مجله دانشکده
دندانپزشکی اصفهان
۱۳۹۵؛ ۱۲(۲): ۱۹۹ تا ۲۰۸

بررسی مقایسه‌ای وضعیت فلور کاندیدایی دهان در افراد تحت همودیالیز با بیماران Stage۳ و ۴ نارسایی مزمن کلیوی

ندا بابایی[۱]
سیدعلی‌محمد قاضی میرسعید[۲]
سیدعلی‌اصغر سفیدگر[۳]
سید محمدمهدی رحمانی[۴]

۱: دانشیار، مرکز تحقیقات مواد دندانی، گروه بیماری‌های دهان، فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، مازندران، ایران.
۲: استادیار، گروه نفرولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، مازندران، ایران.
۳: دانشیار، گروه قارچ و انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، مازندران، ایران.
۴: **نویسنده مسؤول:** دانشجوی دندانپزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، مازندران، ایران. Email: mehdirahmani6991@yahoo.com

چکیده

مقدمه: دریافت درمان همودیالیز، ممکن است کلونیزاسیون کاندیدایی دهان را تحت تأثیر قرار دهد. مطالعه‌ی حاضر با هدف تعیین حضور گونه‌های کاندیدا و ارزیابی شیوع و شدت آن در بیماران مبتلا به نارسایی کلیه صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: در مطالعه موردی- شاهدی حاضر، از ۵۰ بیمار در مرحله‌ی انتهایی بیماری کلیوی End Stage Renal Disease (ESRD) که حداقل ۶ ماه پیش‌تر از این پژوهش، تحت درمان همودیالیز (HD = Hemodialysis) قرار گرفته بودند و ۵۰ بیمار با نارسایی مزمن کلیه (CKD = Chronic Kidney Disease) بدون نیاز به دیالیز، جهتِ شرکت در این مطالعه دعوت به عمل آمد. نمونه‌های دهانی با روش سوآب از سطح پشتی- خلفی زبان تهیه شد و برای ارزیابی رویش مخمرها، درجه کلونیزاسیون و شناسایی گونه‌ها، در محیط‌های کشت سابورو دکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل (SC = Sabouraud dextrose agar plus Chloramphenicol)، کروم آگار کاندیدا (CHROMagar™ Candida = CMA) و کورن میل آگار حاوی یک درصد توئین ۸۰ (Cornmeal agar plus %1 Tween 80 = CTA) کشت داده شد. داده‌های به دست آمده در نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۸ تحلیل و با کمک آزمون‌های Pearson chi-square، Wilcoxon-Mann-Whitney، Spearman's rho ارزیابی شدند (α = ۰/۰۵).

یافته‌ها: ۴۸٪ از افراد HD و ۳۸٪ از گروه CKD، از نظر حضور کلنی کاندیدا، کشت مثبت بودند که این میزان از دیدگاه آماری تفاوت معنی‌داری نداشت (p value = ۰/۵۴). کاندیدا آلبیکنس، گونه‌ی غالب جدا شده از هر دو گروه HD و CKD بود (به ترتیب ۶۶/۶٪ و ۸۴/۲٪). تحلیل آماری نشان داد که با افزایش سن بر درجه‌ی کلونیزاسیون افزوده می‌شود (r = ۰/۲۳، p value = ۰/۰۱۷). اما بین درجه کلونیزاسیون و جنس یا دوره‌ی دیالیز ارتباط معنی‌داری یافت نشد (p value > ۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: با توجه به محدودیت‌های این مطالعه، در رابطه با درصد کلونیزاسیون دهانی کاندیدا، تفاوتی بین دو گروه مورد بررسی مشاهده نشد.

کلید واژه‌ها: نارسایی کلیوی مزمن، کاندیدا، همودیالیز، شمارش کلنی قارچی، حفره دهان.

تاریخ ارسال: ۹۴/۱۰/۱۸ تاریخ اصلاح: ۹۵/۲/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۲۸

استناد به مقاله: بابایی ن، قاضی میرسعید س ع، سفیدگر س ع، رحمانی س م م: بررسی مقایسه‌ای وضعیت فلور کاندیدایی دهان در افراد تحت همودیالیز با بیماران Stage۳ و ۴ نارسایی مزمن کلیوی. مجله دانشکده دندانپزشکی اصفهان، ۱۳۹۵، ۱۲(۲)، ۱۹۹-۲۰۸.

مقدمه

نارسایی مزمن کلیوی (CKD = Chronic Kidney Disease)، تخریب پیش‌رونده و برگشت‌ناپذیر عملکرد کلیه‌ها است که به علت دلایل محیطی و ژنتیکی رخ می‌دهد (۱، ۲). عامل اصلی CKD در بزرگسالان، نفروپاتی دیابتی و فشار خون بالا است، در حالی که علت آن در کودکان مبتلا به CKD (نزدیک ۶۰-۷۰٪)، اختلالات کلیوی ارثی یا مادرزادی است (۳). در اثر نقصان در میزان تصفیه گلومرولی، نفرون‌ها عملکرد خود را از دست می‌دهند و به دنبال تجمع محصولات زاید متابولیک، تعادل الکترولیت‌ها بر هم ریخته و در نتیجه هم‌ایستایی (Homeostasis) طبیعی بدن دچار تغییر می‌گردد (۴). افراد مبتلا به CKD، جهت بهبود کیفیت زندگی خود می‌توانند از همودیالیز، دیالیز صفاقی و یا پیوند کلیه بهره گیرند (۱، ۵). این بیماران معمولاً با بازه‌ی وسیعی از مشکلات همچون آنمی، سوء تغذیه و عدم عملکرد صحیح سیستم ایمنی روبرو هستند که موجب شده از لحاظ ایمنی و مقابله با انواع عفونت، فاقد صلاحیت لازم باشند (۶-۹)؛ بطوری که عفونت‌های فرصت‌طلب، یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در این بیماران، به ویژه آن‌هایی که درمان همودیالیز دریافت می‌کنند، محسوب می‌گردد (۱۰). عفونت‌های با منشأ قارچی، مثالی از این دست عفونت‌ها به شمار می‌روند. قارچ‌های خانواده کاندیدا، مسؤول ۸۰٪ از عفونت‌های سیستمیک قارچی هستند که در ۴۰-۶۰٪ موارد، به مرگ منتهی می‌گردد (۱۱، ۱۲). بالغ بر ۱۷ گونه متفاوت از قارچ‌های این خانواده، جزو عاملین مولد کاندیدیازیس مهاجم در انسان به شمار می‌روند؛ با این حال، بیش از ۹۰٪ از موارد کاندیدیازیس به این پنج گونه نسبت داده می‌شود: کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا گلابراتا، کاندیدا پاراپسیلوزیس، کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا کروزئی (۱۳). کاندیدا آلبیکنس شایع‌ترین گونه‌ای است که چه به عنوان هم‌زیست و چه به عنوان پاتوژن فرصت‌طلب، از بدن انسان جدا گشته است (۱۴). مطالعات محدودی در رابطه با کلونیزاسیون فلور قارچی دهان در بیماران مبتلا به نارسایی مزمن کلیوی تحت همودیالیز انجام گرفته است که در ادامه ارایه می‌گردد.

یزدانی و همکاران (۱۵) در یک مطالعه‌ی توصیفی-تحلیلی از نوع مقطعی در ایران، رابطه احتمالی بین تعداد کلنی کاندیدای دهان و طول مدت همودیالیز را در ۱۱۴ بیمار مورد بررسی قرار دادند. به علت فراوانی متغیرها و عوامل مؤثر برایِ پیدایش زمینه مساعد جهت بروز عفونت، از نظر آماری رابطه‌ی معنی‌داری بین مدت همودیالیز و تعداد کلنی‌های کاندیدا مشاهده نشد.

Takeuchi و همکاران (۱۶) در ژاپن، در مطالعه‌ای موردی- شاهدی وضعیت فلور میکروبی دهان را در ۱۴۳ نفر، شامل ۸۱ بیمار مبتلا به نارسایی کلیوی مزمن که ۴۱ نفر از آن‌ها تحت همودیالیز بودند و همچنین ۶۲ فرد سالم به عنوان شاهد، مورد مطالعه قرار دادند. میزان میکروارگانیسم کاندیدا در گروه همودیالیز، از نظر آماری بطور معنی‌داری بالاتر از دو گروه غیر همودیالیزی و شاهد بود. همچنین مشاهده شد که حتی با حذف استفاده‌کنندگان دنچر در گروه دیالیز، باز هم میزان کاندیدا در گروه دیالیز، نسبت به گروه شاهد بیشتر بود.

در مطالعه‌ای موردی- شاهدی از نوع مقطعی در سوئد، Thorman و همکاران (۱۷)، شیوع عفونت‌های قارچی را در ۱۳۸ نفر، شامل ۹۳ بیمار مبتلا به CKD تحت دیالیز (همودیالیز = ۵۹ نفر؛ دیالیز صفاقی = ۳۴ نفر) و ۴۵ نفر به عنوان شاهد، مورد ارزیابی قرار دادند. عفونت‌های قارچی دهانی در ۳۲٪ از بیماران و ۱۱٪ از افراد شاهد مشاهده شد (p value = ۰/۰۰۷).

احمدیه و همکاران (۱۸) در ایران، وضعیت میکروفلورای دهان را در ۱۴۹ نفر، در رده سنی ۱۸-۷۰ سال، به روش Historical cohort مورد بررسی قرار دادند. تعداد ۴۹ بیمار که حداقل ۶ ماه تحت همودیالیز قرار گرفته بودند و ۵۰ بیمار پیوند کلیه که حداقل ۲۴ ماه از پیوند موفق آن‌ها می‌گذشت و گروه شاهد که شامل ۵۰ نفر با عملکرد کلیوی سالم بودند، مورد بررسی قرار گرفتند.

فراوانی میکروارگانیسم‌های استرپتوکوک موتانس (Streptococci mutans)، لاکتوباسیل (Lactobacilli)، پورفیرومونا‌س (Porphyromunas) و کاندیدا (Candida) در سه گروه تحت مطالعه، مورد مقایسه قرار گرفت. تنها، میکروارگانیسم کاندیدا در گروه همودیالیز و پیوند بطور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود. علاوه بر این، بستگی معنی‌داری میان مدت زمان دیالیز و پیوند با میکروارگانیسم‌های تحت مطالعه مشاهده نشد.

Godoy و همکاران (۱۹) در برزیل، در مطالعه‌ای توصیفی- مقطعی حفره دهان ۱۴۶ بیمار تحت همودیالیز با میانگین سنی ۵۲/۵ سال را با هدف تعیین فراوانی مخمرها، مورد ارزیابی قرار دادند. میزان کلونیزاسیون در بیماران بالای ۴۵ سال، بطور معنی‌داری بالا بود (p value < ۰/۰۱).

از آنجا که مطالعات اندکی در زمینه‌ی فلور کاندیدایی دهان بیماران مبتلا به نارسایی کلیوی مزمن (چه پیش از دیالیز و چه حین دیالیز) انجام گرفته است و همچنین با توجه به افزایش روزافزون تعداد بیماران همودیالیزی (۲۰، ۲۱) و احتمال بالای آلودگی این بیماران به پاتوژن‌های فرصت‌طلب قارچی (۱۰، ۲۲) و نیز نبود داده‌های منطقه‌ای در رابطه با وضعیت فلور کاندیدایی دهان آن‌ها، این مطالعه با هدف بررسی و مقایسه کلونیزاسیون فلور کاندیدایی در دهان افراد مبتلا به نارسایی کلیوی مزمن تحت همودیالیز با بیماران Stage ۳ و ۴ نارسایی مزمن کلیوی و نیز تأثیر درمان همودیالیز بر وضعیت فلور کاندیدایی دهان انجام گرفت.

فرضیه‌ی صفر این تحقیق این بود که دریافت درمان همودیالیز موجب افزایش شدت کلونیزاسیون دهانی کاندیدا در بیماران دیالیزی نمی‌گردد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه که به صورت موردی - شاهدی انجام گرفت، تعداد ۵۰ بیمار ۲۰-۶۵ ساله (۲۳ مرد و ۲۷ زن) مراجعه کننده به مرکز دیالیز بیمارستان شهید بهشتی شهرستان بابل و بیمارستان امام رضا شهرستان آمل که حداقل شش ماه تحت همودیالیز (HD) قرار گرفته بودند و نیز ۵۰ بیمار مبتلا به نارسایی مزمن کلیه (CKD) بدون نیاز به همودیالیز در طیف سنی ۲۰-۶۵ ساله (۲۴ مرد و ۲۶ زن) که به مطب خصوصی مراجعه کرده بودند، مورد ارزیابی قرار گرفتند. تعداد حجم نمونه بر اساس مطالعه‌ای مشابه انتخاب شد (۱۸). دو گروه از نظر سن و جنس یکسان سازی شدند. معیار ورود به مطالعه برای گروه CKD، سطح کراتینین سرم بیش از ۲ dl/mg بود؛ در ضمن، افراد با سابقه ابتلا به انواع بدخیمی‌ها، مصرف سیگار و الکل، استفاده از دندان مصنوعی متحرک (دنچر کامل و پارسیل)، سابقه رادیوتراپی در ناحیه سر و گردن، سابقه مصرف داروهای ضد قارچی طی یک ماه گذشته، استفاده دراز مدت از آنتی‌بیوتیک‌های با طیف وسیع و داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی، وارد مطالعه حاضر نگشتند. پس ازجمع‌آوری اطلاعات دموگرافیک موردنیاز و کسب رضایت آگاهانه جهت ورود به مطالعه، نمونه برداری در شرایط صبح ناشتا آغاز شد. نحوه‌ی اجرای این پژوهش در کمیته منطقه‌ای اخلاق در پژوهش‌های علوم پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بابل، به تصویب رسید.

نمونه‌گیری و شناسایی گونه کاندیدا

با توجه به تراکم بیشتر کاندیدا در بخش خلفی سطح پشتی زبان، نمونه برداری از این ناحیه انجام گرفت. نمونه‌ی مورد نیاز توسط سوآب پنبه‌ای استریل به شیوه‌ی مالش (Scrubbing) (۲۳) از ناحیه مذکور برداشته شد و در مجاورت شعله چراغ الکلی در محیط جامد سابورو دکستروز آگار (HiMedia®, Mumbai, India) حاوی ۵۰ µg/ml کلرامفنیکل (Clobiotic®, Tehran, Iran) به صورت خطی کشت داده شد؛ همچنین بخشی از نمونه بر روی یک لام کشیده و اسمیری تهیه شد و پس از تثبیت، برای رنگ‌آمیزی به روش متیلن بلو (Merck®, Darmstadt, Germany) جهت مشاهده بلاستوسپور و سودوهایف به آزمایشگاه منتقل گردید.

نمونه‌های کشت داده شده به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، انکوبه (Behdad® Incubator, Tehran, Iran) و سپس به دو گروه «کشت مثبت» (رشد مخمر) و «کشت منفی» (عدم رشد مخمر) تقسیم شدند. به جهت اطمینان، محیط‌های کشت منفی، دوباره به مدت ۱۲۰ ساعت در دمای اتاق انکوبه گشتند. تعداد کلنی‌های مخمری بر روی محیط‌های کشت مثبت تعیین و محیط‌های کشت بر اساس میزان اشغال محیط توسط کلنی‌های کاندیدایی (۲۴-۲۶) دسته‌بندی شدند (جدول ۱).

جهت بدست آوردن کلنی‌های خالص، کلنی‌های رویش یافته، در محیط SC تلقیح و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت دو روز انکوبه گشتند. سپس با استفاده از لوپ استریل، مقداری از کلنی‌های خالص شده بر روی محیط‌های کشت افتراقی کروم آگار کاندیدا (CHROMagar™ Candida, Paris, France) و کورن میل آگار (HiMedia®, Mumbai, India) حاوی یک درصد توئین ۸۰ (Merck®, Darmstadt, Germany) کشت داده شده و به ترتیب در دمای ۳۷ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۷۲ ساعت انکوبه گشتند. کلنی‌های رویش یافته در CMA بر مبنای رنگ و مورفولوژی کلنی، طبق دستورالعمل شرکت سازنده محیط کشت مورد ارزیابی قرار گرفته شدند. کلنی‌های ظاهر شده بر روی محیط CTA نیز از لحاظ تولید کلامیدوسپور بررسی شدند.

داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۸ (version 18, SPSS Inc., Chicago, IL) تحلیل آماری شد. برای بیان اطلاعات دموگرافیک و طول مدت دیالیز از آمار توصیفی استفاده شد. در مقایسه‌ی گروه مورد و شاهد، برای داده‌های رسته‌ای (Categorical) از آزمون Pearson chi-square استفاده گردید. میانگین داده‌های رتبه‌ای درجه کلونیزاسیون، با استفاده از آزمون غیر پارامتری Wilcoxon-Mann-Whitney محاسبه شد. آزمون غیر پارامتری Spearman's rho نیز برای تعیین میزان ارتباط بین سن، جنس و طول دوره دیالیز با درجه کلونیزاسیون مورد استفاده قرار گرفت (α = ۰/۰۵).

یافته‌ها

میانگین سنی گروه HD و گروه CKD، به ترتیب ۱۱/۶±۴۶/۴ و ۹ ± ۵۰/۹ محاسبه گردید. فراوانی جنسی در گروه بیماران همودیالیزی به صورت ۴۶٪ مرد و ۵۴٪ زن و در گروه شاهد، ۴۸٪ مرد و ۵۲٪ زن بود. گروه مورد بطور متوسط، ۴۵/۷ ± ۵۰/۶ ماه تحت درمان همودیالیز بوده که در محدوده ۶ تا ۲۰۴ ماه قرار داشت. جزییات دموگرافیک بیماران در جدول ۲ نشان داده شده است. ۴۸٪ از افراد همودیالیزی و ۳۸٪ از گروه شاهد، از نظر حضور کلنی کاندیدا (آلبیکنس و غیر آلبیکنس)، کشت مثبت بودند که این میزان تفاوت (بر اساس آزمون پیرسون) از دیدگاه آماری معنی‌دار نبود (p value = ۰/۵۴). درصد توزیع گونه کاندیدایی با توجه به جامعه‌ی مورد مطالعه در جدول ۳ نشان داده شده است. میانگین درجه کلونیزاسیون کاندیدایی در گروه همودیالیزی، ۱/۳ ± ۱/۱۸ و در گروه شاهد ۱ ± ۰/۷۲ محاسبه شد. بر خلاف تمایل بیشتر کلونیزاسیون کاندیدا به گروه مورد، اختلاف بین دو گروه (بر اساس آزمون Wilcoxon-Mann-Whitney) از لحاظ آماری چشمگیر نبود (p value = ۰/۱). تعداد و درصد فراوانی افراد تحت مطالعه بر اساس درجه کلونیزاسیون در جدول ۴ نشان داده شده است.

جدول ۱. معیار دسته‌بندی محیط‌های کشت

میزان اشغال محیط کشت توسط کلنی‌های کاندیدا	درجه کلونیزاسیون
عدم رشد	۰
محیط کشت $\frac{۱}{۴}$	۱
محیط کشت $\frac{۱}{۲}$	۲
محیط کشت $\frac{۳}{۴}$	۳
تمامی محیط کشت	۴

جهت بررسی تأثیر متغیر سن بر درجه کلونیزاسیون کاندیدایی، کل جامعه تحت مطالعه به سه زیرگروه سنی طبقه‌بندی شدند؛ گروه اول: ۲۰-۳۴ سال (۱۳ نفر)، گروه دوم: ۳۵-۴۹ سال (۳۲ نفر) و گروه سوم: ۵۰-۶۵ سال (۵۵ نفر). رابطه‌ی معنی‌داری بین سن و درجه کلونیزاسیون کاندیدایی (بر اساس آزمون پیرسون) مشاهده نشد (۰/۲۷۸ = p value). در همین مورد، زمانی که از آزمون اسپیرمن برای وجود ارتباط احتمالی بین این دو استفاده شد، مشاهده شد که با افزایش سن میزبان، افزایش معنی‌داری در درجه کلونیزاسیون کاندیدایی رخ می‌دهد (۰/۲۳ = r، ۰/۰۱۷ = p value).

جدول۲. جزییات دموگرافیک دو گروه مطالعه شده

متغیر	گروه تحت مطالعه HD تعداد (درصد)	CKD تعداد (درصد)	p value*
جنس			
زن	۲۷ (٪۵۴)	۲۶ (٪۵۲)	۰/۸۴۱
مرد	۲۳ (٪۴۶)	۲۴ (٪۴۸)	
سن (سال)			
۲۰-۳۴	۱۰ (٪۲۰)	۳ (٪۶)	۰/۱۱۴
۳۵-۴۹	۱۵ (٪۳۰)	۱۷ (٪۳۴)	
۵۰-۶۵	۲۵ (٪۵۰)	۳۰ (٪۶۰)	
دوره دیالیز (ماه)			
< ۲۴	۱۴ (٪۲۸)	---	---
۲۴-۵۹	۱۹ (٪۳۸)	---	
≥ ۶۰	۱۷ (٪۳۴)	---	
نتیجه‌ی کشت برای کاندیدای دهان			
مثبت	۲۴ (٪۴۸)	۱۹ (٪۳۸)	۰/۵۴
منفی	۲۶ (٪۵۲)	۳۱ (٪۶۲)	

* بر اساس Pearson chi-square

جدول ۳. تعداد و درصد قارچ‌های جدا شده از گروه‌های تحت مطالعه

نوع قارچ / گروه تحت مطالعه	CKD تعداد (درصد)	HD تعداد (درصد)
کاندیدا آلبیکنس	۱۶ (٪۸۴/۲)	۱۶ (٪۶۶/۶)
کاندیدا گلابراتا	۱ (٪۵/۳)	۳ (٪۱۲/۵)
کاندیدا کروزئی	۲ (٪۱۰/۵)	۴ (٪۱۶/۷)
کاندیدا تروپیکالیس	۰ (٪۰)	۱ (٪۴/۲)
p value*	۰/۵۴۹	

* بر اساس Pearson chi-square

جدول۴. تعداد و درصد فراوانی افراد تحت مطالعه بر اساس درجه کلونیزاسیون

گروه تحت مطالعه درجه کلونیزاسیون	CKD تعداد (درصد)	HD تعداد (درصد)
۰	۳۱ (٪۶۲)	۲۶ (٪۵۲)
۱+	۵ (٪۱۰)	۴ (٪۸)
۲+	۱۱ (٪۲۲)	۷ (٪۱۴)
۳+	۳ (٪۶)	۱۱ (٪۲۲)
۴+	۰ (٪۰)	۲ (٪۴)
p value*	۰/۰۹۱	

* بر اساس Pearson chi-square

میان نوع گونه کاندیدایی با متغیر سن (بر اساس آزمون پیرسون) تفاوت بارزی یافت نشد (۰/۰۷۲ = p value).

جهت ارزیابی تأثیر مدت دیالیز بر درجه کلونیزاسیون کاندیدایی، بیماران همودیالیزی بر اساس دوره دیالیز به سه زیرگروه تقسیم شدند (۱۹، ۲۷): دوره‌های درمانی کوتاه مدت (۱۴ نفر)، میان مدت (۱۹ نفر) و بلند مدت (۱۷ نفر)؛ اما رابطه‌ی معنی‌داری بین تعداد ماه‌های دیالیز و درجه کلونیزاسیون کاندیدایی (بر اساس آزمون پیرسون) مشاهده نشد (۰/۲۱۳ = p value).

توزیع جنسی میزان کلونیزاسیون کاندیدایی در افراد تحت مطالعه (بر اساس ضریب همبستگی اسپیرمن)، از نظر آماری معنی‌دار نبود (۰/۱ = r، ۰/۳۱۴ = p value). علاوه بر این، بر اساس آزمون پیرسون نیز تفاوتی بین دو جنس مشاهده نشد (۰/۶۸۴ = p value).

بحث

در این مطالعه، ۴۸٪ از بیماران تحت همودیالیز از نظر کلونیزاسیون کاندیدایی، کشت مثبت بودند که این میزان بیشتر از مقدار بدست آمده توسط Godoy و همکاران (۳۹٪) (۱۹) و همچنین احمدیه و همکاران (۳۸٪) (۱۸) بوده است. در مطالعه‌ی Takeuchi و همکاران (۱۶)، ۵۱/۲٪ بیماران از نظر کلونیزاسیون کاندیدایی دارای کشت مثبت بودند که بالاتر از یافته‌ی این مطالعه است. اختلافات مذکور

احتمالاً به علت تفاوت در روش و محل نمونه برداری و یا تفاوت در توزیع جمعیتی گونه‌های کاندیدا است.

بیماران تحت همودیالیز علاوه بر اعمال تهاجمی (مانند کاتتر وریدی) که فاکتور خطری برای کاندیدیازیس مهاجم محسوب می‌شود (۲۸) در معرض اختلالات ایمنی، تغذیه‌ای و روحی (۶) نیز هستند که موجب شده، توجه کافی به سلامت و بهداشت دهان خود نشان ندهند؛ به همین دلیل گمان می‌رفت که با افزایش مدت همودیالیز، درجات بالاتری از کلونیزاسیون در این بیماران مشاهده گردد اما چنین رویدادی در آن‌ها دیده نشد و از این نظر، همراستا با سایر مطالعاتی است که در این زمینه انجام شده است (۱۵، ۱۸، ۲۹).

همان‌طور که از ابتدا انتظار می‌رفت، کاندیدا آلبیکنس، گونه‌ی غالب جدا شده از هر دو گروه مورد و شاهد بوده (۶۶/۶٪ از بیماران HD و ۸۴/۲٪ از بیماران مبتلا به CKD) که از این نظر به بسیاری از مطالعات صورت گرفته، شباهت دارد اما درصد غالب بودن آن، مورد اختلاف نظر است (۲۶، ۳۰، ۳۱). از علل این تفاوت می‌توان به ناحیه‌ی نمونه‌گیری متفاوت (سطح پشتی زبان، گونه، بزاق و ...)، دامنه سنی گوناگون، وضعیت متغیر بهداشت دهان، مناطق مختلف جغرافیایی، تنوع در جوامع تحت مطالعه (حضور افراد سیگاری، افراد دارای دنچر، مبتلایان به سرطان، دیابت، تالاسمی، ایدز و در نتیجه سرکوب شدگی سیستم ایمنی با درجات متفاوت) اشاره کرد. در تعداد کمی از بیماران هر دو گروه مطالعه شده (هشت نفر از گروه HD و سه نفر از گروه CKD)، گونه‌های غیرِ کاندیدا آلبیکنس جدا شده بود. حضور این گونه‌ها از این حیث حایز اهمیت است که حساسیت کمی نسبت به داروهای ضد قارچی از خود نشان می‌دهند (۳۲، ۳۳).

نتایج مطالعات پیشین در مورد رابطه‌ی سن و میزان کلونیزاسیون کاندیدایی همسو نیست؛ برخی از مطالعات (۲۹، ۳۱، ۳۴) افزایش سن را عامل خطری برای افزایش کلونیزاسیون کاندیدایی می دانند، در حالی که تعدادی دیگر (۳۵-۳۷)، ارتباطی میان این دو متغیر در نظر نمی گیرند. نتایج مطالعه فعلی نشان می‌دهد که با افزایش سن، بر درجه کلونیزاسیون کاندیدایی افزوده می‌شود. این یافته در تأیید مطالعات پژوهشگران دیگر است که بیان کردند، کلونیزاسیون کاندیدا در افراد میانسال و با سنین بالاتر،به علت تضعیف سیستم ایمنی بدن (۳۴) و تغییر شرایط دهان (۱۹، ۳۸) افزایش می‌یابد. ذکر این نکته ضروری است که بیماران حاضر در گروه سنی ۵۰ تا ۶۵ سال نسبت به افراد حاضر در دو گروه سنی دیگر، از جمعیت بیشتری برخوردار بوده است. شاید این عاملی است که موجب شده این افراد از نظر شیوع کلونیزاسیون کاندیدایی، درصد بیشتری را به خود اختصاص بدهند.

در رابطه با شیوع جنسی کاندیدا، توافق عمومی وجود ندارد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان کلونیزاسیون کاندیدایی در بین دو جنس، تفاوت معنی‌داری ندارد که از این لحاظ با مطالعات دیگر (۱۸، ۱۹، ۲۹، ۳۵، ۳۹، ۴۰) همخوانی دارد؛ با این وجود، برخی از مطالعات (۴۱-۴۶) به شیوع بیشتر کلونیزاسیون در جنس مؤنث اشاره کرده و علت آن را عوامل هورمونی (۴۲، ۴۴) و آنمی فقر آهن (۴۱، ۴۵) دانسته‌اند.

در پژوهش حاضر به این دلیل از روش سوآب دهانی استفاده شد که ضمن آسان بودن و قابل قبول بودن برای بیماران، برای محل نمونه‌گیری از ویژگی بالایی برخوردار است (Site specific) که از این نظر نسبت به روش کشت بزاق تام (WSC = Whole Saliva Culture) و (CRC = Concentrated Oral Rinse) برتری دارد (۴۷). از آنجا که داده‌های حاصل از این روش، نیمه کمی است، برای استاندارد سازی داده‌ها از درجه‌بندی بر اساس میزان اشغال محیط کشت استفاده شده بود. برای دستیابی به نتایج دقیق‌تر پیشنهاد می‌شود که تلفیقی از روش‌های WSC یا CRC و سوآب از نواحی مختلف دهان مورد استفاده قرار گیرد. به دلیل کمبود نمونه (با توجه به معیارهای ورود به مطالعه) بیماران مبتلا به دیابت، فارغ از

نوع آن (یک یا دو) وارد مطالعه گشتند. پیشنهاد می‌گردد که در مطالعات بعدی، این بیماران به تفکیک نوع دیابت و مدت ابتلا به آن مورد مطالعه قرار گیرند. در این پژوهش سیگار و سابقه استفاده از دندان مصنوعی متحرک (پارسیل و یا کامل) به عنوان معیار خروج از مطالعه در نظر گرفته شد و در ارزیابی‌های آینده می‌تواند به عنوان عامل خطری برای کلونیزاسیون دهانی کاندیدا در بیماران با نارسایی کلیوی مزمن (در مراحل مختلف) مطالعه شود. اگرچه روش‌های شناسایی بکار رفته در بررسی حاضر برای قارچ کاندیدا، از حساسیت و ویژگی قابل قبولی برخوردار است اما توصیه می‌شود که در تحقیقات بعدی، روش‌های مولکولی مورد استفاده قرار گیرند. جهت جلوگیری از پیشرفت کلونیزاسیون به سمت کاندیدیازیس مهاجم، بهتر است که بیماران با نارسایی کلیوی مزمن، تحت رابطه‌ای فعال بین دندان‌پزشک و نفرولوژیست قرار گرفته و سلامت دهان آن‌ها، چه در مراحل اولیه CKD و چه در طول دوره همودیالیز، مورد پایش منظم قرار گیرد. در پایان پیشنهاد می‌شود که برای دربرگیری تعداد بیشتری از بیماران و رسیدن به نتایج دقیق‌تر، مطالعات آینده در مراکز متعددی انجام پذیرد.

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های این پژوهش، در ارتباط با درصد شیوع کلونیزاسیون دهانی کاندیدا، بین افراد تحت همودیالیز و بیماران با نارسایی مزمن کلیوی در stage ۳ و ۴، تفاوت معنی‌داری یافت نشد. جهت اثبات نقش همودیالیز در استعداد ابتلا به درجات بالای کلونیزاسیون کاندیدا و کاندیدیازیس دهانی در بیماران با نارسایی مزمن کلیه، نیاز به مطالعاتی گسترده‌تر و دقیق‌تر می‌باشد.

References

1. Castillo A, Mesa F, Liebana J, Garcia-Martinez O, Ruiz S, Garcia-Valdecasas J, et al. Periodontal and oral microbiological status of an adult population undergoing haemodialysis: A cross-sectional study. Oral dis 2007;13 (2): 198-205.
2. Eddy AA. Progression in chronic kidney disease. Adv Chronic Kidney Dis 2005; 12(4): 353-65.
3. Staples A, Wong C. Risk factors for progression of chronic kidney disease. Curr Opin Pediatr2010; 22(2): 161-9.
4. Jover Cervero A, Bagan JV, Jimenez Soriano Y, Poveda Roda R. Dental management in renal failure: patients on dialysis. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2008; 13(7): E419-26.
5. Proctor R, Kumar N, Stein A, Moles D, Porter S. Oral and dental aspects of chronic renal failure. J Dent Res 2005; 84(3): 199-208.
6. Haag-Weber M, Dumann H, Horl WH. Effect of malnutrition and uremia on impaired cellular host defence. Miner Electrolyte Metab 1992; 18(5-2): 174-85.
7. McClellan W, Aronoff SL, Bolton WK, Hood S ,Lorber DL, Tang KL, et al. The prevalence of anemia in patients with chronic kidney disease. Curr Med Res Opin 2004; 20(9): 1501-10.
8. Pesanti EL. Immunologic defects and vaccination in patients with chronic renal failure. Infect Dis Clin North Am 2001; 15(3): 813-32.
9. Pupim LB, Caglar K, Hakim RM, Shyr Y, Ikizler TA. Uremic malnutrition is a predictor of death independent of inflammatory status. Kidney Int 2004; 66(5): 2054-60.
10. Gupta RK. Opportunisticinfections in renal allograft recipients. Transplant Proc 2007; 39(3): 731-3.
11. Akeme Yamamoto AC, de Paula CR, Dias LB, Tadano T, Martins ER, Amadio JV, et al. Epidemiological and clinical characteristics of nosocomial candidiasis in university hospitals in Cuiaba-Mato Grosso, Brazil. Rev Iberoam Micol 2012; 29(3): 164-8.
12. Wenzel RP. Nosocomial candidemia: Risk factors and attributable mortality. Clin Infect Dis 1995 ; 20(6): 1531-4.
13. Vazquez JA, Sobel JD. Candidiasis. In: Kauffman CA, Pappas PG, Sobel JD, Dismukes WE (Eds). Essentials of clinical mycology. New York: Springer; 2011. pp.167-206.
14. Cannon RD, Holmes AR, Mason AB, Monk BC. Oral Candida: clearance, colonization, or candidiasis? J Dent Res 1995; 74(5): 1152-61.

15. Yazdani M, Jahanshahi GR, Mahdavi KN, Asadian F. Study of the relationship between oral Candida colony counts and time on hemodialysis at Khorshid Hospital, Isfahan, Iran. Transplant Proc 2003; 35(7): 2580-1.
16. Takeuchi Y, Ishikawa H, Inada M, Shinozuka O, Umeda M, Yamazaki T, et al. Study of the oral microbial flora in patients with renal disease. Nephrology (Carlton) 2007; 12(2): 182-90.
17. Thorman R, Neovius M, Hylander B. Prevalence and early detection of oral fungal infection: a cross-sectional controlled study in a group of Swedish end-stage renal disease patients. Scand J Urol Nephrol 2009; 43(4): 325-30.
18. Ahmadieh A, Baharvand M, Fallah F, Djaladat H, Eslani M. Oral microflora in patients on hemodialysis and kidney transplant recipients. Iran J Kidney Dis 2010; 4(3): 227-31.
19. Godoy JS, de Souza Bonfim-Mendonca P, Nakamura SS, Yamada SS, Shinobu-Mesquita C, Pieralisi N, et al. Colonization of the oral cavity by yeasts in patients with chronic renal failure undergoing hemodialysis. J Oral Pathol Med 2013; 42(3): 229-34.
20. Lee YK, Kim K, Kim DJ. Current status and standards for establishment of hemodialysis units in Korea. Korean J Intern Med 2013; 28(3): 274-84
21. Vesterinen M, RuokonenH, Leivo T, Honkanen AM, Honkanen E, Kari K, et al. Oral health and dental treatment of patients with renal disease. Quintessence Int 2007; 38(3): 211-9.
22. Conde-Rosa A, Amador R, Perez-Torres D, Colón E, Sánchez-Rivera C, Nieves-Plaza M, et al .Candidemia distribution, associated risk factors, and attributed mortality at a university-based medical center. P R Health Sci J 2010; 29(1): 26-9.
23. Lund RG, da Silva Nascente P, Etges A, Ribeiro GA, Rosalen PL, Del Pino FA. Occurrence, isolation and differentiation of Candida spp. and prevalence of variables associated to chronic atrophic candidiasis. Mycoses 2010; 53(3): 232-8.
24. Delost MD. Introduction to diagnostic microbiology for the laboratory sciences. 1st ed. Massachusett: Jones & Bartlett Learning; 2014. pp. 395-434.
25. Law D. Clinical mycology. In: Ford M (ed). Medical microbiology: Fundamentals of biomedical Science. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press; 2014. pp. 322-53.
26. FilippidiA, Galanakis E, Maraki S, Galani I, Drogari-Apiranthitou M, Kalmanti M, et al. The effect of maternal flora on Candida colonisation in the neonate. Mycoses 2014; 57(1): 43-8.
27. Rafiee AR, Makhlough A, Hashemi Nasab S, Hosseinian Amiri A, Abedian F. The serum levels of Th1 and Th2 cytokine profiles in patients with different stages of chronic kidney disease. J Mazandaran Univ Med Sci 2008; 18(63): 37-45.
28. Ostrosky-Zeichner L, Sable C, Sobel J, Alexander BD, Donowitz G, Kan V, et al. Multicenter retrospective development and validation of a clinical prediction rule for nosocomial invasive candidiasis in the intensive care setting. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2007; 26(4): 271-6.
29. Ruospo M, Palmer SC, Craig JC, Gentile G, Johnson DW, Ford PJ, et al. Prevalence and severity of oral disease in adults with chronic kidney disease: A systematic review of observational studies. Nephrol Dial Transplant 2014; 29(2): 364-75.
30. de la Rosa-Garcia E, Miramontes-Zapata M, Sanchez-Vargas LO, Mondragon-Padilla A. Oral colonisation and infection by Candida sp. in diabetic and non-diabetic patients with chronic kidney disease on dialysis. Nefrologia 2013; 33(6): 764-70.
31. Lyon JP, da Costa SC, Totti VM, Munhoz MF, de Resende MA. Predisposing conditions for Candida spp. carriage in the oral cavity of denture wearers and individuals with natural teeth. Can J Microbiol 2006; 52(5): 462-7.
32. Arendrup MC, Fuursted K, Gahrn-Hansen B, Schonheyder HC, Knudsen JD, Jensen IM, et al. Semi-national surveillance of fungaemia in Denmark 2004-2006: increasing incidence of fungaemia and numbers of isolates with reduced azole susceptibility. Clin Microbiol Infect 2008; 14(5): 487-94.
33. Meurman JH, Siikala E, Richardson M, Rautemaa R. Non-Candida albicans Candida yeasts of the oral cavity. In: Méndez-Vilas A (Editor). Communicating current research and educational topics and trends in applied microbiology. Badajoz: Formatex Research Center (Microbiology book series); 2007. pp. 719-31.
34. Lockhart SR, Joly S, Vargas K, Swails-Wenger J, Enger L, Soll DR. Natural defenses against Candida colonization breakdown in the oral cavities of the elderly. J Dent Res 1999; 78(4): 857-68.
35. Gonçalves RH, Miranda ET, Zaia JE, Giannini MJ. Species diversity of yeast in oral colonization of insulin-treated diabetes mellitus patients. Mycopathologia 2006; 162(2): 83-9.
36. Manfredi M, McCullough MJ, Al-Karaawi ZM, Hurel SJ, Porter SR. The isolation, identificationand molecular analysis of Candida spp. isolated from the oral cavities of patients with diabetes mellitus. Oral Microbiol Immunol 2002; 17(3): 181-5.
37. Tapper-Jones LM, Aldred MJ, Walker DM, Hayes TM. Candidal infections and populations of Candida albicans in mouths of diabetics. J Clin Pathol 1981; 34(7): 706-11.

38. Qi QG, Hu T, Zhou XD. Frequency, species and molecular characterization of oral Candida in hosts of different age in China. J Oral Pathol Med 2005; 34(6): 352-6.
39. Ghannoum MA, Jurevic RJ, Mukherjee PK, Cui F, Sikaroodi M, Naqvi A, et al. Characterization of the oral fungal microbiome (mycobiome) in healthy individuals. PLoS Pathog 2010; 6(1): e1000713.
40. Yang YL, Leaw SN, Wang AH, Chen HT, Cheng WT, Lo HJ. Characterization of yeasts colonizing in healthy individuals. Med Mycol 2011; 49(1): 103-6.
41. Arendorf TM, Walker DM. The prevalence and intra-oral distribution of Candida albicans in man. Arch Oral Biol 1980; 25(1): 1-10.
42. Hammad MM, Darwazeh AM, Idrees MM. The effect of glycemic control on Candida colonization of the tongue and the subgingival plaque in patients with type II diabetes and periodontitis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol 2013; 116(3): 321-6.
43. Javed F, Klingspor L, Sundin U, Altamash M, Klinge B, Engström PE. Periodontal conditions, oral Candida albicans and salivary proteins in type 2 diabetic subjects with emphasis on gender. BMC Oral Health 2009; 9: 12.
44. Kravtsov EG, Anokhina IV, Rybas YA, Sachivkina NP, Ermolaev AV, Brodskaya SB. Effects of female sex hormones on adhesion of Candida albicans yeast-like fungi to the buccal epithelium. Bull Exp Biol Med 2014; 157(2): 246-8.
45. Närhi TO, Ainamo A, Meurman JH. Salivary yeasts, saliva, and oral mucosa in the elderly. J Dent Res 1993; 72(6): 1009-14.
46. Samaranayake LP. Host factors and oral candidosis. In: Samaranayake LP, MacFarlane TW (Eds). Oral candidosis. Guildford: John Wright; 1990. pp. 66-103.
47. Byadarahally Raju S, Rajappa Sh. Isolation and Identification of Candida from the Oral Cavity. ISRN Dent 2011; 2011: 487921, 7 pages.

Comparative evaluation of oral Candidal flora status in patients undergoing hemodialysis and those with stage 3 and 4 chronic kidney disease

Neda Babaee[1]
Seyed Ali Mohammad Ghazi MirSaeed[2]
Seyed Ali Asghar Sefidgar[3]
Seyed Mohammad Mehdi Rahmani[4]

1. Associate Professor, Dental Materials Research Center, Department of Oral and Maxillofacial Medicine, School of Dentistry, Babol University of Medical Sciences, Babol, Mazandaran, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Nephrology, School of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Mazandaran, Iran.
3. Associate Professor, Department of Mycology and Parasitology, School of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Mazandaran, Iran.
4. **Corresponding Author:** Dental Student, Dental Student Research Center, School of Dentistry, Babol University of Medical Sciences, Babol, Mazandaran, Iran. **Email:** mehdirahmani6991@yahoo.com

Abstract

Introduction: Receiving hemodialysis therapy may affect oral candidal colonization. The aim of this study was to determine presence of Candida species in the oral cavity and evaluate their prevalence and severity in patients with renal insufficiency.

Materials & Methods: Fifty end-stage renal disease (ESRD) patients who initiated their hemodialysis (HD) therapy at least 6 months prior to this research and 50 patients with chronic kidney disease (CKD) not requiring HD (control group) were invited to participate in this case-control study. Oral samples were collected by swab technique from posterior-dorsal surface of the tongue and cultured on Sabouraud dextrose agar plus chloramphenicol (SC), CHROMagar Candida® (CMA) and cornmeal agar plus 1% Tween 80 (CTA) to assess the growth of yeasts, determine degree of colonization and identify species. Data analysis was performed using SPSS 18 with Pearson, chi-squared, Wilcoxon and Mann-Whitney tests and Spearman's rho ($\alpha = 0.05$).

Results: Based on the results, 48% of HD subjects and 38% of CKD subjects carried Candidal yeasts, with no significant difference (p value = 0.54). Candida albicans was the most predominant species isolated in both HD and CKD groups (66.6% and 84.2% respectively). Statistical analysis showed that colonization increased with age (p value = 0.017, r = 0.23), with no significant relationship between colonization severity and gender or time on dialysis (p value > 0.05).

Conclusion: Under the limitations of this investigation, no difference was observed in oral Candidal colonization percentages between two study groups.

Key words: Chronic kidney disease, Candida, Hemodialysis, Fungal colony count, Oral cavity.

Received: 8.1.2016 **Revised**: 29.4.2016 **Accepted:** 17.5.2016

How to cite: Mohammadi Zeidi I, Alijanzadeh M, Pakpour Hajiagah A. Comparative evaluation of oral Candidal flora status in patients undergoing hemodialysis and those with stage 3 and 4 chronic kidney disease. J Isfahan Dent Sch 2016; 12(2): 199-208.