

## Определение чувствительности клинических штаммов *Candida glabrata* к эхинокандинам с помощью системы Sensititre™ YeastOne™

Веселов А.В.<sup>1</sup>, Васильева Н.В.<sup>2,3</sup>, Богомолова Т.С.<sup>2,3</sup>, Рауш Е.Р.<sup>3</sup>, Куцевалова О.Ю.<sup>4</sup>, Нижегородцева И.А.<sup>5</sup>, Петрова Л.В.<sup>5</sup>, Шмидт Н.В.<sup>6</sup>, Москвитина Е.Н.<sup>7</sup>, Сухорукова М.В.<sup>1</sup>, Иванчик Н.В.<sup>1</sup>, Козлов Р.С.<sup>1</sup>

- <sup>1</sup> НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, Смоленск, Россия  
<sup>2</sup> НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия  
<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия  
<sup>4</sup> ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия  
<sup>5</sup> ГБУЗ «Краевая клиническая больница №2», Краснодар, Россия  
<sup>6</sup> НУЗ «Отделенческая клиническая больница на ст. Волгоград-1 ОАО «РЖД», Волгоград, Россия  
<sup>7</sup> ФГБУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства», Северск, Россия

Контактный адрес:  
Александр Валерьевич Веселов  
Эл почта. Alex.veselov@antibiotic.ru

Ключевые слова: *Candida glabrata*, кандидоз, эхинокандины, резистентность.

**Цель.** Определение чувствительности штаммов *C. glabrata* к анидулафингину, каспифунгину и микафунгину с помощью системы Sensititre™ YeastOne™ (SYO).

**Материалы и методы.** Штаммы *C. glabrata* собирали проспективно из клинического материала и из коллекций штаммов центров-участников. Определение чувствительности проводили с помощью SYO (панель YO10) в соответствии с рекомендациями производителя. Интерпретацию результатов проводили в соответствии с протоколом CLSI M27-A3. Также определяли чувствительность *C. glabrata* к флуконазолу для оценки возможных корреляций минимальных подавляющих концентраций (МПК) ЭК и флуконазола у резистентных штаммов.

**Результаты.** Всего было протестировано 59 штаммов *C. glabrata*, которые были выделены преимущественно из крови, взятой из периферической вены (44%). Среди клинически значимых состояний/факторов риска и сопутствующих заболеваний, наличие центрального венозного катетера, солидные опухоли и абдоминальное хирургическое вмешательство имели место у 20 (33,9%), 19 (32,2%) и 14 (23,7%) пациентов соответственно. Большинство значений МПК ЭК были в пределах от 0,015 до 0,03 мг/л. Значения МПК каспифунгина были несколько выше, чем у анидулафингина и микафунгина. Ни один из штаммов не был устойчив к какому-либо ЭК. Терапию ЭК на момент взятия биообразца получали только 2 пациента (без информации об эффективности терапии). Штаммы от этих больных также были чувствительны к ЭК. Все изоляты *C. glabrata* имели дозозависимую чувствительность к флуконазолу со значениями МПК от 2 до 32 мг/л.

**Выводы.** Все три ЭК обладали высокой сравнимой активностью *in vitro* в отношении *C. glabrata*, включая штаммы с дозозависимой чувствительностью к флуконазолу. Необходимы дальнейшие проспективные исследования для оценки долгосрочных тенденций в показателях чувствительности возбудителей кандидоза, особенно *C. glabrata*.

## Susceptibility testing of *Candida glabrata* clinical strains to echinocandins using Sensititre™ YeastOne™ system

Veselov A.V.<sup>1</sup>, Vasilyeva N.V.<sup>2,3</sup>, Bogomolova T.S.<sup>2,3</sup>, Rausch E.R.<sup>3</sup>, Kutsevalova O.Yu.<sup>4</sup>, Nizhegorodtseva I.A.<sup>5</sup>, Petrova L.V.<sup>5</sup>, Shmidt N.V.<sup>6</sup>, Moskvitina E.N.<sup>7</sup>, Sukhorukova M.V.<sup>1</sup>, Ivanchik N.V.<sup>1</sup>, Kozlov R.S.<sup>1</sup>

- <sup>1</sup> Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia  
<sup>2</sup> Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia  
<sup>3</sup> North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia  
<sup>4</sup> Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia  
<sup>5</sup> Regional Clinical Hospital №2, Krasnodar, Russia  
<sup>6</sup> Branch Clinical Hospital at Volgograd-1 station JSC Russian Railways, Volgograd, Russia  
<sup>7</sup> Siberian Federal Research Clinical Centre of the Federal Medical Biological Agency, Seversk, Russia

Contacts:  
Alexander V. Veselov  
E-mail: Alex.veselov@antibiotic.ru

Key words: *Candida glabrata*, candidiasis, echinocandins, resistance.

**Objective.** To determine susceptibility of *C. glabrata* isolates to anidulafungin, caspofungin and micafungin using the Sensititre™ YeastOne™ system.

**Materials and methods.** *C. glabrata* isolates were taken prospectively from clinical specimens or from strains collections in the participating sites. Susceptibility determination was performed using Sensititre™ YeastOne™ (YO10 panel) according to the manufacturer's guidance, and results were interpreted with M27-A3 CLSI guidelines. Susceptibility of *C. glabrata* to fluconazole was also determined in order to assess possible correlations of echinocandins and fluconazole minimal inhibitory concentrations (MICs) in resistant strains.

**Results.** A total of 59 *C. glabrata* strains were tested. The strains were isolated mostly from peripheral blood (44%). Among clinically significant medical conditions/risk factors and co-morbidities, central venous catheter, solid tumors, and abdominal surgery were identified in 20 (33.9%), 19 (32.2%), and 14 (23.7%) patients, respectively. Most MIC values of echinocandins were 0.015 and 0.03 mg/L. Caspofungin has slightly higher MIC values than those of anidulafungin and micafungin. No isolates were resistant to any of the echinocandins. The only 2 patients were receiving echinocandin therapy at the time of taking biosamples (with no reported information about treatment efficacy); those strains were also susceptible to all echinocandins. All *C. glabrata* strains were susceptible dose-dependent to fluconazole with MIC values between 2 and 32 mg/L.

**Conclusions.** All of the echinocandins have a high and comparable *in vitro* activity against *C. glabrata*, including strains which are susceptible dose-dependent to fluconazole. More prospective studies are needed to investigate the long-term trends in susceptibility profiles of pathogens causing candidiasis, especially *C. glabrata*.

## Введение

Инвазивные инфекции, вызванные грибами рода *Candida*, являются одной из важных причин летальности у тяжелых больных, находящихся в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), у иммунокомпрометированных пациентов, а также в некоторых других популяциях, имеющих факторы риска развития инвазивного кандидоза (ИК) [1-3]. В течение долгого времени терапия ИК была ограничена только обычной формой амфотерицина В, обладающего, несмотря на широкий спектр активности, плохой переносимостью [4]. Появление азолов первого поколения (флуконазол, итраконазол), а также флуцитозина позволило обеспечить в определенной степени хороший профиль безопасности терапии. Появившаяся проблема вторичной резистентности грибов рода *Candida* к азоловым антимикотикам, а также относительно узкий спектр их активности потребовали поиска новых мишеней действия препаратов [5]. *C. glabrata* занимает второе, а в некоторых стационарах и первое, место среди возбудителей ИК (12-35% всех случаев ИК в США и около 15% в большинстве стран Европы) [6-8]. По данным многоцентрового проспективного исследования, проведенного в период 2011-2014 гг., *C. glabrata* занимает третье место среди возбудителей ИК в РФ (11,5%) [9]. Проблема приобретенной резистентности среди штаммов *C. glabrata* была одной из основных причин поиска новых препаратов, как с более высокой активностью в отношении данного вида, так и с более широким спектром действия в целом, при минимальных рисках возникновения проблем с переносимостью.

Появление класса эхинокандинов (ЭК) – анидулафунгина, каспофунгина и микафунгина, которые являются высокоактивными в отношении широкого спектра грибковых патогенов, включая дрожжи и мицелиальные грибы, в определенной степени позволяет решить эту проблему [10]. В связи с риском устойчивости *C. glabrata* к флуконазолу, текущие версии практических рекомендаций по лечению ИК указывают на необходимость применения в качестве терапии первой линии при выделении *C. glabrata* препаратов из класса ЭК [11-14]. Несмотря на сохраняющуюся высокую активность в отношении большинства видов *Candida*, появляются сообщения о сниженной чувствительности или устойчивости отдельных штаммов к препаратам этого класса, прежде всего, штам-

мов *C. glabrata*. В подавляющем большинстве случаев это связано с приобретенными мутационными изменениями в hot spot 1 и hot spot 2 участках генов *FKS1* и *FKS2*, кодирующих  $\beta$ -1,3-D-глюкансинтетазу – мишень действия ЭК [15, 16]. Учитывая отсутствие стандартизированных методик определения генетических изменений, приводящих к снижению чувствительности к ЭК, фенотипические методы оценки активности препаратов имеют важное практическое значение. Институт клинических и лабораторных стандартов США (CLSI) и Европейский комитет по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST) разработали критерии интерпретации при определении чувствительности *Candida* к азолам и ЭК, которые позволяют с высокой вероятностью прогнозировать неэффективность терапии при выделении резистентного штамма или достижение эффекта терапии при выделении чувствительного изолята [17, 18].

Среди доступных коммерческих тест-систем только E-тесты и Sensititre™ YeastOne™ (SYO) пригодны для определения чувствительности к ЭК. SYO – система на основе микроразведений с использованием колориметрии для определения чувствительности дрожжевых патогенов к флуконазолу, итраконазолу, вориконазолу, позаконазолу, анидулафунгину, микафунгину и каспофунгину, а также к амфотерицину В и флуцитозину. Данная методика хорошо зарекомендовала себя при рутинном практическом применении с высокими показателями корреляции с методами разведений и воспроизводимости результатов. На текущий момент проведен ряд исследований, как за рубежом [19-21], так и в России [23, 24], в том числе по оценке пригодности SYO для определения чувствительности грибов рода *Candida* к ЭК в сравнении с методами разведений по протоколам CLSI и EUCAST. Так, в исследовании Pfaller M. и соавт. (2008) [19] были показаны высокие значения воспроизводимости (99%) и корреляции (в пределах двух разведений) между SYO и методом микроразведений (100%), а Eschenauer G. и соавт. [25] обнаружили, что значения МПК для ЭК, включая каспофунгин, полученные с помощью SYO, находились в пределах одного двукратного разведения в отношении каждого из видов *Candida*.

Основной целью данного многоцентрового исследования была оценка профиля чувствительности клинических штаммов *C. glabrata*, выделенных из стерильных в

норме локусов, к анидулафунгину, каспофунгину и микафунгину с помощью SYO, и пригодности этой методики для определения *in vitro* активности ЭК. Также в рамках данного исследования планировалось определение генетических маркеров резистентности у штаммов *C. glabrata*, имеющих повышенные значения МПК одного или нескольких ЭК, с оценкой корреляции полученных значений МПК с теми или иными мутационными изменениями.

## Материалы и методы

В соответствии с дизайном исследования планировали включать клинические штаммы *C. glabrata*, выделенные, прежде всего, из стерильных в норме биоматериалов. Особое внимание уделяли штаммам *C. glabrata*, которые были выделены на фоне терапии ЭК, при условии использования адекватного режима дозирования и учета фармакокинетических особенностей препаратов. Однако, в связи с очень низкими темпами набора материала, критерии были изменены, что позволило включать в исследование любые штаммы *C. glabrata* от пациентов в стационарах или ОРИТ, если соблюдались 2 условия: 1) в данном лечебном учреждении для терапии инфекций, вызванных *Candida* spp., регулярно (как минимум в течение последнего года) применяются ЭК; и 2) на момент взятия материала для микробиологического исследования пациент находился в стационаре/ОРИТ не менее 48 часов. Помимо проспективных штаммов, в исследование включали изоляты из коллекций микроорганизмов в центрах, если они отвечали соответствующим критериям.

Участвующие в исследовании центры должны были провести видовую идентификацию культур, выделенных из биоматериалов, любой доступной в конкретной лаборатории методикой, и при подтверждении видовой принадлежности штамма (*C. glabrata*) направить его в центральную лабораторию (НИИ антимикробной химиотерапии, Смоленск). Транспортировку микроорганизмов осуществляли в максимально короткие сроки с использованием стандартных транспортных сред. В центральной лаборатории повторно идентифицировали штаммы до вида с помощью времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF; Bruker Biotyper system; Bruker Daltonics, Германия). Определение чувствительности *C. glabrata* к анидулафунгину, каспофунгину и микафунгину проводили с помощью методики SYO, панель YO10 (TREK Diagnostic Systems, США). МПК считалась минимальная концентрация ЭК, при которой наблюдали значимое подавление роста на основании изменении цвета индикатора в сравнении с контрольной лункой, не содержащей препарат, при визуальной оценке с помощью Sensititre™ Manual Viewbox через 24 часа инкубации при 35°C. В исследовании также оценивали чувствительность к флуконазолу для определения возможной корреляции активности ЭК и МПК флуконазола у штаммов *C. glabrata*, резистентных к флуконазолу (МПК  $\geq 64$  мг/л). Критерии CLSI для интерпретации результатов определения чувствительности к ЭК и флуконазолу приведены в Таблице 1. Определение мутационных изменений в генах *FKS1* (hot spot

1 и 2) и *FKS2* (hot spot 1 и 2) планировали проводить на основании разработанных протоколов полимеразной цепной реакции (ПЦР). У всех штаммов, имеющих любое повышение значений МПК к любому из тестируемых ЭК, должно было быть проведено секвенирование всех 4-х hot spot участков. Для контроля качества определения чувствительности использовали контрольный штамм *C. parapsilosis* ATCC 22091. Статистический анализ данных выполняли с помощью программного пакета SAS (версия 8.2) и MS Excel 2013 (Microsoft Corporation). Для каждого штамма заполняли специально разработанную индивидуальную регистрационную карту (ИРК) с клинической информацией, касающейся пациента. Наличие правильно заполненной ИРК было условием включения штамма в исследование.

## Результаты

Всего было протестировано 59 штаммов *C. glabrata*, соответствующих критериям включения в исследование, полученных из 6 центров на территории РФ. Распределение штаммов по центрам-участникам представлено в Таблице 2.

Структура клинического материала, из которого были выделены штаммы *C. glabrata*, представлена в Таблице 3. Основным типом клинического материала была кровь из периферической вены (44%).

Среди клинически значимых состояний/факторов риска и сопутствующих заболеваний наличие центрального венозного катетера, солидные опухоли и абдоминальное хирургическое вмешательство имели место у 20 (33,9%), 19 (32,2%) и 14 (23,7%) пациентов соответственно (Таблица 4).

**Таблица 1.** Критерии CLSI для интерпретации результатов определения чувствительности *C. glabrata* к ЭК и флуконазолу (мг/л)

Препарат	Ч	ЧДЗ	УР	Р
Каспофунгин	$\leq 0,12$	–	0,25	$\geq 0,5$
Микафунгин	$\leq 0,06$	–	0,12	$\geq 0,25$
Анидулафунгин	$\leq 0,12$	–	0,25	$\geq 0,5$
Флуконазол	–	32	–	$\geq 64$

Р – резистентный; УР – умеренно резистентный; Ч – чувствительный; ЧДЗ – чувствительный дозозависимый.

**Таблица 2.** Распределение протестированных штаммов среди центров

Центр	n	%
Санкт-Петербург	19	32,3
Ростов-на-Дону	17	28,8
Краснодар	16	27,1
Смоленск	4	6,8
Волгоград	2	3,4
Северск	1	1,7
<b>Всего</b>	<b>59</b>	<b>100</b>

Таблица 3. Типы клинического материала

Тип клинического материала	n	%
Кровь (периферическая вена)	26	44
Моча	13	22
Мокрота	6	10,1
Интраоперационный материал из брюшной полости	4	6,8
Раневое отделяемое	3	5,1
Бронхоальвеолярный лаваж	2	3,4
Ткань лёгкого, взятая при аутопсии	1	1,7
Желчь	1	1,7
Кровь (центральный катетер)	1	1,7
Кал	1	1,7
Нет данных	1	1,7

Таблица 4. Сопутствующие заболевания и клинически значимые факторы/состояния

Сопутствующие заболевание и клинически значимые факторы/состояния	n	%
Центральный венозный катетер	20	33,9
Солидная опухоль	19	32,2
Абдоминальное хирургическое вмешательство	14	23,7
Возраст >70 лет	11	18,6
Иммуносупрессивная терапия	10	17
Другое крупное хирургическое вмешательство	8	13,5
Сахарный диабет	6	10,2

При определении чувствительности к флуконазолу все протестированные штаммы *C. glabrata* были отнесены к категории «чувствительные дозозависимые» со значениями МПК от 2 до 32 мг/л (Рисунок 1); ни один из изолятов не был резистентным к флуконазолу (МПК  $\geq 64$  мг/л).

В соответствии с критериями CLSI ни один из протестированных штаммов *C. glabrata* не был резистентным к какому-либо из ЭК. Большинство значений МПК находилось в пределах от 0,015 до 0,03 мг/л. Значения МПК каспофунгина были несколько выше таковых анидулафунгина и микафунгина. Распределение значений МПК анидулафунгина, каспофунгина и микафунгина представлено на Рисунках 2, 3 и 4 соответственно. Пунктирные линии указывают на пограничное значение для чувствительных штаммов согласно критериям CLSI.

Большинство пациентов не получали терапию ЭК на момент взятия материала для микробиологического исследования (n=37); для 20 участников исследования информация о терапии ЭК предоставлено не было. У 2 пациентов, которые получали терапию ЭК на момент взятия образцов для микробиологического исследования, были выделены штаммы *C. glabrata*, чувствительные ко всем трем ЭК, однако информация об эффективности и исходах лечения этих пациентов отсутствовала.

При контроле качества исследования полученные значения МПК ЭК в отношении референтного штамма находились в пределах допустимых значений.

В связи с отсутствием устойчивых к ЭК штаммов

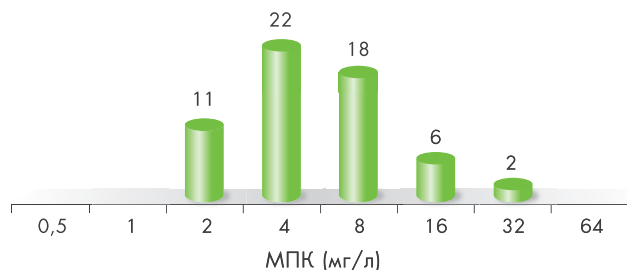


Рисунок 1. Распределение значений МПК флуконазола для протестированных штаммов (n=59)

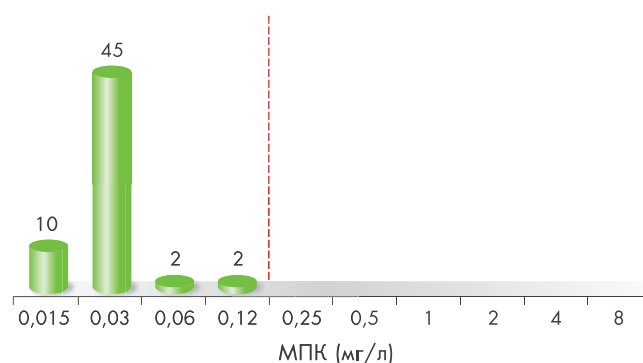


Рисунок 2. Распределение значений МПК анидулафунгина для протестированных штаммов (n=59)

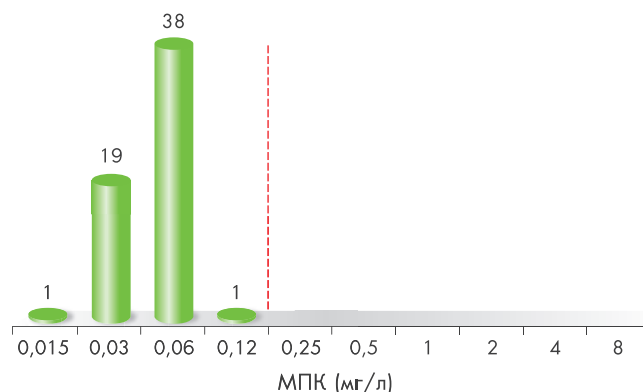


Рисунок 3. Распределение значений МПК каспофунгина для протестированных штаммов (n=59)

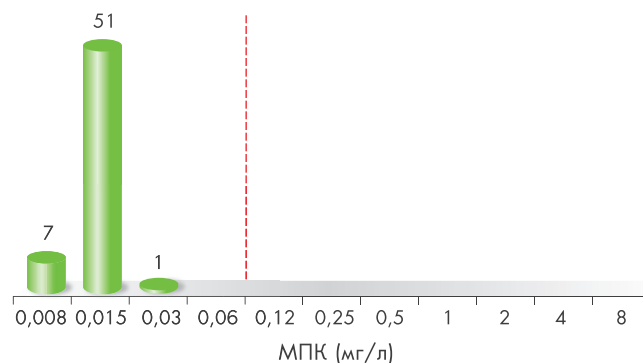


Рисунок 4. Распределение значений МПК микафунгина для протестированных штаммов (n=59)

Таблица 5. Распределение штаммов *C. glabrata* (%) в зависимости от значений МПК

	Распределение штаммов <i>C. glabrata</i> (%) по МПК (мг/л)									
	0,008	0,015	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4
Анидулафунгин	-	17	76,2	3,4	3,4	-	-	-	-	-
Каспофунгин	-	1,7	32,2	64,4	1,7	-	-	-	-	-
Микафунгин	11,9	88,1	-	-	-	-	-	-	-	-

*C. glabrata*, запланированное определение молекулярно-генетических механизмов резистентности не проводилось.

## Обсуждение

Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам, в том числе грибов рода *Candida*, является основой для выбора лекарственных препаратов. Наличие доступных, точных и удобных с практической точки зрения методов определения активности антимикотиков в клинико-диагностических лабораториях, таких как SYO, является важной составляющей для выбора этиотропной терапии.

На текущий момент имеются сведения о росте устойчивости *C. glabrata* к ЭК в ряде стран [26-31], однако в России мы не располагаем данными о резистентных к ЭК штаммах *C. glabrata* и связанных с этим мутационных изменениях. Результаты исследований указывают на высокую активность ЭК в отношении подавляющего большинства изолятов *Candida spp.* при использовании референтных методов определения чувствительности [32, 33].

В настоящем исследовании установлено, что все три ЭК обладали высокой активностью *in vitro* в отношении всех исследованных штаммов *C. glabrata*, которые были расценены как чувствительные по критериям CLSI. Это, безусловно, имеет большое клиническое значение, учитывая текущую позицию ЭК в качестве препаратов выбора для терапии ИК, особенно в случае выделения *C. glabrata*. Отсутствие в исследовании изолятов даже со сниженной чувствительностью к ЭК, по всей видимости, можно связать с отсутствием в анамнезе у пациентов терапии ЭК, а также низкой частотой применения препаратов данной группы в большинстве стационаров в целом. Неоднократно было показано, что чаще всего штаммы с мутационными изменениями генов *FKS* выделяются от пациентов, имевших в ближайшем анамнезе (не более 1 месяца назад) или получавших на момент выделения изолята терапию ЭК [34-36]. Несколько бо-

лее высокие значения МПК каспофунгина (0,06 мг/л для 64,4% штаммов) в сравнении с анидулафунгином (0,03 мг/л для 76,2% штаммов) и, особенно, микафунгином (0,015 мг/л для 88,1% штаммов) в целом отражают тенденцию, отмеченную в других упоминавшихся выше исследованиях. Это не следует расценивать как доказательство меньшей активности каспофунгина и, тем более, экстраполировать это на практическое применение, прогнозируя риски той или иной степени неэффективности терапии. Таким образом, в результате проведенного исследования чувствительности клинических штаммов *C. glabrata*, выделенных в РФ, с помощью системы SYO, не выявлено резистентности к ЭК.

Принимая во внимание, что в данной работе не было цели сравнения различных методов определения чувствительности *Candida spp.* к ЭК, мы можем только предположить, что SYO может применяться в качестве рутинного подхода для определения чувствительности к ЭК *Candida spp.* в целом и *C. glabrata* в частности. В связи с отсутствием необычных тенденций со стороны значений МПК в нашем исследовании, и учитывая результаты выполненных ранее работ, по всей видимости, методика SYO обладает достаточно высокой точностью и воспроизводимостью. Возможно, что разрабатываемые генетические подходы [37-39], которые пока не являются стандартизированными, но которые могут с высокой точностью определять мутационные изменения генов *FKS*, в будущем могут упростить прогнозирование эффективности проводимой терапии, не прибегая к стандартным фенотипическим методам определения чувствительности.

Учитывая, что терапия ЭК является важным фактором риска развития устойчивости, с эпидемиологической точки зрения ключевым подходом является разработка регламентирующих правил применения ЭК в рамках политики применения противогрибковых препаратов, что является неотъемлемым компонентом ведения пациентов за рубежом [40, 41], но требует разработки и внедрения в России с целью предотвращения развития резистентности возбудителей ИК.

## Литература

- McCarty T., Pappas P. Invasive Candidiasis. *Infect Dis Clin North Am.* 2016;30(1):103-124.
- Ostrosky-Zeichner L., Al-Obaidi M. Invasive Fungal Infections in the Intensive Care Unit. *Infect Dis Clin North Am.* 2017;31(3):475-487.
- Fortún J., Gioia F. Invasive candidiasis in the neutropenic patient. *Rev Esp Quimioter.* 2017;30(Suppl 1):22-25.
- Gallagher J., MacDougall C., Ashley E., Perfect J. Recent advances in antifungal pharmacotherapy for invasive fungal infections. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2004;2(2):253-268.
- Sanguinetti M., Posteraro B., Lass-Flörl C. Antifungal drug resistance among *Candida* species: mechanisms and clinical impact. *Mycoses.* 2015;58(Suppl. 2):2-13.
- Diekema D., Arbefeville S., Boyken L., et al. The changing epidemiology

- of healthcare-associated candidemia over three decades. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012;73:45-48.
7. Cleveland A., Harrison L., Farley M., et al. Declining incidence of candidemia and the shifting epidemiology of *Candida* resistance in two US metropolitan areas, 2008-2013: results from population-based surveillance. *PLoS One.* 2015;10:e0120452.
  8. Pfaller M., Andes D., Diekema D., et al. Epidemiology and outcomes of invasive candidiasis due to non-*albicans* species of *Candida* in 2,496 patients: data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH) registry 2004-2008. *PLoS One.* 2014;9(7):e101510.
  9. Vasilyeva N., Raush E., Rudneva M., et al. Etiology of invasive candidosis agents in Russia: a multicenter epidemiological survey. *Front Med.* 2018;12(1):84-91.
  10. Patil A., Majumdar S. Echinocandins in antifungal pharmacotherapy. *J Pharm Pharmacol.* 2017;69(12):1635-1660.
  11. Pappas P., Kauffman C., Andes D., et al. Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2016;62(4):e1-e50.
  12. Cornely O., Bassetti M., Calandra T., et al. ESCMID guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: non-neutropenic adult patients. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(Suppl. 7):19-37.
  13. Ullmann A., Akova M., Herbrecht R., et al. ESCMID guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: adults with haematological malignancies and after haematopoietic stem cell transplantation (HCT). *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(Suppl. 7):53-67.
  14. Diagnosis and treatment of mycoses in intensive care units: Russian recommendations. Klimko N.N., Ed. 2<sup>nd</sup> Edition. M.: Farmtek, 2015. 96 p. Russian. (Диагностика и лечение микозов в отделениях реанимации и интенсивной терапии: Российские рекомендации. Отв. ред. Н.Н. Клишко. 2 изд. доп. и перераб. М.: Фармтек, 2015. 96 с.).
  15. Park S., Kelly R., Kahn J., et al. Specific substitutions in the echinocandin target Fks1p account for reduced susceptibility of rare laboratory and clinical *Candida* sp. isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:3264-3273.
  16. Perlin D. Resistance to echinocandin-class antifungal drugs. *Drug Resist Updat.* 2007;10:121-130.
  17. Available from: [www.clsi.org](http://www.clsi.org).
  18. Available from: [www.eucast.org](http://www.eucast.org).
  19. Pfaller M., Chaturvedi V., Diekema D., et al. Clinical evaluation of the Sensititre YeastOne colorimetric antifungal panel for antifungal susceptibility testing of the echinocandins anidulafungin, caspofungin, and micafungin. *J Clin Microbiol.* 2008;46(7):2155-2159.
  20. Espinel-Ingroff A., Alvarez-Fernandez M., Cantón E., et al. Multicenter Study of Epidemiological Cutoff Values and Detection of Resistance in *Candida* spp. to Anidulafungin, Caspofungin, and Micafungin Using the Sensititre YeastOne Colorimetric Method. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(11):6725-6732.
  21. Aigner M., Erbenz T., Gschwentner M., Lass-Flörl C. Etest and Sensititre YeastOne Susceptibility Testing of Echinocandins against *Candida* Species from a Single Center in Austria. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61:e00512-17.
  22. Posteraro B., Spanu T., Fiori B., et al. Antifungal susceptibility profiles of bloodstream yeast isolates by Sensititre YeastOne over nine years at a large Italian teaching hospital. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(7):3944-3955.
  23. Kulko A.B. *In vitro* anidulafungin activity against yeasts – system and disseminated mycosis pathogens. *Onkologematologija.* 2015;10:53-57. Russian. (Кулько А.Б. Активность *in vitro* анидулафунгина в отношении дрожжевых грибов – возбудителей системных и диссеминированных микозов. Онкогематология. 2015;10:53-57.).
  24. Fedorova N.I., Kulko A.B. Study of susceptibility of *Candida parapsilosis* clinical strains isolated in different hospitals to antifungal drugs. The Journal "Bulletin of Pirogov National Medical and Surgical Center". 2015;10(4):69-71. Russian. (Федорова Н.И., Кулько А.Б. Исследование чувствительности к противогрибковым препаратам клинических штаммов *Candida parapsilosis*, выделенных в стационарах разного профиля. Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. 2015;10(4):69-71.).
  25. Eschenauer G., Nguyen M., Shoham S., et al. Real-world experience with echinocandin MICs against *Candida* species in a multicenter study of hospitals that routinely perform susceptibility testing of bloodstream isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58:1897-1906.
  26. Pfaller M., Boyken L., Hollis R., et al. *In vitro* susceptibility of invasive isolates of *Candida* spp. to anidulafungin, caspofungin, and micafungin: six years of global surveillance. *J Clin Microbiol.* 2008;46(1):150-156.
  27. Pfaller M., Castanheira M., Messer S., Moet G., Jones R. 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(1):45-50.
  28. Pfaller M., Rhomberg P., Messer S., Jones R., Castanheira M. Isavuconazole, micafungin, and 8 comparator antifungal agents' susceptibility profiles for common and uncommon opportunistic fungi collected in 2013: temporal analysis of antifungal drug resistance using CLSI species-specific clinical breakpoints and proposed epidemiological cutoff values. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2015;82(4):303-313.
  29. Xiao M., Fan X., Chen S., et al. Antifungal susceptibilities of *Candida glabrata* species complex, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* species complex and *Candida tropicalis* causing invasive candidiasis in China: 3 year national surveillance. *J Antimicrob Chemother.* 2015;70(3):802-810.
  30. Pham C., Iqbal N., Bolden C., et al. Role of FKS Mutations in *Candida glabrata*: MIC values, echinocandin resistance, and multidrug resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(8):4690-4696.
  31. Castanheira M., Woosley L., Messer S., et al. Frequency of fks mutations among *Candida glabrata* isolates from a 10-year global collection of bloodstream infection isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58:577-580.
  32. Klimko N., Vasilyeva N., Chernenkaya T., et al. Invasive candidiasis in intensive care units: results of prospective multicenter study in Russia. Proceedings of the 25<sup>th</sup> ECCMID, Copenhagen, Denmark, April 25-28, 2015. Abstr. EV0945.
  33. Klyasova G., Malchikova A., Maschan M., et al. *In vitro* activity of echinocandins and azoles against *Candida* spp. Isolated from hematological (Hem) and non-hematological (non-Hem) patients in 11 centers of Russia. *Mycoses.* 2017;60(Suppl. 2):65.
  34. Shields R., Nguyen M., Press E., et al. The presence of an FKS mutation rather than MIC is an independent risk factor for failure of echinocandin therapy among patients with invasive candidiasis due to *Candida glabrata*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:4862-4869.
  35. Beyda N., John J., Kilic A., et al. FKS mutant *Candida glabrata*: risk factors and outcomes in patients with candidemia. *Clin Infect Dis.* 2014;59(6):819-825.
  36. Shields R., Nguyen M., Press E., et al. Rate of FKS mutations among consecutive *Candida* isolates causing bloodstream infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(12):7465-7470.
  37. Dudiuk C., Gamarra S., Leonardelli F., et al. Set of classical PCRs for detection of mutations in *Candida glabrata* FKS genes linked with echinocandin resistance. *J Clin Microbiol.* 2014;52:2609-2614.
  38. Pham C., Bolden C., Kuykendall R., Lockhart S. Development of a Luminex-based multiplex assay for detection of mutations conferring resistance to Echinocandins in *Candida glabrata*. *J Clin Microbiol.* 2014;52(3):790-795.
  39. Zhao Y., Nagasaki Y., Kordalewska M., et al. Rapid Detection of FKS-Associated Echinocandin Resistance in *Candida glabrata*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(11):6573-6577.
  40. Hamdy R., Zaoutis T., Seo S. Antifungal stewardship considerations for adults and pediatrics. *Virulence.* 2017;8(6):658-672.
  41. Micallef C., Ashiru-Oredope D., Hansraj S., et al. An investigation of antifungal stewardship programmes in England. *J Med Microbiol.* 2017;66(11):1581-1589.