

Characterization of Candida Species Isolated from Patients with Vulvovaginitis

Asghar Salehpour Ranjdoust¹, Manizheh Sayyah melli², Najibeh Asle Rahnemaii Akbari¹, Iran Nokhahi¹,
Badrosadat Rahnama³

¹Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

²Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

³Department of Immunology, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Received: 9 Apr, 2013 Accepted: 9 Jul, 2013

Abstract

Background and Objectives: Vulvovaginal Candidiasis (VC) is a common mucosal infection in women caused by the opportunistic yeast-like fungus *Candida albicans*. A significant percentage of these patients (5%) subsequently experience recurrent candida infections. The diagnosis of vulvovaginitis is based on the patient's presenting symptoms and the clinical laboratory methods. The aim of this study was to characterize the *Candida* species isolated from patients with vulvovaginitis.

Materials and Methods: All patients with the VC symptoms who were referred to the gynecologist's clinic of Alzahra and Taleghani hospital were investigated. After sampling from vagina and cervix discharge, two direct slides were prepared and then stained with gram stain method. The vaginal discharges were cultured on suitable media for isolation and characterization of *Candida* species by related laboratory methods.

Results: 120 samples obtained from patients. 77 patients (65%) were infected with *Candida* species. The frequency of the *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and the *Candida tropicalis* were 63(81.8%), 9(11.7%), 4(5.2%), and 1(1.3%), respectively.

Conclusion: *Candida albicans* was the most common species leading to the Vulvovaginitis in patients with VC while other species were at the secondary importance stages.

Keywords: Candida, *Candida albicans*, Vaginitis

*Corresponding author:

E-mail: nagibeh_a@yahoo.com

مقاله پژوهشی

تعیین گونه های کاندیدای جدا شده از بیماران مبتلا به ولوواژینیت کاندیدایی

اصغر صالح پور رنج دوست فام: گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
منیژه سیاح ملی: گروه زنان و مامایی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
نجیبه اصل رهنمای اکبری: گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران، نویسنده رابط:

E-mail: nagibeh_a@yahoo.com

ایران نوع خواهی: گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
بدرالسادات رهنما: گروه ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

دریافت: ۹۲/۱/۲۰ پذیرش: ۹۲/۴/۱۸

چکیده

زمینه و اهداف: ولوواژینیت کاندیدایی یک عفونت مخاطی متداول زنان می باشد که عمدتاً توسط قارچ مخمر مانند فرصت طلب به نام کاندیدا آلیکس ایجاد می شود. در تعداد قابل توجهی از بیماران (۵٪) عود بیماری دیده می شود. تشخیص این بیماری بر اساس علائم بالینی و روشهای متداول آزمایشگاهی می باشد. در این مطالعه گونه های جدا شده از بیماران مبتلا به ولوواژینیت مراجعه کننده به مطب های خصوصی پزشکان متخصص زنان و زایمان تعیین هویت گردیدند.

مواد و روش ها: این مطالعه در بین ۱۲۰ نفر از بیماران دارای علائم بالینی مشکوک به ولوواژینیت کاندیدایی انجام گرفت. پس از نمونه برداری از ترشحات دهانه رحم و واژن، دو عدد لام مستقیم تهیه و به روش گرم رنگ آمیزی شدند. همچنین نمونه های برداشته شده در محیط کشت های مناسب کشت داده شده و در صورت رشد کاندیدا با استفاده از روشهای آزمایشگاهی تعیین گونه گردیدند.

یافته ها: از ۱۲۰ نمونه تهیه شده از بیماران، ۷۷ نفر (۶۵ درصد) مبتلا به عفونت کاندیدایی بودند. از نمونه های ایزوله شده ۶۳ مورد (۸۱/۸ درصد) کاندیدا آلیکس، ۹ مورد (۱۱/۷ درصد) کاندیدا گلابراتا، ۴ مورد (۵/۲ درصد) کاندیدا پاراپسیلوزیس و ۱ مورد (۱/۳ درصد) کاندیدا تروپیکالیس تعیین هویت گردید.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که کاندیدا آلیکس عامل اصلی ولوواژینیت در بیماران مبتلا به ولوواژینیت کاندیدایی است و سایر گونه های کاندیدا در مرحله بعدی اهمیت قرار دارند.

کلید واژه ها: کاندیدا، کاندیدا آلیکس، واژینیت.

مقدمه

می دانند و در زنان غیر حامله علائم قبل از پیروید تشدید یافته و توام با خارش شدید و درد است (۱). در حالی که حدود ۷۵٪ زنان در طول زندگی خود حداقل یکبار به ولوواژینیت کاندیدایی مبتلا می شوند، درصد قابل توجهی از این بیماران (۵٪) عفونت کاندیدایی عود کننده را تجربه می کنند. این بیماری یک عفونت مخاطی معمول است که عمدتاً توسط یک قارچ مخمر مانند فرصت طلب به نام کاندیدا آلیکس ایجاد می شود. شیوع بالای

ولوواژینیت کاندیدایی یک بیماری متداول زنان می باشد که بدنبال حاملگی، مصرف داروهای ضد حاملگی خوراکی و دیابت ایجاد می گردد و ممکن است بر روی سلامتی جسمی و روانی آنها اثر بگذارد. بیماری با ترشحات زرد شیری رنگ، غلیظ و غشاء کاذب سفید خاکستری در سطح مخاط واژن همراه است و گاه بصورت آگزمائی، با پوستول و زخم می باشد. ولوواژینیت در سه ماه آخر حاملگی شایعتر است که علت آن را کاهش PH واژن

با یک آنس مخمر رشد یافته مخلوط نموده، بعد از ۲/۵-۳ ساعت انکوبه کردن در اتوکلاو ۳۷ درجه سلسیوس نمونه ها بررسی شدند. نمونه هایی که لوله زایا ایجاد کرده بودند بعنوان کاندیدا آلیکانس گزارش گردیدند. جهت کلامیدوسپور زایی کشت در محیط کورن میل آگار حاوی توین ۸۰ انجام گرفت. کاندیدا آلیکانس در این محیط کلامیدوسپورهای انتهایی ایجاد می کند. کیت های API 20 C و کشت در محیط کشت کروم آگار (CHROM Agar France) برای تعیین سایر گونه ها مورد استفاده قرار گرفت.

یافته ها

از ۱۲۰ نمونه تهیه شده از بیماران مشکوک به ولووژینیت کاندیدایی ۷۷ نفر (۶۵ درصد) مبتلا به عفونت کاندیدایی بودند و گونه های کاندیدا رشد کرده بود. از نمونه های ایزوله شده ۶۳ مورد (۸۱/۲ درصد) کاندیدا آلیکانس ۹ مورد (۱۱/۷ درصد) کاندیدا گلابراتا، ۴ مورد (۵/۲ درصد) کاندیدا پاراسیلوزیس و ۱ مورد (۱/۳ درصد) کاندیدا تروپیکالیس تعیین هویت گردید.

جدول ۱: تعداد و درصد گونه های کاندیدای ایزوله شده از بیماران

درصد	تعداد	گونه های کاندیدا
۸۱٫۸	۶۳	کاندیدا آلیکانس
۱۱٫۷	۹	کاندیدا گلابراتا
۵٫۲	۴	کاندیدا پاراسیلوزیس
۱٫۳	۱	کاندیدا تروپیکالیس
۱۰۰	۷۷	جمع

بحث

گونه های کاندیدا از عوامل مهم ایجاد ولووژینیت در خانمها هستند (۶). کاندیدا آلیکانس مهمترین عامل عفونت کاندیدایی در بیماران مبتلا به ولووژینیت است ولی سایر گونه های کاندیدا نیز می توانند عامل بیماری باشند (۸ و ۷). مطالعات زیادی در مورد این بیماری در نقاط مختلف دنیا انجام گرفته است (۱۶-۹). در سال ۲۰۰۶ مطالعه‌ی Pirota و همکاران نشان داد ۲۱٪ خانمهای فاقد علائم بالینی دارای گونه های کاندیدا در واژن خود بودند. از این گونه ها، ۷۳٪ آنها کاندیدا آلیکانس، ۲۰٪ کاندیدا گلابراتا و ۵٪ کاندیدا پاراسیلوزیس بودند (۲). Bornstein و همکاران مشخص کردند که اکثر بیماران مبتلا به ولووژینیت کاندیدایی که کشت نمونه آنها از نظر کاندیدا مثبت بود دارای علائم بالینی نظیر التهاب، ترشح، درد، سوزش، بوی بد و سابقه‌ای از ولووژینیت مزمن بودند (۱۵ و ۱۴).

Richter و همکاران نشان دادند ۸۰ الی ۹۰ درصد موارد ولووژینیت کاندیدایی توسط کاندیدا آلیکانس و ۱۰ الی ۲۰ درصد موارد توسط سایر گونه های کاندیدا نظیر کاندیدا گلابراتا ایجاد می گردد (۱۷).

محمودی و همکاران در مطالعه ای که در مورد گونه های کاندیدا در افراد مبتلا به ولووژینیت به روش مولکولی در سال

کاندیدازیس مخاطی در اشخاص با ضعف سیستم ایمنی نظیر بیماران مبتلا به ایدز و بیماران تحت درمان با داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی نشان می دهد که ایمنی سلولی در محافظت بافت مخاطی در مقابل کاندیدا آلیکانس از اهمیت زیادی برخوردار است (۲). با توجه به این شیوع بالا، استفاده از روشهای سرولوژیک همچون تست های دوپل دیفیوژن، روش لانتکس آگلوتاسیون که بر روی ترشحات انجام می گیرد، در تشخیص بیماری کمک کننده است (۳ و ۱). علائم بالینی بیماری شامل معاینه واژن به وسیله اسپیکولوم، ترشح واژن، بررسی PH واژن و آزمایش نمونه مرطوب میکروسکوپی استوار است (۴ و ۵). تعیین گونه های کاندیدا در ولووژینیت برای پزشکان مهم است چون درمان ولووژینیت غیر کاندیدا آلیکانس همیشه با موفقیت همراه نیست و بعضی گونه ها به داروهای ضد قارچی مقاومت نشان می دهند (۲). روشهای متداول کشت، آنالیز بیوشیمیایی، مورفولوژی در سالهای اخیر تکنیکهای مولکولار و آنالیز DNA جهت تعیین هویت گونه های کاندیدا بکار گرفته شده است (۶ و ۷). با توجه به موارد فوق و نقش کاندیداها در ایجاد ولووژینیت، در این مطالعه گونه های جدا شده از بیماران مبتلا به ولووژینیت مراجعه کننده به مطب های خصوصی پزشکان متخصص زنان و زایمان تعیین هویت گردید.

مواد و روش ها

این مطالعه در طی زمانی یکسال مهر ماه سال ۱۳۹۰ تا شهریور ماه سال ۱۳۹۱ در بین ۱۲۰ نفر از بیماران دارای علائم بالینی مشکوک به ولووژینیت کاندیدایی مراجعه کننده به مطب های خصوصی پزشکان متخصص زنان و زایمان شهر تبریز انجام گرفت. نمونه برداری با گذاشتن اسپیکولوم استریل توسط پزشک متخصص زنان و زایمان بوسیله دو عدد سوپ پنبه ای استریل مرطوب شده با سرم فیزیولوژی و از واژن و دهانه رحم صورت گرفت. با یک عدد از سوپها، دو عدد لام مستقیم جهت رنگ آمیزی گرم تهیه و بوسیله چراغ الکتلی ثابت گردیدند. سوپ پنبه‌ای دوم جهت کشت و انجام آزمایشهای تشخیصی و تعیین گونه در صورت مثبت بودن به آزمایشگاه قارچ شناسی دانشکده پزشکی منتقل گردید. در آزمایشگاه لامهای تهیه شده به روش گرم رنگ آمیزی شده و از نظر وجود یا عدم وجود کاندیداها با بزرگنمایی ۱۰۰ میکروسکپ نوری بررسی شدند. سوپ پنبه ای تهیه شده دوم در محیط کشتهای ژلوزخوندار، سابورو دکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل سیکلوهگزامید در زیر هود و با رعایت شرایط آسپتیک کشت داده شده و در حرارت ۳۷° سلسیوس انکوبه گردیدند. تمام کشتهها بعد از ۴۸ الی ۷۲ ساعت از لحاظ رشد و یا عدم رشد کلنی ها مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه های مثبت با استفاده از تست لوله زایا، کلامیدوسپورزایی، روش های بیوشیمیایی با استفاده از کیت های API 20 C و کشت در محیط کشت کروم آگار (CHROM Agar France) تعیین هویت شدند. برای تعیین گونه کاندیدا آلیکانس از تست لوله زایا و کلامیدوسپورزایی استفاده شد. که باین ترتیب بودند: ۵/ میلی لیتر سرم تازه انسانی را

نتیجه گیری

از آنجایی که مقاومت دارویی به بعضی از داروهای ضدقارچی ایتراکونازول، فلوکونازول و در بین گونه های غیرکandida آلیکانس (کandida گلابراتا، candida کروز، candida پاراپسیلوزیس و ...) دیده می شود و اکثرا عود بیماری ولوواژینیت Reculleat Vulvovaginitis، توسط گونه های غیرکandida اتفاق می افتد (۱۷)، به نظر می رسد که کشت نمونه و تعیین هویت و درمان ضد قارچی انواع گونه های candida در بیماران مبتلا به ولوواژینیت می تواند در درمان موثر بوده و از عود آن جلوگیری نماید.

۲۰۱۲ انجام دادند، گزارش کرده اند که candida آلیکانس هنوز هم مهمترین عامل عفونتهای candidایی در جهان است و candida گلابراتا در رده دوم قرار دارد (۸). در مطالعه حاضر نشان داده شد از ۱۲۰ بیمار مراجعه کننده که دارای ترشحات واژن بودند، ۷۷ نفر (۶۵ درصد) مبتلا به ولوواژینیت candidایی بودند که ۶۳ (۸۱/۸ درصد) مورد توسط candida آلیکانس و ۱۴ (۱۸/۲ درصد) مورد توسط سایر گونه های candida ایجاد شده بود. جدا سازی ۶۳ (۸۱/۸ درصد) مورد candida آلیکانس از بیماران مبتلا به ولوواژینیت candidایی در این مطالعه نیز نشان داد که این قارچ مخمر مانند دارای شیوع نسبتاً بالا و عامل اصلی بیماری می باشد و سایر گونه های candida در مرحله بعدی اهمیت قرار دارند.

References

- Zaini F, Mehbod A, Emami M. *Comprehensive Medical Mycology* 2413, University of Tehran Press, 1383, P:332-333
- Pirotta MV, Garland SM. Genital Candida species detected in samples from women in Melbourne, Australia, before and after treatment with antibiotics. *J Clin Microbiol* 2006; **44**(9): 3213-3227.
- Corrigan EM, Clancy RL, Dunkley ML, Eysers FM, Beagley KW. Cellular immunity in recurrent Vulvovaginal candidiasis. *Clin Exp Immunol* 1998; **111**(3): 574-578.
- Jones GR, Warnock DW. Observation on the use of the double diffusion test in the diagnosis of vaginal candidiasis. *J Clin Pathol* 1977; **30**(3): 262-265.
- Bornstein J, Lakovsky Y, Lavi I, Bar-Am A, Abramovici H. The classic approach to diagnosis of Vulvovaginitis: a critical analysis. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2001; **9**(2): 105-111.
- Steele AM, de San Lazaro C. Transhymental cultures for sexually transmissible organisms. *Archives of Disease in Childhood* 1994; **71**(5): 423-427.
- Mahmoudi Rad M, Zafarghandi ASh, Amel Zabihi M, Tavallaee M, Mirdamadi Y. Identification of Candida Species Associated with Vulvovaginal Candidiasis by multiple PCR. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2012; 2012: 872169 .doi: 10.1155/2012/872169. Epub 2012 Jun 26.
- Schwartz A, Taras D, Rusch K, Rusch V. Throwing dice for the diagnosis of Vaginal Complaints? *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2006; **5**: 4.
- Warnock DW, Hilton AL. Value of the indirect immunofluorescence test in the diagnosis of Vaginal Candidiasis. *Br J Vener Dis* 1976; **52**(3): 187-189.
- de Moraes-Vasconcelos D, Orii NM, Romano CC, Iqueoka RY, Duarte AJ. Characterization of the cellular immune function of patients with chronic mucocutaneous Candidiasis. *Clin Exp Immunol* 2001; **123**(2): 247-253.
- Ge SH, Wan Z, Li J, Xu J, Li RY, Bai FY. Correlation between azole susceptibilities, genotypes, and ERG11 mutations in Candida albicans isolates associated with vulvovaginal candidiasis in China. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; **54**(8): 3126-3131.
- McClelland RS, Richardson BA, Hassan WM, Graham SM, Kiarie J, Baeten JM, et.al. Prospective study of vaginal bacterial flora and other risk factors for vulvovaginal candidiasis. *J Infect Dis* 2009; **199**(12):1883-1890.
- Weissenbacher S, Witkin SS, Tolbert V, Giraldo P, Linhares I, Haas A, et.al. Value of Candida polymerase chain reaction and vaginal cytokine analysis for the differential diagnosis of women with recurrent vulvovaginitis. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology* 2000; **8**(5-6): 244-247.
- Geiger AM, Foxman B, Sobel JD. Chronic vulvovaginal candidiasis: characteristics of women with Candida albicans, C glabrata and no candida. *Genitourin Med* 1995; **71**(5): 304-307.
- Lowe NK, Neal JL, Ryan-Wenger NA. Accuracy of the clinical diagnosis of vaginitis compared with a DNA probe laboratory standard. *Obstet Gynecol* 2009; **113**(1): 89-95.
- Marot-Leblond A, Nail-Billaud S, Pilon F, Beucher B, Poulain D, Robert R. Efficient Diagnosis of Vulvovaginal Candidiasis by use of a new Rapid Immunochromatography test. *J Clin Microbiol* 2009; **47**(12): 3821-3825.
- Richter SS, Galask RP, Messer SA, Hollis RJ, Diekema DJ, Pfaller MA. Antifungal Susceptibilities and Candida Species causing Vulvovaginitis and Epidemiology of recurrent cases. *J Clin Microbiol* 2005; **43**(5): 2155-2162.