



Isolation, Identification and susceptibility of *Candida* species isolated from diabetic women referred to Kermanshah Diabetes Research Center (KDRC) in 2010

Reza Faraji¹, Mehr Ali Rahimi², Naser Nazari³, Najma Asadi⁴, Ali Dehghani Firoozabadi¹, Masoud Negahdary¹, Mahsa Yazdi⁵

1. Yazd Cardiovascular Research Center, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
2. Kermanshah Diabetes Research Center, Kermanshah University of Medical sciences, Kermanshah, Iran
3. Department of Parasitology and Mycology, Medical School, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
4. Department of Pathology, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
5. Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran.

Article Information

Article history:

Received: 2015/04/25
Accepted: 2015/06/19
Available online: 2015/11/29

Article Subject:

Medical Mycology

IJMM 1394; 9(3): 66-70

Corresponding author at:

Dr. Mehr Ali Rahimi

Kermanshah Diabetes
Research Center, Kermanshah
University of Medical sciences,
Kermanshah, Iran

Email:

mjavadra@yahoo.com

Abstract

Background and Aim: Nearly 75% of all adult women have had at least one genital "yeast infection" in their lifetime. Patients with diabetes mellitus are at risk for vulvo-vaginal candidiasis. The aim of this study is the determining species of *Candida* isolated from diabetic women referred to Kermanshah Diabetes Research Center (KDRC) in 2010.

Materials and Methods: This descriptive – analytic study was performed on 100 diabetic women referred to Kermanshah Diabetes Research Center in 2010. All specimens were examined under direct microscopy and cultured on Sabouraud Dextrose Agar (SDA). Complimentary test such as germ tube test and Sugar Assimilation Test (API) were carried out to differentiate the *Candida* species. Performed Minimum Inhibitory Concentration (MIC) test for *Candida* species isolated. Statistical analysis was performed using the Chi-square test.

Results: From 100 samples that were under experience, 12% (12 cases) in direct microscopy test and 20% (20 cases) were infected to vaginal candidiasis by cultivation on SDA. Frequency the *Candida* species isolated were: *C.albicans* with 62.5% (20 cases), *C.glabrata* with 18.7% (6 cases), *C.tropicalis* with 9.4% (3 cases) and *C.parapsilosis* with 9.4% (3 cases). All of the species isolate were sensitive to Amphotericin B, Fluconazole, and Clotrimazole.

Conclusions: *C. albicans* was, by far, the most predominant yeast isolate. Culture of vaginal discharge should be warranted because culture technique is more sensitive than direct smear.

Key Words: Candidiasis, Diabetes Mellitus, *C.albicans*

Copyright © 2015 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Faraji R, Rahimi M, Nazari N, Asadi N, Dehghani Dehghani Firoozabadi A, Negahdary M et al . Isolation, Identification and susceptibility of *Candida* species isolated from diabetic women referred to Kermanshah Diabetes Research Center (KDRC) in 2010.. Iran J Med Microbiol. 2015; 9 (3) :66-70

شناسایی و تعیین حساسیت گونه‌های کاندیدیای جدا شده در زنان دیابتی مراجعه کننده به مرکز تحقیقات دیابت کرمانشاه در سال ۱۳۸۹

رضا فرجی^۱، مهر علی رحیمی^۲، ناصر نظری^۳، نجما اسدی^۴، علی دهقانی فیروز آبادی^۱، مسعود نگهداری^۱، مهسا یزدی^۵

۱. مرکز تحقیقات قلب و عروق یزد، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
۲. مرکز تحقیقات دیابت کرمانشاه، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.
۳. گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه.
۴. گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
۵. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

زمینه و اهداف: نزدیک ۷۵ درصد از زنان یکبار در طول عمر خود عفونت مخمری را تجربه می‌کنند. بیماران با دیابت ملیتوس در خطر عفونت کاندیدیازیس واژینال هستند. هدف از این مطالعه تعیین گونه‌های کاندیدای جدا شده در زنان دیابتی مراجعه کننده به مرکز تحقیقات دیابت کرمانشاه در سال ۱۳۸۹ است.

مواد و روش کار: این مطالعه توصیفی-مقطعی بر روی ۱۰۰ زن دیابتی مراجعه کننده به مرکز تحقیقات دیابت کرمانشاه در سال ۱۳۸۹ انجام گرفت. نمونه‌ها (ترشحات واژن)، مورد آزمایش مستقیم میکروسکوپی و کشت بر روی محیط سابورودکستروز آگار قرار گرفتند. آزمایش‌های تکمیلی برای شناسایی گونه‌های مختلف کاندیدا از قبیل جرم تیوب و آزمایش جذب قندها (API) انجام شد. تست تعیین حساسیت (MIC) به روش ماکرودایلوشن براث برای گونه‌های جدا شده گذاشته شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آماری Chi-square مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: از بین ۱۰۰ نمونه مورد مطالعه ۱۲ مورد (۱۲٪) در آزمایش مستقیم میکروسکوپی، ۲۰ مورد (۲۰٪) با روش کشت بر روی محیط سابورودکستروز آگار مبتلا به ولوواژنیت کاندیدایی شناخته شدند. گونه‌های کاندیدیای جدا شده عبارتند از: کاندیدا آلبیکنس با ۲۰ مورد (۶۲/۵٪)، کاندیدا گلابراتا با ۶ مورد (۱۸/۷٪)، کاندیدا تروپیکالیس با ۳ مورد (۹/۴٪) و کاندیدا پاراسیلیوزیس با ۳ مورد (۹/۴٪). تمامی گونه‌های کاندیدیای جدا شده به داروهای ضد قارچ استفاده شده در مطالعه (آمفوتریسین B، فلوکونازول و کلوتریمازول) حساس بودند.

نتیجه‌گیری: کاندیدا آلبیکنس غالب‌ترین گونه جدا شده از بیماران بود. کشت ترشحات واژن حتماً باید انجام شود زیرا روش کشت نسبت به آزمایش مستقیم میکروسکوپی حساس‌تر است.

کلمات کلیدی: کاندیدیازیس، دیابت ملیتوس، کاندیدا آلبیکنس

کپی‌رایت © حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروبیولوژی پزشکی ایران محفوظ است.

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۳/۰۲/۰۵

پذیرش: ۱۳۹۴/۰۶/۳۰

انتشار آنلاین: ۱۳۹۴/۰۹/۰۹

موضوع:

قارچ‌شناسی پزشکی

IJMM 1394; 9(3): 66-70

نویسنده مسئول:

دکتر مهر علی رحیمی

مرکز تحقیقات دیابت کرمانشاه،

دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه،

کرمانشاه، ایران

تلفن: ۰۹۱۸۳۳۶۲۶۰۳

پست الکترونیک:

mjavadra@yahoo.com

مقدمه

از معضلات مهم آزمایشگاه قارچ‌شناسی پزشکی بوده است اما به منظور درمان مناسب و به موقع و جلوگیری از عود مجدد بیماری تعیین هویت مخمر الزامی به نظر می‌رسد (۲)؛ زیرا حساسیت گونه‌های این میکروارگانیسم در مقابل داروهای ضد قارچی متفاوت بوده و مشکلاتی را در درمان این بیماران ایجاد می‌کند؛

گونه‌های کاندیدا فلور طبیعی پوست و مخاط محسوب می‌شوند، برخی نیز در طبیعت، در خاک و مواد مختلف موجودند که مجموعاً قدرت بیماری‌زایی محدودتری دارند و تحت شرایط ویژه‌ای با غلبه بر مکانیسم دفاعی میزبان، قادر به ایجاد بیماری می‌باشند (۱). با وجودی که تعیین هویت گونه‌های کاندیدا همیشه

عنوان نمونه مثبت گزارش می‌شد. سپس برای تشخیص گونه *کاندیدا* از تست API استفاده شد (در این آزمایش از کیت API 20c AUX ساخت شرکت Biomerieux استفاده شد) و از روی جدول مخصوص ضمیمه کیت نوع مخمر تشخیص داده می‌شد. بعد از تعیین گونه *کاندیدا*، تست تعیین حساسیت (MIC)، به روش ماکرودایلوشن براث (سریال ۱۱ تایی لوله‌های آزمایش طبق دستورالعمل CLSI استفاده شد (۵)). از کشت ۷۲ ساعته قارچ مورد آزمایش در سرم فیزیولوژی استریل سوسپانسیونی معادل با کدورت ۰/۵ مک فارلند تهیه شد. ۱۰ رقت از ۰/۱۲۵ تا ۶۴ میکروگرم در میلی‌لیتر از ۳ داروی آموتریسین B، فلوکونازول و کلوتریمازول (تهیه شده از شرکت داروپخش) تهیه شد. یک لوله به عنوان کنترل مثبت (فاقد آنتی‌بیوتیک) استفاده شد. سری لوله‌ها بعد از ۲۴ ساعت برای رشد و یا عدم رشد قارچ به صورت چشمی بررسی می‌شدند (۳،۶). اطلاعات جمع‌آوری شده توسط نرم‌افزار spss مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. آزمون آماری مورد استفاده شده در این مطالعه Chi-square بود (در این آزمون $P < 0/05$ به عنوان اختلاف معنی‌دار آماری مدنظر بود).

یافته‌ها

رنج سنی زنان مورد مطالعه بین ۲۵ تا ۷۵ سال و متوسط سن بیماران 9 ± 51 سال بود. متوسط میزان قند خون ناشتا در این بیماران 67 ± 191 mg/dl بود. میانگین طول مدت ابتلا به دیابت در این بیماران 6 ± 12 سال بود. ۲٪ از بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱ و ۹۸٪ مبتلا به دیابت نوع ۲ بودند. میزان شیوع عفونت *کاندیدیازیس* واژینال با روش آزمایش مستقیم میکروسکوپی و کشت به ترتیب ۱۲٪ و ۲۰٪ گزارش شد (شکل ۱ و ۲). گونه‌های جدا شده از این بیماران به ترتیب عبارت بودند از: *کاندیدا آلبیکنس* با ۲۰ مورد (۶۲/۵٪)، *کاندیدا گلابراتا* با ۶ مورد (۱۸/۷٪)، *کاندیدا تروپیکالیس* با ۳ مورد (۹/۴٪) و *کاندیدا پاراپسیلوزیس* با ۳ مورد (۹/۴٪) که *کاندیدا آلبیکنس* به عنوان غالب‌ترین گونه *کاندیدایی* مسبب بیماری محسوب می‌گردد (جدول ۱). با استفاده از آزمون آماری کای اسکوار، از لحاظ آماری ارتباط معنی‌داری در میزان حساسیت انواع گونه‌های *کاندیدایی* جدا شده (*کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا گلابراتا*، *کاندیدا تروپیکالیس* و *کاندیدا پاراپسیلوزیس*) از بیماران نسبت به ۳ داروی آموتریسین B، فلوکونازول و کلوتریمازول به دست نیامد ($P = 1/000$). به طوری که میزان حساسیت گونه‌های *آلبیکنس*

بنابراین مشخص کردن گونه مخمر و ارزیابی حساسیت دارویی آن می‌تواند در درمان نقش مهمی را ایفا کند. امروزه بیماری *کاندیدیازیس* واژینال به‌عنوان یک مشکل مهم در بیماران دیابتی مطرح می‌باشد. ۹۰ - ۸۵ درصد عامل *کاندیدیازیس* واژینال، *کاندیدا آلبیکنس* و متعاقب آن *کاندیدا گلابراتا*، *کاندیدا تروپیکالیس* و دیگر گونه‌ها مثل *کاندیدا پاراپسیلوزیس* و *کاندیدا کروزه ای* به میزان کمتری در عفونت *کاندیدیازیس* واژینال دخیل هستند (۳). در مطالعه‌ای که Falahati و همکاران در سال ۱۳۸۸ انجام دادند، ۸۰ مورد واژینیت *کاندیدایی* از ۱۵۰ نمونه مورد آزمایش گزارش کردند که فراوانی گونه‌های جدا شده به ترتیب عبارت بودند از *کاندیدا آلبیکنس*، *گلابراتا*، *پاراپسیلوزیس*، *کروزئی* و *گیلموندی*. از نظر اثر داروها، داروهای کتوکونازول، کلوتریمازول و مایکونازول بر روی تمام گونه‌های جدا شده مؤثر بودند. در مقابل حساسیت به فلوکونازول کمتر دیده شد (۴). نظر به عدم اطلاع از شیوع بیماری در منطقه و به منظور تعیین گونه‌های *کاندیدایی* جدا شده در زنان دیابتی مراجعه کننده به مرکز تحقیقات دیابت کرمانشاه و همچنین تعیین حساسیت گونه‌های جدا شده در سال ۱۳۸۹ این مطالعه انجام گرفت.

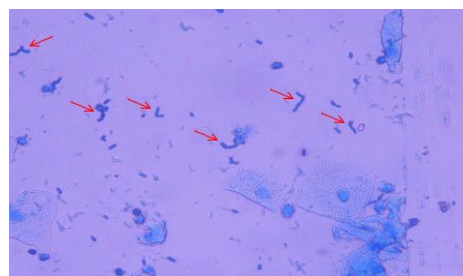
مواد و روش‌ها

نوع مطالعه توصیفی - مقطعی و روش نمونه‌برداری از نوع غیر مداخله‌ای، انتخاب نمونه‌ها به روش تصادفی بود. جهت جمع‌آوری داده‌های مورد نیاز اقدام به نمونه‌گیری از ۱۰۰ زن دیابتی مراجعه کننده به مرکز تحقیقات دیابت کرمانشاه از فروردین تا اسفند سال ۱۳۸۹ طی یک دوره ۱۲ ماهه صورت گرفت. معیار ابتلا به دیابت بر اساس توصیه سازمان جهانی بهداشت عبارت بود از: قند سرم ناشتا بیشتر از ۱۴۰ mg/ml. توسط دو عدد سواب استریل از ترشحات واژن برداشت کرده، یک سواب برای انجام آزمایش مستقیم میکروسکوپی و یک سواب برای کشت. برای انجام آزمایش مستقیم میکروسکوپی از هر یک از نمونه‌ها یک لام مستقیم تهیه، با حرارت شعله، فیکس و با رنگ بلودومتیلن رنگ آمیزی کرده و با درشت‌نمایی ۴۰ مورد بررسی قرار داده. در صورت مشاهده مخمرهای جوانه‌دار، میسلیوم کاذب و حقیقی زیر میکروسکوپ، به عنوان بیمار انتخاب شدند. سواب دیگر را در پلیت حاوی محیط ساپورودکستروز آگار که حاوی ۵۰ میلی‌گرم کلرامفنیکل بود کشت داده و به مدت ۷۲-۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس قرار داده می‌شدند. رشد کلنی در محیط کشت به

جدول ۱- تعداد و درصد گونه کاندیدا مسبب بیماری

گونه کاندیدا	تعداد	درصد
کاندیدا آلبیکنس	۲۰	۶۲/۵
کاندیدا گلابراتا	۶	۱۸/۷
کاندیدا تروپیکالیس	۳	۹/۴
کاندیدا پاراپسیلوزیس	۳	۹/۴
جمع کل	۳۲	۱۰۰

و غیرآلبیکنس به آمفوتریسین B ۰/۸۹٪، فلوکونازول ۰/۸۷٪ و کلوتریمازول ۰/۸۴٪ بود (جدول ۲).



شکل ۱: شناسایی پسودوهایف در دید میکروسکوپی

جدول ۲: حساسیت گونه های کاندیدا جدا شده از بیماران دیابتی نسبت به داروهای ضد قارچی مورد مطالعه به روش ماکرودایلوشن برات

گونه کاندیدا	آمفوتریسین B دامنه MIC رفرنس (۰/۰۳۱۳-۱۶)	فلوکونازول دامنه MIC رفرنس (۰/۱۲۵-۶۴)	کلوتریمازول دامنه MIC رفرنس (۰/۱۲۵-۶۴)
کاندیدا آلبیکنس	۱	۰/۵	۰/۵
کاندیدا گلابراتا	۰/۵	۱	۰/۱۲۵
کاندیدا پاراپسیلوزیس	۱	۱	۰/۲۵
کاندیدا تروپیکالیس	۰/۱۲۵	۰/۵	۰/۱۲۵

Oriel و همکاران در مطالعه خود در نیمی از بیماران که کشت مثبت داشتند مخمر کاندیدا را در آزمایش مستقیم مشاهده کرد (۹). ما در مطالعه خود بر پایه دید میکروسکوپی ۱۲٪ و بر پایه کشت ترشحات واژن ۲۰٪ میزان شیوع را داشتیم. با توجه به نتایج این تحقیق و مطالعات مشابه دیگر می توان گفت که روش کشت ترشحات نسبت به آزمایش مستقیم میکروسکوپی روش حساس تری است. در مطالعات گوناگون شیوع عفونت کاندیدیایی واژن در زنان دیابتی بیشتر از افراد عادی گزارش شده است، شیوعی در حد ۷ تا بیش از ۵۰٪ داشته و قسمت اعظم شیوع به دلیل کاندیدا آلبیکنس می باشد (۱۰). در مطالعه ای که Parveen و همکاران در سال ۱۳۸۴ بر روی ۱۱۰ زن دیابتی مراجعه کننده به بخش زنان و مامایی بیمارستان اسراء حیدرآباد، انجام داد شیوع عفونت کاندیدیازیس واژینال را ۳۸٪ تعیین کرد (۱۱). Goswami در سال ۲۰۰۶ در تحقیقی که بر روی ۷۸ بیمار مراجعه کننده به کلینیک دیابت دهلی نو انجام داد میزان شیوع عفونت کاندیدیازیس واژینال را ۴۶٪ اعلام کرد (۶). آمار فوق نشان می دهد شیوع کاندیدیازیس واژن در زنان دیابتی متفاوت می باشد. Goswami دلایل احتمالی تفاوت در میزان شیوع را عدم کنترل میزان قند خون و استفاده از عوامل ضد قارچی



شکل ۲- رشد کلنی کاندیدا بر روی محیط سابورود کستروز آگار

بحث

عفونت اگرچه امروزه این باور وجود دارد که در بیماران مبتلا به دیابت، نسبت به زنان غیر دیابتیک، بیشتر کاندیدیازیس واژن دیده می شود، ولی ارتباط معکوس آن ناشناخته است (۷). تشخیص عفونت کاندیدیازیس واژینال معمولاً بر پایه علائم بالینی و آزمایش مستقیم میکروسکوپی است. آزمایش مستقیم میکروسکوپی یک روش کلینیکی سریع است که ممکن است عوامل اتیولوژیک را شناسایی کند؛ اما کشت ترشحات واژن برای تشخیص قطعی و نهایی لازم و ضروری به نظر می رسد (۸).

جداشده (کاندیدا/آلبیکنس، کاندیدا/گلابراتا، کاندیدا/تروپیکالیس و کاندیدا/پاراپسیلوزیس) از بیماران نسبت به ۳ داروی آمفوتریسین B، فلوکونازول و کلوتریمازول به دست نیاوردیم.

در این مطالعه روش کشت ترشحات واژن در مقایسه با آزمایش مستقیم میکروسکوپی حساس تر شناخته شد؛ و بر اساس این دو روش گونه کاندیدا آلبیکنس بیشترین گونه جداشده از بیماران بود. در نتیجه مراکز تشخیصی و درمانی در مواجهه با کاندیازیس واژن تنها به صرف مشاهده علائم بالینی نباید شروع به تجویز دارو کرده بلکه باید علاوه بر آزمایش مستقیم میکروسکوپی، کشت ترشحات را نیز انجام دهند و بعد از تعیین گونه مخمر، با تست حساسیت دارویی مناسب ترین دارو را به منظور درمان مناسب انتخاب و تجویز نمایند.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت محترم تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی و کلینیک مرکز تحقیقات دیابت کرمانشاه که در انجام این پژوهش نهایت همکاری را مبذول داشتند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع:

بین نویسندگان و مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

نامناسب بیان می‌کند (۶). امروزه به دلیل شیوع بیماری کاندیازیس و مقاومت دارویی بعضی از گونه‌های کاندیدا، تعیین گونه عوامل بیماری‌زای جداشده از ضایعات ضروری به نظر می‌رسد. در این مطالعه همانند مطالعات دیگر بیشترین گونه جداشده از بیماران کاندیدا/آلبیکنس (۶۲/۵٪) بود (۱۲-۱۴). اولین قدم در به وجود آمدن عفونت مخمری، باند شدن مخمر به موکوس واژن است. به نظر می‌رسد کاندیدا/آلبیکنس نسبت به گونه‌های غیرآلبیکنسی چسبنده‌تر باشد. این موضوع را می‌توان یکی از دلایل احتمالی غالب بودن این‌گونه نسبت به گونه‌های غیر آلبیکنسی دانست (۱۵)؛ اما برخلاف مطالعات دیگر که شیوع گونه‌های غیرآلبیکنسی را در حال افزایش بیان می‌کند (۶)، ما در مطالعه خود به شیوع بالای گونه‌های غیر آلبیکنسی دست نیافتیم. Goswami طی گزارشی شیوع ۵۶٪ گونه‌های غیر آلبیکنس را با گونه غالب گلابراتا در بیماران دیابتی اعلام داشته (۶). دلایل احتمالی افزایش شیوع گونه‌های غیر آلبیکنس را می‌توان به استفاده وسیع از عوامل ضد قارچی بدون نسخه نسبت داد (۱۰، ۱۶). تجویز طولانی مدت داروهای متداول سبب ایجاد مقاومت دارویی می‌شود؛ بنابراین آگاهی از الگوی مقاومت دارویی کاندیداهای جداشده از واژنیت در برابر داروهای متداول ضد کاندیدایی برای درمان صحیح موارد عودکننده ضرورت دارد (۲، ۱۷). Goswami در مطالعه خود که به روش میکروداپلوشن برات انجام داد از لحاظ آماری ارتباطی بین حساسیت گونه‌های کاندیدا آلبیکنس و غیر آلبیکنس به فلوکونازول پیدا نکرد (۶). ما نیز در این مطالعه ارتباط مستقیمی بین حساسیت انواع گونه‌های

References

- Okungbowa FI, Isikhuemhen OS, Dede APO. The distribution frequency of *Candida* species in the genitourinary tract among symptomatic individuals in Nigerian cities. *Rev Iberoam Micol*. 2003;20(2):60-3.
- Yun-Liang Y, Shu-Ying L, Hsiao-Hsu C, Hsiu-Jung L. The trend of susceptibilities to amphotericin B and fluconazole of *Candida* species from 1999 to 2002 in Taiwan. *BMC Infect Dis*. 2005;5:99.
- Goswami R. Species-specific prevalence of vaginal candidiasis among patients with diabetes mellitus and its relation to their glycaemic status. *J Infect*. 2000;41(2):162-6.
- Falahati M, Sharifinia S, Foroumadi AR, Bolouri F, Akhlagh L, Yazdan Parast A, Haghani H. Drug resistance pattern in candida species isolated from vaginitis. *Iran Univ Med Sci J*. 2010;65:40-45.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS. Performance standards for antifungal susceptibility testing of yeast 15th informational supplement (M100-S15). Wayne, Pa. 2005.
- Goswami D. Patten of *Candida* species isolated from patients with diabetes mellitus and vulvovaginal candidiasis and their response to single dose oral fluconazole therapy. *J Infect*. 2006;52(2):111-7.
- 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.

8. Grigoriou O, Baka S, Makrakis E, Hassiakos D, Kapparos G, Kouskouni E. Prevalence of clinical vaginal candidiasis in a university hospital and possible risk factors. *Eur J Obstet Biol.* 2006;126(1):121-5.
9. Oriel JD, Partridge BM, Denny MJ. Genital yeast infections. *Br Med J.* 1972;4(5843):761-4.
10. Malazy OT, Shariati M, Heshmat R, Majlesi F, Alimohammadian M, Tabari NK, et al. Vulvovaginal candidiasis and its related factors in diabetic women. *Tai J Obstet Gynecol.* 2007;46(4):399-404.
11. Parveen N, Muniri AA, Dinayee I, Majeedi R. Frequency of vaginal candidiasis in pregnant women attending routine antenatal clinic. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2008;18(3):154-7.
12. Boselli F, Chiossi G, Garutti P, Matteelli A, Montagna MT, Spinillo A. Preliminary results of the Italian epidemiological study on vulvovaginitis. *Minn Gynecol.* 2004;56:149-53.
13. Qingkai D, Hu L, Yongmei J, Hua Shi, Jinhao Liu, Wenjie Zhou, et al. An epidemiological survey of bacterial vaginosis, vulvovaginal candidiasis and trichomoniasis in the Tibetan area of Sichuan Province, China. *Eur J Obstet Biol.* 2010;150:207-209.
14. Nyirjesy P. Chronic vulvovaginal candidiasis. *Am Fam Physician.* 2001;63:697-702.
15. Grigoriou O, Baka S, Makrakis E, Hassiakos D, Kapparos G, Kouskouni E. Prevalence of clinical vaginal candidiasis in a university hospital and possible risk factors. *Eur J Obstet Biol.* 2006;126(1):121-5.
16. Sobel JD. Epidemiology and pathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Am J Obstet Gynecol.* 1985; 152(7 Pt 2):924-35.
17. Afsarian MH, Zaini F, Kordbacheh P, Mahmoudi M, Rezaii S, Safara M. Identification and study of non-albicans candida species which isolated from clinical materials of patients with candidiasis. *T U M J.* 2007; 64(12):38-47.

