

Prevalence and Antibiotic Resistance Pattern of *Candida* spp. Isolated from Pregnant Women Referred to Health Centers in Ardabil, Iran

Mohammadi-Ghalehbin B¹, Javanpour Heravi H², Arzanlou M*¹, Sarvi MR¹

1. Department of Microbiology and Parasitology, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

2. General Practitioner, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

*Corresponding author. Tel/Fax: +984533513429, Email: m.arzanlou@arums.ac.ir

Received: Oct 22, 2016

Accepted: Dec 30, 2016

ABSTRACT

Background & objectives: Candidiasis is a fungal infection which is caused by *Candida* spp. *Candida albicans* is the most common agent of candidiasis. This infection may cause various side effects during pregnancy including prematurity, chorioamnionitis, candidal pneumonia, and systemic candidiasis of infants. This research was conducted for determining the prevalence and antibiotic resistance pattern of *Candida* spp, collected from pregnant women admitted to health centers in Ardabil, Iran.

Methods: Totally, 408 subjects were included in this study. Demographic data and risk factors were recorded using a questionnaire. Two swab samples were taken from vulvovaginal mucus. One swab was used for preparing smear and direct microscopic examination and the second one used for cultivating the specimen. After identification of *Candida* spp., antimicrobial resistance pattern was determined by disk diffusion method against Fluconazole, Ketoconazole, Clotrimazole, Nystatin and Amphotericin B. Results were interpreted according to CLSI guidelines. The data were analyzed by χ^2 and t-test using SPSS-19.

Results: Out of 408 subjects, 143 cases (35%) were positive for *candida* spp. The *Candida albicans* with 119 (83.2%) cases was the most prevalent species followed by *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parpsilosis* and *Candida tropicalis*. According to disk diffusion test, overall 116 (81.1%) isolates were resistant to Fluconazole, 100 (69.9%) to Ketoconazole, 67 (46.9%) to Clotrimazole and 25 (17.5%) to Amphotericin B. *Candida* spp. had a highest sensitivity (118, 82.5%) to Nystatin. For *Candida albicans* 97(81.5%) isolates were resistant to Fluconazole and 99(83.2%) isolates to Nystatin. For *Candida glabrata* 10 (90.9%) isolates were resistant to Fluconazole, and 9(81.8%) sensitive to Nystatin.

Conclusion: According to the results of this study, vulvovaginal candidiasis is prevalent among pregnant women in Ardabil and isolates were significantly resistant against commonly used antifungal drugs. Nystatin was the most effective against *Candida* spp. As antibiogram for fungal agents is not routinely performed, the similar periodical studies could be useful for choosing appropriate antibiotics in treatment of vulvovaginal candidiasis.

Keywords: Candidiasis; Vulvovaginitis; Pregnant Women; Ardabil.

تعیین میزان شیوع و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی گونه‌های کاندیدا جداشده از زنان باردار مراجعه کننده به مراکز بهداشتی درمانی اردبیل

بهنام محمدی قلعه بین^۱، حنا نه جوان پور هروری^۲، محسن ارزنلو^{۱*}، محمد رضا سروی^۱

۱. گروه میکروبی شناسی و انکلیشناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

۲. پزشک عمومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن/فاکس: ۰۴۵۳۳۵۱۳۴۲۹ ایمیل: m.arzanlou@arums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: کاندیدیا یک عفونت قارچی است که توسط مخمرهای جنس کاندیدا ایجاد می‌شود و کاندیدا آلبیکانس شایعترین عامل آن می‌باشد. جدی‌ترین عوارض کاندیدیا در دوران بارداری عبارت از نارس بودن نوزاد، کوریو آمینیت، پنومونی کاندیدیایی و کاندیدیا سیستیک نوزادان می‌باشد. این مطالعه با هدف بررسی شیوع ولوواژینیت کاندیدیایی، تعیین گونه‌های کاندیدا و شناسایی گونه‌های مقاوم به درمان کاندیدا در زنان باردار مراجعه کننده به مراکز بهداشتی درمانی اردبیل انجام شد.

روش کار: تعداد ۴۰۸ نفر از زنان باردار مراجعه کننده به مراکز بهداشتی درمانی اردبیل انتخاب شدند. اطلاعات دموگرافیک و اخذ رضایت نامه با استفاده از یک پرسشنامه جمع آوری شدند. دو نمونه سوآب از ترشحات مخاطی واژن جهت دید مستقیم و کشت تهیه شد. پس از تعیین گونه‌های کاندیدا، جهت بررسی حساسیت دارویی سوبه‌های جداشده، از پنج دیسک فلوکونازول، کتوکونازول، کلوتریمازول، نیستاتین و امفوتریسین ب طبق دستورالعمل CLSI استفاده گردید. اطلاعات پرسشنامه و نتایج آزمایشات با استفاده از آزمون آماری کای ۲ و T-test در نرم افزار آماری SPSS-19 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: بر اساس نتایج کشت ۱۴۳ مورد (۳۵٪) از نمونه‌ها مثبت بودند. بیشترین گونه جدا شده کاندیدا آلبیکانس با ۱۱۹ مورد (۸۳/۲٪) و در رتبه بعدی کاندیدا گلابراتا، کاندیدا کروزه‌ای، کاندیدا پاراپسیلوزیس و کاندیدا تروپیکالیس بودند. مطابق نتایج آنتی بیوگرام، بیشترین مقاومت دارویی مربوط به فلوکونازول با ۱۱۶ مورد (۸۱/۱٪) و سپس کتوکونازول با ۶۹/۹٪ بود. در کل گونه‌های کاندیدا با ۱۱۸ مورد (۸۲/۵٪) بیشترین حساسیت را نسبت به نیستاتین نشان دادند. در مورد کاندیدا آلبیکانس بیشترین مقاومت به فلوکونازول با ۹۷ مورد (۸۱/۵٪) و بیشترین حساسیت به نیستاتین با ۹۹ مورد (۸۳/۲٪) دیده شد.

نتیجه گیری: ولوواژینیت کاندیدیایی در زنان باردار شهر اردبیل شایع است و ایزوله‌های کاندیدا به طور چشمگیری در مقابل داروهای رایج ضد قارچی مقاوم هستند. نیستاتین موثرترین داروی ضد کاندیدا بود. با توجه به اینکه تست آنتی بیوگرام به طور معمول در آزمایشگاه‌ها انجام نمی‌گیرد، انجام مطالعات مشابه در فاصله زمانی متعارف می‌تواند در انتخاب داروی مناسب کمک کننده باشد.

واژه‌های کلیدی: ولوواژینیت کاندیدیایی، کاندیدیازیس، زنان باردار، اردبیل

مقدمه

کاندیدیاز^۱ نوعی عفونت قارچی است که توسط مخمرهای جنس کاندیدا ایجاد می‌شود. بیش از ۲۰ گونه از کاندیدا می‌تواند در انسان عامل عفونت باشد که کاندیدا *آلبیکانس*^۲ با اختصاص بیش از ۸۰ درصد موارد به خود شایع‌ترین گونه می‌باشد [۱]. ولوواژینیت کاندیدیایی با نام «عفونت مخمری» نیز شناخته می‌شود. این عفونت زمانی رخ می‌دهد که گونه‌های کاندیدا (که جزو فلور طبیعی هستند) بیش از حد در دستگاه تناسلی تکثیر نمایند [۲]. ولوواژینیت کاندیدیایی یک عفونت شایع می‌باشد و ۷۵ درصد زنان بالغ حداقل یکبار در حیات خود این عفونت را تجربه می‌کنند و تا ۵ درصد این زنان دچار ولوواژینیت عود کننده (بیماران با سابقه ابتلا ی حداقل چهار مرتبه در طول یک سال) می‌شوند. گونه‌های کاندیدا شایع‌ترین عامل ولوواژینیت در بین سه عامل *تریکوموناس واژینالیس*^۳، باکتری‌ها و گونه‌های کاندیدا می‌باشند. عفونت زمانی پدیدار می‌شود که عواملی مانند تغییر در اسیدیته واژن و یا به هم خوردن تعادل هورمونی به وجود آید. ولوواژینیت کاندیدیایی در افراد با ضعف سیستم ایمنی به طور مکرر و با شدت بالایی رخ می‌دهد. حاملگی، دیابت، استفاده طولانی مدت از آنتی بیوتیک‌های وسیع الطیف، استفاده از کورتیکواستروئیدها، اسپری‌های بهداشتی معطر کننده مخصوص خانمها، لباس‌های زیر تنگ، اختلالات تیروئیدی، مصرف قرص‌های ضد بارداری، استفاده از وسایل داخل رحمی، فعالیت جنسی زیاد و نقص ایمنی موضعی در ناحیه ی واژن از دیگر عوامل مستعد کننده می‌باشند [۳-۵].

علایم شایع در ولوواژینیت کاندیدیایی عبارتند از: خارش، سوزش، سوزش ادرار (ممکن است هنگام

تماس ادرار با اپیتلیوم ملتهب و سستیبول رخ دهد)، ترشحات پنیری و غلیظ دلمه ای شکل، مقاربت دردناک، ترشح غیر طبیعی واژن و اریتم ناحیه ی واژن و ولو [۶،۷] که می‌تواند مشکلات جسمی و روحی برای فرد مبتلا به دنبال داشته باشد. ضایعه ممکن است به صورت واکنش آگزمایی، با اریتم خفیف و یا شدید و یا با پوسچول و زخم همراه باشد [۸]. علایم ولوار ممکن است رخ دهد که شامل ادم، اریتم جغرافیایی و ترک خوردگی می‌باشند. در حالت کلاسیک، دیواره‌های واژن قرمز و حاوی پلاک‌های چسبنده، سفید و دلمه ای می‌باشد [۹].

همچنین وزن پایین نوزادان هنگام تولد، یکی از شرایط مستعد کننده کاندیدیاز منتشره از طریق هماتوژن می‌باشد [۱۰]. افزایش سطح هر دوی هورمون‌های پروژسترون و استروژن در حاملگی با مکانیسم‌های متفاوت زمینه تکثیر کاندیدا را مهیا می‌کنند [۱۱،۱۲]. ولوواژینیت در زمان حاملگی بسیار شایع بوده و در سه ماه آخر حاملگی شایع‌تر است که علت آن را کاهش بیشتر در pH واژن می‌دانند. به دلیل سطوح بالای استروژن و غلظت زیاد گلیکوژن در ترشحات واژینال در طی حاملگی خطر ایجاد ولوواژینیت در این زنان بالا می‌رود [۹].

منبع غالب عفونت در همه اشکال بالینی بیماری‌های ناشی از گونه‌های کاندیدا، خود بیمار بوده و مهمترین فاکتور لازم برای ایجاد بیماری مهاجم، کاهش سد ضد کاندیدیایی خود میزبان می‌باشد. چالش مهم دیگری که در ولوواژینیت کاندیدیایی وجود دارد؛ افزایش احتمال انتقال عفونت کاندیدیایی به نوزاد در هنگام عبور از کانال زایمانی مادر مبتلا است. میزان بروز برفک در نوزادان با میزان کلونیزاسیون کاندیدا در واژن در زمان تولد ارتباط دارد. علاوه بر ایجاد برفک، پی آمدهای دیگر کلونیزه شدن کاندیدا در نوزادان می‌تواند کاندیدیوز آنونیتال و در موارد نادری پنومونی کاندیدیایی باشد. مشکل بالقوه ای که در دهه اخیر

¹ Candidiasis

² *Candida albicans*

³ *Trichomonas vaginalis*

به‌طور جدی نوزادان را تهدید می‌کند کاندیدیاز سیستمیک نوزادان می‌باشد [۱۳]. همچنین ممکن است موجب عفونت پوستی مادرزادی به علت عفونت بالارونده رحم شود که ساعاتی بعد از تولد رخ می‌دهد [۱۴، ۱۵].

برخی گونه‌های کاندیدا دارای مقاومت ذاتی یا اکتسابی نسبت به داروها هستند و بدلیل مقاومت بیشتر گونه‌های غیر البیکنس به داروهای ضد قارچی نسبت به گونه‌های البیکنس مطالعات اپیدمیولوژیک مداوم و پیگیرانه در هر جامعه‌ای ضروری است [۱۶، ۱۷]. شناسایی گونه عامل بیماری مهم است، زیرا کاندیدا *تروپیکالیس*^۱ و کاندیدا *گلابراتا*^۲ ده برابر کمتر از کاندیدا *البیکنس* نسبت به میکونازول حساسیت دارند [۱۸]. با توجه به مطالعات انجام شده در سایر نقاط جهان مبنی بر افزایش سایر گونه‌های غیر البیکنس، این تحقیق به منظور تعیین فراوانی انواع کاندیدا طراحی شد تا گامی در جهت شناسایی گونه‌های شایع در منطقه، اقدامات درمانی مناسب و کاهش مدت بیماری و تعدیل هزینه‌ها در روند درمانی این بیماران برداشته شود. با توجه به تأثیر کم داروهای موجود روی گونه‌های غیر البیکنس مسلماً نیاز به مطالعه روی انواع کاندیدا و سپس در قدم‌های بعدی یافتن درمان‌های مناسب برای آنها وجود دارد. ولوواژینیت کاندیدیایی همانند سایر عفونت‌های قارچی با داروهای ضد قارچی با منشأ آزولی درمان می‌شوند ولی احتمال دارد که مصرف بیش از حد فلوکونازول و سایر ازول‌ها عامل کلونیزه شدن گونه‌های مقاوم همچون کاندیدا *گلابراتا* یا کاندیدا *کروزه‌ای*^۳ باشد که باعث شکست در درمان و عود بیماری می‌شود [۱۹]. با تعریف گونه‌های کاندیدا، انتخاب مناسب برای درمان ضدقارچی صورت می‌گیرد و از توسعه موارد مقاوم به درمان

جلوگیری می‌شود. همچنین مصرف داروهای ضد قارچی می‌تواند در طول زمان باعث ایجاد مقاومت در برابر دارو در گونه‌های مختلف کاندیدا بشود و این موضوع لزوم انجام مطالعات دوره‌ای را در این زمینه بیشتر می‌کند.

هدف از انجام این مطالعه آگاهی از وضعیت شیوع بیماری واژینیت کاندیدیایی، شناسایی گونه‌های شایع در منطقه مورد مطالعه و همچنین شناسایی گونه‌های مقاوم کاندیدا و نوع مقاومت دارویی در زنان باردار بود تا نتایج حاصل از مطالعه در برنامه‌ریزی‌های بهداشتی و درمانی و در نتیجه در تشخیص و انتخاب درمان صحیح بیماری کمک نماید و علاوه بر رفع علایم بالینی بیماری و آسایش جسمی و روانی بیمار بتواند از درمان‌های رایج با آزرل‌ها که شایع بوده و باعث بروز مقاومت دارویی و صرف هزینه بیشتر برای بیماران و سیستم بهداشتی می‌شود جلوگیری نماید.

روش کار

این مطالعه از نوع توصیفی-مقطعی و تحلیلی می‌باشد و از دی ماه ۹۱ تا شهریور ماه ۹۳ به طول انجامید. از افراد مورد مطالعه قبل از ورود به طرح رضایت کتبی کسب شد. افراد در صورت وجود علائم کاندیدیازیس وارد مطالعه شدند. اطلاعات بیماران بدون ذکر نام آنها مورد استفاده قرار گرفت. از بیماران جهت شرکت در این مطالعه هزینه‌ای دریافت نشد. (کد کمیته اخلاق: 1029 arums. مورخه ۹۱/۱۱/۱). نمونه‌ها از پنج مرکز بهداشتی و درمانی از نقاط مختلف شهر اردبیل جمع‌آوری و در آزمایشگاه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل مورد مطالعه قرار گرفتند. از بین زنان باردار و مراجعه‌کننده به مراکز بهداشتی و درمانی اردبیل تعداد ۸۰۸ نمونه به طور تصادفی انتخاب شدند. تعداد افراد مورد نیاز جهت مطالعه با توجه به مطالعات پیشین تعیین شد.

¹ *C. tropicalis*

² *C. glabrata*

³ *C. krusei*

برای ورود به مطالعه باردار بودن و رضایت فرد کفایت می‌کرد. عدم رضایت از نمونه برداری و افرادی که دارای ممنوعیت به کار گیری از اسپیکولوم بودند از مطالعه خارج شدند. قبل از نمونه برداری پرسشنامه ای حاوی اطلاعات مورد نیاز پر شد.

نمونه برداری توسط ماما و به وسیله اسپیکولوم یک بار مصرف استریل صورت گرفت. نمونه برداری از ترشحات مخاطی واژن توسط دو سواب پنبه دار استریل انجام گرفت. سواب‌ها داخل نیم میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل قرار داده می‌شد. نمونه‌ها در حداقل زمان ممکن به آزمایشگاه انگل شناسی دانشکده پزشکی منتقل شدند.

ارزیابی میکروسکوپی

از هر نمونه یک لام مرطوب و یک لام جهت رنگ آمیزی و دید مستقیم تهیه شد. این لام‌ها توسط دو فرد مجرب در این زمینه جهت مشاهده اشکال مخمری، سودومیسلیال و میسلیوم‌های کاندیدا استفاده گردید. در این آزمایش نمونه‌هایی که دارای تعدا کم مخمر بودند و یا وجود میسلیوم کاذب یا حقیقی در آنها مشاهده نشد، به عنوان فلور نرمال در نظر گرفته شده و از مطالعه خارج گردیدند.

کشت روی محیط سابورو دکستروز آگار

از سواب دوم برای کشت کاندیدا روی محیط سابورو دکستروز آگار (های مدیا، هند^۱) حاوی کلرامفنیکل (SC) استفاده شد. نمونه‌های کشت شده در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد برای ۴۸ ساعت انکوبه شدند و بعد از گذشت این مدت در صورت رشد مخمر و مشاهده کلنی‌های کاندیدا از تست‌های تولید جرم تیوب و کلامیدو کونیدی زائی روی محیط کورن میل آگار (های مدیا، هند) برای تشخیص کاندیدا آلبیکانس استفاده شد. بدین منظور نمونه‌هایی که در آزمایش تولید لوله زایا، با اندازه بیش از دو و نیم برابر سلول مادر رشد کرده بودند

^۱ HiMedia, India

به عنوان کاندیدا آلبیکس، لوله‌های زایای کوتاه به‌عنوان سایر گونه‌های کاندیدا و عدم ایجاد لوله زایا به‌عنوان مخمرهای غیر کاندیدا لحاظ گردید. همچنین برای تعیین گونه‌ها از محیط کشت کروم آگار (های مدیا، هند) استفاده گردید. بعد از کشت روی محیط کروم آگار در ۳۰ درجه سانتیگراد، گونه‌های کاندیدا بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده محیط کشت تعیین شدند. بر این اساس گونه کاندیدا آلبیکس به رنگ سبز، کاندیدا گلابراتا به رنگ کرم شیری، کاندیدا کروزه ای به رنگ صورتی پررنگ، کاندیدا تروپیکالیس به رنگ آبی و کاندیدا پاراپسیلوزیس^۲ به رنگ سفید-شیری با مرکز بنفش مشاهده گردید.

تعیین الگوی مقاومت انتی بیوتیکی

جهت بررسی حساسیت دارویی سویه‌های جدا شده کاندیدا طبق دستورالعمل CLSI و با استفاده از پنج دیسک فلوکونازول^۳، کتوکانازول^۴، کلوتریمازول^۵، نیستاتین^۶ و امفوتریسین ب^۷ (سیپرس^۸، بلژیک) بر روی محیط مولر هینتون (های مدیا، هند) انجام گردید. برای انجام آنتی بیوگرام از سوسپانسیون مک فارلند ۰/۵ استفاده شد (طرز تهیه: طبق دستورالعمل CLSI). اطلاعات جمع آوری شده از طریق پرسشنامه و نتایج آزمایشات با استفاده از روش‌های آمار توصیفی و استفاده از آزمون آماری کای ۲ و آزمون T در نرم افزار آماری SPSS-19 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

در مطالعه حاضر تعداد ۴۰۸ نمونه از زنان باردار و مراجعه کننده به مراکز بهداشتی و درمانی اردبیل

^۲ *C. parapsilosis*

^۳ Fluconazole

^۴ Ketoconazole

^۵ Clotrimazole

^۶ Nystatin

^۷ Amphotericin B

^۸ Cypress

زمینه‌ای و علایم بالینی در جدول ۱ آمده است. از نظر آماری رابطه معناداری بین شیوع ولوواژینیت کاندیدیایی با سن حاملگی، رتبه زایمانی، سن فرد، علایم بالینی و بیماری زمینه‌ای مشاهده نگردید. (جدول ۱).

تهیه و به روش مستقیم و کشت مورد بررسی قرار گرفت که از این بین ۱۴۳ مورد (۳۵٪) نمونه‌ها از نظر کاندیدا مثبت بودند. نتایج حاصل از آزمایشات به تفکیک گروه‌های سنی (۲۵-۱۵، ۳۵-۲۵، بالای ۳۵ سال)، مرتبه زایمانی، سن بارداری زنان، بیماری

جدول ۱. توزیع فراوانی افراد مورد مطالعه بر اساس نتایج آزمایش بر حسب سن، نوبت حاملگی، بیماری زمینه‌ای، سن بارداری، علایم بالینی

اختلاف آماری	نتیجه آزمایش				متغیر
	منفی		مثبت		
	درصد	تعداد	درصد	تعداد	سن
p=0.078 df=2 Chi-square=5.1	۴۲/۳	۱۱۲	۵۱/۷	۷۴	۲۵-۱۵
	۴۹/۴	۱۳۱	۳۷/۸	۵۴	۳۵-۲۵
	۸/۳	۲۲	۱۰/۵	۱۵	بالای ۳۵
p=0.873 df=3 Chi-square=0.7	۴۸/۳	۱۲۸	۵۰/۳	۷۲	نوبت حاملگی اول
	۳۲/۲	۸۸	۳۴/۳	۴۹	نوبت حاملگی دوم
	۱۲/۸	۳۴	۱۱/۲	۱۶	نوبت حاملگی سوم
	۵/۷	۱۵	۴/۲	۶	نوبت حاملگی چهارم و بالاتر
Chi-square=1.08 df=2 p=0.58	۰/۸	۲	۰/۷	۱	بیماری زمینه‌ای تیروئیدی
	۹۸/۵	۲۶۱	۹۹/۳	۱۴۲	بیماری زمینه‌ای ندارد
	۰/۸	۲	۰	۰	سایر بیماری‌های زمینه‌ای
Chi-square=2.3 df=2 p=0.308	۲/۶	۷	۴/۲	۶	مراجعه سه ماهه اول
	۵/۷	۱۵	۲/۸	۴	سه ماهه دوم
	۹۱/۷	۲۴۳	۹۳	۱۳۳	سه ماهه سوم
Chi-square=2.05 df=1 p=0.092	۵۳/۶	۱۴۲	۴۶/۲	۶۶	علایم بالینی دارد
	۴۶/۴	۱۲۳	۵۳/۸	۷۷	علایم بالینی ندارد

بر اساس نتایج به دست آمده از کشت، ۱۴۳ مورد (۳۵٪) نمونه‌ها مثبت بودند. با استفاده از تست تولید جرم تیوب، تولید کلامیدو کونیدی و کشت روی محیط کروم آگار گونه‌های کاندیدا مشخص شد که بیشترین گونه مربوط به کاندیدا آلبیکانس با ۱۱۹ مورد (۸۳/۲٪) بود. در رتبه بعدی کاندیدا گلابراتا با ۷/۷٪، کاندیدا کروزه‌ای با ۴/۹٪، کاندیدا پاراسیلووزیس ۲/۱٪ و کاندیدا تروپیکالیس ۱/۴٪ قرار داشتند. در ۰/۷٪ موارد نیز الگوی رشد مخلوط گزارش گردید.

از نظر نوع علائم بالینی ۶۹ نفر (۳۱٪) از افراد مورد پژوهش وجود خارش را متذکر شدند، ۶۱ نفر (۲۷٪) وجود ترشح واژینال، ۵۳ نفر (۲۳٪) وجود سوزش، ۲۲ نفر (۸٪) وجود سوزش ادرار و ۲۸ نفر (۱۱٪) مقاربت دردناک را متذکر شدند (جدول ۲).

جدول ۲. توزیع فراوانی افراد مورد پژوهش بر حسب نوع علائم بالینی

علائم	فراوانی	
	تعداد	درصد
خارش	۶۹	۳۱
ترشح	۶۱	۲۷
سوزش	۵۳	۲۳
سوزش ادرار	۲۲	۸
مقاربت دردناک	۲۸	۱۱



شکل ۱. کشت گونه‌های کاندیدا روی محیط کروم آگار (راست: نمونه مخلوط، چپ: ایزوله‌های کاندیدا)



شکل ۲. آنتی بیوگرام کاندیدا با استفاده از پنج دیسک نیستاتین، کلوتریمازول، آمفوتریسین ب، فلوکونازول و کتوکونازول

بدون در نظر گرفتن گونه کاندیدا، الگوی مقاومتی بدست آمده از آنتی بیوگرام (شکل ۲) به شرح زیر بود: بیشترین مقاومت دارویی (۸۱/۱٪) و کمترین حساسیت (۱۸/۲٪) نسبت به فلوکونازول مشاهده شد. در درجات بعدی مقاومت به ترتیب کتوکونازول با ۶۹/۹٪، کلوتریمازول با ۴۶/۹٪، امفوتریسین ب با ۱۷/۵٪ و نیستاتین با ۱۶/۱٪ قرار داشتند. نیستاتین دارای کمترین مقاومت دارویی (۱۶/۱٪) و بیشترین حساسیت (۸۲/۵٪) بین داروهای مورد بررسی بود (جدول ۳).

جدول ۳. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌های به دست آمده از زنان باردار مراجعه کننده به مراکز بهداشتی درمانی اردبیل ۱

اسم آنتی بیوتیک	الگوی مقاومت					
	مقاوم		حد واسط		حساس	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
آمفوتریسین ب	۲۵	۱۷/۵	۶۴	۴۴/۸	۵۴	۳۷/۸
کلوتریمازول	۶۷	۴۶/۹	۳۲	۲۲/۴	۴۴	۳۰/۸
کتوکونازول	۱۰۰	۶۹/۹	۲	۱/۴	۴۱	۲۸/۷
نیستاتین	۲۳	۱۶/۱	۲	۱/۴	۱۱۸	۸۲/۵
فلوکونازول	۱۱۶	۸۱/۱	۱	۰/۷	۲۶	۱۸/۲

گونه *کاندیدا/البیکنس* که شایع‌ترین گونه یافت شده در این مطالعه بود به فلوکونازول بیشترین مقاومت (۸۱/۵٪) و کمترین حساسیت (۱۷/۶٪) را بین داروهای ضد قارچی داشت. در درجات بعدی مقاومت *کاندیدا/البیکنس* نسبت به کتوکانازول با ۷۱/۴٪، کلوتریمازول با ۴۵/۴ درصد، امفوتریسین با ۱۶/۸٪ و نیستاتین با ۱۵/۱ درصد مقاوم بود. کمترین مقاومت (۱۵/۱٪) و بیشترین حساسیت

(۸۳/۲٪) نسبت به نیستاتین دیده شد. در درجات بعدی، *کاندیدا/البیکنس* به آمفوتریسین ب با ۴۰/۳ درصد، به کلوتریمازول با ۳۱/۹ درصد، به کتوکانازول با ۲۷/۷ درصد و به فلوکونازول با ۱۷/۶ درصد حساس گزارش گردید. آمفوتریسین ب بیشترین الگوی حد واسط را در بحث مقاومت دارویی در *کاندیدا/البیکنس* داشت (جدول ۴).

جدول ۴. الگوی مقاومت انتی بیوتیکی ایزوله‌های *کاندیدا/البیکنس* جدا شده از زنان باردار مراجعه کننده به مراکز بهداشتی درمانی اردبیل

اسم آنتی بیوتیک	الگوی مقاومتی					
	مقاوم		حد واسط		حساس	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
آمفوتریسین ب	۲۰	۱۶/۸	۵۱	۴۲/۹	۴۸	۴۰/۳
کلوتریمازول	۵۴	۴۵/۴	۲۷	۲۲/۷	۳۸	۳۱/۹
کتوکانازول	۸۵	۷۱/۴	۱	۰/۸	۳۳	۲۷/۷
نیستاتین	۱۸	۱۵/۱	۲	۱/۷	۹۹	۸۳/۲
فلوکونازول	۹۷	۸۱/۵	۱	۰/۸	۲۱	۱۷/۶

کاندیدا/گلبراتا بیشترین مقاومت (۹۰/۹٪) و کمترین حساسیت (۹/۱٪) را به فلوکونازول داشت. درجات بعدی مقاومت در *کاندیدا/گلبراتا* به ترتیب، کتوکانازول با ۷۲/۷ درصد، کلوتریمازول با ۵۴/۵ درصد و امفوتریسین ب و نیستاتین هر کدام با ۱۸/۲ درصد بودند. *کاندیدا/کروزه ای*، بیشترین مقاومت را به فلوکونازول با ۵۷/۱ درصد داشت ولی حساسیت آن به کلوتریمازول و کتوکانازول ۴۲/۹ درصد مشاهده شد. *کاندیدا/کروزه ای* کمترین مقاومت را به نیستاتین و امفوتریسین ب با ۱۴/۳ درصد نشان داد و بیشترین حساسیت آن به نیستاتین (۸۵/۷٪) دیده شد.

بودند. در تست آنتی بیوگرام *کاندیدا/پاراسیلوژیس* هیچ مقاومتی به امفوتریسین ب نشان نداد ولی در ۶۶/۷ درصد موارد مقاومت بینابینی مشاهده گردید. *کاندیدا/پاراسیلوژیس* دارای بیشترین حساسیت به نیستاتین با ۶۶/۷ درصد موارد بود و در درجات بعدی حساسیت به امفوتریسین ب و کتوکانازول هر کدام با ۳۳/۳ درصد موارد قرار داشتند.

کاندیدا/تروپیکالیس نسبت به امفوتریسین ب در ۱۰۰ درصد موارد مقاوم و در ۱۰۰ درصد موارد به نیستاتین حساس گزارش گردید. *کاندیدا/تروپیکالیس* نسبت به کلوتریمازول، کتوکانازول و فلوکونازول حساسیت ۵۰ درصد و نیز مقاومت ۵۰ درصد را نشان داد. الگوی مقاومتی بینابینی در مورد *کاندیدا/تروپیکالیس* مشاهده نگردید.

بحث

مطالعه حاضر در میان ۴۰۸ نفر از زنان باردار مراجعه کننده به مراکز بهداشتی و درمانی اردبیل انجام گرفت. اکثریت افراد مورد مطالعه (۵۱/۷٪) در

در الگوی بدست آمده از *کاندیدا/پاراسیلوژیس*، ۱۰۰ درصد مقاومت به فلوکونازول و کلوتریمازول دیده شد که بیشترین مقاومت به داروهای ضد قارچی در مطالعه حاضر بود. درجات بعدی مقاومت دارویی در *کاندیدا/پاراسیلوژیس*، به کتوکانازول در ۶۶/۷ درصد موارد و به نیستاتین در ۳۳/۳ درصد موارد

بازه سنی ۲۵-۱۵ سال بودند. بیشتر آنها (۵۰/۳٪) بارداری اول خود را تجربه میکردند و همچنین بیشتر آنها (۹۳٪) در سه ماهه سوم بارداری خود به سر می‌بردند. از بین علایم شایع ولوواژینیت کاندیدیایی در این افراد به ترتیب خارش ناحیه ژنیتال (۳۴٪)، وجود ترشحات (۳۰٪)، سوزش (۲۹٪) مقاربت دردناک (۱۲٪) و سوزش ادرار (۷٪) ذکر گردید. از نظر آماری رابطه معناداری بین شیوع ولوواژینیت کاندیدیایی با سن حاملگی، رتبه زایمانی، سن فرد، علایم بالینی و بیماری زمینه‌ای مشاهده نگردید. در این مطالعه میزان شیوع ولوواژینیت کاندیدیایی ۱۴۳ مورد (۳۵٪) به روش کشت بوده است.

گراسیا هرديا^۱ و همکاران شیوع کاندیدیاز واژینال را در ۴۹۳ خانم باردار از سال ۱۹۹۸ تا ۲۰۰۰ در اسپانیا ۲۸ درصد گزارش نمودند [۲۰]. باییک^۲ و همکاران شیوع ولوواژینیت کاندیدیایی را در ۴۴۷ نفر خانم باردار (در سه ماهه آخر حاملگی) و غیرباردار (در دوره باروری) در بوسنی و هرزگوین در سال ۲۰۰۶ در کل ۸/۸ درصد گزارش نمودند [۲۱]. آسلا^۳ و همکاران نیز فراوانی ولوواژینیت کاندیدیایی در خانم‌های باردار در سال ۲۰۰۸ در پاکستان را ۸ درصد گزارش نمودند [۱۱]. میزان شیوع ولوواژینیت کاندیدیایی در مطالعه حاضر نسبت به مطالعه گراسیا هرديا و همکاران بیشتر و نسبت به مطالعه باییک و همکاران و آسلا و همکاران کمتر بود.

در مطالعه انجام شده در نیجریه توسط اولو^۴ و همکاران اکثریت موارد مراجعه خانم‌های باردار در سه ماهه سوم می‌باشد و همچنین شیوع ولوواژینیت کاندیدیایی میان ۱۰۰ خانم باردار ۳۶ درصد گزارش شد [۲۲] که هر دو متغیر با مطالعه حاضر همخوانی دارد. ناظری و همکاران در کاشان و هدایتی و

همکاران در ساری شایع‌ترین علامت بالینی در خانم‌های مبتلا به ولوواژینیت را خارش ذکر کردند که با مطالعه حاضر هم خوانی دارد [۲۳،۲۴]. مطالعه ای روی ۱۰۰ خانم باردار مراجعه کننده جهت مراقبت بارداری در جنوب غربی نیجریه در سال ۲۰۱۴ توسط اولو و همکاران انجام شده است. بیشترین فراوانی سنی موارد مثبت گزارش شده از نظر ولوواژینیت کاندیدیایی ۳۱ تا ۳۵ سال بوده است [۲۲]. مشاهده می‌شود که اکثریت مبتلایان در مطالعه حاضر نسبت به مطالعه اولو در سنین پایین تری قرار دارند. دارمیک^۵ و همکاران در هند و همچنین هدایتی و همکاران در ساری بیشتر موارد ابتلا به ولوواژینیت کاندیدیایی را در سن ۲۰ تا ۲۹ سال گزارش نموده اند که با مطالعه حاضر همخوانی دارد [۲۴،۲۵].

معلایی و همکاران در سبزوار بدون در نظر گرفتن گونه کاندیدا، مقاومت دارویی را به فلوکونازول ۴۴/۹ درصد، کلوتریمازول ۸/۵ درصد و کتوکونازول ۱/۷ درصد گزارش نمودند. همچنین هیچ مقاومتی به نیستاتین گزارش نشد [۲۶]. در مطالعه حاضر اختلاف قابل توجهی از نظر مقاومت دارویی مشاهده می‌شود بطوری که بدون در نظر گرفتن گونه کاندیدا، مقاومت دارویی به فلوکونازول ۸۱/۱ درصد، کلوتریمازول ۴۶/۹ درصد و کتوکونازول ۶۹/۹ درصد بدست آمده است که اختلاف قابل توجهی با مطالعه ذکر شده دارد. دلیل این اختلاف می‌تواند سال انجام تحقیق باشد به طوری که استفاده از آزولها در طول زمان می‌تواند دلیل افزایش مقاومت کاندیدا به این داروها در مطالعه حاضر باشد. فلاحی و همکاران مطالعه ای بر روی ۵۰ خانم مشکوک به ولوواژینیت کاندیدیایی مراجعه کننده به بیمارستان لولاگر و میرزا کوچک خان انجام داده اند. در این مطالعه که یک روش آزمایشگاهی توصیفی بود از نظر اثر داروها، ایمیدازولها شامل کتوکونازول

¹ Garcia Heredia

² Babic

³ Aslam

⁴ Olowe

⁵ Dharmik

و کلوتریمازول از تری آزولها (فلوکونازول) مؤثرتر بودند [۲۷]. در مطالعه حاضر نیز اثر امیدازولها مانند کتوکونازول و کلوتریمازول از فلوکونازول بیشتر بود و با مطالعه فلاحی همخوانی داشت. بطوریکه در مطالعه حاضر گونه‌های کاندیدا به کتوکونازول ۲۸/۷ درصد، به کلوتریمازول ۳۰/۸ درصد و به فلوکونازول فقط در ۱۸/۲ درصد موارد حساس بودند.

دارمیک و همکاران در هند بدون در نظر گرفتن گونه کاندیدا حساسیت دارویی به فلوکونازول را ۹۷/۲ درصد و کلوتریمازول را ۸۰ درصد گزارش نمودند [۲۵]. در مطالعه حاضر بدون در نظر گرفتن گونه کاندیدا فقط ۱۸/۲ درصد به فلوکونازول و ۳۰/۸ درصد به کلوتریمازول حساس گزارش گردید که اختلاف قابل توجهی با مطالعه دارمیک دارد و حساسیت به مراتب کمتری در مورد داروهای ذکر شده مشاهده گردید. موهانتی^۱ و همکاران در هند تست حساسیت به فلوکونازول را روی ایزوله‌های بدست آمده از زنان مشکوک به ولوواژینیت کاندیدیایی انجام دادند که در کل ۷۰ درصد حساس به فلوکونازول و ۳۰ درصد وابسته به دوز گزارش گردید [۲۸]. در مطالعه حاضر با ۱۸/۲ درصد حساسیت به فلوکونازول اختلاف قابل توجهی با مطالعه ذکر شده مشاهده می‌شود. باوترس^۲ و همکاران شیوع ولوواژینیت کاندیدیایی را در زنان مراجعه کننده به مراکز بهداشتی بلژیک ۲۰/۱ درصد گزارش کردند. به طور کلی در این مطالعه ۲۱ درصد از موارد ایزوله شده کاندیدا مقاوم به فلوکونازول گزارش شد [۲۹]. در مطالعه حاضر شیوع ولوواژینیت کاندیدیایی بیشتر از مطالعه باوترس و از نظر حساسیت به فلوکونازول مقاومت به مراتب بالاتری گزارش گردید.

اوزکان^۳ و همکاران شیوع ولوواژینیت کاندیدیایی را در ۶۰۸۰ خانم مشکوک به ولوواژینیت کاندیدیایی در ترکیه ۱۶ درصد گزارش نمودند. همه ایزوله‌ها به فلوکونازول و امفوتریسین ب حساس بودند به جز یک مورد کاندیدا/کروزه ای، یک مورد کاندیدا/کلابراتا و یک مورد کاندیدا/آلبیکنس که به فلوکونازول مقاوم بودند [۳۰]. در مطالعه حاضر گونه‌های کاندیدا فقط در ۳۷/۸ درصد به امفوتریسین ب حساس بودند و ۴۴/۸ درصد بصورت حد واسط و ۱۷/۵ درصد مقاوم به امفوتریسین ب گزارش شده است. در مقایسه با مطالعه اوزکان، میزان مقاومت ایزوله‌ها به فلوکونازول و امفوتریسین ب در مطالعه حاضر بیشتر بوده است.

مطالعه ای توسط الفوزان^۴ و همکاران بر روی ۱۷۵۲ خانم مبتلا به واژینیت در کویت انجام گرفته است، میزان شیوع ولوواژینیت کاندیدیایی به روش کشت نمونه سوپ واژینال در ۲۳۱ مورد (۱۳/۲٪) از افراد مورد مطالعه مثبت گزارش گردید. در این مطالعه همه گونه‌های کاندیدا/آلبیکنس و غیر آلبیکنس به اکثر داروهای ضد قارچی از جمله امفوتریسین ب و فلوکونازول حساس بودند [۳۱]. موتوا^۵ و همکاران مطالعه ای در ناپروبی کنیا انجام دادند. در این مطالعه مقطعی، تعداد ۱۰۱ مخمر کاندیدا در آزمایشگاه جمع آوری و مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه گونه کاندیدا/آلبیکنس به امفوتریسین ب ۹۲/۹ درصد و به فلوکونازول ۱۰۰ درصد حساس گزارش گردید. در کل گونه‌های غیر آلبیکنس هم به امفوتریسین ب در ۸۰/۶ درصد و به فلوکونازول در ۷۷/۴ درصد موارد حساس گزارش گردیده است. در این مطالعه تفاوت واضحی بین حساسیت گونه آلبیکنس با غیر آلبیکنس به فلوکونازول وجود داشت ولی در مورد امفوتریسین ب تفاوت معناداری یافت

³ Ozcan

⁴ Alfouzan

⁵ Mutua

¹ Mohanty

² Bauters

داروهای ضد قارچی بدون تشخیص دقیق عامل ایجاد عفونت و عدم آگاهی از الگوی مقاومت یا حساسیت آن عامل توسط پزشکان باشد. همچنین با توجه به شیوع بالای کاندیدیاز و عود مکرر آن در بسیاری از بیماران، احتمالاً استفاده خودسرانه بیماران از داروهای ضد قارچی در عفونت‌های مکرر می‌تواند به افزایش مقاومت کمک نماید.

نتیجه گیری

به طور کلی در مطالعه حاضر میزان مقاومت به فلوکونازول به عنوان شایع‌ترین داروی مورد استفاده در ولوواژینیت کاندیدیایی در منطقه مورد مطالعه با اختلاف قابل توجهی بیشتر از سایر مطالعات گزارش گردید. همچنین گونه‌های کاندیدا در مطالعه حاضر نسبت به سایر داروهای مورد بحث مانند کلوتریمازول، کتوکونازول، نیستاتین و امفوتریسین ب در مقایسه با سایر مطالعات حساسیت کمتری داشتند. با توجه به بالابودن میزان مقاومت دارویی در گونه‌های کاندیدا در مطالعه حاضر و با توجه به شیوع بالای کاندیدیاز واژن و اهمیت آن در خانم‌های باردار، لزوم تشخیص ولوواژینیت کاندیدیایی و شناسائی گونه‌های مقاوم کاندیدا جهت اتخاذ تصمیم صحیح درمانی ضروری به نظر می‌رسد.

پیشنهادات

مطالعات لازم برای یافتن علت افزایش مقاومت داروئی به آزول‌ها در منطقه صورت پذیرد. جهت جلوگیری از افزایش مقاومت دارویی توصیه می‌شود ترتیبی اتخاذ گردد تا از تجویز و مصرف بی رویه داروهای ضد قارچی بدون تشخیص آزمایشگاهی و تعیین حساسیت داروئی پرهیز گردد و تدابیر لازم در جهت استفاده از نتایج تحقیق در درمان کاندیدیاز واژن در منطقه صورت پذیرد.

نشد [۳۲]. در مطالعه حاضر اکثریت گونه‌ها از نظر حساسیت دارویی به فلوکونازول مقاوم و به آمفوتریسین ب حد واسط گزارش گردید که با مطالعه الفوزان و موتوا همخوانی ندارد. کاندیدا/گلابراتا به عنوان شایع‌ترین گونه غیر آلیکنس در مطالعه حاضر به عوامل ازولی مقاومت بالاتری از مطالعه موتوا داشته است بطوری که کاندیدا/گلابراتا به فلوکونازول ۹/۱ درصد و به آمفوتریسین ب ۲۷/۳ درصد حساس گزارش گردید.

جان^۱ و همکاران مطالعه ای بر روی ۱۵۰ خانم با علایم مشکوک به ولوواژینیت کاندیدیایی در ایجان^۲ نیجریه انجام داده اند. تعداد ۶۲ مورد از این تعداد مثبت شدند. شیوع کاندیدا البیکنس ۷۲/۵ درصد و میزان حساسیت کاندیدا البیکنس به امفوتریسین ب ۱۰۰ درصد و فلوکونازول ۸۰ درصد گزارش گردیده است [۳۳].

شیوع کاندیدا آلیکنس در مطالعه حاضر (۸۳/۲٪) نسبت به مطالعه جان بیشتر بوده است. در مطالعه حاضر کاندیدا آلیکنس به آمفوتریسین ب در ۴۰/۳ درصد موارد حساس، در ۴۲/۹ درصد موارد حد واسط و در ۱۶/۸ درصد موارد مقاوم گزارش شد که نسبت به مطالعه جان حساسیت کمتری را به آمفوتریسین ب نشان می‌دهد. میزان حساسیت کاندیدا آلیکنس در مطالعه حاضر به فلوکونازول ۱۷/۶ درصد گزارش شده است که اختلاف قابل توجهی با مطالعه جان دارد.

در مقایسه با مطالعات صورت گرفته در زمینه مقاومت گونه‌های کاندیدا در برابر عوامل ضدقارچی، بالابودن میزان مقاومت در گونه‌های شایع در استان اردبیل کاملاً محسوس می‌باشد. یکی از دلایل مهم ایجاد مقاومت می‌تواند استفاده وسیع

¹ Djohan

² Abidjan

References

- 1- CDC. Candidiasis. Available at: <http://www.cdc.gov/fungal/candidiasis/>
- 2- CDC. Genital/Vulvovaginal candidiasis (VVC). Available at: <http://www.cdc.gov/fungal/candidiasis/genital>
- 3- Nwadioha SI, Egah DZ, Alao OO, Iheancho E. Risk factors for vaginal candidiasis among women attending primary health care centers of Jos, Nigeria. *J Clin Med Res*. 2010 Jul; 2(7): 110-113.
- 4- Mardh PA, Rodrigues AG, Genç M, Novikova N, Martinez-de-Oliveira J, Guaschino S. Facts and myths on recurrent vulvovaginal candidosis--a review on epidemiology, clinical manifestations, diagnosis, pathogenesis and therapy. *Int J STD AIDS*. 2002 Aug;13(8):522-39.
- 5- Nyirjesy, P, Peyton C, Weitz, MV, Leny M, Culhane JF. Causes of chronic vaginitis: Analysis of a prospective database of affected women. *Obstet Gynecol*. 2006 Nov; 108(5): 1185-1191.
- 6- Nyirjesy P. Chronic vulvovaginal candidiasis. *Am Fam Physician*. 2001 Feb 15;63(4):697-703.
- 7- Esmaeizadeh S, Mahdavi Omran S, Rahimi Z. Frequency and etiology of vuvovaginal candidiasis in women referred to a gynecological center in Babol, Iran. *IJFS*. 2009 Aug-Sep; 3(2): 74-77.
- 8- Zaini F, Mehbod ASA, Emami M. *Comprehensive Medical Mycology*. 3rd ed. Tehran; Tehran University Press, 2009:339. (Full text in Persian)
- 9- Valdan M, Bouzari B, Razzaghi S, Jalilirad A, Nazem S. *Danforth's Obstetrics and Gynecology*: Scott JR, Gibbs RS, Karlan B, Haney A, Beth Y. 10thed. Philadelphia: Wolters Kluwer. 2008: 783-786. (Translated to Persian)
- 10- Yalda A. *Harrison's principles of internal medicine*. Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J. 18thed. New York: McGraw-Hill, 2012:372-377
- 11- Aslam M, Hafeez R, Ijaz S, Tahir M. Vulvovaginal candidiasis in pregnancy. *Biomedica*. 2008 Jan-Jun;24: 54-56.
- 12- Wira CR, Rossoll RM. Antigen-presenting cells in the female reproductive tract: influence of sex hormones on antigen presentation in the vagina. *Immunology*. 1995 Apr; 84(4): 505-508.
- 13- Xu J, Sobel JD. *Candida vulvovaginitis in pregnancy*. *Curr Infect Dis Rep*. 2004 Nov; 6(6): 445-9.
- 14- Ostrosky-Zeichner L, Alexander BD, Kett DH, Vazquez J, Pappas PG, Saeki F, et al. Multicenter clinical evaluation of the(1,3) beta-D-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. *Clin Infect Dis*. 2005 Sep;41(5):654-9.
- 15- Fleury FJ. Adult vaginitis. *Clin Obstet Gynecol*. 1981 Jun; 24(2):407-8.
- 16- Cirak MY, Kalkanci A, Kustimur S. Use of molecular methods in identification of *Candida* species and evaluation of fluconazole resistance. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2003 Dec; 98(8):1027-32.
- 17- Nho S, Anderson MJ, Moore CB, Denning DW. Species differentiation by internally transcribed spacer PCR and HhaI digestion of fluconazole resistant *Candida krusei*, *Candida inconspicua*, and *Candida norvegensis* strains. *J Clin Microbiol*. 1997 Apr; 35(4): 1036-9.
- 18- Fong IW, Bannatyne RM, Wong P. Lack of in vitro resistance of *Candida albicans* to Ketoconazole, Itraconazole and Clotrimazole in women treated for recurrent vaginal candidiasis. *Genitourin Med*. 1993 Feb; 69(1): 44-6.
- 19- Bereks J. Genitourinary infections and sexually transmitted diseases. In: *Novak's Gynecology*. 12th ed. Baltimore: Williams &Wilkins; 1996. 432-34.
- 20- Garcia Heredia M, Garcia SD, Copollilo EF, Cora Eliseth M, Barata AD, Vay CA, et al. Prevalance of vaginal candidiasis in pregnant women. Identification of yeasts and susceptibility to antifungal agents. *Rev Argent Microbial*. 2006 Jan-Mar; 38(1): 9-12.
- 21- Babic M, Hukic M. *Candida albicans* and non-albicans species as etiological agent of vaginitis in pregnant and non-pregnant women. *Bosn J Basic Med Sci*. 2010 Feb; 10(1): 89-97.
- 22- Olowe OA, Makanjuola OB, Olowe R, Adekanle DA. Prevalence of vulvovaginal candidiasis, trichomoniasis and bacterial vaginosis among pregnant women receiving antenatal care in Southwestern Nigeria. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)*. 2014 Dec; 4(4): 193-197.
- 23- Nazeri M, Mesdaghinia E, Moravej SAR, Atabakhshiyani R, Soleymani F. Prevalance of vulvovaginal candidiasis and frequency of *Candida* species in women. *J Mazand Univ Med Sci*. 2012 Feb; 21(86): 255-262.(Full Text in Persian)

- 24- Hedayati M, Taheri Z, Galini Moghadam T, Agili R, Yazdani J, Mosayebi E. Isolation of different species of *candida* in patients with vulvovaginal candidiasis from Sari, Iran. *Jundishapur J Microbiol.* 2015 Apr; 8(4): e15992.
- 25- Dharmik PG, Gomashé AV, Upadhyay VG. Susceptibility pattern of various azoles against *Candida* species causing vulvovaginal candidiasis. *J Obstet Gynaecol India.* 2013 Apr; 63(2): 135–137.
- 26- Moallaei H, Verissimo C, Brando J, Rosado I. The Sensitivity and Resistance of yeasts isolated from women with vulvovaginal candidiasis to common antifungal drugs using disc diffusion. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences.* 2010 Jan; 16(4): 213-219. (Full Text in Persian)
- 27- Falahati M, Sharifinia M, Foroumadi AR, Bolouri F, Akhlaghi L, Yazdanparast A. Drug Resistance Pattern in *Candida* Species Isolated from Vaginitis. *J Iran Univ Med Sci.* 2009 Nov;16(65):40-44. (Full Text in Persian)
- 28- Mohanty S, Xess I, Hasan F, Kapil A, Mittal S, Tolosa JE. Prevalence & susceptibility to fluconazole of *Candida* species causing vulvovaginitis. *Indian J Med Res.* 2007 Sep;126(3):216-9.
- 29- Bauters TG, Dhont MA, Temmerman MI, Nelis HJ. Prevalence of vulvovaginal candidiasis and susceptibility to fluconazole in women. *Am J Obstet Gynecol.* 2002 Sep;187(3):569-74.
- 30- Ozcan SK, Budak F, Yucesoy G, Susever S, Willke A. Prevalence, susceptibility profile and proteinase production of yeasts causing vulvovaginitis in Turkish women. *APMIS.* 2006 Feb;114(2):139-45.
- 31- Alfouzan W, Dhar R, Ashkanani H, Gupta M, Rachel C, Khan ZU. Species spectrum and antifungal susceptibility profile of vaginal isolates of *Candida* in Kuwait. *J Mycol Med.* 2015 Mar; 25(1):23-8.
- 32- Mutua F, Revathi G, Machoki JM. Species distribution and antifungal sensitivity patterns of vaginal yeasts. *East Afr Med J.* 2010 Apr;87(4):156-62.
- 33- Djohan V, Angora KE, Vanga-Bosson AH, Konaté A, Kassi FK, Yavo W, et al. In vitro susceptibility of vaginal *Candida albicans* to antifungal drugs in Abidjan (Ivory Coast). *J Mycol Med.* 2012 Jun;22(2):129-33.