شناسایی مولکولی گونه‌های کاندیدا جدا شده از مبتلایان به ولوواژینیت کاندیدایی برای اولین بار در مشهد

زهرا کرد[۱]، دکتر عبدالمجید فتی[۲*]، دکتر حسین زرین‌فر[۳]

۱. کارشناس ارشد گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۲. استاد گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوست و سالک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۳. استادیار مرکز تحقیقات آلرژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۲۰ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۶/۰۴/۱۰

خلاصه

مقدمه: ولوواژینیت کاندیدایی (VVC) یکی از شایع‌ترین عفونت‌های ناحیه واژینال زنان در سنین باروری می‌باشد. در مواردی به دلیل دخالت سویه‌های مقاوم کاندیدا آلبیکنس و یا گونه‌های غیر آلبیکنس، فرم عود کننده یا راجعه بیماری (RVVC) رخ می‌دهد. مطالعه حاضر با هدف شناسایی کاندیداهای جدا شده از مبتلایان به VVC توسط روش مولکولی PCR-RFLP انجام گرفت.

روش‌کار: این مطالعه توصیفی طی سال‌های ۹۵-۱۳۹۴ بر روی نمونه ترشحات واژن ۱۸۹ زن با علائم بالینی ووالوواژینت در بیمارستان قائم دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد. ترشحات واژینال افراد جهت تشخیص قطعی، مورد آزمایش مستقیم و کشت بر روی محیط سابورو دکستروز آگار قرار گرفت. ژنوم کلنی‌های کاندیدایی رشد کرده در محیط کشت توسط روش جوشاندن استخراج شد. ایزوله‌های کاندیدایی به روش مولکولیPCR-RFLP تعیین گونه شدند. نتایج به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۶) و آزمون‌های پیرسون و کای دو مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: از بین ۱۸۹ بیمار که مورد نمونه‌برداری قرار گرفتند، ۱۰۸ کشت مثبت کاندیدایی، قابل قبول بودند. گونه‌های کاندیدایی شناسایی شده شامل: ۸۴ مورد (۷۷/۸٪) آلبیکنس، ۱۰ مورد (۹/۳٪) گلابراتا، ۴ مورد (۳/۷٪) کفایر، ۱ مورد (۰/۹٪) پاراپسیلوزیس و ۱ مورد (۰/۹٪) تروپیکالیس بودند. همچنین ۸ مورد (۷/۴٪) از نمونه‌ها دارای دو نوع گونه کاندیدایی بودند. ۵ نفر (۴/۶٪) از مبتلایان به VVC، دچار فرم عود کننده بودند.

نتیجه‌گیری: کاندیدا آلبیکنس شایع‌ترین عامل ولوواژینیت کاندیدایی می‌باشد و کاندیدا گلابراتا نیز بیشترین فراوانی را در بین گونه‌های غیر آلبیکنس داراست. اغلب مبتلایان دارای فرم غیر عود کننده بودند.

کلمات کلیدی: کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا گلابراتا، ولوواژینیت کاندیدایی، PCR-RFLP

* **نویسنده مسئول مکاتبات:** دکتر عبدالمجید فتی؛ مرکز تحقیقات بیماری‌های پوست و سالک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
تلفن: ۰۵۱-۳۸۰۰۲۴۰۳؛ **پست الکترونیک:** fataa@mums.ac.ir

مقدمه

ولوواژینیت کاندیدیایی (VVC)[1]، یک عفونت قارچی شایع در بین زنان به ویژه در سنین باروری محسوب می‌شود. تقریباً ۷۵٪ از زنان بالغ حداقل یک بار در طول زندگی خود به این عفونت مبتلا می‌شوند (۱). بر اساس نتایج به‌دست آمده از مطالعات متعدد، کاندیدا آلبیکنس عامل اصلی VVC می‌باشد ولی در عین حال، نتایج سایر مطالعات نیز از افزایش شیوع واژینیت‌هایی با عامل غیر آلبیکنس از جمله کاندیدا گلابراتا، کاندیدا کروزه‌ای، کاندیدا پاراپسیلوزیس، کاندیدا کفایر و کاندیدا گیلرموندی حکایت دارند (۸-۲). درصدی از عفونت‌های VVC از نوع مقاوم و راجعه هستند که با عنوان ولوواژینیت عودکننده کاندیدایی (RVVC)[2] شناخته می‌شود. تاکنون ارزیابی‌های انجام گرفته برای کشف مکانیزم عامل واژینیت‌های عودکننده ناموفق بوده‌اند. در مواردی که کاندیدا آلبیکنس عامل ایجاد کننده می‌باشد، به ندرت مقاومت دارویی مشاهده می شود، در حالی‌که در عفونت‌های با عوامل کاندیدا گلابراتا و کاندیدا تروپیکالیس، فقدان حساسیت به داروهای ضد قارچی آزول می‌تواند عامل عفونت مزمن یا راجعه باشد. عوامل دیگری نظیر آلودگی مدفوعی ناحیه واژینال که به کرات ایجاد می‌گردد و نیز نوع پوشش‌ها، از عوامل زمینه‌ساز بیماری‌های راجعه محسوب شده که البته بیشتر مرتبط با گونه کاندیدا آلبیکنس هستند (۹).

روش‌های مختلفی در شناسایی کاندیداها به کار می‌روند که به طور کلی شامل روش‌های بیوشیمیایی، کشت و روش‌های مولکولی می‌باشند. در سال‌های اخیر، روش‌های مولکولی به‌دلیل داشتن سرعت و دقت بیشتر در تشخیص کاندیداها متداول‌تر شده و استفاده از این روش‌ها را اجتناب‌ناپذیر کرده است (۱۱، ۱۰). وجود مطالعات متعدد در جهت شناسایی عوامل کاندیدایی جدا شده از نمونه‌های بالینی در کشورهای مختلف از جمله ایران، نشان دهنده اهمیت جنبه‌های اپیدمیولوژیک و تفاوت در مقاومت‌های دارویی آنها می‌باشد (۹، ۲، ۱). در حال حاضر روش متداول فعلی برای تشخیص کاندیداها در ایران، استفاده از روش کشت، تست‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی می‌باشد. با توجه به مشاهده برخی تفاوت‌ها در گونه کاندیداهای به‌دست آمده از مبتلایان به ولوواژینیت کاندیدیایی در نقاط مختلف دنیا و حتی کشور ایران، لزوم شناسایی دقیق‌تر آنها در راستای مطالعات اپیدمیولوژیک و درمان‌های مؤثرتر گونه‌های مقاوم به برخی داروها ضروری است، لذا مطالعه حاضر با هدف شناسایی کاندیداهای جدا شده از مبتلایان به VVC مراجعه کننده به مراکز درمانی دانشگاه علوم پزشکی مشهد توسط روش مولکولی PCR-RFLP انجام گرفت.

روش‌کار

این مطالعه توصیفی طی سال‌های ۹۵-۱۳۹۴ بر روی ۱۸۹ نمونه ترشحات واژن زنان با علائم بالینی وولوواژینت در بیمارستان قائم دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد. در این مطالعه واحدهای پژوهش از بین زنان مراجعه کننده به مراکز تحت پوشش دانشگاه علوم پزشکی مشهد (مرکز بهداشت شماره ۵ مشهد) و مبتلا به واژینیت که دارای علائم مشکوک به VVC بودند، انتخاب شدند. حجم جمعیت مورد مطالعه بر اساس حجم نمونه‌های در دسترس در طی بازده زمانی ۱۸ ماه (آذر ماه ۱۳۹۳ لغایت خرداد ۱۳۹۴) صورت گرفت که در مجموع ۱۸۹ بیمار طی این مدت شناسایی و نمونه‌برداری شدند.

وجود علائم VVC و اندیکاسیون نمونه‌برداری توسط ماما یا متخصص زنان جهت تشخیص قطعی، به همراه مثبت شدن آزمایش مستقیم و کشت از نظر کاندیدا، از جمله معیارهای ورود به مطالعه بودند. از طرفی نمونه‌های منفی در آزمایش مستقیم، نمونه‌های باکتریال و نمونه‌های بیمارانی که داروی ضد قارچی مصرف کرده بودند، جزء معیارهای خروج از مطالعه قرار گرفتند. در ضمن از لحاظ رعایت نکات اخلاقی، نمونه‌گیری از بیماران در راستای تشخیص بیماری انجام شده بود و نمونه‌گیری خاص این تحقیق نبوده است.

۲- نمونه‌برداری و روش‌کار: نمونه‌ها توسط متخصص مربوطه با سواپ استریل از جدار خلفی واژن گرفته شد.

[1] vulvovaginal candidiasis
[2] Recurrent vulvovaginal candidiasis

از نمونه‌های اخذ شده، یک لام مرطوب که با یک قطره هیدروکسید پتاسیم ۱۰٪ شفاف می‌شود، تهیه شد و نمونه دیگر بر روی محیط سابورو دکستروز آگار (SC) (مرک آلمان) کشت داده شد. بعد از انکوباسیون محیط‌های کشت در ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸-۲۴ ساعت، کلونی‌های ایجاد شده از لحاظ وجود عناصر مخمری مورد بررسی مجدد قرار گرفتند (تهیه لام مستقیم). پس از طی مراحل فوق، از بین ۱۸۹ نفر، ۱۰۸ نفر مبتلا به ولوواژینیت تشخیص داده شدند و سایر افراد به‌دلیل عدم رشد قارچ بر روی محیط کشت از مطالعه حذف شدند. در مرحله بعد، کلونی‌های رشد کرده مربوط به نمونه‌های بیماران، در میکروتیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتری استریل حاوی آب مقطر استریل جمع‌آوری شده و آماده استخراج DNA، انجام PCR (دستگاه ترموسایکلر شرکت پیشگام مدل Geneupt، ایران) و سپس تکنیک مولکولی PCR-RFLP شدند. برای انجام این روش ابتدا ژنوم کاندیدا توسط روش جوشاندن (به مدت ۱۵ دقیقه) خارج و استخراج شده و توسط روش PCR تکثیر شدند. بعد از اثرگذاری آنزیم محدودساز *Msp*I و بر اساس اندازه و تعداد باندهای ایجاد شده بر روی ژل الکتروفورز، شناسایی گونه‌های کاندیدا انجام گردید (۳۰، ۲۹). در ضمن محصول PCR ۶ تا از نمونه‌ها نیز برای تأیید نهایی، تعیین توالی شدند. نتایج به‌دست آمده از بیماران و شناسایی گونه‌های کاندیدایی، با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۶) و آزمون‌های پیرسون و کای دو مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، از تعداد ۱۸۹ نمونه مشکوک به عفونت VVC، پس از انجام کشت بر روی محیط سابورو دکستروز آگار و بررسی آزمایش مستقیم هر یک از نمونه‌ها، در نهایت تعداد ۱۰۸ نمونه (۵۷/۱٪)، دارای کلنی مثبت کاندیدایی بودند که مورد بررسی و مطالعه قرار گرفتند. میانگین سن مبتلایان ۷/۴±۳۰/۵ سال بود که بالاترین و پایین‌ترین سن به ترتیب ۵۵ و ۱۶ سال بود. بیشترین تعداد مبتلایان در محدوده سنی ۳۵-۲۶ سال قرار داشتند. ۱۴ نفر (۱۳٪) از بیماران بدون سابقه بارداری و ۹۴ نفر (۸۷٪) از آنها بین ۴-۱ بارداری را تجربه کرده بودند. در بین مبتلایان به VVC در این مطالعه، ۱۱ نفر (۴/۶٪) بیماران دارای عفونت تکرار شونده (RCCV) و بقیه آنها فاقد این وضعیت بودند.

نتایج تعیین گونه و شناسایی کلنی‌های کاندیدایی توسط روش PCR-RFLP، نشان دهنده ۵ گونه کاندیدا شامل گونه‌های آلبیکنس، گلابراتا، کفایر، تروپیکالیس و پاراپسیلوزیس بود که درصد فراوانی هر کدام از آنها در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- فراوانی گونه‌های کاندیدا در مبتلایان به VVC دانشگاه علوم پزشکی مشهد (مرکز بهداشت شماره ۵)

گونه کاندیدا	فراوانی	درصد فراوانی
آلبیکنس	۸۴	۷۷/۸
گلابراتا	۱۰	۹/۳
کفایر	۴	۳/۷
پاراپسیلوزیس	۱	۰/۹
تروپیکالیس	۱	۰/۹
آلبیکنس /گلابراتا	۵	۴/۶
آلبیکنس /کفایر	۲	۱/۹
آلبیکنس /پاراپسیلوزیس	۱	۰/۹
مجموع	۱۰۸	۱۰۰

در ۱۰۰ نفر (۹۲/۶٪) از بیماران، یک گونه کاندیدایی خالص جدا شده که شامل کاندیدا آلبیکنس (۷۷/۸٪)، کاندیدا گلابراتا (۹/۳٪)، کاندیدا کفایر (۳/۷٪)، کاندیدا پاراپسیلوزیس (۰/۹٪) و کاندیدا تروپیکالیس (۰/۹٪) بودند.

در ۸ نفر (۷/۴٪) از مبتلایان نیز ابتلاء به ۲ گونه کاندیدایی در یک نمونه مشاهده شد که شامل کاندیدا آلبیکنس / کاندیدا گلابراتا (۴/۶٪)، کاندیدا آلبیکنس / کاندیدا کفایر (۱/۹٪) و کاندیدا آلبیکنس / کاندیدا پاراپسیلوزیس (۰/۹٪) بود. در موارد با عفونت تکرار شونده، ۷۰٪ این موارد را کاندیدا آلبیکنس و ۳۰٪ موارد را کاندیدا گلابراتا به خود اختصاص داده بودند.

بیشترین تعداد مبتلایان (۶۱ نفر) در گروه سنی ۳۵-۲۶ سال قرار داشتند و کاندیدا آلبیکنس در ۵۰ مورد، عامل VVC شناخته شد. در جدول ۲ ارتباط گونه‌های کاندیدا و رده سنی مبتلایان آمده است.

جدول ۲- فراوانی گونه‌های کاندیدا در ارتباط با رده‌های مختلف سنی در مبتلایان به VVC دانشگاه علوم پزشکی مشهد (مرکز بهداشت شماره ۵)

گروه سنی / گونه کاندیدا	۲۵-۱۵	۳۵-۲۶	۴۵-۳۶	۵۵-۴۶	مجموع
آلبیکنس	۲۱	۵۰	۱۰	۳	۸۴
گلابراتا	۳	۴	۳	۰	۱۰
کفایر	۲	۲	۰	۰	۴
پاراپسیلوزیس	۱	۰	۰	۰	۱
تروپیکالیس	۰	۱	۰	۰	۱
آلبیکنس /گلابراتا	۰	۲	۳	۰	۵
آلبیکنس /کفایر	۱	۱	۰	۰	۲
آلبیکنس /پاراپسیلوزیس	۰	۱	۰	۰	۱
جمع	۲۸	۶۱	۱۶	۳	۱۰۸

همچنین در بررسی نوع و تعداد زایمان‌ها در این افراد، ۶۲ نفر (۵۷/۴٪) دارای زایمان طبیعی، ۲۴ نفر (۲۲/۲٪) سزارین و ۸ نفر (۷/۴٪) هر دو نوع زایمان را در سابقه خود داشتند. وضعیت تعداد بارداری و زایمان در این مبتلایان و فراوانی گونه‌های مختلف کاندیدا در آنها در جدول ۳ آمده است.

جدول ۳- فراوانی گونه‌های مختلف کاندیدا در رابطه با تعداد زایمان در زنان مبتلا به VVC دانشگاه علوم پزشکی مشهد (مرکز بهداشت شماره ۵)

تعداد زایمان / گونه کاندیدا	بدون زایمان	۴-۱ زایمان	مجموع
آلبیکنس	۱۳	۷۱	۸۴
گلابراتا	۰	۱۰	۱۰
سایر گونه ها	۱	۱۳	۱۴
جمع	۱۴	۹۴	۱۰۸

از لحاظ همراهی VVC با سایر بیماری‌ها، ۱ نفر دچار هیپوتیروئیدی، ۱ نفر سابقه پیوند کلیه و ۱ نفر سابقه هیسترکتومی داشتند. گونه‌های کاندیدای جدا شده از بیماران فوق شامل کاندیدا آلبیکنس (در فرد هایپوتیروئیدی)، کاندیدا گلابراتا (در فرد با پیوند کلیه) و هر دو گونه آلبیکنس / گلابراتا (در فرد هیسترکتومی شده) بودند.

از بین مبتلایان به VVC، ۶ نفر (۵/۶٪) باردار بودند که عفونت همه آنها از نوع حاد (غیر تکرار شونده) بود،

در صورتی‌که ۱۰۲ نفر (۹۴/۴٪) غیر باردار بودند و ۹۷ نفر (۹۵٪) از آنها دارای عفونت حاد بودند.

بحث

در این مطالعه، ۱۰۸ کلنی کاندیدایی به‌دست آمده از ۱۸۹ بیمار مشکوک به VVC توسط روش مولکولی PCR-RFLP تعیین گونه شدند و در ضمن شیوع VVC ۵۷/۱٪ برآورد شد. این شیوع بالا می‌تواند به‌دلیل فقر بهداشتی و فرهنگی مراجعه‌کنندگان در منطقه مورد مطالعه (بلوار حر مشهد: مرکز بهداشت شماره ۵) باشد؛ چراکه تعلل 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، ۳۰/۵ سال بود که از این لحاظ با بسیاری از دیگر مطالعات دارای نتایج مشابهی می‌باشد (۱۶-۱۲). از دلایلی که می‌تواند در ابتلای بیشتر این سنین تأثیرگذار باشد، می‌توان به بالاتر بودن موارد بارداری، تغییرات فیزیولوژیک و هورمونی، روش‌های جلوگیری از بارداری و حتی فعالیت‌های بیشتر جنسی اشاره کرد. از طرفی در مطالعه حاضر در ۹۲/۶٪ از مبتلایان به VVC، فقط یک نوع کاندیدا و در ۷/۴٪ موارد دو نوع عامل کاندیدایی در هر نمونه وجود داشت و شناسایی گردید. در همین زمینه، در مطالعه محمودی‌راد و همکاران (۲۰۱۰) که بر روی کاندیداهای به‌دست آمده از نمونه‌های واژینال انجام شد، ۱۰/۳٪ از مبتلایان، دارای بیش از یک نوع عامل کاندیدایی بودند که از این لحاظ با نتایج مطالعه حاضر تقریباً مطابقت داشت (۱۲). در صورتی‌که در دیگر مطالعات از جمله مطالعه فان و همکاران (۲۰۰۸) و ریچر و همکاران (۲۰۰۵)، به ترتیب در ۰/۰۲٪ و ۴/۸٪ موارد، بیش از یک گونه کاندیدایی در هر نمونه مشاهده شد (۱، ۱۷). این مسئله می‌تواند از طرفی به‌دلیل ایجاد مقاومت‌های کاندیدایی به‌علت استفاده نامتعارف از برخی داروهای ضد قارچی و در نتیجه عدم تأثیر این داروها در میزبان باشد. از طرفی دیگر می‌تواند به‌دلیل اضافه شدن آلودگی‌های ثانویه کاندیدایی در موارد تأخیر در درمان عفونت‌های اولیه کاندیدایی باشد.

در این مطالعه، بیشترین عامل VVC را کاندیدا آلبیکنس (۷۷/۸٪) و در رده دوم کاندیدا گلابراتا (۹/۳٪) به خود اختصاص دادند. در سایر مطالعات نیز کاندیدا آلبیکنس با شیوع ۹۱-۴۳٪ در رتبه اول و کاندیدا گلابراتا با شیوع ۳۴/۵-۴/۹٪ در رده دوم گزارش شدند (۱۲، ۱۸، ۲۲، ۳۱، ۳۲). گریگوری و همکاران (۲۰۰۶) علت شیوع بیشتر کاندیدا آلبیکنس را این طور تفسیر نمودند که اولین قدم در تثبیت یک عفونت قارچی، چسبیدن قارچ به موکوس واژن است که این اتصال در کاندیدا آلبیکنس بهتر از سایر گونه‌های غیرآلبیکنس اتفاق می‌افتد (۳۳). در عین حال، درمان عفونت‌های واژینیت در تغییر نوع کاندیداها می‌تواند تأثیرگذار باشد.

در این مطالعه از نظر تعداد بارداری، ۸۷٪ مبتلایان بین ۴-۱ بارداری را تجربه کرده بودند و فقط ۱۳٪ بدون سابقه زایمان و بارداری گزارش شدند. این مسئله می‌تواند حاکی از این باشد که وجود سابقه زایمان در یک فرد به‌ویژه زایمان‌های متعدد می‌تواند از زمینه‌های مؤثر در ابتلاء به VVC باشد. از طرفی، کاندیدا گلابراتا فقط در زنان با بیش از یک بار سابقه بارداری گزارش شد که ممکن است بیان‌گر بروز VVC با عامل غیر آلبیکنس خصوصاً کاندیدا گلابراتا در این گروه از افراد باشد، ولی در عین حال این مسئله نیازمند بررسی تعداد نمونه‌های بیشتر می‌باشد. از لحاظ ارتباط گونه‌های کاندیدا با تعداد موارد بارداری، در مبتلایان با سابقه دو بار بارداری، بیشترین درصد (۳۶٪) گونه‌های کاندیدا، مربوط به گونه آلبیکنس بود که اغلب آنها در رده سنی ۳۵-۲۶ بودند. در مورد ارتباط نوع زایمان و تعداد بارداری‌ها با ابتلاء به VVC مطالعات مشابهی یافت نشد.

در مطالعه حاضر، میزان مبتلایان به VVC نوع حاد و غیر عود کننده، ۹۵/۴٪ و نوع تکرار شونده (راجعه)، ۴/۶٪ بود. این در حالی است که در مطالعه محمودی‌راد و همکاران (۲۰۱۰) نوع تکرار شونده، ۴۷/۴٪ و در مطالعه ناظری و همکاران (۲۰۱۲) و کارسلو و همکاران (۲۰۰۳) کمتر از ۱۵٪ گزارش شد (۲۳، ۱۲، ۶). این اختلاف نتایج می‌تواند به‌دلیل متفاوت بودن عوامل کاندیدایی دخیل در این عفونت باشد؛ چراکه در مطالعه حاضر ۷۷/۸٪ از عوامل کاندیدایی مربوط به کاندیدا

آلبیکنس و فقط ۲۲/۲٪ گونه‌های غیر آلبیکنس بود. زیرا در مطالعات مختلف به این موضوع اشاره شده است که اغلب مقاومت‌های ایجاد شده نسبت به داروهای ضد قارچی به‌ویژه آزول‌ها در گونه‌های غیر آلبیکنس می‌باشد (۱۷، ۲۰، ۲۸، ۳۲). از طرفی، عواملی چون سطح بهداشت و فرهنگ جامعه مورد مطالعه و نیز مصرف خود سرانه داروها می‌تواند در بروز بیشتر موارد راجعه یا تکرار شونده مؤثر باشد. منتها با توجه به اینکه این موارد فقط از یک منطقه خاص و محدود در شهر مشهد نمونه‌گیری شده بود، به تأثیر این فاکتور خیلی نمی‌توان تأکید کرد. در مطالعه حاضر، در بین بیماران دارای عفونت حاد و عفونت تکرار شونده از نظر شیوع گونه‌های کاندیدا اختلاف معناداری مشاهده نشد.

برای شناسایی ایزوله‌های کاندیدایی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت‌های کاندیدایی می‌توان از ویژگی‌های مورفولوژیک، کشت، فیزیولوژیک و ژنومیک آنها استفاده کرد (۹، ۳۴). در دهه‌های اخیر استفاده از روش‌های مولکولی به‌دلیل داشتن سرعت و دقت بیشتر، در تشخیص‌های آزمایشگاهی کاربرد زیادی پیدا کرده‌اند (۲۷). در این مطالعه برای تشخیص گونه‌های کاندیدا از روش مولکولی PCR-RFLP استفاده شد که نسبت به دیگر روش‌های سنتی، روشی سریع و نسبتاً دقیق و در بین روش‌های مولکولی نیز ساده می‌باشد (۳۰، ۲۹). در مطالعه محمدی و همکاران (۲۰۱۳) و میرهندی و همکاران (۲۰۰۶) که برای شناسایی ایزوله‌های کاندیدایی، از تکنیک مولکولی PCR-RFLP استفاده کردند، انجام این روش را در جهت شناسایی اغلب گونه‌های شایع کاندیدا، مؤثر و کارآمد توصیه کردند (۳۰، ۳۵). استفاده از خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک که شامل وجود سلول‌های جوانه‌دار در کنار هم، ایجاد هایف کاذب و حقیقی، کلامیدوکونیدی، جذب و تخمیر قندها می‌باشد، برای شناسایی گونه‌های کاندیدا معمولاً وقت‌گیر بوده و نسبت به روش‌های مولکولی از دقت پایین‌تری برخوردار است، ولی در عین حال در آزمایشگاه‌هایی که امکانات استفاده از روش‌های مولکولی مهیا نیست، می‌تواند کمک کننده باشد (۲۶-۲۴، ۹).

در مطالعه حاضر و با استفاده از روش مولکولی PCR-RFLP در منطقه ITS از rDNA، کاندیدا آلبیکنس شایع‌ترین عامل VVC بود و اغلب مبتلایان دارای فرم غیر عود کننده بودند. در بین گونه‌های غیر آلبیکنس نیز کاندیدا گلابراتا بالاترین فراوانی را نشان داد. لذا شناسایی دقیق عوامل کاندیدایی در این عفونت‌ها می‌تواند درمان‌های مؤثرتری را برای بیمار به دنبال داشته باشد. در ضمن، میزان کمی (۶٪) از مبتلایان باردار بودند که البته با توجه به شرایط این بیماران در خصوص عدم توصیه و مجوز برای نمونه‌گیری در سه ماهه سوم بارداری، میزان پایین این گروه از مبتلایان قابل پیش‌بینی بود. VVC بیشتر در افرادی که در سنین فعال باروری بوده و زایمان‌های مکرر و طبیعی داشتند مشاهده شد. آنالیز PCR-RFLP یک ابزار سریع و قابل اطمینان بود که باعث شناسایی کاندیداها در سطح گونه در این طرح گردید. این مطالعه برای اولین بار برای شناسایی گونه‌های عامل کاندیدیازیس واژینال به روش ملکولی در مشهد انجام شده است. محدودیت‌های مطالعه به علت عدم همکاری بسیاری از بیماران و نیز آلوده شدن محیط‌های کشت به باکتری‌ها و قارچ‌های ساپروفیت موجود در نمونه و عدم امکان جداسازی تعدادی از کلنی‌ها بود. چنانچه در مطالعات آینده از حجم جمعیت بزرگ‌تری که بتواند تمام مناطق مشهد را پوشش دهد استفاده شود، مطالعه توان بالاتری خواهد داشت.

نتیجه‌گیری

کاندیدا آلبیکنس شایع‌ترین عامل ولوواژینیت کاندیدایی می‌باشد و کاندیدا گلابراتا نیز بیشترین فراوانی را در بین گونه‌های غیر آلبیکنس داراست. اغلب مبتلایان دارای فرم غیر عود کننده بودند. بیشتر مبتلایان به VVC در سنین فعال باروری بوده و زایمان‌های مکرر داشتند.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد و طرح مصوب شماره ۹۳۱۱۹۴ شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد می‌باشد. بدین‌وسیله از معاونت محترم

پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد به‌خاطر تأمین هزینه مالی این طرح و همچنین از همکاری سرکار خانم فاطمه مقدس یادگار، کارشناس مامایی و نیز از پرسنل محترم آزمایشگاه بیمارستان قائم (عج) که در انجام آزمایش‌ها با این طرح همکاری کردند، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. 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(5):2155-62.
2. Sobel JD, Faro S, Force RW, Foxman B, Ledger WJ, Nyirjesy PR, et al. Vulvovaginal candidiasis: epidemiologic, diagnostic, and therapy considerations. Am J Obstet Gynecol 1998; 178(2):203–11.
3. 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.
4. Barnhart K. Safety and efficacy of bedtime versus day-time administration of the miconazole nitrate 1200 mg. vaginal ovule insert to treat vulvovaginal candidiasis. Curr Med Res Opin 2005; 21(1):127-34.
5. Lynch ME, Sobel JD. Comparative in vitro activity of antimycotic agents against pathogenic vaginal yeast isolates. J Med Vet Mycol 1994; 32(4):267–74.
6. 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.
7. Bauters TG, Dhont MA, Temmerman MI, Nelis HJ. Prevalence of vulvovaginal candidiasis and susceptibility to fluconzole in women. Am J Obstet Gynecol 2002; 187(3):569–74.
8. Kwok YK, Tay YK, Goh CL, Kamarudin A, Koh MT, Seow CS. Epidemiology and in vitro activity of antimycotics against candidal vaginal/skin/nail infections in Singapore. Int J Dermatol 1998; 37(2):145–9.
9. Diba K, Namaki A, Ayatolahi 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.
10. Tietz HJ, Kussner A, Thanos M, De Andrade MP, Presber W, Schonian G. Phenotypic and genotypic characterization of unusual vaginal isolates of Candida albicans from Africa. J Clin Microbiol 1995; 33(9):2462-5.
11. Mirhendi SH, Adin H, Shidfar MR, Kordbacheh P, Hashemi SJ, Moazeni M, et al. Identification of Pathogenic Candida Species: PCR-Fragment Size Polymorphism (PCR-FSP) Method. Tehran Univ Med J 2008; 66(9):639-45. (Persian).
12. Zafarghandi AS, Shivaei M, Abbasabadi B, Zabihi A, Amiri Z. Antifungal susceptibility testing of vaginal candida isolates: the broth microdilution method. Tehran Univ Med Sci 2010; 67(11):793-8. (Persian).
13. Aghamirian MR, Keshavarz D, Jahani HH, Sadeghi GM. Agents associated with candida vulvovaginitis in women referred to health centers in Qazvin. J Qazvin Univ Med Sci 2007; 11(3):35-9. (Persian).
14. Jamilian M, Mashadi E, Sarmadi F, Banijamali M, Farhadi E, Ghanatpishe E. Frequancy 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.
15. Sohrabi H, Sarookhani MR, Ezani A. Identification of Candida species associated with vulvovaginal candidiasis by comparison of an innovative molecular method with culture in 2013. Arak Med Univ J 2013; 16(77):48-56.
16. Panahi F, Kordbacheh P, Rezaie S, Zeini F, Zeraati H, Safara M. Determination of candida species in acute and recurrent candida vulvovaginitis. J Microbiol Knowl 2009; 1(3):7-12. (Persian).
17. 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.
18. Sojakova M, Liptajova D, Borovsky M, Subik J. Fluconazole and itraconazole susceptibility of vaginal yeast isolates from Slovakia. Mycopathologia 2004; 157(2):163-9.
19. Kalkanci A, Berk E, Aykan B, Caglar K, Hizel K, Arman D, et al. Epidemiology and antifungal susceptibility of Candida species isolated from hospitalized patients. J Med Mycol 2007; 17(1):16-20.

20. Gualco L, Debbia EA, Bandettini R, Pescetto L, Cavallero A, Ossi MC, et al. Antifungal resistance in Candida spp. isolated in Italy between 2002 and 2005 from children and adults. Int J Antimicrob. Agents 2007; 29(2):179-84.
21. De Padue RF, Guilhermetti E, Svidzinski TE. In vitro activity of antifungal agents on yeasts isolated from vaginal secretion. Acta Scientiarum 2003; 25(1):51-4.
22. Arzeni D, Del Poeta M, Simonetti O, Offidani AM, Lamura L, Balducci M, et al. Prevalence and antifungal susceptibility of vaginal yeasts in outpatients attending a gynecological center in Ancona, Italy. Eur J Epidemiol 1997; 13(4):447-50.
23. Nazeri M, Mesdaghinia E, Moraveji SA, Atabakhshiyan R, Soleymani F. Prevalence of vulvovaginal candidiasis and frequency of candida species in women. J Mazandaran Univ Med Sci 2012; 22(86):254-62. (Persian).
24. Muriel MA, Vizcaino MJ, Bilbao R, Herruzo R. Identification of yeast and sensitivity in vitro against different antifungal agents. Enferm Infecc Microbiol Clin 2000; 18(3):120-4.
25. Shopova E, Ioneva M. The identification of species of the genus Candida. Akush Ginekol (Sofiia) 1996; 35(1-2):36-7.
26. Lisiak M, Klyszejko C, Marcinkowski Z, Gwiezdzinski Z. Yeast species identification in vulvovaginal candidiasis: susceptibility to nystatin. Ginekol Pol 2000; 71(9):959-63.
27. Weissenbacher T, Witkin SS, Ledger WJ, Tolbert V, Gingelmaier A, Scholz C, et al. Relationship between clinical diagnosis of recurrent vulvovaginal candidiasis and detection of Candida species by culture and polymerase chain reaction. Arch Gynecol Obstet 2009; 279(2):125-9.
28. 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(5):2155-62.
29. Zarrinfar H, Kaboli S, Dolatabadi S, Mohammadi R. Rapid detection of Candida species in bronchoalveolar lavage fluid from patients with pulmonary symptoms. Braz J Microbiol 2016; 47(1):172-6.
30. 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.
31. Khorsand I, Ghanbari Nehzag MA, Zarrinfar H, Fata A, Naseri A, Badiee P, 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).
32. Fata A, Tavasoli F, Mousavi SH, Basharaolamin SA. The therapeutic effect of clotrimazole, nystatin, and povidone iodine in treatment of vaginal candidiasis. Med J Mashhad Univ Med Sci 2007; 49(94):373-8. (Persian).
33. 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 Gynecol Reprod Biol 2006; 126(1):121-5.
34. Hossein M, Mirhendi SH, Brandão J, Mirdashti R, Rosado L. Comparison of enzymatic method rapid yeast plus system with RFLP-PCR for identification of isolated yeast from vulvovaginal candidiasis. Iran J Basic Med Sci 2011; 14(5):443-50.
35. Mirhendi H, Makimura K, Khoramizadeh M, Yamaguchi H. A one-enzyme PCR-RFLP assay for identification of six medically important Candida species. Nihon Ishinkin Gakkai Zasshi 2006; 47(3):225-9.