

مقایسه اثر داروهای کتوکونازول، کلوتریمازول و فلوکونازول علیه ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس در

شرایط In vitro

حسین زرین فر*^۱، محمد حسین یادگاری^۲، صمد اطمینان^۳، فرزاد کتیرایی^۴

(۱) گروه قارچ شناسی و انگل شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

(۲) استادیار گروه قارچ شناسی پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

(۳) عضو هیات علمی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد

(۴) گروه قارچ شناسی، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۸۵/۷/۵

تاریخ پذیرش: ۸۶/۱/۵

چکیده:

مقدمه و هدف: ولوواژینیت کاندیدایی به عنوان یک بیماری مهم در زنان باردار، مبتلایان به دیابت، استفاده‌کنندگان از آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف و داروهای ضدبارداری بروز می‌کند و مقاومت نسبتاً بالایی به داروهای رایج از خود نشان می‌دهد. از طرفی واژینیت‌های عودکننده در بسیاری از بیماران پروسه درمانی را با شکست مواجه می‌سازد. هدف این مطالعه یافتن دارویی مناسب‌تر از بین داروهای کلوتریمازول، کتوکونازول و فلوکونازول با استفاده از تست تعیین حساسیت دارویی در شرایط آزمایشگاهی، قبل از درمان مجدد واژینیت‌های کاندیدایی عودکننده بوده است.

مواد و روش‌ها: به این منظور از ۱۰ ایزوله کاندیدا آلبیکنس به دست آمده از ۳۱ بیمار مشکوک به ولوواژینیت کاندیدایی استفاده شد و با بکار بردن محیط RPMI 1640 و میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای و انجام روش میکرو دایلووش براث مقادیر MIC₅₀، MIC₉₀ و MFC این داروها در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد و pH = ۷/۲ اندازه‌گیری شد.

نتایج: در این شرایط MIC₅₀، MIC₉₀ و MFC داروی کتوکونازول به ترتیب ۱-۰/۲۵، ۴-۱ و ۵۱۲-۶۴ میکروگرم در میلی‌لیتر، داروی فلوکونازول به ترتیب ۱-۰/۲۵ و ۴-۱ و ۱۰۲۴-۲۵۶ میکروگرم در میلی‌لیتر و داروی کلوتریمازول به ترتیب ۱-۰/۱۲۵، ۸-۱ و ۵۱۲-۱۲۸ میکروگرم در میلی‌لیتر بوده است.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاضر داروی کلوتریمازول نسبت به دو داروی دیگر اثر بهتری را بر روی کاندیدا آلبیکنس داشته است.

واژه‌های کلیدی: کاندیدا آلبیکنس، کلوتریمازول، کتوکونازول، فلوکونازول، ولوواژینیت

مقدمه

عفونتهای قارچی واژن در ۸۵-۹۵ درصد موارد در اثر کاندیدا آلبیکنس بوجود می آیند. کاندیدا آلبیکنس را می توان از واژن ۲۰ درصد زنان بدون علامت جدا کرد (۲، ۱). عواملی که با کاندیدیاز ارتباط دارند شامل تجویز آنتی بیوتیک های سیستمیک، حاملگی، دیابت قندی و مصرف مواد سرکوب کننده ایمنی هستند. واژینیت عودکننده (RCCV)^۱ در تعدادی از زنان که قبلا تحت درمان قرار گرفته اند دیده می شود به همین منظور اندازه گیری فعالیت ضد قارچی داروها در آزمایشگاه با استفاده از تست های حساسیت می تواند برای درمان ایده آل بیماران مبتلا به عفونت های مزمن و نیز سیستمیک ضروری باشد. برآورد شده که ۷۵ درصد از زنان حداقل یک بار در طول عمر خود دچار ولوواژینیت کاندیدیایی می شوند (۳، ۴) و ۵ درصد از زنان مبتلا به شکل مزمن یا عودکننده واژینیت می شوند. مشخص گردیده که گونه های غیر آلبیکنس عامل واژینیت مزمن و عودکننده رو به افزایش است، که علت آن را استفاده وسیع الطیف و طولانی مدت داروهای ضد قارچی و آزول ها می دانند (۵). عوامل بسیار متعددی نظیر میزان قارچ کشت داده شده (میزان تلقیح)، نوع محیط کشت، درجه حرارت و مدت زمان انکوباسیون بر روی نتایج تست تعیین حساسیت دارویی موثر می باشد لذا برای به دست آوردن شرایط استاندارد و نتایج مناسب بایستی همه شرایط یکسان باشند (۶). در این تحقیق نیز سعی شد بیشتر از شرایطی که توسط NCCLS (کمیته ملی استاندارد آزمایشگاه های بالینی) جهت انجام تست پیشنهاد شده استفاده شود.

مواد و روش ها

نمونه گیری: در این تحقیق از ۳۱ بیمار مشکوک به واژینیت که ۳ تا ۴ بار در سال به خاطر این بیماری مراجعه کرده بودند نمونه برداری با سواب استریل انجام شد که تعداد ۱۰ بیمار پس از انجام بررسی مستقیم میکروسکوپی و تهیه کشت تازه سابورد کستروز آگار و تولید لوله زایا در سرم اسب و

ایجاد کلامیدوسپور در محیط کشت کورن میل آگار حاوی ۰/۵ درصد توین ۸۰ و جذب قندهای گلوکز، گالاکتوز، لاکتوز، مالتوز، رافینوز، ساکارز و سلویوز با کمک دیسک های قندی (روش اگزانونوگرام)، بعنوان واژینیت کاندیدیایی با عامل کاندیدا آلبیکنس شناسایی شدند.

انجام تست حساسیت دارویی: برای انجام این تست مراحل زیر به دقت انجام شد:

الف) تهیه سوسپانسیون قارچی: سوسپانسیونی از هر یک از کشت های تازه (۴۸ ساعته) کاندیدا آلبیکنس توسط سرم فیزیولوژی استریل تهیه گردید و مخمرها پس از خوب بهم زدن لوله ها با استفاده از لام نتوبار در زیر میکروسکوپ شمارش گردید و غلظتی معادل 1×10^3 cfu/ml تنظیم گردید (۷) تا پس از اضافه کردن این غلظت به هر چاهک و رقیق شدن آن، تعداد مخمر مورد نظر (۵۰۰ مخمر در هر میلی لیتر برای هر چاهک) بدست آید.

ب) تهیه محیط کشت RPMI 1640: پودر محیط RPMI 1640 را در آب خوب حل کرده و مقدار ۲ گرم بی کربنات سدیم را نیز به ازای هر لیتر محیط نیز به آن اضافه کردیم. سپس محیط کشت را نیز از فیلتر ۰/۲ میکرون عبور دادیم و محیط RPMI 1640 در لوله های درپچ دار استریل داخل یخچال ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد و در هنگام استفاده از این محیط، یک میلی لیتر گلوتامین به ازای ۱۰۰ میلی لیتر محیط RPMI 1640 نیز به این محیط اضافه شد.

ج) تهیه محلول دارویی: برای تهیه استوک دارویی (بر اساس میزان حساسیت مخمرها به داروها) (۸) ۲۰۴۸ میکروگرم از پودر کتوکونازول و کلوتریمازول، ۴۰۹۶ میکروگرم از پودر فلوکونازول هر کدام بطور جداگانه در یک میلی لیتر حلال دی-متیل سولفوکساید (DMSO) تهیه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. قابل ذکر است برای حذف اثر کشندگی حلال دی-متیل سولفوکساید بر روی مخمرها این حلال را تا ۱/۳۲ رقیق کردیم. انجام مراحل آزمایش: در این تحقیق از روش میکرودايلوشن براث استفاده شد (۸) که با استفاده از

MIC₅₀ مقادیر ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میکروگرم در میلی لیتر به ترتیب برای ۵، ۲ و ۳ ایزوله بدست آمد. مقدار MIC₉₀ دارای مقادیر ۱، ۲ و ۴ میکروگرم در میلی لیتر برای ۴، ۳ و ۳ ایزوله بدست آمد. مقدار MFC ۶۴، ۲۵۶، ۵۱۲ و بیشتر از ۵۱۲ میکروگرم در میلی لیتر برای ۳، ۱، ۳ و ۳ ایزوله تعیین گردید (جدول شماره ۱).

اثر غلظت‌های مختلف داروی فلوکونازول در محدوده ۰/۵ - ۲۰۴۸ میکروگرم در میلی لیتر بر روی ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس بدین قرار است:

MIC₅₀ مقادیر ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میکروگرم در میلی لیتر به ترتیب ۳، ۶ و ۱ ایزوله بدست آمد. میزان MIC برای این دارو ۱، ۲ و ۴ میکروگرم در میلی لیتر برای ۱، ۷ و ۲ ایزوله به ترتیب بدست آمد. میزان MFC برای این دارو ۲۵۶، ۵۱۲، ۱۰۲۴ و بیشتر از ۱۰۲۴ میکروگرم در میلی لیتر به ترتیب برای ۱، ۱، ۷ و ۱ ایزوله بدست آمد (جدول شماره ۲).

اثر غلظت‌های مختلف داروی کلوتریمازول در محدوده ۰/۲۵ - ۵۱۲ میکروگرم در میلی لیتر بر روی ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس بدین قرار است:

مقدار MIC₅₀ به ترتیب در غلظت‌های کمتر از ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۲۵ و ۱ میکروگرم در میلی لیتر برای ۱، ۲، ۶ و ۱ ایزوله بدست آمد. مقدار MIC₉₀ در غلظت‌های ۱، ۲ و ۴ میکروگرم در میلی لیتر برای ۲، ۶ و ۲ ایزوله بدست آمد. مقدار MFC در غلظت‌های ۱۲۸، ۲۵۶ و ۵۱۲ میکروگرم در میلی لیتر برای ۱، ۸ و ۱ ایزوله بدست آمد (جدول شماره ۳).

بحث

از دلایل مهم ایجاد بیماری واژینیت کاندیدیایی عودکننده، حذف ناقص کاندیدا از واژن پس از درمان ضدقارچی است، هر چند ممکن است علائم بالینی و التهابات بیمار کم شود، اما ارگانیسم به تعداد کم در واژن می‌ماند و منجر به ناقل شدن بیمار می‌گردد (۹). هنگامی که شرایط هورمونی و فیزیولوژیک نرمال میزبان تغییر یابد، کلینزاسیون ارگانیسم افزایش پیدا کرده و باعث بروز علائم بالینی جدید در فرد می‌گردد (۱۰).

سرم‌فیزیولوژی استریل رقت‌های متوالی دو برابر از استوک داروهای فوق در حجم یک میلی لیتر در یک سری ۱۲ لوله‌ای برای دو داروی کتوکونازول و کلوتریمازول (بالاترین غلظت دارو ۱۰۲۴ میکروگرم در میلی لیتر و پایین‌ترین غلظت ۰/۵ میکروگرم در میلی لیتر) و ۱۳ لوله‌ای برای داروی فلوکونازول (بالاترین غلظت دارو ۲۰۴۸ میکروگرم در میلی لیتر و پایین‌ترین غلظت ۰/۵ میکروگرم در میلی لیتر) تهیه گردید. در این روش از pH ۷/۲ برای محیط کشت RPMI 1640 استفاده شد که از این محیط مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای اضافه شد. از طرفی سوسپانسیون مخمری را با توجه به تعداد 1×10^3 cfu/ml (برای هر چاهک) در یک لوله تهیه و با محاسبه مقدار لازم برای هر چاهک، به همراه ۱۰۰ میکرولیتر از رقت دارویی به میکروپلیت‌ها اضافه کردیم. از بیشترین غلظت دی-متیل سولفوکساید بدون حضور دارو نیز بعنوان کنترل (شاهد) استفاده شد.

میکروپلیت‌ها را به مدت ۴۸ ساعت بطور جداگانه در ۳۵ درجه سانتیگراد در داخل شیکر انکوباتور با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه نگهداری شدند. پس از انکوباسیون ۴۸ ساعته، ۱۰ میکرولیتر از هر یک از محتویات چاهک‌ها به پلیت‌های حاوی محیط سابوردکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل (SC) تلقیح و توسط لوپ پخش گردید و پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. بر اساس شمارش تعداد کلنی‌های رشد کرده از هر یک از رقت‌های دارویی نسبت به گروه کنترل، مقادیر حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد (MIC₅₀) و MIC₉₀ (و حداقل غلظت کشندگی قارچ (MFC) داروهای کتوکونازول، کلوتریمازول و فلوکونازول محاسبه گردید.

نتایج

در دمای ۳۵°C و pH=۷/۲ نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت‌های مختلف داروی کتوکونازول در محدوده ۰/۲۵ - ۵۱۲ میکروگرم در میلی لیتر بر روی ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس بدین قرار است:

کردند (۱۶) و ملاحظه می شود که اثر داروی کلوتریمازول واژینال بر روی ولوواژینیت کاندیدایی همانند این تحقیق بیشتر بوده است.

در بررسی MIC_{50} ، MIC_{90} و MFC ایزوله های استفاده شده در این تحقیق ملاحظه می شود که نتایج بدست آمده با نتایج سایر محققین، بخصوص در میزان دقیق حساسیت کاندیداها به داروها نسبتاً ناهمخوانی داشته، منتها در بین داروهای استفاده شده کلوتریمازول همانند برخی دیگر از تحقیقات انجام شده اثر مطلوب تری را داشته است. به نظر می رسد اختلافات موجود در نتایج بعضی محققین به واسطه محل ضایعه و مزمن بودن بیماری و درمانهای مکرر قبلی، تفاوت در سیستم ایمنی میزبانهای مختلف و روش انجام تست به روشهای مختلف و شرایط انجام تست باشد. در مجموع، نتایج بدست آمده مؤید این نکته است که در شرایط بکار رفته $pH = 7/2$ و دمای ۳۵ درجه سانتیگراد بر ایزوله های کاندیدا آلبیکنس جدا شده از واژینیت های عودکننده همانند شرایط پیشنهاد شده توسط NCCLS و دیگر محققین برای دیگر ایزوله های کاندیدا آلبیکنس دارای اثر بهتری می باشد و داروی کلوتریمازول می تواند اثر بهتری نسبت به داروهای کتوکونازول و فلوکونازول بر روی ایزوله های ولوواژینیت کاندیدایی داشته باشد. البته برای مشخص شدن میزان تطابق آن با شرایط بدن بایستی بررسی های بیشتری بر روی بیماران درمان شده با این داروها انجام شود.

Odds در سال ۱۹۹۳ میلادی مشاهده کرد که ایزوله های کاندیدا آلبیکنس در دمای ۲۵ درجه نسبت به ۳۷ درجه حساسیت کمتری را به داروی فلوستیزین نشان می دهند (۱۱). Hacek و همکاران در سال ۱۹۹۵ میلادی در بررسی دو دمای ۳۰ و ۳۵ درجه بر روی حساسیت مخمرهای مختلف نسبت به کتوکونازول، فلوکونازول، فلوستیزین و آمفوتریسین B نشان دادند که در دمای ۳۰ درجه مخمرها مقاومت بیشتری از خود نشان می دهند (۱۲). Cook و همکاران نیز در سال ۱۹۹۰ میلادی پس از بررسی عوامل مختلف از جمله دمای انکوباسیون بر روی تستهای میکرو و ماکرودیلوشن انجام شده بر روی مخمرها مشاهده کردند که دمای انکوباسیون ۳۵ درجه نسبت به ۳۷ درجه و ۳۰ درجه بهتر است (۱۳) که به همین جهت در این تحقیق از دمای ۳۵ درجه سانتیگراد (از بین دماهای بالاتر از دمای آزمایشگاه) استفاده شد که در این دما نیز نسبت به دمای آزمایشگاه (۲۷ درجه) نتایج مطلوب تری به دست می آید.

رحیم زاده و رحیمی در سال ۱۳۸۴ در بررسی میزان حساسیت دارویی مبتلایان به واژینیت کاندیدایی مشاهده کردند که پاسخ به کلوتریمازول موضعی ۸۴/۶ درصد، کتوکونازول خوراکی (۲۰۰ میلی گرم دو بار در روز) ۶۹/۲ درصد و فلوکونازول تک دوز خوراکی (۱۵۰ میلی گرم) ۴۶/۷ درصد بوده است (۱۴).

Sobel و همکاران در سال ۲۰۰۳ میلادی مشاهده کردند که در زنان مبتلا به واژینیت کاندیدایی پیچیده MIC داروی فلوکونازول به روش میکرو دیلوشن در ۹۶ درصد موارد کمتر از ۸ $\mu g/ml$ و در ۳/۶ درصد موارد بیشتر از ۶۴ $\mu g/ml$ بوده است (۱۵).

شهبازیان و همکاران در سال ۱۳۸۵ در دانشگاه علوم پزشکی اهواز با بررسی ۱۹۲ بیمار مبتلا به ولوواژینیت کاندیدایی و حساسیت آنها نسبت به درمان فلوکونازول خوراکی و کلوتریمازول واژینال، پاسخ ۹۷ درصدی به کلوتریمازول و پاسخ ۸۶ درصدی به فلوکونازول را پس از ۱ تا ۳ روز مشاهده

جدول ۱: اثر داروی کتوکونازول در pH ۷/۲ و دمای ۳۵ درجه سانتیگراد بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر

ایزوله‌ها	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MFC
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۱	۱	۴	۵۱۲
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۲	۰/۵	۲	>۵۱۲
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۳	۰/۲۵	۲	۶۴
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۴	۱	۴	>۵۱۲
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۵	۱	۴	>۵۱۲
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۶	۰/۵	۲	۵۱۲
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۷	۰/۲۵	۱	۵۱۲
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۸	۰/۲۵	۱	۲۵۶
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۹	۰/۲۵	۱	۶۴
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۱۰	۰/۲۵	۱	۶۴

جدول ۲: اثر داروی فلوکونازول در pH ۷/۲ و دمای ۳۵ درجه سانتیگراد بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر

ایزوله‌ها	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MFC
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۱	۰/۵	۲	۱۰۲۴
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۲	۰/۵	۲	۱۰۲۴
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۳	۰/۵	۴	۱۰۲۴
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۴	۰/۲۵	۲	۱۰۲۴
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۵	۰/۵	۲	۱۰۲۴
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۶	۰/۵	۲	۱۰۲۴
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۷	۰/۲۵	۱	۵۱۲
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۸	۰/۲۵	۲	۱۰۲۴
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۹	۱	۴	>۱۰۲۴
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۱۰	۰/۵	۲	۲۵۶

جدول ۳: اثر داروی کلوتریمازول در pH ۷/۲ و دمای ۳۵ درجه سانتیگراد بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر

ایزوله‌ها	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MFC
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۱	۰/۵	۲	۲۵۶
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۲	۰/۵	۲	۲۵۶
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۳	۰/۵	۲	۲۵۶
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۴	< ۰/۲۵	۱	۲۵۶
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۵	۰/۵	۲	۵۱۲
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۶	۰/۵	۲	۲۵۶
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۷	۰/۲۵	۱	۲۵۶
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۸	< ۰/۲۵	۲	۲۵۶
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۹	۰/۵	۴	۱۲۸
کاندیدا آلبیکنس بیمار شماره ۱۰	۱	۴	۲۵۶

References:

1. Nyiryesy P.S, Seeney M.H , Terry G , Card J , Helen R. Chronic fungal vaginitis: The value of cultures. *Am. J. obstet.gynecol.* 1995, 173: 820-823.
2. Kinghorn. G.R. Vulvovaginal candidosis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 1991. 928 supp. A 59-66.
3. McCormack, W. M., Jr. S. H. Zinner , W. M. McCormack. The incidence of genitourinary infections in a cohort of healthy women. *Sex. Transm. Dis.* 1994, 21:63-64.
4. Jonathan S Berek. Novak's Gynecology, 12th ed, Baltimor, Williams & Wilkins, 1996, PP 432-4.
5. Saporiti AM, Gomez D, Levalle S , Galeano M , Vivit W , Rodero L. Vaginal Candidiasis: etiology and sensitivity profile to antifungal agent in clinical use. *Rev Argent Microbiol.* 2001; 33(4): 217-222.
۶. زینی، فریده ؛ مهبد، امیر سید علی ؛ امامی مسعود. قارچ شناسی پزشکی جامع. تهران، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۸۳.
7. Michelle A. Tornatore., Gary A. noskin. Effects of incubation time and buffer concentration on in vitro Activities of Antifungle Agents Against candida Albicans. *J. clin. Mic.*1997, 35: 1473-1476.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast. Approved standard M27-A. Wayne, Pa: *National Committee for Clinical Laboratory Standards.* 1997.
9. Sandra S. Richter, Rudolph P. Galask, Shawn A. Messer, Richard J. Hollis et al. Antifungal Susceptibilities of Candida Species Causing Vulvovaginitis and Epidemiology of Recurrent Cases. *J Clin Micr.* May 2005, p 2155-2162, Vol 43, No 5
10. Anassie, E., Mc Ginnis, M.R. Pfaller, M.A. *Clinical Mycology.* 2003.

11. Frank C. Odds. Effects of temperature on anti candida activities of antifungal antibiotics. *Anti. Age. Che.* 1993, 37: 685-691.
12. Donna M. Hacek, Gary A. Boskin. Initial use of a broth microdilution method suitable for in vitro testing of fungal isolates in a clinical microbiology laboratory. *J. clin. Micr.* 1995, 33: 1884-1889.
13. Cook, R.A., K.A. McIntyre. Effects of incubation temperature, inoculum size, and medium on agreement of macro and microdilution broth susceptibility test results for yeasts. *Ant. Age. Che.* 1990, 34: 1542-1545.
۱۴. رحیم زاده آ؛ رحیمی ع. مقایسه اثر درمان سیستمیک و موضعی واژینیت کاندیدیایی. مجله پزشکی هرمزگان، سال نهم، شماره دوم، تابستان ۱۳۸۴، ۱۴۸-۱۴۳.
15. J.D. Sobel , M. Zerros. Fluconazole susceptibility of vaginal isolates obtained from women with complicated candida vaginitis: clinical implications. *Anti. Agen. Chem.* 2003, 47: 34-38.
۱۶. شهبازیان، ن؛ نجفیان م؛ رجب زاده ع. مقایسه اثر درمانی کلوتریمازول با فلوکونازول در ولوواژینیت کاندیدیایی. مجله علمی پزشکی (علوم پزشکی اهواز)، دوره ۵، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۵، ۵۲۲-۵۱۹.