

FLUKONAZOL, İTRAKONAZOL VE VORİKONAZOLÜN KLİNİK *BLASTOSCHIZOMYCES CAPITATUS* (*GEOTRICHUM CAPITATUM*) İZOLATLARINA KARŞI İN VİTRO AKTİVİTESİNİN İKİ FARKLI YÖNTEMLE ARAŞTIRILMASI*

INVESTIGATION OF IN VITRO ACTIVITIES OF FLUCONAZOLE, ITRACONAZOLE AND VORICONAZOLE AGAINST CLINICAL ISOLATES OF *BLASTOSCHIZOMYCES CAPITATUS* (*GEOTRICHUM CAPITATUM*) BY TWO DIFFERENT METHODS

Banu SANCAK¹, Şehnaz ALP¹, Gülşen HAŞÇELİK¹, Sevtap ARIKAN¹

¹ Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara. (banusancak@yahoo.com)

ÖZET

Blastoschizomyces capitatus, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda fatal seyirli invazif enfeksiyonlara yol açabilen bir fırsatçı patojen mantardır. Bu çalışmada, klinik örneklerden izole edilen 15 *B. capitatus* suşunun flukonazol, itrakonazol ve vorikonazole in vitro duyarlılık profilinin sıvı mikrodilüsyon (MD) ve Etest yöntemleriyle araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya dahil edilen izolatlar, standart mikolojik yöntemlerle izole edilmiş ve tanımlanmıştır. MD yöntemi CLSI M27-A2 kılavuzuna uygun olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Etest yöntemi ise %2 glukoz içeren RPMI 1640 besiyeri kullanılarak üretici firma (AB Biodisk, İsveç) önerileri doğrultusunda uygulanmıştır. *B. capitatus* suşları için direnç sınır değerlerinin henüz kesinlik kazanmamış olması nedeniyle, çalışmada kullanılan antifungal ilaçlar için, sadece elde edilen minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerlerinin dağılımı belirlenmiştir. MİK değerleri, yeterli üremenin elde edildiği 48 saatlik inkübasyon sonunda ve tüm ilaçlar için MİK-2 okuma değeri kullanılarak saptanmıştır. Kırk sekiz saat sonunda MD ve Etest yöntemleri ile elde edilen MİK₉₀ değerleri flukonazol, itrakonazol ve vorikonazol için sırasıyla; 16 ve 32 µg/ml, 0.5 ve 1 µg/ml, 0.5 ve 1 µg/ml olarak bulunmuştur. Vorikonazol ve itrakonazol, *B. capitatus* suşlarına karşı iyi düzeyde in vitro aktivite göstermiştir. Flukonazolün ise bu suşlara karşı aktivitesi sınırlı, hatta bazı suşlara karşı yetersiz bulunmuştur. Flukonazol, itrakonazol ve vorikonazol için Etest MİK değerleri ile MD MİK değerleri arasındaki yüzde uyumu, ±1 dilüsyon farkı dikkate alınarak incelendiğinde, uyum sırasıyla, %86.7, %80 ve %73.3 olarak saptanmıştır. MD ve Etest olmak üzere iki yöntemle elde edilen MİK değerleri karşılaştırıldığında en yüksek uyum yüzdesi flukonazol için saptanmış, bunu sırasıyla itrakonazol ve vorikonazol izlemiştir. Etest yöntemiyle elde edilen MİK değerleri MD yöntemindeki MİK değerlerine göre genellikle ve her üç ilaç için de en az 1-

* 5. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (20-23 Haziran 2007, Çanakkale)'nde sözlü olarak sunulmuştur.

2 dilüsyon daha yüksektir. Sonuç olarak *B.capitatus* için direnç sınırı değerlerinin ve uygun antifungal duyarlılık testi yönteminin belirlenebilmesi için ileri çalışmalara gereksinim olduğu düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: *Blastoschizomyces capitatus*, flukonazol, itraconazol, vorikonazol, in vitro duyarlılık, mikrodilüsyon, Etest.

ABSTRACT

Blastoschizomyces capitatus is an emerging opportunistic pathogen that may lead to invasive infections particularly in neutropenic patients. In this study, the in vitro activities of fluconazole, itraconazole and voriconazole against 15 clinical *B.capitatus* isolates were determined by microdilution method (MD) and Etest. The isolation and identification of the isolates were done by standard mycological methods. MD tests were done in accordance with CLSI microdilution method (M27A-2). Etest was performed according to the instructions of the manufacturer (AB Biodisk, Sweden) by using RPMI-2% glucose. Since susceptibility breakpoints were not yet established for *B.capitatus*, only the distribution of the MIC values obtained for the tested antifungals were given. MIC values were determined after 48 h incubation and by using MIC-2 value for all the drugs tested. At 48 h, MIC₉₀ values obtained by MD and Etest were 16 and 32 µg/ml, 0.5 and 1 µg/ml, 0.5 and 1 µg/ml for fluconazole, itraconazole and voriconazole, respectively. These results suggested that voriconazole and itraconazole had favorable activity against *B.capitatus* isolates. However, the activity of fluconazole remained poor and limited at least for a significant number of isolates. Percent agreement of Etest with MD method within ±1 dilution range and at 48 hour for fluconazole, itraconazole and voriconazole were 86.7%, 80% and 73.3%, respectively, suggesting a higher agreement of the two methods for fluconazole as compared to itraconazole and voriconazole. Etest tended to generate 1-2 fold higher MICs as compared to MD MICs for most of the isolates of this particular fungus. In conclusion, further studies are required for determination of the optimal susceptibility testing method and the MIC breakpoints for *B.capitatus*.

Key words: *Blastoschizomyces capitatus*, fluconazole, itraconazole, voriconazole, in vitro susceptibility, microdilution, Etest.

GİRİŞ

Son yıllarda gerek bağışıklık sistemi baskılanmış hasta sayısının, gerekse çeşitli antifungal ilaçların klinik kullanımının artması nedeniyle, mantar enfeksiyonlarının epidemiyolojisinde önemli değişiklikler meydana gelmiş ve ender görülen mantarların neden olduğu enfeksiyonlar sık gözlenmeye başlamıştır. Önceleri en sık görülen fırsatçı mikoz etkenleri *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* ve *Cryptococcus neoformans* iken^{1,2}, günümüzde *albicans* dışı *Candida* türleri, *A.fumigatus* dışı *Aspergillus* türleri, *Trichosporon*, *Rhodotorula*, *Blastoschizomyces* gibi nadir görülen diğer mayalar ve *Fusarium*, *Scedosporium*, *Paeecilomyces*, *Acremonium*, esmer mantarlar, zigomikoz etkenleri gibi küfler ile oluşan enfeksiyonlarda artış saptanmıştır^{3,4}.

Daha önce *Geotrichum capitatum* ve *Trichosporon capitatum* olarak adlandırılan *Blastoschizomyces capitatus*, blastokonidyum ve artrokonidyuma ek olarak annelokonidyum oluşturması nedeniyle diğer iki cinsten ayrılır⁵. Doğada ve çevrede yaygın olarak bulunan *B.capitatus*, insanlarda deri ve mukozada kolonize olabilmekte ve dermatomikoz ve onikomikoz gibi lokal enfeksiyonlara yol açabildiği gibi özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda disemine enfeksiyonlara da neden olabilmektedir⁶⁻⁹. *B.capitatus*, anti-

funga ilaçlara duyarlılık yönünden farklı profiller sergileyebilmekte, bazı suşlarının klinikte sık kullanılan antifunga ilaçlara dirençli olması dikkat çekmektedir¹⁰. Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Erişkin Hastanesi'nde tedavi gören olgulardan izole edilen *B.capitatus* suşlarının antifunga ilaçlara in vitro duyarlılık profilini belirlemek amacıyla planlanmıştır. Bu amaçla, Etest ve sıvı mikrodilüsyon yöntemi olmak üzere iki farklı yöntem kullanılmış ve bu iki yöntemle elde edilen sonuçlar birbiriyle karşılaştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Suşlar ve Tanımlama Yöntemleri

Çalışmaya, 1996-2007 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen 15 *B.capitatus* suşu dahil edildi. Suşlar, koloni morfolojisi, germ tüp oluşturma özelliği, mısır unlu Tween 80 besiyerindeki morfolojik görünüm, üreaz aktivitesi ve ID 32 C kiti (BioMerieux, Fransa) kullanılarak saptanan karbonhidrat asimilasyon özellikleri incelenerek tanımlandı⁵. Tüm izolatlara, -20°C'de, %20 gliserollü beyin kalp infüzyon buyyonu içinde saklandı ve duyarlılık testlerinin uygulanmasından önce Sabouraud dekstroza agara (SDA; Merck) en az iki kez pasajları gerçekleştirildi. Kalite kontrolü amacıyla *C.krusei* ATCC 6258 ve *C.papillaris* ATCC 22019 suşları her antifunga duyarlılık testi çalışmasına dahil edildi¹¹.

Inokulum Hazırlanması

Inokulum, "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" tarafından önerilen M27-A2 referans yöntemindeki esaslara göre hazırlandı¹¹. Bu amaçla, 5 ml steril %0.9'luk NaCl içeren tüplere maya kolonileri eklenerek homojenize edildi. Elde edilen bu süspansiyonlar, spektrofotometrik olarak 530 nm'de $1-5 \times 10^6$ maya hücresi/ml içerecek şekilde sulandırıldı. Bu inokulum, Etest yöntemi için direkt olarak agar yüzeyine uygulanırken, mikrodilüsyon yöntemi için CLSI M27-A2 dokümanındaki önerilere uygun olarak, testte kullanılacak son inokulum konsantrasyonu $0.5-2.5 \times 10^3$ cfu/ml olacak şekilde ayarlandı¹¹.

Mikrodilüsyon Testinin Uygulanması

B.capitatus suşlarının flukonazol, itrakonazol ve vorikonazole in vitro duyarlılığı, CLSI tarafından önerilen M27-A2 mikrodilüsyon yöntemiyle saptandı¹¹. Minimum inhibitör konsantrasyonu (MIK, µg/ml) değerleri 35°C'de 48 saatlik inkübasyonu takiben iki araştırmacı tarafından görsel olarak değerlendirildi. Her üç ilaç için, üreme kontrol çukuru göre, üremenin yaklaşık %50 azaldığı en düşük ilaç konsantrasyonu MIK değeri olarak kabul edildi.

Etest Yönteminin Uygulanması

Test edilecek her bir suşa ait inokulum, steril bir eküvyon aracılığıyla %2 glukozlu RPMI 1640 agar yüzeyine düzgün ve eşit dağılım sağlanacak şekilde yayıldı. Plakların kurumaları için 10-15 dakika beklendikten sonra flukonazol (0.016-256 µg/ml), itrakonazol (0.002-32 µg/ml) ve vorikonazol (0.002-32 µg/ml) Etest şeritleri (AB Biodisk, Solna, İsveç) plakların ortasına yerleştirildi. Plaklar 35°C'de 48 saat inkübasyonun ardından iki farklı araştırmacı tarafından değerlendirildi. Etest şeridi çevresinde oluşan inhibisyon elip-

sinde, üremenin %50 inhibe olmasını sağlayarak Etest şeridini kesen en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak kabul edildi. Etest ile elde edilen MİK değerinin, mikrodilüsyon yönteminde uygulanan çift kat seri dilüsyonlara tam denk gelmeyen bir değer olduğu durumlarda, elde edilen MİK değeri bir üst ilaç konsantrasyonuna yükseltildi.

Sonuçların Değerlendirilmesi

B.capitatus suşları için direnç sınır değerlerinin henüz kesinlik kazanmamış olması nedeniyle, çalışmada kullanılan antifungal ilaçlar için, sadece elde edilen MİK değerlerinin dağılımı belirlendi. Mikrodilüsyon ve Etest ile elde edilen sonuçların karşılaştırılması için, ± 1 dilüsyon farkı esas alınarak iki yöntem arasındaki uyum yüzdesi hesaplandı.

BULGULAR

B.capitatus suşlarında 48 saat inkübasyon sonunda mikrodilüsyon ve Etest ile saptanan flukonazol, itrakonazol ve vorikonazol MİK aralıkları, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri ($\mu\text{g/ml}$) Tablo I'de verilmiştir. MİK değerleri dikkate alındığında, vorikonazol ve itrakonazolün suşlara karşı benzer etkinlik gösterdiği ve bu iki ilacın flukonazole göre daha yüksek antifungal aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır.

Her iki yöntemle elde edilen MİK değerleri karşılaştırıldığında; Etest ile elde edilen MİK değerlerinin, mikrodilüsyon ile elde edilen MİK değerlerine göre genellikle ve her üç ilaç için de en az 1-2 dilüsyon daha yüksek olduğu saptanmıştır. Flukonazol, itrakonazol ve vorikonazol için, ± 1 dilüsyon farkı dikkate alınarak Etest MİK değerleri ile mikrodilüsyon MİK değerleri arası yüzde uyumu incelendiğinde, uyum sırasıyla, %86.7, %80 ve %73.3 olarak bulunmuştur. Referans yöntem olan mikrodilüsyona göre Etest MİK dağılımı Tablo II'de verilmiştir.

Tablo I. *Blastoschizomyces capitatus* Suşları İçin Elde Edilen Flukonazol, İtrakonazol ve Vorikonazol MİK ($\mu\text{g/ml}$) Değerleri (48 saat)

	Flukonazol			İtrakonazol			Vorikonazol		
	MİK ₅₀	MİK ₉₀	MİK aralığı	MİK ₅₀	MİK ₉₀	MİK aralığı	MİK ₅₀	MİK ₉₀	MİK aralığı
Mikrodilüsyon	4	16	2-64	0.25	0.5	0.125-0.5	0.25	0.5	0.06-0.5
Etest	8	32	2-64	0.5	1	0.125-2	0.5	1	0.125-1

MİK: Minimum inhibitör konsantrasyonu.

Tablo II. Mikrodilüsyon Yöntemine Göre Etest MİK Dağılımı (48 saat)

Dilüsyon farklılıklarına göre suş sayısı	MİK dilüsyon farkları				
	-1	0	+1	+2	+3
Flukonazol Etest	1	8	4	1	1
İtrakonazol Etest	2	4	6	2	1
Vorikonazol Etest	2	3	6	3	1

MİK: Minimum inhibitör konsantrasyonu.

TARTIŞMA

B.capitatus, özellikle hematolojik maligniteli olgularda olmak üzere bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda enfeksiyonlara yol açan ve yeni önem kazanan mantarlardan biridir. Ciddi nötropeni varlığı, sitotoksik kemoterapi uygulanması, uzun süreli antibiyotik kullanımı, intravasküler kateter varlığı ve kortikosteroid kullanımı, invazif enfeksiyonların gelişiminde rol oynayan önemli risk faktörleridir^{1,2,17,18}. Deri, solunum ya da gastrointestinal sistemde kolonize olabilen mantar, bağışıklık sisteminin baskılanması sonucunda di semine enfeksiyonlara yol açabilmektedir^{8,9,17,18}.

Son yıllarda *B.capitatus* ile meydana gelen invazif enfeksiyonlarda giderek artış görülmesine karşın, bu mantarla meydana gelen enfeksiyonların optimal tedavisi henüz kesinlik kazanmamıştır. Bunun yanı sıra *B.capitatus* izolatlarının farklı antifungal ilaçlara karşı in vitro duyarlılık profillerini saptayan çalışma sayısı da oldukça sınırlı sayıdadır^{6,12-16} (Tablo III). Bugüne kadar yapılmış olan çalışmalarda *B.capitatus* suşlarına karşı çeşitli antifungal ilaçlar için saptanan MİK değerleri oldukça değişken olup, *Candida* türlerinde saptanan MİK değerlerine göre yüksek olabilmektedir. Bu nedenle, *B.capitatus* suşları için in vitro antifungal duyarlılık testlerinin yapılması, bu izolatlarla meydana gelen enfeksiyonların tedavisinde uygun yaklaşımın belirlenebilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla çalışmamızda, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *B.capitatus* suşlarının, klinikte sık kullanılan üç antifungal ilaç için in vitro duyarlılık profilleri araştırılmıştır. *B.capitatus* suşları için direnç sınır değerlerinin henüz kesinlik kazanmamış olması nedeniyle, çalışmamızda, adı geçen antifungal ilaçlar için direnç oranları belirlenmemiş, sadece her bir ilaç için elde edilen MİK değerlerinin dağılımı saptanmıştır. Bu sonuçlara göre, vorikonazol ve itraconazolün, *B.capitatus* suşlarına iyi düzeyde in vitro aktivite gösterdiği görülmüştür. Flukonazolün ise bu suşlara karşı aktivitesinin sınırlı olduğu, hatta bazı suşlara karşı yetersiz etkinlik sergilediği dikkati çekmiştir.

Bugüne kadar *B.capitatus* suşları ile yapılan in vitro duyarlılık çalışmaları hem sınırlı sayıdadır, hem de bu çalışmalara dahil edilen suş sayıları oldukça azdır. *B.capitatus* suşları için mikrodilüsyon yöntemi ile 48 saat sonunda, flukonazol, itraconazol ve vorikonazol için bizim elde ettiğimiz veriler ile, yapılan diğer çalışmalarda^{6,12,13,15,16} elde edilen veriler karşılaştırıldığında, farklı çalışmalarda her üç ilaç için de saptanan MİK değerlerinin, birbirine benzer olduğu görülmektedir (Tablo III). Önemli bir bulgu olarak, hem bizim çalışmamızda, hem de yapılan diğer in vitro çalışmalarda, *B.capitatus*'a karşı flukonazolün in vitro aktivitesinin sınırlı olduğunun saptanmış olması dikkati çekmektedir. Bunun yanı sıra, vorikonazol ve itraconazolün, flukonazole göre daha iyi in vitro aktivite gösteriyor olması, hem bizim çalışmamızda hem de diğer çalışmalarda gözlenen bir bulgudur^{6,12-16}.

Son yıllarda in vitro antifungal duyarlılık çalışmalarında, referans yöntem olan CLSI mikrodilüsyon yönteminin yanı sıra, klinik laboratuvarlarda uygulanması daha kolay olan Etest yöntemi de denenmektedir. Çalışmamızda *B.capitatus* suşları için değişik ilaçların antifungal etkinliklerini araştırmak amacıyla CLSI mikrodilüsyon yönteminin yanı sıra Etest yöntemi de kullanılmış ve bu iki yöntemle elde edilen MİK değerleri karşılaştırıl-

Tablo III. Farklı Çalışmalarda <i>B.capitatus</i> Suşları İçin Saptanan Flukonazol, İtrakonazol ve Vorikonazol MK Değerleri (µg/ml) (48 saat)												
Çalışma	İzolat sayısı	Yöntem	Flukonazol			İtrakonazol			Vorikonazol			MK ₉₀
			MIK aralığı	MIK ₅₀	MIK ₉₀	MIK aralığı	MIK ₅₀	MIK ₉₀	MIK aralığı	MIK ₅₀	MIK ₉₀	
Girmenia ve ark. ¹²	23	CLSI Etest	1-32 1-64	8 4	8 32	0.03-0.5 0.125-1	0.125 0.5	0.25 1	0.03-0.5 0.06-0.5	0.25 0.125	0.25 0.25	
Metin ve ark. ¹³	22	CLSI Etest	0.5-16 2-48	4 6	8 24	0.125-0.5 0.19-2	0.25 0.75	0.5 1.5	0.06-1 0.047-0.25	0.25 0.125	0.5 0.19	
Pelaez ve ark. ¹⁴	45	CLSI	-	-	32	-	-	1	-	-	0.5	
Serena ve ark. ¹⁵	6	CLSI	4-32	8	16	-	-	-	0.25-1	0.25	1	
Espinell-Ingroff ve ark. ¹⁶	5	CLSI	16-64	32	-	0.25-0.5	0.5	-	0.06-0.25	0.125	-	
Bouza ve ark. ⁶	4	CLSI	16-32	32	32	0.5-1	1	1	0.125-0.5	0.25	0.5	
Bu çalışma	15	CLSI Etest	2-64 2-64	4 8	16 32	0.125-0.5 0.125-2	0.25 0.5	0.5 1	0.06-0.5 0.125-1	0.25 0.5	0.5 1	

MIK: Minimum inhibitör konsantrasyonu, CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute.

miştir. Buna göre Etest ile elde edilen MK değerleri, mikrodilüsyon ile elde edilen MK değerlerine göre genellikle ve her üç ilaç için de en az 1-2 dilüsyon daha yüksek saptanmıştır. İki yöntem arasında ± 1 dilüsyon farkı dikkate alınarak yüzde uyumu incelendiğinde ise, flukonazol, itrakonazol ve vorikonazol için uyum sırasıyla, %86.7, %80 ve %73.3 olarak bulunmuştur. Buna göre en yüksek uyum yüzdesi flukonazol için saptanırken, bunu sırasıyla itrakonazol ve vorikonazol izlemiştir. Girmenia ve arkadaşlarının¹² yaptıkları çalışmada ise uyum yüzdesi, flukonazol için %87, itrakonazol için %73.9 ve vorikonazol için %100 olarak bulunmuş, en yüksek uyum yüzdesi vorikonazol için saptanmıştır. Bu çalışmada bizim çalışmamızdan farklı olarak iki yöntem arasındaki uyum yüzdesi ± 2 dilüsyon farkına göre hesaplanmıştır. Dolayısıyla, Girmenia ve arkadaşlarının¹² çalışması ile bizim çalışmamızda elde edilen uyum yüzdelerinin farklı olmasının bu sebepten kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Metin ve arkadaşlarının¹³ çalışmasında ise bizim çalışmamıza benzer şekilde ± 1 dilüsyon farkına göre yöntemler arası uyum yüzdesi araştırılmış ve bu üç ilaç için uyum yüzdesi sırasıyla %86, %91 ve %55 olarak saptanmıştır. Bu sonuçlarla, bizim sonuçlarımız karşılaştırıldığında, uyum yüzdesi flukonazol için benzerken, itrakonazol için daha yüksek, vorikonazol için ise daha düşük bulunmuştur.

Sonuç olarak, çalışmamızda, *B. capitatus* suşlarına karşı vorikonazol ve itrakonazolün, in vitro koşullarda birbirine benzer düzeyde etkinlik gösterdiği, bu iki ilacın aktivitesinin flukonazole oranla önemli ölçüde daha iyi olduğu saptanmıştır. *B. capitatus* suşları için Etest yöntemi, mikrodilüsyon yöntemi ile genelde kabul edilebilir oranlarda uyum gösteren bir yöntem olarak belirlenmiştir. *B. capitatus* suşları için yapılacak antifungal duyarlılık testlerinde kullanılacak uygun yöntemin ve MK direnç sınır değerlerinin belirlenilmesi amacıyla ileri çalışmaların yapılmasına gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Kauffman CA. The changing landscape of invasive fungal infections: epidemiology, diagnosis, and pharmacologic options. Clin Infect Dis 2006; 43 (Suppl 1): 1-2.
2. Walsh TJ, Groll A, Hiemenz J, Fleming R, Roilides E, Anaissie E. Infections due to emerging and uncommon medically important fungal pathogens. Clin Microbiol Infect 2004; 10 (Suppl 1): 48-66.
3. Pfaller MA, Diekema DJ. Rare and emerging opportunistic fungal pathogens: concern for resistance beyond *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. J Clin Microbiol 2004; 42: 4419-31.
4. Alexander BD, Pfaller MA. Contemporary tools for the diagnosis and management of invasive mycoses. Clin Infect Dis 2006; 43: 15-27.
5. Larone DH. Medically important fungi, A Guide To Identification. 1995, 3rd ed. ASM Press, Washington, DC.
6. Bouza E, Muñoz P. Invasive infections caused by *Blastoschizomyces capitatus* and *Scedosporium* spp. Clin Microbiol Infect 2004; 10 (Suppl 1): 76-85.
7. D'Antonio D, Romano F, Iacone A, et al. Onychomycosis caused by *Blastoschizomyces capitatus*. J Clin Microbiol 1999; 37: 2927-30.
8. Martino P, Venditti M, Micozzi A, et al. *Blastoschizomyces capitatus*: an emerging cause of invasive fungal disease in leukemia patients. Rev Infect Dis 1990; 12: 570-82.
9. Martino R, Salavert M, Parody R, et al. *Blastoschizomyces capitatus* infection in patients with leukemia: report of 26 cases. Clin Infect Dis 2004; 38: 335-41.
10. D'Antonio D, Mazzoni A, Iacone A, et al. Emergence of fluconazole-resistant strains of *Blastoschizomyces capitatus* causing nosocomial infections in cancer patients. J Clin Microbiol 1996; 34: 753-5.

11. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved Standard, M27-A2. 2002, 2nd ed. NCCLS/CLSI, Wayne, Pa.
12. Girmenia C, Pizzarelli G, D'Antonio D, Cristini F, Martino P. In vitro susceptibility testing of *Geotrichum capitatum*: Comparison of the Etest, disk diffusion, and sensititre colorimetric methods with the NCCLS M27-A2 broth microdilution reference method. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 3985-8.
13. Metin DY, Hilmioğlu-Polat S, Bozkurt H, İnci R, Tümbay E. Klinik örneklerden soyutlanan *Blastoschizomyces capitatus* (*Geotrichum capitatum*) kökenlerinin antifungal ilaçlara mikrodilüsyon ve Etest ile in vitro duyarlılıkları. 5.Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi, 20-23 Haziran 2007, Çanakkale. *İnfeksiyon Derg* 2007; 21 (Suppl): 230.
14. Pelaez T, Alcalá L, Martínez-Alarcón J, et al. Epidemiology and in vitro antifungal susceptibilities of *Blastoschizomyces capitatus*: a 14-year overview. 15th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Copenhagen, Denmark, April 2-5, 2005.
15. Serena C, Mariné M, Marimon R, Pastor FJ, Guarro J. Effect of antifungal treatment in a murine model of blastoschizomycosis. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 29: 79-83.
16. Espinel-Ingroff A. In vitro activity of the new triazole voriconazole (UK-109,496) against opportunistic filamentous and dimorphic fungi and common and emerging yeast pathogens. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 198-202.
17. Girmenia C, Pagano L, Martino B, et al; GIMEMA Infection Program. Invasive infections caused by *Trichosporon* species and *Geotrichum capitatum* in patients with hematological malignancies: a retrospective multicenter study from Italy and review of the literature. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 1818-28.
18. Groll AH, Walsh TH. Uncommon opportunistic fungi: new nosocomial threats. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7 (Suppl 2): 8-24.