

Ocak-Mart 2002

DERİN MİKOZ LABORATUARINDA TÜR DAĞILIMI; KANTARCIOĞLU VE YÜCEL

7

MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI DERİN MİKOZ LABORATUARINDA 01 NİSAN 1999- 27 MART 2001 ARASINDA AYRILAN MAYA VE KÜFLERİN TÜR DAĞILIMLARI VE DUYARLILIK PATERNİ *

A. Serda KANTARCIOĞLU, Ayhan YÜCEL

Background and Design.- The purpose of this study was to characterize the species distribution and antifungal susceptibility patterns of yeast and mold strains isolated at deep mycoses laboratory, Department of Microbiology and Clinical Microbiology. The species distribution and antifungal susceptibility patterns of the clinically significant yeast and mold isolates recovered from deep mycoses suspected patients' specimens over a two year period were determined against amphotericin B, fluconazole, itraconazole, ketoconazole, miconazole, flucytosine and terbinafine using the M27-A and M38-P reference methods.

Results.- A total of 146 yeast and 12 mould strains were isolated. *C. albicans* strains was %66.4 (97/146), and non-albicans *Candida* species were %33.6 (49/146). The frequency of various yeast species identified was *Candida catenulata* 1 (0.7%), *C. glabrata* 6 (4.1%), *C. kefyr* 4 (2.7%), *C. krusei* 6 (4.1%), *C. lipolytica* 3 (2.0%), *C. lusitanae* 1 (0.7%), *C. parapsilosis* 8 (5.5%), *C. rugosa* 2 (1.4%), *C. tropicalis* 12 (8.2%), *M. furfur* 1 (0.7%), *T. beigeli* 3 (2.0%), *Cryptococcus neoformans* 2 (1.4%). The frequency of mold species identified *Aspergillus flavus* 4 (33.3%), *A. fumigatus* 2 (16.6%), *A. niger* 3 (25%), *A. versicolor* 1 (8.3%), *Cladosporium cladosporioides* 1 (8.3%), *Scopulariopsis candida* 1 (8.3%) and *Cladosporium* sp 1 (8.3%). Resistance to fluconazole (MIC > or = 64 micrograms/ml) as per NCCLS criteria was observed in 21 *C. albicans* (21.6%), 19 non-albicans *Candida* strains (38.8%); resistance to itraconazole (MIC > or = 1 micrograms/ml) in 31 *C. albicans* (32.2%), 15 non-albicans *Candida* strains (30.6%) and resistance to flucytosine (MIC > or = 32 micrograms/ml) in 5 *C. albicans* (5.1%), 7 non-albicans *Candida* strains 7 (14.3%).

Conclusion.- The present study indicates that *Candida* sp. are emerging as important pathogens in immunocompromised patients and the tendency of yeasts to develop resistance to antifungal agents

and the appearance of species/strain specific susceptibility of molds, in vitro tests seem to be useful for patient management.

Kantarcıoğlu SA, Yücel A. The species distribution and antifungal susceptibility pattern of yeasts and molds isolated in the Department of Microbiology and Clinical Microbiology Deep Mycoses Laboratory between 01 April 1999-27 March 2001. Cerrahpaşa J Med 2002; 33: 7-19.

Mantarların doğada yaygın olarak bulunmalarına karşın insanın yüksek doğa direnci sebebiyle sağlıklı kişilerde derin mikoz oluşturmaları oldukça zordur. Bu sebeple yakın zamanlara kadar dermatomikoz, onikomikoz, otomikoz, keratit gibi ciddi morbidite ve mortalite sebebi olmayan yüzeysel infeksiyonlara yol açmışlardır. Oysa son yıl-

larda bağışıklığı baskılanmış hastalarda sistemik mikozların prevalansının değiştiği, yaşamı tehdit eden komplikasyonlar olarak başlıca morbidite ve mortalite sebebi olduğu bildirilmektedir. Bu konunun öncelikle gözlemlendiği hasta grubu hematolojik maligniteli ve kemik iliği nakli olan hastalar olmuştur. Bu sebeple başlangıçta bu mantarların sadece nötroopenik hastalarda ö-

1,2

* *Anahtar Kelimeler:* Derin mikoz etkenleri, Mantar türleri, Antifungallere direnç, Duyarlılık paterni; *Key Words:* Deep mycoses, Agents, Antifungal resistance, Susceptibility pattern; *Alındığı Tarih:* 21 Mayıs 2001; Dr. A. Serda Kantarcıoğlu, Prof. Dr. Ayhan Yücel: İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı; *Yazışma Adresi (Address):* Dr AS Kantarcıoğlu, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 34303, Cerrahpaşa, İstanbul. <http://www.ctf.istanbul.edu.tr/dergi/online/2002v33/s1/021a1.pdf>

nemli olabileceği düşünülmüşse de geçen zaman içerisinde bağışıklığı bozuk diğer hasta gruplarında da ortaya çıktığı görülmüştür.³⁻⁶ Organ nakli alanlar (özellikle bağışıklığın baskılandığı transplantasyon sonrası dönemde); malign tümörlü hastalar (özellikle lösemi ve lenfoma); bağışıklık ve metabolizma düzenini zayıflatan çeşitli etkilere maruz kalanlar (sistemik lupus erythematosus ve diğer kollagen vasküler has-

göre farklı belirtiler ve klinik sonuçlarla seyrettiği, etkenin tanınım zaman ve uzmanlık gerektirdiği anlaşılmaktadır. Böylece eskiden yalnızca *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Penicillium marneffei* gibi birkaç türle sınırlı kabul edilen “primer patojen mantar” kavramının bugün artık kapsamının genişlediği ve önceden saprofit olarak düşünülen *Aspergillus*

talıklar, diabetes mellitus ile alkol ve diğer damar içi ilaç kullanıcılar); yapay protez kullananlar; çeşitli destek tedavileri alan yoğun bakım hastaları büyük ölçüde mantar enfeksiyonu alma riski taşımaktadırlar.⁷ Özellikle yakın zamanlarda dikkati çeken uzun süreli nütropeninin, yoğun bakımda kalmanın, solid tümör veya AIDS tedavisi alanların ve organ nakli yapılmış kişilerin risk altında oldukları; AIDS'in ve sitotoksik kemoterapinin yaygınlaşmasıyla lösemi ve diğer kanserlilerde yaşamı tehdit eden fakat tanımı ve tedavisi zor ve dolaşımıyla prognozu kötü olan endojen veya eksojen kaynaklı mantar enfeksiyonlarının görülme sıklığının arttığı; lösemi hastalarında enfeksiyona bağlı ölümlerin %25'inin sebebinin derin mikozlar olduğu; vücut direnci kırılmış kimselerde derin mikoz etkeni olarak çeşitli cinslerden toprak saprofiti ve/veya çürükçül mantarların giderek daha sıklıkla ayrıldığı; bu enfeksiyonların klinik ve laboratuvar tanımının duyarlı ve özgül olmadığı, erken tanımın genelde çok sınırlı kaldığı yönündeki bildirimlerin sayısı da dikkati çekecek biçimde artmaktadır.

Bağıışıklığı baskılanmamış kişilerdeki derin mikozlara ilişkin bildirimler incelendiğinde ise etkenlerin virülen *Cryptococcus neoformans* kökenlerinden başka, ekseri çeşitli türlerden feoid veya hiyalen hifomisetler yani hifli mantarlar olduğu, enfeksiyonun mantarın giriş kapısına, virülansına ve tutulum yerine

fumigatus ve başka hifomisetlerin de bu grupta değerlendirilmeye başlandığı dikkati çekmektedir.⁸⁻¹¹

Diğer yandan profilaksi ve tedavide kullanılan antifungal sayısı henüz oldukça sınırlıdır; ampirik tedavide altın standart gözüyle bakılan amfoterisin B'nin uzun süreli kullanımında böbreklerde yan etkilerinin görülmesi, azol antifungallere intrensek veya kazanılmış direnç bildirimleri^{2,12-15} ile ilgili yayınların da sayısı giderek artmaktadır.

1990'a kadar fazla antifungal seçeneğinin bulunmadığı ve henüz klinik uyumluluğu araştırılmış in vitro duyarlılık deneylerin sınırlı olduğu ve edinilmiş ilaç direncinin klinik başarıyı etkileyen önemli bir etmen olduğunun ortaya konmamış olması dolayısıyla azollerin kullanıma girmesinden önce antifungal duyarlılık deneyleri için klinik gereksinim duyulmamıştır. Antifungal ilaçlarda seçeneklerin az olmasının yanı sıra; 1980'lere kadar ayrılan mikoz etkenlerinin sınırlı olması; antifungal ilaçlara karşı direncin fazla görülmemesi; *Candida albicans*'ın başlıca patojen olarak kullanılan antifungallere duyarlılığını koruması gibi durumlar da giderek değişmiştir.¹⁴⁻¹⁶ Antifungal duyarlılık deneyleri, ayrılan mantara en etkili ve en dar etki alanına sahip en iyi antifungalın seçimine olanak tanır. Birden çok ilaç seçeneğinin bulunduğu veya kökenin bazı ilaçlara direnç geliştirmesi durumunda bu deneyler yararlı görülmektedir.

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)'in önce mayalar için standart referans yöntemi (M27-A) ortaya koyması ve Rex ve ark. nın ¹⁷ özellikle flukonazol (FKZ) ve itrakonazol (İTZ)'ün *Candida* türleri karşısındaki *breakpoint*'lerini yorumlamalarından sonra hifli mantarlar için öngörülen standart yöntem (M38-P) eklenmiştir. ^{18,19} Bugün artık klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında geniş bir yelpazedeki mayalar ve küfler için güvenilir in vitro duyarlılık testlerinin yapılması mümkün hale gelmiştir. ^{17,20}

Bu çalışmanın amacı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kliniklerinden Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Derin Mikoza Laboratuvarına gönderilen klinik örneklerdeki mantar türlerinin spektrumunu ve ayrılan maya ve küflerin antifungal duyarlılık paternini karakterize etmektir.

YÖNTEM VE GEREÇLER

Bu çalışmada, 01 Nisan 1999–27 Mart 2001 arasında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi çeşitli kliniklerinden Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Derin Mikoza Laboratuvarına gönderilmiş olan klinik örneklerden ayrılan maya ve küfler incelenmiştir. İki yıllık bir dönemde, farklı kliniklerdeki derin mikoz şüpheli hastalardan (176 kadın, 201 erkek, yaş aralığı <1-79, ortalama yaş 39) alınan toplam 384 çeşitli örnek laboratuvarımıza gönderilmiştir. Örnekler 23 BOS, 6 konjunktiva sürüntüsü, 1 vitröz sıvı, 14 kulak aspirasyonu, 11 burun salgısı, 8 boğaz/farinks salgısı, 72 balgam, 42 BAL, 11 plevra sıvısı, 1 plevral empiyem, 46 ağız boşluğu, 3 mide aspiratı, 22 dışkı, 11 periton diyaliz sıvısı, 38 idrar, 5 vagina salgısı, 2 üretra salgısı, 6 kan, 3 perikard sıvısı, 36 abse/pü, 18 biyopsi, 1 deri kazıntısı, 2 deriden eksüda, 1 kateter, 1 sinovyal sıvıdan oluşmaktadır.

kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) (1, %0.3), akciğerde nodül/kaviterler (8, %2.2), akut miyeloid lösemi (AML) (7, %2), akut lenfositik lösemi (ALL) (12, %3.4), multipl miyelom (2, %0.06), nötropeni (11, %3.1), kanser (6, %1.7), akciğer kanseri (12, %3.4), kronik böbrek yetmezliği (6, %1.8), nefropati (2, %0.6), hemodiyaliz (3, %0.9), katı organ nakilleri (2, %0.6), cerrahi girişim (7, %2), yoğun bakım ünitesinde yatış (2, %7), üriner kateter (11, %3.1), kemoterapi (7, %2), radyoterapi (4, %1.1), trombotik trombositopenik purpura (TTP) (1, %0.3), diabetes mellitus (14, %4), uzun süreli / geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı (75, %21.3), kortikosteroidler (12, %3.3), Behçet hastalığı (3, %0.9), kronik lezyonlar / ülserleşmeler (7, %2), beyaz plaklar (7, %2), gebelik (3, %0.9), nekroz (2, %0.6)'dur.

Örnekler Sabouraud dekstroza agar, çukolata agar, Brain Heart Infusion agar plaklarda ayrıldıktan sonra maya ve küf mantarları tanım için kendi grupları içinde tarif edilmiş klasik mikoloji yöntemlerine uygun biçimde morfoloji, fizyoloji ve eşey özellikleri incelenerek tanımlanmıştır. ²¹⁻²⁸

Verilerin değerlendirilmesinde; uygun muayene maddelerinde etkenin varlığının gösterilmesine ve bunun kültürdeki üreme ile doğrulanmasına özen gösterilmiş; pozitif klinik belirti ve bulgularla (radyografi veya patoloji) uyumluluk titizlikle dikkate alınmıştır. İdrar kültürlerinde 10^{3-10} CFU/ml arasındaki koloni sayısı ile birlikte hastanın cinsiyeti ile genel durumu ve örnekte lökosit görülmesi göz önünde tutulmuştur.

Kökenlerin amfoterisin B (ampB), flukonazol (FKZ), itrakonazol (İTZ), ketokonazol (KTZ), mikonazol (MKZ), flusitozin (5-FC) ve terbinafin (TBF) karşısındaki antifungal duyarlılıkları mayalar ve küfler için sırasıyla NCCLS M27-A ve M38-P makrodilüsyon yöntemlerine göre belirlenmiştir. ^{18,19} *Malassezia furfur* için yöntem modifiye edilmiş şekilde uygulanmıştır. ^{29,30} Miselli mantarlar için inokulum hazırlanmasında konidyum asıntısı kullanılmıştır. Azoller ve 5-FC için L-glutamin (0.300 ml/L) eklenmiş sodyumbikarbonatsız RPMI 1640 besiyeri ve ampB

Predispozan sebepler ve altta yatan hastalıklar geçirilmiş tüberküloz (11, %3.1),

için Antibiotic Medium M-3 besiyeri 0.165 M morfolinepropanesulfonik asit (MOPS) ile

Tablo I. Maya Kökenlerinin (n=146) Denenen Yedi Antifungal Madde Karşısında Referans Makrodilüsyon Yöntemi (M27-A) ile Belirlenen MIC Aralıkları

Mantar türleri	MIC ARALI KLARI (mg/ml)						
	ampB	FK	İT	KT	MK	5FC	TBF
<i>Candida albicans</i> (n=97)	<0.03->16	<0.125->64	<0.03->16	<0.03->16	<0.03->16	<0.125->64	<0.03->128
<i>C. catenulata</i> (n=1)	8	>64	0.5	2	>16	0.5	4
<i>C. glabrata</i> (n=6)	0.06-16	>64	<0.03->16	<0.03->16	<0.03->16	1-16	2-8
<i>C. kefyr</i> (n=4)	2-4	0.5->64	0.125-1	<0.03->16	<0.03-8	0.125-2	0.125->
<i>C. krusei</i> (n=6)	0.5->16	>64	0.5->16	0.06->16	0.125->16	0.125->16	<0.03->128
<i>C. lipolytica</i> (n=3)	0.06-0.5	0.125-2	<0.03-0.5	0.125-16	<0.03-1	0.125-1	0.06->128
<i>C. lusitanae</i> (n=1)	>16	>64	8	8	>16	2	>128
<i>C. parapsilosis</i> (n=8)	<0.03-1	<0.125-1	0.125-0.5	2-16	0.25-1	0.25	2-4
<i>C. rugosa</i> (n=2)	1	4	0.06-0.25	<0.03-0.125	0.5-4	<0.125-0.25	0.06-0.5
<i>C. tropicalis</i> (n=12)	0.5->16	>64	<0.03->16	0.125->16	2->16	<0.125-32	32->128
<i>Malassezia furfur</i> (n=1)	0.5	2	0.125	0.06	16	0.125	16
<i>Trichosporon beigeli</i> (n=3)	16	0.25->64	0.03-8	0.06->16	0.125-16	2-32	1-128
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	>64	4

tamponlanarak (pH 7.0±0.1), %2 glukoz katılarak hazırlanmıştır. Maya ve miselli mantarlar için NCCLS belgelerinde önerilen kalite kontrol kökenleri ve referans kökenleri kullanılarak ön deneyler yapıldıktan sonra klinik kökenler deneye alınmıştır. Her deney serisinde mayalar için *Candida albicans*

BULGULAR

İki yıllık dönemde derin mikoz şüpheli hasta materyallerinden ayrılan toplam olarak 146 maya ve 12 hifli mantar kökeni, klasik mikoloji yöntemleri kulla-

ATCC 90028 ve küfler için *Paecilomyces variotii* ATCC 36257 kökenleri kontrol olarak kullanılmıştır. Bütün kökenlerin antifungal duyarlılıkları hastadan ayrıldıktan sonra bekletilmeden incelenmiş; şüpheli durumlarda deneyler tekrarlanmıştır.

Candida türlerinin ampB, FK, İT ve 5FC karşısındaki duyarlılıklarının yorumlanmasında ve direnç sınırlarının belirlenmesinde referans M27-A belgesinde bildirilen kaynaklara ¹⁷ uyulmuş; diğer antifungaller ve deneye aldığımız bir kısım mantarlar için henüz direnç sınırları bilinmediğinden, hazırlanan ilaç seyreltmelerinin en yüksek yoğunluğunda baskılanmama durumu “yüksek MIC değeri” ve ilaçsız kontrol tüpünde üreme olmasına rağmen en düşük yoğunlukta ürememe durumu da “düşük MIC değeri” olarak değerlendirilmiştir.

nılarak tür düzeyinde tanımlanmıştır. *Candida* türleri ayırdığımız mantarlar arasında ilk sırada yer almış, çeşitli mayaların karşılaşma sıklığı *C. albicans* 97 (%66.4), *C. albicans* dışı *Candida* türleri 43 (%29.5), *Candida* dışı mayalar 6 (%4.1)’dir.

Ayrılan çeşitli maya türlerinin karşılaşma sıklığı *C. catenulata* 1 (%0.7), *C. glabrata* 6 (%4.1), *C. kefyr* 4 (%2.7), *C. krusei* 6 (%4.1), *Clipolytica* 3 (%2.0), *C. lusitaniae* 1 (%0.7), *C. parapsilosis* 8 (%5.5), *C. rugosa* 2 (%1.4), *C. tropicalis* 12 (%8.2), *M. furfur* 1 (%0.7), *T. beigelii* 3 (%2.0), *Cryptococcus neoformans* 2 (%1.4)’dir. Ayrılan küf mantarlarının sıklığı *Aspergillus flavus* 4 (%33.3), *A. fumi-*

Tablo II. Hifomiset Kökenlerinin (n=12) Denenen Yedi Antifungal Madde Karşısındaki Referans Makrodilüsyon Yöntemi (M27-A) ile Belirlenen MIC Aralıkları

	4->16	16->128	0.5-32	0.5-16	0.5-16	0.5->64	<0.03->128
<i>Aspergillus flavus</i> (n=4)							
<i>A. fumigatus</i> (n=2)	8	128	32	8->16	>16	>64	0.25-8
<i>A. niger</i> (n=3)	4-8	32-128	0.25-0.5	8->16	2->16	32->64	32->128
<i>A. versicolor</i> (n=1)	<0.03	64	1	0.5	0.125	1	8
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (n=1)	0.25	0.5	0.5	2	1	0.25	8
<i>Cladosporium</i> sp (n=1)	,8	0.25	<0.03	<0.03	<0.03	<0.125	0.5

gatus 2 (%16.6), *A. niger* 3 (%25), *A. Versicolor* 1 (%8.3), *Cladosporium cladospo-*

lerinde 19 (%38.8), İTZ’e direnç (MIC ³1 mg/ml) *C. albicans* kökenlerinde 31 (%)

rioides 1 (%8.3), *Scopulariopsis candida* 1 (%8.3) ve bir feoid hifomiset (% 8.3)'dir.

C. albicans kökenleri BOS'dan (%50), balgamdan (%72.7), BAL'dan (%64.2), cerahatten (%39.3), idrardan (%43.7), dışkıdan (%13.3), ağız boşluğundan (%83.3) ve vagina örneklerinden (%75) ilk sırada elde edilmiştir. Kan örneklerinden ayrılanlar arasında ilk sırada *C. glabrata* (%33.3) yer almış; *Cr. Neoformans* subkutan abse ve idrardan, *M. furfur* Pityriasis versicolor lezyonlarından ayrılmıştır. İki *A. flavus* ve bir *A. niger* balgamdan, *A. versicolor* BAL'dan, *A. fumigatus* ve *S. candida* kulaktan, *C. cladosporioides* pulmoner feohifomikozdan ve tür tanımı devam etmekte olan bir *Cladosporium* sp BOS'dan ayrılmıştır.

İki yıllık dönemde elde edilen toplam 146 maya ve 12 hifomiset kökeninin amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol, ketokonazol, mikonazol, flusitozin ve terbinafin karşısında belirlenen MIC aralıkları sırasıyla Tablo I ve Tablo II'de sunulmuştur.

NCCLS kriterlerine göre değerlendirildiğinde çalışmamızda FKZ için direnç (MIC ³64 mg/ml) *C. albicans* kökenlerinde 21 (%21.6), *albicans* dışı *Candida* tür-

32), *albicans* dışı *Candida*'larda 15 (% 30.6), 5-FC'e karşı direnç *C. albicans* kökenlerinde 5 (%5.1), *albicans* dışı *Candida*'larda 7 (%14.3)'dir.

Birden çok antifungale in vitro dirençli bulunan kökenler değerlendirildiğinde amp B'nin yanı sıra bir veya daha çok azol antifungal maddeye dirençli olarak sınıflandırdığımız *Candida* kökenlerinin sayısı 37'dir. Bunların 29'u amp B ile birlikte FKZ'e dirençli bulunmuştur. Bu kökenlerin 14'ü *C. albicans*'tır. Bu durumla karşılaşılan diğer türler ve rastlanan köken sayısının o türün toplam köken sayısına oranları; *C. catenulata* (1/1), *C. glabrata* (1/6), *C. krusei* (5/6), *C. lusitaniae* (1/1), *C. tropicalis* (6/12) olup *C. kefyr*, *C. lipolytica*, *C. parapsilosis*, *C. rugosa* kökenlerinde bu duruma rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada referans makrodilüsyon yöntemiyle FKZ'e dirençli (MIC³64 mg/ml) bulunan 44 *Candida* kökeninin içinde bir *C. glabrata* ve bir *C. tropicalis* olmak üzere ikisi yalnızca bu ilaca direnç göstermiş; 17'si (17/44) İTZ'e de dirençli (MIC³1 mg/ml); 18'i (18/44) KTZ'e; 17'si (17/44) MTZ'e yüksek MIC değeri (MIC>16 mg/ml) vermiş; 13'ünde (13/44) denediğimiz dört azolde bu durumla ortak olarak karşılaşılmıştır.

TARTIŞMA

İnsanda infeksiyona sebep olduğu bildirilmiş *Candida* türleri içerisinde en sık karşılaşılan etken *C. albicans*'tır. Çalışmamızda da iki yıllık süre içinde derin mikoz şüpheli örneklerden ayrılan maya kökenleri arasında *C. albicans* en sık karşılaşılan etken (97/146) (%66.4) olarak ortaya çıkmıştır. Ayrılan diğer maya kökenleri de çeşitli *Candida* türleri, *Cryptococcus*, *Trichosporon* ve *Malassezia* türlerine dahildir.

C. albicans dışındaki *Candida* türlerinin önemli etkenler arasındaki payının artmakta olduğu; bunların halen kullanılmakta olan azol antifungallere daha az duyarlı bulunmakta oldukları ve bu durumun tedaviyi güçleştirmekte olduğu bildirilmektedir. Modern mikoloji laboratuvarlarının bu mantarların ayrılması, tanımlanması, tedavisi ve epidemiyolojisi ile ilgili yönlerini aydınlatmada önemli bir rol oynamalarının beklendiği vurgulanmakta; bir yandan özellikle HIV infeksiyonlulardaki mukoza infeksiyonlarından ayrılmasıyla dik-kati çeken *C. dubliniensis* gibi yeni türler tanımlanırken diğer yandan *C. glabrata* gibi türlerin patojenlik belirtilerinin araştırılmasının gereği üzerinde önemle durulmaktadır.

C. albicans olmayan *Candida*'ların kanserli hastalardaki öneminin araştırılması için 1952-1992 yılları arasında bu hastalarda bildirilen 1591 sistemik *Candida* infeksiyonu gözden geçirilmiş; farklı merkezlerde bildirilen patojenler sıralandığında *C. albicans* % 46, *C. tropicalis* % 25, *C. glabrata* % 8, *C. parapsilosis* % 7 ve *C. krusei* % 4 olarak bulunmuştur.

Hematolojik maligniteli nötropenik hastalarda da *Candida* türlerinin sıklıkla ayrıldığı, radyasyon terapisi alanlarda mukoza yüzeyinin tahribine bağlı olarak orofaringeal ve/veya vulvovaginal

mikozlarla karşılaşıldığı, ayrıca kanser, bağışıklığı baskılayıcı tedaviler, doku ve organ nakilleri, cerrahi girişimler, tüberküloz ve AIDS gibi vücut direncini kıran sebeplerle çeşitli fırsatçı mantarların infeksiyon etkeni olabildiği birçok kaynakta yazılmıştır.

Tüberkülozun da makrofajlarla, monositler ve T hücrelerinin birçok fonksiyonunu baskılayarak hastaları fırsatçı mantarlara yakalanmaya açık hale getirdiği düşüncesinden hareketle İsfahan'da tüberküloz şüpheli hastalarda fırsatçı mantarların insidensinin araştırıldığı bir çalışmada 200 hastadan 36 maya (%18), yedi hifli mantar (%3.5) ayrıldığı; bunların türlere göre dağılımının *C. albicans* (%13), *C. glabrata* (%1.5), *C. tropicalis* (%1.5), *C. parapsilosis* (%1), *C. krusei* (%0.5), *Rhodotorula rubra* (%0.5), *Aspergillus fumigatus* (%2), *A. niger* (%0.5), *Streptomyces griseus* (%0.5) olduğu bildirilmiştir.

Hastanede yatan hastalardan altı aylık bir dönemde ayrılan *C. albicans* olmayan 161 *Candida* kökeninin dağılımının, antifungallere duyarlılıklarının ve tedavilerinin değerlendirildiği bir araştırmada, en önde gelen üç türün *C. glabrata* (100), *C. tropicalis* (28) ve *C. krusei* (15) olduğu bildirilmiştir. *C. glabrata*'da FKZ ve İTZ'e direncin sırasıyla %6 ve %17 olduğu, FKZ'e dirençli kökenlerin %80'inin İTZ'e çapraz dirençli bulunduğu belirtilmiş, azollerle karşılaşmaya bağlı olarak *C. glabrata*'da azollere duyarlılığın anlamlı olarak azaldığı ve bunun ardından kolonize olan hastalar arasında seleksiyon meydana geldiği öne sürülmüştür. Araştırmacılar; antifungal duyarlılık deneylerinin rutin olarak uygulanmasının ancak bir azolle tedavi edilmesi düşünülenlerde dirençli kökenlerin belirlenmesi için gerekli olduğu düşüncesini öne sürmüşlerdir. Yetmiş *C. albicans* kökeninin en sık kullanılan beş antifungale duyarlılığının

Ocak-Mart 2002

DERİN MİKOZ LABORATUARINDA TÜR DAĞILIMI; KANTARCIOĞLU VE YÜCEL

13

incelendiği bir çalışmada da tüm kökenlerin amp B ve 5-FC'in düşük MIC'lerinde baskılandığı, kökenlerden üçünün azollere çapraz direnç gösterdiği belirlenmiştir.¹³

İki yıllık dönemde laboratuvarımıza gönderilen klinik örneklerden ayrılan *C. albicans* dışındaki *Candida* türlerinin azollere duyarlılığı incelendiğinde, FKZ ve İTZ bunların ikinci ve üçüncü sırada duyarlı bulundukları antifungaller olup İTZ, aynı zamanda, bu kökenlerimizin doza bağımlı duyarlı olarak ortaya çıkan ilk sıradaki antifungal olmuş; bu kökenlerin birinci sırada duyarlı bulundukları antifungal flusitozin olarak belirlenmiştir. *Candida albicans* kökenlerimizde de bu sıralamanın aynı olduğu belirlenmiştir ve *C. albicans* için geniş MIC aralıkları elde edilmiştir.

FKZ'e dirençli olup, kanserlilerde, özellikle hematolojik malignitelilerde fungemilerden ayrılmakta ve nötropenik kimselerde yüksek mortaliteye sebep olduğu bilinen³⁷ *C. krusei* kökenlerinin altısı da makrodilüsyon yöntemiyle FKZ'e dirençli bulunmuştur. (MIC>64)

İki yıllık sürede laboratuvarımızda klinik materyallerden altı *C. glabrata* kökeni elde edilmiştir. Bu mantarın insanın mukozalarında kommensal olarak bulunduğu kabul edilmekte; vücut direnci kırık kimselerde ve özellikle HIV

mada *C. albicans* dışı türler içerisinde bu mantarın sebep olduğu ölüm oranının %83'e ulaştığı, dolayısıyla doğru tanımlanmasının tedavi için önem taşıdığı yazılmıştır.³³ Derin mikoz laboratuvarımıza gönderilen klinik örneklerden iki yıl içinde 12 *C. tropicalis* (%8.2) kökeni ayrılmıştır. Bu mantar da normal flora üyelerindendir.

Bu çalışmada hastanemiz YBÜ'de yatan ve kortizon kullanan kanserli bir hastanın dil sürüntüsünden bir *C. lusitaniae* kökeni ayrılmıştır. Amp B'ye sporadik dirençli olan bu mantar oldukça önemli bir nozokomiyal patojen sayılmaktadır. Bir yenidoğan bakım ünitesinde yapılan bir çalışmada *C. lusitaniae*'nin nozokomiyal geçiş yoluyla insandan insana bulaştığı gösterilmiştir.

Hacettepe Üniversitesi hastanelerinde klinik örneklerden ayrılan maya türlerinin dağılımının incelendiği bir çalışmada *C. albicans*'ın (%67.6) ilk sırada yer aldığı, bunu sırasıyla *C. glabrata* (%8.2), *C. tropicalis* (%7.9), *C. krusei* (%6.9), *C. kefyr* (%4.1), *Trichosporon* spp. (%2.8), *C. parapsilosis* (%1.5), *S. cerevisiae* (%0.5), *C. zeylanoides* (%0.3), *C. inconspicua*'nın (%0.3) izlediği bildirilmiştir. Bu çalışmada *C. glabrata* ve *C. krusei*'nin yüksek oranda elde edilmesi tedavi ve profilaksi amaçlı olarak sık kullanılan azol grubu antifungallere dirençli olmalarıyla açıklanmış ve söz ko-

38

infeksiyonlularda sistemik infeksiyonlara sebep olduğu bildirilmektedir. *C. glabrata* giderek önemli bir nozokomiyal patojen olmaktadır. Birçok kandidemili olgu bildiriminde *Candida* türleri içerisinde üçüncü sırada yer almakta; bir çalışmada da ¹² en sık rastlanılan *C. albicans* dışı tür olan *C. tropicalis*'in de önüne geçerek ikinci sırada olduğu bildirilmektedir. *C. glabrata*'nın klinik açıdan öneminin yalnızca karşılaşma sıklığının artması değil yüksek mortalite oranına da sahip olması olduğu, bir çalış-

nusu hastanede potansiyel dirençli *Candida* türlerinin görülme sıklığının önemli ölçülerde olduğu vurgulanmıştır. ³⁹

Turgut Özal Tıp Merkezi'nde çeşitli klinik örneklerden elde edilen *Candida*'ların tür dağılımının incelendiği bir çalışmada *C. albicans* %72, *C. Albicans* dışı *Candida*'lar %38 oranında bulunmuştur. ⁴⁰

Anabilim Dalımız derin mikoz laboratuvarında iki yıllık dönemde klinik örneklerden ayrılan *C. albicans*'lar %66.4

(97/146) ve *C. albicans* dışı *Candida*'lar %33.6 (49/146) oranındadır. *C. albicans*'ı sırasıyla *C. tropicalis* %8.2, ¹² *C. parapsilosis* %5.5, ⁸ *C. glabrata* %4.1, ⁶ ve *C. krusei* %4.1, ⁶ izlemektedir. Derin mikoz laboratuvarımızda iki yıllık dönemde klinik örneklerden etken olarak toplam 12 küf mantarı ayrılmıştır. İki *A. flavus* ve bir *A. niger* balgamdan, *A. versicolor* BAL'dan, *A. fumigatus* ve *S. candida* kulaktan, *C. cladosporioides* pulmoner feohifomikozdan ve tür tanımı devam etmekte olan bir *Cladosporium* sp BOS'tan ayrılmıştır.

Üç yıllık bir sürede Uludağ Üniversitesi Hastanesine başvuran hastaların klinik örneklerinden ayrılan dermatofit dışı küf mantarlarının irdelendiği bir çalışmada 56 hastadan 143 küf mantarı

olarak ortaya çıkarlar ve rutin çalışan derin mikoz laboratuvarlarında kontaminasyonun önlenmesi olmazsa olmaz bir koşuldur. ⁴²

Beyrut'ta Amerikan Üniversitesi Tıp Merkezi'nde ayrılan *Candida* türlerinin ampB, 5FC, KT, FZ ve İT karşısındaki antifungal duyarlılık paterninin E test yöntemi ile belirlendiği bir çalışmada, MIC değerleri NCCLS kriterlerine göre yorumlanmış, *C. albicans*'larda FKZ ve İTZ'e direnç sırasıyla %6 ve %4, *C. tropicalis*'te İTZ'e direnç %17 oranında bulunmuştur. İTZ'e doza bağımlı duyarlılık *C. albicans*'ta %8, *C. tropicalis*'te %58 oranında gözlemlenmiştir. Bir kısım *C. glabrata* ve *C. krusei* kökenlerinin MIC değerleri özellikle azoller karşısında anlamlı şekilde okunamamıştır.

ayrılmış, bunların 21'indeki üreme klinik bulgularla desteklenmemiş, materyalin doğrudan mikroskopta incelenmesinde mantar gösterilememiş, tekrarlanan örneklerde saptanamamış olduğundan yalnızca 35 hastadan elde edilen 119 köken anlamlı bulunmuş; 25 hastada gelişen otomikoz olgularında en fazla izole edilen tür *A. niger* olarak saptanmış; 10 hastada gelişen derin mikozlardan ise en fazla ayrılan tür *A. fumigatus* olarak saptanmıştır. ⁴¹

Bilindiği gibi *Aspergillus* cinsi mantarlar çevrede çok bol bulunan saprofit mantarlardır; ancak konağın savunma sistemini aşmaya yarayacak çeşitli virülens faktörlerine sahip oldukları gösterilmektedir. Genelde tüm vücut direnci kırık kişilerde yaşamı tehdit eden bir mikoz olarak ortaya çıkan invaziv aspergillozun, kanserlilerde ve kemik iliği transplantasyonu yapılmış hastalarda başlıca mortalite sebebi haline geldiği dikkat çekmektedir. ⁴²

Diğer yandan iç ve dış mekanların havasında da çok bol bulunan bu mantarlar sıklıkla laboratuvar kontaminantı

Bu çalışmada ampB ve 5FC'e üniform duyarlılık görülmesine karşın bu ülkede *Candida* izolatları arasında azollere direnç oranının %4-17 olduğu bildirilmiştir. ⁴³

Hastanede yatan hastalardan elde edilen *C. albicans* dışı *Candida* kökenlerinin tür dağılımı ve antifungallere duyarlılıklarının incelendiği bir çalışmada en önde gelen tür *C. glabrata* olarak saptanmış, bu türün kökenlerinde azollerle karşılaşmaya bağlı olarak azol duyarlılığının anlamlı şekilde azaldığı ve ardından seleksiyona uğrayan kökenlerle kolonizasyon olduğu bildirilmiştir. ¹²

Venezuela'da HIV-pozitif hastalardan elde edilen *Candida* türlerinin FKZ, İTZ, KTZ, ampB ve TBF karşısındaki direnç sıklığı profili araştırılmış; *C. albicans*'ların %10'u FKZ'e primer dirençli bulunmuş, önceki FKZ tedavisine bağlı olarak direnç %45, İTZ'e çapraz direnç %93 olarak saptanmış; bu yüksek oran FKZ'e çapraz dirençle ilişkilendirilerek açıklanmış; *C. tropicalis* kökenlerinde FKZ ve/veya İTZ direncinin

%30 civarında olduğu bildirilmiş, yeni tarihli yayınlarda bu mantarla ilgili antifungal direnci bildirimlerinin yaygınlaştığına dikkat çekilmiştir. ⁴⁴

nen *Aspergillus* kökenlerinin ampB karşısında dar bir MIC aralığı gösterdiği, İTZ karşısındaki MIC değerlerinin daha yüksek olduğu ve dirençli *A. fumigatus* kökenleri saptandığı bildirilmiştir. ⁴⁵

Anabilim Dalımız derin mikoz laboratuvarında in vitro FKZ'e dirençli (MIC³64 mg/ml) bulunan 44 *Candida* kökeninin içinde bir *C. glabrata* ve bir *C. Tropicalis* olmak üzere ikisi yalnızca bu ilaca direnç göstermiş; 17'si (17/44) İTZ'e de dirençli (MIC³1 mg/ml); 18'i (18/44) KTZ'e; 17'si (17/44) MTZ'e yüksek MIC değeri (MIC>16 mg/ml) vermiş; 13'ünde (13/44) denediğimiz dört azolde bu durumla ortak olarak karşılaşmıştır.

Çalışmamızda; birden çok antifungal in vitro dirençli bulunan kökenler değerlendirildiğinde bir polyen antifungal olan amp B'nin yanı sıra bir veya daha çok azol antifungal maddeye dirençli olarak sınıflandırdığımız *Candida* kökenlerinin sayısı 37'dir. Bunların 29'u amp B ile birlikte FKZ'e dirençli bulunmuştur. Bu kökenlerin 14'ü *C.albicans*'dır. Deneylerimizde amp B'nin yanı sıra bir veya daha çok azol antifungal maddeye dirençli bulunan diğer *Candida* türleri ve rastlanan köken sayısının o türün toplam köken sayısına oranları; *C. catenulata* (1/1), *C. glabrata* (1/6), *C. krusei* (5/6), *C. lusitaniae* (1/1), *C. tropicalis* (6/12) olup *C. kefir*, *C. lipolytica*, *C. parapsilosis*, *C. rugosa* kökenlerinde birden çok antifungale dirençle karşılaşmamıştır. Tedavi ve/veya profilaksi amaçlı olarak yaygın kullanılan bu majör antifungallerle ilgili durum, derin mikozlarda güvenilir ve tekrarlanabilir sonuç alınabilecek standart yöntemler kullanılarak antifungal duyarlılık deneyleri yapılmasının yararını ve gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Klinik kökenli *Aspergillus* ve *Fusarium* türlerinin ampB, İTZ ve vorikonazole duyarlılığının mikrodilüsyon yöntemiyle araştırıldığı bir çalışmada dene-

rin mikoz laboratuvarımızda ayrılan *Aspergillus* kökenlerinin sayıca az olmakla birlikte denenen tüm antifungal-ler karşısında türlere ve hatta kökenlere göre oldukça farklı MIC değerleri verdikleri gözlemlenmiştir.

Çalışmamızda *A. fumigatus*'da İTZ'e in vitro dirençle karşılaşmıştır. Deneylerimizde iki *A. fumigatus* kökeni FKZ, İTZ ve MKZ'e yüksek MIC değeri vermiş; bunlardan biri KTZ'e de yüksek MIC değeri göstermiştir. Başka araştırmacılar tarafından da *A. fumigatus* kökenlerinde İTZ ve vorikonazole düşük düzeyde direnç (iki veya üç katı artmış MIC'ler) ve posakonazol ve ravukonazole çapraz direnç gözlemlendiği bildirilmiştir. ^{46, 47}

A. fumigatus kökenlerinde İTZ direnci hayvan modellerinde de doğrulanmıştır. Ayrıca farklı *Aspergillus* türlerinin İTZ'e duyarlılıklarının farklı olduğu dikkati çekmektedir. Diğer yandan in vitro duyarlılık deneylerinde belirlenmemiş olmakla birlikte amp B'ye in vivo direnç gösteren *A. fumigatus* ve *A. terreus* kökenleri de bildirilmektedir. ⁴⁸⁻⁵⁰ A.

fumigatus'un klinik kökenlerinde İTZ'e kazanılmış dirençle ilgili bildirimler de bulunmaktadır. ^{50,51} Direnç gelişmesini önlemek için *Aspergillus*'ların kültürde üretilerek duyarlılık deneylerinin yapılması önerilmektedir.

Ancak in vitro duyarlılık deneylerinde besiyeri, inokulum hazırlanması, inkübasyon süresi gibi koşullara bağlı olarak farklı MIC'ler elde edilebilmektedir. Titizlikle uygulanan standartlaştırılmış antifungal duyarlılık deneylerinde *Aspergillus* türleri için tekrarlanabilir duyarlılık sonuçları elde edilebildiği

gösterilmiş ve böyle sonuçların klinik yanıtı işaret edebileceği bildirilmiştir.

49

Araştırmamızda elde edilen verilerden, derin mikoz etkenleri arasında *Candida* türlerinin bağımsızlığı zayıf hastalarda önemli patojenler olarak öne çıktığı anlaşılmaktadır. Diğer yandan antifungallere direnç problemi giderek artmakta olduğundan, derin yerleşimli mikozlardan ayrılan mantarların tür düzeyinde tanımlanması intrensek dirençli türler dolayısıyla hem klinik hem de epidemiyolojik açıdan önemli görülmektedir.

Çalışma sonuçlarımız, antifungallere tedavi sırasında direnç geliştirme eğiliminde olan mayaların ve ayrıca şimdilik duyarlılıkları kökene özgül görülen çeşitli küflerin antifungallere duyarlılık deneylerinin yapılmasının tedaviye yön vermek açısından gerekliliğine işaret etmektedir. Belirli merkezlerde anlamlı klinik örneklerden ayrılan mayalar ve miselli mantarlarla ilgili ve standart yöntemlerle yapılan duyarlılık deneyleri sonuçları ile merkezlerin duyarlılık paternlerinin ortaya konması yurdu-muzda derin mikozların tedavisine ve epidemiyolojisine ışık tutabilecektir.

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kliniklerinden Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim

48,

amfoterisin B, flukonazol, itraconazol, ketokonazol, mikonazol, flusitozin ve terbinafin karşısındaki duyarlılıkları NCCLS referans M27-A ve M38-P yöntemleri ile belirlenmiştir.

Toplam 146 maya ve 12 küf ayrılmıştır. *C. albicans*'lar %66.4 (97/146) ve *C. albicans* dışı *Candida*'lar %33.6 (49/146) oranındadır. Ayrılan çeşitli maya türlerinin karşılaşma sıklığı *C. catenulata* 1 (% 0.7), *C. glabrata* 6 (%4.1), *C. kefir* 4 (% 2.7), *C. krusei* 6 (%4.1), *C. lipolytica* 3 (% 2.0), *C. lusitaniae* 1 (%0.7), *C. Parapsilosis* 8 (% 5.5), *C. rugosa* 2 (% 1.4), *C. tropicalis* 12 (% 8.2), *M. furfur* 1 (% 0.7), *T. beigelii* 3 (% 2.0), *Cryptococcus neoformans* 2 (%1.4)'dir. İnfeksiyon etkeni olarak ayrılan küf mantarlarının sıklığı *Aspergillus flavus* 4 (%33.3), *A. Fumigatus* 2 (%16.6), *A. niger* 3 (%25), *A. versicolor* 1 (%8.3), *Cladosporium cladosporioides* 1 (%8.3), *Scopulariopsis candida* 1 (%8.3) ve *Cladosporium* sp 1 (% 8.3)'dir.

NCCLS kriterlerine göre değerlendirildiğinde çalışmamızda FKZ için direnç (MIC ³64 mg/ml) *C. albicans* kökenlerinde 21 (%21.6), *albicans* dışı *Candida* türlerinde 19 (%38.8), İTZ'e direnç (MIC ³1 mg/ml) *C. albicans* kökenlerinde 31 (%32), *albicans* dışı *Candida*'larda 15 (%30.6), 5-FC'e karşı direnç (MIC ³32 mg/ml) *C. albicans* kökenlerinde 5 (% 5.1), *albicans* dışı *Candida*'larda 7 (% 14.3)'dir.

Bu çalışma *Candida* türlerinin bağı-

Dalı Derin MikoZ Laboratuarına g nderilen klinik  rneklerdeki mantar t rlerinin spektrumunu ve ayrılan maya ve k flerin antifungal duyarlılık paternini karakterize etmektedir.

İki yıllık bir s rede derin mikoZ ř p-heli hasta materyallerinden ayrılan anlamlı maya ve k flerin t r daėılımı ve

řıklıėı zayıf hastalarda  nemli patojenler olarak  ne  ıktıėı ve antifungallere tedavi sırasında diren  gelişirme eėiliminde olan mayaların ve ayrıca řimdilik duyarlılıkları t re/k kene  zg l g r len  eřitli k flerin antifungallere duyarlılık deneylerinin yapılmasının tedaviye y n vermek a ısından yararlılıėına iřaret etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Dupont B. Changing prevalence in systemic fungal infections. Abstracts of 5th Congress of the European Confederation of Medical Mycology (3-6 June 1999, Dresden, Germany). *Mycoses* 1999; 42: 131.
2. Lorf T, Braun F, Ruchel R, Muller A, Sattler B, Ringe B. Systemic mycoses during prophylactical use of liposomal amphotericin B (Ambisome) after liver transplantation. *Mycoses* 1999; 1-2: 47-53.
3. Anaissie E. Opportunistic mycosis in the immunocompromised host: experience at a cancer center and review. *Clin Infect Dis* 1992; 14: 43-53.
4. Bodey GP, Rolston KVI. Deep fungal infections. In: Armstrong D, Cohen J (eds). *Infectious Diseases*. London: Mosby, 1999; 2.7.1-2.7.20.
5. van't Wout JW. Fungal Infections and antifungal drugs: has the age of antifungal resistance dawned? *Current Opinion in Infection Diseases* 1996; 9: 63-66.
6. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 6th ed. Washington DC: asm antifungal agents. *Oral Microbiol Immunol* 2000; 4: 245-248.
14. Rex JH, Rinaldi MG, Pfaller MA. Resistance of *Candida* species to fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 1-8.
15. McGinnis MR, Rinaldi MG. Antifungal drugs: mechanism of action, drug resistance, susceptibility testing, and assay of activity in biologic fluids. In: Lorian V (ed). *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Williams and Wilkins, Baltimore, 1996; 176-311.
16. Espinel-Ingroff A, Pfaller MA. Antifungal agents and susceptibility testing. In: Murray P, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. Washington DC: ASM Press, 1995; 1405.
17. Rex J, Pfaller M, Galgiani J, Bartlett MS, Espinel-Ingroff A, Ghannoum M, Lancaster M, Odds FC, Rinaldi MG, Walsh TJ, Barry A. Development of interpretive breakpoints for antifungal susceptibility testing: conceptual framework and analysis of in vitro-in vivo correlation data for fluconazole, itraconazole, and *Candida* infections. *Clin Infect Dis* 1997; 24: 235-247.
18. National Committee for Laboratory Reference

- Press, 1995; 709-722.
7. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Washington CW Jr (Eds). Diagnostic Microbiology. Fifth edition. Philadelphia: Lippincott, 1997;
 8. Buchanan KL. What makes Cryptococcus neoformans a pathogen? Emerging Infect Dis 1998; 4: 16-22.
 9. Hamilton AJ, Goodley J. Virulence factors of Cryptococcus neoformans. Curr Top Med Mycol 1996; 19-42.
 10. Latgé JP. Aspergillus fumigatus and aspergillosis. Clin Microbiol Rev 1999; 2: 310-350.
 11. Denning DW. Invasive aspergillosis. Clin Infect Dis 1998; 26: 781-805.
 12. Wong-Beringer A, Hindler J, Barankovic L, Muehlbauer L, Steele-Moore L. Clinical applicability of antifungal susceptibility testing on non-Candida albicans species in hospitalized patients. Diagn Microbiol Infect Dis 2001; 1: 25-31.
 13. Waltimo TM, Orstavik D, Meurman JH, Samaranayake LP, Haapasalo M. In vitro susceptibility of Candida albicans isolates from apical and marginal periodontitis to common Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing for Yeasts. Approved Standard; Document M27-A National Committee for Laboratory Standards. Villanova, 1997;
 19. National Committee for Laboratory Standards. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Conidium-Forming Filamentous Fungi; Proposed Standard. Document M38-P. National Committee for Laboratory Standards. Wayne, 1998;
 20. Ellis D, Pfeiffer T. Antifungal susceptibility testing for clinical microbiology laboratory. ISHAM Mycoses Newsletter 2001; 75: 3-4.
 21. Kaufman L. Laboratory methods for the diagnosis and confirmation of systemic mycosis. Clin Infect Dis 1992; 14: 23.
 22. Richardson MD, Kokki MH. New perspectives in the diagnosis of systemic fungal infections. Ann Med 1999; 31: 327-335.
 23. Barnett JA, Payne RW, Yarrow D. Yeasts: Characteristics and Identification. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1990;
 24. Lodder J. The Yeasts. A Taxonomic Study. Amsterdam: North Holland Publishing Co, 1979.

25. Kwon Chung KJ, Bennett JE. Medical Mycology. Philadelphia; Lea and Febiger, 1992;
26. Cooper BH, Silva-Hutner M. Yeasts of Medical Importance. In: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ (eds). Manual of Clinical Microbiology. 4th ed. Washington DC: ASM Press 1985; 526-541.
27. de Hoog GS, Guarro J. Atlas of Clinical Fungi.
38. Fowler SL, Rhoton B, Springer SC, Messer SA, Hollis RJ, Pfaller MA. Evidence for person-to-person transmission of Candida lusitanae in a neonatal intensive-care unit. Infect Control Hosp Epidemiol 1998; 19: 343-345.
39. Arıkan S, Haşçelik G, Günel A. Hacettepe Üniversitesi hastanelerinde klinik örneklerden izole edilen maya türleri. Enfeksiyon Derg 1998; 1: 97-102.

- Centralbureau voor Schimmelcultures, Delft, the Netherlands and Universitat Rovira i Virgili, Reus, Spain 1995;
28. Warren N, Kevin CH. Candida, Cryptococcus and other yeasts of medical importance. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds). Manual of Clinical Microbiology. Washington DC: ASM Press, 1995; 723-737.
29. Nenoff P, Haustein UF. In vitro susceptibility testing of *Malassezia furfur* against itraconazole. *Skin Pharmacol* 1997; 10: 275-280.
30. Nenoff P, Oswald U, Haustein U-F. In vitro susceptibility of yeasts for fluconazole and itraconazole. Evaluation of a microdilution test. *Mycoses* 1999; 42: 629-639.
31. Odds FC. Candida and Candidosis. London: Baillière Tindall 1988;
32. Coleman D, Sullivan D, Harrington B, Haynes K, Henman M, Shanley D, et al. Molecular and phenotypic analysis of *Candida dubliniensis*: a recently identified species linked with oral candidosis in HIV-infected and AIDS patients. *Oral Diseases* 1997; 3: 96-101.
33. Wingard JR. Importance of *Candida* species other than *C. albicans* as pathogens in oncology patients. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 115-125.
34. Granier F. Invasive fungal infections. Epidemiology and new therapies. *Presse Med* 2000; 37: 2051-2056.
35. Sobel JD, Ohmit SE, Schuman P, Klein RS, Mayer K, Mayer K, Duerr A, Vazquez JA, Rampalo A, (HIV)-seropositive and at-risk HIV-seronegative women. *J Infect Dis* 2001; 2: 286-293.
36. Chadeganipour M, Shadzi S, Dehghan P, Bijary J. The incidence of opportunistic fungi in patients suspected of tuberculosis. *Mycosis* 2000; 43: 269-272.
37. Wingard JR. Importance of *Candida* species other than *C. albicans* as pathogens in oncology patients. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 115-125.
40. Ağel HE, Durmaz B, Refik M, Dikerel Ş. Turgut Özal Tıp Merkezi'nde çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida*'ların türlere göre dağılımı. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 1999; 4: 1-3.
41. Ener B, Akalın H, Akçağlar S, Helvacı S, Töre O. Yüzeysel ve derin mikozlarda küf mantarları. *İnfeksiyon Derg* 1999; 13: 99-103.
42. Kantarcıoğlu AS, Yücel A. *Aspergillus* türleri ve invaziv aspergilloz: mikoloji, patogenezi, laboratuvar tanımı, antifungal direnç ve duyarlılık deneyleri (Cerr Tıp Fak Dergisine sunulmuştur)
43. Araj GF, Daher NK, Tabbarah ZA. Antifungal susceptibility of *Candida* isolates at the American University of Beirut Medical Center. *Int J Antimicrob Agents* 1998; 4: 291-296.
44. Magaldi S, Mata S, Hartung C, Verde G, Deibis L, Roldan I, Marcano C. In vitro susceptibility of 137 *Candida* sp. isolates from HIV positive patients to several antifungal drugs. *Mycopathologia* 2001; 2: 63-68.
45. Arıkan S, Lozano-Chiu M, Paetznick V, Nangia S, Rex JH. Microdilution susceptibility testing of Amphotericin B, itraconazole, and voriconazole against clinical isolates of *Aspergillus* and *Fusarium* species. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3946-3951.
46. Manavathu EK, Cutright JL, Loebenberg D, Chandrasekar PH. A comparative study of the in vitro susceptibilities of clinical and laboratory-selected resistant isolates of *Aspergillus* spp. to amphotericin B, itraconazole, voriconazole and posaconazole (SCH 56592). *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 229-234.
47. Mosquera J, Warn P, Moore C, Denning D. Azole cross resistance in *Aspergillus fumigatus*. 11th European Congress of Clinical Microbiology and Infection Diseases (1-4 April, 2001, Istanbul) abstracts. In: *Clinical Microbiology and Infection* 2001; 34.
48. Denning DW, Radford SA, Oakley KL, Hall L, Johnson EM, Warnock DW. Correlation

between in vitro susceptibility testing to itraconazole and in vivo outcome of *Aspergillus* infection. *J Antimicrob Chemother* 1997; 40: 401-414.

49.Denning DW, Venkateswarlu K, Oakley K, Anderson MJ, Manning NJ, Stevens DA, Warnock DW, Kelly SL. Itraconazole resistance in *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 1364-1368.

50.Denning DW, Warn P. Dose range evaluation of liposomal nystatin and comparisons with amphotericin B and amphotericin B lipid complex in temporarily neutropenic mice infected with an isolate of *Aspergillus fumigatus* with reduced susceptibility to amphotericin B. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 2592-2599.

51.de Pauw BE. Clinical experiences with the new antimycotic UK109 496 (Voriconazole) in clinical trials. Abstracts of 5th Congress of the European Confederation of Medical Mycology (3-6 June 1999, Dresden, Germany). *Mycoses* 1999; 42: 149-150.