

بررسی ارتباط بین گونه‌های کاندیدا و برخی ریسک فاکتورهای

مؤثر بر بروز ولوواژینیت کاندیدیایی

دکتر سیده صدیقه حسینی^{۱*}، دکتر عزت‌الله قائمی^۲، دکتر فرهاد نیک‌نژاد^۱، دکتر حمیدرضا جوشقانی^۳، مینا ربیعی^۱، فهیمه آزادی^۱، تکتتم شرفی^۴، ناعمه جاوید^۱، محبوبه کبیر^۵، صبا مودی^۶، فریده جعفری^۷، زهرا کمیزی^۱

۱. استادیار مرکز تحقیقات علوم آزمایشگاهی، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران.
۲. استاد گروه میکروب شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران.
۳. استاد مرکز تحقیقات گوارش و کبد، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران.
۴. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه میکروب شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران.
۵. کارشناس مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران.
۶. دانشجوی کارشناسی ارشد مشاوره در مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران.
۷. دانشجوی کارشناسی پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه آزاد اسلامی بندرگز، بندرگز، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۷/۰۷

خلاصه

مقدمه: ولوواژینیت کاندیدیایی، یک عفونت مخمری و از شایع‌ترین علل مراجعه زنان به پزشک می‌باشد. مطالعه حاضر با هدف ارتباط نوع گونه‌های کاندیدا و برخی ریسک فاکتورهای مؤثر بر بروز ولوواژینیت کاندیدیایی انجام شد. **روش کار:** این مطالعه توصیفی-تحلیلی از نوع همبستگی طی سال‌های ۹۷-۱۳۹۵ بر روی ۴۰۴ نمونه ترشحات واژن با علائم بالینی ولوواژینیت در بیمارستان صیاد شیرازی و درمانگاه‌های پزشکی و مامایی شهر گرگان انجام شد. بر روی ترشحات واژینال آزمایش مستقیم، کشت بر روی محیط کروم آگار کاندیدا انجام و ۲۸۰ فرد مبتلا به کاندیدیازیس با روش RFLP-PCR تعیین گونه گردید. به‌منظور جمع‌آوری اطلاعات دموگرافیک و اطلاعات فردی باروری افراد از پرسشنامه استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۲) و آزمون‌های کای دو و دقیق فیشر انجام گرفت. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: از بین افراد مورد مطالعه، ۶۲ نفر (۲۲٪) از بیماران عفونت تکرار شونده داشتند؛ همچنین بین بروز عفونت ولوواژینیت کاندیدیایی با گروه سنی ۲۶-۳۵ سال، بروز بیماری‌های زمینه‌ای، بارداری و مصرف داروهای ضدبارداری نظیر LD، مترونیدازول و فلوکونازول ارتباط آماری معنی‌داری یافت شد ($p < 0/05$)، اما بین سایر عوامل، ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0/05$). کاندیدا آلبیکنس به عنوان شایع‌ترین گونه مؤثر در ارتباط با ریسک فاکتورهای مختلف ولوواژینیت کاندیدیایی، شناسایی گردید.

نتیجه‌گیری: آگاهی از نوع مخمر، نوع داروی ضدقارچی مؤثر و ریسک فاکتورهای مؤثری چون مصرف بی‌رویه برخی آنتی‌بیوتیک‌ها، داروهای ضدبارداری چون LD و برخی عوامل زمینه‌ای می‌تواند تصویر روشن‌تری در رابطه با شیوع بیماری و عوامل مؤثر در بروز ولوواژینیت کاندیدیایی برای پزشکان متخصص و مسئولین بهداشتی مربوطه فراهم آورد.

کلمات کلیدی: ریسک فاکتورها، گونه‌های کاندیدا، ولوواژینیت کاندیدیایی، ارتباط

* نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر سیده صدیقه حسینی؛ دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. تلفن: ۰۱۷-۳۲۴۳۶۱۰۵؛ پست الکترونیکی: hosseini.s@goums.ac.ir

مقدمه

ولوواژینیت کاندیدیایی، یکی از شایع‌ترین عفونت‌های دستگاه ژنیتال زنان می‌باشد که روزانه در کلینیک‌های بالینی رؤیت می‌گردد و دومین عفونت شایع واژن بعد از عفونت‌های باکتریایی گزارش شده است (۱، ۲). یافته‌ها حاکی از آن است که ۷۵٪ زنان حداقل یک‌بار در طی سال‌های زندگی خود به ولوواژینیت کاندیدیایی مبتلا می‌شوند. همچنین در ۴۰-۵۰٪ موارد نیز برای بار دوم عود بیماری مشاهده شده و سالانه حدود ۱۳ میلیون کاندیدیازیس ولوواژینال در آمریکا گزارش می‌گردد. به‌علاوه گزارش‌ها نشان می‌دهد که میزان بروز این بیماری در طی دهه گذشته در آمریکا و اروپا افزایش یافته است (۳، ۴). عفونت‌های قارچی واژن در ۸۵-۹۵٪ بیماران ناشی از کاندیدا آلبیکنس بوده و در بقیه موارد کاندیدا گلابراتا و کاندیدا تروپیکالیس، عامل ایجاد بیماری هستند (۵، ۶).

با توجه به بررسی‌های متفاوت از نقاط مختلف دارای شرایط اقلیمی گوناگون، کاندیدیازیس واژن، شیوعی برابر ۱۸٪ در زنان غیرباردار و حدود ۳۰٪ در زنان باردار و یا مصرف‌کننده قرص‌های ضد بارداری، آنتی‌بیوتیک‌ها و کورتیکواستروئیدها دارد (۷). شیوع انتشار این بیماری، روز به روز افزایش یافته و خطرات ناشی از آن، به‌طور جدی جامعه زنان را تهدید می‌نماید (۳، ۴). این ارگانیزم به‌دلیل تمایل به عود مجدد، یک مشکل جدی محسوب می‌شود، زیرا کنترل موارد راجعه عفونت بسیار مشکل‌تر است، بنابراین نیاز به شناخت بیش‌تر روندهای بیماری‌زا و عوامل خطرسازی که در ایجاد و عود آن دخالت دارند، وجود دارد (۸، ۹). حاملگی، مصرف داروهای ضدبارداری، دیابت و درمان با آنتی‌بیوتیک‌ها، شرایط مستعد کننده‌ای را جهت شکل‌گیری کاندیدیازیس واژینال فراهم می‌کنند. بیماری با ترشح زرد شیری رنگ، غلیظ و غشاء کاذب سفید یا خاکستری در سطح مخاط واژن همراه است. ضایعه ممکن است به‌صورت واکنش اگزمایی، با اریتم خفیف یا شدید، پوستول و زخم همراه باشد. ولوواژینیت کاندیدیایی در زمان حاملگی بسیار شایع

بوده و در سه ماه آخر بارداری شایع‌تر است که علت آن را کاهش بیشتر pH واژن می‌دانند.

از دلایل عود و مزمن شدن ولوواژینیت کاندیدیایی، عدم درمان صحیح و مقاوم شدن به داروهای آزولی می‌باشد. از بین عفونت‌های کاندیدیازیس، موارد ناشی از کاندیدا آلبیکنس در حال افزایش است. افزایش گونه‌های آلبیکنس و مقاوم به داروها نه تنها در جهان، بلکه در نقاط مختلف ایران به‌طور محسوسی قابل مشاهده است؛ به‌عنوان مثال در مطالعاتی که در ایتالیا، آمریکا، مکزیک، اهواز و تهران انجام شد، به افزایش مشخص گونه‌های غیرآلبیکنس در مبتلایان به واژینیت کاندیدیایی تأکید شده است (۱۴-۱۰). افرادی که دارای سیستم ایمنی سالم می‌باشند، از رشد و انتشار این قارچ فرصت‌طلب جلوگیری می‌کنند، ولی عواملی که باعث نقص سیستم ایمنی می‌شوند، زمینه را برای عود این بیماری فراهم می‌کنند (۱۳).

ولوواژینیت کاندیدیایی همانند سایر عفونت‌های قارچی سطحی با داروهای ضدقارچی با منشأ آزولی درمان می‌شود، ولی احتمال دارد که مصرف بیش از حد فلوکونازول و سایر آزول‌ها عامل کلونیزه شدن گونه‌های مقاوم همچون کاندیدا گلابراتا یا کاندیدا کروزه‌ای باشد که باعث شکست درمان و عود مجدد بیماری می‌گردد (۱۰، ۱۱). هرچند وجود علائم خارش و سوزش را (۱۰، ۱۱). حدس قوی بر وجود عفونت ولوواژینیت کاندیدیایی می‌دانند، با این وجود این علائم قادر به افتراق نوع عودکننده و حاد بر اساس علائم بالینی و به‌طبع انتخاب پروتکل درمانی مناسب نیست (۱۲).

استفاده از فلوکونازول در دوزهای بالا را در بسیاری از موارد برای عفونت کاندیدیایی پیشنهاد می‌کنند که نه تنها کاندیدا کروزئی و کاندیدا گلابراتا به فلوکونازول مقاوم هستند؛ بلکه در اثر استفاده درمانی مکرر و طولانی‌مدت از فلوکونازول و نیز استفاده پروفیلاکسی از آن (به‌عنوان مثال در بیماران ایدزی)، حتی ممکن است کاندیدا آلبیکنس نیز به آن مقاوم گردد (۱۳). لذا تشخیص به‌موقع و صحیح بیماری و عوامل آن علاوه بر رفع علائم بالینی بیماری و آسایش جسمی و روانی بیمار، می‌تواند از درمان‌های تجربی بیمار که باعث بروز

مقاومت دارویی شده و صرف هزینه بیشتر برای بیماران، جلوگیری نماید، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی ولوواژینیت کاندیدیایی، تعیین فراوانی عوامل اتیولوژیک آن و مقایسه نقش برخی عوامل زمینه‌ساز در عوامل کاندیدیایی جدا شده از نمونه‌های واژینال در بین زنان مراجعه‌کننده به کلینیک تخصصی بیمارستان زنان صیاد شیرازی و مراکز خصوصی پزشکی و مامایی شهرستان گرگان در سال‌های ۹۷-۱۳۹۵ انجام شد.

روش کار

این مطالعه توصیفی مقطعی طی سال‌های ۹۷-۱۳۹۵ بر روی ۴۰۴ نفر از زنان مراجعه‌کننده به بیمارستان صیاد شیرازی گرگان و کلینیک‌های پزشکی و مامایی شهر گرگان با علائم بالینی ولوواژینیت کاندیدیایی انجام شد. حجم نمونه با شیوع ولوواژینیت تکرار شونده ۲۲٪ و با استفاده از فرمول حجم نمونه و با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵٪ و خطای ۲٪، حدود ۴۰۴ نفر برآورد شد. ۶۲ نفر از افراد ۴۹-۱۷ ساله که بر اساس شواهد بالینی و شرح حال قبلی برایشان تشخیص احتمالی ولوواژینیت کاندیدیایی تکرار شونده، داده شده بود، به‌صورت تصادفی چند مرحله‌ای انتخاب شدند. این مطالعه در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گلستان تأیید شد و تمامی بیماران فرم رضایت آگاهانه را تکمیل کردند.

افراد شرکت‌کننده در این مطالعه، از بین زنان مبتلا به واژینیت که دارای علائم مشکوک به ولوواژینیت کاندیدیایی بودند، انتخاب شدند. معیارهای ورود به مطالعه شامل: وجود علائم ولوواژینیت کاندیدیایی و اندیکاسیون نمونه‌برداری توسط ماما یا متخصص زنان جهت تشخیص قطعی، مثبت شدن آزمایش مستقیم و کشت در محیط سابرویدکستروز آگار، کروم آگار کاندیدا از نظر تعیین گونه‌های کاندیدا و تأیید گونه‌های کاندیدا با روش مولکولی بود. معیارهای خروج از مطالعه شامل: نمونه‌های منفی در آزمایش مستقیم و نمونه‌های باکتریال بود. در ضمن از لحاظ رعایت نکات اخلاقی، نمونه‌گیری از بیماران در راستای تشخیص بیماری انجام شده بود و نمونه‌گیری خاص این تحقیق نبوده است. با استفاده از پرسشنامه اطلاعات دموگرافیک شامل اطلاعات بیمار از قبیل: سن، جنس، میزان تحصیلات،

شغل، وجود حاملگی، وجود بیماری زمینه‌ای، نوع دارو، سابقه مصرف اخیر آنتی‌بیوتیک، نوع روش پیشگیری از بارداری، شکایت اصلی بیمار هنگام مراجعه، و این که در چه مرحله‌ای از ابتلاء به واژینیت قرار دارد، توسط پزشک یا مامای حاذق تشخیص و ترشحات جمع‌آوری شد. برای این کار ابتدا یک اسپیکولوم استریل که به هیچ ماده‌ای آغشته نبود، داخل واژن قرار داده شد و ترشحات فورنیکس‌های طرفی و خلفی توسط دو سوآپ سر پنبه‌ای مرطوب جمع‌آوری شد. سوآپ‌ها برای بررسی گونه و تشخیص فوتیپی در محیط سابرویدکستروز آگار و جهت بررسی مخمرهای کاندیدا در محیط کروم آگار کاندیدا بررسی شدند. برای شناسایی قطعی کاندیدا، تکنیک مولکولی RFLP-PCR با استفاده از آنزیم‌های اختصاصی مخمرها به کار گرفته شد. برای این کار پس از استخراج DNA ژنومیک هر مخمر ناحیه ITS2-ITS1 و قطعه S ۵/۸ میانی موجود در DNA ریبوزومی به روش PCR تقویت شد و پس از به‌دست آمدن DNA با پرل شیشه‌ای و روش فنل-کلروفرم ایزوآمیل الکل، برنامه PCR با بهره‌گیری از پرایمرهای ITS1 و ITS4 در دستگاه ترموسایکلر ساخت شرکت BIORAD کشور آمریکا به ترتیب با توالی‌های

GTA GGT GAA CCT GCG G-3' 5'- TCC
5'- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'

انجام شد. سپس محصول PCR با آنزیم محدودالانتر HpaII برش داده و محصولات RFLP روی ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز گردید. نوع مخمر با توجه به الگوی الکتروفورزی و اندازه از قبل توصیف شده باندها تشخیص داده شد (۱۴). تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۶) و روش‌های آمار توصیفی و آزمون‌های کای دو و دقیق فیشر انجام گرفت. میزان P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

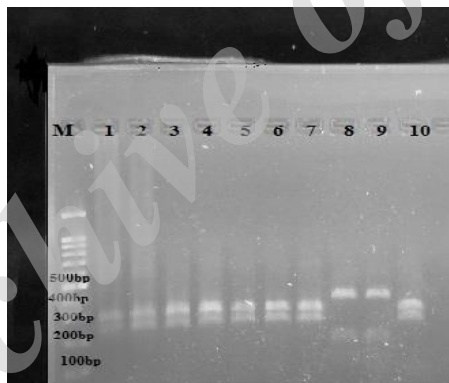
در این مطالعه، از ۴۰۴ نمونه مشکوک به عفونت ولوواژینیت کاندیدیایی، پس از انجام کشت بر روی محیط سابورو دکستروز آگار و بررسی آزمایش مستقیم هر یک از نمونه‌ها، کشت در محیط کروم آگار و تأیید

ژنوتیپی گونه‌های مخمری، در نهایت تعداد ۲۸۰ نمونه (۸۷/۵٪) دارای کلنی مثبت کاندیدیایی بودند که مورد بررسی و مطالعه قرار گرفتند. میانگین سن مبتلایان $32/9 \pm 0/7$ سال بود که بالاترین و پایین‌ترین سن به ترتیب ۴۹ و ۱۷ سال بود. بیشترین تعداد مبتلایان در محدوده سنی ۲۶-۳۵ سال قرار داشتند. ۱۰ نفر (۱۳٪) از بیماران بدون سابقه بارداری و ۱۲۳ نفر (۴۴٪) از آنها بین ۱-۰ بارداری را تجربه کرده بودند. نتایج تعیین گونه و شناسایی کلنی‌های کاندیدیایی توسط روش RFLP-

PCR (تصویر ۱)، نشان‌دهنده ۵ گونه کاندیدا شامل کاندیدا آلبیکنس، گلابراتا، کروژئی، تروپیکالیس و پاراپسیلوزیس بود (تصویر ۱) که درصد فراوانی هر کدام از آنها در جدول ۱ آمده است. در بین مبتلایان به ولوواژینیت کاندیدیایی در این مطالعه، ۶۲ نفر (۲۲٪) از بیماران دارای عفونت تکرار شونده (RCCV)^۱ و سایر آنها فاقد این وضعیت بودند.

جدول ۱- فراوانی گونه‌های کاندیدا در مبتلایان به ولوواژینیت کاندیدیایی کلینیک تخصصی مامایی بیمارستان صیاد شیرازی گرگان و مراکز خصوصی پزشکی و مامایی شهر گرگان

محدوده سنی (سال)	کاندیدا آلبیکنس	کاندیدا گلابراتا	کاندیدا پاراپسیلوزیس	کاندیدا تروپیکالیس	کاندیدا کروژئی	تعداد (درصد)
۱۵-۲۵	۱۰	۰	۲	۰	۰	۱۲ (۴/۳)
۲۶-۳۵	۹۵	۲۶	۷	۴	۱	۱۳۴ (۴۷/۹)
۳۶-۴۵	۸۷	۲۲	۳	۴	۱	۱۱۷ (۴۱/۸)
۴۵-۵۵	۱۰	۳	۲	۲	۰	۱۷ (۶/۱)
تعداد کل (درصد)	۲۰۲ (۷۲/۱)	۵۱ (۱۸/۲)	۱۵ (۵/۳)	۱۰ (۳/۶)	۲ (۰/۷)	۲۸ (۱۰۰)



تصویر ۱- نمونه‌ای از نتایج الکتروفورز RFLP-PCR پس از هضم آنزیمی توسط آنزیم MSP1 DNA مارکر، ۷-۱ کاندیدا آلبیکنس، ۸ و ۹ کاندیدا تروپیکالیس، ۱۰ کاندیدا کروژئی

جهت مقایسه میزان ابتلاء به عفونت بر حسب روش‌های ضد بارداری از آزمون کای دو استفاده شد که در آن هر کدام از روش‌ها جداگانه با کسانی که هیچ روشی استفاده نمی‌کردند، مورد بررسی قرار گرفتند. بین استفاده از قرص ضد بارداری LD و آمپول دپو با ابتلاء به ولوواژینیت کاندیدیایی ارتباط آماری معنی‌داری وجود

داشت ($p < 0/03$)، اما بین مصرف کاندوم، توبکتومی و وازکتومی در مقایسه با کسانی که از هیچ روشی استفاده نمی‌کردند، ارتباط آماری معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0/15$) (جدول ۲).

¹ Recurrent Vulvovaginal candidiasis

جدول ۲- توزیع فراوانی ولووآژینیت کاندیدیایی بر حسب روش پیشگیری از بارداری

روش‌های پیشگیری از بارداری	تعداد (درصد)	کاندیدیازیس مثبت تعداد (درصد)	کاندیدیازیس منفی تعداد (درصد)	سطح معنی‌داری*
قرص ضد بارداری خوراکی LD	۵۳ (۲۱/۱)	۲۸ (۱۱/۱)	۲۵ (۱۰)	p=۰/۰۰۶
قرص ضد بارداری خوراکی تری فازیک	۲۳ (۹)	۳ (۱/۲)	۲۰ (۸)	p=۰/۰۰۳
آمپول دیومدروکسی پروژسترون استات	۲۰ (۸)	۲۰ (۸)	-	p=۰/۰۲۴
کاندوم	۲۰ (۸)	۱۸ (۷/۲)	۲ (۰/۸)	p=۰/۲۴
توبکتومی	۱۸ (۷/۲)	۲ (۰/۸)	۱۶ (۶/۴)	p=۰/۲۶
واژکتومی	۴ (۱/۶)	-	۴ (۵/۱)	p=۰/۳۴
هیچ روش	۱۱۳ (۴۵)	۱۴ (۵/۶)	۹۹ (۳۸/۳)	p=۰/۴۵
جمع	۲۵۱ (۱۰۰)	۸۵ (۳۳/۹)	۱۶۶ (۶۶/۱)	

سایر روش‌ها (روش موکوس گردن رحم، درجه حرارت بدن، طبیعی و ...) در این دسته قرار می‌گیرند. به علت بارداری تعداد ۱۵۳ نفر از ۴۰۴ نفر در این جدول افراد باردار ذکر نشده است. * آزمون کای اسکوئر

در این مطالعه اطلاعات مربوط به باردار بودن ۱۵۳ نفر در دسترس بود که در بین آنها، ۱۰۳ نفر (۶۷/۳٪) از نظر عفونت کاندیدیایی مثبت تشخیص داده شدند که سطح معنی‌داری بر اساس آزمون کای اسکوئر در گروه‌های مختلف جدول ۳ بررسی گردید. ۱۲ نفر (۷/۸٪) آنها دیابتی و بقیه (۹۲/۸٪) غیردیابتی بودند. ۷۳ مورد (۷۰/۹٪) گونه کاندیدا آلبیکنس، ۱۹ مورد (۱۸/۴٪) کاندیدا گلابراتا، ۱۰ مورد (۹/۷٪) کاندیدا تروپیکالیس و ۳ مورد (۰/۹٪) کاندیدا پاراپسیلوزیس جدا شد. همچنین در بین زنان غیرباردار که ۲۵۱ نفر بودند، ۱۷۷ نفر (۷۰/۵٪) از نظر عفونت کاندیدیایی مثبت تشخیص داده شدند، ۱۲۹ مورد (۷۳٪) گونه کاندیدا آلبیکنس، ۳۲ مورد (۱۸٪) کاندیدا گلابراتا، ۷ مورد (۴٪) کاندیدا پاراپسیلوزیس، ۵ مورد (۳٪) کاندیدا تروپیکالیس و ۲ مورد (۱٪) کاندیدا کروژی جدا شد که از نظر آماری، ارتباط معنی‌داری بین باردار بودن یا نبودن و نوع گونه کاندیدا وجود نداشت (p=۰/۵۱۲). از بین زنانی که

مراجعات مکرر به کلینیک‌های مامایی، متخصصین زنان و بیمارستان بستری در بیمارستان صیاد داشته‌اند. ۱۴۶ نفر سابقه بیماری زمینهای چون دیابت، ایدز، هیپاتیت، کم‌کاری تیروئید، کم‌خونی داشته که علت ابتلاء مکرر به ولووآژینیت کاندیدیایی در این افراد به دلیل کاهش CD4 می‌باشد (۱۵). در بین این ۱۴۶ زن، ۹۵ مورد (۶۵/۱٪) کاندیدیازیس مثبت تشخیص داده شد که ۸۸ مورد (۶۰/۲٪) کاندیدا آلبیکنس، ۳ مورد (۲٪) کاندیدا پاراپسیلوزیس و ۴ مورد کاندیدا تروپیکالیس (۲/۷٪) مشاهده شد. همچنین از بین ۱۰۳ نفری که بیماری زمینهای نداشتند، در ۸۶ مورد (۸۳/۳٪) کاندیدا آلبیکنس، ۱۰ مورد (۹/۷٪) کاندیدا گلابراتا، ۴ مورد (۴٪) کاندیدا پاراپسیلوزیس و ۳ مورد (۳٪) کاندیدا تروپیکالیس جدا گردید که ارتباط معنی‌داری بین بیماری دیابت، ایدز و هیپاتیت با ولووآژینیت کاندیدیایی مشاهده شد (p=۰/۰۲۳) (جدول ۳).

جدول ۳- توزیع فراوانی ولووآژینیت کاندیدیایی بر حسب سیستم ایمنی

عوامل ایجاد کننده ضعف سیستم ایمنی	تعداد (درصد)	کاندیدیازیس مثبت تعداد (درصد)	کاندیدیازیس منفی تعداد (درصد)	سطح معنی‌داری*
دیابت	۳۲ (۷/۹)	۲۷ (۷/۶)	۵ (۱/۲۵)	p=۰/۰۲۷
هیپاتیت	۴ (۱)	۲ (۰/۵)	۲ (۰/۵)	p=۰/۰۱۲
ایدز	۲ (۰/۵)	۲ (۰/۵)	-	p=۰/۰۲۱
کم‌خونی	۷۶ (۱۸/۸)	۲۲ (۵/۲)	۵۴ (۱۳/۶۶)	p=۰/۳۷
کم‌کاری تیروئید	۳۲ (۷/۹)	۵ (۰/۲)	۲۷ (۷/۷)	p=۰/۶۷
بارداری	۱۵۳ (۳۷/۹)	۹۵ (۲۳/۵)	۵۸ (۱۴/۴)	p=۰/۹۲
ضعف سیستم ایمنی نداشتند	۱۰۵ (۲۶)	۵۹ (۱۴/۶۶)	۴۶ (۱۱/۳)	p=۰/۴۵
جمع	۴۰۴ (۱۰۰)	۲۱۲ (۵۰/۸)	۱۹۲ (۴۹/۲)	

* آزمون کای اسکوئر

اطلاعات مربوط به سابقه مصرف داروهای مورد استفاده ۴۰۴ نفر در دست بود که سطح معنی‌داری بر اساس آزمون کای اسکوئر در گروه‌های مختلف جدول ۴ بررسی گردید. ۵ نفر (۱/۳٪) داروی ضد قارچی فلوکونازول مصرف داشتند، ۲۷ نفر (۶/۷٪) داروی ضد انگلی مترونیدازول مصرف کردند که از این تعداد ۲۴ مورد (۶٪) کاندیدیازیس مثبت جدا گردید که در این میان ۲۰ مورد (۸/۷٪) کاندیدا آلبیکنس و ۴ مورد (۱/۷٪) کاندیدا گلابراتا مشاهده شد (جدول ۴).

از ۴۹ مورد (۱/۱۲٪) مصرف آمپول بتامتازون، ۱۴ مورد (۴۶/۳٪) کاندیدیازیس مثبت مشاهده شد که از این میان ۹ مورد (۲۷/۶٪) کاندیدا آلبیکنس و ۵ مورد (۱۰/۲٪) کاندیدا گلابراتا جدا گردید (جدول ۴).

از ۷۶ نفری (۷/۱۳٪) که آنتی‌بیوتیک مصرف کرده بودند، ۲۲ مورد (۲۸/۹٪) کاندیدیازیس مثبت مشاهده شد که از این میان، ۱۵ مورد (۱۹/۷٪) کاندیدا آلبیکنس، ۵ مورد (۷٪) کاندیدا گلابراتا و ۲ مورد (۴٪) کاندیدا پاراپسیلوزیس وجود داشت (جدول ۴).

از ۱۸ مورد مصرف پماد کلوتریمازول (۳/۵٪)، ۱۰ مورد (۵۵/۵٪) کاندیدا آلبیکنس، ۶ مورد (۳۳/۳٪) کاندیدا گلابراتا و ۲ مورد (۱۱/۱٪) کاندیدا پاراپسیلوزیس جدا گردید (جدول ۴).

از ۲۲۹ نفر از زنانی که هیچ دارویی مصرف نکرده بودند، ۸۹ مورد (۳۸/۹٪) کاندیدیازیس مثبت مشاهده شد که ۵۶ مورد (۲۴/۴٪) کاندیدا آلبیکنس، ۲۳ مورد (۲۵/۸٪) کاندیدا گلابراتا و ۱۰ مورد (۱۱/۲٪) کاندیدا پاراپسیلوزیس مشاهده شد. ارتباط معنی‌داری در میزان بروز عفونت ولوواژینیت کاندیدیایی با مصرف مترونیدازول، قرص ضدقارچی فلوکونازول، آمپول بتامتازون در مقایسه با کسانی که مصرف نداشتند، وجود داشت ($p < 0.05$)، اما ارتباط معنی‌داری بین میزان بروز عفونت ولوواژینیت کاندیدیایی بین کسانی که آنتی‌بیوتیک و پماد کلوتریمازول مصرف می‌کردند، در مقایسه با کسانی که آنتی‌بیوتیک و پماد کلوتریمازول مصرف نداشتند، وجود نداشت ($p = 0.36$) (جدول ۴).

جدول ۴- توزیع فراوانی ولوواژینیت کاندیدیایی بر حسب داروهای مورد استفاده

داروهای مورد استفاده	تعداد (درصد)	کاندیدیازیس مثبت تعداد (درصد)	کاندیدیازیس منفی تعداد (درصد)	سطح معنی‌داری*
قرص ضد قارچی فلوکونازول	۵ (۱/۳)	۵ (۱/۳)	-	$p = 0.007$
قرص ضد انگلی مترونیدازول	۲۷ (۶/۷)	۲۴ (۶)	۳ (۰/۷)	$p = 0.004$
آمپول بتامتازون	۴۹ (۱۲/۱)	۱۴ (۳/۴)	۳۵ (۸/۷)	$p = 0.006$
کپسول داکسی‌سیکلین، سفکسیم، کوآموکسی کلاو، آموکسی‌سیلین، کفلین (سفالوتین)	۷۶ (۱۳/۷)	۲۲ (۵/۴)	۵۴ (۱۳/۴)	$p = 0.55$
پماد کلوتریمازول	۱۸ (۳/۵)	۵ (۱/۳)	۱۳ (۳/۲)	$p = 0.36$
هیچ دارویی استفاده نکردند	۲۲۹ (۵۶/۹)	۸۹ (۲۲)	۱۴۰ (۳۴/۶)	$p = 0.64$
جمع	۴۰۴ (۱۰۰)	۱۵۹ (۳۹/۵)	۲۴۵ (۶۰/۵)	

* آزمون کای اسکوئر

بحث

عفونت‌های قارچی ۴۰-۳۵٪ از تمام موارد عفونت‌های واژن را تشکیل می‌دهند (۱۵). در بررسی‌های انجام شده در کشورهای مختلف، میزان آلودگی به این عفونت متفاوت گزارش شده است. در کشور ترکیه، شیوع آن ۱۷/۰۴٪، در هلند ۱۲/۶٪ و در عراق ۳۹٪ گزارش شده است (۱۷-۱۵). در کشور ما نیز مطالعات متعددی در نواحی مختلف انجام شده که به چند مورد اشاره می‌شود:

بررسی زنان دارای نشانه واژینیت در سنندج میزان آلودگی به این عفونت را ۳۳/۸٪ نشان داد (۱۸). در شهر همدان با آزمایش مستقیم ۳۰/۶٪ و با روش کشت ۴۶/۸٪ از نظر کشت کاندیدا مثبت بودند (۱۹). مطالعه شهرکرد میزان ابتلاء به این عفونت را ۲/۰۹٪ نشان داد (۲۰).

در کشور ما به دلیل هزینه نسبتاً بالای شناسایی عوامل واژینیت کاندیدیایی و وقت‌گیر بودن روش‌های مربوطه و

کاندیدا آلبیکنس (۰/۷۲/۴)، کاندیدا گلابراتا (۰/۱۸/۳۳)، کاندیدا تروپیکالیس (۰/۵/۳۵)، کاندیدا پاراسیلووزیس (۰/۳/۵۷) و کاندیدا کروژئی (۰/۰/۷۱) تشخیص داده شد. در دیگر گزارشات مشابه نیز بیشترین عامل واژینیت کاندیدیایی، کاندیدا آلبیکنس با شیوع ۴۳-۱۱٪ گزارش گردید (۱۷-۲۳).

در مطالعات مشابه که پیش از این در شهرهای مختلف ایران در ساری، یاسوج، قزوین و مشهد انجام شد نیز شایع‌ترین گونه‌ها، کاندیدا آلبیکنس و سپس کاندیدا گلابراتا بودند (۲۴-۲۶). بنابراین در تمام این مطالعات نظیر مطالعه حاضر، افزایش شیوع گونه‌های غیرآلبیکنس به‌خصوص افزایش گونه کاندیدا گلابراتا مشاهده می‌شود که خود شاهدهی بر افزایش شیوع گونه‌های مقاوم به داروی ضدقارچی در ایجاد واژینیت کاندیدیایی می‌باشد. در مطالعه موسز اوکان (۲۰۱۸) ارتباط معنی‌داری بین گروه‌های سنی مختلف و شیوع کاندیدیازیس در سنین ۲۵-۳۵ سال مشاهده شد (۲۴). در مطالعه حاضر نیز بیشترین شیوع عفونت در گروه سنی ۲۶-۳۵ سال (۰/۴۷/۸۶) و کمترین درصد ابتلاء در گروه سنی ۴۵-۵۵ سال (۰/۶/۱) مشاهده شد. نتایج مطالعه کرد و همکاران (۲۰۱۷) در مشهد، بین شیوع عفونت کاندیدا و سن ازدواج ارتباط معنی‌داری وجود نداشت که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت (۲۵).

در مطالعه بیته و همکاران (۲۰۱۸) در اتیوپی، میزان کشت مثبت کاندیدا در افرادی که از آنتی‌بیوتیک و داروهای ضدقارچی فلوکونازول استفاده کردند ۲۲٪ و در کسانی که تنها از داروی ضدقارچی فلوکونازول استفاده کرده بودند ۷/۶٪ بود، اما این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P > 0/05$) که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت (۲۶).

استفاده روزافزون از داروهای ضدقارچی در جهت پیشگیری، از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر تغییر نوع و توزیع گونه‌های کلونیزه در بدن می‌باشد. این تغییر انتخاب داروهای تجویز شده، میزان مرگ‌ومیر ناشی از عفونت‌های قارچی را تحت تأثیر قرار داده است (۱۷). مقاومت به داروهای ضدقارچی، میزان مرگ‌ومیر بیماران مبتلا به اختلالات نقص ایمنی بستری در بیمارستان را

تا حدودی کم بودن اطلاعات و امکانات استفاده از روش‌های جدیدتر تشخیص آزمایشگاهی، عفونت‌های کاندیدیایی تنها در حد مشاهده کلنی و آزمایش مستقیم و به‌ندرت در حد افتراق کاندیدا آلبیکنس از بقیه محدود می‌شود. در میان روش‌های مختلف تشخیص گونه‌های شایع و مهم مخمرها، روش کشت روی محیط کروم آگار کاندیدا بر اساس تنوع رنگ‌های ایجاد شده مربوط به واکنش بین آنزیم‌های اختصاصی هر گونه با سوبسترای رنگ‌زای موجود در محیط کشت و روش مولکولی RFLP-PCR برای شناسایی گونه‌های کاندیدا در این تحقیق استفاده شد. شیوع ولوواژینیت کاندیدیایی ۶۸٪ برآورد شد که از این میان ۲۲٪ بیماران دارای عفونت تکرار شونده (RCCV) و بقیه آنها فاقد این وضعیت بودند. این شیوع بالا می‌تواند به‌دلیل فقر بهداشتی و فرهنگی مراجعه‌کنندگان در منطقه مورد مطالعه (بیمارستان صیاد شیرازی گرگان و کلینیک‌های مامایی مناطق پایینی شهر گرگان) باشد؛ چراکه تعادل در مراجعه به پزشک و اقدامات درمانی، باعث تشدید عفونت شده و درمان‌های بعدی نیز تأثیر کمتری خواهند داشت. در این مطالعه میانگین سن مبتلایان، $32/9 \pm 0/7$ سال بود که از این لحاظ با بسیاری از دیگر مطالعات دارای نتایج مشابهی می‌باشد (۱۶-۱۲).

از دلایلی که می‌تواند در ابتلاء بیشتر این سنین تأثیرگذار باشد، می‌توان به بالاتر بودن موارد بارداری، تغییرات فیزیولوژیک و هورمونی، روش‌های جلوگیری از بارداری و بیماری‌های زمینه‌ای چون دیابت و حتی داروهای مورد استفاده اشاره کرد.

در بررسی‌های به‌عمل آمده در مناطق مختلف ایران و جهان، گونه کاندیدا آلبیکنس به‌عنوان شایع‌ترین عامل ایجادکننده واژینیت کاندیدیایی شناخته شده است (۲۵-۱۷). در مطالعه حاضر که بر روی ۲۸۰ کلنی کاندیدیایی انجام شد، شایع‌ترین عامل واژینیت، کاندیدا آلبیکنس (۰/۷۲/۴) بود. در مطالعه حاضر میزان شیوع ولوواژینیت کاندیدیایی با عوامل غیر آلبیکنس ۲۷/۵۶٪ بود که نتایج این مطالعه مشابه دیگر مطالعات، نشان‌دهنده افزایش نسبی گونه‌های غیرآلبیکنس می‌باشد. در مطالعه حاضر شایع‌ترین عوامل بیماری ولوواژینیت کاندیدیایی به‌ترتیب

افزایش می‌دهد. امروزه گزارشات زیادی از مقاومت به فلوکونازول در اکثر گونه‌های غیرآلبیکنکس به‌ویژه کاندیدا کروژی و کاندیدا گلابراتا در بیماران مبتلا به ولوواژینیت کاندیدیایی ارائه شده که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت (۸، ۱۹).

در مطالعه ناجی و همکاران (۲۰۱۷) در ۲۷ نمونه موارد عودکننده ولوواژینیت کاندیدیایی، ۱۰ مورد مقاوم به داروی کلوتریمازول و فلوکونازول مشاهده گردید که شایع‌ترین گونه مقاوم کاندیدا آلبیکنکس شناسایی شد (۲۷). در مطالعه ۱۰ ساله مارچایم و همکاران (۲۰۱۲) ۲۵ ایزوله ولوو واژینال تکرارشونده ناشی از کاندیدا آلبیکنکس جدا گردید که از این میان ۱۶ ایزوله مقاوم به فلوکونازول بودند (۲۹).

در مطالعه سوئل و همکاران (۱۹۹۸) اشاره کردند که کاندیدا کروژی در اغلب موارد به فلوکونازول مقاوم می‌باشد، اما حساسیت بالایی به گرم‌های آزول موضعی مانند کلوتریمازول و میکونازول دارد. در این مطالعه مشخص گردید که شیوع گونه‌های غیرآلبیکنکس نیز مشابه سایر مطالعات انجام یافته در این زمینه در حال افزایش است. روش RFLP-PCR جهت تمایز گونه‌های کاندیدا به مراتب از روش مورفولوژیک سریع‌تر و دقیق‌تر است (۱۲).

در نهایت با توجه به مطالعه مارچایم و همکاران (۲۰۱۲)، به ۲۵ مورد کاندیدیازیس ولوواژینال تکرارشونده ناشی از کاندیدا آلبیکنکس شناسایی کردند که دلیل بالا بودن شیوع این مقاومت دارویی برای موارد عفونت‌های کاندیدیازیس ولوواژینال به‌علت مقاومت به فلوکونازول است که با مطالعه حاضر همخوانی داشت (۲۹).

همچنین در مطالعه لین و همکاران (۲۰۱۱) در رابطه با نقش برجسته و مهم کاندیدیازیس دستگاه گوارش (GIC)^۱ در عود بیماری کاندیدیازیس ولوواژینال و یافته‌های مطالعه حاضر، پیشنهاد می‌گردد که بخش بالینی با لحاظ کردن استاندارد درمان نگهدارنده با فلوکونازول و پرهیز از دوره‌های کوتاه‌مدت درمانی و همچنین درمان توأم سیستمیک و موضعی کاندیدا به منظور ریشه‌کنی و جلوگیری از انتقال کاندیدا دستگاه

گوارش به ناحیه ژنیتال که به‌عنوان مخزنی برای عفونت‌های عودکننده کاندیدیازیس ولوواژینال عمل می‌کنند، اقدام کنند (۳۰).

در ارتباط با شغل، نتایج مطالعه شکوهی و همکاران (۲۰۱۳) و زنگ و همکاران (۲۰۱۸) ارتباط معنی‌داری را بین شغل افراد مورد پژوهش و ابتلاء به کاندیدیازیس نشان ندادند ($p > 0.05$) که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت (۴، ۲۳). همچنین در تحقیق حاضر، بررسی روش پیشگیری از بارداری، بین روش تریق آمپول، قرص ضد بارداری LD و کاهش ابتلاء به کاندیدیازیس ارتباط آماری معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۲) (۱۷).

در بسیاری از مطالعات مشخص شده که خطر ولوواژینیت کاندیدیایی در زنانی که از قرص‌های ضد بارداری استفاده می‌کنند، به‌طور چشمگیری بالاتر است (۲۹). در مطالعه حاضر ارتباط آماری معنی‌داری بین بروز عفونت ولوواژینیت کاندیدیایی در زنانی که از قرص‌های ضدبارداری LD مصرف می‌کردند، در مقایسه با سایر روش‌های پیشگیری از بارداری وجود داشت (جدول ۲) که در مصرف‌کنندگان این قرص‌ها، گونه کاندیدا آلبیکنکس شایع‌ترین گونه بود ($p < 0.05$).

درحالی‌که در بسیاری از تحقیقات شواهد قطعی در مورد ارتباط قرص‌های خوراکی ضدبارداری با واژینیت کاندیدیایی وجود ندارد، ولی در مطالعاتی هم مشخص شده است که خطر ابتلاء به این بیماری در زنانی که از قرص‌های ضد بارداری استفاده می‌کنند، به‌طور چشمگیری بالاتر است که با مطالعه حاضر منطبق است (جدول ۲) (۱۶، ۲۰-۱۸). در مطالعه ناظری و همکاران (۲۰۱۱) در کاشان که بر روی ۲۳۲ بیمار مشکوک به ولوواژینیت کاندیدیایی انجام شد، ۱۰۵ مورد (۴۵٪) ابتلاء مشاهده گردید که در نوع استفاده از روش پیشگیری از بارداری و ابتلاء به کاندیدیازیس اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت که با مطالعه حاضر همسو بود.

همچنین در بین گروه بیماران با ولوواژینیت عودکننده و غیرعودکننده از نظر وجود ریسک فاکتورها اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت (۲۱). در برخی از مطالعات ابتلاء به بیماری دیابت ملیتوس، هپاتیت و ایدز

¹ Gastrointestinal candidiasis

شناخت ارگانسیم، عامل بیماری و درمان مناسب، موارد عود بیماری کاهش می‌یابد. لذا دانستن این ریسک فاکتورها، نوع مخمر و نوع داروی ضدقارچی مؤثر می‌تواند در سطح وسیع از صرف هزینه‌های اضافی، جهت به‌کارگیری درمان‌های متفاوت، اتلاف وقت و سرگردانی‌های بی‌دلیل و مشکلات روحی بیماران جلوگیری نماید. بنابراین، نتایج این مطالعه می‌تواند تصویر روشن‌تری در رابطه با شیوع بیماری و عوامل مؤثر در بروز ولوواژینیت کاندیدیایی برای پزشکان متخصص و مسئولین بهداشتی مربوطه فراهم آورد.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر منتج از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی گلستان می‌باشد. بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی و فناوری برای حمایت مالی از طرح، تشکر و قدردانی می‌شود.

به‌عنوان عوامل مستعدکننده ولوواژینیت کاندیدیایی محسوب می‌شوند که شایع‌ترین گونه کاندیدیایی شناسایی شده در این تحقیق، کاندیدا آلبیکنس شناسایی شد (جدول ۳) که این مطالعات نتایج مطالعه حاضر را تأیید می‌کنند، ولی در تحقیقاتی که در کرمانشاه، اراک و کرمان انجام شد، هیچ اختلاف معناداری میان این فاکتور و بیماری مدنظر مشاهده نشد (۱۶، ۱۸، ۲۲، ۲۳).

نتیجه‌گیری

از ریسک فاکتورهای مؤثر در بروز عفونت ولوواژینیت کاندیدیایی می‌توان به گروه سنی ۲۶-۳۵ سال، بروز بیماری‌های زمینه‌ای دیابت، ایدز، هیپاتیت، بارداری و مصرف داروهای ضدبارداری چون LD، مصرف داروهای ضدانگلی مترونیدازول و داروی ضدقارچی فلوکونازول اشاره نمود. شایع‌ترین گونه شایع در رابطه با موارد فوق و بروز ولوواژینیت کاندیدیایی، گونه کاندیدا آلبیکنس بود. به‌این‌ترتیب، با داشتن اطلاعات زمینه‌ای، بالینی و

منابع

1. Khorsand I, Nehzag G, Ali M, Zarrinfar H, Fata A, Naseri A, et al. Frequency of variety of *Candida* species in women with *Candida* vaginitis referred to clinical centers of Mashhad, Iran. *Iran J Obstet Gynecol Infertil* 2015; 18(168):15-22. (Persian).
2. Bagheri M, Mahmoudi Rad M, Mansouri A, Younespour S, Taheripناه R. A comparison between antifungal effect of *Fumaria officinalis*, *Echinacea angustifolia*, vinegar, and fluconazole against *Candida albicans* and *Candida glabrata* isolated from vagina candidiasis. *Iran J Obstet Gynecol Infertil* 2015; 17(136):1-9. (Persian).
3. Didehdar M, Khansarinejad B, Amirrajab N, Shokohi T. Development of a high-resolution melting analysis assay for rapid and high-throughput identification of clinically important dermatophyte species. *Mycoses* 2016; 59(7):442-9.
4. Shokohi T, Soteh MH, Pouri ZS, Hedayati MT, Mayahi S. Identification of *Candida* species using PCR-RFLP in cancer patients in Iran. *Indian J Med Microbiol* 2010; 28(2):147.
5. Hasanvand S, Qomi HA, Kord M, Didehdar M. Molecular epidemiology and in vitro antifungal susceptibility of candida isolates from women with vulvovaginal candidiasis in northern cities of Khuzestan province, Iran. *Jundishapur J Microbiol* 2017; 10(8):e12804.
6. Mohammadi-Ghalehbin B, Javanpour Heravi H, Arzanlou M, Sarvi MR. Prevalence and antibiotic resistance pattern of candida spp. isolated from pregnant women referred to health centers in Ardabil, Iran. *J Ardabil Univ Med Sci* 2017; 16(4):409-21. (Persian).
7. Kenechukwu FC, Attama AA, Ibezim EC, Nnaman PO, Umeyor CE, Uronnachi EM, et al. Surface-modified mucoadhesive microgels as a controlled release system for miconazole nitrate to improve localized treatment of vulvovaginal Candidiasis. *Eur J Pharm Sci* 2018; 111:358-75.
8. Chew SY, Than LT. Vulvovaginal Candidosis: contemporary challenges and the future of prophylactic and therapeutic approaches. *Mycoses* 2016; 59(5):262-73.
9. Diba K, Namaki A, Ayatollahi H, Hanifian H. Comparison of biochemical and molecular methods for the identification of candida species causing vulvovaginal candidiasis and recurring vulvovaginal candidiasis. *Iran J Med Microbiol* 2014; 8(3):45-50. (Persian).
10. Swidsinski A, Guschin A, Tang Q, Dörffel Y, Verstraelen H, Tertychnyy A, et al. Vulvovaginal candidiasis: histologic lesions are primarily polymicrobial and invasive and do not contain biofilms. *Am J Obstet Gynecol* 2019; 220(1):91.e1-8.

11. Aguin TJ, Sobel JD. Vulvovaginal candidiasis in pregnancy. *Curr Infect Dis Rep* 2015; 17(6):462.
12. Sobel JD. Pathogenesis and treatment of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Clin Infect Dis* 1992; 14(Suppl 1):S148-53.
13. Hosseini SS, Ghaemi E, Koohsar F. Influence of ZnO nanoparticles on *Candida albicans* isolates biofilm formed on the urinary catheter. *Iran J Microbiol* 2018; 10:424-32.
14. Mohammadi R, Mirhendi H, Rezaei-Matehkolaei A, Ghahri M, Shidfar MR, Jalalizand N, et al. Molecular identification and distribution profile of *Candida* species isolated from Iranian patients. *Med Mycol* 2013; 51(6):657-63.
15. Baykushev R, Ouzounova-Raykova V, Stoykova V, Mitov I. Reliable microbiological diagnosis of vulvovaginal candidiasis. *Akush Ginekol (Sofia)* 2014; 53(4):17-20.
16. Monod M, Togni G, Hube B, Sanglard D. Multiplicity of gene encoding secreted aspartic proteinase in *Candida* species. *J Mol Microbiol* 2004; 13(2):357-68.
17. Hosseini SS, Ghaemi E, Noroozi A, Niknejad F. Zinc Oxide nanoparticles inhibition of initial adhesion and ALS1 and ALS3 gene expression in *Candida albicans* strains from urinary tract infections. *Mycopathologia* 2019; 184(2):261-71.
18. Yokoyama H, Nagao A, Watanabe S, Honjo J. Incidence and risk of vaginal candidiasis associated with sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors in real-world practice for women with type 2 diabetes. *J Diabetes Investig* 2019; 10(2):439-45.
19. Kohler S, Zeller C, Iliev H, Kaspers S. Safety and tolerability of empagliflozin in patients with type 2 diabetes: pooled analysis of phase I-III clinical trials. *Adv Ther* 2017; 34(7):1707-26.
20. Blostein F, Levin-Sparenberg E, Wagner J, Foxman B. Recurrent vulvovaginal candidiasis. *Ann Epidemiol* 2017; 27(9):575-82.
21. Nazeri M, Mesdaghinia E, Moraveji A.R, Atabakhshian R, Soleymani F. Prevalence of Vulvovaginal Candidiasis and Frequency of Candida Species in Women. *J Mazand Univ Med Sci* 2012; 22(86): 255-262 (Persian).
22. Ghahri M. Systemic fungal infections: *Candidiasis-aspergillosis*. *Iran J Pathol* 2009; 35:24-6. (Persian).
23. Zeng X, Zhang Y, Zhang T, Xue Y, Xu H, An R. Risk factors of vulvovaginal Candidiasis among women of reproductive age in xi'an: a cross-sectional study. *Biomed Res Int* 2018; 2018:9703754.
24. Ocan M, Tumushabe B, Nakawunde H, Droma J, Waiswa G, Kirya K, et al. Prevalence and antifungal susceptibility of vaginal candida albicans among pregnant women attending arua regional referral hospital, West Nile Region of Uganda. *Acta Sci Microbiol* 2018; 1(6):17-22.
25. Kord Z, Fata A, Zarrinfar H. Molecular identification of *Candida* species isolated from patients with *Candida vulvovaginitis* for the first time in Mashhad. *Iran J Obstet Gynecol Infertil* 2017; 20(4):50-7.
26. Bitew A, Abebaw Y. Vulvovaginal candidiasis: species distribution of *Candida* and their antifungal susceptibility pattern. *BMC Womens Health* 2018; 18(1):94.
27. Nagi S, Diba K, Yosefzadeh R, Mansouri F. Interspecies differences of candida species causing recurrent vulvovaginal candidiasis in response to fluconazole treatment. *Tehran Univ Med J (TUMJ)* 2017 July;75(4):280-287.
28. Ashrafinia M, Behdani R, Komijani Z. Single and multiple dose Fluconazole in the treatment of *candida vulvovaginitis*: a prospective comparative study. *Tehran Univ Med J* 2007; 65(5):19-24. (Persian).
29. Marchaim D, Lemanek L, Bheemreddy S, Kaye KS, Sobel JD. Fluconazole-resistant *Candida albicans* vulvovaginitis. *Obstet Gynecol* 2012; 120(6):1407-14.
30. Lin XL, Li Z, Zuo XL. Study on the relationship between vaginal and intestinal candida in patients with vulvovaginal candidiasis. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2011 Jul;46(7):496-500.

