پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره ۳۳، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۸، صفحات ۱۸۹ تا ۱۹۴

مقاله اصلی
(Original Article)

بررسی شیوع گونه‌های کاندیدا در ولوواژنیت‌های کاندیدایی مراجعین به بیمارستان مهدیه در سال‌های ۸۷-۸۵

دکتر مهناز محمودی راد*[۱]، دکتر آمنه شیرین ظفرقندی[۲]، دکتر بهنوش عباس آبادی[۲]، زهره امیری[۳]، دکتر مهتاب شیوایی[۲]، دکتر مریم عامل ذبیحی[۲]، دکتر زرین آجودانی خراسانی[۴]

[۱] مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات پوست، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[۲] گروه بیماری‌های زنان و زایمان و نازایی، بیمارستان مهدیه، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[۳] گروه علوم پایه، دانشکده تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[۴] گروه بیماری‌های زنان و زایمان و نازایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه آزاد کرج

چکیده

سابقه و هدف: *با توجه به شیوع ولوواژنیت‌های کاندیدایی و اهمیت اطلاع از گونه‌های مختلف در طرح درمان و به منظور به‌کارگیری درمان مناسب و مؤثر با استفاده از محیط کشت افتراقی، تعیین شیوع گونهٔ کاندیدای در ولوواژنیت کاندیدایی راجعه و غیر راجعه و عوامل مرتبط با آن، در مراجعین به بیمارستان مهدیه در سال‌های ۸۷-۸۵ انجام گرفت.*

روش بررسی: *تحقیق روی کلیه بیماران با علائم ولوواژنیت به روش توصیفی انجام گرفت. نمونه‌ها از افراد توسط سواب استریل تهیه و روی محیط سابورو دکستروز آگار کشت داده شد. سپس کلنی‌های رشد یافته روی محیط کروم آگار کاندیدا منتقل شد. نمونه‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و پس از ۴۸ ساعت وجود یا عدم وجود کلنی‌های کاندیدا در پلیت‌ها بررسی و نوع کاندیدا با توجه به رنگ کلنی روی محیط کشت افتراقی تعیین گردید.*

یافته‌ها: *تحقیق روی ۱۷۵بیمار شامل ۸۳ نمونه با علائم راجعه و ۹۲ نمونه غیر راجعه انجام گرفت. از ۱۹۱ مورد ایزوله، ۶۷ درصد گونهٔ کاندیدا آلبیکنس، ۱۸/۳ درصد گونهٔ کاندیدا گلابراتا، ۶/۸ درصد گونهٔ کاندیدا تروپیکالیس، ۵/۸ درصد گونهٔ کاندیدا کروزه‌ای، ۱/۶ درصد گونهٔ کاندیدا پاراپسیلوزیس و یک مورد (۰/۵ درصد) گونهٔ کاندیدا گیلرموندی بودند. از ۱۸ بیمار (۱۰/۳ درصد) بیش از یک گونهٔ کاندیدا جدا گردید. مبتلایان ولوواژنیت کاندیدایی نوع راجعه در مواجهه بیشتری از نظر آمیزش جنسی و آمیزش دهانی-تناسلی بودند ($P<0/04$).*

نتیجه‌گیری: *شایع‌ترین عامل بیماری ولوواژنیت کاندیدایی راجعه و غیرراجعه C. albicans و سپس C. glabrata بود و هم‌چنین شایع‌ترین ترکیب مختلط عامل بیماری را نیز این دو گونه تشکیل داده بودند.*

واژگان کلیدی: *کاندیدا، ولوواژنیت کاندیدایی، کروم آگار کاندیدا.*

مقدمه

شیوع عفونت‌های قارچی به دلیل افزایش تعداد بیمارانی که نقص ایمنی دارند و نیز بالا رفتن میزان مصرف آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف رو به فزونی است (۲،۱). تقریباً یک سوم بیماران مبتلا به ولوواژنیت، دچار ولوواژنیت کاندیدایی می‌باشند (۳). برخلاف کاندیدیاز اروفارینژیال، ولوواژنیت کاندیدایی به عنوان یک بیماری فرصت‌طلب تلقی نمی‌شود. گونه‌های کاندیدا که عامل این بیماری هستند، جزو فلور نرمال دستگاه تناسلی تحتانی در ۲۰ تا ۵۰ درصد خانم‌های بدون علامت سالم می‌باشند (۴). کاندیدا آلبیکنس

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دکتر مهناز محمودی‌راد (**e-mail:** mahnazrad@gmail.com)
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۴/۵
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۷/۱

شایع‌ترین گونهٔ کاندیدای جدا شده از عفونت‌های کاندیدایی است، اما گونه‌های دیگر مانند کاندیدا گلابراتا، کاندیدا کروزه‌ای و کاندیدا تروپیکالیس که میزان شیوع آن‌ها رو به افزایش است، حساسیت کمتری از کاندیدا آلبیکنس نسبت به داروهای ضد قارچی که به طور معمول مورد استفاده قرار می‌گیرند از خود نشان می‌دهند. برخی از تحقیقات افزایش شیوع سایر گونه‌های کاندیدا به خصوص C. glabrata را گزارش کرده‌اند که احتمالاً به علت استفاده گسترده و بیش از حد از داروها و مصرف طولانی مدت آزول‌ها می‌باشد (۹-۵). بنابراین تشخیص گونه‌های غیر آلبیکنس در آزمایشگاه‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است. از طرف دیگر، یک نمونهٔ بالینی ممکن است حاوی چند گونهٔ کاندیدا باشد که جداسازی و تفکیک آن‌ها با استفاده از محیط‌های کشت معمولی پُر زحمت و وقت‌گیر می‌باشد (۱۰). روش‌های مبتنی بر واکنش آنزیماتیک با استفاده از سوبستراهای کروموژنیک می‌تواند باعث تسریع افتراق گونه‌های کاندیدا در نمونه‌های بالینی گردد. محیط کشت کروم‌آگار کاندیدا یکی از محیط‌های کشت افتراقی گونه‌های کاندیدا می‌باشد که از حساسیت و اختصاصیت بالایی برخوردار است (۱۱). با استفاده از این محیط کشت می‌توان گونه‌های کاندیدا را بر اساس رنگ و نوع کلنی آن‌ها از یکدیگر متمایز کرد (۱۳،۱۲).

استفاده از محیط کشت کروم آگار به عنوان روشی آسان و مطمئن برای شناسایی چند گونهٔ ایزوله شده از بیماران مبتلا به ولوواژنیت کاندیدایی به کار رفته است (۱۱-۶). در این مطالعه از این روش بسیار ساده، سریع، تکرارپذیر و با ثبات برای شناسایی و مقایسهٔ گونه‌های کاندیدا در موارد ایزوله شده از بیماران مبتلا به ولوواژنیت کاندیدایی راجعه (مواردی که ۴ بار یا بیش از آن در یک سال مبتلا می‌شوند) و غیر راجعه (مواردی که کمتر از ۴ بار در یک سال مبتلا می‌شوند) در مراجعین به بیمارستان مهدیه تهران در سال‌های ۸۷-۱۳۸۵ استفاده شد.

مواد و روشها

تحقیق به روش توصیفی انجام گرفت. کلیه افرادی که با علائم بالینی بیماری مراجعه نمودند مورد مطالعه قرار گرفتند. نمونه‌های کاندیدا از ترشحات واژینال بیماران مبتلا به ولوواژینیت کاندیدایی جدا گردید. با در نظر گرفتن شیوع حداقل ۵ درصد برای برخی از گونه‌ها، این تعداد نمونه برای بررسی انتخاب شد. افرادی که در نمونهٔ گرفته شده از آن‌ها کاندیدا رشد نکرد و یا نمونه‌هایی که آلوده شده بودند از مطالعه حذف شدند. نمونه‌گیری در این تحقیق با رضایت کامل بیماران انجام شد و از آن‌ها فرم رضایت‌نامه اخذ گردید. نمونه‌گیری بر اساس استانداردهای بین‌المللی انجام شد و هیچ گونه مشکل و عوارضی برای بیماران ایجاد نکرد.

یک استرین از هر گونهٔ کاندیدا نیز به عنوان شاهد از یک مجموعهٔ کشت شامل C.glabrata CBS 2175، C.parapsilosis CBS 2195، C.tropicalis CBS 94، C.krusei CBS 573 و C.albicans ATCC 14053 در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد تشکیل دهندهٔ محیط کشت کروم آگار کاندیدا (CHROMagar Company, France) شامل ۱۰/۲ گرم در لیتر پپتون، ۰/۵ گرم در لیتر کلرامفنیکل، و ۲۲ گرم در لیتر مواد کروموژنیک و ۱۵ گرم در لیتر آگار بود. pH آن روی ۶/۱ تنظیم شد (۱).

محیط کروم آگار کاندیدا محیطی اختصاصی برای انواع گونه‌های کاندیدا مانند آلبیکنس، تروپیکالیس، گلابراتا، پاراپسیلوزیس، گیلرموندی و کروزه‌ای می‌باشد. کلنی‌های به رنگ سبز روشن کاندیدا آلبیکنس، کلنی‌های به رنگ آبی با هالهٔ قهوه‌ای تیره تا ارغوانی کاندیدا تروپیکالیس، کلنی‌های صورتی با سطح ناصاف و دارای حاشیه کاندیدا کروزه‌ای، کلنی‌های صورتی کمرنگ با سطح صاف کاندیدا پاراپسیلوزیس و کلنی‌های ارغوانی تیره با کناره‌های صورتی و سطح صاف کاندیدا گلابراتا در نظر گرفته شدند (شکل ۱).

شکل ۱- رنگ و شکل کلنی‌های چند گونهٔ کاندیدا روی محیط کشت کروم آگار کاندیدا

برای شناسایی گونه‌ها، از ترشحات واژن کلیهٔ بیماران مبتلا به ولوواژنیت کاندیدایی توسط سواپ استریل نمونهٔ واژینال تهیه،

و روی محیط سابورو دکستروز آگار (SDA) کشت داده شد. گونه‌های کاندیدا به روش تولید جرم تیوب، ایجاد کلامیدوسپور روی محیط کورن میل آگار، و جذب کربوهیدرات‌ها با استفاده از کیت API 20C-AUX (bioM´erieux, Paris, France) شناسایی شدند و تا زمان انتقال روی محیط کشت کروم آگار کاندیدا در آب مقطر استریل در دمای اتاق ذخیره شدند.

پس از جمع‌آوری همهٔ نمونه‌ها، محیط کشت کروم آگار کاندیدا تهیه و نمونه‌ها به روش کشت خطی روی آن کشت داده شد. پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از ۴۸ ساعت کلنی‌ها بررسی و گونهٔ کاندیدا با توجه به رنگ و نوع کلنی مشخص گردید (۱).

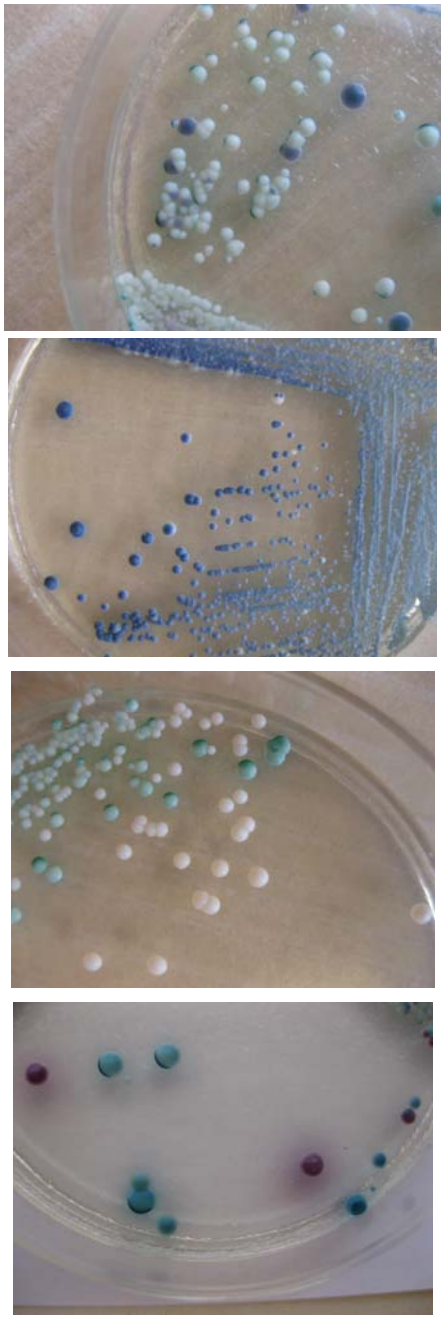
در پایان مقایسه‌ای میان گونه‌های عامل ولوواژنیت راجعهٔ کاندیدایی و گونه‌های عامل ولوواژنیت غیر راجعهٔ کاندیدایی انجام شد. برای توصیف داده‌ها از آمار توصیفی و برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون‌های اختلاف نسبت‌ها و میانگین‌ها، (Student T-test و X2 و ANOVA) استفاده شد و در مواقعی که بیماران مبتلا به واژینیت راجعه نسبت به غیر راجعه در مواجهه با عامل مستعد کننده‌ای بودند، میزان P-value و نیز میزان نسبت شانس (Odd's Ratio: OR) آن محاسبه گردید.

یافته‌ها

در این مطالعه، ۱۷۵ خانم مبتلا به ولوواژنیت کاندیدایی مورد بررسی قرار گرفتند. سن آن‌ها ۸/۲±۳۱/۴ سال بود. سن بیماران مبتلا به ولوواژنیت کاندیدایی غیر راجعه ۹/۲±۳۱/۳ سال و سن بیماران مبتلا به ولوواژنیت کاندیدایی راجعه ۷/۱±۳۱/۵ سال بود که اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها وجود نداشت (NS). ۵۲/۶ درصد موارد کمتر از ۴ بار در سال (غیر راجعه) و ۴۷/۴ درصد موارد بیشتر یا مساوی ۴ بار در سال (راجعه) مبتلا به ولوواژنیت کاندیدایی شده بودند.

از ۱۵۷ بیمار (۸۹/۷ درصد) تنها یک گونهٔ کاندیدا و از ۱۸ بیمار (۱۰/۳ درصد) چند گونهٔ کاندیدا (شکل۲ و ۳) جدا گردیدند.

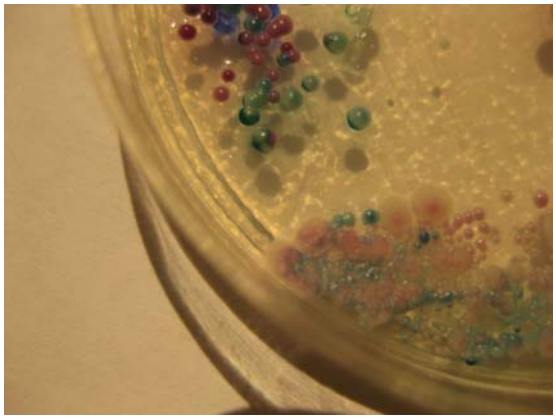
از نظر شیوع انواع گونه‌های کاندیدا، ۶۵/۱ درصد *C.albicans*، ۱۳/۱ درصد *C.glabrata*، ۶/۲ درصد *C.tropicalis*، ۴ درصد *C.krusei*، ۰/۶ درصد *C.guilliermondii*، ۰/۶ درصد *C.parapsilosis* به تنهایی عامل بروز ولوواژنیت کاندیدایی بودند و در ۱۰ مورد (۵/۷ درصد) *C.glabrata* و *C.albicans*، در دو مورد (۱/۱ درصد) *C.parapsilosis* و *C.albicans*، در یک مورد (۰/۶ درصد) *C.krusei* و *C.albicans*، در یک مورد (۰/۶ درصد) *C.tropicalis* و *C.albicans*، در یک مورد (۰/۶ درصد) *C.glabrata* و *C.tropicalis*، در یک مورد (۰/۶ درصد) *C.krusei* و *C.tropicalis*، در یک مورد (۰/۶ درصد) *C.glabrata* و *C.krusei* و در یک مورد (۰/۶ درصد) ترکیب *C.glabrata* و *C.krusei* و *C.albicans* عامل بیماری بودند.



شکل ۲- وجود دو گونهٔ کاندیدا در نمونه های بالینی

در بیماران مبتلا به کاندیدیاز ولوواژینال غیر راجعه، در ۹۰/۲ درصد یک گونهٔ کاندیدا و در ۹/۸ درصد بیشتر از یک گونهٔ

کاندیدا عامل بیماری بودند. در حالی که در بیماران مبتلا به کاندیدیاز ولوواژینال راجعه، در ۸۹/۷ درصد یک گونهٔ کاندیدا و در ۱۰/۸ درصد بیش از یک گونه عامل ایجاد بیماری بودند که اختلاف آماری معنی‌داری بین دو گروه وجود نداشت (NS).



شکل ۳- وجود سه گونهٔ کاندیدا در یک نمونهٔ بالینی

عامل بیماری در بیماران مبتلا به ولوواژنیت کاندیدایی غیر راجعه، در ۶۳ درصد *C.albicans*، در ۱۷/۴ درصد *C.glabrata*، در ۵/۴ درصد *C.tropicalis*، در ۴/۳ درصد *C.glabrata* و *C.albicans*، در ۳/۳ درصد *C.krusei*، در ۱/۱ درصد *C.guilliermondii*، در یک مورد *C.krusei* و *C.albicans*، در یک مورد *C.tropicalis* و *C.albicans*، در یک مورد *C.albicans* و *C.krusei* و *C.glabrata*، در یک مورد *C.glabrata* و *C.krusei* و در یک مورد *C.parapsilosis* و *C.albicans* بودند.

اما عامل بیماری در بیماران مبتلا به ولوواژنیت کاندیدایی راجعه در ۶۷/۶ درصد *C.albicans*، در ۸/۴ درصد *C.glabrata*، در ۷/۲ درصد *C.tropicalis*، در ۷/۲ درصد *C.glabrata* و *C.albicans* در ۴/۸ درصد *C.krusei*، در یک مورد *C.parapsilosis*، در یک مورد *C.tropicalis* و *C.glabrata*، در یک مورد *C.tropicalis* و *C.krusei*، و در یک مورد *C.parapsilosis* و *C.albicans* بودند که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (NS).

از نظر عوامل مستعد کننده، در بین بیماران مبتلا به ولوواژنیت کاندیدایی غیر راجعه، ۲۵ درصد چاقی، ۹/۸ درصد سابقه مصرف OCP ترکیبی، ۴/۳ درصد دیابت قندی، ۱۵/۲ درصد مصرف آنتی‌بیوتیک وسیع‌الطیف، ۴/۳ درصد سرکوب سیستم ایمنی، ۸/۷ درصد مصرف IUD و ۴/۳ درصد شستشوی واژینال (Douching) داشتند. در حالی که در بین گروه بیماران مبتلا به ولوواژنیت کاندیدایی راجعه، ۲۳ بیمار (۲۷/۷٪) چاقی، ۸/۴ درصد مصرف OCP ترکیبی، ۱۲ درصد دیابت قندی، ۱۴/۵ درصد مصرف آنتی‌بیوتیک وسیع‌الطیف، ۲/۴ درصد سرکوب سیستم ایمنی، ۶ درصد مصرف IUD و ۸/۴ درصد شستشوی واژینال (Douching) داشتند و آزمون کای دو نشان داد این دو دسته به طور معنی‌داری در مواجهه بیشتری با این عوامل خطر نبودند (NS).

توزیع بیماران مورد بررسی بر حسب نوع ولوواژینیت و به تفکیک آمیزش جنسی و دهانی-تناسلی در جدول ۱ ارائه گردیده و نشان می‌دهد که بیماران مبتلا به واژینیت راجعه ۹۱/۶ درصد و غیر راجعه ۷۹/۳ درصد در مواجهه با آمیزش جنسی بودند (P<۰/۰۲) و مبتلایان به واژینیت راجعه ۲/۸ برابر واژینیت غیر راجعه در مواجهه با آمیزش جنسی بودند (OR=۲/۸) و نیز مبتلایان به نوع راجعه ۱۳/۲ درصد و غیر راجعه ۴/۳ درصد در مواجهه با آمیزش دهانی-تناسلی قرار داشتند و آزمون کای دو نشان داد که این اختلاف به لحاظ آماری معنی‌دار است (P<۰/۰۴) و مبتلایان ولوواژینیت کاندیدایی از نوع راجعه، ۳/۴ برابر بیشتر از غیر راجعه با این عامل مستعد کننده مواجه بودند (OR=۳/۴).

جدول ۱- توزیع مبتلایان به ولوواژینیت کاندیدایی بر حسب نوع آن و به تفکیک عوامل مرتبط.

	ولوواژینیت غیرراجعه (n=۹۲)	ولوواژینیت راجعه (n=۸۳)
آمیزش جنسی		
نداشته	۱۹ (۲۰/۶)*	۷ (۸/۴)
داشته	۷۳ (۷۹/۳)	۷۶ (۹۱/۶)
آمیزش دهانی- تناسلی		
نداشته	۸۸ (۹۵/۷)	۷۲ (۸۶/۸)
داشته	۴ (۴/۳)	۱۱ (۱۳/۲)

* اعداد داخل پرانتز معرف درصد هستند.

بحث

تحقیق نشان داد که ۸۹/۷ درصد از بیماران توسط یک نوع از کاندیداها مبتلا به ولوواژنیت کاندیدایی شده بودند و در ۱۰/۳ درصد موارد بیش از یک نوع کاندیدا عامل بیماری بود که بین دو گروه بیماران مبتلا به ولوواژنیت کاندیدایی راجعه و غیرراجعه اختلاف آماری معنی‌داری از این نظر وجود نداشت. در مطالعهٔ مشابهی که توسط Fan و همکارانش انجام شد، از ۱۰۷۰ بیمار مبتلا به ولوواژنیت کاندیدایی، تنها در ۰/۰۲

درصد موارد بیش از یک گونه کاندیدا عامل بیماری بود (۱۴). در مطالعهٔ مشابه دیگری که توسط Richter در سال ۲۰۰۵ به چاپ رسید، عامل بیماری در ۴/۸ درصد موارد بیشتر از یک گونه کاندیدا بود (۱۵) که باز هم نسبت به مطالعه ما کمتر می‌باشد، اما از نظر شیوع گونه‌های مختلط در یک بیمار، نتایج این مطالعه مشابه نتایج ما بود و شایع‌ترین حالت، جداسازی گونه‌های *C.albicans* و *C.glabrata* از یک بیمار بود و سایر موارد مختلط نیز شیوعی کم و بیش مشابه داشتند. در مطالعات دیگری که توسط Willinger (۱۰)، Kunzelmann (۱۶) و Abu-Elteen (۱۷) انجام شد، شیوع موارد بیشتر از یک گونه کاندیدا در یک بیمار به ترتیب ۱۳ درصد، ۵ درصد و ۰/۱۲ درصد بود.

به نظر می‌رسد شیوع موارد ولوواژنیت کاندیدایی که چند گونهٔ کاندیدا در آن دخیل هستند، در بیماران مورد بررسی ما نسبت به مقالات مشابه بالاتر بوده است که این موضوع می‌تواند از نظر بهداشتی مهم باشد، اما نیازمند مطالعه‌ای گسترده در سطح کشور می‌باشد.

شایع‌ترین عوامل بیماری ولوواژنیت کاندیدایی در این مطالعه به ترتیب *C.albicans*، *C.glabrata*، *C.tropicalis*، *C.krusei*، *C.parapsilosis* و *C.guilliermondii* بودند و بین دو گروه بیماران ولوواژنیت کاندیدایی راجعه و غیر راجعه نیز از نظر شیوع انواع کاندیدا اختلاف آماری معنی‌داری به دست نیامد. در تمامی گزارشات مشابه نیز بیشترین عامل ولوواژنیت کاندیدایی *C.albicans* با شیوع ۴۳ درصد تا ۹۱ درصد بود (۳، ۴، ۱۱، ۱۵، ۲۰-۱۸).

در مطالعهٔ ما *C.glabrata* از نظر شیوع در ردهٔ دوم قرار داشت که در سایر مطالعات مشابه نیز همین نتیجه به دست آمده است و میزان شیوع آن از ۴/۹ درصد تا ۳۴/۵ درصد بود (۳، ۱۱، ۱۵، ۲۰-۱۸). به همین ترتیب شیوع گونه‌های دیگر نیز در مطالعه ما مشابه سایر مطالعات می‌باشد (۳، ۴، ۱۱، ۱۳، ۱۸-۱۶).

از سوی دیگر در هر سه مطالعه‌ای که پیش از این در ایران، در شهرهای ساری، یاسوج و قزوین انجام شده بود نیز شایع‌ترین گونه‌ها کاندیدا آلبیکنس و سپس کاندیدا گلابراتا بود (۲۳-۲۱).

بنابراین درکل این مطالعات، همچون نتایج به دست آمده از این تحقیق، افزایش شیوع گونه‌های غیرآلبیکانس به خصوص افزایش گونهٔ کاندیدا گلابراتا قابل توجه می‌باشد، که خود شاهدی بر افزایش شیوع گونه‌های مقاوم به داروی ضد قارچی در ایجاد ولوواژنیت کاندیدایی می‌باشد.

با آنکه روش‌های مولکولی، نظیر PCR-RAPD یا PCR-REA، که در سال‌های اخیر برای شناسایی گونه‌های کاندیدا در محیط کشت یا نمونه‌های بالینی معرفی شده‌اند، از سرعت و دقت بالاتری برخوردار هستند (۲۶-۲۴)، اما به علت بالا بودن هزینه، در همهٔ آزمایشگاه‌ها قابل اجرا نیستند. در حالی که استفاده از محیط کشت کروم آگار کاندیدا، بسیار ساده، مقرون به صرفه و در هر آزمایشگاهی قابل انجام است.

REFERENCES

1. Yücesoy M, Marol S. Performance of CHROMAGAR *candida* and BIGGY agar for identification of yeast species. Annal Clin Microbiol Antimicrobials 2003; 2: 1-7.
2. Sendid B, Francois N, Standaert A, Dehecq E, Zerimech F, Camus D, et al. Prospective evaluation of the new chromogenic medium CandiSelect 4 for differentiation and presumptive identification of the major pathogenic *Candida* species. J Med Microbiol 2007; 56: 495–499.
3. Fleury FJ. Adult vaginitis. Clin Obstet Gynecol 1981; 24: 407.
4. Goldacre MJ, Watt B, Loudon N. Vaginal microbial flora in normal young women. Br Med J 1979; 1: 1450.
5. Abi-Said D, Anaissie E, Uzun O, Raad F, Pinzcowski H, Vartivarian S. The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different *Candida* species. Clin Infect Dis 1997; 24: 1122-28.
6. Pfaller MA, Houston A, Coffmann S. Application of CHROMagar Candida for Rapid Screening of Clinical Specimens for *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, and *Candida* (*Torulopsis*) *glabrata*. J Clin Microbiol 1996; 34: 58-61.
7. Novikova N, Rodrigues A, Mardh PA. Can the diagnosis of recurrent vulvovaginal candidosis be improved by use of vaginal lavage samples and cultures on chromogenic agar? Infect Dis Obstet Gynecol 2002; 10: 89–92.
8. Sanglard D, Odds FC. Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. Lancet Infect Dis 2002; 2: 73–85.
9. Berek JS, Novak E, editors. Novak's Gynecology. 14th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2007. p.545-47.
10. Willinger B, Manafi M. Evaluation of CHROMagar *candida* for rapid screening of clinical specimens for *Candida* species. Mycoses 1999; 42: 61-65.

11. Odds FC, Bernaerts R. CHROMagar Candida a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *candida* species. J Clin Microbiol 1994; 32: 1923-29.

12. Tan GL, Peterson EM. CHROMagar *Candida* medium for direct susceptibility testing of yeast from blood cultures. J Clin Microbiol 2005; 43: 1727–31.

13. Houang ETS, Chu CK, Koehler AP. Use of CHROMagar *Candida* for genital specimens in the diagnostic laboratory. J Clin Pathol 1997; 50: 563-65.

14. Fan SR, Liu XP, Li JW. Clinical characteristics of vulvovaginal candidiasis and antifungal susceptibilities of *Candida* species isolates among patients in southern China from 2003 to 2006. J Obstet Gynaecol Res 2008; 34(4): 561-6.

15. Richter SS, Galask RP, Messer SA, Hollis RJ, Diekema DJ, Pfaller MA. Antifungal susceptibilities of *Candida* species causing vulvovaginitis and epidemiology of recurrent cases. J Clin Microbiol 2005; 43: 2155-62.

16. Kunzelmann V, Tietz HJ, Rossner D, Czaika V. Prerequisites for effective therapy of chronic recurrent vaginal candidiasis. Mycoses 1996; 39: 65-72.

17. Abu-Elteen KH. Increased incidence of vulvovaginal candidiasis caused by *Candida glabrata* in Jordan. Jpn J Infect Dis 2001; 54: 103-107.

18. Falleiros de Pádua RA, Guilhermetti E, Svidzinski TIE. In vitro activity of antifungal agents on yeasts isolated from vaginal secretion. Maringá 2003; 25: 51-54.

19. Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ, Messer SA, Tendolkar S, Diekema DJ. In Vitro Susceptibilities of Clinical Isolates of *Candida* Species, *Cryptococcus neoformans*, and *Aspergillus* Species to Itraconazole: Global Survey of 9,359 Isolates Tested by Clinical and Laboratory Standards Institute Broth Microdilution Methods. J Clin Microbiol 2005; 43: 3807–10.

20. Arzeni D, del Poeta M, Simonetti O, Offidani AM. Prevalence and antifungal susceptibility of vaginal yeasts in outpatients attending a gynecological center in Ancona, Italy. Euro J Epidemiol 1997; 13: 447–50.

۲۱. شکوهی ط. ولوواژینیت کاندیدایی در مراجعه‌کنندگان به درمانگاه‌های زنان شهرستان ساری در سالهای ۱۳۷۳-۱۳۷۲. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گیلان، سال ۱۳۷۵، شماره ۱۹ و ۱۸، صفحات: ۲۷-۲۲.

۲۲. صفری م، یزدان‌پناه ب، ملک‌زاده ج. شیوع عفونت‌های علامت‌دار واژن و ارتباط آن با روش‌های پیشگیری از بارداری در زنان مراجعه کننده به درمانگاه زنان یاسوج. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، سال ۱۳۷۷، شماره ۹ و ۱۰، صفحات: ۱۵-۲۲.

۲۳. آقامیریان م، کشاورز د، جهانی هاشمی ح، صادقی قزوینی م. عوامل ولوواژنیت کاندیدایی در مراجعین به مراکز درمانی قزوین. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، سال ۱۳۸۶، شماره ۴۴، صفحات: ۳۵-۴۰.

24. Andrighetto C, Psomas E, Tzanetakis N, Suzzi G, Lombardi A. Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) PCR for the identification of yeasts isolated from dairy products. Lett Appl Microbiol 2000; 30: 5-9.

25. Melo AS, de Almeida LP, Colombo AL, Briones MR. Evolutionary distances and identification of *Candida* species in clinical isolates by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD). Mycopathologia 1998; 142: 57-66.

26. Morace J, Sangvinettio M, Posteraro B. Identification of various medically *Candida* species by PCR-restriction enzyme analysis. J clin Mic 1997; 35: 667-72.