

DNA Determination of *Candida* Species in Blood Cultures of Patients in Oncology Department and Intensive Care Unit in Zanzan Valiasr Hospital, 2017-2018

Hamidreza Asaiyan¹,
Zahra Danshfar²,
Bahareh Lashtoo Aghaee³,
Manijeh Jozpanahi⁴,
Habib Zeighami⁵,
Ahmad Shafizadeh Arjmandi⁶,
Sobhan Bahrani³

¹ Assistant Professor, Department of Infectious Diseases, Ramsar Campus, Mazandaran University of Medical Sciences, Ramsar, Iran

² PhD in Reproductive Health, Ramsar Campus, Mazandaran University of Medical Sciences, Ramsar, Iran

³ Assistant Professor, Ramsar Campus, Mazandaran University of Medical Sciences, Ramsar, Iran

⁴ Associate Professor, Department of Infectious Disease, Faculty of Medicine, Valiasr Hospital, Zanzan University of Medical Sciences, Zanzan, Iran

⁵ Professor, Department of Microbiology and Virology, Faculty of Medicine, Zanzan University of Medical Sciences, Zanzan, Iran

⁶ Specialist in Infectious Diseases, Alghadir Hospital, Zanzan, Iran

(Received June 1, 2022 ; Accepted October 23, 2022)

Abstract

Background and purpose: Candidiasis is one of the most serious problems in adult and neonatal intensive care units. Molecular techniques play a key role in identifying invasive fungal infections and could be of great benefit beside other mycological diagnostic methods such as smear preparation and blood culture. The aim of this study was to detect *candida* species isolated from patients in oncology unit and intensive care unit in Zanzan Valiasr Hospital, Iran.

Materials and methods: In this cross-sectional descriptive study, we examined 154 patients between November 2017 and May 2018. Blood culture was done and PCR was carried out after DNA extraction.

Results: In this study, Candidemia was found to be considerably higher in men with a mean age of 72 years old compared with women. Also, more than one procedure in a patient, fever, and antibiotic treatments were the main underlying factors causing Candidemia. In this study, blood cultures were positive for yeast growth in 2.6% of the patients (*C. albicans* in 1.3%, *C. tropicalis* in 0.65%, and *C. glabrata* in 0.65 %).

Conclusion: *Candida* species are among the main causes of blood infection in patients admitted to intensive care units and death rate of the condition can approach 100% in case of late diagnosis.

Keywords: *Candida*, DNA determination, blood sample

J Mazandaran Univ Med Sci 2022; 32 (215): 169-175 (Persian).

Corresponding Author: Bahareh Lashtoo Aghaee - Ramsar Campus, Mazandaran University of Medical Sciences, Ramsar, Iran. (E-mail: b.aghaee@mazums.ac.ir)

شناسایی گونه های کاندیدا جدا شده از کشت خون بیماران بستری در بخش های انکولوژی و مراقبت های ویژه بیمارستان ولیعصر زنجان سال 97-1396

حمیدرضا عصائیان¹زهرا دانش فر²بهاره لشتوآقایی³منیژه جزیناهی⁴حبیب ضیغمی⁵احمد شفیق زاده ارجمندی⁶سبحان بهرامی³

چکیده

سابقه و هدف: کاندیدمی (عفونت خون ناشی از گونه های کاندیدا) یکی از جدی ترین مشکلات بخش های مراقبت ویژه بزرگسالان و نوزادان است. تکنیک های مولکولی در شناسایی عفونت های قارچی از جایگاه ارزشمندی برخوردار بوده که در کنار روش های تشخیص قارچ شناسی مانند تهیه اسمیر و کشت خون، مفید می باشد. این مطالعه با هدف تعیین گونه های کاندیدا جدا شده از کشت خون بیماران بستری در بخش های انکولوژی و مراقبت های ویژه بیمارستان ولیعصر، انجام پذیرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه توصیفی - مقطعی، 154 بیمار از بخش های انکولوژی و مراقبت های ویژه بیمارستان ولیعصر (عج) زنجان در بازه زمانی آبان 1396 تا اردیبهشت 1397 از نظر کاندیدمی مورد بررسی قرار گرفتند. سپس روی نمونه های خون پس از کشت و استخراج DNA، تست واکنش زنجیره ای پلیمرز یا (PCR) انجام گردید.

یافته ها: در این مطالعه نشان داده شد که کاندیدمی در مردان با میانگین سنی 72 سال به طور چشمگیری بیش از زنان می باشد، به علاوه، نشان داده شد که وجود بیش از یک پراسیجر در بیمار، بروز تب و مصرف آنتی بیوتیک می تواند به عنوان عوامل مهم زمینه ساز در ایجاد کاندیدمی مطرح گردد. نتایج این مطالعه نشان داد که در 2/6 درصد بیماران (کاندیدا آلبیکنس در 1/3 درصد و کاندیدا تروپیکالیس 0/65 درصد و کاندیدا گلابراتا 0/65 درصد) کشت خون از نظر رشد مخمر مثبت بوده است.

استنتاج: گونه های کاندیدا از جمله عوامل مهم ایجاد کننده عفونت خون در بیماران بستری در بخش مراقبت های ویژه می باشند که میزان مرگ و میر ناشی از آن ها در صورت عدم تشخیص به موقع می تواند 100 درصد باشد.

واژه های کلیدی: کاندیدا، شناسایی DNA، کشت خون

مقدمه

مخمرها در حد گونه، در انتخاب داروی ضد قارچ مناسب و جلوگیری از عفونت شدید لازم و ضروری است. روش های تشخیصی متداول که شامل مشاهده

کاندیدمی (عفونت خون ناشی از گونه های کاندیدا) یکی از جدی ترین مشکلات در بخش های مراقبت های ویژه بزرگسالان و نوزادان محسوب می شود (3،2). شناسایی

E-mail: b.aghahae@mazums.ac.ir

مؤلف مسئول: بهاره لشتوآقایی - رامسر: پردیس خودگردان رامسر

1. استادیار، گروه بیماری های عفونی پردیس خودگردان رامسر، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، رامسر، ایران

2. دکتری تخصصی بهداشت باروری، پردیس خودگردان رامسر، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، رامسر، ایران

3. استادیار، پردیس خودگردان رامسر، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، رامسر، ایران

4. دانشیار، گروه بیماری های عفونی، مرکز آموزشی درمانی حضرت ولیعصر، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، ایران

5. استاد، گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، ایران

6. متخصص بیماری های عفونی و گرمسیری، بیمارستان الغدير، زنجان، ایران

تاریخ دریافت: 1401/3/11 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1401/3/18 تاریخ تصویب: 1401/8/1

میکروسکوپی و کشت می باشد به عنوان روش های ضروری و پایه ای در تشخیص محسوب می شوند، اما به دلیل این که فاقد حساسیت هستند می توانند باعث به تعویق افتادن تشخیص بشوند. روش هایی که بر پایه کشت نمی باشند، مانند PCR (Polymerase Chain Reaction) می توانند در شناسایی و تشخیص سریع عفونت های مخمری و در نتیجه شروع درمان مناسب و به موقع کمک کنند (4). روش مولکولی PCR کاملاً ساده و کاربردی می باشد، و بررسی نتایج آزمایشات PCR نمونه خون در یک مطالعه گسترده نشان می دهد که حساسیت و اختصاصیت این روش به ترتیب 95 و 92 درصد است (5). لازم به ذکر است که به کارگیری روش های مولکولی شامل PCR در تشخیص کاندیدیازیس مهاجم می تواند منجر به شناسایی 50 درصد مواردی شود که در تشخیص های روتین قابل شناسایی نیستند (6). در این مطالعه، به تعیین گونه کاندیدا به روش PCR-RFLP در بیماران بستری در بخش های مراقبت های ویژه و انکولوژی بیمارستان ولیعصر زنجان پرداخته شده است.

مواد و روش ها

این مطالعه توصیفی - مقطعی، پس از اخذ کد اخلاق ZUMS.REC.1396.223 از دانشگاه علوم پزشکی زنجان، روند پژوهش آغاز گردید و 154 نفر از بیمارانی که 7 روز و یا بیش تر، در بخش های انکولوژی و مراقبت های ویژه بیمارستان ولیعصر زنجان بستری شده بودند، در بازه زمانی آبان 1396 تا اردیبهشت 1397، مورد مطالعه قرار گرفتند. پس از شروع مطالعه از نمونه های واجد شرایط پس از ارائه توضیحات کامل در مورد مطالعه، از آنها رضایت کتبی اخذ گردید.

اطلاعات دموگرافیک و داده های مربوط به سن، مدت زمان بستری، مدت زمان دریافت آنتی بیوتیک (بتالاکتام، کارباپنم و کینولون ها)، مدت زمان دریافت ضد قارچ (فلوکونازول، کاسپوفانژین) بر اساس داده های ثبت شده در پرونده های بیماران جمع آوری گردید.

نمونه گیری و کشت: نمونه خون بیماران (5 سی سی) در شرایط استریل اخذ گردید، و در مرحله بعد نمونه با حفظ شرایط استاندارد به آزمایشگاه قارچ شناسی منتقل شد، در آزمایشگاه قارچ شناسی با استفاده از کشت نمونه ها روی محیط افتراقی کروم آگار (CHROMagar company, Paris, France) گونه های مهم کاندیدا با ایجاد رنگ های متنوع از یکدیگر افتراق داده شدند. سپس کلنی های مخمری با استفاده از لوپ استریل از محیط کشت برداشت شده و برای انجام بررسی های تکمیلی که شامل تست مولکولی PCR RFLP و PCR (Polymerase Chain Reaction) (Restriction Fragment Length Polymorphism) می باشد، ژنوم آنها استخراج گردید.

استخراج ژنوم و بررسی مولکولی: به منظور استخراج DNA ژنومی از روش فنل کلروفرم استفاده گردید (7). پس از استخراج DNA، محصول به دست آمده از نظر تعیین درجه غلظت DNA استخراج شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت بررسی مولکولی از آزمایش واکنش زنجیره ای پلیمرز یا PCR استفاده گردید. پرایمرهای مورد استفاده قرار گرفته شامل 5'-TCC GTAGGT GAA CCT GCG G-3'، ITS-1 و 5'-TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'، ITS4 می باشند (8). تعیین گونه های کاندیدا: با استفاده از RFLP-PCR گونه های مختلف کاندیدیایی از یکدیگر افتراق داده شدند (9). این روش براساس تقویت قطعات هدف در DNA ریپوزومی توسط PCR با به کارگیری پرایمرهای یونیورسال ITS1، ITS4 و سپس برش محصولات تقویت شده با PCR توسط آنزیم محدود الاثر Msp1 می باشد. در پایان اندازه قطعات DNA پس از الکتروفورز آنها روی ژل آگارز 1/8 درصد مشخص گردید. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS ورژن 16 انجام شد. توصیف متغیرهای کمی با استفاده از شاخص های مرکزی و پراکندگی و توصیف داده های کیفی با استفاده از درصد فراوانی گزارش گردید.

یافته ها و بحث

مطالعات انجام شده در نقاط مختلف جهان شیوع کاندیدمی را بین 2 تا 13 درصد از بیماران بستری شده در بخش مراقبت های ویژه معرفی کردند (10-14). به علاوه، مطالعاتی نیز وجود دارد که نشان می دهد بروز گونه های غیر شایع کاندیدا در اطفال، نوزادان و کودکان با ریسک بالا رو به افزایش است (10). بنابراین به کارگیری روش های مختلف جهت شناسایی و تشخیص کاندیدمی نقش بسزایی در حفظ جان بیماران خصوصاً افرادی که در بخش مراقبت های ویژه و انکولوژی بستری هستند، ایفا می کند.

در این مطالعه 154 بیمار مورد بررسی قرار گرفت. میانگین سن بیماران در این مطالعه $63/84 \pm 17$ سال (حداقل سن 15 و حداکثر 91 سال) بوده است که 57/1 درصد (88 نفر) آن ها مرد و 42/9 درصد (66 نفر) آن ها زن بودند. مدت زمان بستری آن ها حداقل 7 روز و حداکثر 37 روز، و مدت دریافت آنتی بیوتیک در بیماران حداقل و حداکثر 4 و 37 روز بوده است. 49/4 درصد (76 نفر) در بخش آی سی یو و 50/6 درصد (78 نفر) از آن ها در بخش انکولوژی بستری بودند و هیچ یک از بیماران بررسی شده در این مطالعه تا روز نمونه گیری تغذیه وریدی نشده بودند. 51/9 درصد (80 نفر) از بیماران در روز گرفتن نمونه خون تب دار بودند و نوتروپنی خفیف¹ در 17/5 درصد (27 نفر) آن ها وجود داشت. پراسیجرهای انجام شده برای بیماران شامل انتوباسیون، کاتتر ورید مرکزی، کاتتر ادراری، ان جی تیوب، تراکتوستومی، همودیالیز و ... بوده است. در این میان بیش ترین پراسیجر، انتوباسیون با فراوانی نسبی 31/2 درصد بوده است. بیش از نیمی از بیماران در این مطالعه (52/6 درصد) به دلیل کانسر بستری شده بودند، سپس 14/9 درصد و پنومونی (13/6 درصد) در رتبه های دوم و سوم قرار داشتند. روش های متداول مبتنی بر کشت به

دلیل عدم وجود حساسیت لازم می توانند، منجر به تاخیر و یا عدم تشخیص کاندیدمی بشوند، بنابراین با توجه به میزان مرگ و میر بالا، به کارگیری روش های مولکولی به دلیل حساسیت و اختصاصیت بالا به منظور تشخیص به موقع و متعاقب آن، درمان در زمان مناسب در حل این مشکل کمک کننده می باشد (11).

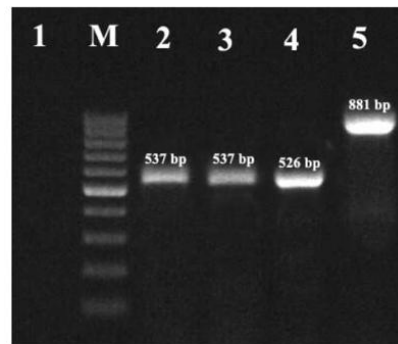
در بیماران سرطانی به دلیل اهمیت زیاد تشخیص، از میان روش های مولکولی، به کارگیری روش Matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) به عنوان سریع ترین و قوی ترین تکنیک تشخیصی مخمرهای ایزوله شده از نمونه های مختلف محسوب می شود (12). نتایج حاصل از مطالعه نشان داد که در 2/6 درصد بیماران (کاندیدا آلیکنس در 1/3 درصد و کاندیدا تروپیکالیس 0/65 درصد و کاندیدا گلابراتا 0/65 درصد) کشت خون از نظر رشد مخمر مثبت بوده است (جدول شماره 1).

جدول شماره 1: مقایسه بیماران مبتلا به کاندیدمی و غیر کاندیدمی از نظر جنسیت، بیماری زمینه ای، تب، نوتروپنی، علت بستری، محل بستری

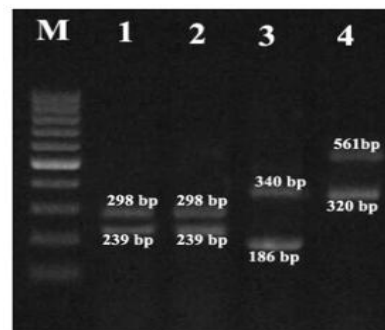
سطح معنی داری	کاندیدمی		جنسیت
	مثبت	منفی	
0/133	66	0	زن
	84	4	مرد
0/314	63	3	بیماری سیستمیک +
	87	1	-
0/121	76	4	تب +
	74	0	-
0/459	27	0	نوتروپنی (Mild) $1-1/8 \times 10^9/L$ neut count: +
	123	4	-
0/051	70	4	پنومونی +
	80	0	-
0/057	78	0	بخش بستری +
	72	4	انکولوژی + بخش مراقبت های ویژه
0/009	44	4	انتوباسیون +
	106	0	-
0/310	102	4	مولتی پروسیجر +
	48	0	-
0/550	21	0	شد قارچ (فلوکازول، کاسپوفازین) +
	129	4	-
0/540	128	4	آنتی بیوتیک (بتا لاکتام، کارباپنم، کینولون ها) +
	22	0	-
0/041	66	4	مرگ +
	84	0	-

1. Neutropenia means reduction in peripheral blood neutrophil count which is divided into three category: "mild" ($1.0 - 1.8 \times 10^9/L$), "moderate" ($0.5 - 1.0 \times 10^9/L$), or "severe" (less than $0.5 \times 10^9/L$).

تصویر شماره 1، نتیجه PCR انجام شده را نشان می‌دهد و تصویر شماره 2، نتایج حاصل از PCR-RFLP گونه‌های عامل کاندیدی را به نمایش می‌گذارد.



تصویر شماره 1: تصویر محصول PCR نمونه‌های کشت مثبت با استفاده از پرایمرهای ITS-4. چاهک 1: نمونه کنترل منفی، M: مارکر 100bp، چاهک 1 و 2: کاندیدا آلیکنس، چاهک 3: کاندیدا تروپیکالیس، چاهک 4: کاندیدا گلابراتا



تصویر شماره 2: تصویر محصول PCR-RFLP نمونه‌های ایزوله شده. چاهک M: مارکر 100bp، چاهک 1 و 2: کاندیدا آلیکنس، چاهک 3: کاندیدا تروپیکالیس، چاهک 4: کاندیدا گلابراتا

درصد موارد تب‌دار بوده‌اند، این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبوده است. هیچ‌کدام از بیماران با کاندیدی، نوتروپنی Mild نداشته‌اند (جدول شماره 1).

در مطالعه حاضر شیوع کاندیدی در بیماران بستری شده در مجموع بخش‌های انکولوژی و بخش مراقبت‌های ویژه 2/6 درصد بوده است. میانگین سنی بیماران مبتلا به کاندیدی در مطالعه برگاماسکو و همکاران از 25 سال در افراد مبتلا به لوسمی و 45 سال در مطالعه عیسی گل و همکاران تا 65 سال در مطالعه الیف تی تیگن در ترکیه متغیر بوده است (13-15). در مطالعه حاضر میانگین سنی مبتلایان به کاندیدی 72 سال و در گروه مقابل 63/6 سال بوده است و با مطالعات مطابقت دارد.

آنالیز داده‌ها نشان می‌دهد 74/36 درصد از بیماران بستری در بخش‌های انکولوژی که بروز کاندیدی در آن‌ها صفر بوده است، در روز نمونه‌گیری آنتی‌بیوتیک مصرف می‌کردند و شیوع مصرف آنتی‌بیوتیک در بخش مراقبت‌های ویژه با اختلاف آماری معنی‌داری 97/37 درصد بوده است. در پرونده هیچ یک از مبتلایان به کاندیدی در این مطالعه مصرف ضد قارچ به ثبت نرسیده بود، در حالی که در 14 درصد از بیماران گروه مقابل، مصرف آن ثبت شده بود، که در بررسی مجدد پرونده‌های بیماران، موکوزیت دهان، ازوفازیت و کاندیدیوزی علل تجویز ضد قارچ بوده است. به عبارتی دیگر فراوانی نسبی تجویز این داروها در بخش مراقبت‌های ویژه 3/95 درصد و در بخش انکولوژی 23/1 درصد بوده است و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار هم بوده است. در 90/79 درصد بستری شدگان در بخش مراقبت‌های ویژه بیش از یک مورد پراسیجر انجام شده بود، در حالی که این رقم در بخش‌های انکولوژی 47/44 درصد بود.

در مطالعه ین مو وو، ماتئو باستی و عیسی گل شایع‌ترین عامل خطر کاندیدی کانسر عنوان شده است، ولی در این مطالعه هیچ یک از بیمارانی که در دوره بستری خود دچار کاندیدی شدند، کانسر نداشتند، یکی از عللی که بیماران مبتلا به کانسر بستری

تمام موارد PCR مثبت برای کاندیدا (4 نفر) بیش از یک مورد پراسیجر داشتند. 70/6 درصد از PCR منفی‌ها هم بیش از یک پراسیجر (انتوباسیون، کاتتر ورید مرکزی، کاتتر ادراری، آن جی تیوب، تراکئوستومی، همودیالیز و ...) داشته‌اند. به علاوه، 100 درصد بیمارانی که پی سی آر آن‌ها از نظر کاندیدا مثبت بوده است، تب‌دار نیز بوده‌اند، اما بیماران بدون کاندیدی در 50/7

مرگ و میر در سایر بیمارانی که بیش از شش روز در بخش های انکولوژی و بخش مراقبت های ویژه بیمارستان حضرت ولیعصر زنجان بستری بودند 44 درصد بوده است و این اختلاف از نظر آماری هم معنی دار بوده است.

نتایج این مطالعه نشان داد که گونه های کاندیدا (کاندیدا آلیکنس بیش از بقیه گونه ها) از جمله عوامل مهم ایجادکننده عفونت خون در بیماران بستری در بخش مراقبت های ویژه می باشند، که میزان مرگ و میر ناشی از آنها در صورت عدم تشخیص به موقع توسط روش های کارآمد، متأسفانه می تواند 100 درصد باشد. از محدودیت های مطالعه می توان به کوتاهی دوره اجرای طرح و عدم پوشش بخش مراقبت های ویژه جراحی، سوختگی و اطفال اشاره نمود.

در بخش های انکولوژی دچار کاندیدی می نشدند می تواند دست چین شدن بیماران این بخش باشد (14، 16، 17). به عبارتی دیگر، اغلب بیماران این بخش بد حال نبوده و فقط جهت شیمی درمانی بستری می شوند، طولانی شدن بستری در این بخش به دلیل عوارض بعد از شیمی درمانی آنهاست و در واقع بیشتر بیماران مبتلا به کانسر با شرایط بحرانی در بخش داخلی بیمارستان بستری شده بودند، که در این مطالعه وارد نشدند.

مطالعات مختلف رقم های متفاوتی را در مورد میزان مرگ و میر کاندیدی در بخش مراقبت های ویژه گزارش کرده اند که از 5 تا 71 درصد متغیر بوده است (14، 18).

در این مطالعه 100 درصد بیمارانی که به کاندیدی دچار شدند، متأسفانه فوت شدند، در حالی که میزان

References

1. Mosadeghrad A, Afshari M, Isfahani P. Prevalence of Nosocomial Infection in Iranian Hospitals: A Systematic Review and Meta- Analysis. IRJE 2021; 16(4): 352-362.
2. Duce G, Fabry J, Nicolle L. Prevention of hospital-acquired infections: a practical guide. 2thed. Geneva, Switzerland: WHO; 2002.
3. Rangel-Frausto MS, Wiblin T, Blumberg HM, Saiman L, Patterson J, Rinaldi M, et al. National epidemiology of mycoses survey (NEMIS): variations in rates of bloodstream infections due to Candida species in seven surgical intensive care units and six neonatal intensive care units. Clin Infect Dis 1999; 29(2): 253-258.
4. White PL, Price JS, Cordey A, Backx M. Molecular diagnosis of yeast infections. Curr Fungal Infect Rep 2021; 15(3): 67-80.
5. Avni T, Leibovici L, Paul M. PCR diagnosis of invasive candidiasis: systematic review and meta-analysis. J Clin Microbiol 2011; 49(2): 665-670.
6. Eskandari A, Mesbah Namin Sar, Yadgari Mh. Identification Of Important Pathogenic Yeast Candida Species In Acute Candidiasis Using Pcr. Kowsar Med J 2008; 13(2): 115-124.
7. Köchl S, Niederstätter H, Parson W. DNA extraction and quantitation of forensic samples using the phenol-chloroform method and real-time PCR. Methods Mol Biol 2005; 297: 13-30.
8. Liu ZY, Sheng RY, Li XL, Li TS, Wang AX. Nosocomial fungal infections, analysis of 149 cases. Zhonghua Yi Xue Za Zhi 2003; 83(5): 399-402.
9. Mirhendi S, Kordbacheh P, Kazemi B, Samiei S, Pezeshki M, Khoramizadeh MR. A PCR-RFLP method to identification of the important opportunistic fungi: Candida species, Cryptococcus neoformans, Aspergillus fumigatus and Fusarium solani. Iranian J Publ Health 2001; 30(3-4): 103-106.

10. Ahangarkani F, Shokohi T, Rezai MS, Ilkit M, Mahmoodi Nesheli H, Karami H, et al. Epidemiological features of nosocomial candidaemia in neonates, infants and children: a multicentre study in Iran. *Mycoses* 2020; 63(4): 382-394.
11. Ahangarkani F, Badali H, Rezai MS, Shokohi T, Abtahian Z, Nesheli HM, et al. Candidemia due to *Candida guilliermondii* in an immuno-compromised infant: a case report and review of literature. *Curr Med Mycol* 2019; 5(1): 32-36.
12. Shokohi T, Aslani N, Ahangarkani F, Meyabadi MF, Hagen F, Meis JF, et al. *Candida infanticola* and *Candida spencermartinsiae* yeasts: Possible emerging species in cancer patients. *Microb Pathog* 2018; 115: 353-357.
13. Bergamasco MD, Garnica M, Colombo AL, Nucci M. Epidemiology of candidemia in patients with hematologic malignancies and solid tumours in Brazil. *Mycoses* 2013; 56(3): 256-263.
14. Aysegul Ulu Kilic A, Alp E, Cevahir F, Ture Z, Yozgat N. Epidemiology and cost implications of candidemia, a 6-year analysis from a developing country. *Mycoses* 2017; 60(3): 198-203.
15. Tukenmez Tigen E, Bilgin H, Perk Gurun H, Dogru A, Ozben B, Cerikcioglu N, et al. Risk factors, characteristics, and outcomes of candidemia in an adult intensive care unit in Turkey. *Am J Infect Control* 2017; 45(6): e61-e63.
16. Wu YM, Huang PY, Lu JJ, Shie SS, Ye JJ, Wu TS, et al. Risk factors and outcomes of candidemia caused by *Candida parapsilosis* complex in a medical center in northern Taiwan. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2018; 90(1): 44-49.
17. Bassetti M, Merelli M, Ansaldi F, de Florentiis D, Sartor A, Scarparo C, et al. Clinical and therapeutic aspects of candidemia: a five year single centre study. *PLoS One* 2015; 10(5): e0127534.
18. O'Leary RA, Einav S, Leone M, Madách K, Martin C, Martin-Loeches I. Management of invasive candidiasis and candidaemia in critically ill adults: expert opinion of the European Society of Anaesthesia Intensive Care Scientific Subcommittee. *J Hosp Infect* 2018; 98(4): 382-390.