

ANTIFUNGAL RESISTANCE OF *CANDIDA* SP. CAUSING VAGINITIS DURING PREGNANCY

Quoc Ky Duyen

Nguyen Tat Thanh University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 13/8/2024	Vulvovaginal Candidiasis is a common endogenous fungal infection, ranking second among the causes of vaginitis in women of reproductive age. The infection rate is particularly higher during pregnancy, with 30% of cases compared to 20% in non-pregnant women. This study aimed to determine the antifungal resistance rates of <i>Candida</i> species causing vaginitis during pregnancy. To achieve study goal, we analyzed 88 clinical specimens that tested positive for <i>Candida</i> species from the vaginal discharge of pregnant women diagnosed with vaginitis. The samples were cultured and isolated on sabouraud chloramphenicol agar, then identified using chrome agar Candida, combined with real-time PCR techniques to determine the infection rate of <i>Candida albicans</i> . Results showed that among the 88 clinical specimens, <i>Candida albicans</i> accounted for 53.41% (n = 47), non-albicans <i>Candida</i> species included <i>Candida glabrata</i> (37.5%; n = 33), <i>Candida tropicalis</i> (2.17%; n = 2), <i>Candida krusei</i> (1.14%; n = 1), and other <i>Candida</i> species (5.68%; n = 5). The antifungal resistance of <i>Candida</i> species was assessed using the disc diffusion method, revealing resistance rates of 92.05% for fluconazole, 86.36% for itraconazole, 39.77% for miconazole, 25% for clotrimazole, and 100% sensitivity to nystatin.
Revised: 17/11/2024	
Published: 18/11/2024	
KEYWORDS	
Vaginitis	
<i>Candida</i> sp.	
Pregnant women	
Antifungal drugs	
<i>Candida albicans</i>	

TÌNH HÌNH KHÁNG THUỐC CỦA VI NẤM *CANDIDA* SP. GÂY VIÊM ÂM ĐẠO TRONG THAI KỲ

Quốc Kỳ Duyên

Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 13/8/2024	Viêm âm đạo do nấm <i>Candida</i> sp. là một bệnh nhiễm nấm nội sinh phổ biến, đứng thứ hai trong các nguyên nhân gây viêm âm đạo ở phụ nữ trong độ tuổi sinh sản. Đặc biệt, trong thời kỳ mang thai, tỷ lệ nhiễm cao hơn (30%) so với không mang thai (20%). Mục tiêu của nghiên cứu là xác định tỷ lệ kháng thuốc của <i>Candida</i> sp. gây viêm âm đạo trong thai kỳ. Để thực hiện, chúng tôi đã khảo sát 88 mẫu bệnh phẩm dương tính với <i>Candida</i> sp. từ dịch âm đạo của các thai phụ bị viêm âm đạo. Các mẫu bệnh phẩm được cấy và phân lập trên môi trường sabouraud chloramphenicol agar, sau đó định danh bằng chrome agar Candida, kết hợp với kỹ thuật realtime PCR để xác định tỷ lệ <i>Candida albicans</i> . Kết quả cho thấy trong 88 mẫu bệnh phẩm, <i>Candida albicans</i> chiếm 53,41%, trong khi <i>Candida</i> non-albicans bao gồm <i>Candida glabrata</i> (37,5%), <i>Candida tropicalis</i> (2,17%), <i>Candida krusei</i> (1,14%) và các loài khác (5,68%). Khả năng kháng thuốc của <i>Candida</i> sp. được đánh giá bằng phương pháp khuếch tán đĩa kháng sinh, với tỷ lệ kháng lân lượt là fluconazole (92,05%), itraconazole (86,36%), miconazole (39,77%), clotrimazole (25%) và nystatin đặc biệt nhạy cảm 100%.
Ngày hoàn thiện: 17/11/2024	
Ngày đăng: 18/11/2024	
TỪ KHÓA	
Viêm âm đạo	
<i>Candida</i> sp.	
Phụ nữ mang thai	
Thuốc kháng nấm	
<i>Candida albicans</i>	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.10930>

Email: qkduyen@ntt.edu.vn

<http://jst.tnu.edu.vn>

302

Email: jst@tnu.edu.vn

1. Giới thiệu

Hệ vi sinh vật âm đạo đóng vai trò quan trọng đối với sức khỏe của người phụ nữ mang thai. Theo thống kê, khoảng 70 – 75% phụ nữ nhiễm nấm âm đạo ít nhất một lần trong đời và 5 – 8% trong số họ tái phát hàng năm [1]. Mang thai được liệt kê là nguyên nhân gây bệnh nấm âm đạo phức tạp. Những thay đổi sinh lý của thai kỳ là một trong các yếu tố nguy cơ gây viêm âm đạo, chẳng hạn như giảm khả năng miễn dịch, tăng nồng độ estrogen và tăng sản xuất glycogen. Trong thời kỳ mang thai, tỷ lệ nhiễm *Candida* sp. cao hơn (30%) so với phụ nữ khi không mang thai (20%) [2]. Trong phân tích hồi cứu từ năm 2000 đến năm 2019 tại Ý, có 78,2% trường hợp viêm âm đạo là do *Candida albicans*, còn lại là *Candida non-albicans* (21,8%) [3]. Mặc dù chiếm tỷ lệ tương đối ít, nhưng *Candida non-albicans* lại cho thấy mức độ kháng thuốc kháng nấm cao hơn. Cụ thể, tỷ lệ nhạy cảm của *Candida albicans* đối với các thuốc flucytosine, amphotericin B, fluconazole và itraconazole lần lượt là 94,3%, 92,9%, 100% và 90%; trong khi tỷ lệ này ở các loài *Candida non-albicans* chỉ đạt 93,5%, 80,6%, 77,4% và 29% [4]. Tình trạng kháng thuốc trong điều trị viêm âm đạo do nấm đang gia tăng và trở thành mối quan ngại lớn đối với các nhà lâm sàng. Sự gia tăng này không chỉ dẫn đến tỷ lệ tái nhiễm cao mà còn gây ra những bất tiện trong sinh hoạt hàng ngày và tăng nguy cơ biến chứng trong thai kỳ [5], [6].

Tại Việt Nam, đã có một số nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá sự nhạy cảm của *Candida* sp. gây viêm âm đạo với các loại thuốc kháng nấm. Theo nghiên cứu của Ngô Thị Minh Châu và Tôn Nữ Phương Anh (2015), flucytosine và itraconazole có tỷ lệ kháng cao nhất (18,52%; n = 54); trong khi đó, nystatin là thuốc nhạy cảm nhất (100%, n = 54) [7]. Nghiên cứu của Đỗ Ngọc Anh và cộng sự (2021) trên 69 chủng nấm *Candida albicans* cũng ghi nhận tỷ lệ kháng thuốc cao nhất là flucytosine (30,43%); miconazole và miconazole là những thuốc nhạy cảm nhất (100%) [8]. Tuy nhiên, các nghiên cứu này chủ yếu tập trung vào đối tượng phụ nữ trong độ tuổi sinh sản, hiện rất ít nghiên cứu thực hiện trên phụ nữ mang thai. Hơn nữa, tại khu vực miền Nam, dữ liệu cập nhật về tình trạng kháng thuốc của *Candida* sp. còn hạn chế. Chính vì những lý do này, nghiên cứu về: “Tình hình kháng thuốc của vi nấm *Candida* sp. gây viêm âm đạo trong thai kỳ” được thực hiện nhằm cung cấp cơ sở khoa học cho việc điều trị viêm âm đạo do nấm, đặc biệt là ở phụ nữ mang thai, đạt hiệu quả tốt hơn.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Phụ nữ mang thai bao gồm cả ba giai đoạn tam cá nguyệt đến khám tại Bệnh viện Hùng Vương, đồng ý tham gia nghiên cứu và được thông qua Hội đồng Y đức.

2.2. Tiêu chuẩn chọn mẫu

- Có các triệu chứng nghi ngờ viêm âm đạo: Dịch âm đạo thay đổi màu sắc, có mùi hôi, ra nhiều; ngứa; đau khi giao hợp; rát buốt mỗi lần đi tiểu;...
- Có chỉ định xét nghiệm soi tươi huyết trắng.
- Mẫu phết âm đạo dương tính với *Candida* sp.

2.3. Tiêu chuẩn loại trừ

- Dùng thuốc kháng nấm toàn thân hoặc đặt thuốc kháng nấm trong vòng 2 tuần trước khi đến khám.
- Nhiễm HIV/AIDS, lậu, các bệnh suy giảm miễn dịch...
- Mẫu có lẫn nhiều máu.
- Mẫu bị ngoại nhiễm.

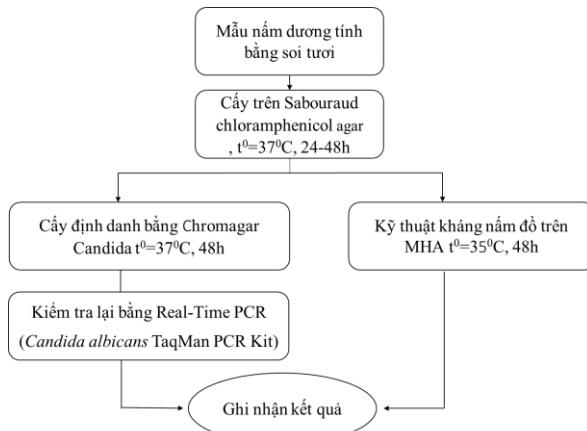
2.4. Thời gian:

Từ tháng 4/2024 - 7/2024.

2.5. Thiết kế nghiên cứu:

Mô tả cắt ngang.

2.6. Quy trình thực hiện



Hình 1. Quy trình thực hiện nghiên cứu

Quy trình xét nghiệm được thực hiện theo sơ đồ hình 1, bệnh phẩm được soi tươi với NaCl 0,9% để xác định nhiễm *Candida* sp., các mẫu dương tính được nuôi cấy phân lập trên môi trường sabouraud chloramphenicol agar (ủ 37°C, 24 - 48 giờ). Sau đó thực hiện song song: (1) cấy chuyển sang môi trường chrome agar Candida để định danh, sau đó xác định lại bằng kỹ thuật realtime PCR với kit *Candida albicans* TaqMan PCR (hãng Norgen Biotek); (2) thực hiện kỹ thuật kháng nấm trên môi trường Mueller Hinton Agar (MHA) bằng phương pháp đĩa khuếch tán, sử dụng các đĩa giấy tầm các loại kháng sinh bao gồm: clotrimazole, nystatin, itraconazole, fluconazole và miconazole.

2.6.1. Định danh *Candida* sp.

Môi trường chrome agar Candida được sử dụng để định danh *Candida* sp. dựa trên khả năng sinh sắc tố đặc trưng của từng loài nấm. Sau khi cấy vào chrome agar Candida tiến hành ủ 37°C, sau 24 - 48 giờ, đọc kết quả dựa theo phân loại màu sắc của khum nấm ở bảng 1. Mỗi loài *Candida* tạo ra các khum nấm với màu sắc đặc thù, cho phép nhận diện và phân loại chính xác từng loài.

Bảng 1. Định danh *Candida* sp. dựa theo màu sắc khum nấm [9]

STT	Loài Candida	Màu sắc khum nấm trên thạch chrome agar Candida
1	<i>Candida albicans</i>	Xanh lá
2	<i>Candida glabrata</i>	Tím hoa cà - nâu
3	<i>Candida tropicalis</i>	Xanh kim loại
4	<i>Candida krusei</i>	Hồng, mờ
5	Các loài <i>Candida</i> khác	Trắng đến màu hoa cà

Sau khi thu được kết quả định danh ban đầu, để tăng cường độ tin cậy, chúng tôi tiến hành kiểm tra sự hiện diện của *Candida albicans* trong nhóm *Candida non-albicans* bằng kỹ thuật real time PCR, sử dụng bộ kit *Candida albicans* TaqMan PCR (hãng Norgen Biotek). Khuẩn lạc nuôi cấy trên sabouraud chloramphenicol agar được chọn lựa và chuyển trực tiếp vào ống phản ứng PCR. Kết quả từ real-time PCR sau đó được so sánh và đối chiếu với kết quả định danh ban đầu từ phương pháp nuôi cấy trên môi trường chrome agar Candida, nhằm đảm bảo độ chính xác tối đa.

2.6.2. Thử nghiệm kháng nấm đồ

Thử nghiệm tính nhạy cảm *Candida* sp. với các thuốc kháng nấm được thực hiện bằng phương pháp khuếch tán trên môi trường MHA. Đĩa kháng nấm clotrimazole (10 µg), nystatin (100 IU), itraconazole (10 µg), fluconazole (25 µg), miconazole (10 µg) được sử dụng. Kết quả

được đánh giá dựa trên bảng 2 để phân loại nhạy cảm, trung gian hoặc đề kháng theo hướng dẫn của Viện Tiêu chuẩn Xét nghiệm Lâm sàng (CLSI M44-S3) [10].

Bảng 0. Đường kính vùng kháng nấm theo milimét (mm)[10]

Thuốc kháng nấm	Nồng độ	Nhạy cảm (mm)	Trung gian (mm)	Đề kháng (mm)
Fluconazole (FLU)	25 µg	≥19	15-18	≤14
Nystatin (NY)	100 IU	≥15	10-14	≤10
Itraconazole (ITC)	10 µg	≥15	10-14	≤9
Miconazole (MCL)	10 µg	≥20	12-19	≤11
Clotrimazole (CLO)	10 µg	≥20	12-19	≤11

2.7. Phân tích thống kê

Các kết quả thu được được mã hóa và lưu trữ bằng phần mềm Excel 365.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả định danh *Candida* sp.

Từ tháng 4 đến tháng 7 năm 2024, nghiên cứu đã thu thập 88 mẫu bệnh phẩm dương tính với *Candida* sp. thông qua phương pháp soi tươi phết dịch âm đạo. Sau khi thu thập, các mẫu được nuôi cấy trên môi trường Sabouraud chloramphenicol agar và tiếp tục định danh trên môi trường Chrome agar Candida. Kết quả cho thấy tỷ lệ phát hiện *Candida* sp. đạt 100% khi so sánh với kỹ thuật soi tươi, với phân loại chi tiết từng loài được trình bày trong Bảng 3.

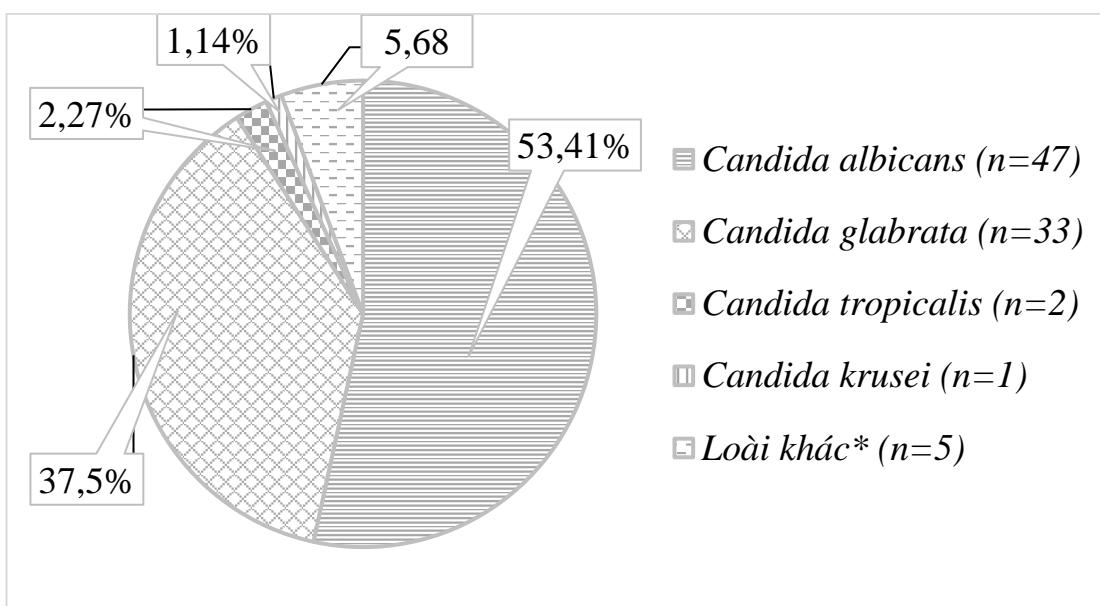
Bảng 3. Kết quả định danh *Candida* sp. bằng chrome agar Candida

	Tần số n = 88	Tỷ lệ (%)
<i>Candida albicans</i>	45	51,14
<i>Candida glabrata</i>	33	37,50
<i>Candida tropicalis</i>	3	3,40
<i>Candida krusei</i>	1	1,14
Các loài <i>Candida</i> khác	6	6,82

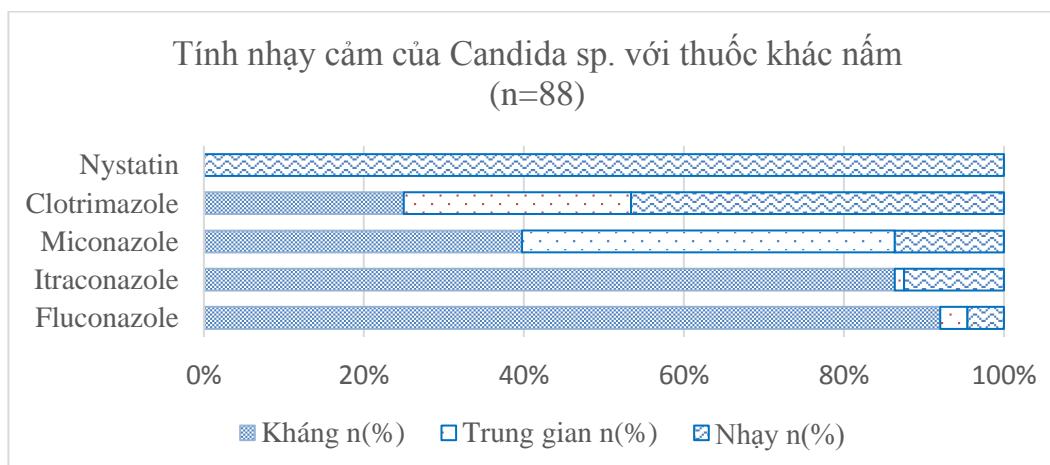
Theo số liệu ở bảng 3, tỷ lệ *Candida* sp. được định danh bằng môi trường chrome agar Candida tương ứng như sau: *Candida albicans* chiếm 51,14%, *Candida non-albicans* chiếm 48,86%. Khi sử dụng môi trường này để định danh *Candida albicans* được xác định có độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 99,4%, 100% [9]. Do *Candida albicans* là vi nấm có nhiều yếu tố độc lực, việc chẩn đoán chính xác có ý nghĩa quan trọng về mặt lâm sàng. Để nâng cao độ tin cậy, chúng tôi sử dụng thêm xét nghiệm realtime PCR nhằm xác định sự hiện diện của *Candida albicans* trong các mẫu thuộc nhóm *Candida non-albicans* đã được phân loại bằng môi trường chrome agar Candida. Kết quả cho thấy có 1 trong 3 mẫu *Candida tropicalis* và 1 trong 6 mẫu “các loài *Candida* khác” thực chất là *Candida albicans*. Hiện tượng này có thể do sự chủ quan khi quan sát màu sắc khum nấm trên đĩa thạch hoặc sự sinh sắc tố của khum nấm trên môi trường nuôi cấy bị úc chế.

Kết hợp dữ liệu của hai phương pháp định danh *Candida* sp. ở trên, kết quả được trình bày tại biểu đồ hình 2.

Tóm lại, theo số liệu tại biểu đồ hình 2, trong 88 mẫu bệnh phẩm được nuôi cấy và phân lập, *Candida albicans* chiếm đa số 53,41% và *Candida non-albicans* chiếm 46,59% (*Candida glabrata* - 37,50%, *Candida tropicalis* - 2,27%, *Candida krusei* - 1,14%, các loài *Candida* khác - 5,68%). Kết quả tương đồng với nghiên cứu của Bitew và Abebaw (*Candida albicans* chiếm 58,6% và *Candida non-albicans* chiếm 41,4%) và của Tsega và Mekonnen (*Candida albicans* chiếm 56,25% và *Candida non-albicans* chiếm 43,75%) [11], [12]. Như vậy, ở các vùng địa lý khác nhau, nguyên nhân chính gây viêm âm đạo phổ biến là *Candida albicans* với tỷ lệ cao. Còn trong phân nhóm *Candida non-albicans* thì *Candida glabrata* là loài chiếm ưu thế nhất (37,5%).

**Hình 2.** Kết quả định danh *Candida* sp. bằng hai phương pháp

3.2. Kết quả thử nghiệm kháng nấm đồ

**Hình 3.** Kết quả thử nghiệm kháng nấm đồ

Kết quả thử nghiệm kháng nấm đồ được trình bày ở biểu đồ hình 3, trong 88 mẫu thực hiện kháng nấm đồ, tỷ lệ kháng cao nhất là fluconazole (92,05%), tỷ lệ nhạy cao nhất là nystatin (100%). Trong khi hiện tượng kháng azole ngày càng gia tăng trong điều trị viêm âm đạo do *Candida* sp., điều này dường như không được quan sát thấy đối với nystatin. Ngoài ra, các nghiên cứu cho thấy việc sử dụng nystatin tại chỗ có hiệu quả cao hơn so với clotrimazole, itraconazole, fluconazole, miconazole hoặc terbinafine [13], [14]. Theo khuyến nghị của tác giả King và cộng sự, nystatin tại chỗ được coi là liệu pháp an toàn trong ba tháng đầu của thai kỳ. Vì nystatin có sự hấp thu toàn thân không đáng kể, không có nguy cơ liên quan đến dị tật đã được đánh giá trong nhiều thử nghiệm [15]. Do đó, nystatin là một loại thuốc hiệu quả và an toàn trong điều trị nhiễm nấm âm đạo trong thời kỳ mang thai.

Clotrimazole và miconazole cũng cho thấy hiệu quả điều trị tốt, với tỷ lệ kháng lần lượt là 25% và 39,77%.Thêm vào đó, nghiên cứu của Daniel và cộng sự (2018) kết luận rằng việc sử dụng clotrimazole và miconazole không có mối liên hệ đáng kể với nguy cơ sảy thai tự nhiên

(OR=1,34; 0,99 - 1,8) [16]. Do đó, clotrimazole và miconazole vẫn nên được cân nhắc sử dụng trong điều trị nhiễm nấm âm đạo ở phụ nữ mang thai.

Cuối cùng, itraconazole và fluconazole cho thấy hiệu quả kháng nấm kém nhất, với tỷ lệ kháng lần lượt là 86,36% và 92,06%. Khác với clotrimazole và miconazole, hai loại azole dạng đặt âm đạo, itraconazole và fluconazole là azole dạng uống thường được sử dụng trong điều trị nấm toàn thân, không đặc trị riêng cho viêm âm đạo do vi nấm. Hai loại kháng nấm này có khả năng xâm nhập và tích tụ ở nồng độ cao trong các mô và dịch sinh học khắp cơ thể, làm gia tăng nguy cơ tác động tiêu cực lên thai nhi khi được sử dụng bởi phụ nữ mang thai [17], [18]. Nghiên cứu của Liu và cộng sự (2020) cũng chỉ ra rằng việc sử dụng fluconazole đường uống trong thai kỳ có thể làm tăng nguy cơ dị tật tim bẩm sinh và khuyết tật chi của thai nhi; sử dụng itraconazole đường uống có thể tăng nguy cơ dị tật mắt [19]. Do đó, với tình trạng kháng itraconazole và fluconazole ngày càng gia tăng cùng với nguy cơ tác động tiêu cực đến thai nhi, việc sử dụng hai loại kháng nấm này trong điều trị viêm âm đạo do nấm *Candida* sp. ở phụ nữ mang thai cần được hạn chế và nên được tư vấn kỹ lưỡng bởi các bác sĩ chuyên khoa.

Bảng 4. Tỷ lệ đẻ kháng kháng nấm của *Candida albicans* và *Candida non-albicans* (n= 88)

	FLU (%)	ITC (%)	MCL (%)	CLO (%)	NY (%)
<i>Candida albicans</i> (n = 47)	100	95,74	27,66	2,13	0
<i>Candida non-albicans</i> (n = 41)	82,93	75,61	53,66	51,22	0

Dựa trên số liệu ở bảng 4 về tỷ lệ kháng thuốc của hai nhóm, đối với *Candida albicans*, fluconazole và itraconazole không cho thấy hiệu quả điều trị (tỷ lệ kháng lần lượt 100%, 95,74%), kết hợp với các hạn chế đã nêu ở trên, hai loại kháng nấm này không nên được sử dụng nếu bệnh nhân được chẩn đoán viêm âm đạo do nhiễm *Candida albicans* trong thời kỳ mang thai.

Ngoài ra, tỷ lệ kháng thuốc của nhóm *Candida non-albicans* khá cao, ngoại trừ nystatin, cả bốn loại kháng nấm còn lại đều có tỷ lệ kháng trên 50% (bảng 4). Điều này có thể là dấu hiệu cho thấy *Candida non-albicans* đang phát triển xu hướng kháng thuốc, đặc biệt là đối với các loại kháng nấm được sử dụng trong điều trị toàn thân.

Như vậy, với tỷ lệ nhiễm *Candida non-albicans* ở phụ nữ mang thai và khả năng kháng thuốc của nhóm này ngày càng tăng, việc điều trị viêm âm đạo do *Candida non-albicans* cần được xem xét kỹ lưỡng và bệnh nhân nên được tư vấn đầy đủ về các lựa chọn điều trị phù hợp.

4. Kết luận

Nghiên cứu trên 88 mẫu dịch âm đạo cho thấy *Candida albicans* chiếm 53,41%, còn *Candida non-albicans* chiếm 46,59% (*Candida glabrata* - 37,50%, *Candida tropicalis* - 2,27%, *Candida krusei* - 1,14%, loài khác - 5,68%). Tỷ lệ kháng thuốc của *Candida* sp.: fluconazole – 92,06%, itraconazole - 86,36%, miconazole – 39,77%, clotrimazole – 25% và nystatin – 0%.

Một số kiến nghị từ những kết quả đạt được:

- Ưu tiên sử dụng nystatin trong điều trị viêm âm đạo do *Candida* spp., không dùng fluconazole và itraconazole cho thai phụ.

- Cần thêm nghiên cứu về tình trạng kháng thuốc của *Candida non-albicans* trên mẫu lớn hơn để dự báo sớm cho lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] J. D. Sobel, “Vaginitis,” *N Engl J Med.*, vol. 337, no. 26, pp. 1896-1903, 1997, doi: 10.1056/NEJM199712253372607.
- [2] T. J. Aguin and J. D. Sobel, “Vulvovaginal candidiasis in pregnancy,” *Curr Infect Dis Rep.*, vol. 17, no. 6, 2015, doi: 10.1007/S11908-015-0462-0.
- [3] J. Intra, M. R. Sala, P. Brambilla, D. Carcione, and V. Leoni, “Prevalence and species distribution of microorganisms isolated among non-pregnant women

- affected by vulvovaginal candidiasis: A retrospective study over a 20 yearperiod," *J Mycol Med.*, vol. 32, no. 3, 2022, doi: 10.1016/J.MYCMED.2022.101278.
- [4] F. Mutua, G. Revathi, and J. M. Machoki, "Species distribution and antifungal sensitivity patterns of vaginal yeasts," *East Afr Med J.*, vol. 87, no. 4, pp. 156-62, 2010, doi: 10.4314/eamj.v87i4.62202.
- [5] A. Farr, H. Kiss, I. Holzer, P. Husslein, M. Hagmann, and L. Petricevic, "Effect of asymptomatic vaginal colonization with *Candida albicans* on pregnancy outcome," *Acta Obstet Gynecol Scand.*, vol. 94, no. 9, pp. 989-996, 2015.
- [6] Z. Dong, C. Fan, W. Hou *et al.*, "Vaginal Exposure to *Candida albicans* During Early Gestation Results in Adverse Pregnancy Outcomes via Inhibiting Placental Development," *Front Microbiol.*, vol. 12, 2022, doi: 10.3389/FMICB.2021.816161/FULL.
- [7] T. M. C. Ngo and N. P. A. Ton, "Identification and antifungal resistance of *Candida* sp. Isolated from patients with vulvovaginal candidoses in Hue university hospital," *Journal of Obstetrics and Gynecology*, vol. 13, pp. 44-47, 2016.
- [8] N. A. Do *et al.*, "Prevalence of vulvovaginal candidiasis and antifungal susceptibility testing of *Candida albicans* among women in childbearing age in Hanoi (2019 - 2020)," *Journal of Military Pharmacomedicine*, vol. 4, pp. 32-39, 2021.
- [9] M. Yücesoy and S. Marol, "Performance of Chrome agar *Candida* and BIGGY agar for identification of yeast species," *Ann Clin Microbiol Antimicrob.*, vol. 2, no. 1, pp. 1-7, 2003, doi: 10.1186/1476-0711-2-8/TABLES/3.
- [10] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), *Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts*, Approved Guideline, vol. 29, 2009.
- [11] A. Bitew and Y. Abebew, "Vulvovaginal candidiasis: species distribution of *Candida* and their antifungal susceptibility pattern," *BMC Womens Health*, vol. 18, no. 1, 2018, doi: 10.1186/S12905-018-0607-Z.
- [12] A. Tsega and F. Mekonnen, "Prevalence, risk factors and antifungal susceptibility pattern of *Candida* species among pregnant women at Debre80 Markos Referral Hospital, Northwest Ethiopia," *BMC Pregnancy Childbirth*, vol. 19, no. 1, 2019, doi: 10.1186/S12884-019-2494-1.
- [13] H. P. R. Martins, M. C. da Silva, L. C. F. Paiva, T. I. E. Svidzinski, and M. E. L. Consolaro, "Efficacy of fluconazole and nystatin in the treatment of vaginal *Candida* species," *Acta Derm Venereol*, vol. 92, no. 1, pp. 78-82, 2012, doi: 10.2340/00015555-1194.
- [14] J. Vráblik, J. Masata, A. Jedlicková, and M. Hájíčkova, "Prospective study the prevalence of different *Candida* strains and their sensitivity to different antimycotic treatment in women with vulvovaginal candidiasis," *Ceska Gynekol*, vol. 72, no. 1, pp. 27-32, 2007.
- [15] C. T. King, P. D. Rogers, J. D. Cleary, and S. W. Chapman, "Antifungal therapy during pregnancy," *Clin Infect Dis.*, vol. 27, no. 5, pp. 1151-1160, 1998, doi: 10.1086/514977.
- [16] S. Daniel, R. Rotem, G. Koren, E. Lunenfeld, and A. Levy, "Vaginal antimycotics and the risk for spontaneous abortions," *Am J Obstet Gynecol.*, vol. 218, no. 6, pp. 601.e1-601.e7, 2018, doi: 10.1016/J.AJOG.2018.02.013.
- [17] A. G. Prentice and A. Glasmacher, "Making sense of itraconazole pharmacokinetics," *J Antimicrob Chemother*, vol. 56, no. 1, 2005, doi: 10.1093/JAC/DKI220.
- [18] C. Charlier, E Hart, A. Lefort *et al.*, "Fluconazole for the management of invasive candidiasis: where do we stand after 15 years?" *J Antimicrob Chemother*, vol. 57, no. 3, pp. 384-410, 2006, doi: 10.1093/JAC/DKI473.
- [19] D. Liu, C. Zhang, L. Wu, L. Zhang, and L. Zhang, "Fetal outcomes after maternal exposure to oral antifungal agents during pregnancy: A systematic review and meta-analysis," *Int J Gynaecol Obstet*, vol. 148, no. 1, pp. 6-13, 2020, doi: 10.1002/IJGO.12993.