

شناسایی و تعیین فراوانی گونه های کاندیدا جدا شده از بیماران به روش کروم آگار کاندیدا

دکتر سیدحسین میرهندي*، دکتر کواچی ماکي مورا**، دکتر محمدرضا شیدفر*، لیلا حسین پور***

دریافت: ۸۴/۱۱/۱۶، پذیرش: ۸۵/۸/۱

چکیده:

مقدمه و هدف: گونه های قارچ مخمری جنس کاندیدا می توانند دامنه وسیعی از عفونت های فرصت طلب را در انسان و حیوان ایجاد نمایند. کاندیدا آلبیکنس گونه اصلی بیماری زا است ولی سایر گونه ها مثل کاندیدا گلابراتا، کاندیدا کروزه ای و کاندیدا تروپیکالیس نیز گاهی عوامل بیماری بوده و از بیماران جدا می شوند. شناسایی کاندیداها در سطح گونه برای درمان مؤثر بیماری و کنترل عفونت ضروری است. هدف این مطالعه ارزیابی محیط کشت جدید کروم آگار کاندیدا (CHROMagar Candida) جهت افتراق مخمرهای جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت کاندیدیایی بوده است.

روش کار: شانزده استرین مخمری استاندارد، از گونه های کاندیدا و غیر کاندیدا به عنوان رفرانس تشخیص صحیح گونه های مربوط به بیماران مورد استفاده قرار گرفت. تعداد ۲۸۰ ایزوله مخمری جدا شده از بیماران مراجعه کننده به دو آزمایشگاه قارچ شناسی در تهران نیز به عنوان جامعه مورد مطالعه بررسی گردید. کلیه مخمرها روی محیط « کروم آگار کاندیدا» به روش خطی کشت داده شده و به مدت ۴۸ ساعت در حرارت ۳۵°C نگهداری شد و آنگاه با توجه به رنگ اختصاصی ایجاد شده در محیط کشت اقدام به شناسایی گونه ها گردید. در مورد کلنی های فاقد رنگ اختصاصی برای تشخیص گونه ها از روش PCR-RFLP استفاده شد.

نتایج: بیشترین فراوانی مربوط به کاندیدا آلبیکنس (۶۶/۵٪)، و بعد از آن به ترتیب کاندیدا پاراپسیلوزیس (۸/۶٪)، کاندیدا تروپیکالیس (۸/۲٪)، کاندیدا گلابراتا (۶/۱٪)، کاندیدا کروزه ای (۴/۶٪)، کاندیدا کفیر (۲/۵٪)، کاندیدا گلییرموندی (۰/۷٪)، کاندیدا لوزیتانیا (۰/۳۵٪) و کریپتوکوکوس نئوفورمنس (۰/۳۵٪) بود.

نتیجه نهایی: محیط کشت کروموزنیک کروم آگار کاندیدا می تواند روشی ساده و سر راست برای شناسایی گونه های شایع کاندیدا شامل کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا کروزه ای، کاندیدا گلابراتا و کاندیدا تروپیکالیس باشد، اما همه ایزوله های بیماران را نمی توان با این روش باز شناخت و لذا روش های فنوتیپیک یا ژنوتیپیک دیگر برای افتراق آنها ضروری است.

شناسایی / کاندیدا / کروم آگار

مقدمه:

عفونت های سیستمیک خطرناک و حتی عفونت های منتشره کشنده، کشیده شده است. عوامل علیتی بیماری، قارچ های مخمری متعلق به جنس کاندیدا می باشند. اگرچه کاندیدا آلبیکنس (*Candida albicans*) شایع ترین عامل کاندیدیایی مسئول عفونت در اشکال

کاندیدایزیس نه یک بیماری، بلکه طیفی از بیماری ها است که به صورت فرصت طلب در افراد دچار زمینه، عفونت های مختلف و متنوعی را ایجاد می کند. گستره این بیماری ها از عفونت های سطحی و مخاطی ساده تا

* استادیار گروه انگل شناسی و قارچ شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران (mirhendi@tums.ac.ir)

** استاد انستیتو قارچ شناسی دانشگاه تکیو (Teikyo) ژاپن

*** کارشناس آزمایشگاه قارچ شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

روش کار:

این پژوهش به صورت یک مطالعه توصیفی مقطعی برای شناسایی عوامل علیتی عفونت‌های ناشی از مخمرها در بیماران، با استفاده از کشت روی محیط افتراقی کروم آگار کاندیدا انجام شده است.

نمونه‌ها: ۱۶ نمونه مخمر استاندارد تهیه شده از کلکسیون‌های بین‌المللی مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۱).

جدول ۱: استرین‌های مخمري استاندارد تهیه شده از کلکسیون‌های بین‌المللی، مورد استفاده در این مطالعه

ردیف	قارچ	منبع تهیه قارچ	شماره استرین
۱	کاندیدا آلبیکنس	ATCC*	۱۰۲۶۱، ۱۰۲۳۱، ۲۴۴۳۲
۲	کاندیدا گلابراتا	ATCC، CBS**	۹۰۰۳۰، ۱۳۸
۳	کاندیدا تروپیکالیس	ATCC، TIMM***	۰۷۵۰، ۳۱۳
۴	کاندیدا کروزه‌ای	ATCC، TIMM	۶۲۵۸، ۳۴۰۴
۵	کاندیدا پاراپسیلوزیس	ATCC	۹۰۰۱۸، ۲۲۰۱۹
۶	کاندیدا دابلینینسیس	CBS	۲۷۴۷
۷	کریپتوکوکوس نئوفورمنس	ATCC	۹۰۱۱۳
۸	ساکارومیسس سرویسیه	ATCC	۹۷۶۳، ۲۳۶۶
۹	ترایکوسپورون آساهی	TIMM	۳۱۴۰

* American Type Culture Collection

** Centraalbureau voor Schimmelcultures, Netherlands

*** Teikyo University Institute of Medical Mycology, Japan

همچنین تعداد ۲۸۰ ایزوله مخمري از بیماران مبتلا به عفونت‌های جلدی، مخاطی و عمیق که طی حدود یک سال به آزمایشگاه‌های قارچ‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران و یک آزمایشگاه خصوصی در تهران مراجعه کرده بودند، جدا گردید. نمونه‌های بالینی شامل پوسته، ترشحات مخاطی، ناخن، ادرار، خلط، نمونه‌های بافتی مختلف و غیره بود.

جداسازی مخمرها: نمونه‌های بالینی روی محیط سابورو دکستروز آگار (گلوکز ۴٪، پیتون ۱٪، آگار ۱/۵٪) کشت داده شد و پس از رشد کلنی‌های مخمري، با استفاده از لوپ استریل، برداشت شده و به لوله‌های اپندرف حاوی آب مقطر استریل منتقل و تا موقع لازم در فریزر ۲۰- نگهداری گردید.

کشت روی محیط کروم آگار کاندیدا: تمام مخمرها اعم از مخمرهای استاندارد شناسنامه‌دار و مخمرهای جدا شده از بیماران روی پلیتهای به قطر ۹ سانتیمتر حاوی ۲۰ cc محیط کروم آگار (CHROMagar company, Paris, France) به روش خطی کشت داده شد. پلیتهای در حرارت ۳۵ درجه

بالینی مختلف کاندیدیازیس بوده و هست، ولی گونه‌های دیگر متعلق به جنس کاندیدا از جمله کاندیدا تروپیکالیس (*C. tropicalis*)، کاندیدا گلابراتا (*C. glabrata*)، کاندیدا کروزه‌ای (*C. krusei*)، کاندیدا پاراپسیلوزیس (*C. parapsilosis*)، کاندیدا گیلیرموندی (*C. guilliermondii*) و غیره نیز کم و بیش از بیماران جدا می‌شوند. اهمیت گونه‌های غیر آلبیکنس در سال‌های اخیر به واسطه بروز مقاومت نسبی در بعضی از این گونه‌ها نظیر کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا گلابراتا نسبت به برخی از داروهای ضد قارچی زیادتر شده است (۳-۱). این موضوع باعث افزایش وفور نسبی این گونه‌ها می‌گردد، ضمن این که تعیین فراوانی گونه‌های مسئول عفونت‌ها از نقطه نظر اپیدمیولوژیک و کنترل عفونت‌ها به خصوص در عفونت‌های بیمارستانی ناشی از کاندیداها حائز اهمیت است.

رویکردهای متنوعی برای شناسایی کاندیدا آلبیکنس و سایر گونه‌های کاندیدا وجود دارد. رویکردهای قدیمی‌تر که البته هنوز هم معتبرند، بیشتر مبتنی بر ویژگی‌های فنوتیپیک نظیر مرفولوژی، بیوشیمی و فیزیولوژی مخمرها (الگوهای جذب و تخمیر قندها) و روش‌های جدیدتر بیشتر بر اساس خصوصیات ژنوتیپیک مثل اختلاف ترادف قطعات خاصی از DNA مربوط به هر مخمر می‌باشد (۴-۶). با این وجود هنوز هم روش‌های فنوتیپیک جدیدی در حال توسعه است.

از جمله محیط‌های کشت جدید برای افتراق کاندیداها شایع، محیط کشت کروموزنیک موسوم به کروم آگار کاندیدا است. این محیط که در سال ۱۹۹۴ معرفی گردید (۷)، حاوی پیتون (۱۰ گرم)، گلوکز (۲۰ گرم)، آگار (۱۵ گرم)، کلرآمفنیکل (۰/۵ گرم) و گروهی از مواد رنگ‌زا (Chromogenic mix) به میزان ۲ گرم در هر لیتر است. خصوصیت ویژه این محیط کشت این است که کلنی هر کدام از گونه‌های شایع کاندیدا پس از رشد روی این محیط، به رنگ خاصی است که با سایر گونه‌ها اشتباه نمی‌شود.

در مطالعه حاضر مخمرهای جدا شده از بیماران با محیط کشت مزبور مورد شناسایی قرار گرفته‌اند. همچنین گونه‌های مخمري استاندارد حائز اهمیت در پزشکی روی محیط کروم آگار کاندیدا کشت داده شده و رنگ آنها مورد مقایسه قرار گرفته است.

کمترین فراوانی را داشت. بر اساس اطلاعات نگارنده، جداسازی کاندیدا لوزیتانیا برای اولین بار در ایران گزارش می‌شود.

جدول ۲: تعداد و درصد مخمرهای جدا شده و شناسایی شده

روش شناسایی	تعداد درصد	گونه	
PCR-RFLP کروم آگار و	۶۶/۵	۱۸۵	کاندیدا آلبیکنس
PCR-RFLP	۸/۶	۲۴	کاندیدا پاراپسیلوزیس
PCR-RFLP کروم آگار و	۸/۲	۲۴	کاندیدا تروپیکالیس
PCR-RFLP کروم آگار و	۶/۱	۱۷	کاندیدا گلابراتا
PCR-RFLP کروم آگار و	۴/۶	۱۳	کاندیدا کروزه‌ای
PCR-RFLP	۲/۵	۷	کاندیدا کفیر
PCR-RFLP	۰/۷	۲	کاندیدا گیلیرموندی
PCR-RFLP	۰/۳۵	۱	کاندیدا لوزیتانیا
PCR-RFLP	۰/۳۵	۱	کریپتوکوکوس نئوفورمنس
-	-	۲۷۴	تعداد کل

برخی از نمونه‌ها حاوی بیش از یک مخمر بود که در جدول ۳ درج شده است.

جدول ۳: تعداد و درصد مخمرهای مخلوط جدا شده و شناسایی

تعداد درصد	گونه	
۰/۷	۲	کاندیدا آلبیکنس + کاندیدا تروپیکالیس
۰/۳۵	۱	کاندیدا آلبیکنس + کاندیدا کروزه‌ای
۰/۳۵	۱	کاندیدا آلبیکنس + کاندیدا گیلیرموندی
۰/۳۵	۱	کاندیدا آلبیکنس + کاندیدا گلابراتا
۰/۳۵	۱	کاندیدا کفیر + کاندیدا پاراپسیلوزیس
-	۶	تعداد کل

با توجه به این که محیط کروم آگار کاندیدا فقط برای شناسایی مخمرهای کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا کروزه‌ای و کاندیدا گلابراتا اعتبار کافی دارد، سایر مخمرها به روش PCR-RFLP شناسایی شد. نتایج قطعی حاصل از روش کروم آگار با نتایج حاصل از PCR، کاملاً هماهنگی داشت به طوری که همه جدایه‌هایی که با روش کروم آگار تشخیص داده شده بود، با روش PCR-RFLP نیز با همان هویت شناسایی شدند. سایر جدایه‌ها فقط به روش دوم مورد شناسایی قرار گرفتند که نتایج در جدول ۲ مندرج است.

سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری و پس از آن اقدام به بررسی ماکروسکوپی آنها گردید. ایزوله‌های بالینی با مقایسه رنگ کلنی‌های متعلق به استرین‌های استاندارد و با توجه به رنگ‌های معرفی شده در کاتالوگ شرکت سازنده شناسایی گردید.

شناسایی سایر مخمرها: کلیه ایزوله‌ها از جمله مخمرهایی که رنگ کلنی آنها در محیط کروم آگار برای شناسایی آنها اختصاصی نبود، با استفاده از روش PCR-RFLP (۸) (و در صورت لزوم سایر روش‌ها) شناسایی گردید. این روش براساس تقویت قطعه ITS1-5.8S-ITS2 در DNA ریبوزومی به روش PCR و با استفاده از پرایمرهای یونیورسال ITS1، ITS4 و آن گاه برش محصولات تقویت شده با PCR توسط آنزیم محدود الاثر *HpaII* می‌باشد. با توجه به پلیمرفیسم ناشی از مختلف بودن محل‌های برش آنزیم‌ها در محصولات PCR و بالتبع مختلف بودن اندازه حاصل از برش، اقدام به شناسایی مخمرها شد. اندازه قطعات DNA پس از الکتروفورز آنها روی ژل آگارز ۱/۸٪ مشخص گردید.

نتایج:

تمام ایزوله‌های مخمری قادر به رشد بر روی محیط کروم آگار بوده، با توجه به تفاوت رنگ حاصله و مقایسه با رنگ کلنی‌های مربوط به سویه‌های استاندارد اقدام به شناسایی آنها شد. تفاوت رنگ‌ها در کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا کروزه‌ای کاملاً متمایز بود به نحوی که می‌توان این سه قارچ را در اولین نگاه و با توجه به رنگ اختصاصی تولید شده بازشناخت. کاندیدا گلابراتا نیز تا حدودی مشخص بوده و با دقت بیشتر می‌توان آن را شناسایی نمود. رنگ بعضی دیگر از مخمرها مانند کاندیدا پاراپسیلوزیس نسبتاً غیر اختصاصی بوده و نمی‌توان از روی مرفولوژی کلنی آنها را نام‌گذاری نمود. گرچه تفاوت رنگ اندکی بین کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا دابلینینسیس وجود داشت ولی به نظر می‌رسد که تنها از روی رنگ کلنی نمی‌توان این دو را از یکدیگر باز شناخت و بایستی از روش دیگری برای افتراق آنها سود جست (۹).

جدول ۲ نتایج شناسایی جدایه‌های مخمری بیماران روی محیط کروم آگار کاندیدا را نشان می‌دهد. چنانچه ملاحظه می‌شود کاندیدا آلبیکنس با ۶۶/۵ درصد بیشترین فراوانی و کاندیدا لوزیتانیا با ۰/۳۵ درصد (فقط یک ایزوله)

بحث:

عفونت های فرصت طلب ناشی از مخمرها در دهه های اخیر اهمیت زیادی یافته است (۲). علت این مسئله روند رو به تزاید این عفونت ها از لحاظ بروز و شیوع در جامعه و در بین عفونت های بیمارستانی است. بیماری های ناتوان کننده ای مثل ایدز، دیابت ملیتوس و بدخیمی ها و نیز افزایش کاربرد کاتترهای وریدی، پیوند اعضا، داروهای ضد سرطان، آنتی بیوتیک های وسیع الطیف و درمان با کورتیکو استروئیدها از جمله زمینه های مساعد کننده ابتلا به عفونت های مخمری است (۴). اهمیت شناسائی عوامل قارچی متنوع این عفونت ها را در چند جهت می توان خلاصه نمود: (۱) برخی از اشکال بالینی خاص با برخی از عوامل خاص مرتبط هستند. به عنوان مثال بیماران مبتلا به لوسمی بیشتر به کاندیدا آلبیکنس مبتلا می شوند در صورتی که بیماران واجد تومورهای سخت در معرض خطر بیشتری برای ابتلا به عفونت های ناشی از کاندیدا گلابراتا هستند. (۲) ویروالانس هر کدام از گونه های مخمری با یکدیگر متفاوت بوده و شرط لازم درک پاتوژن عفونت ها، تعیین هویت عامل علیتی بیماری است (۴). (۳) گونه های مختلف نسبت به داروهای ضد قارچی حساسیت متفاوتی دارند. به عنوان مثال حساسیت کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا گلابراتا نسبت به فلوکونازول ۳۲-۴ برابر کمتر از کاندیدا آلبیکنس است (۱۰). همچنین کاندیدا لوزیتانیا دارای مقاومت نسبی ذاتی به آمفوتریسین B است (۱۱، ۴). پیدا کردن منابع عفونت و درک راه های انتقال بیماری به ویژه در طغیان های بیمارستانی مستلزم شناسائی گونه ها است (۴).

تا آنجا که نویسندگان مقاله اطلاع دارند، در کشور ما تشخیص آزمایشگاهی عفونت های مخمری تنها در حد شمارش کلنی و ندرتاً در حد افتراق کاندیدا آلبیکنس از بقیه است و شناسائی سایر گونه ها تنها محدود به چند پایان نامه تحصیلی بوده است. علت این مسئله بالا بودن هزینه شناسایی مخمرها و وقت گیر بودن روش های مربوطه و تا حدودی نیز به کم بودن اطلاعات و امکانات استفاده از روش های جدیدتر باز می گردد.

در میان روش های ساده تشخیص گونه های شایع و مهم مخمرها، روش کشت روی محیط کروم آگار کاندیدا بسیار ساده و در عین حال معتبر به نظر می رسد. پس از کشت مخمرها روی این محیط، کلنی های کاندیدا آلبیکنس،

کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا کروزه ای به ترتیب به رنگ های سبز، آبی خاکستری و صورتی و سایر مخمرها به رنگ غیراختصاصی سفید، خاکستری و غیره رشد می کنند. تنوع رنگ های ایجاد شده مربوط به واکنش بین آنزیم های اختصاصی هر گونه با سوبستراهای رنگزای موجود در محیط کشت است. از زمان معرفی این محیط مطالعات متعددی برای ارزیابی کارآمدی آن و یا استفاده از آن در بررسی های اپیدمیولوژیک انجام شده است (۱۲-۱۰).

در مطالعه حاضر استرین های شناسنامه دار مربوط به ۹ گونه مخمری که تقریباً تمامی مخمرهای مهم پزشکی را در بر می گیرد روی محیط کروم آگار کاندیدا کشت داده شد و کلنی های رنگی حاصله مورد مطالعه قرار گرفت. مرفولوژی این کلنی ها روی محیط مزبور می تواند راهنمای اولیه برای شناسائی آنها باشد ضمن این که برای ۳ یا ۴ گونه نیز کاملاً اختصاصی بوده و برای شناسائی آنها می توان به این روش بسنده کرد. این ۴ گونه از جمله گونه های شایع، تقریباً در همه جای جهان است.

در مطالعه حاضر همچنین ۲۸۰ ایزوله مخمری جدا شده از نمونه های جلدی - مخاطی یا سیستمیک بیماران، روی محیط مزبور کشت داده شد که بیش از ۸۵ درصد آنها فقط با همین روش قابل شناسائی بودند. نتایج مربوط به وفور مخمرها با مطالعات سایر محققین در کشورهای دیگر انطباق دارد (۴) و نشان دهنده الگوی کم و بیش یکسان شیوع مخمرها در جمعیت های مختلف است. سایر مخمرهای کمتر شایع که با کشت روی محیط کروم آگار قابل شناسائی نبود به روش PCR-RFLP به طور دقیق شناسایی شد، که نتایج کلی آنها آورده شده است. روش PCR-RFLP نتایج حاصل از شناسائی مخمرها با استفاده از کشت آنها روی کروم آگار کاندیدا را تأیید نمود، به طوری که آن گروه از مخمرها که به توصیه شرکت سازنده توسط محیط کروم آگار قابل شناسائی است، با روش مولکولی مذکور نیز دقیقاً با همان هویت شناسائی گردیدند. با توجه به مزایای ذیل در مجموع استفاده از محیط کروم آگار کاندیدا برای شناسائی قارچ های مخمری شایع، در آزمایشگاه های تشخیصی توصیه می شود: (۱) استفاده از این محیط بسیار ساده بوده و تنها کافی است مخمر روی آن کشت داده شده و رنگ کلنی حاصله با چشم مطالعه شود (۲) از این محیط نه تنها برای شناسائی مخمر، بلکه برای جداسازی مخمر از نمونه های بالینی نیز میتوان

- oncology patients. Clin Infect Dis. 1995 Jan; 20(1):115-25. Review
4. Calderone R.A. *Candida and Candidiasis*. Washington: ASM Press, 2002.
 5. Reiss E, Tanaka K, Bruker G, Chazalet V, Coleman D, Debeauvais JP et al. Molecular diagnosis and epidemiology of fungal infections. Med Mycol. 1998; 36 Suppl 1:249-57
 6. Yeo SF, Wong B. Current status of nonculture methods for diagnosis of invasive fungal infections. Clin Microbiol Rev. 2002 Jul; 15(3):465-84.
 7. Odds FC, Bernaerts R. CHROMagar *Candida*, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. J Clin Microbiol 1994; 32:1923-1929
 8. Mirhendi H, Kordbacheh P, Kazemi B, Samiei S, Pezeshki M, Khorramizadeh MR. A PCR-RFLP Method to Identification of the Important Opportunistic Fungi: *Candida* Species, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus* and *Fusarium solani* Iranian J Public Health 2001;30(3-4):103-106.
 9. Mirhendi H, Makimura K, Zomorodian K, Yamaguchi H. Differentiation of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* using a single PCR-Restriction enzyme. Jap J Infect Dis 2005 ;58: 235-257
 10. Pfaller, MA. Houston A., Coffman 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.
 11. Beighton D, Ludford R, Clark DT, Brailsford SR, Pankhurst CL, Tinsley GF, et al. Use of CHROMagar *Candida* medium for isolation of yeasts from dental samples. J Clin Microbiol 1995 Nov; 33(11):3025-7.
 12. Bernal S, Martin Mazuelos E, Garcia M, Aller AI, Martinez MA, Gutierrez MJ. Evaluation of CHROMagar *Candida* medium for isolation and presumptive identification of species of *Candida* of clinical importance. Diagn Microbiol Infect Dis 1996;24:201-204.

استفاده کرد (۳) این محیط رایج‌ترین ایزوله‌های مخمری را می‌تواند شناسایی کند و (۴) وجود بیش از یک گونه مخمر در یک نمونه، با این محیط قابل شناسایی است. محیط کروم‌آگار در مقایسه با محیط‌های رایج نسبتاً گران قیمت است. یک راه برای کم کردن و کاهش هزینه تهیه محیط کشت این است که نمونه‌ها ابتدا روی محیط‌های رایج قارچ‌شناسی نظیر محیط سابورو جداسازی شده و سپس چندین ایزوله (مثلاً ۴ ایزوله) روی یک پلیت کروم‌آگار کشت داده شود.

نتیجه نهائی:

به عقیده نویسندگان این مقاله، این محیط برای اهداف اپیدمیولوژیک و پژوهشی که شناسایی دقیق ایزوله‌های شایع تا سطح گونه را مد نظر دارد معتبر و مفید بوده ولی شناسایی کلیه گونه‌ها با این محیط امکان پذیر نبوده و عندالزوم باید از سایر متدهای فنوتیپیک یا ژنوتیپیک کمک گرفت.

سپاسگزاری:

این پژوهش با استفاده از اعتبارات معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران طی طرح تحقیقاتی شماره ۱۲۳۰ انجام شده است. از همکاری همه مسئولین این معاونت تشکر می‌شود. همچنین از خانمها خوشقدم امیدی و نیلوفر جلالی به خاطر کمک‌های بی‌دریغشان صمیمانه متشکریم.

منابع:

1. Price MF, LaRocco MT, Gentry L.O. Fluconazole susceptibilities of *Candida* species and distribution of species recovered from blood cultures over a 5-year period. Antimicrob Agents Chemother 1994 Jun; 38(6):1422-4
2. Pfaller MA, Epidemiology of candidiasis. J Hosp Infect. 1995 Jun; 30 Suppl: 329-38. Review.
3. Wingard JR, Importance of *Candida* species other than *C. albicans* as pathogens in