

ANTİFUNGAL DUYARLILIK TESTLERİ: NEREDEYİZ**Sevtap ARIKAN****Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, (sarikan@metu.edu.tr)**

İnfeksiyonlarda etken olarak saptanan mantarların antifungal ilaçlara duyarlılıklarını belirlemek amacıyla standart yöntemlerin geliştirilmesi, mikoloji alanındaki önemli ilerlemelerden biri olmuştur. Şu anda mevcut olan referans yöntemler, CLSI ("Clinical and Laboratory Standards Institute") tarafından maya (CLSI, M27-A2) (1) ve küfler (CLSI, M38-A) (2) için geliştirilen mikrodilüsyon yöntemi, CLSI tarafından *Candida* (flukonazol, vorikonazol) için geliştirilen disk difüzyon yöntemi (3) ile EUCAST ("European Confederation of Antifungal Susceptibility Testing") tarafından CLSI yöntemi modifiye edilerek mayalar için geliştirilen mikrodilüsyon yöntemidir (EUCAST E.Dis 7.1) (4). Referans mikrodilüsyon yöntemlerinin, uzun sürede sonuç verme ve bazı *Candida* suşları ve azoller için minimum inhibitör konsantrasyon (MİK, µg/ml) sonuçlarının okunmasının zor olması gibi bazı dezavantajları bulunmaktadır. Bunun dışında, MİK direnç sınır değerleri, henüz sadece *Candida*-flukonazol, itrakonazol, vorikonazol ve flusitozin için belirlenmiş olup, diğer mantar-ilaç kombinasyonları için direnç sınırlarının ne olduğu kesin bilinmemektedir (1, 5). *In vitro* amfoterisin B direncinin saptanmasındaki zorluklar ve mevcut yöntemlerle amfoterisin B için elde edilen *in vitro* sonuçlarla *in vivo* yanıt arasında korelasyon kurulamayışı, konu ile ilgili diğer sorunları oluşturmaktadır (6).

Mevcut olan bu güncel sorunlar ışığında, antifungal duyarlılık testleri ile ilgili çalışmalar, bu sorunları en aza indirgeyecek, hızlı ve/veya pratik yöntem arayışlarına ve bu alandaki çalışmalara odaklanmıştır. Bu konu ile ilgili yapılan bazı çalışmalar, E test (AB BioDisk) ve ticari olarak mevcut olan kolorimetrik bir sistem olan "Sensitre Yeast One"ı (TREK Diagnostic Systems) referans yöntem ile karşılaştırmayı hedeflemiştir. Bu çalışmaların sonuçları, referans yöntem ile bu yöntemler arasındaki uyum oranlarının genelde iyi düzeyde olduğunu göstermekle birlikte, özellikle *C. glabrata* gibi flukonazole azalmış duyarlılık ya da direnç saptanan ve MİK değeri sınır değerlere yakın olabilen türlere ait suşlarda uyum oranlarının düşük düzeylerde olabileceğine işaret etmektedir (7, 8). Tetrazolyum tuzunun (XTT) indirgenmesi esasına dayanan ve bir kolorimetrik metabolik test olan XTT testi ise, *Candida*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* ve *Zygomycetes* sınıfındaki mantarların antifungal ilaçlara duyarlılığını belirlemek amacıyla denenen testlerden biridir (9, 10). XTT testi, standart yöntemle göre daha kısa sürede sonuç verme avantajını sunmakta ise de, bu konu ile ilgili veriler henüz sınırlı ve araştırma aşamasında olup, daha ayrıntılı çalışmalara gereksinim mevcuttur.

"Flow" sitometre ve ergosterol miktarının tayini, antifungal ilaçlara duyarlılığın belirlenmesi için araştırılan diğer yöntemlerdir. "Flow" sitometre, *Candida* ve *Aspergillus* türleri için araştırılmış, saatler içerisinde ve referans yöntemler ile genellikle iyi düzeyde korelasyon gösteren sonuçlar elde edilmiştir. Ancak, özel donanım gerektirmesi nedeniyle, yaygın kullanımı olası gözükmemektedir (11, 12). Üreme inhibisyonu yerine ergosterol miktarının saptanmasının antifungal ilaçlara duyarlılığı belirlemedeki rolü ise, özellikle azol MİK sonuçlarının zor okunduğu, "trailer" *Candida* suşları için araştırılmaktadır (13). Yöntem, ümit verici olmakla birlikte henüz deneysel aşamadır. Bunun dışında, CLSI M38-A yöntemi modifiye edilerek dermatofitler için de bir *in vitro* duyarlılık yöntemi önerisi oluşturulmuş, kalite kontrolü için kullanılacak aday suşlar belirlenmiştir (14).

Antifungal duyarlılık testleri alanında, hem mevcut referans yöntemlerin in vivo yanıt ile korelasyonunu araştıran, hem de yeni, pratik ve/veya hızlı yöntemlerin referans yöntemler ile uyum oranlarını inceleyen çalışmalar devam etmektedir. Bugüne dek elde edilen sonuçlar, özellikle *Candida* infeksiyonlarında, flukonazol başta olmak üzere bazı triazol bileşikleri için elde edilen in vitro duyarlılık sonuçlarının, tedaviyi yönlendirmede faydalı olabileceğini göstermektedir (15). Elde edilecek yeni verilerin ve geliştirilen yeni yöntemlerin, antifungal duyarlılık testlerinin antifungal tedaviyi yönlendirmedeki yardımcı rolünü güçlendireceği ümit edilmektedir. Ancak, antifungal duyarlılık, özellikle bağışıklığı baskılanmış konakta, klinik yanıtı etkileyen faktörlerden sadece birisidir ve konak faktörleri başta olmak üzere diğer faktörlerin etkisi, göz ardı edilemeyecek kadar önemlidir .

Kaynaklar

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Approved standard NCCLS document M27-A2. Wayne, Pa: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002.
2. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; Approved Standard NCCLS Document M38-A. Wayne, Pa: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002.
3. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; Approved Guideline M44-A. Wayne, Pa: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2004.
4. Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing, Rodriguez-Tudela JL, Barchiesi F, et al. Method for the determination of minimum inhibitory concentration (MIC) by broth dilution of fermentative yeasts. EUCAST Discussion Document E.Dis 7.1. Munich, Germany: European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases; June 2002.
5. Pfaller MA, Diekema DJ, Rex JH, et al. Correlation of MIC with outcome for *Candida* species tested against voriconazole: Analysis and proposal for interpretive breakpoints. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 819-826.
6. Park BJ, Arthington-Skaggs BA, Hajjeh RA, et al. Evaluation of amphotericin B interpretive breakpoints for *Candida* bloodstream isolates by correlation with therapeutic outcome. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 1287-1292.
7. Pfaller MA, Diekema DJ, Boyken L, Messer SA, Tendolkar S, Hollis RJ. Evaluation of the Etest and disk diffusion methods for determining susceptibilities of 235 bloodstream isolates of *Candida glabrata* to fluconazole and voriconazole. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1875-1880.
8. Alexander BD, Byrne TC, Smith KL, et al. Comparative Evaluation of Etest and Sensititre YeastOne Panels against the Clinical and Laboratory Standards Institute M27-A2 Reference Broth Microdilution Method for Testing *Candida* Susceptibility to Seven Antifungal Agents. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 698-706.
9. Antachopoulos C, Meletiadiis J, Roilides E, Sein T, Walsh TJ. Rapid susceptibility testing of medically important zygomycetes by XTT assay. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 553-560.
10. Hawser SP, Jessup C, Vitullo J, Ghannoum MA. Utility of 2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-5-[(phenylamino)carbonyl]-2H-tetrazolium hydroxide (XTT) and minimum effective concentration assays in the determination of antifungal susceptibility of *Aspergillus fumigatus* to the lipopeptide class of compounds. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 2738-2741.
11. Vale-Silva LA, Buchta V. Antifungal susceptibility testing by flow cytometry: Is it the future? *Mycoses* 2006; 49: 261-273.
12. Rudensky B, Broidie E, Yinnon AM, et al. Rapid flow-cytometric susceptibility testing of *Candida* species. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55: 106-109.
13. Arthington-Skaggs BA, Lee-Yang W, Ciblak MA, et al. Comparison of visual and spectrophotometric methods of broth microdilution MIC endpoint determination and evaluation of a sterol quantitation method for *in vitro* susceptibility testing of fluconazole and itraconazole against trailing and nontrailing *Candida* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 2477-2481.
14. Ghannoum MA, Arthington-Skaggs B, Chaturvedi V, et al. Interlaboratory study of quality control isolates for a broth microdilution method (modified CLSI M38-A) for testing susceptibilities of dermatophytes to antifungals. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 4353-4356.
16. Pfaller MA, Diekema DJ, Sheehan DJ. Interpretive breakpoints for fluconazole and *Candida* revisited: a blueprint for the future of antifungal susceptibility testing. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19: 435-447.