

KATYONİK STEROİD ANTİBİYOTİKLERDEN OLAN CSA-8, CSA-13, CSA-44, CSA-131 VE CSA-138'İN, KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *CANDIDA ALBICANS* SUŞLARINA KARŞI ANTİFUNGAL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Çağla BOZKURT-GÜZEL¹, Mayram TÜYSÜZ¹, Neşe İNAN², Paul B. SAVAGE³

¹İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

²İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

³Brigham Young University, Department of Chemistry and Biochemistry, Provo, Utah, USA

ÖZET

Cerageninler, antimikrobiyal peptitlere benzer aktivite gösteren, yeni bir grup katyonik steroid antimikrobiyal moleküllerdir. Bu çalışmada kan kültürlerinden izole edilmiş *Candida albicans* suşlarına karşı katyonik steroid antibiyotiklerden olan CSA-8, CSA-13, CSA-44, CSA-131 ve CSA-138'in *in vitro* antifungal duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır. MİK ve MBK değerleri CLSI kurallarına uygun olarak mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Duyarlılık test sonuçlarına göre MİK değerleri 0.125-128 µg/ml arasında değişmektedir. CSA-8, CSA-13, CSA-44, CSA-131 ve CSA-138 için MİK₅₀ değerleri sırasıyla 0.5 µg/ml, 1 µg/ml, 1 µg/ml, 2 µg/ml ve 8 µg/ml'dir. MFK değerleri ise MİK değerlerine eşit yada iki katıdır.

Çalışmamızın sonuçlarına göre, CSA-131 ve CSA-138 *C.albicans* infeksiyonlarının tedavisinde kullanılabilecek iyi birer aday moleküldür. İleriki çalışmalarda bu moleküllerin güvenilirlik, etkinlik ve farmakokinetik parametrelerinin belirlenmesi gerekmektedir.

Anahtar sözcükler: *Candida albicans*, duyarlılık testleri, katyonik steroid antibiyotik, MİK

SUMMARY

Investigation of the Antifungal Activities of the Cationic Steroid Antibiotic CSA-8, CSA-13, CSA-44, CSA-131 and CSA-138 Against *Candida albicans* Isolated from Blood Cultures

The ceragenins, designed to mimic the activities of antimicrobial peptides, are a new class of antimicrobial agent. In this study, *in vitro* antifungal activities of the novel cationic steroid molecules CSA-8, CSA-13, CSA-44, CSA-131 and CSA-138, were assessed against *Candida albicans* strains isolated from blood cultures. MICs and MBCs were determined by microdilution technique according to CLSI guidelines. Susceptibility testing demonstrated that the MICs were ranging 0.125-128 µg/ml. The MIC₅₀ values of CSA-8, CSA-13, CSA-44, CSA-131 and CSA-138 were 0.5 µg/ml, 1 µg/ml, 1 µg/ml, 2 µg/ml and 8 µg/ml, respectively. The MFCs were equal to or two-fold greater than those of the MICs.

According to our results, cationic steroid antibiotics especially, CSA-131 and CSA-138 appear to be good candidates in the treatment of *C.albicans* infections. Future studies should be performed to correlate its safety, efficacy and pharmacokinetic parameters of these molecules.

Keywords: *Candida albicans*, cationic steroid antibiotics, MIC, susceptibility testing

GİRİŞ

Candida türleri, sağlıklı kişilerin vücut florasında kommensal olarak bulunan maya türleridir. Ancak, özellikle immün sistemi baskılan-

mış kişilerde, infeksiyon oluşumu için uygun ortam bularak patojen olabilirler ve klinik olarak ciddi veya hayatı tehdit edici infeksiyonlara yol açabilirler. Tanı ve tedaviye yönelik yapılan invazif girişimlerin artışı, geniş spekt-

rumlu antibiyotiklerin kullanımı, organ nakilleri veya başka nedenlerle sık başvuru olan güçlü immünsüpresif tedavilerin yaygınlaşması, malign hastalıklar nedeni ile verilen anti-kanser ilaçların neden olduğu kemik iliği baskılanması ve nötropeni gibi faktörler, ciddi fungal infeksiyonların sıklığını arttırmaktadır^(1-3,20). Kandidemi, *Candida*'ların bir veya birden fazla kan kültüründen izole edilmeleri olarak tanımlanmakta olup, tanı ve tedavisi zor ve oldukça yüksek mortaliteye sahip ciddi bir klinik tablodur ve genellikle sepsis ve organ disfonksiyonu bulguları ile birlikte gözlenmektedir⁽¹⁾. Kan kültürlerinde saptanan *Candida* türleri incelendiğinde *Candida albicans* en sık saptanan etken olmakla birlikte bazı antifungallere dirençli olabilen *albicans* dışı *Candida* türlerinin de sıklığı azımsanmayacak düzeydedir^(3,11).

Günümüzde özellikle *C.albicans*'ın etken olduğu mantar hastalıklarının sıklığının giderek artması ve ampirik antifungal kullanımının yaygınlaşması, dirençli suşların ortaya çıkmasına ve direnç oranlarının artmasına neden olmaktadır⁽²³⁾. Bu nedenle uygun ve etkin antifungal tedavinin seçimi önem kazanmaktadır. Dirençli suşlarla infekte olan hastalarda gelişen tedavi edilmesi güç kronik infeksiyonlar, araştırmacıları alternatif antimikrobik etkili ajanların ve tedavi rejimlerinin arayışına yöneltmiştir. Bu ajanların arasında en fazla dikkat çeken ve gelecek vaat eden gruplardan biri antimikrobik etkili katyonik peptitlerdir^(12,26). Bu maddeler, Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler başta olmak üzere mantarlar, zarflı virüsler gibi bazı virüslerin de içinde bulunduğu geniş bir etki spektrumuna sahiptir^(9,12,16). Fakat tüm bu özelliklerinin yanı sıra bu ajanlarla tedavi sırasında bazı problemlerle karşılaşmaktadır. Büyük bir kısmı proteazların substratı olduğundan, dolaşımdaki yarılanma ömürleri kısadır⁽²⁶⁾. Aynı zamanda bunların karmaşık yapıda ve boyutta olmaları sentez ve safleştirilme işlemlerini zorlaştırmaktadır.

Son yıllarda yapılan araştırmalarda, doğal antimikrobiyal peptitlerden yeni analogların türetilmesi üzerinde çalışmalar devam etmektedir⁽²⁵⁾. Bu analoglar genellikle basitleştirilmiş aminoasit sekanslarının kullanılması ile oluşturulmaktadır. "Ceragenin" adı verilen kolik asidin bir seri katyonik türevleri oluşturulmuş ve

de bunların antimikrobiyal özellikte oldukları saptanmıştır. Cerageninler, katyonik ve amfifilik özelliğe sahip olmaları ile LL-37 ve magainin gibi katyonik antimikrobiyal peptitlere benzerlik göstermektedir⁽¹⁷⁾. Ancak cerageninler ile antimikrobik etkili katyonik peptitler arasında göze çarpan bazı farklılıklar vardır ki ceragenin grubunu tercih edilebilir kılmaktadır. Cerageninlerin hidrofobik kısımlarının lipid yapıda olması, bu molekülün daha dengeli bir şekilde membranın içine yerleşmesini sağlarken aynı zamanda proteolitik enzimlere olan direncini de arttırmaktadır⁽²¹⁾. Bu konuda yapılan çalışmaların sonucunda cerageninlerin geniş bir antimikrobiyal etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Bunlardan CSA-13 (Cationic Steroid Antibiotic) en sık kullanılan ve Gram pozitiflere, *Pseudomonas aeruginosa*'nın da içinde bulunduğu Gram negatif bakterilere ve virüslere karşı etkili olan bir moleküldür^(4-6,13,14). Başta CSA-13 molekülü olmak üzere cerageninler bakterilere karşı etkilerini antimikrobiyal peptitlere benzer bir şekilde yani dış membran geçirgenliğini artırarak ve aynı zamanda sitoplazmik membran depolarizasyonunu etkileyerek göstermektedir⁽⁸⁾. Fakat bu moleküllerin antifungal etkilerinin incelenmesi henüz bulunmamaktadır. Bu nedenle biz de bu grup moleküllerin antifungal etkinliklerinin antibakteriyel etki mekanizmasına benzer bir şekilde olabileceğini düşünerek çalışmamızı planladık. Çalışmamızda Grup Florence Nightingale Hastaneleri, onkoloji ve yoğun bakım ünitelerindeki hastaların kan kültürlerinden izole 24 adet *C.albicans* ve *C.albicans* ATCC 90028 standart suşuna karşı katyonik steroid antibiyotiklerden olan CSA-8, CSA-13, CSA-44, CSA-131 ve CSA-138'in ve kliniklerde yaygın kullanılan antifungallerden olan amfoterisin-B'nin in vitro antifungal duyarlılıklarının saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Mantar suşları

Çalışmamızda 2012 ve 2013 yıllarında Grup Florence Nightingale Hastaneleri onkoloji ve yoğun bakım ünitelerindeki hastaların kan kültürlerinden izole edilen 24 adet *C.albicans* suşu

kullanılmıştır. Suşların tanımı VITEK 2 Compact otomatize sistem (BioMerieux, Fransa) ve API 20 C AUX (BioMerieux, Fransa) uygulanarak yapılmıştır. Deney koşullarının standardizasyonu için *C.albicans* ATCC 90028 standart suşu kullanılmıştır.

Antimikrobiyal ajanlar

Katyonic steroid antibiyotik moleküller, CSA-8, CSA-13, CSA-44, CSA-131 ve CSA-138, kolik asit "scaffold-yapılandırma" tekniği kullanılarak sentezlenmiştir (Şekil)⁽¹⁰⁾. Çalışmada kullanılan amfoterisin-B, Bristol-Myers Squibb firması tarafından temin edilmiştir. Antimikrobik maddeler steril distile suda çözündürüldükten sonra stok çözeltileri 1024 µg/ml konsantrasyonda hazırlanmış ve -80°C'de saklanmıştır. Dondurulmuş antimikrobik ajanlar altı ay içinde kullanılmıştır.

Besiyerleri

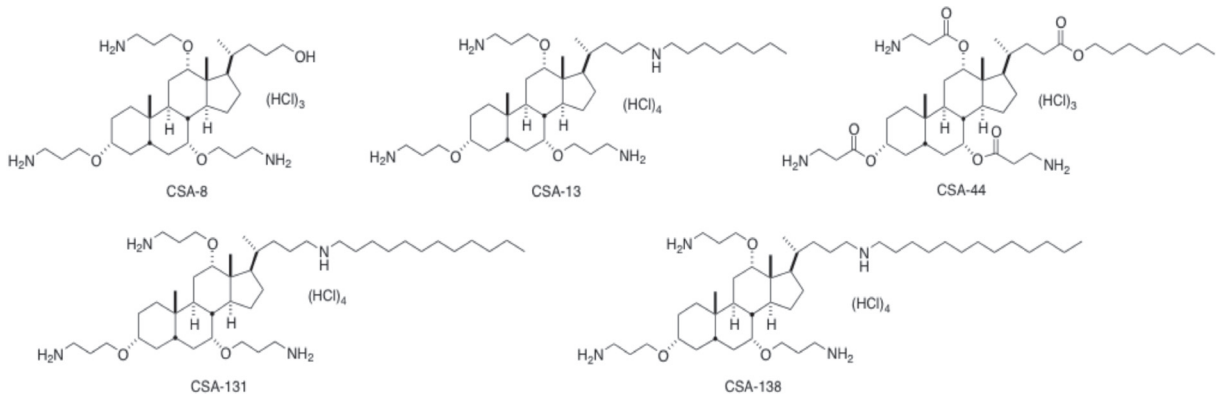
Roswell Park Memorial Institute-1640 (RPMI-1640, morfolinopropansülfonik asit (MOPS) içinde tamponlanmış, Sigma) besiyeri minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinin belirlenmesinde ve Sabouraud Dextrose Agar (SDA, Merck) minimum fungisidal konsantrasyon (MFK) değerlerinin ve mantar sayılarının belirlenmesinde kullanılmıştır.

MİK ve MFK değerlerinin belirlenmesi

MİK değerlerinin belirlenmesinde Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından önerilen mikrodilüsyon yöntemleri kullanılmıştır⁽⁷⁾. Antimikrobik maddelerin çift kat seri dilüsyonları 128-0.125 µg/ml aralığında değişen konsantrasyonlarda RPMI-1640'ta hazırlan-

mıştır. MİK değerlerini saptamak için polistiren mikroplağın 1 numaralı kolonu dışında kalan tüm kuyularına 50'şer µl RPMI-1640 tatbik edilmiş, sonra 1 ve 2 numaralı kolonlara antimikrobik maddelerin RPMI-1640'da hazırlanmış, istenilen son konsantrasyonunun iki katı konsantrasyondaki çözeltilerinden 50'şer µl ilave edildikten sonra, pipetör yardımıyla 2 numaralı kolondan 11 numaralı kolona kadar bir seri dilüsyon yapılmıştır. Bundan sonra mikroplağın A sırasındaki 12 numaralı kuyusu dışında kalan tüm kuyularına, son konsantrasyonu 0,5x10³ - 2,5x10³ cfu/ml olacak şekilde hazırlanan mantar süspansiyonundan 50'şer µl ilave edilerek 1-11 numaralı kuyularda antimikrobik moleküllerin istenilen son konsantrasyonlarına ulaşılmıştır. Deneyde kullanılan besiyerinin konulduğu A sırasındaki 12 numaralı kuyu steriliteyi, mikroplaktaki diğer 12 numaralı kuyular ise denenen suşların üremesini kontrol etmek amacıyla kullanılmıştır. Ekim yapılan mikroplakların üzeri steril bir kapakla kapatılarak, buharlaşmayı önlemek amacıyla naylon bir kılıfın içine yerleştirildikten sonra 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Ertesi gün üremenin yani bulanıklığın görülmediği en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK değeri olarak kabul edilmiştir.

MFK değerlerinin belirlenmesi amacıyla inkübasyon süresinin sonunda üreme görülmeyen tüm kuyucuklardan iki kere 10'ar µl örnek alınarak Petri kutularındaki SDA besiyerlerinin yüzeyine tatbik edilmiş ve 37°C'de iki gece inkübe edilmiştir. İnkübasyonun sonucunda oluşan koloniler sayılmış, başlangıç inokulumunun % 99.9'unu öldüren en düşük antibiyotik konsantrasyonu MFK değeri olarak belirlenmiştir⁽²²⁾.



Şekil. Katyonic steroid moleküllerden olan CSA-8, CSA-13, CSA-44, CSA-131 ve CSA-138'in moleküller yapıları.

BULGULAR

Çalışmamızda kullanılan antimikrobik maddelerin *C.albicans* suşlarına karşı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenen MİK ve MFK ile ilgili değerler Tablo'da verilmiştir. *C.albicans* suşlarına karşı denenen katyonik steroid antibiyotikler MİK değerlerine göre sıralandığında en etkili olanlar CSA-131>CSA-138>CSA-13>CSA-44 ve >CSA-8 olarak belirlenmiştir. Tartım bazında aynı suşlara karşı en etkili molekül 0.5µg/ml'lik MİK₅₀ değerleriyle CSA-131 iken, en yüksek MİK değerlerine sahip molekül CSA-8 olarak bulunmuştur. MFK değerleri ise CSA-8 ve CSA-44 hariç MİK değerlerine eşit ya da iki katı olarak bulunmuştur. *C.albicans* ATCC 90028'e karşı CSA-8, CSA-13, CSA-44, CSA-131, CSA-138 ve amfoterisin-B için MİK değerleri sırasıyla 16 µg/ml, 1 µg/ml, 1 µg/ml, 2 µg/ml, 2 µg/ml ve 1 µg/ml'dir.

TARTIŞMA

Katyonik steroid antibiyotiklerden olan CSA-8 ve CSA-13 in vitro duyarlılık çalışmalarında sıklıkla kullanılan moleküllerdendir. Yapılan çalışmalarda CSA-8 daha çok Gram pozitif bakterilere karşı etkiliyken, CSA-13 birçok mikroorganizmaya karşı etkinlik göstermektedir. CSA-13 vankomisin dirençli *Staphylococcus aureus*⁽⁶⁾, çoklu ilaç dirençli *P.aeruginosa*⁽⁵⁾, *Helicobacter pylori*⁽¹⁹⁾ ve *Streptococcus mutans* ile *Porphyromonas sp.*⁽¹⁴⁾ gibi periodontopatik bakteriler karşısında antimikrobiyal etkinlik göstermektedir. Ayrıca, CSA-13 vaccinia virüsü⁽¹³⁾ ve *Trypanosoma cruzi*⁽¹⁸⁾ karşısında da etkindir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda CSA-13'ün düşük toksisite göstermesi, bu bileşiğin insan tedavisindeki olası uygulamasını desteklemektedir⁽²⁴⁾. Yakın zamanda yapılan ve içinde bizim grubumuzunda olduğu birçok çalışmada CSA-13 molekülünün tek başına ve kombine halde kullanımının *S.aureus*, *P.aeruginosa* gibi çeşitli klinik suşlar üzerinde sinerjistik etkide olduğu da saptanmıştır⁽⁴⁻⁶⁾. Fakat bu moleküllerin antifungal etkilerinin in vitro veya in vivo olarak incelendiği çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma ile, şekilde kimyasal

yapıları görülen ve CSA-8, CSA-13, CSA-44, CSA-131 ve CSA-138 olarak isimlendirilen beş farklı katyonik steroid antibiyotik molekülünün antifungal etkinliğinin saptanması ve birbirleriyle karşılaştırılması amaçlanmıştır. Tablo'daki MİK değerleri dikkate alındığında en etkili molekül CSA-131 iken, CSA-8 bu moleküller arasında en yüksek MİK değerlerine sahiptir. Farklı kimyasal yapıdaki cerageninlerin antifungal aktivitelerinin karşılaştırılması olarak değerlendirildiği bu çalışmamızda, CSA-131'in C12, CSA-138'in C13 ve CSA-13'ün C8 karbonlarındaki uzun hidrofobik yapıdaki zincirler bu moleküllerin antifungal aktivitelerini arttırmaktadır. Bu çalışmada, CSA-8'in en düşük aktiviteye sahip olmasının nedeni hidrofobik yan zincirden yoksun olması yani diğer bileşiklere göre daha hidrofilik olmasıdır. C8 konumunda hidrofobik yan zincire sahip olan CSA-44'ün, CSA-8'den sonra yüksek MİK değerlerine sahip olmasının sebebi ise, yapısında eter bağlarından ziyade ester bağları olmasıdır. Sonuç olarak, katyonik steroid antibiyotiklerin sahip olduğu uzun hidrofobik zincir yapısı, bu moleküllerin daha kuvvetli bir şekilde mantar membranından geçişine sağlayarak, güçlü bir şekilde aktivitelerini göstermelerine neden olmaktadır.

Günümüzde ülkemizde ve dünyada yaygın olarak kullanılan amfoterisin-B'nin 1950'li yıllarda keşfiyle ve ardından kliniklerde kullanılmasıyla birlikte antifungal tedavide yeni bir dönem başlamıştır. Amfoterisin-B'nin güçlü antifungal etkinliğine karşın, ciddi toksik etkilerinin olması, lipit taşıyıcılarla birlikte farklı formülasyonlarda uygulanmasını beraberinde getirmiştir ve günümüzde mantar infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan standart antifungal-ler arasında yerini almıştır⁽¹⁵⁾. Çalışmamızda mikrodilüsyon yöntemi ile elde ettiğimiz sonuçlara göre en etkili moleküllerden olan CSA-131 ve CSA-138'in MİK ve MFK değerlerinin, amfoterisin-B'nin MİK ve MFK değerleriyle karşılaştırılabilir düzeyde olduğu saptanmıştır (Tablo).

Çalışmamızın sonuçları göz önüne alındığında, CSA-131 ve CSA-138 başta olmak üzere çalışılan diğer katyonik steroid moleküllerden olan CSA-8, CSA-13 ve CSA-44'ün de geniş antibakteriyel etkinliklerinin yanı sıra antifungal

Tablo. Katyonik steroid moleküllerin 24 *C.albicans* suşuna karşı oluşturduğu *in vitro* antifungal etkileri.

Antimikrobiyal ajanlar	µg/ml					
	MİK aralığı	MİK ₅₀	MİK ₉₀	MFK aralığı	MFK ₅₀	MFK ₉₀
CSA-131	0.125-1	0.5	1	0.5-8	1	2
CSA-138	0.5-2	1	1	1-8	1	2
CSA-13	1-4	1	4	1-8	2	4
CSA-44	0.5-4	2	4	1-16	4	16
CSA-8	4-128	8	128	8-128	16	128
Amfoterisin-B	0.5-2	1	2	0.5-2	1	2

etkinliklerinin de olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızın bundan sonraki aşamasında *in vitro* koşullarda elde edilen bulgularımızın *in vivo* koşullarda yapılan deneylerle desteklenmesi ve farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerinin belirlenmesi planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Akalın H. Kandidemilerde risk faktörlerive risk değerlendirmesi, *ANKEM Derg* 2008;22(2):270-4.
2. Anaissie E. Opportunistic mycoses in the immuno compromised host: experience at a cancer center and review, *Clin Infect Dis* 1992;14(Suppl 1):45-53. http://dx.doi.org/10.1093/clinids/14.Supplement_1.S43
3. Bakır M, Çerikçioğlu N, Barton R, Yağcı A. Epidemiology of candidemia in a Turkish tertiary care hospital, *APMIS* 2006;114(9):601-10. http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0463.2006.apm_359.x
4. Bozkurt-Guzel C, Savage PB, Gerceker AA. *In vitro* activities of the novel ceragenin, CSA-13, alone or in combination with colistin, tobramycin and ciprofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from cystic fibrosis patients, *Chemotherapy* 2011;57(6):505-10. <http://dx.doi.org/10.1159/000335588>
5. Chin JN, Jones RN, Sader HS, Savage PB, Rybak MJ. Potential synergy activity of the novel ceragenin, CSA-13, against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, including multidrug-resistant *P.aeruginosa*, *J Antimicrob Chemother* 2008;61(2):365-70. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkm457>
6. Chin JN, Rybak MJ, Cheung CM, Savage PB. Antimicrobial activities of ceragenins against clinical isolates of resistant *Staphylococcus aureus*, *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51(4):1268-73. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.01325-06>
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard-Third Edition. M27- A3, Wayne, PA, USA, (2008).
8. Epanand RF, Pollard JE, Wright JO, Savage PB, Epanand RM. Depolarization, bacterial membrane composition, and the antimicrobial action of ceragenins, *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54(9):3708-13. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00380-10>
9. Giacometti A, Cirioni O, Barchiesi F et al. *In vitro* susceptibility tests for cationic peptides: comparison of broth microdilution methods for bacteria that grow aerobically, *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44(6):1694-6. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.44.6.1694-1696.2000>
10. Guan Q, Li C, Schmidt EJ. Preparation and characterization of cholic acid-derived antimicrobial agents with controlled stabilities, *Org Lett* 2000; 2(18):2837-40. <http://dx.doi.org/10.1021/ol0062704>
11. Gültekin B, Eyigör M, Telli M, Aksoy M, Aydın N. Yedi yıllık dönemde kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin retrospektif olarak incelenmesi, *ANKEM Derg* 2010;24(4):202-8.
12. Hancock RE. Cationic peptides: effectors in innate immunity and novel antimicrobials, *Lancet Infect Dis* 2001;1(3):156-64. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(01\)00092-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(01)00092-5)
13. Howell MD, Streib JE, Kim BE et al. Ceragenins: a class of antiviral compounds to treat orthopox infections, *J Invest Dermatol* 2009;129(11):2668-75. <http://dx.doi.org/10.1038/jid.2009.120>
14. Isogai E, Isogai H, Takahashi K, Okumura K, Savage PB. Ceragenin CSA-13 exhibits antimicrobial activity against cariogenic and periodontopathic bacteria, *Oral Microbiol Immunol* 2009;24(2):170-2. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-302X.2008.00464.x>
15. John E, Edwards JR. *Candida* species, "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and

- Practise of Infectious Diseases, 4.baskı" kitabında s.2289, Churchill Livingstone, New York (1995).
16. Kamysz W, Okroj M, Lukasiak J. Novel properties of antimicrobial peptides, *Acta Biochim Pol* 2003;50(2):461-9.
 17. Lai XZ, Feng Y, Pollard J et al. Ceragenins: cholic acid-based mimics of antimicrobial peptides, *Acc Chem Res* 2008;41(10):1233-40.
<http://dx.doi.org/10.1021/ar700270t>
 18. Lara D, Feng Y, Bader J, Savage P, Maldonado R. Anti-trypanosomatid activity of ceragenins, *J Parasitol* 2010;96(3):638-42.
<http://dx.doi.org/10.1645/GE-2329.1>
 19. Leszczynska K, Namiot A, Fein DE et al. Bactericidal activities of the cationic steroid CSA-13 and the cathelicidin peptide LL-37 against *Helicobacter pylori* in simulated gastric juice, *BMC Microbiol* 2009;9:187.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-9-187>
 20. Levitz SM. Overview of host defenses in fungal infections, *Clin Infect Dis* 1992;14(Suppl 1):37-42.
http://dx.doi.org/10.1093/clinids/14.Supplement_1.S37
 21. Li C, Lewis MR, Gilbert AB, Noel MD, Scoville DH, Allman GW, Savage P. Antimicrobial activities of amine- and guanidine-functionalized cholic acid derivatives, *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43(6):1347-9.
 22. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents-Approved Guideline M26-A, Wayne, PA, USA, (1999).
 23. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem, *Clin Microbiol Rev* 2007;20(1):133-63.
<http://dx.doi.org/10.1128/CMR.00029-06>
 24. Saha S, Savage PB, Bal M. Enhancement of the efficacy of erythromycin in multiple antibiotic-resistant gram-negative bacterial pathogens, *J Appl Microbiol* 2008;105(3):822-8.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03820.x>
 25. Som A, Vemparala S, Ivanov I, Tew GN. Synthetic mimics of antimicrobial peptides, *Biopolymers* 2008;90(2):83-93.
<http://dx.doi.org/10.1002/bip.20970>
 26. Van't Hof W, Veerman EC, Helmerhorst EJ, Amerongen AV. Antimicrobial peptides: properties and applicability, *Biol Chem* 2001;382(4):597-619.