

# Инфекции и антимикробная терапия

Том 3/Н 6/2001

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

## Дрожжевые грибы: идентификация и резистентность к противогрибковым препаратам в онкогематологическом стационаре

Н.С. Багирова, Н.В. Дмитриева

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

**В** последние годы случаи микозов, обусловленных дрожжевыми грибами, и особенно *Candida species*, увеличились. *Candida species* относятся к оппортунистическим микроорганизмам [1]. Они обычно слабовирулентны и не способны вызывать инвазивные микозы у пациентов без нарушения защитных барьерных функций организма [2]. Дрожжевые грибы широко распространены в окружающей среде и даже могут быть частью нормальной микрофлоры человека. Для иммунокомпрометированных больных (например, больные гемобластозами) они представляют собой группу потенциально опасных микроорганизмов [3]. Смертность от инвазивных микозов у больных гемобластозами высока. По данным, полученным при изучении результатов 8124 аутопсий [4], больные гемобластозами составили основную группу пациентов с летальным исходом от инвазивных микозов (34%). Грибковые инфекции были обнаружены у 22% больных гемобластозами, подвергшихся аутопсии. Более ранний анализ аутопсий онкологических больных показал, что 58% всех микозов обусловлены дрожжевыми грибами рода *Candida*. Инвазивные микозы наиболее часто развивались у больных лейкозами, реципиентов костного мозга и несколько реже – у больных неходжкинскими лимфомами (25, 25, 12% соответственно) [5]. До недавнего времени *Candida albicans* считался доминирующим этиологическим агентом при инвазивных микозах. В течение последних 5 лет спектр грибковых патогенов изменился [6–8]. Последние исследования подтверждают, что случаи инвазивных микозов, обусловленных группой *non-albicans Candida*, среди больных с иммунодефицитами увеличиваются [9]. Опасность такой тенденции в том, что многие виды этой группы трудно поддаются лечению, порой обладая снижением или природной резистентностью к наиболее широко используемым противогрибковым препаратам [10]. Больные гемобластозами часто нуждаются в назначении срочной эмпирической противогрибковой терапии по жизненным показаниям. Тактика такой терапии должна строиться, исходя из данных длительного микробиологического мониторинга, который включает в себя определение спектра выделяемых грибов, частоту встречаемости того или иного вида гриба с точной идентификацией, а также определением чувствительности грибов к антрафунгальным препаратам. Наличие такой базы данных в конкретном стационаре обеспечивает возможность проведения своевременной и адекватной эмпирической противогрибковой терапии, что связано со снижением смертности при инвазивных микозах и улучшением прогноза в отношении основного заболевания.

Целью нашего исследования является определение спектра дрожжевых грибов, выделяемых из клинических материалов больных гемобластозами, выявление доминирующих видов, а также изучение их чувствительности к наиболее широко используемым противогрибковым препаратам.

**Таблица 1. Варианты окраски колоний дрожжевых грибов при использовании хромагара. Частота высеваемости различных видов дрожжевых грибов из патологических материалов (расширенная идентификация)**

| Дрожжевые грибы         | Количество штаммов (%) | Цвет колоний  |
|-------------------------|------------------------|---|
| <i>Candida albicans</i> | 222 (70,3)             | Зеленый (от темно-зеленого до светло-зеленого оттенков)               |
| <i>Candida glabrata</i> | 25(7,9)                | Сиреневый, бледно-сиреневый, серо-розовый. Серый с сиреневым оттенком |

|                                 |           |  |
|---------------------------------|-----------|--|
| <i>Candida tropicalis</i>       | 10 (3,2)  | Синий (различной интенсивности)                                |
| <i>Candida parapsilosis</i>     | 9 (2,9)   | Белый, серый, серо-розовый, розовый                            |
| <i>Candida inconspicua</i>      | 15 (4,8)  | Белый, розовый   |
| <i>Candida kefyr</i>            | 11 (3,5)  | Сиреневый, бледно-сиреневый, серый с сиреневым оттенком, белый |
| <i>Candida krusei</i>           | 4 (1,3)   | Белый, серый, бледно-розовый                                   |
| <i>Candida rugosa</i>           | 2 (0,6)   | Белый, бледно-сиреневый  |
| <i>Candida lipolytica</i>       | 1 (0,3)   | Серо-белый   |
| <i>Candida lusitaniae</i>       | 2 (0,6)   | Серый с бледно-сиреневым оттенком                              |
| <i>Geotrichum capitatum</i>     | 7 (2,2)   | Розовый, бледно-розовый  |
| <i>Geotrichum candidum</i>      | 1 (0,3)   | Белый, серо-сиреневый с синим оттенком                         |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 7 (2,2)   | Белый, серый, грязно-сиреневый                                 |
| Итого...                        | 316 (100) |  |

Таблица 2. Динамика структуры дрожжевых грибов

| Дрожжевые грибы                | Количество штаммов (%) |            |                             |
|--------------------------------|------------------------|------------|-----------------------------|
|                                | 2000 г.                | 2001 г.    | Всего за исследуемый период |
| <i>Candida albicans</i>        | 51 (73,9)              | 171 (69,2) | 222 (70,3)                  |
| Non-albicans<br><i>Candida</i> | 15 (21,7)              | 64 (25,9)  | 79 (25,0)                   |
| Прочие грибы                   | 3 (4,4)                | 12 (4,9)   | 15 (4,7)                    |
| Всего штаммов                  | 69 (100)               | 247 (100)  | 316 (100)                   |

Таблица 3. Резистентность дрожжевых грибов рода *Candida* (2000–2001 гг.)

| Дрожжевые грибы рода <i>Candida</i>       | Всего штаммов | 5-Флуцитозин |           | Миконазол   |        | Кетоконазол |        | Итраконазол |         | Флюконазол  |        |
|---|---------------|--------------|-----------|-------------|--------|-------------|--------|-------------|---------|-------------|--------|
|   |               | П.ч<br>N(%)  | *<br>N(%) | П.ч<br>N(%) | У N(%) | П.ч<br>N(%) | У N(%) | П.ч<br>N(%) | У N(%)  | П.ч<br>N(%) | У N(%) |
| <i>C. albicans</i>                        | 222           | 0            | 0         | 13(5,9)     | 1(0,5) | 13(5,9)     | 11(5)  | 10(4,5)     | 18(8,1) | 5(2,3)      | 7(3,2) |
| <i>C. glabrata</i>                        | 25            | 0            | 0         | 3(12)       | 2(8)   | 2(8)        | 3(12)  | 2(8)        | 5(20)   | 1(4)        | 4(16)  |
| <i>C. tropicalis</i>                      | 10            | 0            | 0         | 6(60)       | 2(20)  | 1(10)       | 1(10)  | 3(30)       | 2(20)   | 0           | 1(10)  |
| <i>C. parapsilosis</i>                    | 9             | 0            | 0         | 6(66,7)     | 0      | 0           | 0      | 1(11)       | 0       | 0           | 0      |
| <i>C. inconspicua</i>                     | 15            | 14(93,3)     | 0         | 12(80)      | 1(6,7) | 9(100)      | 1(6,7) | 3(20)       | 0       | 13(86,7)    | 1(6,7) |
| <i>C. rugosa</i>                          | 2             | 0            | 0         | 0           | 0      | 0           | 0      | 0           | 0       | 0           | 0      |
| <i>C. kefyr</i>                           | 11            | 1(9,1)       | 0         | 1(9,1)      | 0      | 0           | 0      | 0           | 0       | 1(9,1)      | 0      |
| <i>C. krusei</i>                          | 4             | 2(50)        | 0         | 2(50)       | 0      | 1(25)       | 0      | 1(25)       | 0       | 3(75)       | 1(25)  |
| <i>C. lipolytica</i>                      | 1             | 0            | 0         | 1(100)      | 0      | 1(100)      | 0      | 0           | 0       | 1(100)      | 0      |
| <i>C. lusitaniae</i>                      | 1             | 0            | 0         | 0           | 0      | 0           | 0      | 0           | 0       | 0           | 0      |
| Всего Non-albicans<br><i>Candida</i> spp. | 79            | 17(21,5)     | 0         | 31(39,2)    | 5(6,3) | 14(17,7)    | 5(6,3) | 10(12,7)    | 7(8,9)  | 19(24,1)    | 7(8,9) |

Примечание. \* – штаммы с промежуточной чувствительностью; \*\* – штаммы, резистентные к антрафунгальным препаратам; N – количество штаммов

Таблица 4. Сравнение полученных результатов чувствительности *Candida* spp. к противогрибковым препаратам с зарубежными данными (собственные данные/данные литературы, %)

|  | Амфотерицин Б | Кетоконазол | Итраконазол | Флюконазол |
|--|---------------|-------------|-------------|------------|
|  |               |             |             |            |

| Дрожжевые грибы <i>Candida spp.</i> |         |         |         |         |
|-------------------------------------|---------|---------|---------|---------|
| <i>C. albicans</i>                  | 100/100 | 95/89   | 92/86   | 97/81   |
| <i>C. glabrata</i>                  | 100/99  | 88/99   | 80/52   | 84/85   |
| <i>C. tropicalis</i>                | 100/100 | 90/100  | 80/77   | 90/59   |
| <i>C. kefyr</i>                     | 100/100 | 100/-   | 100/100 | 100/100 |
| <i>C. krusei</i>                    | 100/82  | 100/96  | 100/85  | 75/50   |
| <i>C. lipolytica</i>                | 100/33  | 100/-   | 100/-   | 100/100 |
| <i>C. lusitaniae</i>                | 100/96  | 100/100 | 100/95  | 100/97  |
| <i>C. parapsilosis</i>              | 100/99  | 100/100 | 100/99  | 100/97  |
| <i>C. rugosa</i>                    | 100/54  | 100/100 | 100/100 | 100/100 |

### Материал и методы

Исследовали различные патологические материалы, поступавшие от больных гемобластозами: кровь, ликвор, моча, кал, мазки из полости рта, носа, с кожи, отделяемое из ран, бронхиальные смывы, мокрота, пунктаты лимфоузлов. Для выделения грибов из патологических материалов использовали стандартные методики микробиологического исследования. Для получения гемокультур образцы крови засевали в коммерческие флаконы (Becton Dickinson): Plus Aerobic/F, Plus Anaerobic/F, Peds Plus/F (для детей), Mycosis-IC/F (селективная среда для дрожжевых и плесневых грибов). Гемокультуры инкубировали в автоматическом анализаторе BACTEC. После получения чистой дрожжевой культуры на агаре Сабуро проводили дальнейшую идентификацию с использованием агариованной селективной среды (хромогенная среда CHROMagar, Becton Dickinson Microbiology Systems). Колонии *Candida albicans* на этой среде должны быть окрашены в зеленый цвет, прочие дрожжевые грибы могут быть различной окраски. Параллельно использовали систему идентификации "Auxacolor" (BIO-RAD, SANOFI DIAGNOSTICS PASTEUR), основанную на принципе утилизации сахаров (ассимиляция). Помимо этого использовали тест на образование герментативных (проростковых) трубок в бульоне на основе сердечно-мозгового экстракта, исследовали морфологию (образование гиф, псевдогиф, бластоконидий, хламидоспор, артроспор) на специальной среде (кукурузный агар с добавкой поверхностно-активного вещества твин 80). Определение чувствительности грибов проводили с помощью микропанели "FUNGITEST" (BIO-RAD, SANOFI DIAGNOSTICS PASTEUR). В этой системе методом разведений исследуется чувствительность грибов к 6 препаратам: амфотерицину В, 5-флуцитозину, миконазолу, кетоконазолу, итраконазолу и флюконазолу в 2 различных концентрациях. Процедуры подготовки образца при этом соответствуют рекомендациям NCCLS [11]. Изучаемый штамм по критериям NCCLS может быть признан чувствительным или устойчивым к определенному препарату. В готовых коммерческих тест-системах для определения чувствительности к антибактериальным (антигрибковым) препаратам используется принцип метода серийных микроразведений в варианте "break point".

Каждый антибиотик (антимикотик) представлен двумя пограничными концентрациями (max и min), позволяющими дифференцировать микроорганизмы (бактерии и грибы) по степени их чувствительности на три категории:

- "чувствительные"
- "умеренно-устойчивые"
- "устойчивые".

Всего было исследовано 493 штамма дрожжевых грибов от 235 больных гемобластозами за период с января 2000 г. по сентябрь 2001 г. В ходе исследования было получено 15 положительных гемокультур у 11 больных. Все гемокультуры, полученные при посеве крови одного и того же больного в течение недели, были учтены как одна. Предлагаемые результаты являются предварительными, поскольку микробиологический мониторинг продолжается по настоящее время.

### Результаты и обсуждение

При идентификации дрожжевых грибов хромагар использовался для идентификации всех 493 штаммов, из них 316 штаммов были идентифицированы с помощью микроплат "Auxacolor" с параллельным определением чувствительности к противогрибковым препаратам.

Для объективной оценки возможностей хромогенной среды в качестве быстрого метода идентификации мы сравнили результаты, полученные при работе с культурами грибов только на хромогенной среде, с данными параллельного идентифицирования с помощью микроплат "Auxacolor". При этом у всех штаммов *Candida albicans* колонии были окрашены в зеленый цвет различных оттенков, т. е. в 100% случаев отмечается совпадение результатов идентификации двумя методами. Кроме того, зеленый цвет колоний был только у *Candida albicans*, а синий – только у *Candida tropicalis*. Остальные штаммы дрожжевых грибов имели разнообразные цвета, даже в пределах одного вида (табл. 1). При использовании для идентификации только хромогенной среды 72% штаммов имели зеленую окраску колоний и их с уверенностью можно отнести к *Candida albicans*, остальные 28% штаммов имели различные окраски, не позволяющие довести идентификацию не только до вида, но и до рода дрожжевых грибов, исключая *Candida tropicalis*. При

идентификации грибов одновременно двумя методами (см. табл. 1) *Candida albicans* составили 70% от общего количества дрожжевых грибов, что незначительно отличается от данных, полученных при использовании только хромогенной среды.

Таким образом, применение хромогенной среды в рутинной микробиологической диагностике ускоряет процесс идентификации грибковых патогенов, наиболее часто выделяемых из патологических материалов. Кроме того, использование такой среды отличается удобством, легкостью и надежностью получения результатов. Для практических лабораторий идеальным вариантом является посев исследуемого патологического материала непосредственно на хромогенный агар. Это позволяет легко, уже на этапе получения первичного роста, выявить и не пропустить случаи смешанной культуры грибов, когда на среде видны колонии различных цветов, чего никогда не бывает на традиционно применяемом агаре Сабуро. Идентификация дрожжевых грибов, как уже упоминалось, очень важна для своевременной и адекватной терапии и профилактики микозов. Вместе с тем затраты на проведение такой диагностики зависят от методов, которыми пользуются в той или иной практической лаборатории. Использование микроплат "Auxacolor", несомненно, расширяет возможности лаборатории и позволяет проводить более точную идентификацию дрожжевых грибов, относящихся не только к *Candida albicans* и *Candida tropicalis*, что имеет значение для последующего выбора антифунгальных препаратов и их оптимальных доз.

Микробиологический мониторинг, который проводится в нашей лаборатории, определил, что спектр выделяемых дрожжевых грибов ограничивается тремя родами (см. табл. 1): *Candida spp.*, *Geotrichum spp.*, *Saccharomyces spp.*. Дрожжевые грибы рода *Candida* включают в себя 10 видов и составляют 95% от всех выделенных штаммов. Из 301 штамма дрожжевых грибов рода *Candida* 74% составили *Candida albicans* и 26% – *non-albicans Candida* (табл. 2).

Как видно из табл. 1, *Candida albicans* выделяются из патологических материалов достоверно чаще прочих грибов (70%). Вторым по частоте патогеном является *Candida glabrata* (8%), который высевался достоверно чаще всех прочих дрожжевых грибов (за исключением *Candida albicans* и *Candida inconnspicua*). В зарубежной литературе сообщается об увеличении случаев выделения *non-albicans Candida* из патологических материалов онкогематологических больных [12–14]. Так как некоторые из них (*C. krusei*, *C. glabrata*) часто резистентны к флюконазолу, то возможно, его широкое и длительное использование способствует изменению спектра инфекций, обусловленных *Candida spp.* [15]. В нашем исследовании 16% штаммов *C. glabrata* и 10% *C. tropicalis* были резистентны к флюконазолу (табл. 3). Только 3% штаммов *C. albicans* были расценены как резистентные к флюконазолу. Среди прочих дрожжевых грибов резистентность к флюконазолу обнаружена у *C. inconnspicua* и *C. krusei* (по одному штамму). Не было зарегистрировано ни одного штамма дрожжевых грибов с резистентностью к амфотерицину Б и 5-флуцитозину. Среди *Candida spp.* резистентность к миоконазолу и кетоконазолу была невысокой. Итраконазол чаще всего не активен *in vitro* в отношении *C. tropicalis* (20%), *C. glabrata* (20%) и в меньшей степени – *C. albicans* (8%).

Как видно из табл. 4, по сравнению с данными литературы [16], в нашем стационаре наблюдается низкий уровень резистентности к основным противогрибковым препаратам, которые применяются при инвазивных микозах. Особенно необходимо отметить отсутствие *in vitro* резистентности к золотому стандарту противогрибковой терапии – амфотерицину Б.

В ходе мониторинга определено, что 64% дрожжевых положительных гемокультур составили *non-albicans Candida*. В основном это были *C. parapsilosis*, при этом штаммов *C. parapsilosis* и штаммов других дрожжевых грибов, резистентных к каким-либо препаратам, не отмечалось. Только у 1 больного был выделен из крови штамм *Candida albicans*, резистентный к флюконазолу и обладающий промежуточной чувствительностью к итраконазолу и кетоконазолу. Все больные, у которых были получены положительные гемокультуры, имели длительную и множественную колонизацию грибами.

Показано, что у онкологических больных с нейтропенией длительная и интенсивная колонизация приводит к кандидемии [17]. По нашим данным [18], среди больных гемобластозами с микробиологически подтвержденной фунгемией, 75% пациентов имели нейтропению. У больных без нейтропении кандидемии часто предшествует колонизация генотипически идентичным штаммом или локальная инфекция, обусловленная идентичным штаммом [19, 20]. Для грибковой инвазии требуется либо повреждение слизистой оболочки высокой степени, либо другие входные ворота, например центральный венозный катетер или катетер мочевых путей [3]. Кандидемия, обусловленная *Candida parapsilosis*, наиболее часто связана с использованием центральных венозных катетеров [12], что не противоречит полученным нами данным. В отличие от *Candida albicans*, который вовлечен в широкий спектр как внутрибольничных, так и бытовых инфекций и признан обычным микроорганизмом для здорового человека, некоторые другие виды *Candida*, например *C. krusei*, *C. lusitaniae*, нечасто обнаруживаются в составе эндогенной микрофлоры человека [21] и являются строго нозокомиальными возбудителями. Некоторые виды *Candida* обнаруживаются при вспышках заболеваний, например *C. parapsilosis* [22, 23], *Candida glabrata* [24], *C. tropicalis* [25]. Меры инфекционного контроля, направленные против этих видов грибов, могут иметь особую важность.

Помимо *Candida spp.*, из патологических материалов был получен рост *Geotrichum capitatum* (2%), *Geotrichum candidum* (0,3%) и *Saccharomyces cerevisiae* (2%). В последние годы в зарубежной литературе все чаще появляются сообщения о диссеминированных инфекциях, обусловленных *Geotrichum spp.*, у больных острыми лейкозами с нейтропенией [26–28]. В нашей клинике *Geotrichum spp.* у больных гемобластозами выделялись в значительных количествах из мочи, кала, мокроты, а также из нагноившихся лимфоузлов и крови.

Интересной находкой являются дрожжевые грибы *Saccharomyces cerevisiae*, которые выделялись со

слизистой оболочки ротовой полости, кала, мокроты. На агаре Сабуро эти дрожжевые грибы ничем не отличаются от остальных. *Saccharomyces cerevisiae* еще называют “пекарскими дрожжами”: их обычно используют в пищевой и пекарской промышленности [6, 7]. Клинические изоляты *Saccharomyces cerevisiae* более вирулентны, чем лабораторные штаммы [29]. Хотя точный источник *Saccharomyces cerevisiae* в нашем стационаре не известен, пищевой источник не может быть исключен. Поскольку *Saccharomyces cerevisiae* выделялись со слизистых оболочек, можно предположить только факт колонизации, причем массивной. Имеется несколько сообщений об инвазивных инфекциях, обусловленных *Saccharomyces cerevisiae*, у иммунокомпрометированных больных [7]. Несомненно, колонизация *Saccharomyces cerevisiae* является предпосылкой для развития инвазивного микоза. Кроме того, большинство клинических штаммов *Saccharomyces cerevisiae* резистентны к флюконазолу и итраконазолу, но чувствительны к амфотерицину Б [30]. Более ранние сообщения подтверждают сниженную чувствительность *Saccharomyces cerevisiae* к азольным препаратам [31, 32]. Возможно, что резистентность к азольным препаратам у *Saccharomyces cerevisiae* развивается вследствие их широкого применения. В нашем исследовании не выявлено ни одного штамма *Saccharomyces cerevisiae* или *Geotrichum spp.*, резистентного к изученным препаратам. Ни у одного нашего больного в течение исследования не было инвазивной инфекции, обусловленной *Saccharomyces cerevisiae*. Однако длительная и множественная колонизация больных гемобластозами может предрасполагать их к инвазии грибами в течение проводимой химиотерапии, индуцирующей нейтропению и мукозиты.

Таким образом, важно вовремя выявлять больных с риском развития грибковых инфекций и проводить раннюю эмпирическую терапию или профилактику. Для этого необходимо проводить микробиологический мониторинг, включающий в себя диагностику с точным установлением таксономической принадлежности выделенных грибов, а также изучение уровня резистентности выделяемых штаммов к противогрибковым препаратам.

#### Литература

1. Richardson MD. *J Antimicrob Chemother* 1991; 28(Suppl. A): 1-11.
2. Schaffner A. *A review Mycoses* 1989; 32(10): 499-515.
3. Fridrin SK, Jarvis WR. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9(4): 499-511.
4. Groll AH, Shah PM, Mentzel C et al. *J Infect Dis* 1996; 25(2): 263-7.
5. Bodey GP, Buelmann B, Duguit W et al. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992; 11(2): 99-109.
6. Anaissie E, Bodey GP, Rinaldi MG. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1989; 8 (4): 323-30.
7. Anaissie E, Bodey GP, Kantarjiaan H et al. *Rev Infect Dis* 1989; 11(3): 369-78.
8. Kremery V, Krupova I, Denning DW. *J Hosp Infect* 1999; 41(3): 181-94.
9. Viscoli C, Girmenia C, Marinus A et al. *Clin Infect Dis* 1999; 28(5): 1071-9.
10. Pfaller M, Cabezudo I, Koontz F et al. *Eur J Clin Microbiol* 1987; 6(6): 628-33.
11. Wuytack C, Van Looveren K, Swine DJ. *Laborama* 1999; 6 (February): 29.
12. Girmenia C, Martino P, De Bernardis F et al. *Clin Infect Dis* 1996; 23(3): 506-14.
13. Marr KA, Seidel K, White TC, Bowden RA. *J Infect Dis* 2000; 181: 309-16.
14. Wingard JR, Merz WG, Rinaldi MG et al. *N Engl J Med* 1991; 325(18): 1274-7.
15. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV et al. *J Clin Microbiol* 1998; 36(7): 1886-96.
16. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. *Кандидоз. Природа инфекции, механизмы агрессии и защиты, лабораторная диагностика, клиника и лечение.* М.: Триада-Х, 2000; 472 с.
17. Richer HM, Andremont A, Tanerede C, Pico JL, Jarvis WR. *Rev Infect Dis.* 1991; 13, 211-5.
18. Bagirova N, Dronova O, Volkova M. *Pattern of fungal infections in patients with hematological malignancies. IHS-EHA Combined Haematology Congress, Amsterdam, The Netherlands, 4-8 July, 1998; p.90.*
19. Pittet D, Monod M, Filthuth I et al. *Am J Med* 1991; 91 (Suppl. 3B): 256S-263S.
20. Voss A, Hollis RG, Pfaller MA et al. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 975-80.
21. Bodey GP. *Hematogenous and major organ candidiasis. In: GP Bodey (ed.) Candidiasis: Pathogenesis, diagnosis and treatment.* New York: Raven Press. 1993; 279-329
22. Solomon SL, Khabbaz RF, Parker RH, GP Bodey *J Infect Dis* 1984; 149: 98-102.
23. Weems JJ, Chamberland ME, Ward J et al. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 1029-32.
24. Lee, Bumie JP, Matthews RS, Oppenheim BO et al. *J Hosp Infect.* 1991; 18 (Suppl. A): 237-49.
25. Isenberg DD, Tucci V, Cintron F, Singer C, Weinstein GS, Tyras DH. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 2426-8.
26. Kassamali, Hassanal, Anaissie Elias et al. *J Clin Microb* 1987; 25(9): 1782-3.
27. Saxena K, Guleri AS. *Yeast and yeast like fungi causing opportunistic infection in immunocompromised hospitalised patients. 9th Intern. Sympos. of infections in the immunocompromised host, 23-26 June-Assisi, Italy, 1996.*
28. Zinner SH. *Changes in the microbial flora responsible for infections in neutropenic patients. 6th Inf. Congr for Inf Dis, 30 April, 1994; p.6.*
29. Clemons KV, McCusker JH, David RW, Stevens DA *J Infect Dis* 1994; 169(4): 859-67.
30. Salonen J. *Fungal colonization and invasive fungal infections in patients with a hematological malignancy. Turku, SARJA-SER.D OSATOM.417, Medica-Odontologica, 2000.*
31. Sobel JD, Vazquez J, Lunch M *Clin Infect Dis* 1993; 16(1): 93-9.
32. Zerva L, Hollis RJ, Pfaller MA. *J Clin Microbiol* 1996; 34(12): 3031-4.

