۰ نفر بیمار HIV مثبت تحت درمان ویروس (ART) که به این مرکز مراجعه کرده و حاضر به شرکت در این مطالعه شدند ۴۰ نفر مرد و ۲۰ نفر زن که از نظر سنی در رده سنی بین ۱۰ تا ۶۵ سال و بیشترین فراوانی در محدوده ۴۵-۳۰ سال بود. مدت زمان ابتلا به HIV در این افراد بین ۱ تا ۱۵ سال، با میانگین ۵/۶ سال بود. از ۴۱ نفر (۶۸/۳٪) آن‌ها مخمر کاندیدا ایزوله شد که این میزان در گروه شاهد ۳۲ نفر (۵۳/۳٪) بود. با توجه به رنگ کلنی‌های پاساژ داده شده بر روی محیط کروم کاندیدا آگار، کلنی های سبز تا سبزآبی مشکوک به کاندیدا آلبیکنس و دابلینیسیس، کلنی های کرم، کرم صورتی تا بنفش مشکوک به کاندیدا گلابراتا، کروزه

www.SID.ir

Archive of SID

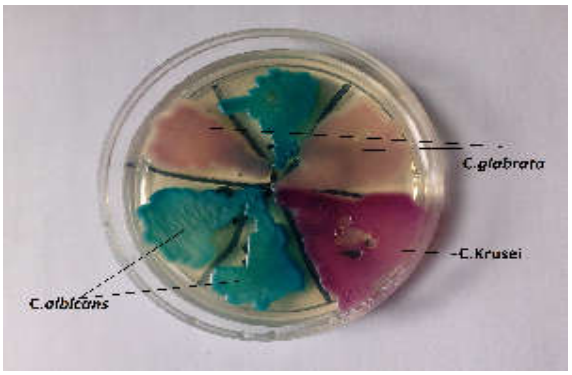
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 13:46 +0330 on Saturday January 25th 2020

ای، پاراپسیلوسیس و کفایر و کلنی‌های آبی رنگ مشکوک به کاندیدا تروپیکالیس طبقه بندی شدند (شکل ۱)(۱۵).

با بررسی نتایج از آزمایش‌های مولکولی از ۴۱ گونه جداشده در گروه بیماران HIV مثبت ۱۸ گونه (۴۴٪) کاندیدا آلبیکنس، ۱۱ گونه (۲۶/۸٪) کاندیدا گلابراتا، ۷ گونه (۱۷/۱٪) کاندیدا دابلینینسیس و ۵ گونه (۱۲/۱٪) سایر گونه ها بود. این مقادیر در گروه شاهد به ترتیب ۷۸٪، ۶/۲٪، ۳/۱٪ و ۱۲/۷٪ بود (شکل۲ تا ۴) و (جدول ۱).

جدول ۱. فراوانی گونه‌های کاندیدا جداشده از بیماران مبتلا به HIV و گروه شاهد

گونه	تعداد (درصد) ایزوله جدا شده در گروه مبتلا به HIV	تعداد (درصد) ایزوله در گروه شاهد
کاندیدا آلبیکنس	۱۸ (٪۴۴)	۲۵ (٪۷۸)
کاندیدا گلابراتا	۱۱ (٪۲۶/۸)	۲ (٪۶/۲)
کاندیدا دابلینینسیس	۷ (٪۱۷/۱)	۱ (٪۳/۱)
کاندیدا تروپیکالیس	۲ (٪۴/۸)	۱ (٪۳/۱)
کاندیدا کروزئی	۱ (٪۲/۴)	۱ (٪۳/۱)
کاندیدا کفایر	۲ (٪۴/۸)	۲ (٪۶/۲)

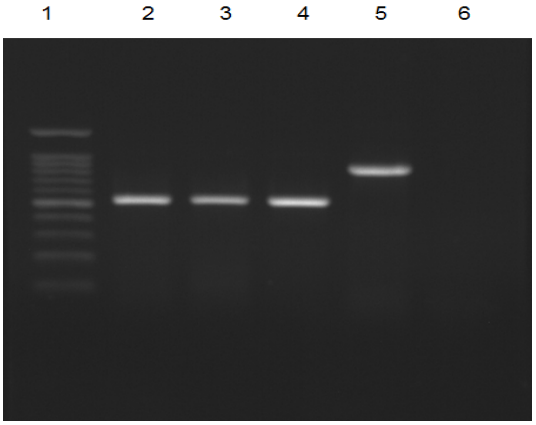


شکل ۱. رنگ کلنی های انواع کاندیدای جدا شده از دهان افراد مورد مطالعه بر روی محیط کروم کاندیدا آگار

www.SID.ir

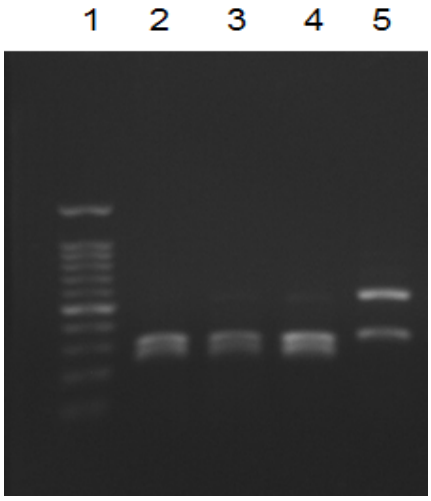
Archive of SID

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 13:46 +0330 on Saturday January 25th 2020



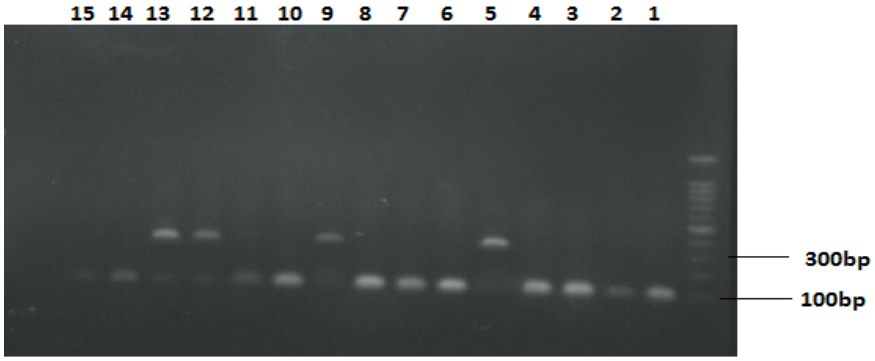
شکل ۲. واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای ITS1 و ITS4

۱-Ladder ۲- و ۳ و ۴ کاندیدا آلبیکنس ۵-کاندیدا گلابراتا ۶-بلانک



شکل ۳. واکنش PCR-RFLP با استفاده از آنزیم محدودالاثر Msp1

۱-Ladder ۲- و ۳ و ۴ کاندیدا آلبیکنس ۵-کاندیدا گلابراتا



شکل ۴. واکنش Duplex-PCR جهت تمایز کاندیدا آلبیکنس از دابلینینسیس: ۴-۱ و ۸-۶ و ۱۱-۱۰ و ۱۵-۱۴ کاندیدا آلبیکنس، ۵ و ۹ و ۱۳-۱۲ کاندیدا دابلینینسیس

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 13:46 +0330 on Saturday January 25th 2020

از ۴۱ بیمار HIV مثبت که دارای فلور دهانی کاندیدایی بودند ۷۳ ٪ مرد و ۲۷ ٪ زن بودند و در گروه شاهد نیز از ۳۲ نفر دارای فلور دهانی کاندیدا ۶۲ ٪ مرد و ۳۸ ٪ زن بودند، لذا در هر دو گروه میزان کلونیزاسیون دهانی کاندیدا در مردان بیش از زنان بوده است. هیچ‌کدام از بیماران دارای ضایعه دهانی نبودند در لام مستقیم آن‌ها سودو هایف مشاهده نشد در حالی که در محیط کشت تعداد کلنی قابل توجهی رشد نمود.

میانگین کلنی کانت رشد کرده در هر پلیت در گروه بیماران ۱۸۷ کلنی بود که در ۵ مورد از آن ها که بیشتر از ۲۰۰ کلنی رشد کرده بود کلونیزاسیون توأم کاندیدا آلبیکنس و گلابراتا جدا شد و در گروه شاهد میانگین کلنی کانت ۱۷۳ بود که در یک مورد که بالای ۱۰۰۰ کلنی در پلیت رشد کرده بود کلینیزاسیون توأم کاندیدا آلبیکنس و کفایر مشاهده شد.

در نتیجه کشت کاندیداهای مشکوک به کمپلکس آلبیکنس/دابلینینسیس در دو دمای ۴۲ و ۴۵ درجه، کاندیدا آلبیکنس در هر دو دما رشد کرد ولیکن کاندیدا دابلینینسیس فقط در دمای ۴۲ درجه رشد کرده بود که نتایج به دست آمده از این آزمایش با نتایج به دست آمده از روش Duplex-PCR تطابق داشت(شکل ۵).

شکل ۵. تمایز دو گونه آلبیکنس و دابلینینسیس با روش کشت در دمای ۴۲ درجه و ۴۵ درجه سانتی‌گراد

۲۹ نفر از مبتلایان به HIV دارای بار ویروسی ۶۰ تا ۲۸۸۷۳۲۰ بودند ولیکن رابطه معنی‌داری بین میزان Viral Load و وجود فلور دهانی کاندیدا (p=۰/۲۴) مشاهده نشد. میزان سلول های +CD4 در این گروه بین ۱۸ تا ۱۲۰۰ با میانگین ۴۹۹ بود که باز رابطه معنی داری بین میزان +CD4 و کلونیزاسیون کاندیدایی (p=۰/۱۲) مشاهده نشد. تعداد ۲۶ نفر از این بیماران حداقل روزی یک‌بار مسواک می‌زدند که با کلونیزاسیون فلور کاندیدایی(p<۰/۰۰۱) رابطه معنی‌داری داشت.

همچنین ۲۷ نفر از این بیماران سیگاری بوده که با وجود فلور کاندیدایی(P=۰/۰۴۳) رابطه معنی داری داشت ۱۴ نفر نیز مواد مخدر مصرف می کردند که با وجود فلور کاندیدایی(P=۰/۰۰۲) رابطه معنی‌دار داشت. همچنین میانگین مدت زمان ابتلا به HIV در این گروه ۵/۶ با رنج بین ۱ تا ۱۵ سال بود و نیمی از آن‌ها زیر ۴ سال مدت زمان ابتلای آن‌ها بود و البته با میزان کلونیزاسیون فلور کاندیدیایی(P=۰/۰۸۴) رابطه معنی‌داری نداشت. با توجه به اینکه تنها ۶ نفر از این

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 13:46 +0330 on Saturday January 25th 2020

گروه مبتلا به دیابت بودند و دهان‌شویه هم فقط توسط ۶ نفر استفاده می‌شد و اکثر این افراد به سؤالات مربوط به نوع و میزان رابطه جنسی پاسخ نداده بودند این متغیرها در مطالعه مداخله داده نشدند.

بحث

مطالعه حاضر نشان داد که کلونیزاسیون کاندیدا در دهان افراد مبتلا به ایدز در اصفهان بالاتر از افراد نرمال است و این مقدار (۶۸/۸٪) تقریباً با مطالعه Khedri و همکاران با ۵۹/۳٪، Giuseppina و همکاران در ایتالیا با ۶۱/۹٪، Kulshreshtha و همکاران در هند با ۶۵/۳۳٪ و Lourenço و همکاران در برزیل با ۵۸٪ همخوانی داشت(۲۰و۱۲-۹). در عین حال این مقدار در مقایسه با مقداری که Katiraee و همکاران در تهران به دست آوردند (۷۷/۲٪) کمتر است(۹)، که شاید به این علت باشد که نمونه‌گیری در مطالعه اخیر در مرکز تحقیقات ایدز تهران واقع در بیمارستان امام خمینی صورت گرفته که مخصوص بیماران ایدزی است و ۵۹/۹ ٪ آن‌ها دارای علائم ظاهری کاندیدیازیس دهانی بوده‌اند، در صورتی که شرکت‌کنندگان در این مطالعه افراد HIV مثبت تحت درمان ضد ویروسی بوده که هیچ‌کدام دارای علائم کاندیدیازیس دهانی نبودند. در این مطالعه فراوان‌ترین گونه کاندیدا جدا شده کاندیدا آلبیکنس بود که با سایر مطالعات همخوانی داشت و حتی در گروه‌های در معرض خطر دیگر مثل افراد همودیالیزی با ۶۶/۶ ٪، افراد مبتلا به آسم که کورتیکواستروئید مصرف می‌کردند با ۷۶/۶ ٪، دیابتی ها۹۳/۷ ٪، بیماران سرطانی با ۷۲/۲ ٪، معتادان تزریقی مبتلا به HCV با ۵۶/۶ ٪ و سایر بیماری‌های نقص سیستم ایمنی انجام گرفته است همخوانی داشت(۲۷-۲۱). در مطالعه حاضر ۶۶ ٪ از کاندیداهای ایزوله شده غیرآلبیکنس بودند در حالی که در گروه شاهد از ۳۲ کاندیدا ایزوله شده ۷۸ ٪ آن‌ها کاندیدا آلبیکنس و تنها ۲۲ ٪ گونه های غیر آلبیکنس بودند که نشان دهنده یک افزایش به سمت گونه های غیر آلبیکنس در بیماران آلوده به HIV است و این رویکرد نه تنها در مطالعات دیگر صورت گرفته در بیماران مبتلا به HIV وجود دارد، بلکه حتی در مطالعه‌ای که Mohammadi و همکاران بر روی بیماران دیابتی انجام دادند نیز مشاهده شده است. به‌طوری که در مطالعه صورت گرفته بر روی بیماران دیابتی از ۳۲ گونه کاندیدای جدا شده ۲۱ گونه آن آلبیکنس و ۱۱ گونه آن غیر آلبیکنس بوده در حالی که در گروه کنترل آن مطالعه از ۱۷ گونه کاندیدای جدا شده ۱۳ گونه آن آلبیکنس و تنها ۴ گونه آن غیر آلبیکنس بوده است(۲۷). همچنین در مطالعه حاضر کاندیدا دابلینینسیس با فراوانی ۱۷/۱ ٪ از دهان بیماران جدا شد که با مقدار به دست آمده توسط Khedri و همکاران (۱۵/۷ ٪) تقریباً همخوانی داشت(۱۰). البته جداسازی کاندیدا دابلینینسیس در سایر بیماری‌هایی که سیستم ایمنی بدن لزوماً تضعیف شده نیست ، نیز رو به افزایش است به طوری که Kianipour و همکاران از ۱۲۰ نمونه برنکوآلوئولار (BAL) دو گونه کاندیدا دابلینینسیس و Abharian و همکاران در مطالعه‌ای که بر روی ۸۳ معتاد به مواد مخدر انجام داد، تعداد ۱۴ گونه کاندیدا دابلینینسیس از دهان مبتلایان به مواد مخدر جدا کرد(۲۸و۲۵). در مورد نقش سلول‌های +CD4 در کاهش کلونیزاسیون فلور کاندیدایی اختلاف نظر زیاد وجود دارد که بعضی برای آن رابطه معنی دار

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 13:46 +0330 on Saturday January 25th 2020

به دست آورده‌اند(۲۰و۱۰و۳) و در مواردی رابطه معنی داری برای نقش آن به دست نیامده است(۱۱). در مطالعه حاضر نیز رابطه معنی داری در مورد نقش سلول‌های +CD4 و کاهش کلونیزاسیون کاندیدایی به دست نیامد. در خصوص تأثیر متغیر مدت زمان ابتلا به ایدز و کلونیزاسیون فلور کاندیدایی در این مطالعه رابطه معنی داری به دست نیامد درحالی که در مطالعه صورت گرفته توسط Katiraee و همکاران با افزایش سن رابطه معنی‌دار وجود داشت، شاید علت این تفاوت به این دلیل باشد که بیشتر بیماران مطالعه حاضر مدت ابتلایشان به HIV زیر ۴ سال بوده است(۹). میزان کلونیزاسیون کاندیدا با کشیدن سیگار و مصرف مواد مخدر رابطه مستقیم داشت و تأثیر مستقیم سیگار در مطالعات دیگری نیز نشان داده شده است(۲۶و۲۵و۱۰و۹)، و به نظر می‌رسد این افزایش کلونیزاسیون کاندیدا ناشی از تأثیر سیگار در تغییر سلول‌های اپیتلیال دهان، کاهش سلول‌های لانگرهانس و لکوسیت های دهان باشد. همچنین رابطه معکوسی بین مسواک زدن و کلونیزاسیون کاندیدا مشاهده شد که در مطالعات دیگر نیز این رابطه به دست آمده است که احتمالاً دلیل آن شستشوی دهان و برداشتن و جدا نمودن بیوفیلم کاندیدایی و مخمرها از دندان‌ها و لثه و حفره دهانی است(۲۷و۲۶).

نتیجه‌گیری

این بررسی نشان داد که میزان جداسازی گونه‌های کاندیدا به خصوص گونه های غیر آلبیکنس در افراد مبتلا به HIV بیشتر از افراد سالم است و با توجه به حساسیت این گروه به عفونت های فرصت طلب از جمله کاندیدیازیس، مانیتورینگ مرتب و دوره‌ای در این گروه پیشنهاد می‌شود. همچنین با توجه به نقش مسواک زدن و عدم مصرف مواد مخدر و سیگار در کاهش فلور کاندیدایی، توصیه به رعایت بهداشت دهان در این گروه توصیه می گردد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد با شماره طرح تحقیقاتی شماره ۳۹۶۶۰۲ و تلاش همکاران گروه قارچ و انگل‌شناسی دانشکده پزشکی اصفهان و مرکز بهداشت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است که از همکاری کلیه این عزیزان تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

Reference

1. Malcolm D. Richardson DWW. Fungal Infection DIAGNOSIS AND MANAGEMENT2012.
2. Schwarcz L, Chen M-J, Vittinghoff E, Hsu L, Schwarcz S. Declining incidence of AIDS-defining opportunistic illnesses: results from 16 years of population-based AIDS surveillance. Aids. 2013;27(4):597-605.
3. 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. The American journal of medicine. 1994;97(4):339-46.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 13:46 +0330 on Saturday January 25th 2020

4. Strollo S, Lionakis MS, Adjemian J, Steiner CA, Prevots DR. Epidemiology of Hospitalizations Associated with Invasive Candidiasis, United States, 2002-2012(1). Emerg Infect Dis. 2016;23(1):7-13.
5. Pfaller M ,Diekema D. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clinical microbiology reviews. 2007;20(1):133-63.
6. Akpan A, Morgan R. Oral candidiasis. Postgraduate medical journal. 2002;78(922):455-9.
7. Williams D, Lewis M. Pathogenesis and treatment of oral candidosis. Journal of oral microbiology. 2011;3(1):5771.
8.Coleman DC, Sullivan DJ, Bennett DE, Moran GP, Barry HJ, Shanley DB. Candidiasis: the emergence of a novel species, Candida dubliniensis. Aids. 1997;11(5):557-67.
9. Katiraee F KAR, Khalaj V, Hajiabdolbaghi M, Khaksar A A, Rasoulinejad M et al Oral candidiasis in Human Immunodeficiency Virus (HIV) infected Tehran Univ Med J. 2010;68 (1) 37-44.
10. Khedri S, Santos A, Roudbary M, Hadighi R, Falahati M, Farahyar S, et al. Iranian HIV/AIDS patients with oropharyngeal candidiasis: identification, prevalence and antifungal susceptibility of Candida species. Letters in applied microbiology. 2018;67(4):392-9.
11. Campisi G, Pizzo G, Milici ME, Mancuso S, Margiotta V. Candidal carriage in the oral cavity of human immunodeficiency virus–infected subjects. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology. 2002;93(3):281-6.
12. Kulshreshtha S, Verma U, Khatri PK, Lal P. Prevalence of Oral Candida Carriage Rate among HIV Infected Asymptomatic and Non Infected Persons, their Antimycotic Sensitivity and its Association with CD4 Counts. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 2016;5(11):542-5.
13. Samiei S TK, Abasian L, mohrez M, Namdari H. HIV treatment counseling and diagnostic Country guidelines. In: Health Mo, editor. Department of Health and Medical Education2017.
14. Silva GAd, Bernardi TL, Schaker PDC, Menegotto M, Valente P. Rapid yeast DNA extraction by boiling and freeze-thawing without using chemical reagents and DNA purification. Brazilian Archives of Biology and technology. 2012;55(2):319-27.
15. Afsarian MH ZF, Kordbacheh P, Mahmoudi M, Rezaii S, Safara M. Identification and study of non-albicans candida species which isolated from clinical materials of patients with candidiasis. Tehran University Medical Journal (TUMJ). 2007;64:38-47.
16. Mohammadi R, Mirhendi H, Rezaei-Matehkolaei A, Ghahri M, Shidfar MR, Jalalizand N, et al. Molecular identification and distribution profile of Candida species isolated from Iranian patients. Medical mycology. 2013;51(6):657-63.
17. Ahmad S, Khan Z, Asadzadeh M, Theyyathel A, Chandy R. Performance comparison of phenotypic and molecular methods for detection and differentiation of Candida albicans and Candida dubliniensis. BMC infectious diseases. 2012;12(1):230.
18. Sampath A, Weerasekera M, Dilhari A, Gunasekara C, Bulugahapitiya U, Fernando N, et al. Comparison of duplex PCR and phenotypic analysis in differentiating Candida dubliniensis from Candida albicans from oral samples. AMB Express. 2017;7(1):141.
19. Pinjon E, Sullivan D, Salkin I, Shanley D, Coleman D. Simple, Inexpensive, Reliable Method for Differentiation of Candida dubliniensis fromCandida albicans. Journal of clinical microbiology. 1998;36(7):2093-5.

www.SID.ir

Archive of SID

20. Lourenço AG, Ribeiro AE, Nakao C, Motta AC, Antonio LG, Machado AA, Komesu MC. Oral Candida spp carriage and periodontal diseases in HIV-infected patients in Ribeirão Preto, Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. 2017;59.
21. Babaee, N, MirSaeed SA, Mohammadi GH, Sefidgar SAA, RahmaniI,SMM. Comporative evaluation of oral candida flora status in patients hemodyalisis and those with stage 3 and 4 chronic kidney disaease (2016): 199-208.
22. Azizi A IE, Rafiee A., Lawaf Sh ,Keykha N. The Prevalence of Candida Species in Saliva of Asthmatic Patients Treated with Inhaled Corticosteroids: Comparison of Beclomethasone and Fluticasone. Journal Of Dentistry. 2007;2:56-63.
23. Zakavi F, Shokohi T, Mofarrah R, Taghizadeh M, Hedayati MT. Identification of Different Species of Candida in Diabetic Patients using PCR-RFLP. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2015;25(128):1-9.
24. Maheronnaghsh M, Tolouei S, Dehghan P, Chadeganipour M, Yazdi M. Identification of Candida species in patients with oral lesion undergoing chemotherapy along with minimum inhibitory concentration to fluconazole. Advanced biomedical research. 2016;5.
25. Abharian PH, Dehghan P, Abharian PH, Tolouei S. Molecular characterization of Candida dubliniensis and Candida albicans in the oral cavity of drug abusers using duplex polymerase chain reaction. Current medical mycology. 2018;4(1):12.
26. Javaheri MR, Mohammadi F, Chadeganipour M, Nekoian S, Dehghan P. Identification of Candida species in oral cavity of smokers and nonsmokers. Journal of Isfahan Medical School. 2016;33(362):2105-10.
27.Mohammadi F, Javaheri MR, Nekoeian S, Dehghan P. Identification of Candida species in the oral cavity of diabetic patients. Current medical mycology. 2016;2(2):1.
28. Kianipour S, Ardestani ME, Dehghan P. Kianipour S, Ardestani ME, Dehghan P. Identification of Candida albicans and Candida dubliniensis species isolated from bronchoalveolar lavage samples using genotypic and phenotypic methods. Advanced biomedical research. 2018;7.
29. Sun H, Chen Y, Zou X, Li H, Yin X, Qin H, et al. Occurrence of oral Candida colonization and its risk factors among patients with malignancies in China. Clinical oral investigations. 2016;20(3):459-67.

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 13:46 +0330 on Saturday January 25th 2020

www.SID.ir