İNVAZİF ASPERGİLLOZ TANILI HASTALARDAN İZOLE EDİLEN ASPERGILLUS TÜRLERİNİN ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARI*

Mustafa Altay ATALAY¹, Ayşe Nedret KOÇ¹, Hafize SAV², Gonca DEMİR¹

¹Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KAYSERİ

²İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

ÖZET

Bir küf mantarı olan *Aspergillus* doğada yaygın olarak bulunan saprofit bir mikroorganizmadır. Önceleri nadir infeksiyon etkeniyken son yıllarda sık görülmekte ve önemli ölçüde mortaliteye neden olmaktadır. *Aspergillus* infeksiyonlarının tanısı, güvenilir ve kolay uygulanabilir tanı testlerinin olmaması nedeniyle genellikle gecikerek konur. Oysa klinikte iyi sonuçların alınabilmesi için tanının erken konulması ve etkin tedavinin başlanması gerekir. Etkin tedavinin yapılabilmesi için de antifungal duyarlılık deneylerinin yapıp yorumlanması gerekmektedir. Bu çalışmada, hastanemizde izole edilmiş *Aspergillus* izolatlarının tür dağılımı ve E-test ile elde edilen antifungal duyarlılık sonuçları değerlendirilmiştir. Toplam 26 izolatın 21'i (% 81) *Aspergillus fumigatus*, beşi (% 19) *Aspergillus niger* olarak tanımlanmıştır. Antifungal duyarlılık testi için E-test yöntemi kullanılmış ve minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) aralıkları amfoterisin B için 0.004-2 µg/ml, kaspofungin için 0.004-1 µg/ml ve vorikonazol için 0.016-0.64 µg/ml arasında bulunmuştur. Test edilen üç antifungal arasında vorikonazol ve kaspofungin MİK düzeylerinin amfoterisin B'ye göre daha düşük olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak amfoterisin B'nin toksik etkileri de göz önüne alınırsa vorikonazol ve kaspofungin klinisyenin kullanabileceği alternatif antifungaller olabilirler.

Anahtar sözcükler: antifungal duyarlılık, *Aspergillus* spp., E-test, tür dağılımı

SUMMARY

Antifungal Susceptibility of *Aspergillus* Species Isolated from Patients Diagnosed with Invasive Aspergillosis

Aspergillus, a mould commonly found in nature, is a saprophytic microorganism. While it used to be a rare infectious agent, in recent years it is more frequent and causes significant mortality. Generally, *Aspergillus* infections cannot be diagnosed early due to the lack of reliable and easy diagnostic tests. However, early diagnosis and initiation of an effective treatment is required in order to get good clinical outcomes. Antifungal susceptibility tests should be performed and interpreted for an effective treatment. The present study evaluated species distribution of *Aspergillus* isolates which were isolated in our hospital and their antifungal susceptibility results obtained by E-test. Of the total 26 isolates, 21 (81 %) were identified as *Aspergillus fumigatus* and five (19 %) were identified as *Aspergillus niger*. E-test method was used for antifungal susceptibility testing and the minimum inhibitory concentrations (MIC) were 0.004-2 µg/ml for amphotericin B, 0.004-1 µg/ml for caspofungin and 0.016-0.64 µg/ml for voriconazole. Among three antifungals tested, the MIC levels obtained for voriconazole and caspofungin were lower compared to amphotericin B. In conclusion, given the toxic effects of amphotericin B, voriconazole and caspofungin may be alternative antifungals that can be used by the clinicians.

Keywords: antifungal susceptibility, *Aspergillus* spp., E-test, species distribution

GİRİŞ

Aspergillus türleri doğada yaygın olarak bulunurlar. Bu küf mantarı çok farklı çevre koşullarına uyum sağlar, değişik sıcaklıklarda,

farklı ortamlarda yaşayabilir ve konidyumları havada uzun süre asılı kalabilir. İnfeksiyon, konidyalardan havadan solunum yolu ile alınması sonucunda oluşur⁽²⁵⁾. Solunumla alınan konidyumlar, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış

İletişim adresi: Hafize Sav. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

Tel: (0212) 414 30 35/21647; GSM: (0505) 388 76 84

e-posta: hafize.sav@hotmail.com

Alındığı tarih: 16.10.2014, Yayına kabul: 28.11.2014

* 27. ANKEM Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi'nde sunulmuştur. Poster No: 15 (25-29 Nisan 2012, Sarıgerme-Muğla)

hastalarda ciddi infeksiyonlara yol açarlar. *Aspergillus* türlerinin oluşturduğu infeksiyonlar maligniteli hastalarda 1990'lı yıllardan beri en sık görülen invazif küf infeksiyonlarıdır ve *Aspergillus fumigatus* ile *Aspergillus flavus* bu infeksiyonlara en sık neden olan türlerdir⁽²⁶⁾. Antifungal kullanımı sırasında kültürde üreyen *Aspergillus* cinsinin tür düzeyinde tanımlanması amfoterisin B'ye doğal dirençli *Aspergillus terreus* ve *Aspergillus nidulans* gibi türlerin ayırt edilebilmesi için son derece önemlidir⁽¹³⁾. Son dönemlerde *A.fumigatus* türlerinde CYP51A nokta mutasyonuna bağlı olarak gelişen itrakonazol yada çoklu azol direncinde dramatik artış, tür tanısıyla birlikte antifungal duyarlılıklarının belirlenmesinin önemini artırmıştır⁽¹⁴⁾.

Antifungal duyarlılık testleri için Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından önerilen referans yöntem mikro ya da makro sıvı dilüsyon testidir⁽⁵⁾. Bunun yanında disk difüzyon ve E-test gibi difüzyon testleri de klinik laboratuvarlarda kullanılmaktadır. Özellikle E-test yöntemi, tekrarlanabilirliğinin yüksek olması ve ilaçlar için bir minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerinin saptanabilmesi nedeniyle oldukça kullanışlıdır. Referans yöntem olan sıvı mikrodilüsyon ile E-test yöntemi karşılaştıran ve % 90-100'nün üzerinde uyum bildiren çalışmalar bulunmaktadır^(15,18).

Bu çalışmada, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda klinik örneklerden izole edilmiş *Aspergillus* izolatlarının vorikonazol, amfoterisin B ve kaspofungin duyarlılıklarının E-test yöntemi kullanarak belirlenmesi, bu değerlerin birbiriyle karşılaştırılması ve etkin antifungal ajanın tespit edilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ocak 2010-Aralık 2011 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen 26 hastadan izole edilen 26 *Aspergillus* spp. çalışmaya alınmış ve bu hastalar Avrupa Kanseri Araştırma ve Tedavi Organizasyonu ve Mikoz Çalışma Grubu (EORTC/MSG) kriterlerine göre kesin ya da yüksek olasılıklı invazif aspergilloz olarak sınıflandırılmıştır⁽⁷⁾. Klinik bulgularla birlikte

radyolojik olarak akciğerde infiltrasyon veya mantar topu görünümü olan, aspergilloz için risk faktörlerinden en az birine sahip olan ve alt solunum yolu örneklerinde *Aspergillus* spp. üreyen hastalarda, mantar dışı herhangi bir infeksiyon kanıtı olmadığında ya da normalde steril olan vücut bölgelerinde klinik ve radyolojik olarak infeksiyon bulgusu ve steril işlemlerle alınan örneklerde *Aspergillus* spp. üremesi olduğunda, olgu aspergilloz olarak tanımlanmıştır⁽⁹⁾.

Mikrobiyolojik tanı

Aspergillus türlerinin tanımlanması için hem makroskopik hem de mikroskopik özellikler incelenmiştir. Sabouraud Dekstroz Agar'da (SDA) üreyen koloniler konidyum üretimini ve pigment üretimini arttırmak için patates dekstroz agar (PDA) besiyerine, tür tanımı için ise Czapek-Dox Agar'a ekilmiştir. Üreyen türlerin herbirinin koloni rengi, morfolojisi, üreme hızı ve 25°C, 35°C ve 44°C'de üreme özellikleri kayıt edilmiştir. Mikroskopik incelemede ise laktofenol pamuk mavisi ile preparat hazırlanmış ve konidya biçimi, rengi, sterigmata sayısı, vezikül şekli, konidyoforların yapısı, hücrelerinin varlığı ve şekli dikkate alınmıştır⁽²⁰⁾.

Antifungal duyarlılık

Tanımlanan *Aspergillus* izolatlarının amfoterisin B, vorikonazol ve kaspofungin duyarlılıkları E-test (AB Biodisk, İsveç) yöntemi ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda araştırılmıştır. Uygun sporulasyon için *Aspergillus* izolatları PDA'ya ekilmiş ve bir hafta süreyle bekletilmiştir. İnokulasyon için steril fizyolojik tuzlu suda 106 spor/ml konsantrasyonda süspansiyon hazırlanmıştır. Bu süspansiyon % 2 glukoz ve % 1.5 agar içeren RPMI 1640 (Sigma, USA) besiyerine eşit yoğunlukta dağıtılmıştır. Amfoterisin B, vorikonazol ve kaspofungin E-test şeritleri plaklara konulmuştur. Plaklar 48 saat inkübasyondan sonra okunmuştur. Antifungal duyarlılık test sonuçlarının değerlendirilmesinde kaspofungin ve vorikonazol için belirgin üreme inhibisyonunun gözlemlendiği elips ile E-test stribinin kesiştiği, amfoterisin B için ise üremenin tamamen engellendiği elips ile şeridin kesiştiği nokta MİK değeri olarak değerlendirilmiştir^(15,18).

BULGULAR

Toplam 26 hastanın 8'inin (% 31) kadın, 18'inin (% 69) erkek olduğu görülmüştür. Hastaların altısının (% 23) hematoloji-onkoloji servislerinde, beşinin (% 19) göğüs hastalıkları servisinde ve kalanının enfeksiyon, iç hastalıkları, göz, kulak-burun-boğaz ve pediatri servisleri ile yoğun bakım ünitelerinde yatmakta oldukları saptanmıştır. Çeşitli klinik örneklerden (12 doku, 11 bronkoalveoler lavaj ve üç balgam) izole edilen toplam 26 izolatin 21'i (% 81) *A.fumigatus*, beşi (% 19) *Aspergillus niger* olarak tanımlanmıştır. EORTC/MSG kriterlerine göre hastaların 12'si kesin, 14'ü yüksek olasılıklı invazif aspergilloz olarak sınıflandırılmıştır. *A.fumigatus* vorikonazol ve kaspofungin E-test MiK_{50} - MiK_{90} değerleri amfoterisin B E-test MiK_{50} - MiK_{90} değerlerine göre daha düşük bulunmuştur. *A.niger* izolatinın sayısının az olması nedeniyle sadece MiK aralığı hesaplanmıştır. *A.niger* için kaspofungin ve vorikonazol MiK aralığı, amfoterisin B MiK aralığına göre daha düşük bulunmuştur. *Aspergillus* izolatları için saptanan amfoterisin B, vorikonazol ve kaspofungin MiK aralıkları ile MiK_{50} - MiK_{90} değerleri Tablo'da gösterilmiştir.

Tablo. *Aspergillus* türlerinin MiK aralığı, MiK_{50} ve MiK_{90} değerleri ($\mu g/ml$).

Antifungal	Suşlar (sayı)	MiK aralığı	MiK_{50}	MiK_{90}
Amfoterisin B	<i>A.fumigatus</i> (21)	0.004-2	0.25	0.5
	<i>A.niger</i> (5)	0.125-0.5	-*	-
Vorikonazol	<i>A.fumigatus</i> (21)	0.016-0.32	0.125	0.25
	<i>A.niger</i> (5)	0.016-0.64	-	-
Kaspofungin	<i>A.fumigatus</i> (21)	0.004-1	0.032	0.064
	<i>A.niger</i> (5)	0.004-0.125	-	-

* Sayı az olduğundan hesaplanmamıştır.

TARTIŞMA

İnvazif küf enfeksiyonlarının en sık nedeni *Aspergillus* cinsinde yer alan mantarlardır⁽²²⁾. Bunlar invazif enfeksiyonlardan alerjik sendromlara kadar değişen klinik tablolara neden olmaktadır^(11,12). Çeşitlilik gösteren bu klinik tablolarda etken olarak *A.fumigatus* ilk sırada yer almaktadır⁽⁶⁾. Epidemiyolojik çalışmalarda non-fumigatus türlerine bağlı enfeksiyonların sıklığında da artış bildirilmektedir. Amerika'da bir kanser merkezinde nötroopenik hasta grubunda

antifungal ilaçlara dirençli non-fumigatus türlerin *A.fumigatus* türlerine göre daha sık görüldüğü rapor edilmiştir⁽²⁴⁾. Çok merkezli bir çalışmada invazif aspergillozda etken olan türlerin sıklığı araştırılmış; *A.fumigatus* % 54.2, *A.flavus* % 7.4, *A.niger* % 6.5 ve *A.terreus* % 3.2 olarak bildirilmiştir⁽²⁾. Dünyada görülen bu tür dağılımı ülkemiz içinde geçerlidir. Yapılan bir çalışmada, fırsatçı mantar enfeksiyonu ön tanısı ile solunum yolu örnekleri incelenen 85 hastanın 22'sinde *Aspergillus* cinsi küf mantarlarının izole edildiği ve bu örneklerden sıklık sırası ile *A.fumigatus*, *A.flavus* ve *A.niger* türlerinin izole edildiği rapor edilmiştir⁽¹⁰⁾. Öz ve ark.⁽¹⁷⁾ çalışmalarında toplam 110 *Aspergillus* izolatinın % 60'ının *A.fumigatus*, % 21'inin *A.niger* ve % 9'unun da *A.flavus* olduğunu bildirmişlerdir. Ocak 2010-Aralık 2011 tarihleri arasındaki solunum yolu örnekleri ve dokuları içeren çalışmamızda da toplam 26 izolatin 21'i (% 81) *A.fumigatus*, beşi (% 19) *A.niger* olarak tanımlanmıştır.

Aspergillus türlerine bağlı klinik tablolarda artış ve yeni antifungal ilaçların keşfi epidemiyolojik incelemelerin ve antifungal duyarlılık testlerinin önemini artırmıştır. Ayrıca bu hastalarda bildirilen yüksek mortalite oranları da tedavinde uygun antifungal seçiminin önemini artırmaktadır⁽³⁾. PATH Alliance® (The Prospective and Antifungal Therapy Alliance) çalışmasında 25 Kuzey Amerika merkezinin verilerinde sağ kalım oranı % 66.3 olarak bildirilmiştir⁽²⁾.

Aspergillus türlerine bağlı enfeksiyonların sağaltımında temelde poliyenler, azoller ve ekinoandinler kullanılmaktadır⁽²³⁾. Bu ilaçlardan vorikonazol invazif aspergilloz hastalığının hem primer hemde kurtarma tedavisinde kullanılan monotriazolik bir ilaçtır. Çok merkezli bir çalışmada 388 *Aspergillus* izolatinın antifungal duyarlılık E-test yöntemiyle çalışılmış ve *A.fumigatus*, *A.flavus* ve *A.terreus* vorikonazol MiK_{90} değerleri itraconazol ve amfoterisin B MiK_{90} değerine göre daha düşük bulunmuştur. Ayrıca *A.flavus* ve *A.terreus* türlerinde iki azolün etkin olduğu, *A.niger* türlerinde amfoterisin B MiK_{50} ve MiK_{90} değerlerinin vorikonazol MiK_{50} ve MiK_{90} değerlerine göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir⁽⁷⁾. Öz ve ark.⁽¹⁷⁾ klinik örneklerden tanımladıkları *Aspergillus* izolatlarının amfoterisin B, itraconazol ve vorikonazol duyarlılığı

nı değerlendirmişler ve en etkili antifungalın vorikonazol olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca çalışmalarında, *A.flavus* izolatlarına karşı amfoterisin B ve vorikonazol için *A.fumigatus* izolatlarından daha yüksek MİK değerleri elde edildiğini bildirmişlerdir. Arıkan ve ark.⁽¹⁾ 82 *Aspergillus* türünde in vitro etkinliği en yüksek olan antifungalın vorikonazol olduğunu bunu sırasıyla posakonazol, itraconazol ve amfoterisin B'nin takip ettiğini bildirmişlerdir.

Ekinokandinler, (1-3)-beta-D-glukan sentezini inhibe eden antifungallerdir⁽⁴⁾. Ekinokandinlerden kaspofungin tedaviye dirençli invazif aspergilloz hastalığının tedavisinde endikedir. Mikafungin ve anidulafungin de *Aspergillus* türlerine karşı etkilidir ancak etkin doz henüz belli olmadığı için tedavide onay almamışlardır⁽²⁷⁾. Farklı antifungallerle yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada *A.fumigatus*, *A.flavus*, *A.nidulans*, *A.niger* ve *A.terreus* türlerinde kaspofunginin etkinliğinin iyi olduğu vorikonazol, itraconazol, posakonazol gibi azollerin in vitro aktivitelerinin geleceksel amfoterisin B'ye göre daha iyi olduğu saptanmıştır⁽²¹⁾.

Amfoterisin B, klinik açıdan anlamlı maya ve küflere karşı aktivite gösteren ve birçok invazif fungal infeksiyonunun tedavisi için onay almış bir ajandır⁽¹⁶⁾. Phaller ve ark.⁽¹⁹⁾ amfoterisin B ve dört azol grubu antifungal ile yaptıkları çalışmada, izolatların % 91'inin vorikonazol ve % 89'unun amfoterisin B MİK değerinin $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ 'nin altında olduğunu belirlemişlerdir. Bundan dolayı vorikonazolun amfoterisin B'ye göre daha etkin olduğunu bildirmişlerdir. Bir diğer çalışmada 372 *Aspergillus* izolatının % 93'ünde kaspofungin ve % 89'unda amfoterisin B MİK değerlerinin $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ 'nin altında olduğu bildirilmiştir⁽⁸⁾.

Bizim çalışmamızda izolatların antifungal duyarlılıkları incelendiğinde, *A.fumigatus* için vorikonazol ve kaspofungin MiK_{50} - MiK_{90} değerlerinin amfoterisin B MiK_{50} - MiK_{90} değerlerine göre, *A.niger* içinse vorikonazol ve kaspofungin MİK aralıklarının, amfoterisin B MİK aralığına göre daha düşük oldukları saptanmıştır.

Sonuç olarak; ülkemizden ve dünyadan elde edilen verilere paralel olarak *A.fumigatus* en sık izole edilen tür olmuştur. *A.fumigatus* ve *A.niger* izolatları için vorikonazol ve kaspofun-

ginin amfoterisin B'ye göre daha düşük MİK aralıklarına sahip oldukları görülmüş ve daha etkili olabilecekleri sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte ampirik tedavi protokollerinin oluşturulmasına katkı sağlamak için farklı türleri ve antifungalleri de içeren ve mümkünse referans yöntem ile yapılan çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Arıkan S, Sancak B, Alp S, Haşçelik G, McNicholas P. Comparative in vitro activities of posaconazole, voriconazole, itraconazole, and amphotericin B against *Aspergillus* and *Rhizopus*, and synergy testing for *Rhizopus*, *Med Mycol* 2008;46(6):567-73.
<http://dx.doi.org/10.1080/13693780801975576>
2. Azie N, Neofytos D, Pfaller M, Meier-Kriesche HU, Quan SP, Horn D. The PATH (Prospective Antifungal Therapy) Alliance® registry and invasive fungal infections: update 2012, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012;73(4):293-300.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.06.012>
3. Baddley JW, Stephens JM, Ji X, Gao X, Schlamm HT, Tarallo M. Aspergillosis in intensive care unit (ICU) patients: epidemiology and economic outcomes, *BMC Infect Dis* 2013;23(13):29.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-13-29>
4. Chen SC, Slavin MA, Sorrell TC. Echinocandin antifungal drugs in fungal infections: a comparison, *Drugs* 2011;71(1):11-41.
<http://dx.doi.org/10.2165/11585270-000000000-00000>
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; approved standard, 2nd ed. CLSI document M38-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA (2008).
6. Denning DW. Invasive aspergillosis, *Clin Infect Dis* 1998;26(4):781-803.
<http://dx.doi.org/10.1086/513943>
7. De-Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group, *Clin Infect Dis* 2008;46(12):1813-21.
<http://dx.doi.org/10.1086/588660>

8. Diekema DJ, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN, Pfaller MA. Activities of caspofungin, itraconazole, posaconazole, ravuconazole, voriconazole, and amphotericin B against 448 recent clinical isolates of filamentous fungi, *J Clin Microbiol* 2003;41(8): 3623-6.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.41.8.3623-3626.2003>
9. Gürcan Ş, Tikveşli M, Eryıldız C, Evci C, Ener B. İnvazif aspergillozlu olgulardan izole edilen *Aspergillus* spp. suşlarının antifungal duyarlılıkları, *Mikrobiyol Bul* 2010;44(2):273-8.
10. Gürcan S, Demir M, Altıay G, Tikveşli M, Kilic H, Otkun M. *Aspergillus* spp. isolations from respiratory tract samples in Trakya University Hospital, *Tuberk Toraks* 2007;55(2):160-6.
11. Hogan C, Denning DW. Allergic bronchopulmonary aspergillosis and related allergic syndromes, *Semin Respir Crit Care Med* 2011;32(6):682-92.
12. Hope WW, Walsh TJ, Denning DW. Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis, *Lancet Infect Dis* 2005;5(10):609-22.
[http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(05\)70238-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(05)70238-3)
13. Lass-Flörl C, Kofler G, Krophshofer G et al. In-vitro testing of susceptibility to amphotericin B is a reliable predictor of clinical outcome in invasive aspergillosis, *J Antimicrob Chemother* 1998; 42(4):497-502.
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/42.4.497>
14. Lelièvre L, Groh M, Angebault C, Maherault AC, Didier E, Bournoux ME. Azole resistant *Aspergillus fumigatus*: an emerging problem, *Med Mal Infect* 2013;43(4):139-45.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.medmal.2013.02.010>
15. Mallié M, Bastide JM, Blancard A et al. In vitro susceptibility testing of *Candida* and *Aspergillus* spp. to voriconazole and other antifungal agent using E-test: results of a French multicentre study, *Int J Antimicrob Agents* 2005;25(4):321-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2004.11.010>
16. Moen MD, Lyseng-Williamson KA, Scott LJ. Liposomal amphotericin B: a review of its use as empirical therapy in febrile neutropenia and in the treatment of invasive fungal infections, *Drugs* 2009;69(3):361-92.
<http://dx.doi.org/10.2165/00003495-200969030-00010>
17. Öz Y, Akşit F, Aslan M, Kaşifoğlu N, Kiraz N. Klinik *aspergillus* izolatları: tür dağılımı ve antifungal duyarlılık sonuçlarının değerlendirilmesi, *ANKEM Derg* 2012;26(2):69-73.
18. Pfaller JB, Messer SA, Hollis RJ, Diekema DJ, Pfaller MA. In vitro susceptibility testing of *Aspergillus* spp. comparison of E-test and reference microdilution methods for determining voriconazole and itraconazole MICs, *J Clin Microbiol* 2003;41(3):1126-9.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.41.3.1126-1129.2003>
19. Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN; SENTRY Participants Group. Antifungal activities of posaconazole, ravuconazole, and voriconazole compared to those of itraconazole and amphotericin B against 239 clinical isolates of *Aspergillus* spp. and other filamentous fungi: report from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2000, *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46(4): 1032-7.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.46.4.1032-1037.2002>
20. Richardson MD. Aspergillosis, "Merz WG, Hay RJ (eds). Topley & Wilson's Microbiology & Microbial Infections, 10. baskı" kitabında s.687-692 USA: Edward Arnold ASM Press, (2005).
21. Shi JY, Xu YC, Shi Y et al. In vitro susceptibility testing of *Aspergillus* spp. against voriconazole, itraconazole, posaconazole, amphotericin B and caspofungin, *Chin Med J (Eng)* 2010;123(19): 2706-9.
22. Shimodaira K, Okubo Y, Nakayama H et al. Trends in the prevalence of invasive fungal infections from an analysis of annual records of autopsy cases of Toho University, *Mycoses* 2012;55(5):435-43.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0507.2012.02169.x>
23. Steinbach WJ, Marr KA, Anaissie EJ et al. Clinical epidemiology of 960 patients with invasive aspergillosis from the PATH Alliance registry, *J Infect* 2012;65(5):453-64.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2012.08.003>
24. Torres HA, Rivero GA, Lewis RE, Hachem R, Raad II, Kontoyiannis DP. Aspergillosis caused by non-fumigatus *Aspergillus* species: risk factors and in vitro susceptibility compared with *Aspergillus fumigatus*, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003;46(1):25-8.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0732-8893\(03\)00013-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0732-8893(03)00013-0)
25. Vanden Bergh MF, Verweij PE, Voss A. Epidemiology of nosocomial fungal infections: invasive aspergillosis and the environment, *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999;34(3):221-7.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0732-8893\(99\)00026-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0732-8893(99)00026-7)
26. Vonberg RP, Gastmeier P. Nosocomial aspergillosis in outbreak settings, *J Hosp Infect* 2006;63(3):246-54.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2006.02.014>
27. Walsh TJ, Anaissie EJ, Denning DW, Herbrecht R, Kontoyiannis DP, Marr KA. Treatment of aspergillosis: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America, *Clin Infect Dis* 2008;46(3):327-60.
<http://dx.doi.org/10.1086/525258>