

ANTİFUNGAL DUYARLILIK TESTLERİ VE KLİNİK ÖNEMİ

A.Nedret KOÇ

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KAYSERİ
anedret@erciyes.edu.tr

ÖZET

İdeal olarak, in vitro duyarlılık testleri; 1) iki ya da daha fazla antifungal ajanların aktivitelerinin güvenilir ölçüsünü sağlar, 2) in vivo aktivite ile ilişkilidir ve muhtemelen tedavinin sonucunu tahmin eder, 3) normalde duyarlı organizmalar arasında direnç gelişiminin izlenmesini sağlar, 4) yeni keşfedilen araştırılan ajanların terapötik potansiyelini tahmin eder. Antifungal duyarlılık testlerinde de CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute) ve EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) referans yöntemleri geliştirilmiş ve antifungal duyarlılık verileri ortaya çıkmıştır. Bu çalışmalarda, in vitro testlerin klinisyen ve hastalar için faydalı olabileceği ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte, antifungal ajanların in vitro klinik korelasyonu çalışmalarının devam etmesi gerekmektedir.

Bu sunumda, antifungal duyarlılık testleri, in vitro referans yöntemleri ve mantarların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde klinik önemi gözden geçirilmiştir.

Anahtar sözcükler: antifungal duyarlılık testi, CLSI standart, EUCAST standart

SUMMARY

Antifungal Susceptibility Tests and Clinical Significance

Ideally, in vitro susceptibility tests 1) provide a reliable measure of the relative activities of two or more antifungal agents, 2) correlate with in vivo activity and predict the likely outcome of therapy, 3) provide a means with which to monitor the development of resistance among a normally susceptible population of organisms, and 4) predict the therapeutic potential of newly discovered investigational agents. In vitro antifungal susceptibility tests were developed for treatment of infections caused by the fungus. The development of the Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) and The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) reference methods have improved in vitro antifungal susceptibility data. There is emerging evidence, however, that in vitro testing will be useful to the clinician and patients. Nevertheless clinical correlation of in vitro activity of antifungal agents should be required ongoing study.

In this presentation, the importance of in vitro antifungal susceptibility tests in the treatment of infections caused by fungi will be reviewed.

Keywords: antifungal susceptibility test, CLSI standard, EUCAST standard

Mantar enfeksiyonlarının sıklığının ve öneminin artması antifungallerin sıklıkla kullanılmasına neden olmaktadır. Tedavideki yaklaşımların düzenlenmesinde, alternatif ilaçların arayışında ve gözlenen direnç sorunu nedeniyle standart antifungal duyarlılık yöntemlerinin önemi artmıştır. Günümüzde antifungal duyarlılık testleri, yeni geliştirilen ilaçların in vitro etki spektrumunu belirlemek direnç oranlarına ilişkin epidemiyolojik veriler elde etmek ve antifungallerle klinik izolatların in vitro duyarlılıklarını inceleyerek klinik yanıtla ilişkin öngörude

bulunmak için kullanılmaktadır⁽¹⁶⁾. Antifungal duyarlılık testi için araştırma amaçlı ve/veya rutin kullanılan yöntemler Tablo 1'de özetlenmiştir. Bu testlerin geliştirilmesi ve standardizasyonu klinik mikoloji alanında çok önemli olmuştur. Bu amaçla 1992'den bugüne eski adıyla NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) yeni adıyla CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute) hem maya hem de küflerde standart yöntemleri tanımlamak için raporlar yayınlamışlardır. Bunlar Food and Drug Administration (FDA) tarafından

Tablo 1. Antifungal duyarlılık testi için kullanılan yöntemler⁽¹⁾.

Makrodilüsyon
Mikrodilüsyon
Kolorimetrik mikrodilüsyon
Spektrofotometrik mikrodilüsyon
Agar makrodilüsyon
Agar difüzyon
Disk
E test

kullanılmak için değerlendirilip tanınmıştır. Bunlardan 'M27-A3 Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard 04/28/2008' mayaların antifungal ilaçlara duyarlılıklarını belirlemek için geliştirilmiş mikrodilüsyon yöntemidir⁽⁵⁾. Maya mantarlarının antifungal ilaçlara duyarlılıklarını belirlemek için kullanılmak üzere standart edilmiş olan mikrodilüsyon yönteminin son versiyonu M27-A3 dokümanıdır. Bu son versiyonun

önceki dokümanlara göre en önemli önerisi flukonazol minimum inhibitör konsantrasyon (MİK, µg/ml) değerlerinin 24 saatte okunabileceği önerisidir. Ancak, bu öneriyle birlikte, *Candida glabrata* suşları ile ilgili uyarı ve flukonazol MİK değeri < 32 µg/ml olan *C.glabrata* suşlarında flukonazolun maksimum dozda kullanılma gerektiği dikkate sunulmuştur; 'M38-A2 Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved Standard 04/28/2008' ise küf mantarlarının antifungal ilaçlara duyarlılıklarını belirlemek için geliştirilmiş mikrodilüsyon yöntemidir⁽⁶⁾. Dermatofit grubu küf mantarları için de standart test parametreleri belirlenmiş ve dokümana dahil edilmiştir (Tablo 2). M38-A2 dokümanında ayrıca, minimum efektif konsantrasyon (MEK, µg/ml) tanımı ve kullanımının önemi de vurgulanmıştır.

Tablo 2. Maya ve küflerde kullanılan CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute) standart yöntemlerinin özellikleri^(3,5-8,12,15).

	CLSI M27-A3	CLSI M38-A2	CLSI M44-A	CLSI M51-A
Uygulama alanı	<i>Candida</i> ve <i>Cryptococcus</i>	Küf mantarları	<i>Candida</i>	<i>Zygomycetes</i> , <i>A.flavus</i> , <i>A.fumigatus</i> , <i>A.niger</i> , <i>Aspergillus</i> spp., <i>Alternaria</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>P.boydii</i> , <i>S.prolificans</i>
İnokulum	0.5-2.5x10 ³ CFU/ml (Spektrofotometrik)	0.4-5x10 ⁴ CFU/ml (Spektrofotometrik) 0.5 McFarland	1x10 ⁶ -5x10 ⁶ CFU/ml (Spektrofotometrik) 0.5 McFarland	0.4-5x10 ⁶ CFU/ml (Spektrofotometrik) 0.5 McFarland
Besiyeri	RPMI 1640 (MOPS, pH 7.0±0.1)	RPMI 1640 (MOPS, pH 7.0±0.1)	Mueller-Hilton agar+% 2 dekstroz+0.6 µg metilen mavisi	Mueller-Hilton agar+% 2 dekstroz+0.6 µg metilen mavisi (pH: 7.2-7.4)
Yöntem	Mikrodilüsyon	Mikrodilüsyon	Disk difüzyon	Disk difüzyon
Değerlendirme	Görsel	Görsel	Görsel	Görsel
Isı	35°C	35°C	35°C	35°C
İnkübasyon süresi	24-48 saat (C. neoformans 72 saat)	46-50 saat	20-24 saat	16-24 saat. (<i>Zygomycetes</i>), 24 (<i>A. flavus</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. niger</i>), 48 (diğer <i>Aspergillus</i> spp.), 48-72 (<i>Alternaria</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>P. boydii</i> , <i>S. prolificans</i>)
Sınır değeri	Amfoterisin B için üreme olmayan kuyucuk, azoller, ekinokandinler için ≥ % 50 inhibisyon	Azol ve polienler için üreme olmayan kuyucuk MİK, ekinokandinler için MEK	Zon çapın içindeki küçük kolonileri göz ardı edip büyük kolonilerden zon ölçülür	Triazol ve ekinokandin için zon çapın içindeki küçük kolonileri göz ardı edip büyük kolonilerden zon ölçülür. Amfoterisin B için küçük koloniler direnci gösterir.

Bunlardan maya-mikrodilüsyon ve küf-mikrodilüsyon yöntemi dökümanları 2008 yılında, *Candida*-disk difüzyon yöntemi dökümanı ise 2009 yılında güncellenmiştir. M44-A2 Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Guideline-08/28/2009' *Candida* türlerinin flukonazole ve vorikonazole duyarlılığını belirlemek için kullanılabilecek bir disk difüzyon yöntemidir⁽⁷⁾. Bu yöntemin kullanımı ile ilgili özellikler Tablo 2'de özetlenmiştir.

Küfler için disk difüzyon yönteminin parametrelerinin standart edilmiş olması ve zon çapı olarak epidemiyolojik "cut off" değerlerinin ve bunlara karşılık gelen MİK ya da MEK değerlerinin belirlenmesine katkıları nedeniyle önem taşımaktadır. Dermatofit dışı küfler için geliştirilen disk difüzyon yöntemi ise ilk kez 2009 yılında önerilmiş (M51-P) olup, çok yeni olarak 2010 yılında onaylanmış son şeklini almıştır⁽⁸⁾.

'M51-A Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Nondermatophyte Filamentous Fungi; Approved Guideline 05/25/2010' dermatofit dışı küf mantarlarının antifungal ilaçlara duyarlılığını belirlemek için standart edilmiş olan bir disk difüzyon yöntemidir⁽⁸⁾. Bu yöntemle ile bilgiler Tablo 2'de tanımlanmıştır.

CLSI M51-A dökümanını kullanarak Espinel-Ingroff ve ark.⁽¹³⁾ kontrol suşlarının sırasıyla; *P.variotti* ATCC MYA-3630, amfoterisin B (15 - 24 mm), itrakonazol (20 - 31 mm) ve posakonazol (33 - 43 mm); *A.fumigatus* ATCC MYA-3626, amfoterisin B (18 - 25 mm), itrakonazol (11- 21 mm), posakonazol (28 - 35 mm) ve vorikonazol (25 - 33 mm); ve *C.krusei*, amfoterisin B (18 - 27 mm), itrakonazol (18 - 26 mm), posakonazol (28 - 38 mm) ve vorikonazol (29 - 39 mm) disk sınırlarını belirlemişlerdir. Bu yeni öneriler, CLSI antifungal duyarlılık testlerinin kullanılabilirliğini kolaylaştırmakta, belirsizlikleri azaltmakta ve duyarlılık testi sonuçlarının yorumlanmasına katkı sağlamaktadır.

Antifungal duyarlılık testleri için 1997 yılında "The European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases" (ESCMID), "The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing" (EUCAST)'i oluşturmuş-

tur. 2002 yılında EUCAST yeniden yapılandırılmış ve bugünkü şeklini almıştır. CLSI ile ulusal duyarlılık sonuçlarını paylaşan ülkelerden antifungal duyarlılık sonuçları toplanmaktadır^(21,32). EUCAST 2005 yılında CLSI antimikrobiyal duyarlılık alt komitesi CLSI-AST ile bilgi paylaşımı kararı almıştır. EUCAST antifungal kullanım politikaları, surveyans veya enfeksiyon kontrolü ile ilgilenmeyi amaçlamaz. EUCAST'ın ve alt komitesi 'Antifungal Susceptibility Testing (EUCAST-AFST)'nin kuruluş amacı Fransa, Almanya, Norveç, İsveç, Hollanda ve İngiltere'den temsilcilerin katılımı ile antifungal duyarlılık testleri için standart yöntemleri geliştirmektir^(21,32). EUCAST tarafından bu güne kadar iki antifungal duyarlılık testi standart edilmiştir. Bir tanesi EUCAST-E.DEF7.1 mayalar için sıvı mikrodilüsyon testi, diğeri de EUCAST-E.DEF9.1 küfler için sıvı mikrodilüsyon testidir. EUCAST-AFST sınır değerlerin elde edildiği test koşullarını şu şekilde özetlemektedir; RPMI 1640 besiyeri, % 2 glukoz eklemesi, pH 7.0 MOPS ile tamponlanma (MOPS 0.165 M), mayalar için 35-37°C'de 24 saat inkübasyon, küfler için 35-37°C'de 48 saat inkübasyon, 10⁵ CFU/ml inokulum, mayalar için spektrofotometrik, küfler için görsel okuma önerilir^(2,18,24). Her iki yöntemin çalışmada benzer olan yönleri; RPMI 1640 besiyeri kullanmaları, 35-37°C inkübasyon, MİK sınır değerleri belirlerken kontrole göre % 50 üremeye göre değerlendirilmesidir. Farklı yönleri; inokulum sayısı 0.5-2.5x10³ CFU/ml [CLSI] iken 5-2.5x10⁵ CFU/ml [EUCAST], besiyerindeki glikoz konsantrasyonları % 0.2 [CLSI] ve % 2.0 [EUCAST]), inkübasyon süreleri 24 ve 48 saat [CLSI] iken 24 saat [EUCAST]), mikroye t farkı U tabanlı [CLSI] iken düz tabanlı [EUCAST]), end-point okuma gözle okurken [CLSI] spektrofotometre [EUCAST]) ile okuma yapılmaktadır. Çalışmalarda uyum yüzde 95 olarak bildirilmektedir^(9,18,31).

2002 yılından sonra sınır değerlerin duyarlı "S" ve dirençli "R" olarak bildirilmesi kararı alınmıştır. Epidemiyolojik "cut off" değeri veya "türe özel mikrobiyolojik sınır değer" terimleri geliştirilmiştir.

Pfaller ve ark.⁽³¹⁾, CLSI ve EUCAST antifungal duyarlılık testlerinin karşılaştırdıkları çalışmada, epidemiyolojik "cut off" değeri (µg/

ml) flukonazol, posakonazol ve vorikonazol için sırasıyla: *C.albicans* için 0.12, 0.06 ve 0.03; *C.glabrata* için 32, 2 ve 0.5; *C.parapsilosis* için 2, 0.25 ve 0.12; *C.tropicalis* için 2, 0.12 ve 0.06; *C.krusei* için 64, 0.5 ve 0.5 olarak belirlemişlerdir. Aynı çalışmada EUCAST ve CLSI antifungal duyarlılık testlerinin karşılaştırdıklarında sonuçların flukonazol, posakonazol ve vorikonazol için sırasıyla her tür için; *C.albicans* % 98.9, % 93.6 ve % 98.6; *C.glabrata* için % 96.0, % 98.9 ve % 93.7; *C.parapsilosis* için % 90.8, % 98.1 ve % 98.1; *C.tropicalis* için % 99.2, % 99.2 ve % 96.8; *C.krusei* % 97.1, % 97.1 ve % 97.1 yüksek uyumu göstermişlerdir. Aynı araştırmacının benzer bir çalışmasında her iki yöntemi *Candida* türlerine flukonazol için karşılaştırarak epidemiyolojik "cut off" değeri (ECV) belirlemişlerdir. Her iki yöntemde benzer ECV'ler elde ederek (*C.albicans* için 0.5-1 µg/ml; *C.parapsilosis* ve *C.tropicalis* için 2 µg/ml; *C.glabrata* için 32 µg/ml ve *C.krusei* için 64-128 µg/ml) her iki testin uyumluluğunun % 95 olarak rapor etmişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda *Candida* türleri için flukonazolun sınır değeri; *C.albicans*, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis* için S ≤2 µg/ml; SDD 4 µg/ml; R ≥8 µg/ml ve *C.glabrata* için SDD ≤32 µg/ml; R ≥64 µg/ml olarak belirlenmiştir⁽²⁸⁾.

Referans yöntemlere alternatif olabilecek daha kolay, tekrarlanabilir, kullanılabilirliği yüksek ucuz ve uygun yöntemlerin arayışı halen devam etmektedir. Bunlar içinde en sık kullanılan ticari yöntemler; Etest (AB Biodisk, Solna, Sweden), Integral system yeasts antifungal disk (Liofilchem Diagnostics, L'Aquila, Italy), Candifast (International Microbio/ Stago Group, Milona Italy), Fungitest (Bio-Rad SDP, Paris, France), Vitek 2 (bioMérieux), Mast group antifungal disk, Rosco neosensitive disk test (Neo-Sensitabs user's guide; A/S Rosco Diagnostica, Taastrup, Denmark), BD Phoenix (Diagnostic Systems Circle Sparks, MD USA), yeastone (Trek Diagnosytic system, Inc.), ATB fungus 2 (API-bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa), Mycostandard (Institut Pasteur, Paris, Fransa), Mycototal (Behring Diagnostic, Rueil-Malmaison, Fransa), ASTY colorimetric panel (Kyokuyuto Pharmaceutical Industrial, Ltd. Tokyo, Japon), Biomic® vision sistem ve yanında araştırmacıların standart yöntemleri modifiye ettiği veya

yeni yöntemler ile çalışmalar literatürlerde görülmektedir. Ticari yöntemler arasında Candifast, Integral System Yeasts, Fungitest referans M27-A yöntemi ile uyumunun sınırlı olduğunu belirleyen araştırmalar yanında^(10,33) kullanılabilirliğini de savunan araştırmalar vardır. Bunun yanında ATP Fungus, Mycostandard, Mycototal benzer sistemlerdir ve referans M27-A yöntemi ile uyumunun sınırlı olduğunu yayınlanmıştır⁽¹¹⁾. Ticari sistemler içinde alamar Blue kolorimetrik sistemler de vardır. Bunlardan Sensititre Yeast one Colorimetric antifungal panel (Trek Diagnosytic system, Inc.) referans sistemle % 85 uyum elde edildiğini bildiren çalışmalar⁽¹⁷⁾ yanında *C.neoformans* ile bazı zorlukların olduğu rapor edilmektedir⁽²⁵⁾. ASTY colorimetric panel (Kyokuyuto Pharmaceutical Industrial, Ltd. Tokyo, Japon) M27 referans yöntemle uyumlu olduğu bildirilmektedir⁽²⁸⁾. NeoSensitabs disk testi çalışılmasında flukonazol, vorikonazol için CLSI method M44-A disk testine göre uyum olduğu ve bu uymun itrakonazol ve kaspofungin disk için uygulanabileceği fakat amfoterisin B için daha fazla çalışma gerektiği uyumun düşük olduğu bildirilmektedir⁽¹⁴⁾.

Son yıllarda Vitek 2 antifungal duyarlılık testi ile çalışmalar artmıştır^(4,27). Peterson ve ark.⁽²⁷⁾ *Candida* spp. karşı kaspofungin, mikafungin ve posakonazole duyarlılığını Vitek 2 ve CLSI 27-A3 ile karşılaştırmaları sonucunda sırasıyla; % 99.8, % 98.2 ve % 98.1 uyum bulmuşlardır. Benzer olarak başka bir çalışmada CLSI 27-A2 ile *Candida* spp., *C.neoformans* ve *Geotrichum capitatum* suşlarına karşı amfoterisin B, flukonazol ve vorikonazolun duyarlılığını Vitek 2 ve CLSI 27-A2 ile karşılaştırmaları sonucunda sırasıyla; % 99.5, % 92 ve % 98.2 olarak uyum bulmuşlardır⁽⁴⁾.

Etest (AB Biodisk, Solna, Sweden) agar baz dayalı plastik striplerden antimikrobiyal ajanların gradient konsantrasyonlarında difüze olduğu antibiyotik duyarlılık testidir. Etest strip-ler amfoterisin B, kaspofungin, flusitozin, flukonazol, itrakonazol, vorikonazol ve posakonazol için ticari stripler vardır. Bununla beraber sadece flukonazol, itrakonazol ve flusitozin için FDA onayı alınmıştır. Endpoint belirleme bazı suşlarda zor olmakla birlikte birçok *Candida* suşu için

standart yöntemlerle uyumlu olduğu kabul edilmektedir⁽²³⁾. Koç ve ark.⁽²³⁾ *Candida* suşlarının amfoterisin B, ketokonazol, itraconazol ve flukonazol duyarlılığı Etest antifungal duyarlılık testi ile referans yöntemine göre uyum sırasıyla % 93.1, % 85.2, % 82.3 olduğunu göstermişlerdir. *Aspergillus* türlerini içeren tıbbi önemi olan küflerle yapılan çalışmada amfoterisin B ve itraconazol duyarlılıklarının karşılaştırılmasında Etest yönteminin referans yöntemine göre uyumun yüksek olduğu bildirilmektedir⁽³²⁾. *Candida* türlerine karşı ekinokandin CLSI ve EUCAST ve Etest yöntemlerinin karşılaştırıldığı çalışmalarda her üç yöntemin de çok uyumlu olduğu bildirilmektedir⁽³⁰⁾. Ayrıca antifungallere karşı mikroorganizmaların dirençlerini belirlemek için ve direnç mekanizmalarını ortaya çıkarmak için moleküller yöntemlerden yararlanılmaktadır⁽¹⁶⁾.

Fungusidal aktivite ve klinik önemi

CLSI çalışmaları laboratuvarlarda MFC ve time-kill çalışmaları ile fungusidal aktiviteyi güvenilir bir şekilde yapılabileceğini göstermiştir. *Aspergillus* türlerine karşı fungusidal aktiviteyi mikrodilüsyon kolorimetrik yöntemle yapan bir çalışmada fungusidal aktivitenin antifungal ajanlara göre farklı olabileceğini bildirerek bu yöntemin kültür kullanılarak yapılan yöntemlere göre hızlı ve % 91-100 oranında uyumlu olduğu bildirilmektedir⁽²⁶⁾. Hastaların tedavilerinde MFC sonuçlarının güvenle kullanmak için bu prosedürlerin standart olmasına ihtiyaç vardır. Bu yöntemlerin standart olması için invivo ve invitro sonuçlar paralel olmalıdır. Küflerin neden olduğu infeksiyonlarda invitro sonuçlar ile invivo sonuçların karşılaştırıldığı birkaç çalışma vardır⁽²⁰⁾. *A.fumigatus*, *Fusarium* spp. ve *S.prolificans* için amfoterisin B ile klinik yetersizlik MİK>0.8 µg/ml ile ilişkili olduğu⁽¹²⁾; amfoterisin B ve itraconazolin aspergilloz tedavisinde klinik yetersizliği sırasıyla MİK>0.8 µg/ml ve MİK>2 µg/ml ile benzer olduğu bildirilmektedir⁽³⁰⁾.

İnvitro antifungal duyarlılık testi ile invivo korelasyon çalışmalarında *Candida* infeksiyonlarında antifungal duyarlılık testi önemi belirlenmiştir⁽³⁴⁾. Litaratürde 1988-2005 tarihler arasında 11 çalışmanın değerlendirildiği 2011'de sunulan akut lösemili hastaların antifungal teda-

vi raporunda *Candida* infeksiyonlarında antifungal duyarlılık testi yapılması gerektiğini, bunun yanında küfler için çalışmaların devam edildiğini ve küflerin tür düzeyinde identifikasyon yapılması gerektiği bildirilmektedir⁽¹⁹⁾.

Sonuç olarak; antifungal duyarlılık testi, 1982'den bu zamana kadar büyük gelişmeler göstermiştir. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında bu yöntemlerin daha fazla uygulanabilmesi ve kullanılması için kabul edilebilir modifikasyonları da vardır. Bununla beraber mantar hastalıklarının tedavilerinde duyarlılık testleri ile ilgili sorunlar tam anlamıyla yanıtlanmamıştır. Bunlar; maya ve küflerin yeni antifungallar ile çalışmalarının sonuçları; nadir karşılaşılan maya ve küflerin sonuçları; antifungal kombinasyonları ve bunların organizma üzerindeki sonuçlarıdır. Bundan dolayı bunlar ile ilişkili çalışmalar devam etmeli, sonuçları değerlendirilmeli ve literatüre sunulmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Arendrup MC, Park S, Brown S, Pfaller M, Perlin DS. Evaluation of CLSI M44-A2 disk diffusion and associated breakpoint testing of caspofungin and micafungin using a well-characterized panel of wild-type and fks hot spot mutant candida isolates, *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55(5);1891-5. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.01373-10> PMID:21357293 PMCID:3088242
2. Arendrup MC, Rodriguez-Tudela JL, Park S et al. Echinocandin susceptibility testing of Candida spp. using EUCAST EDef 7.1 and CLSI M27-A3 Standard Procedures: Analysis of the influence of bovine serum albumin supplementation, storage time, and drug lots. See 1 article found using an alternative search, *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55(4):1580-7. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.01364-10> PMID:21245440 PMCID:3067145
3. Arikan S. Current status of antifungal susceptibility testing, *Med Mycol* 2007;45(7):569-87. <http://dx.doi.org/10.1080/13693780701436794> PMID:17885947
4. Borghi E, Iatta R, Sciota R et al. Comparative Evaluation of the Vitek 2 Yeast Susceptibility Test and CLSI Broth Microdilution Reference Method for Testing Antifungal Susceptibility of Invasive

- Fungal Isolates in Italy: the GISIA3 Study, *J Clin Microbiol* 2010;48(9):3153-57.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00952-10>
 PMid:20631105 PMCID:2937670
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Standard-Third Edition. CLSI Document M27-A3, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA (2008).
 6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi, Approved Standard-Second Edition, CLSI Document M38-A2, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA (2008).
 7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts CLSI Document M44-A2, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA (2009).
 8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Nondermatophyte Filamentous Fungi, Approved Guideline, CLSI Document M51-A, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA (2010).
 9. Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Alastruey-Izquierdo A et al. Comparison of the Vitek 2 antifungal susceptibility system with the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) broth microdilution reference methods and with the sensititre yeastone and Etest techniques for in vitro detection of antifungal resistance in yeast isolates, *J Clin Microbiol* 2010;48(5):1782-6.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.02316-09>
 PMid:20220169 PMCID:2863906
 10. Davey KG, Holmes AD, Johnson EM, Szekely A, Warnock DW. Comparative evaluation of fungitest and broth microdilution methods for antifungal drug susceptibility testing of *Candida* species and *Cryptococcus neoformans*, *J Clin Microbiol* 1998;36(4):926-30.
 PMid:9542910 PMCID:104662
 11. Druetta A, Freydiere A, Guinet R, Gille Y. Evaluation of five commercial antifungal susceptibility testing systems, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993;12(5):336-42.
<http://dx.doi.org/10.1007/BF01964429>
 PMid:6756909
 12. Espinel-Ingroff A. Comparison of in vitro activities of the new triazole posaconazole and the echinocandins MK-0991 (L-743,872) and LY303366 against opportunistic filamentous and dimorphic fungi and yeasts, *J Clin Microbiol* 1998;36(10):2950-6.
 PMid:9738049 PMCID:105093
 13. Espinel-Ingroff A, Canton E, Fothergill A et al. Quality control guidelines for amphotericin B, itraconazole, posaconazole, and voriconazole disk diffusion susceptibility tests with nonsupplemented Mueller-Hinton agar (CLSI M51-A document) for nondermatophyte filamentous fungi, *J Clin Microbiol* 2011;49(7):2568-71.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00393-11>
 PMid:21543581 PMCID:3147863
 14. Espinel-Ingroff A, Canton E, Gibbs D, Wang A. Correlation of Neo-Sensitabs Tablet Diffusion Assay results on three different agar media with CLSI broth microdilution M27-A2 and disk diffusion M44-A results for testing susceptibilities of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans* to amphotericin B, caspofungin, fluconazole, itraconazole, and voriconazole, *J Clin Microbiol* 2007;45(3):858-64.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01900-06>
 PMid:17215342 PMCID:1829139
 15. Espinel-Ingroff A, Fothergill A, Fuller J, Johnson E, Pelaez T, Turnidge J. Wild-type MIC distributions and epidemiological cutoff values for caspofungin and *Aspergillus* spp. for the CLSI broth microdilution method (M38-A2 Document), *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55(6):2855-9.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.01730-10>
 PMid:21422219 PMCID:3101428
 16. Espinel-Ingroff A, Pfaller M. Susceptibility tests methods: yeasts and filamentous fungi "Murray PR, Baron EJ, Jorgensen HJ, Pfaller MA (ed). Manual of Clinical Microbiology, 9. baski" kitabinda s.1972-86, ASM Press, Washinton DC (2007).
 17. Espinel-Ingroff A, Pfaller M, Messer SA, Knapp CC, Killian S, Norris HA. Multicenter comparison of the SensititreYeastOne Colorimetric Antifungal Panel with the National Committee for Clinical Laboratory Standards M27-A reference method for testing clinical isolates of common and emerging *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., and other yeasts and yeast-like organisms, *J Clin Microbiol* 1999;37(3):591-5.
 PMid:9986817 PMCID:84481
 18. EUCAST definitive Document E.DEF 7.1. Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for fermentative yeasts, *Clin Microbiol Infect* 2008;14(4): 398-405.

- <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01935.x>
PMid:18190574
19. Herbrecht R, Flückiger U, Gachot B, Ribaud P, Thiebaut A. Catherine cordonnier antifungal therapy in leukemia patients UPDATE ECIL 4, 6 September 2011. <http://www.ebmt.org/contents/resources/library/ecil/pages/ecil.aspx>
 20. Johnson EM. Issues in antifungal susceptibility testing, *J Antimicrob Chemother* 2008;61(Suppl 1):i13-8.
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkm427>
PMid:18063599
 21. Kahlmeter G, Brown D. Harmonization of antimicrobial breakpoints in Europe- can it be achieved ? *ESCMID News* 2005;1:23-7.
 22. Kahlmeter G, Brown D. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and EUCAST, *ESCMID News* 2005;1:12.
 23. Koc AN, Gokahmetoglu S, Oguzkaya M. Comparison of E test with the broth microdilution method in susceptibility testing of yeast isolates against four antifungals, *Mycoses* 2000;43(7-8):293-7.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1439-0507.2000.00574.x>
 24. Lass-Flörl C, Perkhofer S, Mayr A. In vitro susceptibility testing in fungi: a global perspective on a variety of methods, *Mycoses* 2010;53(1):1-11.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0507.2009.01813.x>
PMid:20078786
 25. Lopez-Jodra O, Torres-Rodriguez JM, Mendez-Vasquez R et al. In vitro susceptibility of *Cryptococcus neoformans* isolates to five antifungal drugs using a colorimetric system and the reference microbroth method, *J Antimicrob Chemother* 2000;45(5):645-9.
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/45.5.645>
PMid:10797087
 26. Meletiadis J, Antachopoulos C, Stergiopoulou T, Pournaras S, Roilides E, Walsh TJ. Fungicidal activities of amphotericin B and voriconazole against *Aspergillus* species determined by microbroth methodology, *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51(9):3329-37.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00345-07>
PMid:17576838 PMCid:2043246
 27. Peterson JF, Pfaller MA, Diekema DJ, Rinaldi MG, Riebe KM, Ledeboer NA. Multicenter comparison of the Vitek 2 antifungal susceptibility test with the CLSI broth microdilution reference method for testing caspofungin, micafungin, and posaconazole against *Candida* spp., *J Clin Microbiol* 2011;49(5):1765-71.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.02517-10>
PMid:21430096 PMCid:3122687
 28. Pfaller MA, Ander D, Diekema DJ, Espinel-Ingroff A. Wild-type MIC distributions, epidemiological cutoff values and species-specific clinical breakpoints for fluconazole and *Candida*: Time for harmonization of CLSI and EUCAST broth microdilution methods, *Drug Resistance Updates* 2010;13(6): 180-95.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.drug.2010.09.002>
PMid:21050800
 29. Pfaller MA, Arikan S, Lozano-Chiu M et al. Clinical evaluation of the ASTY colorimetric microdilution panel for antifungal susceptibility testing, *J Clin Microbiol* 1998;36(9):2609-12.
PMid:9705401 PMCid:105171
 30. Pfaller MA, Castanheira M, Diekema DJ, Messer SA, Moet GJ, Jones RN. Comparison of European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) and Etest methods with the CLSI broth microdilution method for echinocandin susceptibility testing of *Candida* species, *J Clin Microbiol* 2010;48(5):1592-9.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.02445-09>
PMid:20335424 PMCid:2863935
 31. Pfaller MA, Espinel-Ingroff A, Boyken L et al. Comparison of the broth microdilution (BMD) method of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing with the 24-hour CLSI BMD method for testing susceptibility of *Candida* species to fluconazole, posaconazole, and voriconazole by use of epidemiological cutoff values, *J Clin Microbiol* 2011;49(3):845-50.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.02441-10>
PMid:21227994 PMCid:3067722
 32. Pfaller M A, Messer SA, Mills K, Bolmstrom A. In vitro susceptibility testing of filamentous fungi: comparison of Etest and reference microdilution methods for determining itraconazole MICs, *J Clin Microbiol* 2000;38(9):3359-61.
PMid:10970383 PMCid:87386
 33. Posteraro B, Romano L, Sanguinetti M, Masucci L, Morace G, Fadda G. Commercial systems for fluconazole susceptibility testing of yeasts: comparison with the broth microdilution method, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000;38(1):29-36.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0732-8893\(00\)00174-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0732-8893(00)00174-7)
 34. Uchida K, Shimogawara K, Yamaguchi H. Correlation of in vitro activity and in vivo efficacy of itraconazole intravenous and oral solubilized formulations by testing *Candida* strains with various itraconazole susceptibilities in a murine invasive infection, *J Antimicrob Chemother* 2011;66(3): 626-34.
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkq475>
PMid:21172782

Eş Zamanlı Oturum: Panel 14 sunularından

MDR-ACINETOBACTER İNFEKSİYONLARINDA GÜNCEL DURUM

Yöneten: **Halis AKALIN**

- Direnç mekanizmaları ve direnç belirleme yöntemleri
Zerrin AKTAŞ
- MDR-*Acinetobacter* infeksiyonlarında epidemiyolojik anlamda güncel durum
Özlem AZAP