

تعیین حساسیت دارویی سویه های کانیدیدی جدا شده از بیماران مبتلا به ولوواژنیت کانیدیدی عود کننده و بررسی عوامل مستعد کننده بیماری در شهر گناباد

محمد حسن مینوئیان حقیقی^۱، مرضیه صحت پور^۲، حجت اله شکر^{۳*}

^۱ استادیار گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران
^۲ کارشناس ارشد میکروب شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی دامغان، دامغان، ایران

^۳ دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران

* نویسنده مسئول: حجت اله شکر، دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران. ایمیل: hshokri@ausmt.ac.ir

DOI: 10.21859/hums-23042

چکیده

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۶/۰۷

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۹/۲۸

واژگان کلیدی:

ولوواژنیت کانیدیدی

کانیدیدا آلیکس

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

ترشحات واژینال

فلوکونازول

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی همدان محفوظ است.

مقدمه: ولوواژنیت کانیدیدی عودکننده دومین علت شایع عفونت مجاری تناسلی در زنان است که اغلب توسط قارچ کانیدیدا آلیکس ایجاد می‌شود. اهداف این مطالعه شناسایی جدایه های کانیدیدی عامل ولوواژنیت کانیدیدی عودکننده، عوامل مستعدکننده و ارزیابی اثر ضد قارچی فلوکونازول برابر سویه های کانیدیدا جدا شده از بیماران بودند.

روش کار: در این مطالعه توصیفی-آزمایشگاهی، ۲۰ بیمار با تشخیص قطعی ولوواژنیت کانیدیدی عودکننده انتخاب شدند. جدایه های مخمری با روشهای استاندارد قارچ شناسی نظیر کشت بر روی محیط ساپورو دکستروز آگار، کروم آگار، تست جرم تیوب و روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز-چند تصویری طول قطعه محدود شده (PCR-RFLP) تعیین هویت شدند. حساسیت جدایه های کانیدیدا در برابر فلوکونازول با روش میکروداپلوشن براث تعیین شد.

یافته‌ها: میانگین سنی بیماران $41/63 \pm 29/43$ سال بود. کانیدیدا آلیکس از ۱۰۰ درصد نمونه ها بدست آمد. شایع‌ترین علامت بالینی ترشحات واژینال (۶۰ درصد) در زنان با کشت مثبت بود. همبستگیهای آماری بین تعداد دفعات زایمان و کاهش ابتلا به بیماری و همچنین بین سابقه مصرف داروهای ضد قارچی و ابتلا به بیماری مشاهده شدند. میانگین مقادیر MIC و MFC فلوکونازول برابر سویه های مختلف کانیدیدا آلیکس به ترتیب حدود $45/38$ میکروگرم در میلی لیتر و 63 میکروگرم در میلی لیتر تعیین شدند.

نتیجه گیری: به دلیل عدم تشخیص قطعی بیماری بر اساس علائم بالینی و همچنین به خاطر مقاومت گونه های کانیدیدی، استفاده از روشهای کشت و مولکولی به عنوان روشهای تشخیصی استاندارد توصیه می‌شوند.

مقدمه

درمان آنتی باکتریایی، استفاده از وسایل داخل رحمی، فعالیت جنسی زیاد و نقص ایمنی موضعی ناحیه واژن می‌باشد [۴]. شایع‌ترین علایم بیماری ولوواژنیت کانیدیدی شامل خارش، پرخونی، سوزش، ترشح پنیری، مقاربت دردناک، ترشح غیرطبیعی واژن و اریتم ناحیه واژن و ولو می‌باشد [۲].

کانیدیدا آلیکس مهم‌ترین عامل بیماری است [۵-۷] و بعد از آن می‌توان از کانیدیدا گلابراتا، کانیدیدا تروپیکالیس و سایر گونه های کانیدیدی نام برد [۸]. ولوواژنیت کانیدیدی عودکننده همانند سایر عفونتهای قارچی سطحی با داروهای ضد قارچی آزولی درمان می‌شود ولی احتمال دارد که مصرف بیش از حد فلوکونازول و سایر آزولها عامل کلونیزه شدن گونه های مقاوم همچون کانیدیدا گلابراتا و کانیدیدا کروژنی باشد که باعث

ولوواژنیت کانیدیدی یک عفونت مخاطی ناحیه تناسلی است که بیشتر زنان در سنین باروری را مبتلا می‌کند و یکی از دلایل مراجعه به پزشک می‌باشد [۱]. ۷۵ درصد زنان حداقل یک بار تجربه ولوواژنیت کانیدیدی را در طول حیات خویش دارند و تقریباً نزدیک به ۴۰ تا ۵۰ درصد زنان مبتلا مجدد این عفونت را دارند [۲]. حدود ۵ درصد زنان دچار ولوواژنیت عودکننده می‌شوند که به بیماران با سابقه ابتلا حداقل چهار مرتبه به این بیماری در طول یک سال اطلاق می‌گردد [۳]. عوامل مستعدکننده اصلی در این بیماری شامل حاملگی، سرکوب سیستم ایمنی، دیابت ملیتوس کنترل نشده، مصرف قرصهای ضد بارداری حاوی استروژن،

طی معاینات بالینی انجام شد. بعد از تکمیل پرسشنامه جهت جمع‌آوری اطلاعات مورد نیاز، نمونه‌برداری توسط دو عدد سواب استریل از ترشحات واژن انجام گرفت. نمونه‌های گرفته شده در لوله‌های درپیچدار حاوی دو میلی لیتر آب مقطر استریل، جهت انتقال به آزمایشگاه قرار داده شدند. از سوابهای گرفته شده برای آزمایش مستقیم با پتاس ۱۵ درصد، کشت روی محیط‌های سابورو دکستروز آگار (شرکت مرک، آلمان) و کروم آگار (شرکت فرانس، فرانسه) استفاده گردید. محیط‌های کشت به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در ۳۰ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. برای تأیید تشخیص گونه آلبیکنس از سایر گونه‌های کاندیدا از کلنی‌های مزبور روی محیط کورن میل آگار + توئین ۸۰ کشت خطی داده شد. همچنین از تست‌های جرم تیوب و بتاگلوکوزیداز برای تفریق کاندیدا آلبیکنس از سایر گونه‌ها استفاده شدند. پلیتهای مزبور به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. از کشت تازه، تک کلنی هر مخمر به محلول آب-گلیسرول ۲۰ درصد انتقال یافت و نمونه‌ها در منهای ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. در صورت نیاز به هر نمونه یا به منظور تکرار هر مرحله از آزمایش، از نمونه‌های ذخیره شده در محلول آب-گلیسرول ۲۰ درصد استفاده شد [۱۳].

واکنش PCR-RFLP

در مطالعه حاضر، از سیستم FTA-Card (شرکت واتمن، آمریکا) برای استخراج DNA استفاده گردید. بدین منظور، در ابتدا با استفاده از پانچر، دیسک‌هایی به قطر ۲ میلی‌متر از FTA-Card ها جدا شدند و مقدار ۴ میکرولیتر از سوسپانسیون غلیظ سلولهای تازه مخمری به دیسکها منتقل و حداقل ۳ تا ۴ ساعت در دمای آزمایشگاه انکوبه شدند تا به طور کامل خشک شوند. سپس هر دیسک به مدت چند ثانیه در ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل شستشو داده شد و به تیوبهای حاوی ۳۰ میکرولیتر آب مقطر منتقل و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد در دستگاه ترمال سایکلر قرار داده شد. تیوب‌ها به مدت چند ثانیه میکروفیوژ شدند، دیسک‌های FTA خارج و مایع داخل تیوب به عنوان DNA تا مصارف بعدی در منهای ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

با استفاده از پرایمرهای یونیورسال ITS1 و ITS4 از ناحیه DNA ریبوزومال تکثیر شد. واکنش PCR شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰X بدون منیزیم، ۱/۵ میلی مولار کلرید منیزیم، ۰/۵ میکرومولار پرایمر رفت (۵'-GTA TCC TCC GTA-۳) و ۰/۵ میکرومولار ITS1 (۳'-GGT GAA CCT GCG G

شکست درمان و عود مجدد بیماری می‌گردد [۹]. داروهای ضد قارچی گروه آزول مانند فلوکونازول با مهار سنتز ارگوسترول مانع از رشد مخمرها و مرگ سلولی آنها می‌شوند [۱۰]. مکانیسم‌های مقاومت کاندیدا به فلوکونازول شامل تجمع زیاد سیتوکروم P-450 در درون سلول (که در دمتیلاسیون لانسترول نقش دارد)، کاهش تمایل آن به فلوکونازول، نارسایی سلول در تجمع این مواد، غیرفعال نمودن آنزیم استرول ۵ و ۶ دساتوراز و در نهایت تغییر مسیر بیوسنتز ارگوسترول می‌باشد [۱۱]. هرچند علائمی نظیر خارش و سوزش می‌توانند دال بر وجود عفونت ولوواژینیت کاندیدایی باشند، با این وجود این علائم قادر به افتراق نوع عودکننده بیماری از حاد بیماری و همچنین عفونتهای قارچی از عفونتهای غیرقارچی نیست [۱۲]. لذا تشخیص به موقع و صحیح بیماری و عوامل آن علاوه بر رفع علائم بالینی بیماری و آسایش جسمی و روانی بیمار می‌تواند از درمانهای تکراری بیمار که باعث بروز مقاومت دارویی و صرف هزینه بیشتر برای بیماران می‌شود جلوگیری نماید.

مطالعه حاضر با هدف بررسی ولوواژینیت کاندیدایی عودکننده، تعیین فراوانی و حساسیت ضد قارچی عوامل اتیولوژیک آن و مقایسه نقش بعضی از عوامل زمینه ساز در موارد عود بیماری در بین زنان مبتلا صورت پذیرفت. نتایج این مطالعه می‌تواند تصویر روشنتری در رابطه با شیوع بیماری و عوامل آن در این گروه از بیماران برای پزشکان متخصص و مسئولین بهداشتی مربوطه فراهم آورد.

روش کار

بیماران مورد مطالعه

مطالعه به صورت توصیفی-آزمایشگاهی بر روی زنان مبتلا به ولوواژینیت کاندیدایی عودکننده در سنین بین ۲۳ تا ۴۱ سال انجام شد. گروه مبتلا به فرم عودکننده بیماری افرادی بودند که در طول یک سال گذشته ۴ بار و یا بیشتر ولوواژینیت کاندیدایی را تجربه کردند. بیماران مورد نظر از چهار مرکز بهداشتی درمانی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی گناباد در سالهای بین فروردین ۱۳۹۲ تا شهریور ۱۳۹۳ انتخاب گردیدند. افرادی که در نمونه گرفته شده از آنها کاندیدا رشد نکرد و یا نمونه‌هایی که آلوده شده بودند از مطالعه حذف شدند. نمونه‌گیری در این مطالعه با رضایت کامل بیماران انجام شد و از آنها فرم رضایت نامه اخذ گردید.

نمونه برداری و آزمایشات استاندارد قارچ شناسی

نمونه برداری از ترشحات واژن توسط پزشک متخصص زنان در

به چاهکها اضافه گردید. میزان MIC جدایه های حساس کمتر و مساوی ۸ میکروگرم در هر میلی لیتر، جدایه های حساس وابسته به دوز حدود ۹ تا ۶۳ میکروگرم در هر میلی لیتر و جدایه های مقاوم بزرگتر و مساوی ۶۴ میکروگرم در هر میلی لیتر در نظر گرفته شدند. دو چاهک به عنوان شاهد مثبت به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون قارچی و همچنین ۱۰۰ میکرولیتر RPMI اضافه کرده و در چاهک شاهد منفی فقط ۲۰۰ میکرولیتر RPMI اضافه شد. پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت از انکوباسیون در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد، نتایج از نظر کدورت ایجاد شده در چاهکها بررسی شدند. اولین چاهکی که در آن کدورت مشاهده نشد به عنوان چاهک MIC در نظر گرفته شد. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی (MFC)، ۱۰ میکرولیتر از چاهکهای بدون کدورت در محیط سابورو دکستروز آگار کشت داده شدند و در صورت عدم رشد به عنوان غلظت MFC اعلام گردیدند. آزمایش با دو بار تکرار انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

جهت تحلیل داده ها از آزمونهای توان دوم کای و دقیق فیشر و با کمک نرم افزار SPSS استفاده شد و سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج نشان دادند که میانگین سن زنان مبتلا به ولوواژینیت کاندیدیایی عودکننده $4/63 \pm 29/43$ سال بود. گروه سنی ۲۶-۳۰ سال (۴۲/۱۱ درصد) بیشترین و گروه سنی مساوی یا بیشتر از ۳۶ سال (۱۰/۵۳ درصد) کمترین موارد ابتلا را به خود اختصاص دادند (جدول ۱). مطابق تجزیه و تحلیل آماری، اختلاف معناداری بین این دو گروه سنی مشاهده شد ($P < 0/05$).

از ۸۰ بیمار مراجعه کننده، ۲۰ بیماری (۲۵ درصد) مبتلا به ولوواژینیت کاندیدیایی عودکننده شناسایی شدند و ۲۰ کلنی مخمری از آنها جداسازی گردید. تمامی کلنیهای ایجاد شده بر روی محیط کروم آگار به رنگ سبز بودند که این رنگ سبز مربوط به کاندیدا آلبیکنس بود (تصویر ۱). تمامی جدایه ها تست جرم تیوب مثبت داشتند. در الکتروفورز محصولات RFLP، تمام جدایه های (۱۰۰ درصد) حاصل از زنان مبتلا به ولوواژینیت کاندیدیایی عودکننده دارای یک باند قوی با وزن مولکولی ۳۰۰ باز بودند و به عنوان کاندیدا آلبیکنس شناسایی و تعیین هویت شدند (تصویر ۲).

پرایمر برگشت (۵'-TAT TGA TAT TCC TCC GCT TCC TCC ITS4(۳-GC) ۴۰۰ میکرومولار مخلوط دزوکسی نوکلئوتید تری فسفات (DNTP) و ۱/۲۵ واحد آنزیم Taq DNA polymerase بود.

در واکنش ۲۵ میکرولیتری PCR، ۲۳ میکرولیتر از مخلوط اصلی مذکور و ۲ میکرولیتر DNA استخراج شده از هر مخمر اضافه شد. تیوبها در دستگاه ترمال سایکلر قرار داده شدند و مراحل PCR شامل ۵ دقیقه در ۹۵ درجه به منظور جدا شدن دو رشته DNA، ۳۰ سیکل شامل ۴۵ ثانیه در ۹۴ درجه سانتیگراد، ۱ دقیقه در ۵۵ درجه سانتیگراد و ۱ دقیقه در ۷۲ درجه سانتیگراد و در نهایت ۷ دقیقه در ۷۲ درجه سانتیگراد انجام شد.

حجم کلی واکنش هضم اندونوکلازی محصولات PCR (PCR-RFLP) به صورت ۱۵ میکرولیتر حاوی ۲/۵ میکرولیتر آب مقطر، ۱/۵ میکرولیتر بافر و ۱ میکرولیتر (۵ واحد) آنزیم HpaII بود که ۱۰ میکرولیتر محصول PCR به آن اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. برای الکتروفورز محصولات PCR، ژل آگارز ۱/۵ درصد و برای محصولات RFLP ژل آگارز ۲ درصد تهیه شد. ژلها در تانک الکتروفورز حاوی بافر TBE شامل ۹۰ میکرومولار تریس، ۹۰ میکرومولار اسید بوریک و ۲ میکرومولار EDTA قرار داده شدند. سپس ۵ میکرولیتر از DNA تکثیر شده در واکنش PCR یا ۷ میکرولیتر از DNA هضم شده در واکنش RFLP بر روی ژلها بارگذاری گردیدند. از اتیدیوم بروماید به میزان ۰/۵ میکروگرم در میلی لیتر ژل برای رنگ آمیزی باندهای DNA استفاده شد. در نهایت با قرار دادن ژلها در دستگاه و با استفاده از اشعه ماورای بنفش، باندها مشاهده و از آنها عکس برداری شد. بر حسب الگوی اندازه DNA بریده شده گونه مخمری شناسایی گردید [۱۴].

آزمایش حساسیت ضد قارچی

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) از رقت سازی در میکروپلیت الایزا و با روش استاندارد A3-M27 CLSI استفاده گردید [۱۵]. ابتدا از سویه های جدا شده پس از یک پاساژ روی محیط سابورو دکستروز آگار، سوسپانسیون سلولی با غلظت 1×10^2 سلول در هر میلی لیتر در سرم فیزیولوژی استریل تهیه شد و به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به هر چاهک اضافه گردید. سپس غلظت سریالی از فلوکونازول از ۰/۲۵ تا ۱۲۸ میکروگرم در هر میلی لیتر در سری ۱۰ تایی تهیه شد و به میزان ۱۰۰ میکرولیتر

جدول ۱: مشخصات دموگرافیک و عوامل مستعد کننده در مبتلایان به واژینیت کاندیدایی عودکننده

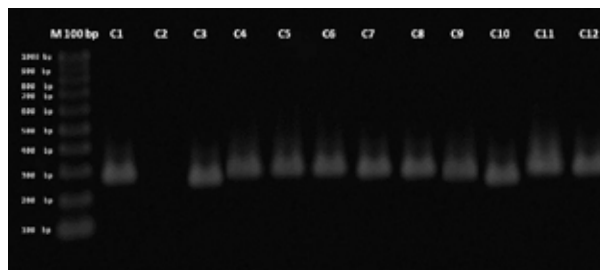
سن	تعداد زایمان				علائم بیماری	عوارض روحی	سابقه مصرف داروهای ضدقارچی		بیماری‌های خاص									
	≤۲۵	۲۶-۳۰	۳۱-۳۵	≥۳۶			بله	خیر	بله	خیر								
					ترشحات شیری و پنیری	خارش	کاهش اعتماد به نفس	احساس ناراضی از زندگی	بله	خیر	بله	خیر						
	۴ (۲۱/۱)	۸ (۴۲/۱)	۵ (۲۶/۳)	۳ (۱۰/۵)	۱۰ (۵۰)	۶ (۳۰)	۳ (۱۵)	۱ (۵)	۱۲ (۶۰)	۱ (۵)	۶ (۳۰)	۷ (۳۵)	۱۱ (۵۵)	۱ (۵)	۱۶ (۸۰)	۴ (۲۰)	۲ (۱۰)	۱۸ (۹۰)

نداشتند، در حالی که ۳۰ درصد فقط یک زایمان، ۱۵ درصد دو بار زایمان و ۵ درصد سه بار زایمان داشتند. همبستگی آماری بین تعداد دفعات زایمان و کاهش موارد ابتلا به بیماری مشاهده گردید ($P < 0/05$) (جدول ۱). همچنین، ۲۰ درصد از مبتلایان به ولوواژینیت کاندیدایی عودکننده، سابقه ابتلا به بیماریهای خاص مانند دیابت ملیتوس را داشتند و ۸۰ درصد آنها فاقد بیماریهای زمینه‌ای خاصی بودند. طبق جدول ۱، ۸۰ درصد زنان مبتلا سابقه استفاده از داروهای مختلف ضدقارچی داشتند، در حالی که ۲۰ درصد سابقه استفاده از داروهای ضدقارچی نداشتند. همبستگی آماری بین استفاده قبلی از داروهای ضدقارچی و ابتلا به ولوواژینیت کاندیدایی عودکننده مشاهده شد ($P < 0/05$). از نظر زمینه‌های روحی و روانی، ۵۵ درصد دارای اضطراب و استرس پایدار، ۳۵ درصد دارای کاهش اعتماد به نفس، ۵ درصد دارای احساس ناراضی از زندگی و ۵ درصد دارای سایر علائم روحی بودند.

بررسی اثرات غلظتهای مختلف داروی فلوکونازول در محدوده ۰/۲۵ تا ۱۲۸ میکروگرم در میلی لیتر بر رشد مخمرهای کاندیدا آلبیکنس نشان داد که این دارو از طریق وابسته به غلظت قادر به مهار رشد ارگانیسما در برخی از غلظتهای به کار گرفته شده می‌باشد. میانگین مقادیر MIC و MFC جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس به ترتیب ۲۸/۸ تا ۵۴ میکروگرم در میلی لیتر و ۳۳/۲۵ تا ۹۰ میکروگرم در میلی لیتر بودند. میانگین میزان MIC فلوکونازول برابر جدایه‌های مختلف کاندیدا آلبیکنس حدود ۴۵/۳۸ میکروگرم در میلی لیتر بود، درحالی که میانگین میزان MFC برابر ۶۳ میکروگرم در میلی لیتر محاسبه شد (جدول ۲). تمام جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس حساس وابسته به دوز بودند.



تصویر ۱: کلنی‌های سبز رنگ کاندیدا آلبیکنس بر روی محیط اختصاصی کروم آگار



تصویر ۲: تصویر ژل آگارز محصولات PCR-RFLP برای برخی از جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس با استفاده از پرایمرهای ITS4 (M) و ITS1 مارکر C1 ۱۰۰۰ bp کنترل مثبت کاندیدا آلبیکنس، C2 کنترل منفی اسپرژیلوس فلاووس، C3-۱۲ جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس (۳۰۰ bp)

در مطالعه حاضر، ۶۰ درصد بیماران دارای ترشحات شیری و پنیری واژینال، ۳۰ درصد دارای سوزش، ۵ درصد دارای خارش و ۵ درصد دارای مقاربت دردناک بودند. در مورد دفعات زایمان، ۵۰ درصد بیماران سابقه زایمان

جدول ۲: میانگین میزان حساسیت سویه های کاندیدا آلبیکنس جدا شده از بیماران مبتلا به واژینیت کاندیدیایی عود کننده به فلوکونازول		
سویه کاندیدا	$\mu\text{g/mL, MIC}$	$\mu\text{g/mL, MFC}$
Ca _۱	۴۹/۷۱ ± ۴/۲۷	۷۳/۲۵ ± ۶/۲۰
Ca _۲	۴۵/۹۰ ± ۴/۲۰	۶۵ ± ۵/۳۴
Ca _۳	۴۶/۶۲ ± ۴/۲۱	۵۸/۵ ± ۴/۱۰
Ca _۴	۴۳/۷۶ ± ۴/۱۳	۵۳ ± ۵/۰۸
Ca _۵	۴۷/۱۶ ± ۴/۲۲	۶۳/۵ ± ۵/۶۷
Ca _۶	۵۱/۱۱ ± ۵/۳۴	۸۳/۲۵ ± ۷/۳۸
Ca _۷	۴۲/۰۷ ± ۴/۰۸	۵۰ ± ۴/۲۰
Ca _۸	۳۷/۳۵ ± ۲/۰۴	۵۳/۲۵ ± ۵/۰۱
Ca _۹	۴۰/۱۴ ± ۳/۰۵	۴۳/۵ ± ۴/۱۲
Ca _{۱۰}	۴۲/۶۲ ± ۳/۰۸	۴۸/۲۵ ± ۴/۱۹
Ca _{۱۱}	۴۴/۴۷ ± ۴/۱۸	۶۳ ± ۵/۲۰
Ca _{۱۲}	۴۴/۱۴ ± ۴/۱۷	۶۱/۵ ± ۵/۰۹
Ca _{۱۳}	۲۸/۱۸ ± ۱/۰۱	۳۳/۲۵ ± ۲/۵۷
Ca _{۱۴}	۵۴ ± ۶/۴۲	۹۰ ± ۶/۶۰
Ca _{۱۵}	۴۹/۸۰ ± ۴/۲۹	۷۲ ± ۶/۱۴
Ca _{۱۶}	۴۸/۷۰ ± ۴/۲۶	۶۳/۲۵ ± ۵/۶۰
Ca _{۱۷}	۵۰/۱۲ ± ۵/۳۵	۷۸ ± ۶/۳۶
Ca _{۱۸}	۴۴/۴۱ ± ۴/۱۶	۶۲/۵ ± ۴/۲۹
Ca _{۱۹}	۵۴ ± ۶/۴۲	۹۰ ± ۶/۶۰
Ca _{۲۰}	۴۳/۴۰ ± ۴/۱۱	۵۵ ± ۴/۴۵

بحث

عودکننده گزارش کردند. دلایل احتمالی شیوع بالای بیماری در گروه سنی ۲۶-۳۰ می‌تواند مربوط به فعالیت بیشتر بودن این گروه سنی از نظر جنسی، تغییرات فیزیولوژیکی هورمونی و استفاده از روشهای مختلف جلوگیری از بارداری باشد. از بیماران مبتلا به ولوواژینیت کاندیدیایی عودکننده، ۲۰ جدایه کاندیدا آلبیکنس بدست آمد که در آزمایشات مختلف کشت، فیزیولوژی و مولکولی مورد تأیید قرار گرفتند. انطباق روش کشت (فنتیپی) با روش مولکولی برابر ۱۰۰ درصد به دست آمد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که روشهای تشخیصی مولکولی سریع و دقیق نظیر PCR-RFLP به کار رفته یکی از مهم‌ترین روش‌های تعیین هویت کاندیدا در این گروه خاص از بیماران در ایران است. لذا استفاده از این روش برای بررسیهای اپیدمیولوژیک در مورد سایر بیماران کاندیدیایی و در دیگر نقاط کشور نیز توصیه می‌شود. افزایش کاندیدا آلبیکنس در بیماران مبتلا به ولوواژینیت کاندیدیایی عودکننده را دلیلی بر اهمیت فاکتورهای مربوط به میزبان در مقابل فاکتورهای عامل بیماریزا همچون ویرولانسی (حدت) و حساسیت دارویی

در مطالعه حاضر فراوانی گونه های مخمری عامل ولوواژینیت کاندیدیایی عودکننده و حساسیت آنها به فلوکونازول و تأثیر عوامل مستعدکننده در بیماران مبتلا در شهر گناباد مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌های پژوهش نشان دادند که میانگین سن زنان مبتلا به ولوواژینیت کاندیدیایی عودکننده ۴/۶۳ ± ۲۹/۴۳ سال بود. بیشترین و کمترین شیوع بیماری به ترتیب در گروه سنی ۲۶-۳۰ سال و گروه سنی مساوی یا بیشتر از ۳۶ سال مشاهده گردید. ورمیتسکی و همکاران [۱۴] و آکنبیا و همکاران [۱۶] بیشترین گروه سنی مبتلایان به ولوواژینیت کاندیدیایی عودکننده را ۲۶-۳۰ سال گزارش کردند که با یافته‌های ما همخوانی داشتند. در مطالعات مختلف انجام شده در ایران، محمودی‌راد و همکاران [۱۷] میانگین سنی ۷/۱ ± ۳۱/۵ سال را در تهران، ناظری و همکاران [۱۸] میانگین سنی ۸/۸ ± ۳۴ سال را در کاشان و حبیبیان و همکاران [۱۹] میانگین سنی ۹/۳ ± ۳۴/۱۸ سال را در شهرکرد به عنوان شایعترین سنین ابتلا به ولوواژینیت کاندیدیایی

مینویان حقیقی و همکاران

به ولوواژینیت کاندیدایی عودکننده مورد بررسی قرار گرفتند. از بین عوامل مختلف، همبستگی‌های آماری بین تعداد دفعات زایمان و کاهش موارد ابتلا به ولوواژینیت کاندیدایی عودکننده مشاهده گردید ($P < 0/05$). در مطالعه انجام شده توسط محمودیراد و همکاران [۱۷]، ۲۷/۷ درصد چاقی، ۸/۴ درصد مصرف OCP ترکیبی، ۱۲ درصد دیابت ملیتوس، ۱۴/۵ درصد مصرف آنتی بیوتیک وسیع‌الطیف، ۲/۴ درصد سرکوب ایمنی و ۶ درصد مصرف IUD داشتند. ناظری و همکاران [۱۸] نیز مهمترین عوامل خطر بروز بیماری را دیابت، مصرف داروهای سرکوب کننده ایمنی و آنتی بیوتیک، استفاده از IUD و OCP بیان نمودند، در حالی که هیچ موردی از حاملگی و ایدز گزارش نشدند. در مطالعه حاضر بیشترین افراد مبتلا به بیماری میانگین سنی ۲۹/۴۳ سال داشتند که یکی از دلایل آن می‌تواند مربوط به استفاده فراوان از روش‌های پیشگیری از بارداری همچون IUD و OCP باشد که از عوامل خطر این عفونت محسوب می‌شوند. در برخی از مطالعات، ابتلا به بیماری‌های خاص مانند دیابت ملیتوس یک عامل مستعدکننده ولوواژینیت کاندیدایی عودکننده محسوب می‌شود [۲۵] ولی در تحقیقاتی در کرمانشاه، اراک و کرمان هیچ اختلاف معناداری میان این عامل و بیماری مد نظر پیدا نشد [۲۶-۲۸] که این مطالعات نتیجه مطالعه ما را تأیید کردند. در مقابل، بیانی و همکاران [۲۹] ارتباط معناداری بین علائم بالینی واژینیت عودکننده با شغل، مصرف OCP، مصرف آنتی بیوتیک و کورتیکواستروئید و IUD مشاهده نکردند.

در مطالعه حاضر ۸۰ درصد زنان مبتلا سابقه استفاده از داروهای مختلف ضدقارچی را داشتند و همبستگی آماری بین استفاده قبلی از داروهای ضدقارچی و ابتلا به ولوواژینیت کاندیدایی عودکننده مشاهده گردید ($P < 0/05$). در این مطالعه کاندیدا آلبیکنس به عنوان گونه غالب شناخته شد، در حالی که گونه‌های غیرآلبیکنس مانند کاندیدا گلابراتا و کاندیدا کروژئی مقاوم به آزول جدا نشدند که این می‌تواند ناشی از تأثیر داروهای تجویزی باشد. لذا مطالعات بیماران جهت بررسی مقاومت دارویی احتمالی و ارزیابی داروهای مصرفی می‌تواند نکات خاص اپیدمیولوژی این بیماری در ایران را مشخص نماید.

بررسی اثرات غلظت مختلف داروی فلوکونازول در محدوده ۰/۲۵ تا ۱۲۸ میکروگرم در میلی لیتر بر رشد مخمرهای کاندیدا آلبیکنس نشان داد که این دارو از طریق وابسته به غلظت قادر به مهار رشد ارگانیسما در برخی از غلظتهای به کار گرفته شده می‌باشد. میانگین مقادیر MIC و MFC فلوکونازول برابر گونه‌های مختلف کاندیدا آلبیکنس به

دانسته‌اند [۲۰]. نتایج ما با مطالعات انجام شده در سایر نقاط دنیا [۲۱-۲۳] همخوانی دارد که گونه غالب را کاندیدا آلبیکنس با شیوع ۴۳ تا ۹۱ درصد در زنان مبتلا به ولوواژینیت کاندیدایی عودکننده گزارش نمودند. در ایران، در مطالعه محمودی‌راد و همکاران (۱۸)، کاندیدا آلبیکنس (۶۷/۶ درصد)، کاندیدا گلابراتا (۸/۴ درصد) و کاندیدا تروپیکالیس (۷/۲ درصد) به ترتیب شایعترین عوامل مسئول بیماری در زنان مبتلا به ولوواژینیت کاندیدایی عودکننده گزارش شدند. در مطالعه ناظری و همکاران [۱۸] نیز کاندیدا آلبیکنس (۷۷/۷ درصد)، کاندیدا گلابراتا (۱۹/۴ درصد) و کاندیدا کروژئی (۲ درصد) به ترتیب شایعترین عوامل کاندیدایی بیماریزا بودند. حبیبیان و همکاران [۱۹] میزان جداسازی سویه‌های کاندیدا آلبیکنس را ۶۷/۳۹ درصد و گونه‌های غیرآلبیکنس را ۳۲/۶ درصد از بیماران مبتلا به واژینیت کاندیدایی راجعه گزارش نمودند. علت شیوع بیشتر گونه آلبیکنس بدین علت است که اولین قدم در تثبیت یک عفونت قارچی، اتصال قارچ به مخاط واژن است که این چسبندگی در گونه آلبیکنس بیشتر از سایر گونه‌ها رخ می‌دهد. چون کاندیدا آلبیکنس تنها گونه کاندیدایی است که ایجاد هایف حقیقی می‌نماید [۱]. در مطالعه حاضر، ۶۰ درصد از بیماران مبتلا دارای ترشحات شیری یا پنیری واژینال بودند، در حالی که ۳۰ درصد دارای سوزش، ۵ درصد دارای مقاربت دردناک و ۵ درصد مابقی دارای خارش بودند. در مطالعه مرتضوی [۲۴] بر روی ۵۹ بیمار مبتلا به ولوواژینیت کاندیدایی عودکننده، ۴۰/۶ درصد از خارش، ۴۴ درصد از سوزش و ۳/۴ درصد از از ترشح واژن شکایت داشتند. در مطالعه ناظری و همکاران [۱۸]، ۸۲/۹ درصد از خارش و سایر افراد علائمی همچون سوزش، مقاربت دردناک و ترشحات پنیری بودند. حبیبیان و همکاران [۱۹] بین عفونت کاندیدایی و علائم بالینی اریتم، سوزش و ترشحات پنیری واژن ارتباط معناداری را گزارش کردند. در واقع، علائم بالینی در بیماران با بیماری عودکننده نشان دهنده وجود ترکیبات و متابولیت‌های مترشحه از کاندیداها است که منجر به بروز آلرژی و واکنش‌های التهابی در فرد می‌گردد. در این مطالعه بین عفونت کاندیدایی با گزارش سوزش و ترشحات پنیری رابطه معناداری وجود داشت ($P < 0/05$). همچنین در معاینه فیزیکی عفونت کاندیدایی بین اریتم و ترشحات پنیری رابطه معناداری یافت شد ($P < 0/05$). لذا سوزش و اریتم واژن می‌توانند از علائم بیماران کاندیدایی راجعه باشند.

در مطالعه حاضر عوامل مختلف مستعدکننده همچون تعداد زایمان، زمینه‌های روحی و روانی، مصرف IUD و OCP و بیماری‌های خاص مانند دیابت ملیتوس در بین بیماران مبتلا

که عامل آن در تست حساسیت دارای مقاومت وابسته به دوز هستند، برای داشتن یک اثر درمانی مناسب باید از دوز دارویی بیشتری استفاده گردد [۳۵].

نتیجه گیری

در مجموع، کاندیدا آلبیکنس مهم‌ترین و شایع‌ترین گونه کاندیدیایی بیماریزا در زنان مبتلا به ولوواژینیت کاندیدیایی عودکننده بود. اکثر جدایه‌های کاندیدا آلبیکنس الگوی حساسیت وابسته به دوز نسبت به فلوکونازول نشان دادند. با توجه به اینکه الگوی حساسیت گونه‌های کاندیدا به فلوکونازول به دنبال استفاده مداوم از این دارو در حال تغییر است. بنابراین، نظارت دقیق و مداوم و نیز انجام تست‌های حساسیت در آزمایشگاه ضروری بوده و به پزشکان در اتخاذ درمان مناسب برای بیماران کمک می‌کند.

سپاسگزاری

این مقاله منتج از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد مصوب دانشگاه آزاد اسلامی دامغان است. نویسنده مسئول از بیماران محترم و کلیه پرسنل درمانگاه‌های زنان شهر گناباد و همچنین پرسنل آزمایشگاه قارچ شناسی دانشگاه علوم پزشکی گناباد نهایت تشکر و سپاسگزاری را می‌نماید. ضمناً نتایج این مطالعه با منافع نویسندگان در تضاد و تعارض نیست.

REFERENCES

- Kumari V, Banerjee T, Kumar P, Pandey S, Tilak R. Emergence of non-albicans *Candida* among candidal vulvovaginitis cases and study of their potential virulence factors, from a tertiary care center, North India. *Indian J Pathol Microbiol.* 2013;56(2):144-7. DOI: [10.4103/0377-4929.118703](https://doi.org/10.4103/0377-4929.118703) PMID: [24056652](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24056652/)
- Moreira D, Paula CR. Vulvovaginal candidiasis. *Int J Gynaecol Obstet.* 2006;92(3):266-7. DOI: [10.1016/j.jigo.2005.12.007](https://doi.org/10.1016/j.jigo.2005.12.007) PMID: [16434042](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16434042/)
- Spacek J, Buchta V, Jilek P, Forstl M. Clinical aspects and luteal phase assessment in patients with recurrent vulvovaginal candidiasis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2007;131(2):198-202. DOI: [10.1016/j.ejogrb.2006.03.009](https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2006.03.009) PMID: [16687200](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16687200/)
- Fidel PL, Jr. History and new insights into host defense against vaginal candidiasis. *Trends Microbiol.* 2004;12(5):220-7. DOI: [10.1016/j.tim.2004.03.006](https://doi.org/10.1016/j.tim.2004.03.006) PMID: [15120141](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15120141/)
- Corsello S, Spinillo A, Osnengo G, Penna C, Guaschino S, Beltrame A, et al. An epidemiological survey of vulvovaginal candidiasis in Italy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003;110(1):66-72. PMID: [12932875](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12932875/)
- Pakshir K, Yazdani M, Kimiaghalam R. Etiology of vaginal candidiasis in Shiraz, Southern Iran. *Res J Microb.* 2007;2(9):696-700.
- Esmailzadeh S, Mahdavi Omran S, Rahmani Z. Frequency and etiology of vulvovaginal candidiasis in women referred to a gynecological center in babol, Iran. *Cell J.* 2009;3(2):74-77.
- Ventolini G, Baggish MS. Recurrent vulvovaginal candidiasis. *Clin Microb Newslett.* 2006;28(12):93-5.
- Rex JH, Rinaldi MG, Pfaller MA. Resistance of *Candida* species to fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995;39(1):1-8. PMID: [7695288](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7695288/)
- Sanglard D, Ischer F, Calabrese D, Micheli M, Bille J. Multiple resistance mechanisms to azole antifungals in yeast clinical isolates. *Drug Resist Updat.* 1998;1(4):255-65. PMID: [16904408](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16904408/)
- Morace G, Manzara S, Dettori G. In vitro susceptibility of 119 yeast isolates to fluconazole, 5-fluorocytosine, amphotericin B and ketoconazole. *Chemotherapy.* 1991;37(1):23-31. PMID: [2013239](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2013239/)
- Alexander BD, Perfect JR. Antifungal resistance trends towards the year 2000. Implications for therapy and new approaches. *Drugs.* 1997;54(5):657-78. PMID: [9360056](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9360056/)
- Shokri H, Khosravi AR, Yalfani R. Antifungal efficacy of propolis against fluconazole-resistant *Candida glabrata* isolates obtained from women with recurrent vulvovaginal candidiasis. *Int J Gynaecol Obstet.* 2011;114(2):158-9. DOI: [10.1016/j.jigo.2011.02.019](https://doi.org/10.1016/j.jigo.2011.02.019) PMID: [21669419](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21669419/)
- Vermitsky JP, Self MJ, Chadwick SG, Trama JP, Adelson ME, Mordechai E, et al. Survey of vaginal-flora *Candida* species isolates from women of different age groups by use of species-specific PCR detection. *J Clin Microbiol.* 2008;46(4):1501-3. DOI: [10.1128/JCM.02485-07](https://doi.org/10.1128/JCM.02485-07) PMID: [18305136](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18305136/)
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference Methods for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeast: Approved Standard: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2002.
- Akinbiyi AA, Watson R, Feyi-Waboso P. Prevalence of *Candida albicans* and bacterial vaginosis in asymptomatic pregnant women in South Yorkshire, United Kingdom. Outcome of a prospective study. *Arch Gynecol Obstet.* 2008;278(5):463-6. DOI: [10.1007/s00404-008-0593-8](https://doi.org/10.1007/s00404-008-0593-8) PMID: [18299865](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18299865/)
- Mahmoudi Rad M, Zafarghandi AS, Abbasabadi B, Amiri Z, Shivayi M, Amel Zabihi M, et al. [Identification and comparison of etiologic agents in vulvovaginal candidiasis and recurrent vulvovaginal candi-

- asis by a differential medium]. Res Med. 2010;33:189-94.
18. Nazeri M, Mesdaghinia E, Moraveji SAR, Atabakhshian R, Soleymani F. Prevalence of vulvovaginal candidiasis and frequency of candida species in women. J Mazand Univ Med Sci. 2012;22(86):255-62.
 19. Habibi R, Jafarzadeh L, Shahriari K. [Investigating the relationship between recurrent vulvovaginal candidiasis with predisposing factors and symptoms of disease]. J Shahrekord Univ Med Sci. 2013;15:38-46.
 20. Sobel JD, Faro S, Force RW, Foxman B, Ledger WJ, Nyirjesy PR, et al. Vulvovaginal candidiasis: epidemiologic, diagnostic, and therapeutic considerations. Am J Obstet Gynecol. 1998;178(2):203-11. [PMID: 9500475](#)
 21. Fan SR, Bai FY, Liao QP, Liu ZH, Li J, Liu XP. Genotype distribution of *Candida albicans* strains associated with different conditions of vulvovaginal candidiasis, as revealed by microsatellite typing. Sex Transm Infect. 2008;84(2):103-6. [DOI: 10.1136/sti.2007.025700](#) [PMID: 17971371](#)
 22. Darce Bello M, Gonzalez A, Barnabe C, Larrouy G. First characterization of *Candida albicans* by random amplified polymorphic DNA method in Nicaragua and comparison of the diagnosis methods for vaginal candidiasis in Nicaraguan women. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2002;97(7):985-9. [PMID: 12471425](#)
 23. Cheng G, Yeater KM, Hoyer LL. Cellular and molecular biology of *Candida albicans* estrogen response. Eukaryot Cell. 2006;5(1):180-91. [DOI: 10.1128/EC.S.1.180-191.2006](#) [PMID: 16400181](#)
 24. Mortazavi R. [Vaginal candidiasis and its relation with socioeconomic factors in patients attending the Tehran clinics]. Tehran Tehran University of Medical sciences; 1991.
 25. Malazy OT, Shariat M, Heshmat R, Majlesi F, Alimohammadian M, Tabari NK, et al. Vulvovaginal candidiasis and its related factors in diabetic women. Taiwan J Obstet Gynecol. 2007;46(4):399-404. [PMID: 18182346](#)
 26. Jamilian M, Mashadi E, Sarmadi F, Banijamali M, Farhadi E, Ghanatpishe E. Frequency of vulvovaginal Candidiasis species in nonpregnant 15-50 years old women in spring 2005 in Arak. Arak Med Univ J. 2007;10(2):7-14.
 27. Aali B, Touhidi A. Prevalence of candida vaginitis among symptomatic patients in Kerman. J Qazvin Univ Med Sci. 2000;4:42-8.
 28. Faraji R, Rahimi MA, Rezvanmadani F, Hashemi M. Prevalence of vaginal candidiasis infection in diabetic women. Afr J Microbiol Res. 2012;6(11):2773-8.
 29. Bayani M, Asghar Sefidgar SA, Basirat Z. [Association of clinical symptoms and laboratory results in diagnoses of candida vaginitis]. J Babol Univ Med Sci. 2014;16:50-5.
 30. Sobel JD, Zervos M, Reed BD, Hooton T, Soper D, Nyirjesy P, et al. Fluconazole susceptibility of vaginal isolates obtained from women with complicated *Candida* vaginitis: clinical implications. Antimicrob Agents Chemother. 2003;47(1):34-8. [PMID: 12499165](#)
 31. Nasrollahi Omran A, Vakili L, Jafarpur M. [The determination of vaginal candidiasis in women referred to Shahid Rajaei Hospital in Tonekabon (2009-2010)]. Med Lab J. 2011;5:1-7.
 32. Tseng YH, Lee WT, Kuo TC. In-Vitro susceptibility of fluconazole and amphotericin B against *Candida* isolates from women with vaginal candidiasis in Taiwan. J Food Drug Anal. 2005;13(1).
 33. Ozcelik B, Kaynak F, Cesur S, Sipahi B, Sultan N. In vitro activities of voriconazole as a triazole derivative and caspofungin as an echinocandin were compared with those of some antifungal agents against *Candida* species isolated from clinical specimens. Jpn J Infect Dis. 2007;60(5):302-4. [PMID: 17881873](#)
 34. Moallaie H, Verissimo C, Brandão J, Rosado L. The Sensitivity and Resistance of Yeasts Isolated from Women with Vulvovaginal Candidiasis to Common Antifungal drugs Using Disc Diffusion. J Sabzevar Sch Med Sci. 2010;4:213-9.
 35. Quindos G, Carrillo-Munoz AJ, Arevalo MP, Salgado J, Alonso-Vargas R, Rodrigo JM, et al. In vitro susceptibility of *Candida dubliniensis* to current and new antifungal agents. Chemotherapy. 2000;46(6):395-401. [DOI: 7320](#) [PMID: 11053905](#)

Determination of Drug Susceptibility of Candida Strains Isolated From Patients With Recurrent Candida Vulvovaginitis and Investigation of Predisposing Factors of the Disease

Mohammad Hassan Minooeianhaghighi ¹, Marziyeh Sehatpour ²,
Hojjatollah Shokri ^{3,*}

¹ Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Medicine, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran

² MSc in Microbiology, Damghan Islamic Azad University, Damghan, Iran

³ Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

* Corresponding author: Hojjatollah Shokri, Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran. E-mail: hshokri@ausmt.ac.ir

DOI: 10.21859/hums-23042

Received: 28.08.2016

Accepted: 18.12.2016

Keywords:

Vulvovaginal Candidiasis
Candida albicans
Polymerase Chain Reaction
Vaginal Discharge
Fluconazole

How to Cite this Article:

Minooeianhaghighi MH, Sehatpour M, Shokri H. Determination of Drug Susceptibility of Candida Strains Isolated From Patients With Recurrent Candida Vulvovaginitis and Investigation of Predisposing Factors of the Disease. *Sci J Hamadan Univ Med Sci.* 2017;23(4):336-344. DOI: 10.21859/hums-23042

© 2017 Hamadan University of Medical Sciences.

Abstract

Introduction: Recurrent Vulvovaginal Candidiasis (RVVC), which is mostly caused by *Candida albicans* (*C. albicans*), is the second common cause of genital tract infection in females. The purpose of this research was to identify *Candida* isolates from RVVC, identify predisposing factors and determine antifungal effect of fluconazole against *Candida* strains isolated from the patients.

Methods: In this descriptive-laboratory study, 20 patients with confirmed diagnosis of RVVC were selected. Yeast isolates were characterized using mycological standard methods, including culture on Sabouraud dextrose agar medium and CHROM agar, germ tube test and polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) technique. The susceptibility of *Candida* isolates against fluconazole was determined by microdilution broth method.

Results: The average age of the patients was 29.43 ± 4.63 years. *Candida albicans* was obtained from 100% of the samples. The most common clinical sign was vaginal discharge (60%) in females with positive culture. Statistical correlations were observed between parturition frequency and low RVVC occurrence as well as between the previous antifungal therapy and RVVC occurrence. The mean minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC) of fluconazole against different *C. albicans* strains was determined as $45.3863 \mu\text{g/mL}$ and $63 \mu\text{g/mL}$, respectively.

Conclusion: Due to the uncertainty of diagnosis of this disease according to clinical symptoms and also, due to the resistance of *Candida* species, using culture and molecular methods are recommended as standard methods of diagnosis.