

Ассоциированная с мутациями генов FKS резистентность *Candida glabrata* к эхинокандинам: насколько актуальна проблема?

А.В. Веселов

НИИ антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО СГМУ Минздрава России, Смоленск, Россия

Резистентность возбудителей системных *Candida*-инфекций является краеугольным камнем подбора эффективной терапии. Но если раньше проблема ограничивалась только устойчивостью к азоловым антимикотикам, то к настоящему времени накоплен определенный объем данных о случаях неэффективности терапии эхинокандинами — препаратами выбора при большинстве клинических форм инвазивного кандидоза. Наибольшее число сообщений касается такого проблемного вида как *C. glabrata*, частота выделения которого имеет неуклонную тенденцию к росту, и который обладает рядом уникальных структурно-функциональных особенностей. Основополагающим механизмом формирования резистентности к эхинокандинам грибов рода *Candida* вообще, и *C. glabrata* в частности, являются приобретенные, в большинстве случаев на фоне длительной терапии, мутации генов FKS1/FKS2, отвечающих за активность мишени действия эхинокандинов — фермен-

та β -1,3-D-глюкансинтетазы. Проблемы, связанные с детекцией таких штаммов обычными методиками определения чувствительности, привели, в частности, к пересмотру интерпретационных критериев для существующих протоколов. Информация о типах мутаций потенциально может помочь в разработке методов детекции определенных изменений на уровне генов, которые смогут с большой вероятностью прогнозировать неэффективность терапии эхинокандинами. Выявление штаммов *C. glabrata*, устойчивых к эхинокандинам, является важной клинической проблемой в плане выбора и новых подходов в терапии, включая поиск новых мишеней действия препаратов. В отсутствие таковой политика применения антимикотиков в стационаре должна помочь в снижении необоснованного использования эхинокандинов — основного промотора появления резистентных штаммов *Candida*.

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

***Candida glabrata* Resistance to Echinocandins Associated with FKS Genes Mutations: How Urgent is the Problem?**

A.V. Veselov

Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

The resistance of the systemic *Candida* infections causative agents is a cornerstone of the selection of an effective therapy. But if before the problem was limited

to resistance to azole antifungals, then by now we have enough data about cases of treatment failures with echinocandins, which for today are the drugs of choice for treating most clinical form of invasive candidiasis. The largest number of reports connected to such problematic species as *C. glabrata*, frequency allocation is a steady tendency to growth, and which has a number of unique structural and functional features. The underlying mecha-

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

nism of the development of resistance of *Candida* species in general, and *C. glabrata* in particular, are acquired, in most cases, after long-term therapy, mutations in the FKS1/FKS2 genes, which are responsible for the activity of the target for echinocandins β -1,3-D-glucansynthase enzyme. The problems associated with the detection of such strains by conventional methods for determining the sensitivity, led in particular to the revision of interpretive criteria applied to existing protocols. Evidence to date information about the types of mutational changes could potentially help in the future in the development of genetic methods for detecting certain changes in the

genes that can predict the likely ineffectiveness of echinocandins therapy. Identification of *C. glabrata* strains resistant to echinocandins is an important clinical problem in terms of the choice of therapy, and therefore we need to develop new approaches to therapy, including searching for new targets of action of drugs. In the absence of those now, the policy for antifungals use in the hospital should help to reduce unnecessary administration of echinocandins for therapeutic or prophylactic purposes — the main promoter of the emergence of resistant *Candida* strains.

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

***Candida glabrata* — уникальный вид?**

К настоящему времени описано около 400 видов грибов рода *Candida*, однако клиническое значение у человека имеют около 20, среди которых *C. albicans* (*Calb*), *C. glabrata* (*Cg*) и *C. parapsilosis* являются тремя наиболее часто встречающимися видами, при этом для последних двух характерно значимое увеличение частоты выделения за последние 10–15 лет. Особое внимание обращает на себя *Cg*, которая, по данным ряда исследований, смогла в достаточно короткий промежуток времени прочно занять второе, а в некоторых стационарах и первое место среди возбудителей *инвазивного кандидоза* (ИК). Частота ее выделения варьирует от 12 до 35% всех случаев ИК в США, но, как правило, не превышает 15% в большинстве стран Европы [1–3].

С эволюционной точки зрения *Cg* среди других представителей рода *Candida* находится в несколько обособленном положении, имея большую филогенетическую связь с *Saccharomyces cerevisiae*, нежели чем с *Calb* или *C. parapsilosis*. Изначально вид *Cg* получил название *Cryptococcus glabratus* в 1917 году, когда был обнаружен в составе микрофлоры кишечника человека [4, 5] и впоследствии был идентифицирован как этиологическая причина ряда случаев инфекций, фигурируя в работах как *Cryptococcus glabratus* [6] или *Torulopsis glabrata* [7]. В конце 1980-х гг. данный вид был переименован в *Cg*, зарекомендовав себя относительно частым возбудителем ИК, особенно у пациентов с иммуносупрессией [8]. Проведенный молекулярный анализ рибосомальной РНК показал, что *Cg* имеет незначительное родство с *Calb* и в большей степени обладает генетическим сходством с *S. cerevisiae* [9]. Подобная, значимая в эволюционном плане, дистанция между *Calb* и *Cg* обуславливает фенотипические особенности, которые, в частности, могут находить выражение в уникальных факторах вирулентности *Cg*.

Особенности патогенетических механизмов могут приводить к различным исходам инфекци-

онного процесса, что необходимо учитывать при выборе терапии, и самым типичным примером этого может быть сниженная природная чувствительность *Cg* к азоловыми *антимикотикам* (АМ), особенно к ранним азолам [1]. Среди других особенностей можно выделить гаплоидный генотип клеток, которые не могут образовывать истинный мицелий, в отличие от диплоидных клеток *Calb*, обладающих такой возможностью. Образование гиф является известным фактором патогенности у *Calb*, что повышает инвазивность возбудителя, позволяя ему избегать поглощения макрофагами [10]. С другой стороны *Cg* обладает принципиально иными механизмами защиты от макрофагов. Более того, было показано, что *Cg*, позволяя себя захватить макрофагами, способен не только долгое время персистировать внутри них, но и не прекращать процесс деления клеток [11]. Помимо этого важным дополнением к патогенетическим особенностям *Cg* является способность к продукции ряда специфических адгезинов, кодируемых генами ЕРА семейства [12, 13].

Несмотря на то что изначально *Cg* была выделена из *желудочно-кишечного тракта* (ЖКТ) человека и неоднократно в последующем описывалась в составе микробиома ротовой полости и пищеварительного тракта, одним из вопросов является персистирование *Cg* в окружающей среде, что может быть значимым фактором в эпидемиологическом плане [5, 14]. Кроме того, частота обнаружения *Cg* в полости рта или ЖКТ человека значимо ниже в сравнении с *Calb*, но она может возрастать с увеличением возраста пациента. В одном из исследований частота выделения *Cg* составила 15%, при этом все пациенты были старше 40 лет, со значительным увеличением частоты среди пациентов старше 60 лет. В другом исследовании подавляющее большинство штаммов *Candida*, выделенных от пациентов ≥ 80 лет, были представлены именно *Cg*, в том числе у пациентов без терапии в анамнезе, что может отражать изменение с возрастом у человека экологии

колонизации *Candida*, нежели чем, супрессивное воздействие противогрибковой терапии [15, 16].

Тем не менее, вероятной причиной смены спектра возбудителей с увеличением роли *Cg* стало избыточное и зачастую неконтролируемое применение ранних азолов с профилактической и терапевтической целью, что в сочетании со сниженной природной чувствительностью *Cg* к данным препаратам, привело к возрастанию его роли в качестве этиологической причины ИК [17–19]. В связи с риском той или иной степени устойчивости *Cg* к флуконазолу, существующие версии практических рекомендаций указывают на необходимость применения в качестве терапии первой линии при выделении *Cg* препаратов из класса эхинокандинов (ЭК) [20–22]. Однако именно *Cg* стал первым видом грибов рода *Candida*, у которого были обнаружены штаммы со сниженной чувствительностью к ЭК [23, 24], а в последующем стало появляться все больше сообщений о выделении ЭК-резистентных штаммов *Cg* на фоне или после терапии ЭК [25–36]. Большинство из выделенных штаммов в рамках указанных работ имели специфические мутации в одном или двух высококонсервативных «hot-spot» (HS) участках генов FKS1¹ или FKS2, которые кодируют субъединицу белка фермента 1,3- β -D-глюкансинтазы, являющегося мишенью действия ЭК [37–39].

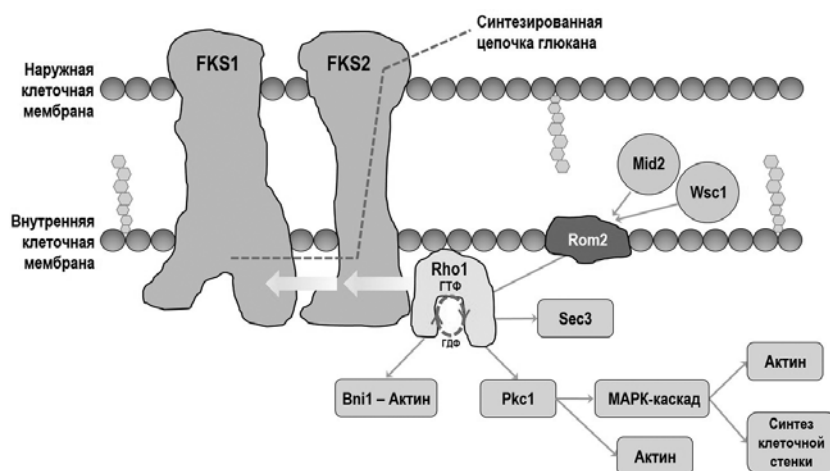
Эпидемиология и механизмы резистентности *C. glabrata* к эхинокандинам

На текущий момент показатели устойчивости *Cg* к ЭК в целом продолжают оставаться на низком уровне. По данным 6-летнего наблюдательного исследования, в котором оценивалась активность анидулафунгина, каспофунгина и микафунгина в отношении 5346 инвазивных штаммов *Candida*, собранных в 90 медицинских учреждениях по всему миру в период с 2001 по 2006 гг., с помощью метода разведений все три ЭК показали очень высокую активность против *Candida*: МПК анидулафунгина составляла 0,06–2 мкг/мл, каспофунгина — 0,03–0,25 мкг/мл и микафунгина — 0,015–1 мкг/мл. При оценке активности в зависимости от вида *Candida* (критерием чувствительности ко всем ЭК в отношении всех видов является МПК ≤ 2 мкг/мл) количество чувствительных штаммов *Cg* к анидулафунгину, каспофунгину и микафунгину составило 99,9, 99,9 и 100% соот-

ветственно [40]. Подобные результаты были получены и в рамках проекта SENTRY, где была отмечена высокая активность ЭК, однако также имели место низкие, но определяемые показатели устойчивости ко всем трем ЭК среди отдельных штаммов *Cg*, у некоторых из которых были обнаружены мутации генов FKS [41].

В недавно проведенном исследовании, где оценивалась *in vitro* активность различных АМ в отношении 1613 клинических штаммов грибов (1320 — *Candida*), устойчивые к ЭК штаммы были ограничены только *Cg* (1,3–2,1%) и *C. tropicalis* (0,9–1,8%) [42], что соответствует результатам исследования М. Хяо и соавт. [43], в котором была изучена чувствительность 1072 штаммов *Candida* и было показано, что 97,7–100% протестированных штаммов чувствительны ко всем трем ЭК, при этом 2,3% устойчивых штаммов представлены именно *Cg*. В исследовании А. Cleveland и соавт. [2] за период с 2008 по 2013 гг. авторы отметили снижение частоты случаев выделения штаммов *Candida*, устойчивых к флуконазолу, в двух городах США — Атланте и Балтиморе, однако количество случаев выделения штаммов, устойчивых к ЭК, показало тенденцию к росту (Атланта: с 1,2 до 2,9%, +147%; Балтимор: с 2,0 до 3,5%, +77%). Большинство (74%) ЭК-устойчивых штаммов были представлены *Cg*, при этом 17 (<1%) изолятов были устойчивы к обоим классам АМ, 16 из которых были *Cg*. Одно из наиболее показательных исследований, где оценивался профиль чувствительности и механизмы устойчивости *Cg* к ЭК, было проведено С. Pham и соавт. [44], где были исследованы 1380 штаммов *Cg*, собранных в период с 2008 по 2013 гг. в четырех городах США. Анализ показал, что 3,1, 3,3 и 3,6% штаммов были устойчивы к анидулафунгину, каспофунгину и микафунгину соответственно. У 51 штамма были обнаружены мутации в HS участках генов FKS — 16 в FKS1 и 35 в FKS2. Все штаммы, за исключением одного, были устойчивы как минимум к одному ЭК, среди которых 36% были также устойчивы и к флуконазолу. Среди 47 штаммов с мутационными изменениями генов FKS было обнаружено 12 уникальных мутаций — пять в гене FKS1 и семь в FKS2. Все данные мутации находились в пределах участка HS1. В исследовании В. Alexander и соавт. [32] среди выделенных от пациентов 25 штаммов *Cg* с FKS мутациями только две из них находились в пределах HS2 участка (обе I1379V) и оба данных штамма имели показатели МПК в рамках категории «чувствительный» (пациенты успешно ответили на терапию ЭК). Аналогичным образом в исследовании М. Castanheira и соавт. [45] было получено 29 штаммов *Cg*, имеющих мутации генов

¹ Аббревиатура «FKS» подразумевает гиперчувствительность к ингибитору кальциневрина FK560 (FK560 hyperSensitive) [Douglas C., et al. Proc Natl Acad Sci USA 1994; 91(26):12907-11].



Структурная модель синтеза глюкана с участием FKS1 и FKS2.

Vni1 — формин-подобный белок; MAPK-каскад митоген-активированной протеинкиназы; Rho1 — регуляторная субъединица β -1,3-глюкансинтетазы; Rom1 и Rom2 — гуанин-нуклеотид-обменные факторы; Secs — эволюционно-консервативные белки октамерного белкового комплекса (экзоциста); Mid2 и Wsc1 — ассоциированные с клеточной стенкой (трансмембранные) сигнальные протеины; ГДФ — гуанозиндифосфат; ГТФ — гуанозинтрифосфат [Popolo L., et al. Med Mycol 2001; 39(Suppl 1):111–21].

FKS, и только у одного мутационное изменение локализовалось в HS2 участке (P1371S), при этом штамм был чувствителен к микафунгину и анидулафунгину, но обладал умеренной резистентностью к каспофунгину. Достаточно четко видно, что большинство мутаций, оказывающих влияние на чувствительность *Cg* к ЭК, находятся в гене FKS1 и HS1 участке гена FKS2 [46].

В РФ мы не располагаем текущими данными о выделении устойчивых к ЭК штаммов *Cg* и, как следствие, о возможных мутационных изменениях среди подобных изолятов. Недавно проведенное исследование КРИТ обнаружило активность каспофунгина в отношении 100% протестированных штаммов *Candida* [47], а в более раннем исследовании в Гематологическом научном центре РАМН (Москва) была также показана высокая активность каспофунгина в отношении штаммов *Candida*, включая не-*albicans* виды, с совокупной активностью на уровне 91,4% [48].

Как уже стало понятным, резистентность грибов рода *Candida* к препаратам из класса ЭК и, как следствие, их клиническая неэффективность реализуются за счет изменений (замещение, удаление) аминокислотного состава FKS субъединиц фермента β -1,3-D-глюкансинтетазы [49]. Каталитическая субъединица фермента-мишени для ЭК — β -1,3-D-глюкансинтетаза кодируется генами FKS1, FKS2 и FKS3 (см. рисунок). Мутации в HS участках гена FKS1 (у всех видов *Candida*) или FKS2 (у *Cg*) при-

водят к аминокислотным модификациям, снижающим активность ЭК [50], при этом у штаммов, имеющих мутации генов FKS, степень ингибирования β -1,3-D-глюкансинтетазы может снижаться в несколько десятков или даже тысяч раз [51–53]. Среди пяти наиболее часто встречающихся видов *Candida* приобретенные мутации FKS генов могут быть у *Calb*, *Cg*, *C. tropicalis* и *C. krusei*. Некоторые приобретенные мутации FKS приводят к выраженному снижению показателей чувствительности *in vitro*, которые коррелируют с клинической неэффективностью, что было показано на мышинных моделях ИК [50–56]. С другой стороны, *C. parapsilosis* имеет природный полиморфизм гена FKS1, что приводит к его сниженной чувствительности к ЭК, однако клиническое значение этого пока до конца

неизвестно [53, 57–59]. Данный механизм не связан с формированием устойчивости *Cg* к азоловым АМ, у которых она обусловлена активным выведением препарата из клетки, изменённой/повышенной регуляцией мишени действия ланостерол-14- α -деметилазы, и формированием обходных путей метаболизма, например за счет предупреждения синтеза токсичного 14- α -метил-3,6-диола [60, 61].

Как уже говорилось, мутационные изменения FKS генов, приводящие к снижению чувствительности β -1,3-D-глюкансинтетазы и, как следствие, повышению показателей МПК, связаны с аминокислотными изменениями, и если у *Calb* они наиболее часто отмечаются в положениях Ser641 и Ser645 [51, 52, 62, 63], то у *Cg* аминокислотные модификации в Ser663 в гене FKS2, Ser629 в гене FKS1 и Phe659 в гене FKS2 являются наиболее часто встречающимися ассоциированными с резистентностью аминокислотными заменами [52]. Указанные мутации генов FKS у штаммов *Calb* и *Cg* сопровождалась плохим ответом на терапию при исследовании на инфекционных моделях у мышей [54, 55, 64, 65]. Реже встречающиеся мутации также могут приводить к резистентности к ЭК, но некоторые из них отвечали на применение ЭК в более высоких дозах при исследовании на животных моделях [55]. Резистентность к ЭК может варьировать в зависимости от экспрессии генов FKS [52, 66]. В частности экспрессия FKS2 у штаммов *Cg* является кальциневрин-зависимой

и резистентность, связанная с мутациями FKS2, может быть обратимой при использовании ингибитора кальциневрина FK506, что также было показано в работе Н. Li и соавт. для штаммов *Cg*, резистентных к флуконазолу [66–68].

Необходимо признать, что истинная распространенность штаммов *Cg* с мутациями генов FKS, несмотря на растущее число проведенных исследований, до конца не определена. Одной из причин этого являются как относительно низкая распространенность явления в целом, так и отсутствие генетического компонента в некоторых исследованиях, где оценивалась чувствительность штаммов *Cg* к ЭК, а также проводилась корреляция данных показателей с клиническими исходами. С другой стороны, сообщаемая частота на уровне, достигающем 20% в рамках исследований, проведенных в центрах с высоким потреблением ЭК у пациентов с высоким риском ИК, может быть несколько завышенной, и экстраполировать эти данные на популяцию в целом следует с осторожностью [27, 30, 31, 36, 44, 69]. Одно из недавних исследований, в котором были проанализированы 453 последовательных штамма *Candida*, выделенных из крови, обнаружило присутствие мутаций FKS генов у 1% штаммов *Calb* и у 4% штаммов *Cg* [70], и эти показатели совпадают с имеющимися данными, полученными в других центрах [45, 71]. Отметим, что согласно отдельным сообщениям, помимо *Cg* штаммов, несущих FKS мутации, последние были обнаружены также и среди *C. tropicalis* и *C. krusei*, но их количество для этих видов остается на очень низком уровне [39, 72–75].

Результаты проведенных исследований не вызывают сомнений в том, что частота выделения штаммов, несущих мутации генов FKS, имеет тенденцию к повышению в определенных клинических группах пациентов, в пределах которых показатели устойчивости *Candida* к ЭК значимо выше значений для популяции в целом. Одним из наиболее важных составляющих данной проблемы является то, что подавляющее большинство штаммов с мутационными изменениями генов FKS были выделены от пациентов, имевших в анамнезе или получавших на момент выделения терапию ЭК [30, 31, 36]. Наибольший риск отмечался среди пациентов, у которых были прорывные инфекции на фоне терапии ЭК, при этом до половины всех резистентных к ЭК штаммов *Cg* и *Calb* имели мутационные изменения. Это, в частности, было показано в исследованиях С. Pfeiffer и соавт. [27] и R. Shields и соавт. [76], где количество штаммов *Cg*, устойчивых к ЭК, составило от 4 до 18%, при этом у 46–81% из них имелись мутационные изме-

нения в генах FKS, а доля прорывных инфекций составляла 65–75%. С другой стороны, изоляты *Cg* или *Calb* с FKS мутациями, как правило, не превышают 10%, если фактором риска является терапия ЭК в отдаленном анамнезе, при этом наибольший риск отмечался, если терапия была не более месяца назад [36, 70].

В настоящее время нет данных о подтвержденной способности какой-либо мутации привести к изолированной устойчивости грибов рода *Candida* вообще, и *Cg* в частности, к какому-либо одному ЭК [50, 55, 70]. Немаловажным является тот факт, что примерно четверть устойчивых к ЭК штаммов *Cg* не имеют мутаций генов FKS, что было показано в исследовании R. Shields и соавт. [70], указывая на роль других механизмов в формировании резистентности и, как следствие, на относительную пригодность использования молекулярных методов для поиска каких-либо изменений на генном уровне.

Достаточно четко показано, что не все мутации генов FKS у *Cg* приводят к одинаковым изменениям показателей МПК и, как следствие, к равнозначной вероятности клинической неэффективности терапии [32, 45, 77, 78]. В исследованиях А. Zimbeck и соавт. [78], М. Castanheira и соавт. [45] было показано, что мутация S663P в гене FKS2 связана с очень высокими показателями МПК, в то время как F559Y в гене FKS2 сопровождается значимо меньшими значениями МПК для ЭК. В исследовании С. Pham и соавт. [44] было обнаружено, что на основании показателей МПК не все типы мутаций генов FKS приводят к одинаковому уровню резистентности. В пределах гена FKS1 мутации в S629 приводили к более высоким значениям МПК, чем мутации в положениях R631 или D632. Мутации в R631 в большинстве случаев приводили к более высоким показателям МПК микафунгина, но более низким для каспофунгина и анидулафунгина, которые находились в пределах категорий «чувствительный» и «умеренно резистентный» штамм. Мутация D632V сопровождалась появлением МПК в пределах категории «резистентный» применительно ко всем трем ЭК, но не приводила к изменению значений МПК с сохранением чувствительности штаммов. Мутации S629P, как и S663P, приводили к появлению МПК, которые находились на нижней или верхней границах категории «резистентный». При оценке эквивалентных мутаций (мутация S629P в гене FKS1 функционально эквивалентна S663P в гене FKS2) мутационные изменения в гене FKS2 всегда были связаны с более высокими показателями МПК, в сравнении с мутациями в гене FKS1.

Как обнаружить штаммы *C. glabrata* с FKS мутациями в рутинной практике?

Основной задачей при определении чувствительности Cg к ЭК является возможность различить между собой штаммы дикого типа и штаммы, несущие мутации генов FKS как детерминанты резистентности. На настоящий момент *Институт клинических и лабораторных стандартов США (CLSI)* и *Европейский комитет по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST)* разработали стандартизованные критерии для методов разведений при определении чувствительности *Candida* к азолам и ЭК, которые применяются на практике, позволяя с большой долей вероятности предугадать неэффективность терапии при выделении резистентного штамма или потенциальную возможность достижения эффекта лечения при выделении чувствительного изолята [79, 80–83]. Однако, если критерии CLSI разработаны для всех трех ЭК, то EUCAST не предлагает критериев интерпретации для каспофунгина в связи с высокой межлабораторной вариабельностью получаемых результатов, что может зависеть от субстанции каспофунгина, растворителя, длительности и температуры хранения субстанции и ряда других факторов, которые могут обусловить ошибочную интерпретацию результатов [84, 85].

Данные критерии были пересмотрены относительно недавно, и если раньше использовался только один критерий для всех трех ЭК в отношении всех видов *Candida* — ≤ 2 мг/л, то в настоящее время данные критерии стали специфичными как в отношении видов *Candida*, так и отдельных препаратов. Причиной этого стал тот факт, что использование старого критерия сопровождалось неправильной интерпретацией в отношении штаммов, несущих приобретенные мутации генов FKS, при этом инфекции, вызванные ими, часто сопровождалась случаями клинической неэффективности на фоне нормальных значений МПК [86]. В связи с этим CLSI пересмотрели в сторону снижения критерии для отдельных видов *Candida* и соответствующих ЭК на основании фармакокинетических, микробиологических и клинических данных, которые с большей точностью позволяли бы идентифицировать штаммы, несущие мутации генов FKS. Это привело к снижению пограничных интерпретационных значений для Cg на 1–2 разведения ниже, в сравнении с показателями для *Calb* и *C. tropicalis*. Одним из ограничивающих факторов, тем не менее, был недостаточный объем данных в отношении исходов терапии у пациентов с «недикими» типами штаммов. В рамках клинических исследований ЭК

большая часть данных в отношении эффективности препаратов была получена от пациентов с чувствительными изолятами, в то время как пациенты, у которых были бы выделены штаммы, имеющие подтвержденную устойчивость к какому-либо ЭК, практически отсутствовали [87].

В свою очередь EUCAST разработал видоспецифичные критерии интерпретации для микафунгина в отношении *Calb*, Cg и *C. parapsilosis*, а для анидулафунгина, помимо вышеуказанных трех видов, также и в отношении *C. krusei* и *C. tropicalis* [88, 89]. Как уже было сказано, новые показатели клинических пограничных значений привели к появлению вариабельных результатов при сравнении результатов тестирования с помощью референтных методик, выполненных в различных лабораториях в рамках разных исследований, и наиболее выраженная межлабораторная вариабельность показателей была отмечена при тестировании Cg и каспофунгина [84, 90], при этом данные, получаемые в отношении микафунгина и анидулафунгина, имели меньший разброс значений, в связи с чем они рекомендованы в качестве маркеров при определении чувствительности к классу ЭК [91, 92].

Тем не менее, клиническое значение межлабораторной вариабельности получаемых результатов при тестировании чувствительности к каспофунгину методами разведений в некоторой степени компенсируется тем фактом, что на практике лаборатории в большинстве своем применяют коммерческие тест-системы, которые обладают достаточно высокой корреляцией с референтными методами применительно к значениям МПК (разброс значений в пределах двойного разведения), однако при распределении по категориям (чувствительный, умеренно резистентный и резистентный) уровень согласованности может быть ниже [93–96]. В частности, в исследовании G. Eschenauer и соавт. [93] было показано, что значения МПК для ЭК, включая каспофунгин, полученных с помощью тест-системы Sensititre™ YeastOne™, находились в пределах одного двойного разведения в отношении каждого из видов *Candida*, однако применение критериев интерпретации CLSI привело к диспропорционально более высоким показателям нечувствительности к каспофунгину среди штаммов Cg и *C. krusei*, в сравнении с другими ЭК. Более того, в одном из центров, принимавших участие в этом исследовании, было обнаружено отсутствие мутаций генов FKS у штаммов, которые были нечувствительны к каспофунгину, но сохраняли чувствительность к другим ЭК [70]. E-тесты и Vitek 2, несмотря на то что в целом имеют хорошие показатели корреляции с методами разведений, требуют дальнейших исследова-

дований в отношении штаммов *Cg*, несущих мутации генов FKS [96–98].

Предикторы мутаций FKS генов и связь с исходами терапии у пациентов

Мы уже упоминали, что как для появления прорывных инфекций на фоне терапии, так и для селекции устойчивых штаммов в отдаленный период необходимо относительно длительное применение ЭК, которое, по данным ряда исследований, составляло от 7 до 450 дней (медиана 100 дней) [30, 31, 70, 76]. Среди других факторов риска выделения штаммов, несущих мутации генов FKS, следует выделить фоновые нарушения со стороны ЖКТ, трансплантацию внутренних органов и рецидивирующие системные *Candida*-инфекции [30, 36, 76]. Примерно 25% штаммов *Cg* с мутациями генов FKS устойчивы также к флуконазолу и/или амфотерицину В [77, 99], и часто в анамнезе у таких пациентов можно обнаружить терапию АМ различных классов. Имеется не так много информации о возможности появления FKS мутаций среди других не-*albicans* видов, но, по всей видимости, факторы риска будут аналогичными, что, в частности, было показано на примере случаев прорывных *C. parapsilosis*-инфекций, однако появление у таких штаммов приобретенных мутаций генов FKS описано не было [27, 70].

В рамках нескольких исследований оценивались показатели МПК и присутствие мутационных изменений в генах FKS в качестве потенциальных факторов риска неэффективности терапии ЭК у пациентов с ИК (таблица). В трех исследованиях, где были применены различные методики тестирования с использованием критериев CLSI или локальных, полученных на основании ROC-анализов (R. Shields, 2012; R. Shields, 2013) [30, 31] интерпретационных критериев, показатели неэффективности терапии среди пациентов с инфекциями, вызванными штаммами *Cg* с мутациями генов FKS, составили 47–79 и 60–90% соответственно. Чувствительность методики при определении резистентности к каспофунгину была равна 32–53% (процент пациентов, у которых имела место неэффективность терапии на фоне выделения устойчивого штамма), а специфичность составила 75–95% (процент пациентов, у которых была эффективность терапии на фоне выделения чувствительного штамма). Соответствующие показатели чувствительности и специфичности для обнаружения FKS мутаций находились в пределах 35–41% и 90–98% [30, 31, 36]. В исследовании D. Farmakiotis и соавт. [99] у пациентов с кандидемией, обусловленной штаммами *Cg*, у которых не оценивалось присутствие

мутаций генов FKS, показатели МПК каспофунгина, определявшиеся методом микроразведений (CLSI), были обратно пропорциональны показателям летальности по всем причинам к 28 дню ($p=0,001$); летальность среди пациентов, инфицированных резистентными или чувствительными штаммами *Cg* (по критериям CLSI), составила 57% (8/14) и 28% (22/79) соответственно. В большинстве проведенных исследований присутствие мутаций в генах FKS было независимым фактором риска неэффективности терапии ЭК [30, 31, 36, 99, 100]. Несмотря на то что в ряде работ было показано, что развитие резистентности *Candida* к ЭК, как правило, требует длительных и/или повторных курсов терапии препаратами данного класса, есть данные, указывающие на возможность быстрого развития устойчивости сразу после начала лечения [26, 31–33, 101–103].

На текущий момент нет документального подтверждения фактов горизонтальной передачи резистентных штаммов, что возможно связано с нарушением приспособляемости клеток, за счет снижения каталитической способности β -1,3-Д-глюкансинтетазы, утолщения клеточной стенки в ответ на стресс и др. Более того, некоторые штаммы с FKS мутациями показали более низкую вирулентность у животных, в том числе при сравнении со штаммами дикого типа с отсутствием мутационных изменений [66, 104, 105]. У пациентов с тяжелой патологией ЖКТ, являющегося основным резервуаром клеток *Candida*, которые, как правило, находятся там в составе биопленок, при появлении изменений функции иммунной системы колонизирующие штаммы становятся основными инфекционными агентами [106–110]. Одной из ключевых особенностей биопленок является способность их глюканового матрикса препятствовать проникновению АМ, что приводит к недостаточным концентрациям активного вещества [111]. В результате сохраняющейся высокой микробной нагрузки и селективного давления недостаточных концентраций возможно появление устойчивых мутантных штаммов с последующим попаданием в кровотоки и развитием системного инфекционного процесса.

Учитывая, что воздействие препарата является важным фактором риска развития устойчивости, одной из наиболее важных, с эпидемиологической точки зрения, проблем является разработка строгих подходов при профилактическом применении АМ. Это касается и ЭК, несмотря на то что официальное показание для применения с целью профилактики инфекций *Candida* в настоящий момент есть только у микафунгина (пациенты группы высокого риска

Характеристика отдельных эпизодов инфекций с неэффективностью терапии ЭК, вызванных штаммами *Cg*, имеющими мутации генов FKS

Автор, год, ссылка	Тип инфекции	Терапия	# штамма*	МПК ЭК, мг/л			Мутационные изменения	
				АНД	КСП	МИК	FKS1	FKS2
Cleary J. et al. (2008) [25]	Кандидемия	КСП	06-3169 и 06-3170	>2	>2	>2	D632E (HS1)	–
Thompson G. et al. (2008) [26]	Кандидемия	КСП	7755	4	8	4	–	F659V (HS1)
Garcia-Effron G. et al. (2010) [39]	Кандидемия	КСП	CG-C2 CG-C3	4 8	8 >16	2 >16	S629P (HS1) S663P (HS1)	– –
Chapeland-Leclerc F. et al. (2010) [29]	Кандидемия	КСП	4 и 5	–	>32	–	–	S663P
Pfeiffer C. et al. (2010) [27]	Прорывные инвазивные <i>Candida</i> -инфекции	МИК	3 5 7 8 8	8 4 4 8 4	>16 >16 4 >16 >16	8 4 4 8 4	S629P – – – –	– S663P S663F S663P S663P
Costa-de-Oliveira S. et al. (2011) [140]	Кандидемия	АНД	18-1 30-2	4 4	>32 32	4 8	P659del (HS1) S663P (HS1)	– –
Inui S. et al. (2011) [141]	Мочевые пути	МИК	НД	–	–	<2	–	F659del
Duran-Valle M. et al. (2012) [28]	Кандидемия	КСП	CL7369 CL7370	2 2	0,5 1	2 4	– –	S663P (HS1) S663P (HS1)
Shields R. et al. (2012) [30]	Кандидемия и ИАК	АНД, КСП, МИК	309 1 102 190 35 129 187	0,5 0,5 1 0,5 0,12 0,12 0,06	2 2 8 8 1 1 2	0,5 0,5 0,5 0,12 0,06 0,03 0,03	D632H (HS1) D632Y (HS1) – – – – –	– – F659del (HS1) F659del (HS1) F659L (HS1) F659L (HS1) F659L (HS1)
Shields R. et al. (2013) [31]	Штаммы из коллекции, стерильные в норме локусы	АНД, КСП, МИК	1 35 102 129 187 190 309 755 O-95 O-532	– – – – – – – – – –	2 1 8 1 2 8 2 0,5 0,25 0,12**	– – – – – – – – – –	D632Y – – – – – D632H – – – R635I	– F659L F659del F659L F659L F659del – F659S S663P –
Alexander B. et al. (2013) [32]	Кандидемия	АНД, КСП, МИК	4 (2) 7 (1) 8 (1) 9 (1) 10 (1) 16 (2) 17 (1) 18 (2)	0,12 1 1 2 2 4 2 4	0,5 0,5 4 2 2 >8 8 >8	0,12 0,25 0,25 0,5 0,5 >8 0,5 4	R665S# D632E# F659V# F625S# F625S# S663P# S663P# S663P#	
Lewis J. et al. (2013) [33]	Кандидемия	МИК	НД	0,5	1	0,5	–	F659del (HS2)
Saraya T. et al. (2013) [34]	Прорывные инвазивные <i>Candida</i> -инфекции	МИК	3 4 5	– – –	– – –	<0,015 2 4	– Конверсия гена§ Конверсия гена§	F659del, L1767 del F659del F659del

Продолжение таблицы на с. 138

Окончание таблицы

Bizzera F. et al. (2014) [35]	Прорывная кандидемия	МИК	8622A	1	1	0,5	–	S663F (HS1)
			8622B	1	1	0,5	–	S663F (HS1)
			8622C	1	1	0,5	–	S663F (HS1)
			8622D	1	1	0,5	–	S663F (HS1)
			8622E	1	1	0,5	–	S663F (HS1)
Beyda N. et al. (2014) [36]	Кандидемия	МИК	2 (1)	–	0,25	–	I634V (HS1)	–
			6 (1)	–	0,5	–	–	S663P (HS1)
			7 (1)	–	8	–	–	S663P (HS1)
			8 (1)	–	8	–	–	S663P (HS1)
			9 (1)	–	8	–	–	S663P (HS1)
			10 (1)	–	8	–	S629P (HS1)	–

Примечание. АНД – анидулафунгин, ИАК – интраабдоминальный кандидоз, КСП – каспофунгин, МИК – микафунгин, НД – нет данных, ЭК – эхинокандины.

* В работе С. Pfeiffer (2010) указаны номера пациентов; в работах В. Alexander (2013) и N. Beyda (2014) указаны номера пациентов и в скобках номера эпизодов.

** По новым критериям CLSI штамм расценивается как чувствительный.

Нет четкого указания на локализацию изменений в генах FKS1/FKS2.

§ Предполагается, что имеющий вставку ген будет кодировать белок FKS1 со следующими изменениями: M555T, V558I, L563V, V568I, T583S, H600Q, A620S и Y623del.

с трансплантацией кроветворных стволовых клеток или у которых ожидается нейтропения ≥ 10 дней). Тем не менее, в ряде практических рекомендаций рассматривается возможность использования ЭК для профилактики ИГИ у отдельных категорий пациентов, что было подтверждено результатами нескольких метаанализов, где эффективность ЭК сравнивалась с азолами [112–116]. Вполне закономерным стало появление сообщений о возникновении резистентности с развитием, в том числе, прорывных инфекций на фоне терапии ЭК [117]. Принимая во внимание, что расширение применения ЭК, безусловно, является мощным промотером селекции устойчивых штаммов *Cg*, необходимо оперировать четкими показаниями для назначения АМ данного класса.

Другой аспект проблемы поиска предикторов устойчивости нашел отражение в исследовании С. Pham и соавт. [44], где устойчивость штаммов к флуконазолу увеличивала вероятность того, что данный штамм будет устойчив также и к ЭК и наоборот, что было отмечено и в предыдущих работах [32, 77]. Возможно это связано со способностью *Cg* к быстрому развитию генетических изменений, включая точечные мутации и изменения структуры хромосом, что может быть проявлением адаптивного ответа на стрессовые изменения окружающей среды, в данном случае – применение противогрибковой терапии [118, 119.] Не исключено, что данные изменения генома, являясь механизмами адаптации, впоследствии могут достаточно быстро приводить к множественной лекарственной устойчивости у персистирующих клеток после непродолжительного периода применения терапии ЭК [120–122].

Выбор терапии при выделении штаммов *C. glabrata* с мутациями генов FKS

Несмотря на то что предшествующее применение ЭК является признанным фактором риска неэффективности терапии *Cg*-инфекции [26, 27], есть данные, указывающие на возможность ответа на терапию ЭК у пациентов, у которых выделены штаммы, имеющие мутации генов FKS [30, 32]. На основании результатов, полученных на мышиных моделях, клинический эффект при использовании ЭК зависит от типа мутационных изменений генов FKS [55]. В исследовании С. Pham и соавт. [46] было три пациента, у которых были выделены штаммы *Cg* с мутациями в генах FKS (включая два с S663P), но которые ответили на монотерапию ЭК; более того, показатель 30-дневной летальности был значительно ниже, если у пациента применялась терапия ЭК.

Выделение штамма *Cg* с множественной резистентностью может обусловить трудности в плане выбора терапии у конкретного пациента. Несмотря на то что, по данным текущих исследований в России, ЭК демонстрируют очень высокую активность [46, 48], нельзя исключить, что в стационарах с высоким потреблением препаратов данного класса выделение *Cg* у пациентов с терапией ЭК в анамнезе может сопровождаться сниженной чувствительностью или устойчивостью штаммов к одному или более классу АМ. В данной ситуации чаще всего единственной альтернативой для терапии остаются полиены, для которых существуют проблемы с переносимостью. Это важно, учитывая высокий риск выделение *Cg* у соматически тяжелых пациентов, когда переносимость терапии является одной из важных составляющих [15, 123, 124]. Вероятность

того, что азолы второго поколения будут активны, существует, но если речь идет о выделении штамма, который обладает устойчивостью и к ЭК, и к ранним азолам, есть риск отсутствия их активности. В исследовании M. Castanheira и соавт. [125] в рамках программы SENTRY количество изолятов *Cg* с устойчивостью к ЭК составило 2,1–3,1% в Северной Америке и 1% в Европе, в то время как к флуконазолу и вориконазолу в Северной Америке были устойчивы 13,5 и 15,6%, а в Европе – 4,1 и 5,1% штаммов *Cg* соответственно.

Учитывая концентрационно-зависимое действие ЭК в отношении *Candida*, доклинические, фармакокинетические и фармакодинамические исследования подтверждают, что применение высоких доз с большими интервалами введения сопровождается лучшими исходами на фоне более высоких концентраций препаратов в сыворотке, что в частности было показано при использовании микафунгина для терапии кандидоза пищевода [126]. В исследовании на животной модели с диссеминированным кандидозом введение микафунгина один раз в неделю сопровождалось эффективностью, одинаковой при сравнении с его ежедневным применением [127]. Увеличение стандартных терапевтических доз ЭК было предметом обсуждений при ряде состояний, связанных с фармакокинетическими особенностями ЭК, например при инфекциях с поражением центральной нервной системы [128]. Тем не менее в недавнем исследовании M. Doman и соавт. [129], где оценивалась активность *in vitro* и *in vivo* (мышинная модель с индуцированной нейтропенией) каспофунгина в разных дозах в отношении штаммов *Cg* дикого типа, референтного штамма ATCC 90030, а также двух изолятов, резистентных к ЭК с мутациями генов FKS, не было отмечено влияния дозы на показатели активности препарата. Возможно, что данная стратегия могла бы быть применена при терапии соответствующих клинических форм *Candida*-инфекций. Помимо этого, развитие резистентности будет менее вероятно, если применение более высоких доз будет приводить к более длительному сохранению диапазона концентраций, предупреждающих появление мутантных штаммов [130, 131].

Безусловно, принимая во внимание потенциальную возможность выделения полирезистентных штаммов *Cg*, необходим поиск новых мишеней действия АМ. Среди препаратов новых групп, которые уже находятся в стадии разработки, необходимо выделить производное ариламида (Т-2307, Toyama Chemical Co.), ингибитор синтеза гликозилфосфатидилинозитола (Е-1210, Eisai Co.), а также ингибитор деацетилазы гистонов

(MGCD290, MethylGene Inc.). Несмотря на отсутствие точной информации о возможности и сроках появления этих препаратов на рынке, есть данные, которые позволяют говорить о их высокой активности в отношении, в том числе, полирезистентных штаммов грибов рода *Candida*.

Т-2307, механизм действия которого связан с нарушением функции мембран митохондрий, обладает высокой активностью в отношении грибов рода *Candida* (МПК 0,00025–0,0078 мг/л), *Cryptococcus neoformans* (МПК 0,0039–0,0625 мг/л) и грибов рода *Aspergillus* (МПК 0,0156–4 мг/л), включая и штаммы *Candida*, резистентные к азолам и ЭК [132]. В исследовании N. Wiederhold и соавт. [133] препарат проявил высокую активность в отношении ЭК-резистентных штаммов *Candida*, при усредненных показателях МПК на уровне 0,0083 мг/л, что также было подтверждено во второй части исследования с использованием животных моделей. В настоящее время препарат находится в процессе подготовки к исследованиям I фазы на территории США [134].

Е-1210 обладает широким спектром активности, включая полирезистентные штаммы *Candida* (МПК $\leq 0,008$ –0,06 мг/л), кроме *C. krusei* (МПК 2 – >32 мг/л), и *Aspergillus* (МПК 0,008–0,03 мг/л). В отношении штаммов *Candida* был обнаружен синергизм действия Е-1210 с флуконазолом, вориконазолом и амфотерицином В [135]. В исследовании N. Wiederhold и соавт. [136], где Е-1210 применялся для терапии экспериментального ИК, вызванного устойчивыми штаммами *Calb*, была показана его высокая *in vitro* и *in vivo* активность (10 и 40 мг/кг два раза в сутки) в сравнении с терапией каспофунгином (10 мг/кг/сут).

В исследовании M. Pfaller и соавт. MGCD290 в комбинации с ЭК продемонстрировал высокую активность *in vitro* в отношении штаммов *Candida*, устойчивых к ЭК [137]. До этого уже была показана способность к синергизму с азоловыми АМ, в том числе и в отношении азолрезистентных изолятов [138]. Препарат прошел клинические исследования I фазы, а также есть данные о его применении в комбинации с флуконазолом только у пациентов с тяжелым вульвовагинальным кандидозом в рамках исследования II фазы, но в котором не было отмечено повышения эффективности терапии в случае комбинации MGCD290 с флуконазолом у данной категории пациентов [139].

Выводы и перспективы

На основании вышеизложенного можно сделать несколько основных выводов. Во-первых, частота встречаемости мутаций генов FKS в целом

остаётся низкой среди клинических штаммов *Candida. Во-вторых*, наиболее часто данные мутационные изменения возникают среди *Cg*, реже среди *Calb. В-третьих*, в подавляющем большинстве случаев данные штаммы выделяются от пациентов, получавших длительную (недели, месяцы) терапию ЭК, как в анамнезе, так и на фоне нее в виде прорывных инфекций. *В-четвертых*, на основании данных проведенных корреляционных исследований не всегда удается проследить четкую связь между присутствием мутационных изменений в генах FKS и клинической неэффективностью, что может указывать на влияние других факторов со стороны пациента, применяемой терапии, а также других механизмов формирования устойчивости, для чего необходимы дальнейшие исследования с целью оценки фенотипических и генотипических особенностей штаммов и показателей эффективности терапии у различных категорий пациентов.

Можем ли мы говорить сегодня о том, что лабораториям необходимо рутинно тестировать все выделяемые штаммы *Cg* к ЭК и при обнаружении резистентности пытаться определить присутствие мутационных изменений? Наверное, нет. Единственным исключением, которое скорее всего допустимо для стационаров с высоким потреблением ЭК, является неэффективность начальной терапии ЭК или возникновение прорывных грибковых инфекций при применении препаратов этого класса. В данной ситуации особое внимание должно быть уделено случаям выделения *Cg* из стерильных локусов у пациентов, имеющих в анамнезе длительную терапию ЭК. В качестве суррогатного маркера присутствия мутаций генов FKS возможно использование значений МПК. Принимая во внимание сложности с постановкой методов разведений, а также определенные проблемы при определении чувствительности с помощью них к каспофунгину, коммерческие тест-системы, например Sensititre™ YeastOne™, на данном этапе могут быть использованы в качестве основной суррогатной методики для рутинного применения, позволяющие предполо-

жить присутствие подобных мутационных изменений у штаммов *Cg*. Вполне возможно, что разработка подходов, направленных на прямую идентификацию соответствующих мутационных изменений в пределах генов FKS, позволит избежать противоречий, связанных с определением чувствительности классическими методами, что еще более оправдано для ЭК, учитывая прямую корреляцию между присутствием отдельных мутаций и риском клинической неэффективности терапии, что подтверждается микробиологическими, доклиническими и клиническими данными [30, 79].

При наличии соответствующих возможностей центры с высоким потреблением ЭК должны проводить постоянный эпидемиологический мониторинг, как в отношении видового состава патогенов, так и профиля их чувствительности. Для этого лаборатории должны быть осведомлены об особенностях тестирования ЭК, которые были обсуждены выше, а также о текущих критериях интерпретации. Растущие возможности генетических методик могут быть применены в эпидемиологических исследованиях, в рамках которых постоянный сбор информации в отношении корреляции между показателями МПК, определенными мутационными изменениями генов FKS у *Cg* и данными о клинической эффективности проводимой терапии являются ключевыми составляющими, что в дальнейшем может стать основой корректировки критериев интерпретации при определении чувствительности.

Разработка и внедрение программ политики применения противогрибковых препаратов в стационарах, безусловно, должны оказать положительное влияние на предупреждение появления штаммов *Candida*, устойчивых к ЭК, за счет снижения необоснованного применения противогрибковых препаратов и постоянного контроля за эпидемиологической ситуацией на национальном и локальном уровне, особенно в стационарах, где широко используются АМ. Это позволит, в том числе, сохранить позицию ЭК в качестве препаратов первой линии для терапии системных *Candida*-инфекций.

Литература

1. Diekema D., Arbefeville S., Boyken L., et al. The changing epidemiology of healthcare-associated candidemia over three decades. *Diagn Micr Infec Dis* 2012; 73:45-8.
2. 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.
3. 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.
4. Anderson H. Yeast-like fungi of the human intestinal tract. *J Infect Dis* 1917; 21:341-86.
5. Bolotin-Fukuhara M., Fairhead C. *Candida glabrata*: a deadly companion? *Yeast Chichester Engl* 2014; 31:279-88.

6. Plaut A. Human infection with *Cryptococcus glabratus*; report of case involving uterus and fallopian tube. *Am J Clin Pathol* 1950; 20:377-80.
7. Grimley P., Wright L., Jennings A. *Torulopsis glabrata* infection in man. *Am J Clin Pathol* 1965; 43:216-23.
8. Hazen K. New and emerging yeast pathogens. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8:462-78.
9. Kurtzman C., Robnett C. Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. *Antonie Van Leeuwenhoek* 1998; 73:331-71.
10. Mayer F., Wilson D., Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence* 2013; 4:119-28.
11. Roetzer A., Gratz N., Kovarik P., et al. Autophagy supports *Candida glabrata* survival during phagocytosis. *Cell Microbiol* 2010; 12:199-216.
12. Cormack B., Ghorri N., Falkow S. An adhesin of the yeast pathogen *Candida glabrata* mediating adherence to human epithelial cells. *Science* 1999; 285:578-82.
13. Roetzer A., Gabaldon T., Schuller C. From *Saccharomyces cerevisiae* to *Candida glabrata* in a few easy steps: important adaptations for an opportunistic pathogen. *FEMS Microbiol Lett* 2011; 314:1-9.
14. Ghannoum M., Jurevic R., Mukherjee P., et al. Characterization of the oral fungal microbiome (mycobiome) in healthy individuals. *PLoS Pathog* 2010; 6:e1000713.
15. Malani A., Psarros G., Malani P., et al. Is age a risk factor for *Candida glabrata* colonisation? *Mycoses* 2011; 54:531-7.
16. Pfaller M., Messer S., Hollis R., et al. Variation in susceptibility of bloodstream isolates of *Candida glabrata* to fluconazole according to patient age and geographic location in the United States in 2001 to 2007. *J Clin Microbiol* 2009; 47(10):3185-90.
17. Pfaller M., Diekema D., Gibbs D., et al. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. *J Clin Microbiol* 2010; 48:1366-77.
18. Lyon G., Karatela S., Sunay S., Adiri Y. Antifungal susceptibility testing of *Candida* isolates from the *Candida* surveillance study. *J Clin Microbiol* 2010; 48:1270-5.
19. Lortholary O., Desnos-Ollivier M., Sitbon K., et al. Recent exposure to caspofungin or fluconazole influences the epidemiology of candidemia: a prospective multicenter study involving 2,441 patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55:532-8.
20. 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.
21. 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.
22. 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.
23. Lockhart S., Iqbal N., Cleveland A., et al. Species identification and antifungal susceptibility testing of *Candida* bloodstream isolates from population-based surveillance studies in two U.S. cities from 2008 to 2011. *J Clin Microbiol* 2012; 50:3435-42.
24. Diekema D. Use of epidemiological cutoff values to examine 9-year trends in susceptibility of *Candida* species to anidulafungin, caspofungin, and micafungin. *J Clin Microbiol* 2011; 49:624-9.
25. Cleary J., Garcia-Effron G., Chapman S., Perlin D. Reduced *Candida glabrata* susceptibility secondary to an FKS1 mutation developed during candidemia treatment. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52:2263-5.
26. Thompson G., Wiederhold N., Vallor A., et al. Development of caspofungin resistance following prolonged therapy for invasive candidiasis secondary to *Candida glabrata* infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52:3783-5.
27. Pfeiffer C., Garcia-Effron G., Zaas A., et al. Breakthrough invasive candidiasis in patients on micafungin. *J Clin Microbiol* 2010; 48:2373-80.
28. Durán-Valle M., Gago S., Gómez-López A., et al. Recurrent episodes of candidemia due to *Candida glabrata* with a mutation in hot spot 1 of the FKS2 gene developed after prolonged therapy with caspofungin. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56(6):3417-9.
29. Chapeland-Leclerc F., Hennequin C., Papon N., et al. Acquisition of flucytosine, azole, and caspofungin resistance in *Candida glabrata* bloodstream isolates serially obtained from a hematopoietic stem cell transplant recipient. *Antimicrob. Agents Chemother* 2012; 54:1360-2.
30. 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; 56:4862-9.
31. Shields R., Nguyen M., Press E., Updike C., Clancy C. Caspofungin MICs correlate with treatment outcomes among patients with *Candida glabrata* invasive candidiasis and prior echinocandin exposure. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57(8):3528-35.
32. Alexander B., Johnson M., Pfeiffer C., et al. Increasing echinocandin resistance in *Candida glabrata*: clinical failure correlates with presence of FKS mutations and elevated minimum inhibitory concentrations. *Clin Infect Dis* 2013; 56(12):1724-32.
33. Lewis J. 2nd, Wiederhold N., Wickes B., Patterson T., Jorgensen J. Rapid emergence of echinocandin resistance in *Candida glabrata* resulting in clinical and microbiologic failure. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57(9):4559-61.
34. Saraya T., Tanabe K., Araki K., et al. Breakthrough invasive *Candida glabrata* in patients on micafungin: a novel FKS gene conversion correlated with sequential elevation of MIC. *J Clin Microbiol* 2014; 52(7):2709-12.
35. Bizerra F., Jimenez-Ortigosa C., Souza A., et al. Breakthrough candidemia due to multidrug-resistant

- Candida glabrata* during prophylaxis with a low dose of micafungin. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58(4):2438-40.
36. 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):819-25.
 37. 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; 49:3264-73.
 38. Perlin D. Resistance to echinocandin-class antifungal drugs. *Drug Resist Updat* 2007; 10:121-30.
 39. Garcia-Effron G., Chua D., Tomada J., et al. Novel FKS mutations associated with echinocandin resistance in *Candida* species. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54:2225-7.
 40. 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):150-6.
 41. 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.
 42. 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):303-13.
 43. 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):802-10.
 44. 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):4690-6.
 45. 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; 58:577-80.
 46. 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; 52:790-5.
 47. Klimko N., Vasilyeva N., Chernenkaya T., et al. Invasive candidiasis in intensive care units: results of prospective multicenter study in Russia. Proceedings of the 25th ECCMID, Copenhagen, April 25-28, 2015. Abstr. EV0945.
 48. Gracheva A., Kliasova G., Fedorova N., et al. *In vitro* activity of caspofungin against *Candida* spp. isolated from blood in hematological and ICU patients in Russia. Proceedings of 50th ICAAC, Boston, USA, 2010. M-385.
 49. Perlin D. Current perspectives on echinocandin class drugs. *Future Microbiol* 2011; 6:441-57.
 50. Arendrup M., Perlin D. Echinocandin resistance: an emerging clinical problem? *Curr Opin Infect Dis* 2014; 27:484-92.
 51. Garcia-Effron G., Park S., Perlin D. Correlating echinocandin MIC and kinetic inhibition of FKS1 mutant glucan synthases for *Candida albicans*: implications for interpretive breakpoints. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:112-22.
 52. Garcia-Effron G., Lee S., Park S., et al. Effect of *Candida glabrata* FKS1 and FKS2 mutations on echinocandin sensitivity and kinetics of 1,3-beta-D-glucan synthase: implication for the existing susceptibility breakpoint. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:3690-9.
 53. Garcia-Effron G., Katiyar S., Park S., et al. A naturally occurring proline-to-alanine amino acid change in Fks1p in *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* accounts for reduced echinocandin susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52:2305-12.
 54. Slater J., Howard S., Sharp A., et al. Disseminated Candidiasis caused by *Candida albicans* with amino acid substitutions in FKS1 at position Ser645 cannot be successfully treated with micafungin. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55:3075-83.
 55. Arendrup M., Perlin D., Jensen R., et al. Differential *in vivo* activities of anidulafungin, caspofungin, and micafungin against *Candida glabrata* isolates with and without FKS resistance mutations. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56:2435-42.
 56. Lepak A., Castanheira M., Diekema D., et al. Optimizing echinocandin dosing and susceptibility breakpoint determination via *in vivo* pharmacodynamics evaluation against *Candida glabrata* with and without FKS mutations. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56:5875-82.
 57. Kuse E., Chetchotisakd P., da Cunha C., et al. Micafungin versus liposomal amphotericin B for candidaemia and invasive candidosis: a phase III randomised double-blind trial. *Lancet* 2007; 369:1519-27.
 58. Mora-Duarte J., Betts R., Rotstein C., et al. Comparison of caspofungin and amphotericin B for invasive candidiasis. *N Engl J Med* 2002; 347:2020-9.
 59. Reboli A., Rotstein C., Pappas P., et al. Anidulafungin versus fluconazole for invasive candidiasis. *N Engl J Med* 2007; 356:2472-82.
 60. Cowen L., Sanglard D., Howard S., Rogers P., Perlin D. Mechanisms of antifungal drug resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2014; 5:prii:a019752.
 61. Kelly S., Lamb D., Kelly D., et al. Resistance to fluconazole and cross-resistance to amphotericin B in *Candida albicans* from AIDS patients caused by defective sterol delta5,6-desaturation. *FEBS Lett* 1997; 400:80-2.
 62. Johnson M., Katiyar S., Edlind T. A new Fks hotspot for acquired echinocandin resistance in yeast, and its con-

- tribution to intrinsic resistance of *Scedosporium* species. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55:3774-81.
63. Katiyar S., Edlind T. Role for Fks1 in the intrinsic echinocandin resistance of *Fusarium solani* as evidenced by hybrid expression in *Saccharomyces cerevisiae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:1772-8.
64. Slater J., Howard S., Sharp A., et al. Disseminated candidiasis caused by *Candida albicans* with amino acid substitutions in Fks1 at position Ser645 cannot be successfully treated with micafungin. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55:3075-83.
65. Wiederhold N., Najvar L., Bocanegra R., Kirkpatrick W., Patterson T. Caspofungin dose escalation for invasive candidiasis due to resistant *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55:3254-60.
66. Katiyar S., Alastruey-Izquierdo A., Healey K., Johnson M., Perlin D., Edlind T. Fks1 and Fks2 are functionally redundant but differentially regulated in *Candida glabrata*: implications for echinocandin resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56:6304-9.
67. Eng W., Faucette L., McLaughlin M., et al. The yeast FKS1 gene encodes a novel membrane protein, mutations in which confer FK506 and cyclosporin A hypersensitivity and calcineurin-dependent growth. *Gene* 1994; 151:61-71.
68. Li H., Chen Z., Zhang C., et al. Resistance reversal induced by a combination of fluconazole and tacrolimus (FK506) in *Candida glabrata*. *J Med Microbiol* 2015; 64(Pt 1):44-52.
69. Castanheira M., Woosley L., Diekema D., et al. Low prevalence of fks1 hot spot 1 mutations in a worldwide collection of *Candida* strains. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54:2655-9.
70. 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):7465-70.
71. Guinea J., Zaragoza O., Escribano P., et al. Molecular identification and antifungal susceptibility of yeast isolates causing fungemia collected in a population-based study in Spain in 2010 and 2011. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58:1529-37.
72. Jensen R., Justesen U., Rewes A., et al. Echinocandin failure case due to a previously unreported FKS1 mutation in *Candida krusei*. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58:3550-2.
73. Prigitano A., Esposito M., Cogliati M., et al. Acquired echinocandin resistance in a *Candida krusei* blood isolate confirmed by mutations in the fks1 gene. *New Microbiol* 2014; 37:237-40.
74. Jensen R., Johansen H., Arendrup M. Stepwise development of a homozygous S80P substitution in Fks1p, conferring echinocandin resistance in *Candida tropicalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57:614-7.
75. Garcia-Effron G., Kontoyiannis D., Lewis R., et al. Caspofungin-resistant *Candida tropicalis* strains causing breakthrough fungemia in patients at high risk for hematologic malignancies. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52:4181-3.
76. Shields R., Nguyen M., Press E., et al. Abdominal candidiasis is a hidden reservoir of echinocandin resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58:7601-5.
77. Pfaller M., Castanheira M., Lockhart S., et al. Frequency of decreased susceptibility and resistance to echinocandins among fluconazole-resistant bloodstream isolates of *Candida glabrata*. *J Clin Microbiol* 2012; 50:1199-203.
78. Zimbeck A., Iqbal N., Ahlquist A., et al. FKS mutations and elevated echinocandin MIC values among *Candida glabrata* isolates from U.S. population-based surveillance. *Antimicrob. Agents Chemother* 2012; 54:5042-7.
79. Perlin D. Echinocandin resistance, susceptibility testing and prophylaxis: implications for patient management. *Drugs* 2014; 74:1573-85.
80. Available from: www.clsi.org.
81. Available from: www.eucast.org.
82. Pfaller M., Espinel-Ingroff A., Bustamante B., et al. Multicenter study of anidulafungin and micafungin MIC distributions and epidemiological cutoff values for eight *Candida* species and the CLSI M27-A3 broth microdilution method. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58:916-22.
83. Pfaller M., Messer S., Woosley L., Jones R., Castanheira M. 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* 2013; 51:2571-81.
84. Espinel-Ingroff A., Arendrup M., Pfaller M., et al. Interlaboratory variability of Caspofungin MICs for *Candida* spp. Using CLSI and EUCAST methods: should the clinical laboratory be testing this agent? *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57(12):5836-42.
85. Pfaller M., Diekema D., Ostrosky-Zeichner L., et al. Correlation of MIC with outcome for *Candida* species tested against caspofungin, anidulafungin, and micafungin: analysis and proposal for interpretive MIC breakpoints. *J Clin Microbiol* 2008; 46:2620-9.
86. Andes D., Diekema D., Pfaller M., et al. *In vivo* comparison of the pharmacodynamic targets for echinocandin drugs against *Candida* species. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54:2497-506.
87. Pfaller M., Diekema D., Andes D., 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; 14:164-76.
88. Arendrup M., Cuenca-Estrella M., Lass-Flörl C., Hope W. Breakpoints for antifungal agents: an update from EUCAST focussing on echinocandins against *Candida* spp. and triazoles against *Aspergillus* spp. *Drug Resist Updat* 2013; 16:81-95.
89. Arendrup M., Rodriguez-Tudela J., Lass-Flörl C., et al. EUCAST technical note on anidulafungin. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17:E18-20.
90. Ben-Ami R., Hilerowicz Y., Novikov A., Giladi M. The impact of new epidemiological cutoff values on *Candida*

- glabrata* resistance rates and concordance between testing methods. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014; 79:209-13.
91. Pfaller M., Messer S., Diekema D., Jones R., Castanheira M. Use of micafungin as a surrogate marker to predict susceptibility and resistance to caspofungin among 3,764 clinical isolates of *Candida* by use of CLSI methods and interpretive criteria. *J Clin Microbiol* 2014; 52:108-14.
 92. Pfaller M., Diekema D., Jones R., Castanheira M. Use of anidulafungin as a surrogate marker to predict susceptibility and resistance to caspofungin among 4,290 clinical isolates of *Candida* by using CLSI methods and interpretive criteria. *J Clin Microbiol* 2014; 52:3223-9.
 93. 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; 58:1897-906.
 94. Pfaller M., Diekema D., Procop G., et al. Multicenter evaluation of the new Vitek 2 yeast susceptibility test using new CLSI clinical breakpoints for fluconazole. *J Clin Microbiol* 2014; 52:2126-30.
 95. Arendrup M., Pfaller M. Caspofungin Etest susceptibility testing of *Candida* species: risk of misclassification of susceptible isolates of *C. glabrata* and *C. krusei* when adopting the revised CLSI caspofungin breakpoints. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56:3965-8.
 96. Pfaller M., Chaturvedi V., Diekema D., et al. Comparison of the Sensititre YeastOne colorimetric antifungal panel with CLSI microdilution for antifungal susceptibility testing of the echinocandins against *Candida* spp., using new clinical breakpoints and epidemiological cutoff values. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012; 73:365-8.
 97. Bourgeois N., Laurens C., Bertout S., et al. Assessment of caspofungin susceptibility of *Candida glabrata* by the Etest®, CLSI, and EUCAST methods, and detection of FKS1 and FKS2 mutations. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33(7):1247-52.
 98. Astvad K., Perlin D., Johansen H., Jensen R., Arendrup M. Evaluation of caspofungin susceptibility testing by the new Vitek 2 AST-YS06 yeast card using a unique collection of FKS wild-type and hot spot mutant isolates, including the five most common candida species. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57(1):177-82.
 99. Farmakiotis D., Tarrand J., Kontoyiannis D. Drug-resistant *Candida glabrata* infection in cancer patients. *Emerg Infect Dis* 2014; 20:1833-40.
 100. Wang E., Farmakiotis D., Yang D., et al. The ever-evolving landscape of candidaemia in patients with acute leukaemia: nonsusceptibility to caspofungin and multidrug resistance are associated with increased mortality. *J Antimicrob Chemother* 2015; 70:2362-8.
 101. Shields R., Nguyen M., Press E., et al. Anidulafungin and micafungin minimum inhibitory concentration breakpoints are superior to caspofungin for identifying FKS mutant *Candida glabrata* and echinocandin resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57:6361-5.
 102. Fekkar A., Dannaoui E., Meyer I., et al. Emergence of echinocandin-resistant *Candida* spp. in a hospital setting: a consequence of 10 years of increasing use of antifungal therapy? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33:1489-96.
 103. Fekkar A., Meyer I., Brossas J., et al. Rapid emergence of echinocandin resistance during *Candida kefyr* fungemia treatment with caspofungin. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57:2380-2.
 104. Ben-Ami R., Garcia-Effron G., Lewis R., et al. The fitness and virulence cost of fks1 mutations causing echinocandin-resistance in *Candida albicans*. *J Infect Dis* 2011; 204:626-35.
 105. Klotz U., Schmidt D., Willinger B., et al. Echinocandin resistance and population structure of invasive *Candida glabrata* isolates from two university hospitals in Germany and Austria. *Mycoses* 2016 Jan 25. [Epub ahead of print]
 106. Magill S., Swoboda S., Shields C., et al. The epidemiology of *Candida* colonization and invasive candidiasis in a surgical intensive care unit where fluconazole prophylaxis is utilized: follow-up to a randomized clinical trial. *Ann Surg* 2009; 249:657-65.
 107. Miranda L., van der Heijden I., Costa S., et al. *Candida* colonization as a source for candidaemia. *J Hosp Infect* 2009; 72:9-16.
 108. Voss A., Hollis R., Pfaller M., Wenzel R., Doebbeling B. Investigation of the sequence of colonization and candidemia in nonneutropenic patients. *J Clin Microbiol* 1994; 32:975-80.
 109. Richet H., Andremont A., Tancrede C., Pico J., Jarvis W. Risk factors for candidemia in patients with acute lymphocytic leukemia. *Rev Infect Dis* 1991; 13:211-5.
 110. Harriott M., Noverr M. Importance of *Candida*-bacterial polymicrobial biofilms in disease. *Trends Microbiol* 2011; 19:557-63.
 111. Mitchell K., Taff H., Cuevas M., et al. Role of matrix beta-1,3-glucan in antifungal resistance of non-*albicans* *Candida* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57:1918-20.
 112. Scott L. Micafungin: a review of its use in the prophylaxis and treatment of invasive *Candida* infections. *Drugs* 2012; 72:2141-65.
 113. de la Torre P., Reboli A. Micafungin: an evidence-based review of its place in therapy. *Core Evid* 2014; 9:27-39.
 114. Chou L., Lewis R., Ippoliti C., Champlin R., Kontoyiannis D. Caspofungin as primary antifungal prophylaxis in stem cell transplant recipients. *Pharmacotherapy* 2007; 27:1644-50.
 115. Mattiuzzi G., Alvarado G., Giles F., et al. Open-label, randomized comparison of itraconazole versus caspofungin for prophylaxis in patients with hematologic malignancies. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50:143-7.
 116. Ziakas P., Kourbeti I., Mylonakis E. Systemic antifungal prophylaxis after hematopoietic stem cell transplantation: a meta-analysis. *Clin Ther* 2014; 36:292-306.e1.
 117. Ruggero M., Topal J. Development of echinocandin-resistant *Candida albicans* candidemia following brief prophylactic exposure to micafungin therapy. *Transpl Infect Dis* 2014; 16:469-72.

118. Ferrari S., Ischer F., Calabrese D., et al. Gain of function mutations in CgPDR1 of *Candida glabrata* not only mediate antifungal resistance but also enhance virulence. *PLoS Pathol* 2009; 5:e1000268.
119. Muller H., Thierry A., Coppee J., et al. Genomic polymorphism in the population of *Candida glabrata*: gene copy-number variation and chromosomal translocations. *Fungal Genet Biol* 2009; 46:264-76.
120. Krogh-Madsen M., Arendrup M., Heslet L., Knudsen J. Amphotericin B and caspofungin resistance in *Candida glabrata* isolates recovered from a critically ill patient. *Clin Infect Dis* 2006; 42:938-44.
121. Hull C., Parker J., Bader O., et al. Facultative sterol uptake in an ergosterol-deficient clinical isolate of *Candida glabrata* harboring a missense mutation in ERG11 and exhibiting cross-resistance to azoles and amphotericin B. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56:4223-32.
122. Khan Z., Ahmad S., Al-Obaid I., et al. Emergence of resistance to amphotericin B and triazoles in *Candida glabrata* vaginal isolates in a case of recurrent vaginitis. *J Chemother* 2008; 20:488-91.
123. Malani A., Hmoud J., Chiu L., et al. *Candida glabrata* fungemia: experience in a tertiary care center. *Clin Infect Dis* 2005; 41:975-81.
124. Pfaller M., Diekema D., Jones R., Messer S., Hollis R. Trends in antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from pediatric and adult patients with bloodstream infections: SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997 to 2000. *J Clin Microbiol* 2002; 40:852-6.
125. Castanheira M., Messer S., Jones R., Farrell D., Pfaller M. Activity of echinocandins and triazoles against a contemporary (2012) worldwide collection of yeast and moulds collected from invasive infections. *Int J Antimicrob Agents* 2014; 44(4):320-6.
126. Andes D., Reynolds D., Van Wart S., et al. Clinical pharmacodynamic index identification for micafungin in esophageal candidiasis: dosing strategy optimization. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57(11):5714-6.
127. Gumbo T., Drusano G., Liu W., et al. Once-weekly micafungin therapy is as effective as daily therapy for disseminated candidiasis in mice with persistent neutropenia. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51(3):968-74.
128. Smith P., Walsh T., Hope W., et al. Pharmacokinetics of an elevated dosage of micafungin in premature neonates. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28(5):412-5.
129. Domán M., Kovács R., Perlin D., et al. Dose escalation studies with caspofungin against *Candida glabrata*. *J Med Microbiol* 2015; 64(9):998-1007.
130. Drlica K. The mutant selection window and antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52(1):11-7.
131. Drlica K., Zhao X. Mutant selection window hypothesis updated. *Clin Infect Dis* 2007; 44(5):681-8.
132. Mitsuyama J., Nomura N., Hashimoto K., et al. In vitro and in vivo antifungal activities of T-2307, a novel arylamidine. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52(4):1318-24.
133. Wiederhold N., Najvar L., Fothergill A., et al. The novel arylamidine T-2307 demonstrates in vitro and in vivo activity against echinocandin-resistant *Candida glabrata*. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71(3):692-5.
134. Available from: <http://www.toyama-chemical.co.jp/>.
135. Miyazaki M., Horii T., Hata K., et al. In vitro activity of E1210, a novel antifungal, against clinically important yeasts and molds. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55(10):4652-8.
136. Wiederhold N., Najvar L., Fothergill A., et al. The investigational agent E1210 is effective in treatment of experimental invasive candidiasis caused by resistant *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59(1):690-2.
137. Pfaller M., Rhomberg P., Messer S., Castanheira M. In vitro activity of a Hos2 deacetylase inhibitor, MGCD290, in combination with echinocandins against echinocandin-resistant *Candida* species. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2015; 81(4):259-63.
138. Pfaller M., Messer S., Georgopapadakou N., et al. Activity of MGCD290, a Hos2 histone deacetylase inhibitor, in combination with azole antifungals against opportunistic fungal pathogens. *J Clin Microbiol* 2009; 47(12):3797-804.
139. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01497223. Available from: www.clinicaltrials.gov.
140. Costa-de-Oliveira S., Marcos Miranda I., Silva R., et al. FKS2 mutations associated with decreased echinocandin susceptibility of *Candida glabrata* following anidulafungin therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55:1312-4.
141. Inui S., Nakamura T., Tanabe K., et al. [A case of micafungin-hyposensitive *Candida glabrata* due to FKS2 gene mutation]. *Kansenshogaku Zasshi* 2011; 85(1):49-53.