

KAN KÜLTÜRLERİNDEN SOYUTLANAN CANDIDA TÜRLERİNİN ANTİFUNGAL AJANLARA İN-VİTRO DUYARLILIKLARI*

Mine YÜCESOY, Nuran YULUĞ

ÖZET

Hastanemizde kandidemi tablolarından soyutlanan *Candida* türlerini belirlemek ve empirik sağalta yön verebilmek amacıyla son bir yıllık periyod içinde yatan hastaların kan kültürlerinden soyutlanan toplam 40 *Candida* suşunun flukonazol, ketokonazol, amfoterisin B ve flusitoxine duyarlılıkları mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır. Soyutlanan türlerin 24'ü *Candida albicans*, 7'si *C.parapsilosis*, 4'ü *C.tropicalis*, 4'ü *C.guilliermondii* ve 1'i *C.lipolytica* olarak belirlenmiştir. Flukonazol, ketokonazol, amfoterisin B ve 5-flusitoxinin en sık soyutlanan tür olan *C.albicans* için elde edilen MIC_{90} değerleri 1 µg/ml, 1 µg/ml, 0.25 µg/ml ve 0.25 µg/ml olarak saptanmıştır. Bulgularımıza göre; kan kültürlerinden soyutlanan *Candida* suşlarının antifungal ajanlara ve özellikle sık kullanılan flukonazol ve amfoterisin B'ye duyarlı olması nedeni ile, kandidemi olgularında bu ajanların güvenle kullanılabileceği düşünülebilir.

SUMMARY

In-vitro susceptibility of Candida strains isolated from blood cultures against anti-fungal agents.

In order to determine the *Candida* species isolated from candidemia cases and to get a view for the empirical treatment, the in-vitro susceptibility of 40 *Candida* strains isolated from blood cultures during the previous one year period were searched by microdilution method. Twenty four of the isolated strains were *Candida albicans*, 7 were *C.parapsilosis*, 4 were *C.tropicalis*, 4 were *C.guilliermondii* and 1 was *C.lipolytica*. The MIC_{90} values of fluconazole, ketoconazole, amphotericin B and 5-flucytosine for the predominant species *C.albicans* were 1 µg/ml, 1 µg/ml, 0.25 µg/ml and 0.25 µg/ml, respectively. Because the blood culture isolates of *Candida* species were found to be susceptible to all antifungal agents, especially most frequently used fluconazole and amphotericin B, it may be concluded that these agents can be used for candidemia cases successfully.

GİRİŞ

Son yıllarda, fungemi insidansında artış; geniş spektrumlu antibiyotiklerin, immuno-supresif ilaçların yaygın kullanımı, artan invaziv kateter uygulanımı ve yoğunlaşan major kardiyak ve abdominal cerrahi işlemler ile ilişkilidir (5). *Candida* türleri, nozokomiyal sepsisemi tablolarının etiyolojik ajanları arasında üst sıralara yükselmiştir. Nozokomiyal fungal infeksiyonların % 86'sından sorumlu olan *Candida* türleri kan kültürlerinde en sık kar-

*1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi'nde sunulmuştur (4-6 Mayıs 1999, İzmir).

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İnciraltı, İzmir.

şılaşılan mikroorganizmalar arasında dördüncü sırayı almıştır (3). Tüm hastane kökenli septisemilerin % 10 ile % 20'sinin *Candida* türleri ile olduğu düşünülmektedir (15). Genel olarak kandidemi insidansının 1000 başvuruda 15.5 epizod şeklinde olduğu bildirilmektedir (11). Kandidemi, tamisi ve sağaltımı zor, bunun yanında da yüksek mortaliteye sahip ciddi bir klinik tablodur. Hastanede kalış süresini ortalama 34 günden fazla uzatan nosokomiyal kandidemi olguları, nonfungal patojenler ile septisemi ortaya çıkmış olgulara göre daha yüksek mortaliteye sahiptirler (24,40).

Kandidemi gibi önemli bir tabloda, son dönemde etken olan türlerin ve bunların antifungal ajanlara duyarlılığının bilinmesi empirik sağaltıma yön verecektir. Ayrıca direnç gelişimi söz konusu ise izlenebilecek ve gereken önlemler alınabilecektir. Bu amaçla son bir yıllık dönemde yatan hastaların kan kültürlerinden soyutlanan maya türlerinin antifungal ajanlara duyarlılıklarını belirlenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Candida suşları: Mart 1998 - Mart 1999 döneminde kan kültürlerinden birebir ardısırda soyutlanan toplam 40 *Candida* suşu çalışmaya alınmıştır. Kan kültür sistemi olarak BACTEC 9240 (Becton Dickinson-Roche) kullanılmıştır. Suşlar Gram preparat, çimlenme borusu testi, mısır unu-Tween 80 agardaki görünümü ve VITEK otomatik identifikasiyon sistemi yardımı ile tanımlanmıştır.

Antifungal ajanlar: Kullanılan antifungal ajanlar flukonazol (Pfizer), ketokonazol (İlisan-İltas), amfoterisin B (Bristol Myers Squibb) ve 5-flusitozin (Roche)'dır. Bu maddelerin konsantrasyon aralıkları sırasıyla 0.06-64, 0.03-32, 0.015-16, 0.06-64 µg/ml şeklidindedir.

Antifungal duyarlılık testi: Suşların, flukonazol, ketokonazol, amfoterisin B ve 5-flusitozine duyarlılıklarını NCCLS'in M27-A yöntemine uygun olarak mikrodilüsyon tekniği ile belirlenmiştir (18). Besiyeri olarak 0.165 M MOPS (morfolinopropansulfonik asit) ile 25°C'de tamponlanmış L-glutaminli, fenol kırmızılı, sodyum bikarbonatsız RPMI 1640 kullanılmıştır. Kontrol suşu olarak ise *C.albicans* ATCC 90028, *C.parapsilosis* ATCC 90018 kullanılmıştır. Mikrobuyyon dilüsyon işleminden sonra 48 saat 35°C'de inkübe edilen plaklarda minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri, gözle okuma ile amfoterisin B için MİK-0 (üremenin tam olarak inhibe edildiği konsantrasyon), 5-flusitozin, ketokonazol ve flukonazol için ise MİK-2 (kontrole göre üremenin belirgin azaldığı konsantrasyon) noktaları olarak kabul edilmiştir. Suşların MİK değerlerine göre duyarlılık durumları tablo 1'deki kriterlere göre değerlendirilmiştir (18).

Tablo 1. *Candida* türleri için kabul edilen duyarlılık ve direnç sınırları (µg/ml).

Antifungal ajan	Duyarlı (S)	Doza bağımlı duyarlı (S-DD)	Orta duyarlı (I)	Dirençli (R)
Flukonazol	≤8	16-32	—	≥64
Ketokonazol	≤0.125	0.25-0.50	—	≥ 1
Amfoterisin	≤1	—	—	≥ 1
5-flusitozin	≤4	—	8-16	≥32

BULGULAR

Mart 1998 - Mart 1999 arasında kan kültürlerinden soyutlanan 508 mikroorganizmanın 40'ını (% 7.9) *Candida* türleri oluşturmuştur. *Candida* suşlarının soyutlandığı hastala-

rin 13'ü dahiliye (hematoloji, onkoloji ünitesi dahil), 8'i çocuk (yenidoğan ünitesi dahil), 7'si nöroşirürji, 6'sı yoğun bakım üniteleri, 4'ü genel cerrahi ve 2'si plastik cerrahi servislerinde yatkın idi.

Çalışmamızda soyutlanan türlerin 24'ü (% 60) *Candida albicans*, 7'si (% 17) *C.parapsilosis*, 4'ü (% 10) *C.tropicalis*, 4'ü (% 10) *C.guilliermondii* ve 1'i (% 3) *C.lipolytica* olarak identifiye edilmiştir.

Antifungal ajanların izolatlar için elde edilen MİK sınırları ve MİK₅₀ değerleri tablo 2 ve 3'de özetlenmiştir. En sık izole edilen *C.albicans* için MİK₉₀ değerleri flukonazol ve ketokonazol için 1 µg/ml, amfoterisin ve 5-flusitozin için 0.25 µg/ml olarak saptanmıştır.

Tablo 2. Azol türevlerinin izolatlar için elde edilen MİK sınırları ve MİK₅₀ değerleri (µg/ml).

Candida türü (n)	Flukonazol		Ketokonazol	
	MİK sınırı	MİK ₅₀	MİK sınırı	MİK ₅₀
<i>C.albicans</i> (24)	0.06-4	0.50	0.03-4	0.06
<i>C.parapsilosis</i> (7)	0.25-8	0.50	< 0.03-0.25	0.03
<i>C.tropicalis</i> (4)	0.25-4	0.50	0.03-0.25	0.125
<i>C.guilliermondii</i> (4)	0.25-8	0.25	0.06-0.125	0.06
<i>C.lipolytica</i> (1)	16	—	0.50	—

Tablo 3. Amfoterisin B ve 5-flusitozinin izolatlar için elde edilen MİK sınırları ve MİK₅₀ değerleri (µg/ml).

Candida türü (n)	Amfoterisin B		5-flusitozin	
	MİK sınırı	MİK ₅₀	MİK sınırı	MİK ₅₀
<i>C.albicans</i> (24)	< 0.015-0.50	0.06	0.125-8	0.125
<i>C.parapsilosis</i> (7)	< 0.015-0.50	0.06	0.125-0.50	0.125
<i>C.tropicalis</i> (4)	0.015-0.25	0.03	< 0.06-2	0.125
<i>C.guilliermondii</i> (4)	0.015-0.125	0.03	0.125-2	0.125
<i>C.lipolytica</i> (1)	0.125	—	8	—

Çalışmaya alınan suşların tümü flukonazol ve amfoterisin B'ye duyarlı iken; 3'ü (% 7.5) (*C.albicans*) ketokonazole dirençli, 4'ü (% 10) (3 *C.albicans*, 1 *C.lipolytica*) ketokonazole doza bağımlı duyarlı, 2'si ise (% 5) (1 *C.albicans* ve 1 *C.lipolytica*) 5-flusitozine orta duyarlı olarak saptanmıştır. *Candida* türlerinin denendikleri antifungal ajanlara duyarlılık durumları tablo 4'de gösterilmiştir.

Tablo 4. *Candida* türlerinin çalışılan antifungal ajanlara duyarlılık oranları*.

Candida türü (n)	Ketokonazol			5-flusitozin			
	S	S-DD	R	S	S-DD	I	R
<i>C.albicans</i> (24)	18 (% 75)	3 (% 12.5)	3 (% 12.5)	23 (% 95.8)	0	1 (% 4.2)	0
<i>C.parapsilosis</i> (7)	7	0	0	7	0	0	0
<i>C.tropicalis</i> (4)	4	0	0	4	0	0	0
<i>C.guilliermondii</i> (4)	4	0	0	4	0	0	0
<i>C.lipolytica</i> (1)	0	1	0	0	0	1	0

*: Flukonazol ve amfoterisin B'ye suşların tümü duyarlı bulunmuştur. S: Duyarlı, S-DD: Doza bağımlı duyarlı, I: Orta duyarlı, R: Dirençli.

TARTIŞMA

Son yıllarda septisemi tablolarına bağlı mortalitenin arttığı saptanmıştır (22). Bu artıştan sorumlu tutulan mikroorganizmaların, koagülaz negatif stafilocoklar, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* ve *Candida* türleri olduğu belirtilmektedir (35). *Candida* türleri, özellikle ciddi derecede hasta ve alta yatan predispozan faktörü bulunan olguları infekte edebilme yeteneği nedeni ile ciddi nozokomiyal infeksiyonlara yol açan önemli fırsatçı patojenlerdir. Yapılan bir çalışmada, yatan hastalarda gelişen kandideminin, hastanede yataş süresini 34 günün üzerinde uzatmasının yanında kısmen yataş süresine, kısmen de antifungal sağlama ve tanı yöntemlerine bağlı olarak yıllık 216-281 milyon dolarlık ek bir harcamaya yol açtığı saptanmıştır (24).

Çalışmamızda kan kültürlerinden soyutlanan *Candida* türlerinin 24'ü *C.albicans*, 7'si *C.parapsilosis*, 4'ü *C.tropicalis*, 4'ü *C.guilliermondii* ve 1'i de *C.lipolytica* olarak identifiye edilmiştir. Görüldüğü üzere hastanemizde dominant olarak etken tür *Candida albicans*'dır. Bu sonucumuz, birçok çalışma ile paralel doğrultudadır (1,7,8,12,15,17,28,29, 31,43). Benzer sonuçlar saptayan araştırmacılar kandidemi etkenlerinin % 43 - % 73'ünün *C.albicans* olduğunu saptamışlardır (1,3,4,17). *C.albicans* için saptadığımız oran da bu bulgulara benzerdir.

Wenzel (39) 1995 yılında *C.tropicalis*, *C.parapsilosis* ve diğer *Candida* suşlarının etken olduğu kandidemi tablolarına daha fazla rastlamaya başladıklarını bildirmiştir. Abi-Said ve ark. (1) da izledikleri kandidemi olgularında etken olarak *C.albicans* suşlarını daha fazla saptamış olmalarına karşın, son yıllarda hematojen kandidoz tablolarının epidemiyolojisinde değişiklik izlediklerini ve özellikle lösemili olgularda *C.albicans* ve *C.tropicalis* infeksiyonlarında önemli bir azalma, *C.krusei* ve *C.glabrata* infeksiyonlarında ise belirgin bir artış gözlediklerini bildirmiştir. Rex ve ark. (27) ile Price ve ark. (23) da çeşitli hastanelerde intrensek olarak flukonazole daha dirençli olan *C.glabrata* gibi non-albicans türlerle gittikçe artan oranlarda rastlandığını belirtmişlerdir. Etkenlerin *C.albicans*'dan non-albicans türlerine kayma nedeni olarak intensif immunosupresif radyoterapi ve kemoterapi, profilaktik ve terapötik antiinfektiflerin yaygın kullanımı, kemik iliği transplantasyonu ve intravenöz kateterizasyon gibi cerrahi ve invaziv prosedürlerin uygulanmaya başlanması yanında antifungal triazol olan flukonazolin yaygın kullanımı gösterilmiştir (42). Nitekim Girmenia ve Martino (11) flukonazol profilaksi yerine amfoterisin B uygulanması sonucu *C.krusei* fungemilerinin insidansında azalma izlemiştir. Non-albicans türler arasında özellikle artış saptanan bir başka tür de *C.parapsilosis*'dır (10,11,16). *C.parapsilosis* fungemi oranları etkenler arasında % 24 olarak belirtilmektedir (11). Çalışmamızda ise *C.parapsilosis* suşları % 17.5 oranı ile kandidemi etkenleri arasında ikinci sırayı almaktadır. Bu durum *C.parapsilosis*'in bizim hastanemiz açısından da önemini olduğunu göstermektedir. Hayvan modellerinde *C.parapsilosis*'in diğer *Candida* türlerine göre daha az virulan olduğu gösterilmiş olmasına karşın, *C.parapsilosis*'in glukoz içeren solüsyonlarda daha iyi prolifer olarak akrilik yüzeylere daha iyi adhere olması özellikle total parenteral nütrisyonun söz konusu olduğu ve santral venöz kateterin bulunduğu olgularda istatistiksel olarak daha anlamlı oranlarda etken olmasını açıklamaktadır (37,38).

Vazquez ve ark. (34) ise son yıllarda önemli bir nozokomiyal patojen olarak ortaya çıkan *C.glabrata* türüne dikkat çekmektedir. Bu araştırmacılar, *C.glabrata* infeksiyonlarında risk faktörleri olarak yataş süresinin uzamasını ve antimikrobiyal kullanımını bulmuşlardır. Çalışmamızda etken olarak *C.glabrata* saptanmamıştır.

Antifungal duyarlılıklarını araştırdığımız suşların tümü flukonazol ve amfoterisin B'ye duyarlı bulunmuştur. Bulgularımız hastanemiz için sık kullanılan antifungal ajanlar açısından

dan henüz bir direnç sorunu olmadığını yansıtabilir. Ancak yine de *Candida* suşları için yapılan in-vitro antisungal duyarlılık sonuçları ile hastalardaki in-vivo sonuçların her zaman paralellik göstermediği göz önünde bulundurulmalıdır. Yapılan bazı çalışmalarda in-vitro MİK sonuçları ile klinik yanıt arasında çelişkiler gözlenmiş ve klinik sonuçları ilaçın farmakokinetik özellikleri ile konağa ait çeşitli faktörlerin de etkilediği bildirilmiştir (2,26). Elde ettiğimiz MİK₅₀ ve *C.albicans* için MİK₉₀ değerleri flukonazol, ketokonazol ve flusitoxin için diğer çalışma sonuçları ile büyük benzerlik göstermekle birlikte; amfoterisin B için diğer çalışmalardan daha düşüktür (14,21,33).

Pfaller ve ark. (20,21)'ın araştırmalarında *C.albicans* ve *C.tropicalis* suşlarında düşük oranda, *C.glabrata* ve *C.krusei* suşlarında intrensek direnç nedeni ile yüksek oranda flukonazol direnci izlenmiştir. Torres ve ark. (32) kan kültürlerinden soyutlanan *C.albicans* izolatlarında 1990-1994 arası yıllarda % 9 flukonazol direnci saptarken, 1994-1998 arasında % 22 direnç saptamıştır. Bu artış istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. 1990'lardan önce bilinmeyen azol direnci son yıllarda flukonazol ile kronik olarak sağlanılan veya profilaksi uygulanan AIDS hastalarında önemli bir sorun olmaya başlamıştır (13,30). Berenguer ve ark. (4) ise üzerinde çalışıkları kan kültür izolatı *Candida* suşlarının % 12'sinin inhibisyonu için en az 8 µg/ml konsantrasyonunda flukonazol gerektiğini (azalmış duyarlılık) belirtmişlerdir. Benzer şekilde Ermertcan ve ark. (8)'ın çalışmasında da 2 *C.albicans*, 2 *C.tropicalis* suşunda azalmış flukonazol duyarlığı saptanmıştır. Bunun yanında amfoterisin B'ye dirençli *Candida* suşları ile ortaya çıkan olgular bildirilmiş ise de bizim suşlarımızda benzer bir durum gözlenmemiştir (6,25). *C.guilliermondii* suşlarının amfoterisin B'ye primer direnç gösterdiği belirtilmesine karşın (41), çalışmamıza alınan 4 *C.guilliermondii* suşu amfoterisin B'ye duyarlı olarak saptanmıştır. NCCLS standartlarına uygun olarak yapılan bazı çalışmalarda da benzer durum izlenmiştir (4,19). Bu tablo NCCLS yonetiminin amfoterisin B'ye duyarlı ve dirençli suşları ayırdetmede sorunlu olması ile açıklanabilir (9); nitekim kullanılan RPMI 1640 besiyeri yerine "antibiotic 3 medium"un kullanılmasının bu sorunu çözebileceği bildirilmektedir (25,36).

Araştırmamızda, flusitoxin için bir *C.albicans* suşu ile bir *C.lipolytica* suşunun orta derecede duyarlı bulunmuş olmasına karşın, genel olarak bu antifungal ajanın suşlara etkili olduğu gözlenmiştir. Bir başka çalışmada da flusitoxine MİK değeri >16 µg/ml olan bir *C.albicans* ve bir *C.parapsilosis* suşu bildirilmiştir (4).

Bulgularımıza göre; kan kültürlerinden soyutlanan *Candida* suşlarının, antifungal ajanlara ve özellikle sık kullanılan flukonazol ve amfoterisin B'ye duyarlı olması nedeni ile, kandidemi olgularında bu ajanların güvenle kullanılabileceği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- 1- Abi-Said D, Anaissie E, Uzun Ö, Raad I, Pincowski H, Vartivarian S: The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different *Candida* species, *Clin Infect Dis* 24:1122 (1997).
- 2- Arikán S, Akova M, Hayran M, Özdemir O, Erman M, Gür D, Ünal S: Correlation of in vitro fluconazole susceptibility with clinical outcome for severely ill patients with oropharyngeal candidiasis, *Clin Infect Dis* 26:903 (1998).
- 3- Beck-Saguć CM, Jarvis WR, the National Nosocomial Infections Surveillance System: Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1988-1990, *J Infect Dis* 167:1247 (1993).

- 4- Berenguer J, Fernandez-Baca V, Sanchez R, Bouza E: In vitro activity of amphotericine B, flucytosine and fluconazole against yeasts causing bloodstream infections, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 14:362 (1995).
- 5- Bruun B, Westh H, Stenderup J: Fungemia: An increasing problem in a Danish university hospital 1989 to 1994, *J Clin Microbiol Infect* 1:124 (1995).
- 6- Conly J, Rennie R, Johnson J, Farah S, Hellman L: Disseminated candidiasis due to amphotericin B-resistant *Candida albicans*, *J Infect Dis* 165:761 (1992).
- 7- Ener B, Sımittaş M, Akalın H, Hacımustafaoglu M, Özakın C, Gedikoğlu S, Töre O, Gökürmak F: Nozokomiyal kandidemi etkenlerinin retrospektif analizi, *İnfeksiyon Derg* 12:85 (1998).
- 8- Ermercancı Ş, İnci R, Tümbay E: Kan kültürlerinden soyutlanan *Candida* kökenlerinin flukonazole in vitro duyarlılıkları, *XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi*, Özeti Kitabı No. 12-242, Antalya (1998).
- 9- Espinel-Ingroff A: Clinical relevance of antifungal resistance, *Infect Dis Clin North Am* 11:929 (1997).
- 10- Garcia-Zabarte A, Trevino M, Garcia-Riestra C, Penalver MD, Aguilera A, Regueiro BJ: Candidemia: A retrospective study (abstract), *J Clin Microbiol Infect* 3 (Suppl 2):304 (1997).
- 11- Girmenia C, Martino P: Fluconazole and the changing epidemiology of Candidemia, *Clin Infect Dis* 27:232 (1998).
- 12- Gongora-Rubio F, Maia MICE, Moreira LE, Almeida MTG, Gongora DVN: Nosocomial *Candida* colonization-infections (CI) in a teaching hospital: epidemiology, risk factors, mortality and microbiology (abstract), *J Clin Microbiol Infect* 3 (Suppl 2):305 (1997).
- 13- He X, Tiballi RN, Zarins LT, Bradley SF, Sangeorzan JA, Kauffman CA: Azole resistance in oropharyngeal *Candida albicans* strains isolated from patients infected with human immunodeficiency virus, *Antimicrob Agents Chemother* 38:2495 (1994).
- 14- Hoban D, Balko T, Karlowsky J, Zhanel G: Antifungal activity of voriconazole against fungemic *Candida* species and *Cryptococcus neoformans* isolated from blood cultures of neutropenic patients in a Canadian tertiary care hospital from 1986-1997, *38th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Abstract Book p. 452, San Diego (1998).
- 15- Jarvis WR: Epidemiology of nosocomial fungal infections, with emphasis on *Candida* species, *Clin Infect Dis* 20:1526 (1995).
- 16- Levy I, Rubin LG, Vasishtha S, Tucci V, Sood SK: Emergence of *Candida parapsilosis* as the predominant species causing candidemia in children, *Clin Infect Dis* 26:1086 (1998).
- 17- MacDonald L, Baker C, Chenweth C: Risk factors for candidemia in a children's hospital, *Clin Infect Dis* 26:642 (1998).
- 18- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Reference Method for Broth Dilution Susceptibility Testing of Yeasts*, Approved standard M27-A. NCCLS, Villanova (1997).
- 19- Odds FC, Vranckx L, Woestenborghs F: Antifungal susceptibility testing of yeasts: Evaluation of technical variables for test automation, *Antimicrob Agents Chemother* 39:2051 (1995).
- 20- Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Hollis RJ, Messer SA for the Sentry Participant Group: International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and antifungal susceptibilities of isolates collected in 1997 in the United States, Canada, and South America for the SENTRY program, *J Clin Microbiol* 36:1886 (1998).
- 21- Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN, Doern GV, Brandt ME, Hajjeh RA: In vitro susceptibilities of *Candida* bloodstream isolates to the new triazole antifungal agents BMS-207147, Sch 56592, and voriconazole, *Antimicrob Agents Chemother* 42:3242 (1998).

- 22- Pinner RW, Teutsch SM, Simonsen L, Klug LA, Graber JM, Berkelman RL: Trends in infectious diseases mortality in the United States, *JAMA* 275:189 (1996).
- 23- Price MF, LaRocco MT, Gentry LO: Fluconazole susceptibilities of Candida species and distribution of species recovered from blood cultures over a 5 year period, *Antimicrob Agents Chemother* 38:1422 (1994).
- 24- Rentz AM, Halpem MT, Bowden R: The impact of candidemia on length of hospital stay, outcome, and overall cost of illness, *Clin Infect Dis* 27:781 (1998).
- 25- Rex JH, Cooper CR, Merz WG, Galgiani JN, Anaissie EJ: Detection of amphotericin B-resistant Candida isolates in a broth-based system, *Antimicrob Agents Chemother* 39:906 (1995).
- 26- Rex JH, Pfaller MA, Barry AL, Nelson PW, Webb CD: Antifungal susceptibility testing of isolates from a randomized, multicenter trial of fluconazole versus amphotericin B as treatment of nonneutropenic patients with candidemia, *Antimicrob Agents Chemother* 39:40 (1995).
- 27- Rex JH, Rinaldi MG, Pfaller MA: Resistance of Candida species to fluconazole, *Antimicrob Agents Chemother* 39:1 (1995).
- 28- Ricket H, Andremont A, Roux P, De Champs CH, Esnault Y, the French Study Group of Nosocomial Candida Infections: Incidence of candidemia in French hospitals, *38th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Abstract Book p. 457, San Diego (1998).
- 29- Samet A, Czarniak E: Candida spp. An important pathogen in nosocomial infections (abstract), *J Clin Microbiol Infect* 3 (Suppl 2):304 (1997).
- 30- Sangeorzan JA, Bradley SF, He X, Zarins LT, Ridenour GL, Tiballi RN, Kauffman CA: Epidemiology of oral candidiasis in HIV-infected patients: colonization, infection, treatment, and emergence of fluconazole resistance, *Am J Med* 97:339 (1994).
- 31- Stankiewicz M, Plawiak T, Lukasik M, Przondo-Mordarska: Candida parapsilosis, bloodstream infections, *7th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, Abstract book (809): p 157, Vienna (1995).
- 32- Torres L, Alcala L, Pelaez T, Diaz M, Marin M, Rodriguez-Creixems: Increase in the frequency of antifungal resistance among yeasts isolated from blood cultures over an 8-year period. *38th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Abstract Book p. 459, San Diego (1998).
- 33- Torres-Rodriguez JM, Mendez R, Lopez-Jodra O, Morera Y, Espasa M, Jimenez T, Lagunas C: In vitro susceptibilities of clinical yeast isolates to the new antifungal eberconazole compared with their susceptibilities to clotrimazole and ketoconazole, *Antimicrob Agents Chemother* 43:1258 (1999).
- 34- Vazquez JA, Dembry LM, Sanchez V, Vazquez MA, Sobel JD, Dmuchowski C, Zervos MJ: Nosocomial Candida glabrata colonization: an epidemiologic study, *J Clin Microbiol* 36:421 (1998).
- 35- Voelker R: New group tracks hospitals' drug-resistant bugs, *JAMA* 275:177 (1996).
- 36- Wagner A, Mills K, Nelson PW, Rex JH: Comparison of E test and National Committee for Clinical Laboratory Standards broth macrodilution method for antifungal susceptibility testing: enhanced ability to detect amphotericin B-resistant Candida isolates, *Antimicrob Agents Chemother* 39:2520 (1995).
- 37- Weems JJ: Candida parapsilosis: epidemiology, pathogenicity, clinical manifestations, and antimicrobial susceptibility, *Clin Infect Dis* 14:756 (1992).
- 38- Weems JJ, Chamberland ME, Ward J, Willy M, Padhye AA, Solomon SL: Candida parapsilosis fungemia associated with parenteral nutrition and contaminated blood pressure transducers, *Clin Microbiol* 25:1029 (1987).

- 39- Wenzel RP: Nosocomial candidemia: risk factors and attributable mortality, *Clin Infect Dis* 20:1531 (1995).
- 40- Wey SB, Mori M, Pfaller MA, Woolson RF, Wenzel RP: Hospital-acquired candidemia: the attributable mortality and excess length of stay, *Arch Intern Med* 148:2642 (1988).
- 41- White TC, Marr KA, Bowden RA: Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance, *Clin Microbiol Rev* 11:382 (1998).
- 42- Wingard JR, Merz WG, Rinaldi MG, Johnson TR, Karp JE, Saral R: Increase in *Candida krusei* infection among patients with bone marrow transplantation and neutropenia treated prophylactically with fluconazole, *N Engl J Med* 325:1274 (1991).
- 43- YeeChun C, ShanChwen C, ChunChuan S, Lise Y, WeiChuan H, Kwentay L: Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections at a teaching hospital in Taiwan, 1981 to 1993, *Tropical Dis Bull* 95:64 (1998).