

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ CANDIDA SPP. К АНТИФУНГАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ СИСТЕМНОГО ДЕЙСТВИЯ ЭПСИЛОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ (E-ТЕСТ) С УЧЕТОМ ВИДО-СПЕЦИФИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ КАНДИД

Н.С. Багирова, Н.В. Дмитриева

Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина, Москва, Россия

**Determination of resistance *Candida spp.* to antifungal agents with systemic action epsilometric method (E-test) with the species-specific characteristics of *Candida***

N.S. Bagirova, N.V. Dmitrieva

Russian Cancer Research Center named N.N. Blokhin, Moscow, Russia

## Резюме

Оценка чувствительности антифунгальных препаратов системного действия к *Candida spp.* в последние годы была стандартизирована и уточнена с учетом видо-специфических особенностей кандид. В дополнение к новым значениям клинических ключевых точек было введено новое понятие — эпидемиологическое пороговое значение. Его величина может служить надежным маркером потенциальной резистентности кандид к антимикотикам. В нашем исследовании была протестирована резистентность эпсилOMETРИЧЕСКИМ методом (E-тест) к флуконазолу, вориконазолу, позаконазолу, анидулафунгину, каспофунгину, микафунгину для 294 клинических штаммов *Candida spp.* (2012–2014 гг.), полученных от онкологических больных. Резистентность к азолам в среднем наблюдалась в 47,4 % случаях, к эхинокандинам — в 4,2 % случаях.

**Ключевые слова:** E-тест, *Candida spp.*, инвазивный кандидоз, резистентность, клинические ключевые точки, эпидемиологическое пороговое значение, минимальная ингибирующая концентрация.

## Введение

Развитие резистентности кандид к антифунгальным средствам (АФС) диктует дифференцированный подход к лечению ИК в зависимости не только от географического региона, но и от профиля конкретного лечебного учреждения. Определение клинически значимой чувствительности или резистентности грибов к АФС ориентированы на определение клинических конечных точек (ККТ) концентраций препаратов, которые устанавливаются международными организациями по стандартизации лабораторных исследований (CLSI, EUCAST) [1–3]. В настоящее время методы определения чувствительности/резистентности *Candida spp.* in vitro ко многим АФС стандартизированы, что является важным условием корректной оценки получаемых результатов, мониторинга резистентности, адек-

## Abstract

Evaluation of susceptibility of systemic antifungal agents against *Candida spp.* in recent years has been standardized and refined based on species-specific characteristics of *Candida*. In addition to new values clinical breakpoints were introduced epidemiological cutoff value. This value can serve as a sensitive marker of reduced susceptibility to the systemic antifungal agents. In our study was tested the resistance of fluconazole, voriconazole, posaconazole, anidulafungin, caspofungin, micafungin for 294 clinical strains of *Candida spp.* (2012–2014) from specimens of cancer patients. Definition of MIC was performed by epsilometric method (E-test). The resistance to azoles in the average observed in 47.4 %, to echinocandins — in 4.2 %.

**Key words:** E-test, *Candida spp.*, invasive candidiasis, resistance, clinical breakpoints, epidemiological cutoff value, the minimum inhibitory concentration.

ватной терапии и профилактики. Следует отметить, что критерии оценки минимальной ингибирующей концентрации (МИК) разных международных организаций (CLSA и EUCAST) отличаются по многим показателям. Кроме того, пока не разработаны стандарты оценки значений МИК для многих видов кандид (например, для вориконазола и *C. glabrata*, в отношении всех видов кандид и позаконазола, для редких видов кандид). До недавнего времени рекомендуемые значения ККТ для оценки уровня резистентности к тому или иному препарату не учитывали видо-специфические особенности кандид, но в настоящее время назрела такая необходимость, ведется активная работа в этом направлении, изменяются критерии оценки получаемых результатов [4–6].

Кроме того, несколько лет назад было введено понятие эпидемиологических пороговых значе-

ний (ЭПЗ) концентраций антимикотиков с целью своевременного прогнозирования развития резистентности в популяции определенного вида грибов [7–11]. ЭПЗ служит своеобразной эпидемиологической меткой, которая разделяет «дикие» штаммы грибов (без мутаций или иных приобретенных механизмов резистентности) и штаммы с мутациями или иными приобретенными механизмами резистентности. Определение ЭПЗ обеспечивает более целенаправленный отбор штаммов для исследования механизмов резистентности с помощью молекулярных методов. Следует отметить, что ЭПЗ не предназначено для использования в качестве подтверждения чувствительности или резистентности *in vivo*, но прогнозировать снижение чувствительности к антифунгальным препаратам возможно, если  $МИК > ЭПЗ$  [11–13].

ЭПЗ были установлены для амфотерицина В, флуцитозина, триазолов (флуконазол, итраконазол, вориконазол и позаконазол), эхинокандинов (каспофунгин, микафунгин и анидулафунгин) и 11 видов *Candida*.

Также стало ясно, что ККТ без учета видоспецифических особенностей кандид нуждаются в пересмотре и усовершенствовании. В таблице 1 [7, 9, 11, 15] отражены результаты пересмотра значений МИК для каждого АФС в связи с определенным видом кандид, установлены видоспецифические ККТ и ЭПЗ. Изменения в оценке значений МИК для АФС усилили связь получаемых значений МИК с клиническим исходом ИК, обеспечили более чувствительный инструмент для выявления резистентности и прогнозирования ее появления.

Таблица 1

**Клинические ключевые точки (ККТ) и эпидемиологические пороговые значения (ЭПЗ) антимикотиков системного действия *in vitro* для *Candida* spp. с учетом видоспецифичности кандид [7, 9, 11, 15]**

Вид <i>Candida</i>	Противогрибковый препарат	МИК < ЭПЗ дикий штамм	ККТ резистентный штамм
<i>C. albicans</i>	Амфотерицин В	≤2	НД*
	Флуконазол	≤0,5	>4
	Вориконазол	≤0,03	>0,5
	Позаконазол	≤0,06	НД
	Каспофунгин	≤0,12	>0,5
	Микафунгин	≤0,03	>0,5
	Анидулафунгин	≤0,12	>0,5
<i>C. parapsilosis</i>	Амфотерицин В	≤2	НД
	Флуконазол	≤2	>4
	Вориконазол	≤0,12	>0,5
	Позаконазол	≤0,25	НД
	Каспофунгин	≤1	>4
	Микафунгин	≤2	>4
	Анидулафунгин	≤2	>4
<i>C. glabrata</i>	Амфотерицин В	≤2	НД
	Флуконазол	≤32	>32
	Вориконазол	≤0,5	НД
	Позаконазол	≤2	НД
	Каспофунгин	≤0,12	>0,25
	Микафунгин	≤0,03	>0,12
	Анидулафунгин	≤0,12	>0,25
<i>C. tropicalis</i>	Амфотерицин В	≤2	НД
	Флуконазол	≤2	>4
	Вориконазол	≤0,06	>0,5
	Позаконазол	≤0,12	НД
	Каспофунгин	≤0,12	>0,5
	Микафунгин	≤0,12	>0,5
	Анидулафунгин	≤0,12	>0,5

Вид Candida	Противогрибковый препарат	МИК < ЭПЗ дикий штамм	ККТ резистентный штамм
C. krusei	Амфотерицин В	≤2	НД
	Флуконазол	Все штаммы считать резистентными	
	Вориконазол	≤0,5	>1,0
	Позаконазол	≤0,5	НД
	Каспофунгин	≤0,25	>0,5
	Микафунгин	≤0,12	>0,5
	Анидулафунгин	≤0,12	>0,5
C. lusitaniae	Амфотерицин В	≤2	НД
	Флуконазол	≤2	НД
	Вориконазол	≤0,03	НД
	Позаконазол	≤0,12	НД
	Каспофунгин	≤1	НД
	Микафунгин	≤0,5	НД
	Анидулафунгин	≤2	НД
C. guilliermondii	Амфотерицин В	≤2	НД
	Флуконазол	≤8	НД
	Вориконазол	≤0,25	НД
	Позаконазол	≤0,5	НД
	Каспофунгин	≤2	≥8
	Микафунгин	≤2	≥8
	Анидулафунгин	≤4	≥8
C. kefyr	Флуконазол	≤1	НД
	Вориконазол	≤0,015	НД
	Позаконазол	≤0,25	НД
	Каспофунгин	≤0,03	НД
	Микафунгин	≤0,12	НД
	Анидулафунгин	≤0,25	НД
C. dubliniensis	Амфотерицин В	≤2	НД
	Флуконазол	≤0,5	НД
	Вориконазол	≤0,03	НД
	Позаконазол	≤0,12	НД
	Каспофунгин	≤0,12	НД
	Микафунгин	≤0,12	НД
	Анидулафунгин	≤0,12	НД
C. orthopsilosis	Флуконазол	≤2	НД
	Вориконазол	≤0,06	НД
	Позаконазол	≤0,25	НД
	Каспофунгин	≤0,5	НД
	Микафунгин	≤1	НД
	Анидулафунгин	≤2	НД
C. pelliculosa	Флуконазол	≤4	НД
	Вориконазол	≤0,25	НД
	Позаконазол	≤2	НД
	Каспофунгин	≤0,12	НД

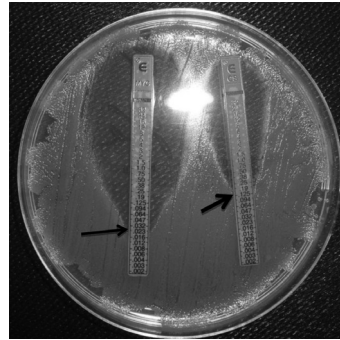
НД\* – нет данных;

ККТ для определения резистентных штаммов не стандартизировано.

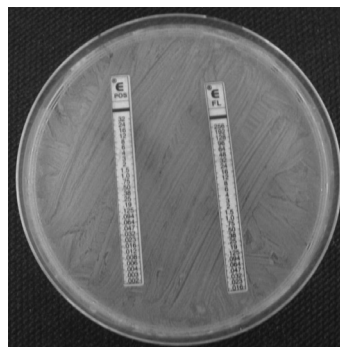
**Цель исследования** — определение значений МИК для АФС в отношении *Candida* spp., выделенных из биоматериалов онкологических больных ИК, анализ эпидемиологических пороговых значений для прогнозирования нарастания резистентности.

### Материалы и методы

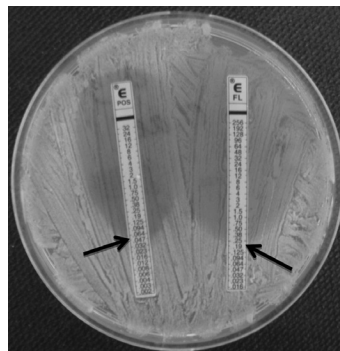
Всего было протестировано 294 штамма (13 видов) *Candida* spp. (*C. albicans* 141 штамм, *C. parapsilosis* 59 штаммов, *C. glabrata* 39 штаммов, *C. tropicalis* 25 штаммов, *C. krusei* 9 штаммов, *C. lusitaniae* 6 штаммов, *C. guilliermondii* и *C. kefyr* — по 4 штамма каждый вид, *C. dubliniensis* и *C. norvegensis* — по 2 штамма каждый вид, *C. nivariensis*, *C. robusta* и *C. utilis* — по 1 штамму каждого вида). Все штаммы выделены из биоматериалов онкологических больных с клинико-микробиологически подтвержденным инвазивным кандидозом, находящихся в Российском онкологическом научном центре им. Н.Н. Блохина (РОНЦ) с февраля 2012 г. по март 2014 г. (кровь — 46, бронхоальвеолярный лаваж — 27, отделяемое из послеоперационных ран — 138, мокрота — 41, плевральная жидкость — 10, моча — 32). Для идентификации чистой культуры дрожжевых грибов использовали масс-спектрометрический анализ белковой фракции микробной клетки на приборе MALDI-TOF Microflex LT (Biotyper, Bruker Daltonics, Germany). Определение МИК выполняли эсимеретрическим методом (Е-тест, Etest®, BioMerieux, France) на чашках Петри диаметром 140 мм с готовой агаровой средой RPMI (кат. № АЕВ122182, BioMerieux, France). Е-тест — градиентный метод количественного тестирования — позволяет получить значения МИК для широкого ряда АФС. Как видно на рисунках 1–5, при учете значений МИК следует принимать во внимание характер ингибирования роста в связи с определенным классом АФС. Шкала МИК для вориконазола, позаконазола, каспофунгина, микафунгина и анидулафунгина 0,002–32 мкг/мл, для флуконазола — 0,002–256 мкг/мл. Благодаря стабильности и точности стандартного градиента Е-теста, значения МИК являются воспроизводимыми и соответствуют значениям, полученным референс-методом (метод разведений, CLSI). Для оценки полученных значений МИК мы использовали недавно пересмотренные значения ККТ в отношении штаммов 5 самых распространенных видов *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* и *C. krusei*) (см. табл. 1). Ввиду отсутствия утвержденных ККТ для позаконазола и любых видов кандид мы также определяли ЭПЗ (см. табл. 1). ККТ не установлено для АФС и редких видов *Candida*. Однако определены значения ЭПЗ для эхинокандинов и триазолов против 6 видов *Candida* (см. табл. 1), которые в нашем исследовании были выделены также в единичных случаях (*C. lusitaniae*, *C. guilliermondii*, *C. dubliniensis*, *C. kefyr*, *C. orthopsilosis* и *C. pelliculosa*).



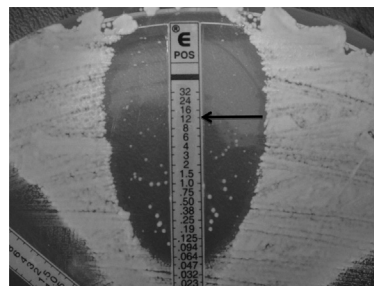
**Рис. 1.** Е-тест. *Candida tropicalis*. Четкое значение МИК каспофунгина 0,125 мкг/мл, МИК микафунгина 0,023 мкг/мл



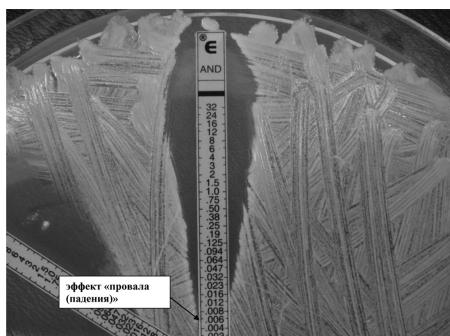
**Рис. 2.** Е-тест. *Candida albicans*. Резистентность к флуконазолу и позаконазолу — отсутствие ингибирования роста



**Рис. 3.** Е-тест. *Candida glabrata*. Различный эллипс (80% ингибирования роста), МИК позаконазола 0,047 мкг/мл, МИК флуконазола мкг/мл 0,25



**Рис. 4.** Е-тест. *Candida albicans*. Макроколонии внутри эллипса (потенциальная гетерорезистентность), МИК позаконазола 12 мкг/мл



**Рис. 5.** Е-тест. *Candida albicans*. Эффект «провала (падения)» — считывание МИК на дне углубления, МИК анидулафунгина 0,006 мкг/мл

## Результаты и обсуждение

По результатам предыдущего мониторинга таксономической структуры возбудителей инвазивных грибковых инфекций в РОНЦ [15], более 95% дрожжевых грибов составляют *Candida* spp. (19 видов), при этом лидирующим видом является *C. albicans* (56,3%), значительно менее часто регистрируется *C. glabrata* (11,8%), *C. parapsilosis* (7,0%), *C. krusei* (5,1%) и *C. tropicalis* (3,3%). В связи с этим основной упор при анализе результатов в распределении значений МИК мы сделали на 5 основных видов *Candida*, составивших 92,9% всех видов кандид в данном исследовании (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* и *C. krusei*) (табл. 2, 3).

Таблица 2

**Распределение значений МИК, полученных эпсилотрическим методом (Е-тест), для 5 видов *Candida* в отношении флуконазола, вориконазола, позаконазола**

Вид <i>Candida</i> (количество штаммов)	МИК <ЭПЗ количество диких штаммов (%) (диапазон МИК)	МИК >ЭПЗ количество штаммов с потенциальной резистентностью (%) (диапазон МИК)	Количество резистентных штаммов (%) (диапазон МИК)
<b>ФЛУКОНАЗОЛ</b>			
<i>C. albicans</i> (140)	70 (50) (0,094 – 0,38)	10 (7,1) (2,0 – 3,0)	60 (42,9) (32 – ≥256)
<i>C. parapsilosis</i> (52)	20 (38,5) (0,125 – 1,5)	0	32 (61,5) (24 – ≥256)
<i>C. glabrata</i> (32)	12 (37,5) (0,38 – 16)	0	20 (62,5) (32 – ≥256)
<i>C. tropicalis</i> (25)	25 (100) (0,094 – 1,5)	0	0
<i>C. krusei</i> (8)	0	0	8 (100)
<b>ВОРИКОНАЗОЛ</b>			
<i>C. albicans</i> (140)	56 (40) (0,004 – 0,023)	28 (20) (0,047 – 0,25)	56 (40) (0,75 – ≥32)
<i>C. parapsilosis</i> (48)	12 (25) (0,032 – 0,064)	36 (75) (0,19 – 0,50)	0
<i>C. glabrata</i> (36)	20 (55,6) (0,032 – 0,50)	16 (44,4) (0,75 – ≥32)	НД*
<i>C. tropicalis</i> (24)	6 (25) (0,023 – 0,047)	12 (50) (0,064 – 0,16)	6 (25) (16 – ≥32)
<i>C. krusei</i> (8)	4 (50) (0,16 – 0,25)	0	4 (50) (≥32)
<b>ПОЗАКОНАЗОЛ</b>			
<i>C. albicans</i> (140)	61 (43,6) (0,012 – 0,047)	79 (56,4) (0,064 – ≥32)	НД
<i>C. parapsilosis</i> (59)	57 (96,6) (0,023 – 0,25)	2 (3,4) (1,0 – ≥32)	НД
<i>C. glabrata</i> (39)	6 (15,4) (0,016 – 1,5)	33 (84,6) (6 – ≥32)	НД
<i>C. tropicalis</i> (25)	16 (64) (0,023 – 0,094)	9 (36,0) (0,125 – 0,19)	НД
<i>C. krusei</i> (9)	7 (77,8) (0,25 – 0,50)	2 (22,2) (1,5 – ≥32)	НД

\* – НД, ККТ для определения резистентных штаммов не стандартизировано.



Таблица 3

**Распределение значений МИК, полученных эпиллометрическим методом (Е-тест), для 5 видов *Candida* в отношении каспофунгина, микафунгина и анидулафунгина**

Вид <i>Candida</i> (количество штаммов)	МИК <ЭПЗ количество диких штаммов (%) (диапазон МИК)	МИК >ЭПЗ количество штаммов с потенциальной резистентностью (%) (диапазон МИК)	Количество резистентных штаммов (%) (диапазон МИК)
<b>КАСПОФУНГИН</b>			
<i>C. albicans</i> (141)	83 (58,9) (0,016 – 0,094)	52 (36,9) (0,125 – 0,50)	6 (4,2) (0,75 – ≥32)
<i>C. parapsilosis</i> (59)	13 (22,0) (0,032 – 1,0)	27 (45,8) (1,5 – 4,0)	19 (32,2) (6 – ≥32)
<i>C. glabrata</i> (39)	1 (2,6) (0,064)	38 (97,4) (0,125 – 0,25)	0
<i>C. tropicalis</i> (25)	6 (24) (0,094)	19 (76) (0,125 – 0,38)	0
<i>C. krusei</i> (9)	2 (22,2) (0,125 – 0,19)	6 (66,7) (0,38 – 0,50)	1 (11,1) (1,5)
<b>МИКАФУНГИН</b>			
<i>C. albicans</i> (141)	104 (73,8) (0,006-0,023)	35 (24,8) (0,032- 0,50)	2 (1,4) (0,75-2,0)
<i>C. parapsilosis</i> (59)	58 (99,3) (0,008 – 1,5)	0	1 (1,7) (≥32)
<i>C. glabrata</i> (39)	28 (71,8) (0,012 – 0,023)	10 (25,6) (0,032-0,064)	1 (2,6) (0,19)
<i>C. tropicalis</i> (25)	25 (100) (0,023 – 0,094)	0	0
<i>C. krusei</i> (9)	2 (22,2) (0,047- 0,064)	7 (77,8) (0,19- 0,25)	0
<b>АНИДУЛАФУНГИН</b>			
<i>C. albicans</i> (141)	131 (92,9) (0,002 – 0,047)	7 (5) (0,125-0,50)	3 (2,1) (1,0-≥32)
<i>C. parapsilosis</i> (59)	57 (96,6) (0,002 – 2,0)	0	2 (3,4) (≥32)
<i>C. glabrata</i> (39)	39 (100) (0,002 – 0,032)	0	0
<i>C. tropicalis</i> (25)	25 (100) (0,002 – 0,064)	0	0
<i>C. krusei</i> (9)	9 (100) (0,004 – 0,064)	0	0

Триазолы. Резистентность штаммов *Candida* spp. к триазолам развивается главным образом вследствие ингибирования ланостерола, не исключая и иных механизмов. Противогрибковый эффект многих АФС основан на наличии в структуре клеточной мембраны грибов молекулы эргостерола, которая ответственна за эластичность мембраны. Изменение баланса эргостерола в грибковой клетке вызывает нарушения устойчивости и плотности мембраны. На одном из этапов биосинтеза эргостерола образуется промежуточное вещество ланостерол, который с помощью фермента 14- $\alpha$ -деметилазы превращается в эргостерол. 14- $\alpha$ -деметилаза входит в группу ферментов, известных под общим названием цитохром P450. Все ферменты группы цитохрома P450 содержат гематиновый железосодержащий

пигмент. АФС группы азолов связываются с атомом железа гематиновой группы и инактивируют 14- $\alpha$ -деметилазу. Это приводит к нарушению синтеза эргостерола и накоплению ланостерола и других стеролов. Их включение вместо эргостерола в мембрану нарушает структуру и функцию клеточной мембраны. Устойчивость к триазолам может возникнуть в результате изменения количественных или качественных характеристик фермента, ограниченного доступа препарата к мишени либо через механизмы развития множественной лекарственной устойчивости, либо эффлюкс-эффекта (эффект помпы, ускоренное выведение препарата из клетки), либо некоторой комбинации этих механизмов. В нашем исследовании (см. табл. 2) выявлен высокий уровень резистентности к флуконазолу почти

у всех видов, кроме *C. tropicalis*. К флуконазолу резистентны 42,9% (60/140) штаммов *C. albicans*, 61,5% (32/52) штаммов *C. parapsilosis*, 62,5% (20/32) штаммов *C. glabrata*. Следует отметить, что для *C. albicans* в отношении флуконазола в 7,1% (10/140) случаев МИК>ЭПЗ (потенциальная резистентность), то есть в целом в 50% (70/140) случаев прогноз эффективности лечения флуконазолом неблагоприятный. Резистентность *C. albicans* к вориконазолу выявлена в 40% (56/140) случаев, причем 20% (28/140) штаммов с потенциальной резистентностью (МИК>ЭПЗ). Резистентных штаммов *C. parapsilosis* к вориконазолу не выявлено, но зарегистрировано 75% (36/48) штаммов с потенциальной резистентностью (МИК>ЭПЗ). Только 25% (6/24) штаммов *C. tropicalis* резистентны к вориконазолу, но у 50% (12/24) штаммов МИК>ЭПЗ (снижена чувствительность). Половина штаммов *C. krusei* резистентны к вориконазолу, но потенциальной резистентности не выявлено. Вориконазол в 55,6% (20/36) случаях *in vitro* эффективен против *C. glabrata* (МИК< ЭПЗ). Поскольку стандарты для определения резистентных штаммов *C. glabrata* к вориконазолу не разработаны, мы ориентировались на показатель ЭПЗ для выявления потенциальной резистентности (МИК>ЭПЗ), которая составила 44,4% (16/36). Стандарты определения резистентных штаммов кандид к позаконазолу также не разработаны, но стало возможно оценить потенциальную резистентность с целью своевременного ее прогнозирования: для *C. parapsilosis* МИК>ЭПЗ у 3,4% (2/59) штаммов, для *C. albicans* — у 56,4% (79/140) штаммов, для *C. glabrata* — у 84,6% (33/39) штаммов, для *C. tropicalis* — у 36% (9/25) штаммов и для *C. krusei* — у 22,2% (2/9) штаммов.

Таким образом, триазолы могут использоваться в соответствии с национальными рекомендациями как в качестве этиотропной терапии, так и с целью профилактики ИК с учетом вида *Candida*, а также особенностей структуры основных возбудителей ИК и их резистентности к АФС в каждом конкретном стационаре.

Эхинокандины. Для эхинокандинов описаны как общие механизмы развития резистентности, так и ингибирование синтетазы глюконового ферментного комплекса. Резистентность *C. albicans*, *C. tropicalis* и *C. krusei* связана с точечными мутациями в *fks1*-гене. Мутации генов *fks1* и *fks2* ответственны за резистентность к эхинокандинам *C. glabrata*. Эти мутации выражаются в увеличении МИК в 4–30 раз для каспофунгина, в 90–110 раз для анидулафунгина и микафунгина [7, 16]. В нашем исследовании (см. табл. 3) доля резистентных к каспофунгину *C. albicans* составила только 4,2% (6/141). Резистентность к каспофунгину выявлена среди штаммов *C. parapsilosis* (32,2%, 19/59) и *C. krusei* (11,1%, 1/9). Однако при назначении каспофунгина в связи с ИК необходимо учитывать, что

потенциальная резистентность для *C. albicans* составила 36,9% (52/141). Для *C. parapsilosis* потенциальная резистентность к каспофунгину обнаружена у 45,8% (27/59) штаммов, для *C. glabrata* — у 97,4% (38/39) штаммов, для *C. tropicalis* — у 76% (19/25) штаммов, а для *C. krusei* — у 66,7% (6/9) штаммов. Не отмечено резистентности или снижения чувствительности к микафунгину у *C. tropicalis*. *C. krusei*, резистентных к микафунгину, также не выявлено, хотя МИК>ЭПЗ отмечено у 77,8% (7/9) штаммов. Для *C. albicans*, *C. parapsilosis* и *C. glabrata* доля резистентных к микафунгину штаммов составила 1,4% (2/141), 1,7% (1/59) и 2,6% (1/39) соответственно, но в 24,8% (35/141) случаев для *C. albicans* и в 25,6% (10/39) случаев для *C. glabrata* МИК>ЭПЗ (потенциальная резистентность). Анидулафунгин: не отмечено резистентности или МИК>ЭПЗ у *C. glabrata*, *C. tropicalis* и *C. krusei*. Только в 3,4% (2/59) случаев регистрировали резистентность у *C. parapsilosis* и в 2,1% (3/141) случаев — у *C. albicans*. Следует отметить, что потенциальная резистентность *C. albicans* к анидулафунгину составила только 4,9% (7/141). Анидулафунгин и микафунгин отличаются либо отсутствием, либо низкой долей резистентных штаммов, но выявлена определенная доля штаммов, для которых ЭПЗ>МИК (потенциальная резистентность). В дальнейшем следует проводить мониторинг по выявлению подобных штаммов для анидулафунгина с акцентом на *C. albicans*, а для микафунгина — на 3 основных вида (*C. albicans*, *C. glabrata* и *C. krusei*). Ввиду лидирующей роли *C. parapsilosis* при катетер-ассоциированных инфекциях кровотока весьма существенным фактом является низкий уровень резистентности данного вида к микафунгину и анидулафунгину (1,7% и 3,4% соответственно).

Таким образом, по нашим данным, *in vitro* наиболее эффективными препаратами для этиотропной терапии ИК оказались эхинокандины, которые более активны *in vitro* в сравнении с триазолами.

Эмпирическая антифунгальная терапия при наличии резистентных к препарату штаммов может привести к «прорывным» (т.е. инфекции, возникшие на фоне проводимого лечения) ИК у больных высокого риска, получавших противогрибковую профилактику. Например, при ИК, обусловленном *C. glabrata*, развитие резистентности к АФС зачастую связано с усилением эффлюкс-эффекта (усиленный выброс препарата из грибковой клетки) и с перекрестной резистентностью между всеми триазолами. По результатам нашего исследования *in vitro* определены наиболее эффективные АФС при эмпирической терапии ИК. По нашим данным, к флуконазолу в целом резистентны 46,7% (120/257) штаммов 5 основных видов *Candida spp.* Если учитывать и потенциально резистентные штаммы (3,9%, 10/257), то увеличение резистентности возможно до 50,6% (130/257). К вориконазолу в целом резистентны 25,8% (66/256)

штаммов, но, учитывая 35,9% (92/256) штаммов с МИК>ЭПЗ (потенциальная резистентность), неблагоприятный прогноз эмпирической терапии может составить уже 61,7% (158/256). Из 272 штаммов 147 (54%) *in vitro* были чувствительны к позаконазолу. По нашим данным, потенциальная резистентность к позаконазолу составляет 46% (125/272) для всех 5 видов кандид в целом. В группе эхинокандинов особый интерес в плане целенаправленного отбора штаммов для исследования механизмов резистентности вызывает каспофунгин. Несмотря на низкий уровень резистентности к каспофунгину в целом (9,5%, 26/273), только 38,5% (105/273) штаммов кандид были чувствительны к каспофунгину. Штаммы кандид, резистентные к микафунгину и анидулафунгину, составили всего 1,5% (4/273) и 1,8% (5/273) соответственно.

В нашем исследовании было выделено 8 видов кандид, которые редко регистрируют при ИК: *C. lusitanae*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. dubliniensis*, *C. norvegensis*, *C. nivariensis*, *C. robusta* и *C. utilis*. Значения ЭПЗ установлены [7, 8, 11] только для некоторых из этих видов: *C. lusitanae*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr* и *C. dubliniensis*. Согласно нашим данным, для всех штаммов *C. lusitanae* в отношении флуконазола каспофунгина, микафунгина и анидулафунгина МИК<ЭПЗ, то есть у этого вида кандидат не прослеживается снижение чувствительности к большинству АФС. В то же время для 1 из 6 штаммов *C. lusitanae* в отношении вориконазола, для 3 из 6 штаммов *C. lusitanae* в отношении позаконазола МИК>ЭПЗ. Для всех штаммов *C. guilliermondii* в отношении амфотерицина В, флуконазола, вориконазола, микафунгина и анидулафунгина МИК<ЭПЗ. У 3 из 4 штаммов *C. guilliermondii* в отношении позаконазола МИК>ЭПЗ. 3 из 4 штаммов *C. guilliermondii* резистентны к каспофунгину. Для всех штаммов *C. kefyr* в отношении позаконазола, микафунгина и анидулафунгина МИК<ЭПЗ, но для флуконазола (1 из 4 штаммов), вориконазола (4 из 4 штаммов) и каспофунгина (2 из 4 штаммов) МИК>ЭПЗ (потенциальная резистентность). Для всех штаммов *C. dubliniensis* в отношении вориконазола, микафунгина и анидулафунгина МИК<ЭПЗ (дикие штаммы). В то же время для *C. dubliniensis* в отношении флуконазола (1 из 2 штаммов), позаконазола (1 из 2 штаммов) и каспофунгина (1 из 2 штаммов) МИК>ЭПЗ, то есть регистрируются штаммы со сниженной чувствительностью.

Основной целью любого тестирования антимикробного действия препарата *in vitro* является прогноз возможного влияния проводимой терапии на исход инфекционного осложнения, определение терапевтического потенциала и спектра активности как длительно применяемых, так и новых, недавно разработанных препаратов. Следует учитывать, что тестирование чувствительности грибов к АФС проводится в искусственных условиях и в строго ограниченных рамках. При оценке клинического значе-

ния тестирования *in vitro* чувствительности к АФС следует учитывать более чем сорокалетний опыт, согласно которому предсказать исход инфекционного осложнения в связи с выбранной терапией можно, руководствуясь «правилом 90-60» [17]: при противогрибковой терапии благоприятный исход составляет 90% для штаммов, чувствительных к данному препарату, и 60% — для резистентных штаммов.

Процесс, используемый для установления определенных значений ЭПЗ для каждого класса противогрибковых средств, а также изучение связи ЭПЗ с мутациями или иными приобретенными механизмами резистентности (если они известны) находятся под пристальным вниманием специалистов [11]. Значения ЭПЗ и ККТ были уточнены после проведения крупного исследования в рамках международной программы наблюдения за антимикробной резистентностью, действующей с 1997 г. Результаты этого исследования за 2010–2011 гг. суммированы М.А. Pfaller et al. [7] в отношении 3 эхинокандинов (каспофунгин, микафунгин, анидулафунгин) и 4 триазолов (флуконазол, итраконазол, вориконазол, позаконазол). Протестировано 3418 клинических штаммов грибов (методы CLSI), выделенных из различных биоматериалов больных в 4 регионах мира: США (1349 штаммов), Европа (1191 штамм), Латинская Америка (492 штамма), страны Азиатско-Тихоокеанского региона (384 штамма). Предложены новые значения ККТ с учетом видо-специфичности кандид и ЭПЗ для выявления штаммов со сниженной чувствительностью к АФС. По данным этого исследования были сделаны следующие выводы: в целом, уровень резистентности кандидат к эхинокандинам и триазолам был низким; уровень резистентности *C. glabrata* в отношении флуконазола и эхинокандинов требует постоянного наблюдения, поскольку резистентность *C. glabrata* к эхинокандинам за последние годы выросла в 3 раза, и фенотипы устойчивости связаны с мутациями в генах *fks* [18]. В таблице 4 представлены результаты нашего исследования в сравнении с зарубежными данными, полученными в рамках SENTRY [7]. Как видно из таблицы 4, по нашим данным (РОИЦ) профиль резистентности *C. albicans* и *C. glabrata* значительно отличается от SENTRY в отношении всех протестированных триазолов. Для *C. parapsilosis* такое же положение в отношении каспофунгина и флуконазола. Для *C. tropicalis* доля резистентных штаммов значительно выше в РОИЦ в отношении вориконазола и позаконазола. Для *C. krusei* данные по вориконазолу и каспофунгину значительно различаются (в РОИЦ резистентность выше). В остальных случаях отмечаются несущественные отличия или сходные результаты, и доля резистентных штаммов в обоих исследованиях либо 0%, либо незначительна. Следует отметить отличия не только по уровню резистентности к триазолам, но и по прогнозу клинической эффективности антифунгальной терапии. Если по данным SENTRY наблю-



дается снижение активности к позаконазолу только у *C. krusei* (15,2%), *C. tropicalis* (5,3%) и *C. albicans* (4,4%), то по нашим данным, за исключением *C. parapsilosis* (3,4%), отмечается значительно более выраженное снижение активности позаконазола в отношении всех остальных основных видов. По данным SENTRY, необходим постоянный мониторинг чувствительности *C. glabrata* к АФС. Изменение ККТ для эхинокандинов и триазолов против *C. glabrata* связано с ростом неудач терапии этими препаратами, поэтому точность и воспроизводимость тестов на чувствительность *C. glabrata* к антимикотикам имеет существенное значение для клинической практики [18, 19, 20]. По данным зарубежных авторов [17, 22, 23], Е-тест имеет высокую категорию соответствия референс-методу (метод разведений в бульоне CLSI), включая и *C. glabrata*, однако степень соответствия между этими

методами при оценке ЭПЗ требует изучения. По данным Ben-Ami R. et al [21], для *C. glabrata* соответствие между Е-тестом и CLSI снижено в отношении вориконазола и каспофунгина. Следует заметить, что в настоящее время для *C. glabrata* в отношении каспофунгина ККТ >0,25 оценивается как резистентность, и таких штаммов в нашем исследовании не зарегистрировано. Ввиду отсутствия рекомендованных ККТ для оценки резистентности *C. glabrata* к вориконазолу мы оценивали ЭПЗ (> 0,5 мкг/мл), и доля таких штаммов в нашем исследовании (44,4%) более чем в 4 раза выше по сравнению с SENTRY (10,5%). И в нашем исследовании, и по результатам SENTRY выявлена низкая резистентность к каспофунгину, микафунгину и анидулафунгину у всех видов кандид, за исключением *C. parapsilosis* в отношении каспофунгина.

Таблица 4

**Сравнение данных исследования в рамках международной программы наблюдения за антимикробной резистентностью (SENTRY, обобщенные данные по 4 регионам) [7] с данными (РОИЦ по 5 основным видам *Candida*)**

Candida spp.	Антифунгальный препарат	% резистентных штаммов	
		РОИЦ Е-тест	SENTRY
<i>C. albicans</i>	Каспофунгин	4,2	0,2
	Микафунгин	1,4	0,1
	Анидулафунгин	2,1	0,0
	Флуконазол	42,9	0,4
	Вориконазол	40,0	0,4
	Позаконазол*	56,4	4,4
<i>C. glabrata</i>	Каспофунгин	0,0	1,6
	Микафунгин	2,6	1,2
	Анидулафунгин	0,0	1,8
	Флуконазол	62,5	8,8
	Вориконазол*	44,4	10,5
	Позаконазол*	84,6	3,5
<i>C. parapsilosis</i>	Каспофунгин	32,2	0,0
	Микафунгин	1,7	0,0
	Анидулафунгин	3,4	0,5
	Флуконазол	61,5	2,1
	вориконазол	0,0	0,2
	Позаконазол*	3,4	2,3
<i>C. tropicalis</i>	Каспофунгин	0,0	0,0
	Микафунгин	0,0	0,0
	Анидулафунгин	0,0	0,0
	Флуконазол	0,0	1,3
	вориконазол	25,0	0,3
	Позаконазол*	36,0	5,3
<i>C. krusei</i>	Каспофунгин	11,1	0,0
	Микафунгин	0,0	0,0
	Анидулафунгин	0,0	0,0
	вориконазол	50,0	1,3
	Позаконазол*	22,2	15,2

\* – МИК>ЭПЗ.

## Заключение

В соответствии с полученными *in vitro* данными по резистентности для терапии ИК, обусловленных *S. albicans*, наиболее подходящими для этиотропной терапии АФС являются эхинокандины; для *S. parapsilosis* — позаконазол, эхинокандины; для *S. glabrata* — эхинокандины; для *S. tropicalis* — представители всех групп изученных АФС; для *S. krusei* — позаконазол и эхинокандины. Следует особо подчеркнуть значение мониторинга по выявлению штаммов с потенциальной резистентностью (ЭПЗ>МИК), чтобы прогнозировать снижение чувствительности к АФС. Полученные нами данные обозначили проблему выбора препарата для этиотропной терапии ИК, обусловленных *S. glabrata*. Сходная ситуация для *S. parapsilosis*, *S. tropicalis* и *S. krusei*. В целом, наиболее высокий потенциал резистентности у кандид выявлен в отношении вориконазола (35,9%), позаконазола (46%) и каспофунгина (52%).

Будущие исследования следует планировать с обязательным включением молекулярного анализа механизмов резистентности для штаммов с МИК>ЭПЗ, чтобы эффективнее отслеживать клиническое значение штаммов со сниженной чувствительностью к АФС.

## Литература

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts—third edition. CLSI document M27-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; 3rd informational supplement. CLSI M27-S3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA
3. ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). 2008. EUCAST definitive document EDef 7.1: method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative yeasts. Clin. Microbiol. Infect. 14:398–405
4. O. A. Cornely, M. Bassetti, T. Calandra, J. Garbino, B. J. Kullberg, O. Lortholary, W. Meersseman, M. Akova, Arendrup, S. Arikan-Akdagli, J. Bille, Castagnola, M. Cuenca-Estrella, J. P. Donnelly, A. H. Groll, R. Herbrecht, W. W. Hope, H. E. Jensen, C. Lass-Floerl, G. Petrikos, M. D. Richardson, E. Roilides, P. E. Verweij, C. Viscoli and A. J. Ullmann for the ESCMID Fungal Infection Study Group (EFISG). ESCMID\* guideline for the diagnosis and management of Candida diseases 2012: non-neutropenic adult patients. Clin Microbiol Infect 2012; 18 (7): 19–37.
5. Maiken Cavling Arendrup. Candida and Candidemia. Susceptibility and Epidemiology. Dan Med J 2013; 60(11): B4698.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Fourth Informational Supplement, M27-S4. 2012
7. Pfaller M.A., Shawn A. Messer, Leah N. Woosley, Ronald N. Jones, Mariana Castanheira. Echinocandin and Triazole Antifungal Susceptibility Profiles for Clinical Opportunistic Yeast and Mold Isolates Collected from 2010 to 2011: Application of New CLSI Clinical Breakpoints and Epidemiological Cutoff Values for Characterization of Geographic and Temporal Trends of Antifungal Resistance. J. Clin. Microbiol. August 2013 Vol. 51 № 8: 2571–2581
8. Pfaller MA, Andes D, Arendrup MC, Diekema DJ, Espinel-Ingroff A, Alexander BD, Brown SD, Chaturvedi V, Fowler CL, Ghannoum MA, Johnson EM, Knapp CC, Motyl MR, Ostrosky-Zeichner L, Walsh TJ. Clinical breakpoints for voriconazole and Candida spp. revisited: review of microbiologic, molecular, pharmacodynamic, and clinical data as they pertain to the development of species-specific interpretive criteria. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2011; 70: 330–343
9. Pfaller MA, Andes D, Diekema DJ, Espinel-Ingroff A, Sheehan D, CLSI Subcommittee for Antifungal Susceptibility Testing. Wild-type MIC distributions, epidemiological cutoff values and species-specific clinical breakpoints for fluconazole and Candida: time for harmonization of CLSI and EUCAST broth microdilution methods. Drug Resist. Updat. 2010; 13:180–195
10. Pfaller MA, Castanheira M, Messer SA, Moet GJ, Jones RN. Echinocandin and triazole antifungal susceptibility profiles for Candida spp., Cryptococcus neoformans, and Aspergillus fumigatus: application of new CLSI clinical breakpoints and epidemiologic cutoff values to characterize resistance in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2009). Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2011; 69:45–50
11. Pfaller MA, Diekema DJ. Progress in antifungal susceptibility testing of Candida spp. by use of Clinical and Laboratory Standards Institute broth microdilution methods, 2010 to 2012. J. Clin. Microbiol. 2012; 50:2846–2856
12. Pfaller MA, Castanheira M, Lockhart SR, Ahlquist AM, Messer SA, Jones RN. Frequency of decreased susceptibility and resistance to echinocandins among fluconazole-resistant bloodstream isolates of Candida glabrata. J. Clin. Microbiol. 2012; 50:1199–1203
13. Pfaller MA, Woosley LN, Messer SA, Jones RN, Castanheira M. Significance of molecular identification and antifungal susceptibility of clinically significant yeasts and moulds in a global antifungal surveillance programme. Mycopathologia 2012; 174:259–271
14. Pfaller MA, Diekema DJ, Andes D, Arendrup MC, Brown SD, Lockhart SR, et al. Clinical breakpoints for the echinocandins and Candida revisited: integration of molecular, clinical, and microbiological data to arrive at species-specific interpretive criteria. Drug Resist Updat 2011, doi:10.1016/j.drup.2011.01.004
15. Багирова, Н.С. *In vitro* активность флуконазола и вориконазола против дрожжевых грибов, выделенных у онкологических больных / Н.С. Багирова, Н.В. Дмитриева, В.А. Чачатурова // Сопроводительная терапия в онкологии. — 2007. — № 1-2. — С. 73–81.
16. Arendrup M. C., G. Garcia-Effron, C. Lass-Floerl, A. Gomez Lopez, J. Luis Rodriguez-Tudela, M. Cuenca-Estrella, and D.S. Perlin. Echinocandin Susceptibility Testing of Candida Species: Comparison of EUCAST EDef 7.1, CLSI M27-A3, Etest, Disk Diffusion, and Agar Dilution Methods with RPMI and IsoSensitest Media. Antimicrob. Agents and Chemother., Jan. 2010; 54 (1): 426–439
17. Cuesta Isabel, Concha Bielza, Manuel Cuenca-Estrella, Pedro Larranaga, and Juan L. Rodriguez-Tudela. Evaluation by Data Mining Techniques of Fluconazole Breakpoints Established by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and Comparison with Those of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Antimicrob. Agents and Chemother., Apr. 2010; 54(4): 1541–1546
18. Alexander B.D., Johnson M.D., Pfeiffer C.D., Jimenes-Ortigosa C., Canania J., Booker R., et al. Increasing echinocandin resistance in Candida glabrata: clinical failure correlates

with presence of FKS mutation and elevated minimum inhibitory concentrations. *Clin. Infect. Dis.* 2013; 56:1724-32

19. Cuenca-Estrella M., Verweij P.E., Arendrup M.C., Arikan-Akdagli S., Bille J., Donnelly J.P. et al. ESCMID guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: diagnosis procedures. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012; 18(7): 9-18

20. Shields R.K., Nguyen M.N., Press E.G., Updike C.L., Clancy C.J. Caspofungin MICs correlate with treatment outcomes among patients with *Candida glabrata* invasive candidiasis and prior echinocandin exposure. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013; 57: 3528-35

21. Ben-Ami R., Y. Hilerowicz, A. Novikov, M. Giladi. The impact of new epidemiological cutoff values on *Candida glabrata* resistance rates and concordance between testing methods. *Diagnostic Microbiol. And Infect Dis.* 2014; 79: 209-213

22. Cuenca-Estrella M., A. Gomez-Lopez, A. Alastruey-Izquierdo, L. Bernal-Martinez, I. Cuesta, M.J. Buitrago, and J.L. Rodriguez-Tudela. Comparison of the VITEK 2 Antifungal Susceptibility System with the CLSI and the EUCAST Broth Microdilution Reference methods and with the Sensititre Yeast-One and the Etest Techniques for the Detection in Vitro of Antifungal Resistance in Yeasts. *J. Clin. Microbiol.*, May 2010 ; 48 (5): 1782 – 1786

23. Pfaller M.A., L. Boyken, R. J. Hollis, J. Kroeger, S. A. Messer, S. Tendolkar, and D. J. Diekema. Wild-Type MIC Distributions and Epidemiological Cutoff Values for Posaconazole and Voriconazole and *Candida* spp. as Determined by 24-Hour CLSI Broth Microdilution. *J. Clin. Microbiol.* 2011; 49(2): 630 – 637

## References

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts—third edition. CLSI document M27-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA

2. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; 3rd informational supplement. CLSI M27-S3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA

3. ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). 2008. EUCAST definitive document EDef 7.1: method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative yeasts. *Clin. Microbiol. Infect.* 14:398 – 405

4. O. A. Cornely, M. Bassetti, T. Calandra, J. Garbino, B. J. Kullberg, O. Lortholary, W. Meersseman, M. Akova, Arendrup, S. Arikan-Akdagli, J. Bille, Castagnola, M. Cuenca-Estrella, J. P. Donnelly, A. H. Groll, R. Herbrecht, W. W. Hope, H. E. Jensen, C. Lass-Floerl, G. Petrikos, M. D. Richardson, E. Roilides, P. E. Verweij, C. Viscoli and A. J. Ullmann for the ESCMID Fungal Infection Study Group (EFISG). ESCMID\* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: non-neutropenic adult patients. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18 (7): 19 – 37.

5. Maiken Cavling Arendrup. *Candida* and *Candidaemia*. *Susceptibility and Epidemiology.* *Dan Med J* 2013; 60(11): B4698.

6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Fourth Informational Supplement, M27-S4. 2012

7. Pfaller M.A., Shawn A. Messer, Leah N. Woosley, Ronald N. Jones, Mariana Castanheira. Echinocandin and Triazole Antifungal Susceptibility Profiles for Clinical Opportunistic Yeast and Mold Isolates Collected from 2010 to 2011: Application of New CLSI Clinical Breakpoints and Epidemiological Cutoff Values for Characterization of Geographic and Tempo-

ral Trends of Antifungal Resistance. *J. Clin. Microbiol.* August 2013 . – Vol. 51 № 8: 2571 – 2581

8. Pfaller MA, Andes D, Arendrup MC, Diekema DJ, Espinel-Ingroff A, Alexander BD, Brown SD, Chaturvedi V, Fowler CL, Ghannoum MA, Johnson EM, Knapp CC, Motyl MR, Ostrosky-Zeichner L, Walsh TJ.. Clinical breakpoints for voriconazole and *Candida* spp. revisited: review of microbiologic, molecular, pharmacodynamic, and clinical data as they pertain to the development of species-specific interpretive criteria. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2011; 70: 330 – 343

9. Pfaller MA, Andes D, Diekema DJ, Espinel-Ingroff A, Sheehan D, CLSI Subcommittee for Antifungal Susceptibility Testing. Wild-type MIC distributions, epidemiological cutoff values and species-specific clinical breakpoints for fluconazole and *Candida*: time for harmonization of CLSI and EUCAST broth microdilution methods. *Drug Resist. Updat.* 2010; 13:180 – 195

10. Pfaller MA, Castanheira M, Messer SA, Moet GJ, Jones RN. Echinocandin and triazole antifungal susceptibility profiles for *Candida* spp., *Cryptococcus neoformans*, and *Aspergillus fumigatus*: application of new CLSI clinical breakpoints and epidemiologic cutoff values to characterize resistance in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2009). *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2011; 69:45 – 50

11. Pfaller MA, Diekema DJ. Progress in antifungal susceptibility testing of *Candida* spp. by use of Clinical and Laboratory Standards Institute broth microdilution methods, 2010 to 2012. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50:2846 – 2856

12. Pfaller MA, Castanheira M, Lockhart SR, Ahlquist AM, Messer SA, Jones RN. Frequency of decreased susceptibility and resistance to echinocandins among fluconazole-resistant bloodstream isolates of *Candida glabrata*. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50:1199 – 1203

13. Pfaller MA, Woosley LN, Messer SA, Jones RN, Castanheira M. Significance of molecular identification and antifungal susceptibility of clinically significant yeasts and moulds in a global antifungal surveillance programme. *Mycopathologia* 2012; 174:259 – 271

14. Pfaller MA, Diekema DJ, Andes D, Arendrup MC, Brown SD, Lockhart SR, et al. Clinical breakpoints for the echinocandins and *Candida* revisited: integration of molecular, clinical, and microbiological data to arrive at species-specific interpretive criteria. *Drug Resist Updat* 2011, doi:10.1016/j.drup.2011.01.004

15. Bagirova N.S., Dmitrieva N.V, Hachaturova V.A. In vitro aktivnost' flukonazola i vorikonazola protiv drozhzhevnyh gribov, vydelennyh u onkologicheskikh bol'nyh. *Soprovoditel'naja terapija v onkologii*, 2007; № 1-2. С. 73-81

16. Arendrup M. C., G. Garcia-Effron, C. Lass-Floerl, A. Gomez Lopez, J. Luis Rodriguez-Tudela, M. Cuenca-Estrella, and D.S. Perlin. Echinocandin Susceptibility Testing of *Candida* Species: Comparison of EUCAST EDef 7.1, CLSI M27-A3, Etest, Disk Diffusion, and Agar Dilution Methods with RPMI and IsoSensitest Media. *Antimicrob. Agents and Chemother.*, Jan. 2010; 54 (1): 426 – 439

17. Cuesta Isabel, Concha Bielza, Manuel Cuenca-Estrella, Pedro Larranaga, and Juan L. Rodriguez-Tudela. Evaluation by Data Mining Techniques of Fluconazole Breakpoints Established by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and Comparison with Those of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). *Antimicrob. Agents and Chemother.*, Apr. 2010; 54(4): 1541 – 1546

18. Alexander B.D., Johnson M.D., Pfeiffer C.D., Jimenes-Ortigosa C., Canania J., Booker R., et al. Increasing echinocandin resistance in *Candida glabrata*: clinical failure correlates with presence of FKS mutation and elevated minimum inhibitory concentrations. *Clin. Infect. Dis.* 2013; 56:1724-32

19. Cuenca-Estrella M., Verweij P.E., Arendrup M.C., Arikan-Akdagli S., Bille J., Donnelly J.P. et al. ESCMID guideline for the diagnosis and management of Candida diseases 2012: diagnosis procedures. Clin. Microbiol. Infect. 2012; 18(7): 9-18

20. Shields R.K., Nguyen M.N., Press E.G., Updike C.L., Clancy C.J. Caspofungin MICs correlate with treatment outcomes among patients with Candida glabrata invasive candidiasis and prior echinocandin exposure. Antimicrob. Agents Chemother. 2013; 57: 3528-35

21. Ben-Ami R., Y. Hilerowicz, A. Novikov, M. Giladi. The impact of new epidemiological cutoff values on Candida glabrata resistance rates and concordance between testing methods. Diagnostic Microbiol. And Infect Dis. 2014; 79: 209-213

22. Cuenca-Estrella M., A. Gomez-Lopez, A. Alastruey-Izquierdo, L. Bernal-Martinez, I. Cuesta, M.J. Buitrago, and J.L. Rodriguez-Tudela. Comparison of the VITEK 2 Antifungal Susceptibility System with the CLSI and the EUCAST Broth Microdilution Reference methods and with the Sensititre Yeast-One and the Etest Techniques for the Detection in Vitro of Antifungal Resistance in Yeasts. J. Clin. Microbiol., May 2010 ; 48 (5): 1782 – 1786

23. Pfaller M.A, L. Boyken, R. J. Hollis, J. Kroeger, S. A. Messer, S. Tendolkar, and D. J. Diekema. Wild-Type MIC Distributions and Epidemiological Cutoff Values for Posaconazole and Voriconazole and Candida spp. as Determined by 24-Hour CLSI Broth Microdilution. J. Clin. Microbiol. 2011; 49(2): 630 – 637

---

*Авторский коллектив:*

*Багирова Наталья Сергеевна* – ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологической диагностики и лечения инфекций в онкологии Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина, д.м.н.; тел.: +7-916-247-17-69, e-mail: nbagirova@mail.ru

*Дмитриева Наталья Владимировна* – заведующая лабораторией микробиологической диагностики и лечения инфекций в онкологии Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина, д.м.н., профессор; тел. +7-985-070-75-44, e-mail: prof.ndmitrieva@mail.ru