

## FLUKONAZOL İLE ÖNCEDEDEN KARŞILAŞMANIN CANDIDA ALBICANS SUŞLARININ AMFOTERİSİN B'YE DUYARLILIĞINA ETKİSİ\*

Mine YÜCESOY, M. Ali ÖKTEM, Nevcivan ŞENTÜRKER GÜLDAŞ,  
Nuran YULUĞ

### ÖZET

Flukonazol ile önceden karşılaşmış olmanın, *Candida albicans* suşlarının amfoterisin B'ye duyarlılığına in-vitro etkisi araştırılmıştır. Araştırmaya, flukonazol ve amfoterisin B'nin düşük minimal inhibitör konsantrasyon değerleri saptanan ve biri standart suş (ATCC 90028) olmak üzere toplam 52 *Candida albicans* izolatu alınmıştır. Öncelikle farklı flukonazol konsantrasyonlarında ve değişik zaman periyodlarında inkübasyonun ATCC *C.albicans* suşunun amfoterisin B'ye duyarlılığına etkisi incelenmiştir. Önceden 20-50 µg/ml flukonazol ile 4, 6 ve 14 saat karşılaşmanın, 4, 8 ve 24 saatte 2 µg/ml amfoterisin B'ye dirençli bir popülasyona yol açtığı belirlenmiştir. Bu ön çalışmaya dayanarak, araştırmamızda 51 *C.albicans* klinik izolatu 50 µg/ml flukonazol ile 4 ve 14 saat süreyle inkübe edilmiştir. Flukonazol ile önceden karşılaşmamış izolatlarda, amfoterisin B ile inkübasyondan sonra hiç üreme gözlenmez iken; dört saat flukonazol ile inkübe edildiğinde izolatlardan 7, 5 ve 3'ünde, sırasıyla 4, 8 ve 24 saat sonra amfoterisin B'ye dirençli hücreler saptanmıştır. 14 saat flukonazol ile ön inkübasyondan sonra suşların 6, 2 ve 1'inde değişen oranlarda amfoterisin B'ye sırasıyla 4, 8 ve 24 saat sonra dirençli hücreler izlenmiştir. Çalışmamız sonucunda, *C.albicans* suşlarının önceden flukonazol ile karşılaşmasının, bu suşların yol açtığı infeksiyonların amfoterisin B ile sağaltımında önemli klinik sonuçlara yol açabileceği düşünülmüştür.

**Anahtar kelimeler:** *C.albicans*, flukonazol, amfoterisin B

### SUMMARY

*The effect of fluconazole preexposure to the susceptibility of Candida albicans strains to amphotericin B.*

In this study, the in vitro effect of fluconazole preexposure to the susceptibility of *Candida albicans* strains to amphotericin B was investigated. 52 isolates including one control strain (ATCC 90028) of *C.albicans* with low minimal inhibitory concentration values for both fluconazole and amphotericin B were included. First, the effect of different concentrations of fluconazole preexposure for various time periods on the susceptibility of the ATCC *C.albicans* strain to amphotericin B were searched. It was found out that 20-50 µg/ml fluconazole exposure for 4, 6, 14 hours generated a subpopulation of cells that were resistant to 2 µg/ml amphotericin B for 4, 8, 24 hours. After this preliminary study, 51 clinical isolates of *C.albicans* were investigated by using 50 µg/ml fluconazole preexposure for 4 and 14 hours. 7, 5 and 3 of these isolates which were exposed to fluconazole for 4 hours had amphotericin B resistant cells after 4, 8 and 24 hours, respectively. These strains showed no growth after amphotericin B incubation when they were not allowed to expose fluconazole. Various percentage of cells of 6, 2, 1 of 14 hour fluconazole preexposed strains were resistant to amphotericin B after 4, 8 and 24 hours. In conclusion, we think that prior exposure of *C.albicans* strains to fluconazole might have important clinical implications when treating the infections caused by these strains with amphotericin B.

**Key words:** *C.albicans*, fluconazole, amphotericin B

\*11. European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases'de sunulmuştur (1-4 Nisan 2001, İstanbul).  
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Inciraltı, İzmir.

## GİRİŞ

Geçtiğimiz on yıl içerisinde, immün sistemi baskılanmış hastalarda izlenen *Candida albicans* infeksiyonlarındaki artış dikkati çekmektedir (4). Bunun yanında, özellikle de mukokutanöz ve sistemik *Candida* infeksiyonlarının sağaltımında kullanılabilecek antifungal seçenekler halen sınırlı sayıdadır. 20 yıldan uzun süredir sağaltımda kullanılan amfoterisin B gibi fungisidal poliyen bileşikler halâ en etkili seçenekler olarak bilinmekte ise de, bu bileşiklerin toksik yan etkileri kullanımlarını sınırlayan en önemli faktördür (1,19). Bu nedenle flukonazol ve itrakonazol gibi azol bileşikleri kandidoz sağaltımında daha yaygın kullanım alanı bulmuştur. Ancak bu grup ilaçların fungisidal etkiden çok fungistatik olmaları, *Candida krusei*, *Candida glabrata* gibi bazı *Candida* türleri üzerine etkisiz olmaları nedeni ile kullanım alanları sınırlanmaktadır (2,3,8).

Flukonazol veya amfoterisin B ile monoterapide invaziv

kandidozlardaki mortalite oranı yüksek olarak sürmektedir. Mortaliteyi düşürebilmek amacıyla son yıllarda sağaltımda çeşitli ilaçların kombinasyonlarının kullanımı gündeme gelmiştir. Ancak teorik olarak ergosterole tutunarak etki gösteren poliyen grubu antifungal ilaçlarla, ergosterol sentezini inhibe ederek etki gösteren azol grubu ilaçların birlikte kullanımının irrasyonel ve antagonistik olduğu düşünülmektedir (16). Bunun yanında amfoterisin B ve flukonazol kombinasyonu ile ilgili yapılan çeşitli in-vitro ve in-vivo çalışmalarda antagonizm yanında sinerji, aditif etki ve etkisizlik de saptanmıştır (8-11).

Bu çalışma, azol grubu bir antifungal olan flukonazol ile önceden karşılaşılan *C.albicans* suşlarının, amfoterisin B'ye olan in-vitro duyarlılıklarının değerlendirilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

**Candida suşları:** Çalışmada çeşitli klinik örneklerden (15'i kan, 14'ü idrar, 9'u balgam, 4'ü abse, 4'ü vajen, 3'ü ağız, 1'i özofagus, 1'i parasentez sıvısı) soyutlanarak *C.albicans* olarak tanımlanmış 51 klinik izolat ve bir kontrol suşu (*C.albicans* ATCC 90028) kullanılmıştır.

**Antifungal ajanlar:** Antifungal ajan olarak azol grubu antifungallerden flukonazol (Triflucan-Pfizer Ltd.) ve poliyen grubu antifungallerden amfoterisin B (Fungizone-Bristol Myers Squibb) kullanılmıştır.

**Duyarlılık deneyleri:** Klinik izolatların flukonazol ve amfoterisin B için minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri, NCCLS tarafından önerilen M27-A standartlarına uygun olarak mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır (11). Flukonazol için 0.5 µg/ml, amfoterisin B için ise 0.25 µg/ml ve altında MİK değeri veren 51 suş çalışmaya alınmıştır. *C.albicans* ATCC 90028 suşunun amfoterisin B ve flukonazol için elde edilen MİK değerleri 0.25 µg/ml' dir.

Çalışmada ilk olarak, farklı flukonazol konsantrasyonları ile çeşitli sürelerde karşılaşmanın, *C.albicans* ATCC 90028 suşunun amfoterisin B'ye duyarlılığına etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla *C.albicans* ATCC 90028 suşu Sabouraud dekstroz agarda (SDA) üretildikten sonra bu kültürden alınan bir koloni 20 ml 100 mM fosfatla tamponlanmış (pH 7) maya nitrojen buyyonu (yeast nitrogen broth-Difco) (YNB) içeren tüpte süspanse edilmiştir. Daha sonra bu süspanseyondan 2'şer ml alınarak, flukonazol içermeyen ve 10, 20, 30, 40, 50 µg/ml flukonazol içeren 20 ml'lik YNB ortamlarına inoküle

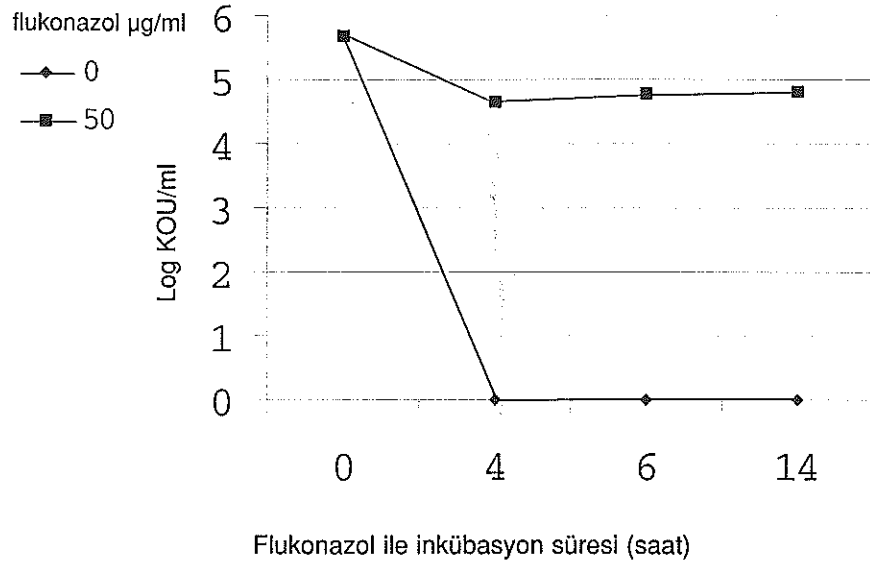
edilmiştir. Bu tüpler 4, 6, 14 saat süre ile 30°C'de 200 rpm'de çalkalanarak inkübe edilmiştir. İnkübasyon sürelerinin sonunda her tüpten 20'şer µl alınarak 2 µg/ml amfoterisin B içeren 5'er ml'lik yeni YNB ortamlarına inoküle edilmiştir. Bu süspanseyonlardan 30°C'de 200 rpm'de çalkalanarak yapılan inkübasyonda 4., 8. ve 24. saatlerde alınan 0.01 ml'lik örnekler, maya hücrelerinin canlılık oranlarının saptanması amacıyla SDA plaklarına koloni sayımı yapılmak üzere standart yöntemlerle ekilmiştir. SDA plakları 30°C'de 3 gün inkübe edildikten sonra koloni sayımı yapılarak, 100 ile çarpılmış ve mililitredeki koloni oluşturan ünite (KOÜ) sayısı belirlenmiştir (18). Bu işlem ile standart suşta amfoterisin B'ye direnç kazandıran optimal flukonazol konsan-trasyonları ve inkübasyon süreleri belirlenmiştir.

Bu ön çalışmadan sonra 51 *C.albicans* klinik izolatu SDA plaklarına ekilmiş ve bir gece inkübe edilmiştir. Daha sonra bu suşlardan birer koloni alınarak 20 ml YNB'de süspanse edilmiştir. Bu süspanseyondan 2'şer ml alınarak, flukonazol içermeyen ve 50 µg/ml flukonazol içeren 20 ml'lik YNB ortamlarına eklenmiştir. Bu YNB tüpleri 4 ve 14 saat daha önce belirtilen şartlarda inkübe edilmiştir. ATCC suşu ile flukonazolde 6 saat inkübasyonda alınan sonuçlar 14 saatte alınanlara benzediğinden 51 klinik izolatta 6 saatlik flukonazol inkübasyonu kullanılmamıştır. Daha sonra amfoterisin B'ye maruz kalma ve 0.01 ml'de canlı hücre sayımları yukarıda belirtilen şekilde aynen yapılmıştır.

## BULGULAR

Yapılan ön çalışmada *C.albicans* ATCC 90028 suşu, flukonazolle önceden karşılaşmaksızın 2 µg/ml amfoterisin B içeren YNB içerisinde 24 saat inkübe edildiğinde, ortamda, 4. saatten itibaren 0.01 ml'de hiç canlı maya hücrelerinin kal-

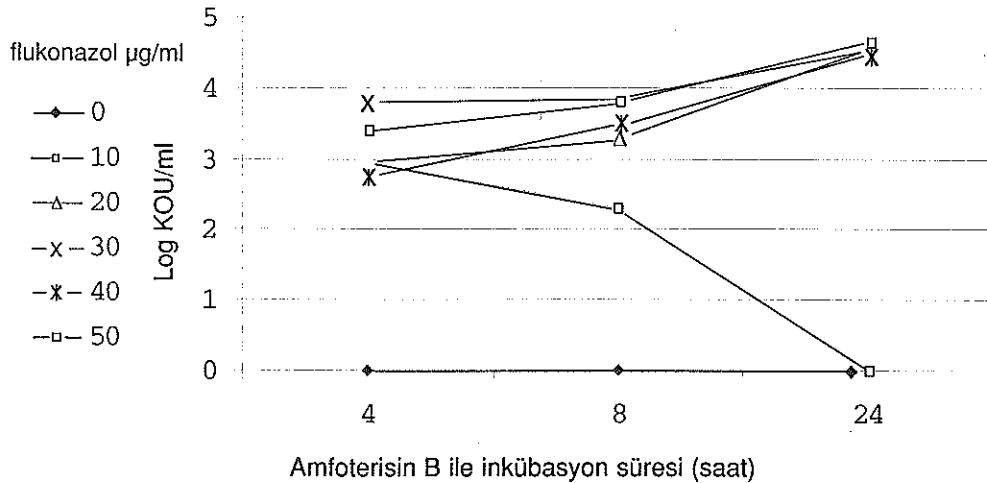
madığı saptanmıştır. 50 µg/ml flukonazol ile 4, 6 veya 14 saat inkübe edilen süspanseyonlarda ise 2 µg/ml amfoterisin B'de 24 saat sonra inokulumdakinden yaklaşık 1 log altında canlı maya saptanmıştır (Grafik 1).



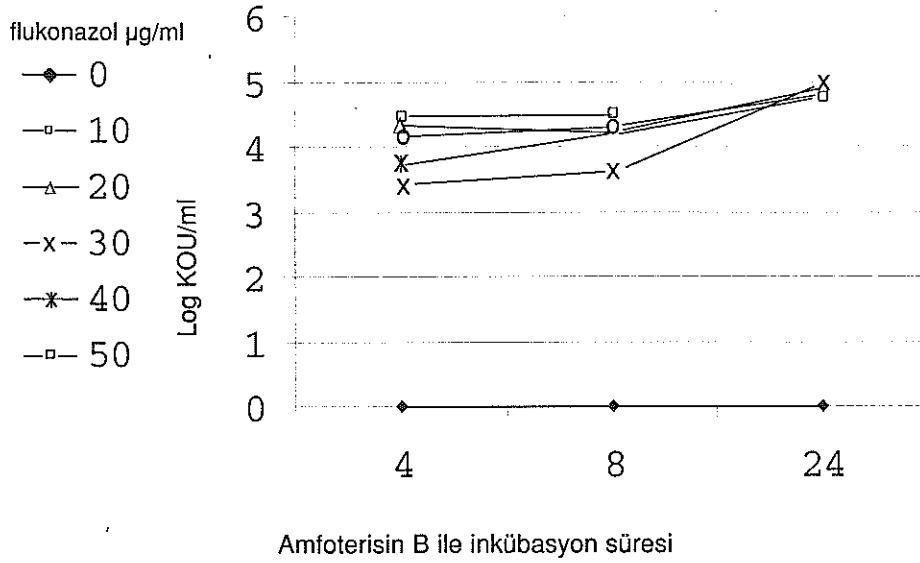
Grafik 1. Flukonazole maruz kalmayan ve 50 µg/ml flukonazole 4, 6 ve 14 saat maruz kalan *C.albicans* ATCC 90028 süspansiyonlarında 2 µg/ml amfoterisin B ile 24 saat inkübasyon sonundaki koloni sayımı.

Flukonazole maruz kalmamış *C.albicans* ATCC 90028 süspansiyonundan 2 µg/ml amfoterisin B ile inkübasyonda 4, 8 ve 24. saatlerde hiç koloni oluşmazken, 10 µg/ml flukonazole 4 saat maruz bırakılan süspansiyonlarda, amfoterisin B ile 4 ve 8 saat inkübasyonlarda koloni sayısı giderek azalmış; 24 saatlik inkübasyonda canlı maya kalmamıştır. 20-50 µg/ml flukonazole 4 saat maruz bırakılan süspansiyonlarda

amfoterisin B'de inkübasyonda ise süre arttıkça (4, 8 ve 24 saat) canlı maya sayısı tla artmıştır (Grafik 2). Flukonazole 14 saat maruz bırakılan süspansiyonlarda da sonraki amfoterisin B ile inkübasyonlarda oluşan koloni sayısı 4, 8 ve 24 saatlerde giderek artmıştır (Grafik 3). Flukonazolde 6 saatlik inkübasyonda da 14 saatlik inkübasyona benzer sonuç alınmıştır.



Grafik 2. Çeşitli flukonazol konsantrasyonları ile 4 saat inkübe edilen *C.albicans* ATCC 90028 suşunun, 2 µg/ml amfoterisin B ile inkübasyon süresine göre değişen canlılığı.



Grafik 3. Çeşitli flukonazol konsantrasyonları ile 14 saat ön inkübe edilen *C. albicans* ATCC 90028 suşunun, 2 µg/ml amfoterisin B ile inkübasyon süresine göre değişen canlılığı.

*C. albicans* ATCC 90028 suşu ile alınan bu sonuçlara göre 51 klinik izolat 50 µg/ml flukonazole 4 ve 14 saat maruz bırakılıp, 2 µg/ml amfoterisin B ile 4, 8 ve 24 saat inkübe edildiğinde; flukonazole 4 saat maruz bırakılan suşların amfoterisin B ile inkübasyonunda 4 saat sonra 7'sinde, 8 saat sonra 5'inde, 24 saat sonra 3'ünde; flukonazole 14 saat ma-

ruz bırakılan suşların amfoterisin B ile inkübasyonunda 4 saatte 6'sında, 8 saat sonra 2'sinde, 24 saat sonra 1'inde canlı maya kaldığı görülmüştür. Flukonazole maruz kalmamış suşlarda ise amfoterisin B'de inkübasyonda 4.saatten itibaren canlı maya kalmadığı saptanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. 51 *C. albicans* klinik izolatında 50 µg/ml flukonazole maruz kalma süresine göre 2 µg/ml amfoterisin B'de canlı kalan suş sayısı.

50 µg/ml flukonazol ile temas süresi (saat)	2 µg/ml amfoterisin B'de canlı kalan suş sayısı (suş numaraları) (KOU/ml aralığı)		
	4 saat	8 saat	24 saat
0 (temas yok)	0	0	0
4	7 (5,8,11,19,28,37,49) (200-600)	5 (5,19,37,49,22) (200-1000)	3 (5,37,49) (200-1200)
14	6 (5,11,19,20,37,49) (200-2800)	2 (5,37) (600-1000)	1 (37) (600)

## TARTIŞMA

Standart *C. albicans* ATCC 90028 suşu ile yapılan ön çalışmanın sonuçları, maya hücrelerinin flukonazolle önceden karşılaşmalarının, 2 µg/ml amfoterisin B'den korunmalarını sağladığını göstermektedir (Grafik 1). Flukonazolle önceden inkübe edilmiş *C. albicans* ATCC 90028 suşu, en yüksek canlılık oranına 24 saatlik amfoterisin B inkübasyonları sonun-

da ulaşmaktadır (Grafik 2 ve 3). Bunun nedeni fenotipik olarak amfoterisin B'ye direnç kazanmış maya hücrelerinin daha geç üremeye başlaması olabilir. Bu durumun çalışmadaki tek istisnası 4 saatlik 10 µg/ml flukonazol inkübasyonu yapılan hücrelerdir (Grafik 2). Bu gruptaki hücrelerin amfoterisin B içeren ortamda zaman içinde giderek azalması ve canlılık-

larını 24. saatin sonunda tamamen yitirmesinin nedeni bu fenotipik direncin gelişmesi için gerekli flukonazol miktarı ve süresinin yetersiz kalması olarak açıklanabilir.

*C.albicans* ATCC 90028 suşu ile yapılan ön çalışma, maya hücrelerinin flukonazol ile önceden karşılaşmalarının amfoterisin B'nin maya üzerindeki öldürücü etkinliğinde bir azalmaya yol açtığını göstermiştir. Bu etkinlik, 50 µg/ml'lik flukonazol konsantrasyonunda en yüksek düzeyde saptanmış ve yine flukonazolle ön inkübasyon süresi uzadıkça amfoterisin B inkübasyonuna direnç gösteren maya hücrelerinin sayısı artmıştır. Sonuçlarımız, Vasquez ve ark. (18)'nin bulguları ile paralel doğrultudadır. Bu durum, özellikle hastaların flukonazole iyi yanıt vermediği durumlarda ilacın amfoterisin B'ye değiştirildiği olgular için önem taşımaktadır.

Klinik izolatlar üzerinde yaptığımız çalışmada ise flukonazol ile önceden karşılaşma, izolatların bazılarında da amfoterisin B'ye dirençli hücreler ortaya çıkmasına yol açmıştır (Tablo 1). Vazquez ve ark. (18)'nin çalışmasında ise; 14 saat 50 µg/ml flukonazole maruz bırakılan ve daha sonra 24 saat 2 µg/ml amfoterisin B bulunan ortamda inkübe edilen 93 *C.albicans* suşundan 2'sinin canlı kalabildiği saptanmıştır. Aynı çalışmada *C.parapsilosis* ve *C.tropicalis* suşlarında canlı kalan suş sayılarının çok daha yüksek olduğu belirlenmiştir (18). Bizim bulgularımız, bu çalışma sonuçlarına paraleldir.

Vasquez ve ark. (18), in-vitro olarak flukonazol ile karşılaşmanın *C.albicans* suşlarında amfoterisin B'ye karşı toleransa yol açmasının, in-vitro koşullarda kolayca saptandığı halde popülasyondaki hücrelerin çok azına etki etmesi nedeni ile in-vivo olarak önemsiz olabileceğini ya da hastanın immun yetmezlik durumuna bağlı olarak önem taşıyabileceğini bildirmiştir. Bizce in-vitro koşullarda saptanan ve klinik açıdan önemli olabilecek bu bulguların, in-vivo araştırmalarda da incelenmesi ve buna göre sağaltım uygulamasına geçilmesi uygun olacaktır.

Flukonazolün amfoterisin B ile kombinasyonu ile ilgili yapılan çeşitli çalışmalarda antagonizm yanında sinerjizm ve etkisizlik de saptanmıştır (5,6, 12-15). Scheven ve ark. (14,15)'nin yaptıkları çalışmalarda itrakonazol, ketokonazol ve mikonazol gibi lipofilik azollerin *Candida* suşları için daha sonra uygulanan amfoterisin B'nin fungisidal aktivitesini azalttığı, ancak flukonazol ile önceden karşılaşmanın belirgin bir antagonistik etki göstermediği saptanmıştır. Araştırmacılar, bu durumu flukonazolün hidrofilik özelliğine bağlayarak, mayanın sitozolik bölümlerinin lipofilik azollerin büyük miktarlarını absorbe edebildiğini, ancak flukonazolün benzer

miktarlarını absorbe edemediğini ve bu nedenle flukonazole bağlı postantibiyotik antagonizmanın olmayabileceğini, ayrıca flukonazolün postantibiyotik etkisinin de kısa olabileceğini belirtmişlerdir. Sonuçlarımız bu çalışma sonuçları ile çelişir gözükmeyle birlikte, Scheven ve Scheven (14)'in flukonazol ile 24-48 saat gibi daha uzun inkübasyon süreleri kullanmış olmaları bu sonuca yol açmış olabilir.

Flukonazol ve amfoterisin B etkinliği arasında teorik olarak antagonistik bir ilişki olduğu düşünülmektedir (16). Bunun nedeni azollerin mantarlar üzerine olan etkinliğinin P-450-bağımlı lanosterol C14 demetilaz sistemini bloke ederek membrandaki ergosterol düzeyini düşürürken, amfoterisin B'nin hücre membranındaki ergosterol ile etkileşime girerek membran ATPaz'ını geri dönüşümsüz olarak inhibe etmesidir (7). Bu konuda bir diğer alternatif olarak da flukonazolle inkübe edilen hücrelerin efluks pompalarını aktive etmiş olabileceği ve bunun sonucunda direkt veya indirekt olarak hücre membranındaki amfoterisin B afinitesinde azalmaya yol açmış olabileceği ileri sürülmüştür. Azollerle karşılaşma sonucu *C.albicans*'da oluşan adaptasyonun en az 3 gün boyunca stabil olduğu gözlenmiştir (18). Bu durum da sağaltım açısından önemli olabilir.

Bu konu ile ilgili çeşitli in-vivo araştırmalar da yapılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Lewis ve ark. (9)'nin dinamik bir in-vitro infeksiyon modeli üzerinde yaptıkları çalışmada, flukonazol ve amfoterisin B'nin peş peşe verilmesinin amfoterisin B'nin fungisidal aktivitesinde bir azalmaya yol açtığı ve sadece flukonazol verilmiş gibi fungistatik etkili olduğu belirlenmiştir. Sanati ve ark. (13)'nin tavşanlarda *C.albicans* ile oluşturduğu endokardit modeli üzerindeki araştırmasında, flukonazol ile amfoterisin B kombinasyonunun antagonizmaya yol açmadığı, ancak amfoterisin B'nin antifungal aktivitesine de bir sinerjik etki yapmadığı sonucuna varılmıştır. Fareler üzerinde flukonazole duyarlı ve orta duyarlı suşların neden olduğu *C.albicans*'a bağlı sistemik infeksiyon modelinde ise kombinasyonun antagonistik olduğu, ancak yüksek flukonazol direncinin söz konusu olduğu suşların neden olduğu tablolarda ise aditif bir etki gösterdiği belirtilmiştir. Bunun sonucu olarak flukonazolün özellikle antifungal ajanlara duyarlı suşların etken olduğu infeksiyonların sağaltımında dikkatli kullanılması gerektiği vurgulanmıştır (10).

Çalışmamızda, *C.albicans* suşlarının flukonazol ile in-vitro olarak önceden karşılaşması sonucu ortaya çıkan bulgular, bu suşların yol açtığı infeksiyonların amfoterisin B ile sağaltımında önemli klinik sorunlarla karşılaşabileceğini düşündürmektedir.

#### KAYNAKLAR

- 1- Abadi J: Amphotericin B, *Pediatr Rev* 16:363 (1995).
- 2- Arias A, Arevalo AP, Andreu A, Rodriguez C, Sierra A: *Candida glabrata*: In vitro susceptibility of 84 isolates to eight antifungal agents, *Chemotherapy* 42:107 (1996).

- 3- Barry AL, Brown SD: In vitro studies of two triazole antifungal agents (voriconazole [UK-109,496] and fluconazole) against *Candida* species, *Antimicrob Agents Chemother* 40:1948 (1996).
- 4- Beck-Sague CM, Jarvis WR, The National Nosocomial Infections Surveillance System: Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990, *J Infect Dis* 167:1247 (1993).
- 5- Bolczek M, Shah PM, Stille W: Kinetik der fungizidie von amphotericin B. Fluconazol und deren kombination in vitro, *Chemother J I*: 111 (1992).
- 6- Ghannoum MA, Fu Y, Ibrahim AS, Mortara LA, Shafiq MC, Edwards JE Jr, Criddle RS: In vitro determination of optimal antifungal combinations against *Cryptococcus neoformans* and *Candida albicans*, *Antimicrob Agents Chemother* 39:2459 (1995).
- 7- Hitchcock CA, Pye GW, Troke PF, Johnson EM, Warnock DW: Fluconazole resistance in *Candida glabrata*, *Antimicrob Agents Chemother* 37:1962 (1993).
- 8- Kan VL, Geber A, Bennett JE: Enhanced oxidative killing of azole-resistant *Candida glabrata* strains with ERG11 deletion, *Antimicrob Agents Chemother* 40:1717 (1996).
- 9- Lewis RE, Lund BC, Klepser ME, Ernst EJ, Pfaller MA: Assessment of antifungal activities of fluconazole and amphotericin B administered alone and in combination against *Candida albicans* by using a dynamic in vitro mycotic infection model, *Antimicrob Agents Chemother* 42:1382 (1998).
- 10- Louie A, Banerjee P, Drusano GL, Shayegani M, Miller MH: Interaction between fluconazole and amphotericin B in mice with systemic infection due to fluconazole-susceptible or -resistant strains of *Candida albicans*, *Antimicrob Agents Chemother* 43:2841 (1999).
- 11- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Reference Method for Broth Dilution Susceptibility Testing of Yeasts*, Approved standard M27-A, NCCLS, Villanova (1997).
- 12- Petrou MA, Rogers TR: Interactions in vitro between polyenes and imidazoles against yeasts, *J Antimicrob Chemother* 27:491 (1991).
- 13- Sanati H, Ramos CF, Bayer AS, Ghannoum MA: Combination therapy with amphotericin B and fluconazole against invasive candidiasis in neutropenic-mouse and infective-endocarditis rabbit models, *Antimicrob Agents Chemother* 41: 1345 (1997).
- 14- Scheven M, Scheven ML: Interaction between azoles and amphotericin B in the treatment of candidiasis, *Clin Infect Dis* 20:1079 (1995).
- 15- Scheven M, Schwegler F: Antagonistic interactions between azoles and amphotericin B with yeast depend on azole lipophilia for special test conditions in vitro, *Antimicrob Agents Chemother* 39:1779 (1995).
- 16- Sugar AM: Use of amphotericin B with azole antifungal drugs: What are we doing? *Antimicrob Agents Chemother* 39:1907 (1995).
- 17- Vazquez JA, Arganoza MT, Boikov D, Yoon S, Sobel JD, Akins RA: Stable phenotypic resistance of *Candida* species to amphotericin B conferred by preexposure to subinhibitory levels of azoles, *J Clin Microbiol* 36:2690 (1998).
- 18- Vazquez JA, Arganoza MT, Vaishampayan JK, Akins RA: In vitro interaction between amphotericin B and azoles in *Candida albicans*, *Antimicrob Agents Chemother* 40:2511 (1996).
- 19- Wasan KM, Conklin JS: Evaluation of renal toxicity and antifungal activity of free and liposomal amphotericin B following a single intravenous dose to diabetic rats with systemic candidiasis, *Antimicrob Agents Chemother* 40:1806 (1996).