

DERİ LEZYONLARINDAN AYRILAN BİR CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS KÖKENİ:

Laboratuvar Tanımı, Deney Farelerinde
İnfeksiyon Oluşturulması ve NCCLS M27-
A Makrodilüsyon Yöntemi ile
Yedi Antifungal Duyarlılığının
Belirlenmesi*

A. Serda KANTARCIOĞLU, Ayhan YÜCEL

Background and Design.- *Cryptococcus neoformans* is an encapsulated pathogen fungus that can cause cryptococcosis rarely in completely healthy individuals and commonly in immunosuppressed patients by inhalation into the lungs and then spreading hematogenously to the central nervous system, bone and joint, eye, prostate and other body sites. In this survey, specimens from cutaneous lesions, urine and blood from a patient previously diagnosed Trombotic Trombocytopenic Purpura were mycologically examined and antifungal susceptibility tests of the isolated strain were carried on according to NCCLS M27-A macrobroth method along with the experimental infection in mice.

Results.- The fungus strain isolated from specimens was identified as *Cryptococcus neoformans*. The strain was found susceptible to fluconazole, itraconazole, ketoconazole and miconazole and resistant to flucytosin. MIC values obtained against Amphotericin B and terbinafine were respectively 1 mg/ml, and 4 mg/ml.

Conclusion.- This study was presented in view of limited number of isolations of *C.*

neoformans in Turkey, isolated from cutaneous lesions and the first clinical isolate *in vitro* susceptibility against seven conventional antifungal agents was carried on according to NCCLS reference M27-A macrobroth method.

Kantarcioglu AS, Yücel A. A *Cryptococcus neoformans* strain isolated from skin lesions: laboratory diagnosis, experimental infection, susceptibilities against seven antifungal agents by NCCLS M27-A macrobroth method. *Cerrahpaşa J Med* 2001; 32: 207-213.

Cryptococcus *neoformans*, kriptokokkoz etkeni olan kapsüllü bir maya mantarıdır. Mantar genellikle çevreden solunum yoluyla alınır. Belirgin bir bağışıklık bozukluğu olmayanlarda da infeksiyon oluşturabilirse de, hastaların çoğunda HIV infeksiyonu, organ transplantasyonu, kronik lösemi, lenfoma, kortikosteroid tedavisi, sarkoidoz gibi hazırlayıcı sebepler bulunmaktadır. Oluşan infeksiyon lokalize veya disemine ve akut veya kronik olabilir. Kriptokokkozun akciğerler, merkez sinir sistemi, bağırsak, deri, kemik, prostat, göz yerleşimleri olabilir. Konağın savunmasında hücresel bağışıklık yanıt çok önemlidir.¹⁻⁴

Bu yazıda; Anabilim Dalımız Derin Mikoz laboratuvarında yapılan bir çalışmada; Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Özel Servisinde yatmakta olan ve hekimin önerdiği gönderme formundan öğrenilen bilgiye göre yüksek dozda kortizon tedavisi almış trombotik trombositopenik purpuralı (TTP) 27 yaşındaki bir erkek hastada (VD, protokol No. 1191) gelişen kutanöz kriptokokkoz lezyonlarından ayrılıp tanımlanan *C. neoformans* kökeni ile deney farelerinde infeksiyon geliştirilmesi ve kökenin amfoterisin B (amp B), flukonazol (FKZ), itrakonazol (İTZ), ketokonazol (KTZ), mikonazol (MKZ), flusitozin (5-FC) ve terbinafin (TBF)'e duyarlılığının belirlenmesi bildirilmektedir. Bu çalışma bu

* Anahtar Kelimeler: *Cryptococcus neoformans*, Deneysel kriptokokkoz, Antifungallere duyarlılık; Key Words: *Cryptococcus neoformans*, Experimental cryptococcosis, Antifungal susceptibility; *Alındığı Tarih:* 00 AAA 2001; Dr. A. Serda Kantarcioğlu, Prof. Dr. Ayhan Yücel: İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı; *Yazışma Adresi (Address):* Dr. A. Yücel, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 34303 Cerrahpaşa, İstanbul.
<http://www.ctf.istanbul.edu.tr/dergi/online/2001v32/s4/014a1.htm>

mantarın Türkiye’de insandan hastalık etkeni olarak seyrek ayrılması, kutanöz bir lezyonda bulunması ve yurdumuzda antifungallere *in vitro* duyarlılığı araştırılmış ilk klinik köken olması sebebiyle sunulmuştur.

YÖNTEM VE GEREÇLER

Etkenin ayrılıp tanımlanması. Etkenin elde edildiği örnekler hastanın sağ ve sol alt ekstremitelerindeki kutanöz lezyonlardan 6 adet düz ve 2 adet taşıyıcı besiyeri bulunan eküvyon kullanılarak tarafımızdan alınmıştır. Örneklerden Gram, Ehrlich-Ziehl-Nielsen, Giemsa, metilen mavisi boyalı preparatlar hazırlanmış ve Sabouraud dekstroza agar (SDA), beyin yürek infüzyon agarı (BHIA), çukulata agar (ÇA), mısır unlu agar (MUA), *Guizotia abyssinica* tohumlu agar (NSA) besiyerlerine ekim yapılarak 25°C, 30°C ve 37°C sıcaklıkta bekletilmiştir. Üreyen kolonilerden boyalı yayma preparatlar ve çini mürekkebi preparatları yapılmış; mantarı benzerlik gösteren diğer bazı türlerden ayırmak üzere fermentasyon ve asimilasyon deneyleri^{5,6} ile üreaz deneyi uygulanmıştır.

İnfeksiyonun yaygınlığını araştırmak üzere hastanın kan ve idrar örnekleri de istenerek mikoloji yönünden incelemeye alınmış, hastanın TTP tanımı göz önüne alınarak BOS örneği alınmamıştır.

Lateks aglütinasyon deneyi. Kan ve idrar örneklerinde lateks aglütinasyon deneyi (Pastorex Cryptococcus, Sanofi Diagnostic Pasteur, France) yapılarak antijen aranmıştır.

Deney farelerinde infeksiyon geliştirilmesi. Kökenin SDA’da 30°C’de 48 saatlik kolonilerinden steril tuzlu suda süspansiyonu hazırlanmıştır. Süspansiyonun bulanıklığı MacFarland 0.5 numaralı tüpü ile ayarlanmış ve bundan 1 ml’lik kısımlar 4 adet beyaz farenin periton içine ve 2 adet fareye de kuyruk veninden injekte edilmiştir. Fareler her gün kontrol edilmiş ve ölen fareye otopsi yapılmıştır. Deney 3 hafta sürdürülmüş, bu süre sonunda sağ kalan fakat iyice hareketleri azalmış olanlar da kloroform ile öldürülmüştür. Otopside steril pens ve bistüri ile aseptik koşullarda alınan karın boşluğundaki jelatinöz sıvıdan, akciğer, karaciğer, dalak ve böbrek-

lerden küp şeklinde ayrılan küçük parçalar çok sayıda SDA, BHIA plaklara besiyerine yarı gömülecek biçimde ekilerek saf kültürler elde edilip morfoloji ve fizyoloji özellikleri yukarıda belirtilen şekilde incelenmiştir.^{5,7}

Antifungal duyarlılık deneyleri.

Ayırduğumuz *C. neoformans* kökeninin antifungal duyarlılık deneyleri National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) M-27-A referans belgesinde önerilen standart makrodilüsyon yöntemine uygun olarak yapılmıştır.⁸ Kökenin amfoterisin B (amp B) (Squibb); flukonazol (FKZ) (Pfizer); itra-konazol (İTZ) (Medefarma Est); ketokonazol (KTZ) (Milen); mikonazol (MKZ) (Select-chemie); flusitozin (5-FC) (Sigma) ve terbinafin (TBF) (Novartis) karşısındaki duyarlılığını araştırdığımız deneylerde %2 glukoz katılmış ve 0.05 M morfolinepropanesulfonik asit (MOPS) ile tamponlanmış (pH 7.0 ±0.1) yeast nitrogen base besiyeri hazırlanarak kullanılmıştır. Final inokulum yoğunluğu yaklaşık $5.0 \times 10^2 - 2.5 \times 10^3$ CFU/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Kalite kontrol kökeni olarak ATCC 90112 (American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA) kullanılmış; tüpler 48 saat 35°C’de inkübe edilmiş ve kontrol kökenin gelişmesi kontrol edilmiştir.

BULGULAR

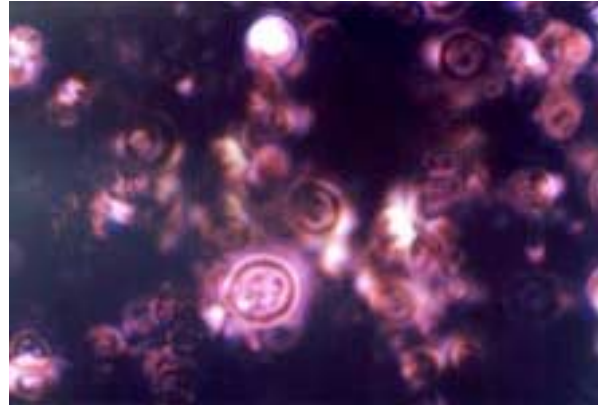
Materyallerden doğrudan yayılarak hazırlanan boyalı preparatların mikroskopta incelenmesinde ince kapsüllü yuvarlak maya hücreleri gözlemlenmiştir. SDA, BHIA besiyerlerinde boz renkli ve NSA’da kahverengi maya kolonileri halinde mantar üretilmiş ve saf kültür halinde elde edilmiştir. Kültürden yapılan yayma ve negatif preparatlarda da tomurcuklanan, tam yuvarlak biçimli ve bir kısmı kapsüllü, bir kısmı kapsülsüz mayalar gözlemlenmiştir (Şekil 1). Lateks aglütinasyon deneyi pozitif sonuç vermiş; ayrıca hastanın idrar örneğinin direkt incelenmesinde ve kültüründe de bu mantarla karşılaşmış; saflaştırılarak köken ayrılmıştır. Fermentasyon deneyinde kökenin glukoz, maltoz, sukroz, laktöz, galaktöz ve trehalozu kullanmadığı görülmüştür. Glu-

koz, maltoz, sukroz, galaktoz, sellobiyoz, inositol, ksiloz, rafinoz, trehaloz, dulcitol asimilasyonunun pozitif, laktoz, melibiyoz asimilasyonunun negatif olduğu saptanmıştır. 37°C'de gelişme ve üreaz pozitif, nitrat oksidaz negatif, fenol oksidaz pozitif bulunmuş; MUA'da hif geliştirmemiştir. Ayrılan kökenle deney farelerinde infeksiyon geliştiği gözlemlenmiş; önce kuyruk veninden inoküle edilmiş olan fareler 14üncü ve 15inci günlerde ölmüştür. Üç haftalık deney süresi sonunda sağ kalan fakat iyice hareketleri azalmış olanlar da kloroform ile öldürülmüştür. Otopside sonradan farelerin iç organlarında aynı mantar direkt mikroskop incelemesinde geniş kapsüllü olarak saptanmış ve kültürlerde mukoid koloniler halinde üretilmiştir. Bu mukoid kolonilerden yapılan preparatların mikroskopta incelenmesinde yine geniş kapsüllü, yuvarlak biçimli mayalar görülmüştür. Köken literatürdeki laboratuvar tanım yöntemleri ile uyum göstermiş ve *Cryptococcus neoformans* olarak tanımlanmıştır.^{1,5,6}

Ayırdığımız *C. neoformans* kökeninin deneye aldığımız yedi antifungal madde karşısındaki MIC değerleri amp B için 1 µg/ml; FKZ için <0.125 µg/ml; İTZ için <0.03 µg/ml; KTZ için <0.03 µg/ml; MKZ için <0.03 µg/ml; 5-FC için >64 µg/ml ve TBF için 4 µg/ml olarak okunmuştur. Köken deneğimiz tüm azollere *in vitro* duyarlı ve flusitazine dirençli bulunmuştur.

TARTIŞMA

Kriptokokkoz kozmopolit bir mikozdur; son zamanlarda Amerika, batı Avrupa ve Avustralya'daki tüm AIDS'lilerin %6-10'unun kriptokokkozlu olduğu tahmin edilmiş; bu hasta grubunda en sık karşılaşılan dördüncü sıradaki hastalık olduğu bildirilmiştir.⁴ Ancak; primer kutanöz kriptokokkozun seyrek olduğu; *C. neoformans*'ın bağışıklığı bozuk veya baskılanmış kişilerde ikincil olarak kutanöz veya sistemik infeksiyona sebep olduğu da bilinmekte-



Şekil 1. Kültürden yapılan yayma ve negatif preparatlarda gözlemlenen tomurcuklanan, tam yuvarlak biçimli kapsüllü mayalar (Çini mürekkebi preparatı) (x 1900). (Mikrofotoğrafi Yücel ve Kantarcioğlu)

dir.⁹ Kriptokokkozların %10'unda ortaya çıkan bu lezyonların anlamının dissemine kriptokokkozun erken tanımı olduğu ve dissemine infeksiyonlarda bu mantarın ekseri idrardan üretilebildiği yazılmıştır.⁵ Bu çalışmada da aynı hastanın kutanöz lezyonlarından ve idrar örneğinden *C. neoformans* ayrılmış; bu durum antifungal duyarlılık deneyi sonuçları ile klinisyene bildirilmiş ancak hastanın altta yatan hastalığı (TTP) sebebiyle riskli olacağı düşünülerek BOS örneği alınıp incelenememiştir.

Türkiye'de de, ilki 1953'de Soysal, Unat, Tahsinoğlu tarafından olmak üzere sınırlı sayıda kriptokokkoz olgusu bildirilmiştir ve bunların bir kısmı ancak otopside saptanmıştır.¹⁰⁻²³ İnsanda ilk kolon kriptokokkozu da yurdumuzdaki bir olgu ile gösterilmiştir.¹² Ulaşabildiğimiz kaynaklarda, *C. neoformans*'ın daha önce yurdumuzda deri lezyonlarından ayrılarak üretilmesi ile ilgili bir bildirim rastlanılmamış olup bildirdiğimiz köken bu bakımdan ilktir.

Türkiye'de kanatlı dışkılarıyla bulaşmış topraklardan bu mantarın ayrılmasına ilişkin çalışmalar da yayınlanmıştır.²⁴⁻³⁰ Yurdumuzda yapılan yakın tarihli bir başka araştırmada da bir kısım bitki el-

yafı eiyapımı eski kağıtlardan elde edilen ve bu mantarın doğal yuvasının bitki olduğu savını destekleyen dört *C. neoformans* kökeninin ayrıldığı bildirilmiştir.³¹

C. neoformans ve kriptokokkoz yüzyılı aşkın bir süreden beri bilinmesine karşın son yıllarda bir yandan bağışıklığı baskılanmış hasta popülasyonundaki artış diğer yandan AIDS epidemisinin ortaya çıkması ile *C. neoformans*'la (özellikle bu mantarın virülens faktörleri ile antifungalere duyarlılığı ile) ilgili çalışmaların da giderek yoğunlaştığı dikkati çekmektedir. Güvenilir ve tekrarlanabilir duyarlılık yöntemleri geliştirildikten sonra bu deneylerin sonuçlarının klinikle uyumluluğunu bildiren verilerin arttığı bildirilmekte; özellikle sistemik infeksiyonlarda, duyarlılık deneylerinin yol gösterici olabileceği vurgulanmaktadır. NCCLS referans yöntemleri uygulanarak elde edilen MIC değerleri ile klinik yanıtlar arasındaki korelasyonun genellikle sağlandığı görüşüne varılmıştır³² ve *Cryptococcus neoformans*'ın flukonazol karşısındaki duyarlılığına ilişkin verilerin duyarlı ve dirençli kökenlerin sınıflandırılmasına olanak verebileceği öne sürülmektedir.³³

C. neoformans infeksiyonlarında tek başına veya 5-FC ile birlikte amp B bu mantarın birçok kökenine etkili bulunmaktadır. FKZ, İTZ, KTZ ve MKZ'nin etkili olduğu yazılmıştır.³⁴ Eskiden beri dermatofitozlarda etkili olduğu sebebiyle kullanılmakta olan TBF'in de *Cryptococcus* dahil subkutan ve sistemik mikozlardan ayrılan etkenlere *in vitro* etkili bulunduğu bildirilmektedir.^{35,36} Kutanöz kriptokokozdan ayırdığımız köken bu bilgiler doğrultusunda bu yedi antifungal karşısında denenmiştir.

İspanya'nın çeşitli bölgelerinde elde edilmiş 128 klinik *C. neoformans* kökeninin NCCLS M27-A yöntemiyle yapılan duyarlılık deneylerinde MIC aralıkları amp B için 0.03-1 µg/ml; 5-FC için 0.25-32 µg/ml; FKZ için 0.5- >64 µg/ml, İTZ için 0.03-1

mg/ml olarak saptanmıştır.³⁷ Brezilya'da 30 AIDS'li hastadan ayrılan 157 kökenin NCCLS M27-A yöntemiyle yapılan duyarlılık deneylerinde MIC aralıkları da amp B için 0.06-0.5 µg/ml; FKZ için 0.25-32 µg/ml ve İTZ için 0.06-0.012 µg/ml olarak bildirilmiştir.³⁸ Kan kültürlerinden elde edilen 38 *C. neoformans* kökeninin NCCLS M27-A yöntemiyle amp B karşısındaki MIC aralıkları 0.5-1 µg/ml; FKZ karşısında 0.125-8 µg/ml; İTZ ve KTZ karşısında 0.078-0.5 µg/ml olarak saptanmıştır.³⁹ Bir başka çalışmada Amerika [402] ve Afrika [164] kaynaklı 566 klinik *C. neoformans* kökeninin referans yöntemle yapılan duyarlılık deneylerinde elde edilen MIC₉₀ değerleri kaynaklarına göre sırasıyla FKZ için 8-16 µg/ml ve İTZ için 0.25-0.5 µg/ml olarak okunmuştur.⁴⁰ Avustralya'da doğal ve klinik kaynaklı 116 kökenin NCCLS M27-A yöntemiyle FKZ karşısında elde edilen MIC₉₀ değerleri 2.0 µg/ml ve TBF karşısında da 0.25 mg/µl olarak bulunmuştur.⁴¹ Uganda'lı AIDS'lilerden elde edilen 149 klinik kökenin NCCLS M27-A yöntemiyle ve RPMI 1640 besiyeri ile YNB besiyeri kullanılarak yapılan karşılaştırmalı duyarlılık deneylerinde FKZ karşısındaki MIC aralıkları sırasıyla 1.0-16 µg/ml ve 0.125-16 µg/ml olarak bildirilmiştir.⁴² NCCLS tarafından *Candida* türleri ve *Cryptococcus neoformans*'ın duyarlılık deneyleri için en son yayınlanmış olan referans belgede (M27-A) *C. neoformans* için YNB besiyerinin kullanılması daha uygun bulunmuş olduđu⁸ dikkate alınarak ayırdığımız klinik kökenin deneylerinde bu besiyeri kullanılmıştır.

Yurdumuzda da İzmir'de güvercin dışkısından ayrılan 13 *C. neoformans* kökeninin amp B'ye *in vitro* duyarlılıklarının agar dilüsyon yöntemi ile araştırıldığı bir çalışmada MIC değerleri 10 köken için 0.125 µg/ml ve üç köken için de 0.250 µg/ml bulunmuştur.²⁸ Türkiye'nin çeşitli yörelerinden toplanan güvercin dışkısı örneklerinden ayrılan 27 *C. neoformans* kökeninin amp B, 5-FC, FKZ, vorikonazol, İTZ ve SCH56592'ye *in vitro* duyarlılıklarının araştırıldığı bir başka çalışmada vo-

rikonazol, itrakonazol ve SCH56592'nin diğer üç antifungalden daha etkili bulunduğu bildirilmiştir.³⁰ Ulaşabildiğimiz basılı ve online kaynaklarda Türkiye'de şimdiye dek hasta materyalinden ayrılarak halen tedavide kullanılmakta olan antifungallere *in vitro* duyarlılığı belirlenen hiç bir *C. neoformans* kökeni yayınlanmamıştır. Bu çalışma bu mantarın Türkiye'de insandan hastalık etkeni olarak seyrek ayrılması, kutanöz bir lezyonda bulunması ve yurdumuzda antifungallere *in vitro* duyarlılığı belirlenmiş ilk klinik köken olması sebebiyle sunulmuştur.

ÖZET

Cryptococcus neoformans; seyrek olarak tamamen sağlıklı bireylerde infeksiyon oluşturabilirse de; sıklıkla bağışıklığı baskılanmış hastalarda solunumla alınıp sonra kan yoluyla merkez sinir sistemine, kemik ve eklemlere, göze, prostata ve diğer vücut bölgelerine yayılarak kriptokokkoza sebep olan kapsüllü bir patojen mantardır. Bu çalışmada, trombotik trombositopenik purpuralı bir hastanın kutanöz lezyonlarından, idrar ve kanından alınan örnekler mikolojik olarak incelenmiş ve ayrılan kökene NCCLS M27-A referans makrodilüsyon yöntemiyle antifungallere duyarlılık deneyleri yapılmıştır.

Örneklerden ayrılan mantar *Cryptococcus neoformans* olarak tanımlanmış ve bu köken ile deney farelerinde infeksiyon geliştirilmiştir. Köken *in vitro* flukonazol, itrakonazol, ketokonazol, mikonazol'e duyarlı, flusitozin'e dirençli bulunmuş; amfoterisin B ve terbinafin karşısında MIC değerleri sırasıyla 1 µg/ml ve 4 µg/ml olarak saptanmıştır.

Bu çalışma bu mantarın Türkiye'de insandan hastalık etkeni olarak seyrek ayrılması, kutanöz bir lezyonda bulunması ve yurdumuzda antifungallere *in vitro* duyarlılığı araştırılmış ilk klinik köken olması sebebiyle sunulmuştur.

KAYNAKLAR

1. Yücel A. *Cryptococcus neoformans*'ın Mikolojisi. Ed. Tümbay E. *Cryptococcus neoformans* ve Kriptokokkoz'da. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No.12. İzmir: Bilgehan Basımevi 1988: 9-21.
2. Yücel A. Kriptokok ve Diğer Maya formundaki mantarlar. İnfeksiyon Hastalıklar'nda. 2nci baskı. Ed.Wilke A, Söyletir G, Doğanay M. 2001 (Baskıda).
3. Mitchell TG, Perfect JR. Cryptococcosis in the era of AIDS-100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*. Clin Microbiol Rev 1995; 8: 515-548.
4. Cox GM, Perfect JR. *Cryptococcus neoformans* var.*neoformans* and *gattii* and *Trichosporon* species. In: Coklier L, Balows A, Sussman M. Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. 9th ed. vol 4 Ajello L, Hay RJ vol eds.Medical Mycology 2000: 461-486.
5. Kwon Chung KJ, Bennett JE. Medical Mycology. Philadelphia; Lea and Fabinger, 1992.
6. 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.
7. Hasenclever HF, Mitchell WO. Virulence and growth rates of *Cryptococcus neoformans* in mice. Annals of the New York Academy of Sciences 1960; 89: 156-162.
8. National Committee for Laboratory Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing for Yeasts. Approved Standard; Document M27-A National Committee for Laboratory Standards.Villanova, 1997.
9. Gatti M, Di Silverio A, Cespa M, Mosca M. Primary unusual cutaneous cryptococcosis in an HIV former drug-abuser patient. Mycoses 1997; 40: 101-102.
10. Kınacıgil RT. Bir Blastomycosis purulenta profunda (Typus Busse-Buschke) vakası. Dirim 1953; 28: 20.
11. Soysal SS, Unat EK, Tahsinoğlu M. Bir cryptococcosis vakası. Türk Tıp Encm Arş 1953; 4: 115.
12. Unat EK, Pars B, Koysak J. Bir kolon cryptococcosis'i vakası. İstanbul Tıp Fak Mec 1959; 22: 1318.
13. Tahsinoğlu M, Özkan E, Bayraktar A. Habis

- lenfoganülatomatozla birlikte görülen bir cryptococcosis vakası. Yeni Tıp Alemi 1962; 11: 231.
14. Koçak N, Yenerman M, Ergun I, Özdoğan E. Karaciğer sirozu vakası üzerine eklenmiş cryptococcosis vakası. Türk Tıp Cem Mec 1967; 33: 651.
 15. Anğ Ö, Tümbay E, Bügel E, Güvener Z. Balgamdan izole edilen *Cryptococcus neoformans* suşu. İstanbul Tıp Fak Mec 1973; 36: 850.
 16. Öktem K, Cevahirci F, Amato E. 238 bronkoskopik aspirasyon sıvısı ve çeşitli materyalin fungus yönünden incelenmesi. Diyarbakır Üniv Tıp Fak Mec 1974; 3: 431.
 17. Tümbay E, Seeliger HPR. Observations in the laboratory diagnosis of *Cryptococcus neoformans* (Observation of 11 cases). Castellania 1974; 2: 4-8.
 18. Vural T, Özbek H, Anğ Ö. Septisemi ile seyreden jeneralize bir kriptokokkoz vakası. 18. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (24-26 Ekim 1978, İstanbul)'nde bildirilmiştir.
 19. Baykal M, Zileli T, Akalın E. A case of *Cryptococcus neoformans* meningitis. Mikrobiyol Bul 1985; 19: 158-160.
 20. Söyletir G, Bayık M, Ener B, Göral M. "Hairy cell" lösemili bir hastada *Cryptococcus neoformans* meninjitisi. İnfeksiyon Derg 1988; 3: 291-295.
 21. Aktan G, Kasımoğlu Ö, Güven Ö, Şengül M. Bir menenjit olgusundan izole edilen *Cryptococcus neoformans* suşu. Türk Tıp Derneği Dergisi 1990; 9-12: 344-347.
 22. Leblebicioğlu H, Saniç A, Günaydın M, Emirler N, Özdemir Ş. Bir *Cryptococcus neoformans* meninjitisi olgusu. Mikrobiyol Bül 1995; 29: 203-207.
 23. Leblebicioğlu H, Sünbül M, Esen Ş, İncesu L, Günaydın M. A case of cryptococcal meningitis with acquired immunodeficiency syndrome. İnfeksiyon Derg 1996; 10: 389-391.
 24. Unat EK, Yücel A. Konak dışında *C. neoformans* ve *H. capsulatum* araştırmaları. İstanbul Tıp Fak Mec 1965; 28: 47-51.
 25. Tümbay E. İzmir yöresinde ve *Cryptococcus neoformans* kriptokokkoz. I. Kısım: *Cryptococcus neoformans*'ın doğal kaynaklarından izolasyonu. TÜBİTAK VI. Bilim Kongresi Tıp Araştırmaları Grubu Tebliği (17-21 Ekim 1977, Ankara): 839-866.
 26. Karaman A, Tümbay E, Demir O. Bursa'da güvercin ve çeşitli kuş dışkısı örneklerinde *Cryptococcus neoformans* aranması. Türk Mikrobiyol Cem Derg 1980; 10: 31.
 27. Yılmaz A, Göral G, Helvacı S, Kılıçturgay K, Gökırmak F, Töre O, Gedikoğlu S. Distribution of *Cryptococcus neoformans* in pigeon feces. Mikrobiyol Bul 1989; 23: 121-126.
 28. Sivrel A, Tümbay E. İzmir'de güvercin dışkısından izole edilen *Cryptococcus neoformans* suşları ve bunların amfoterisin B'ye *in vitro* duyarlılıkları. İnfeksiyon Derg 1993; 7: 107-113.
 29. Aygün G. İstanbul'da *Cryptococcus neoformans*'ın doğal kaynaklarda varlığının araştırılması. Cer Tıp Derg 1998; 29: 18-22.
 30. Yıldırım ST, Saracılı MA, Gönlüm A, Gün H. Isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* from pigeon droppings collected throughout Turkey. Med Mycol 1998; 391-394.
 31. Yücel A, Kantarcıoğlu AS. Doğadan ayrılan dört *Cryptococcus neoformans* kökeni ve bu mantarın ekolojisinde bitkinin yeri. İnfeksiyon Derg 2001; 2: 205-213.
 32. Rex JH, Walsh TJ, Sobel JD, Filler SG, Pappas PG, Dismukes WE, Edwards JE. Practice guidelines for the treatment of candidiasis. Infectious diseases society of America. Clin Infect Dis 2000; 30: 662-678.
 33. Espinel-Ingroff A, Barchiesi F, Hazen KC, Martinez-Suarez V, Scalise G. Standardization of antifungal susceptibility testing and clinical relevance. Med Mycol 1998; 36 (Suppl 1): 68-78.
 34. Yücel A. Mikoza'nın tedavisi: Antifungal ilaçlar. Yücel A, Tabak F, Öztürk R, Mert A. (ed). Günümüzde Antimikrobik Tedavi'de. İstanbul Bulaşıcı Hastalıklarla Savaş Derneği Yayın no: 12. İstanbul, 1998: 117-142.
 35. Pérez A. Terbinafine: broad new spectrum of indications in several subcutaneous and systemic mycoses and parasitic diseases. Abstracts of 5th Congress of the European Confederation of Medical Mycology (3-6 June 1999, Dresden, Germany). Mycoses 1999; 42: 150-151.
 36. Ryder NS. Activity of terbinafine against serious fungal pathogens. Mycoses 1999; 42 (Suppl 2): 115-119.
 37. Baro T, Alia C, Torres-Rodriguez JM, Morera I, Lopez O, Méndez R, Ribas E, Jiménez T and Experimental Mycology Group. Antifungal susceptibility testing from clinical isolates of *Cryptococcus neoformans* in Spain. 4th International Conference on *Cryptococcus* and Cryptococcosis (September 12th-16th 1999, London). Abstracts, London: Royal Society 1999: 171.
 38. Melhem MSC, Pappalardo MMCS, Gradin

- PEG, Sant Anna JV, Paschoal RC, Longo JC. Antifungal susceptibilities of serial *C. neoformans* isolates of HIV-associated neurocryptococcosis. 4th International Conference on *Cryptococcus* and Cryptococcosis (September 12th-16th 1999, London). Abstracts, London: Royal Society 1999: 174.
39. Hoban DJ, Zhanel GG, Karlowsky JA. In vitro susceptibilities of *Candida* and *Cryptococcus neoformans* isolates from blood cultures of neutropenic patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1463-1464.
40. Pfaller MA, Zhang J, Messer SA, Brandt ME, Hajjeh RA, Jessup CJ, Tumberland M, Mbidde EK, Ghannoum MA. In vitro activities of voriconazole, fluconazole, and itraconazole against 566 clinical isolates of *Cryptococcus neoformans* from the United States and Africa. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 169-171.
41. Andrews A, Pfeiffer T, Bell J, Ellis D. *In vitro* activity of terbinafine and fluconazole against 205 clinical and environmental isolates of *Cryptococcus neoformans*. 4th International Conference on *Cryptococcus* and Cryptococcosis (September 12th-16th 1999, London). Abstracts, London: Royal Society 1999: 197.
42. Jessup CJ, Pfaller MA, Messer SA, Zhang J, Tumberland M, Mbidde EK, Ghannoum MA. Fluconazole susceptibility testing of *Cryptococcus neoformans*: comparison of two broth microdilution methods and clinical correlates among isolates from Ugandan AIDS patients. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2874-2876.