

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

دکتر سیدحسین میرهندي\*، دکتر کواچی ماکی 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 کاندیدایی 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 کلتی 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 گلیبرموندی (۰/۷٪)، کاندیدا لوزیتانیا (۰/۳۵٪) و کریپتوکوکوس نئوفورمنس (۰/۳۵٪) بود.

**نتیجه نهایی:** محیط کشت کروموتیک 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 کاندیدایی 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 مخمری 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، ۱۲۸
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 سروسیسه	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 مخمری 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 مخمری، 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 کاندیدایزیس 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 کاندیداهای 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)، کلرامفنیکل (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 مخمری 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

توسط روش PCR-RFLP و CHROMagar Candida

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

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

شده توسط روش PCR-RFLP و CHROMagar Candida

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

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 آن‌گاه برش محصولات تقویت شده با PCR توسط آنزیم محدود اثر HpaII می‌باشد. با توجه به پلیمریسم 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 ۱/۱۸٪ 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:**

عفونت‌های فرصت‌طلب ناشی از مخمرها در دهه‌های اخیر اهمیت زیادی یافته است (۲). علت این مسئله روند رو به تزاید این عفونت‌ها از لحاظ بروز و شیوع در جامعه و در بین عفونت‌های بیمارستانی است. بیماری‌های ناتوان کننده‌ای مثل ایدز، دیابت ملیتوس و بدخیمی‌ها و نیز افزایش کاربرد کاتترهای وریدی، پیوند اعضا، داروهای ضد سرطان، آنتی بیوتیک‌های وسیع‌الطیف و درمان با کورتیکو استروئیدها از جمله زمینه‌های مساعد کننده ابتلا به عفونت‌های مخمری است (۴). اهمیت شناسائی عوامل قارچی متنوع این عفونت‌ها را در چند جهت می‌توان 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 می‌شوند در صورتی که بیماران واجد تومورهای سخت در معرض خطر بیشتری برای ابتلا به عفونت‌های ناشی از کاندیدا گلابراتا هستند. (۲) ویروالانس هر کدام از گونه‌های مخمری با یکدیگر متفاوت بوده و شرط لازم درک پاتوژنز عفونت‌ها، تعیین هویت عامل علیتی بیماری است (۴). (۳) گونه‌های 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 راه‌های انتقال بیماری به ویژه در طغیان‌های بیمارستانی مستلزم شناسائی گونه‌ها است (۴).

تا آنجا که نویسندگان مقاله اطلاع دارند، در کشور ما تشخیص آزمایشگاهی عفونت‌های مخمری تنها در حد شمارش کلنی و ندرتاً در حد افتراق کاندیدا آلبیکنس از بقیه است و شناسائی سایر گونه‌ها تنها محدود به چند پایان‌نامه تحصیلی بوده است. علت این مسئله بالا بودن هزینه شناسایی مخمرها و وقت‌گیر بودن روش‌های مربوطه و تا حدودی نیز به کم بودن اطلاعات و امکانات استفاده از روش‌های جدیدتر باز می‌گردد.

در میان روش‌های ساده تشخیص گونه‌های شایع و مهم مخمرها، روش کشت روی محیط کروم‌آگار کاندیدا بسیار ساده و در عین حال معتبر به نظر می‌رسد. پس از کشت مخمرها روی این محیط، کلنی‌های کاندیدا آلبیکنس،

کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا کروزه‌ای به ترتیب به رنگ‌های سبز، آبی خاکستری و صورتی و سایر مخمرها به رنگ غیراختصاصی سفید، خاکستری و غیره رشد می‌کنند. تنوع رنگ‌های ایجاد شده مربوط به واکنش بین آنزیم‌های 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 بررسی‌های اپیدمیولوژیک انجام شده است (۱۲-۱۰).

در مطالعه حاضر استرین‌های شناسنامه‌دار مربوط به ۹ گونه مخمری که تقریباً تمامی مخمرهای مهم پزشکی را در بر می‌گیرد روی محیط کروم‌آگار کاندیدا کشت داده شد و کلنی‌های رنگی حاصله مورد مطالعه قرار گرفت. مرفولوژی این کلنی‌ها روی محیط مزبور می‌تواند راهنمای اولیه برای شناسائی آنها باشد ضمن این که برای ۳ یا ۴ گونه نیز کاملاً اختصاصی بوده و برای شناسائی آنها می‌توان به این روش بسنده کرد. این ۴ گونه از جمله گونه‌های شایع، تقریباً در همه جای جهان است.

در مطالعه حاضر همچنین ۲۸۰ ایزوله مخمری جدا شده از نمونه‌های 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 جمعیت‌های مختلف است. سایر مخمرهای کمتر شایع که با کشت روی محیط کروم‌آگار قابل شناسائی نبود به روش PCR-RFLP به طور دقیق شناسایی شد، که نتایج کلی آنها آورده شده است. روش شناسایی PCR-RFLP نتایج حاصل از شناسائی مخمرها با استفاده از کشت آنها روی کروم‌آگار کاندیدا را تأیید نمود، به طوری که آن گروه از مخمرها که به توصیه شرکت سازنده توسط محیط کروم‌آگار قابل شناسائی است، با روش مولکولی مذکور نیز دقیقاً با همان هویت شناسائی گردیدند. با توجه به مزایای ذیل در مجموع استفاده از محیط کروم‌آگار کاندیدا برای شناسائی قارچ‌های مخمری شایع، در آزمایشگاه‌های تشخیصی توصیه می‌شود: (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 نمونه‌های 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 نهایی:

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