



# Actividad antifúngica in vitro de voriconazol: Nuevos datos después de los primeros años de experiencia clínica

Guillermo Quindós<sup>1</sup>, Alfonso Javier Carrillo-Muñoz<sup>2</sup>, Elena Eraso<sup>1</sup>, Emilia Cantón<sup>3</sup> y Javier Pemán<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Micología médica, Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco, Bilbao, España; <sup>2</sup>Departamento de Microbiología, ACIA, Barcelona, España; <sup>3</sup>Unidad de Microbiología Experimental, Centro de Investigación, Hospital Universitario La Fe, Valencia, España; <sup>4</sup>Servicio de Microbiología, Hospital Universitario La Fe, Valencia, España

**Resumen** Voriconazol se ha desarrollado para afrontar la necesidad creciente de nuevos y eficaces antifúngicos para tratar las micosis invasoras. Esta revisión describe el espectro de actividad in vitro de voriconazol basándose en los datos obtenidos en estudios publicados en los últimos tres años. Esta valoración demuestra que voriconazol tiene un espectro antifúngico muy amplio que engloba a los patógenos fúngicos más comunes frente a los que desarrolla una acción fungistática (*Candida*) y fungicida contra *Aspergillus* y otros hongos filamentosos. De forma global, más del 95% de todos los aislamientos de *Candida* son sensibles a voriconazol y menos del 3% son resistentes. Tasas de actividades parecidas o mejores se han descrito para *Aspergillus*, *Cryptococcus* y el resto de levaduras y mohos de importancia médica. También discutimos las limitaciones planteadas por la aparición de resistencias cruzadas a los azoles en algunos aislamientos de *Candida glabrata* y la reducida actividad de voriconazol contra *Scedosporium prolificans*, su actividad sobre las biopelículas fúngicas y de la gran utilidad potencial de la combinación de voriconazol con otros antifúngicos.

**Palabras clave** Voriconazol, Actividad in vitro, Antifúngico, *Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus*, Dermatofitos, *Fusarium*, Levaduras, Mohos, *Scedosporium*

## In vitro antifungal activity of voriconazole: New data after the first years of clinical experience

**Summary** Voriconazole has been developed to meet the increasing need for new and useful antifungal agents for the treatment of invasive mycoses. This review describes the in vitro spectrum of voriconazole antifungal activity based on data from in vitro studies published during the last three years. This survey demonstrates that voriconazole has a broad antifungal spectrum against the most common fungal pathogens being its action fungistatic for *Candida* and fungicidal for *Aspergillus* and other filamentous fungi. Overall, more than 95% of all *Candida* isolates tested are susceptible to voriconazole and less than 3% are resistant. Similar or even better activity rates have been described for *Aspergillus*, *Cryptococcus* and most of yeasts and moulds of medical importance. We also discuss the limitations related to the azole cross-resistance observed in some *Candida glabrata* isolates, the poor activity of voriconazole against *Scedosporium prolificans*, its activity against fungal biofilms and the great potential usefulness of combination of voriconazole with other antifungal drugs.

**Key words** Voriconazole, Antifungal agents, *Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus*, Dermatophytes, *Fusarium*, In vitro activity, Moulds, *Scedosporium*, Yeasts

### Dirección para correspondencia:

Dr. Guillermo Quindós  
Laboratorio de Micología médica  
Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología  
Facultad de Medicina y Odontología  
Universidad del País Vasco-Euskal Herriko Unibertsitatea  
Apartado 699, E-48080 Bilbao, Vizcaya, España  
Tel.: (+34) 946012854  
Fax: (+34) 946013495  
E-mail: guillermo.quindos@ehu.es

Durante las últimas décadas el incremento de las micosis invasoras ha sido constante, principalmente en receptores de trasplantes de órganos o de células precursoras hematopoyéticas, en enfermos de sida y otros pacientes inmunodeficientes, en recién nacidos de bajo peso y en enfermos críticos de Unidades de Cuidados Intensivos (UCI), posquirúrgicos o con neoplasias. La mayoría de estos pacientes están sometidos a múltiples maniobras diagnósticas y terapéuticas, están tratados con fármacos antibacterianos de amplio espectro o con antivíricos, o son portadores de catéteres u otros dispositivos intravasculares [11,111,128]. La morbilidad y mortalidad de estas micosis son muy elevadas, hecho que las convierte en un importante problema de salud pública. Su incidencia está aumentando globalmente, estimándose que el 5% de los pacientes hospitalizados va a desarrollar una infección y que entre el 3 y el 6% de estas infecciones será una candidiasis invasora [97,111,130,138,140,161].

Las micosis invasoras provocan gran variedad de lesiones orgánicas y manifestaciones clínicas incluyendo fungemia, endoftalmítis, osteomielitis, endocarditis, neumonía, meningitis o meningo-encefalitis e infección hepato-esplénica. La fungemia, generalmente causada por *Candida*, es la micosis profunda más frecuente. Con menor frecuencia, también se describen micosis respiratorias o diseminadas producidas por *Aspergillus* u otros hongos filamentosos, como *Scedosporium*, *Fusarium*, *Pneumocystis*, *Acremonium* o los cigomicetos (*Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Absidia*, etc.), así como manifestaciones meníngeas o sistémicas producidas por otras especies de levaduras o pseudolevaduras (*Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Saccharomyces*, *Rhodotorula*, etc.) [142].

Los fármacos antifúngicos disponibles para el tratamiento de las micosis invasoras no son numerosos aunque en los últimos años se han obtenido nuevas preparaciones de anfotericina B (anfotericina B liposómica y anfotericina B lipídica), compuestos azólicos con mayor espectro antifúngico y un nuevo grupo de antifúngicos, las equinocandinas (anidulafungina, caspofungina y micafungina), que intentan solucionar los problemas ocasionados por la toxicidad de la anfotericina B desoxicolato o la aparición de resistencias a determinados azoles, como fluconazol [21,25,132]. Dentro de los triazoles de espectro extendido destacan voriconazol, posaconazol, ravuconazol y albaconazol [27,62]. Del primero de estos, voriconazol, se tiene una amplia experiencia en su uso clínico ya que es una indicación terapéutica de primera línea para el tratamiento de las aspergilosis invasoras, esofagitis candidiásicas e infecciones diseminadas por *Scedosporium apiospermum* y *Fusarium*, y también para las candidiasis invasoras en pacientes no neutropénicos y de las candidiasis (incluyendo las producidas por *Candida krusei* y *Candida glabrata*) y otras micosis invasoras refractarias a tratamientos antifúngicos previos [98].

Voriconazol es un triazol de segunda generación derivado del fluconazol pero con una potencia y un espectro de actividad antifúngica muy superiores [27]. Se diferencia de fluconazol por la sustitución de un anillo triazol por una fluoropirimidina y por la adición de un grupo  $\alpha$ -metilo en la cadena propílica que une el anillo triazol con la fluoropirimidina [96]. Estos cambios moleculares confieren a voriconazol una potente acción fungicida frente a los hongos filamentosos, como *Aspergillus* o *Fusarium* [65]. Su acción frente a las levaduras es principalmente fungistática aunque se ha descrito que algunos aislamientos de *Candida* son destruidos por voriconazol [133]. Su acción antimicrobiana se extiende a algunas bacterias, protozoos y algas, como las amebas de vida libre, *Acanthamoeba* spp.

y *Naegleria fowleri* [143] o las algas aclorófilas del género *Prototheca* [71,98].

Su mecanismo de acción es similar al resto de azoles y actúa bloqueando la síntesis de ergosterol mediante la inhibición de la 14 $\alpha$ -demetilasa del lanosterol, dependiente del citocromo P450 (familia enzimática CYP450). La falta o disminución de ergosterol, debilita la integridad y la funcionalidad de la membrana celular fúngica, con una acumulación de precursores del ergosterol, que pueden ser tóxicos para la célula. Las características farmacológicas de voriconazol han sido revisadas recientemente [5,7,78,98] y podemos destacar la disponibilidad de formulaciones oral e intravenosa de este antifúngico que facilitan su adaptación a las necesidades terapéuticas más habituales. Voriconazol se absorbe rápidamente tras su administración oral en ayunas, alcanzando una concentración plasmática máxima en unas dos horas y posee una biodisponibilidad relativa de hasta el 96%. Al contrario que itraconazol y posaconazol, la absorción no se altera con las variaciones de pH gástrico aunque las comidas ricas en grasas reducen su biodisponibilidad. Después de su administración intravenosa se alcanzan concentraciones plasmáticas máximas de 3 a 6  $\mu\text{g/ml}$  aunque hay una gran variabilidad idiosincrásica entre pacientes. Las concentraciones plasmáticas estables se consiguen tras cinco días de tratamiento oral o intravenoso, pero pueden lograrse en un día si se administra una dosis de carga de 6 mg/kg cada 12 h [7,96,98].

Este artículo se revisan las fortalezas y limitaciones observadas en el espectro antifúngico in vitro de voriconazol a la luz de los datos que se han ido generando después de cuatro años de experiencia clínica. Con este objetivo se ha realizado una búsqueda bibliográfica mediante el empleo de los términos *voriconazole*, *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Scedosporium*, *Fusarium*, *fungi*, *mycosis*, *susceptibility*, *activity*, en la base de datos PubMed/Medline de la National Library of Medicine de EE.UU. desde enero de 2005 hasta junio de 2007. Se han incluido todos aquellos estudios que aportaban datos de actividad in vitro de voriconazol que cumplían con el requisito de haber realizado el estudio de sensibilidad con métodos estandarizados reconocidos por la comunidad científica internacional: métodos M27-A2 [49,86], M38-A [48,85] y M44-A [87,104] del Clinical Laboratory Standards Institute (EE.UU.), EUCAST (Unión Europea) [36,42,49], NeoSensitabs (Dinamarca) [42,124], Sensititre YeastOne (EE.UU.) [18,26,28,57] y Etest (Suecia) [35,42,50,74]. Los rangos de la CMI de voriconazol, anfotericina B, fluconazol e itraconazol se han basado en los descritos por los diferentes autores citados en la bibliografía consultada y las CMI90 descritas en las tablas deben considerarse como orientativas dado que se han inferido de los resultados publicados.

### Actividad in vitro contra *Candida*, *Cryptococcus* y otras levaduras o pseudolevaduras de interés médico

Las candidiasis son las micosis invasoras más frecuentes y presentan un pronóstico sombrío debido a las graves enfermedades subyacentes de los pacientes y a la acción patógena directa de *Candida*. La gran mayoría de las infecciones por *Cryptococcus* se observan en pacientes inmunodeficientes, aunque su frecuencia dista mucho de la de las candidiasis invasoras, principalmente receptores de órganos, pacientes con neoplasias (leucemias, mieloma y linfoma) o en personas en estadios finales de la infección por el VIH o sida. Las infecciones diseminadas por otras levaduras y pseudolevaduras de interés médico (*Trichosporon*, *Geotrichum*, *Saccharomyces*, *Rhodotorula*, *Proto-*

*theca*, etc.) son todavía menos comunes pero se asocian a una mortalidad alta [54,128]. En el último artículo publicado del ARTEMIS Global Antifungal Surveillance Program [102] que engloba los 205.329 aislamientos obtenidos durante 8'5 años (1997-2005) en 134 hospitales de 40 países, el 95'7% de los mismos pertenecían al género *Candida*. El resto de los aislamientos (4'3%) se distribuía entre los géneros *Cryptococcus* (33%), *Saccharomyces* (11'3%), *Trichosporon* (10'7%) y *Rhodotorula* (4'2%).

### *Candida*

Actualmente, la candidiasis invasora representa la cuarta causa de infección nosocomial en Europa y EE.UU. [100]. La incidencia de candidemia se ha estimado en dos casos por cada 1.000 ingresos en Unidades críticas mixtas y 9'9 casos en Unidades críticas quirúrgicas [98]. La mortalidad por candidiasis invasora está condicionada por diferentes factores, tanto diagnósticos como terapéuticos [75] y oscila entre el 25 y el 38%, pudiendo llegar a ser del 70% en enfermos con una inmunodeficiencia profunda [153]. *Candida albicans* es la especie predominante pero su frecuencia de aislamiento en hemocultivos está disminuyendo y aumentando la de especies diferentes de *C. albicans* en todo el mundo. En los últimos años se ha producido un importante cambio epidemiológico en la etiología de las candidiasis invasoras y otras especies como *Candida parapsilosis*, *C. glabrata*, *Candida tropicalis* o *C. krusei* representan entre el 35 y el 55% de los aislamientos clínicos. El problema que plantea esta deriva etiológica es principalmente terapéutico, ya que estas especies diferentes de *C. albicans* suelen presentar una menor sensibilidad e incluso resistencia a los antifúngicos. Se han descrito alrededor de 20 especies de *Candida* implicadas en la etiología de la candidiasis invasora. El 90% de estas infecciones están causadas por cinco especies *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. krusei* [61,84,88,94,95,112,130,141].

*Candida parapsilosis* ocupa el segundo lugar entre las especies más frecuentemente aisladas, ocupando el tercer puesto *C. glabrata* [3,97,112,139,153]. Aunque debemos resaltar que hay grandes variaciones en este ranking etiológico, con la presencia de *C. glabrata* en el segundo puesto de las especies más aisladas de hemocultivos en países como EE.UU. [108]. Tanto *C. albicans* como *C. parapsilosis* son especies con una gran capacidad de adherirse a células y catéteres u otros materiales sanitarios y de producir biopelículas in vivo e in vitro [66,67] y esta propiedad parece estar relacionada con su mayor incidencia. La presencia de resistencias microbiológicas en determinadas especies, como *C. krusei*, *C. glabrata*, *Candida dubliniensis* o *Candida lusitanae* [84,113,114] hace aun más necesario un diagnóstico temprano que permita la instauración lo más rápidamente posible del tratamiento antifúngico adecuado [128].

La excelente actividad in vitro de voriconazol frente a los aislamientos clínicos del género *Candida* se ha reflejado en un número importante de estudios locales y multicéntricos en todo el mundo (Tabla 1). Recientemente el CLSI ha propuesto los puntos de corte provisionales (concentraciones mínimas inhibitorias -CMI-) para discriminar la existencia de aislamientos resistentes in vitro a voriconazol [104]. Se consideran resistentes a voriconazol los aislamientos clínicos de levaduras inhibidos por concentraciones superiores o iguales a 4 µg/ml de voriconazol, sensibles dependientes de la dosis a los aislamientos inhibidos por concentraciones de 2 µg/ml y sensibles a los inhibidos por 1 µg/ml o menos de voriconazol. Algo similar se ha propuesto para el halo de inhibición del creci-

miento empleando el método M44-A respecto a las levaduras. Con este método, los diámetros para categorizar a los aislamientos son:  $\geq 1$  mm (aislamientos sensibles), de 14 a 16 mm (aislamientos sensibles dependientes de la dosis) y  $\leq 13$  mm (aislamientos resistentes) [104]. Con estos puntos de corte como referencia, entre el 95 y el 99% de los aislamientos clínicos del género *Candida* son sensibles a voriconazol [104]. Aunque no hay una definición clara para el caso de los hongos filamentosos, estos puntos de corte empleados para las levaduras podrían considerarse orientativos.

En el amplio estudio de Pfaller et al. [104], la CMI<sub>90</sub> global para *Candida* era de 0'25 µg/ml y el 99% de los aislamientos estudiados se inhiben con  $\leq 1$  µg/ml de voriconazol. Otros autores (ver tabla 1) han encontrado CMI<sub>90</sub> similares en un amplio abanico de instituciones médicas de muy diferentes países. Un resultado parecido se reflejaba en el estudio multicéntrico ARTEMIS [102], donde el 94'8% de los 137.487 aislamientos estudiados del género *Candida* son sensibles a voriconazol, un 2'1% son sensibles dependiente de la dosis y un 3'1% son resistentes. Voriconazol era bastante más activo que fluconazol contra todas las especies aisladas con la excepción de la especie *C. tropicalis*. En esta especie el 90'4% de los aislamientos son sensibles a fluconazol mientras que lo son el 88'5% a voriconazol. La mayoría de las especies resistentes a fluconazol eran sensibles a voriconazol pero los porcentajes de sensibilidad varían del 100% en *Candida sake* y *Candida pulcherrima* hasta el 75% en *C. dubliniensis*. Dentro de las especies que presentaron mayores porcentajes de aislamientos resistentes a voriconazol se encontraban *Candida rugosa* (36%), *Candida lipolytica* (25%) y *Candida valida* (25%).

Lo mostrado en los estudios de sensibilidad empleando métodos de difusión en disco se corrobora en los que han evaluado la sensibilidad a voriconazol por microdilución. Así, las CMI de voriconazol son más elevadas para los aislamientos clínicos de *C. albicans*, *C. glabrata* u otras especies de *Candida* resistentes a fluconazol e itraconazol (fenotipo RR). Entre el 5 y el 10% de los aislamientos de *C. glabrata* son resistentes in vitro a voriconazol [104,114], aunque alrededor del 60% de los aislamientos de *C. glabrata* resistentes a fluconazol e itraconazol lo son también a voriconazol [106]. Sin embargo, las CMI de voriconazol son muy bajas para los aislamientos de *C. krusei* con resistencia innata a fluconazol o especies emergentes como *Issatchenkia occidentalis* (anamorfo *Candida sorbosa*) [136], *Pichia anomala* (anamorfo *Candida pelliculosa*) [127], *Candida lusitanae* [96], *Candida rugosa* [101] o *Candida guilliermondii* [103] que muestran una menor sensibilidad a fluconazol y otros antifúngicos. Pfaller et al. [101,102,105,108] han observado la existencia de variaciones geográficas, etarias y temporales en la sensibilidad a los azoles y específicamente a fluconazol y voriconazol en varias especies de *Candida*, como *C. glabrata*, *C. guilliermondii* o *C. rugosa* [101,103,108].

Sin duda, la especie de *Candida* que más recelos provoca es *C. glabrata* porque muestra una gran variación en su sensibilidad in vitro a fluconazol y voriconazol [102,108]. Los aislamientos procedentes de Asia (área del Pacífico) son más sensibles a voriconazol que los procedentes de otras áreas geográficas; por el contrario, los de Norteamérica han resultado menos sensibles [102]. Los aislamientos de *C. glabrata* muestran también una sensibilidad diferente según la edad de los pacientes, siendo los procedentes de pacientes ancianos los que muestran una mayor resistencia a los antifúngicos azólicos. También, se ha descrito que esta especie causa infecciones intercurrentes en enfermos con inmunodeficiencia grave que reciben

**Tabla 1.** Actividad in vitro de voriconazol, anfotericina B, fluconazol e itraconazol contra especies de *Candida*.

Especie	Antifúngico	Número de aislamientos	Intervalo de CMI (µg/ml)	CMI <sub>50</sub> (µg/ml)	Referencias
<i>Candida albicans</i>	VCZ	9486	≤ 0'03-32	0'03	[8,13,18,37,41,43,56,74,81,94,104,144,154,160]
	AMB	3241	≤ 0'03-2	0'5	
	FCZ	3776	≤ 0'03-128	8	
	ITZ	3720	≤ 0'03-16	0'25	
<i>Candida dubliniensis</i>	VCZ	82	≤ 0'03-16	0'125	[8,137]
	AMB	62	0'25-1	1	
	FCZ	82	≤ 0'03-64	2	
	ITZ	82	≤ 0'03-16	1	
<i>Candida guilliermondii</i>	VCZ	204	≤ 0'03-0'5	0'125	[41,81,104]
	AMB	52	≤ 0'03-0'5	0'25	
	FCZ	52	≤ 0'03-32	8	
	ITZ	52	≤ 0'03-1	0'5	
<i>Candida glabrata</i>	VCZ	2457	≤ 0'03-32	1	[8,13,18,41,43,56,74,81,104,114,144,151,160]
	AMB	994	≤ 0'03-2	1	
	FCZ	1044	4-> 256	32	
	ITZ	1044	0'06-> 16	2	
<i>Candida lusitanae</i>	VCZ	175	≤ 0'03-0'06	0'03	[41,104,151,160]
	AMB	65	0'125-1	0'5	
	FCZ	65	0'125-4	2	
	ITZ	32	≤ 0'03-0'25	0'06	
<i>Candida kefyr</i>	VCZ	131	≤ 0'03-4	0'06	[74,81,104]
	AMB	72	≤ 0'03-4	0'5	
	FCZ	72	≤ 0'03-> 256	1	
	ITZ	72	≤ 0'03-2	0'5	
<i>Candida krusei</i>	VCZ	552	≤ 0'03-> 16	0'5	[18,41,43,74,81,104,114,144,151]
	AMB	226	≤ 0'03-2	0'5	
	FCZ	226	32-> 256	128	
	ITZ	236	≤ 0'03-8	1	
<i>Candida parapsilosis</i>	VCZ	2176	≤ 0'03-8	0'06	[13,37,41,43,74,81,144,151,160]
	AMB	724	≤ 0'03-4	0'25	
	FCZ	724	≤ 0'03-64	1	
	ITZ	655	≤ 0'03-2	0'125	
<i>Candida pelliculosa</i>	VCZ	62	≤ 0'03-0'5	0'25	[41,81]
	AMB	10	≤ 0'03-0'5	0'5	
	FCZ	10	≤ 0'03-> 256	> 256	
	ITZ	10	≤ 0'03-> 16	> 16	
<i>Candida tropicalis</i>	VCZ	1628	≤ 0'03-> 16	0'06	[8,13,37,41,43,74,81,144,151,160]
	AMB	490	≤ 0'03-2	0'125	
	FCZ	503	0'125-> 256	2	
	ITZ	489	≤ 0'03-> 16	0'125	

CMI= concentración mínima inhibitoria, VCZ= voriconazol, AMB= anfotericina B, FCZ= fluconazol, ITZ= itraconazol.

voriconazol después de un tratamiento prolongado con fluconazol [2]. Sin embargo, y aunque es difícil comparar la eficacia de los fármacos antifúngicos basándose en los estudios realizados in vitro, el orden de actividad antifúngica contra *C. glabrata* basándonos en el porcentaje de cepas inhibidas por ≤ 1 µg/ml de cada antifúngico (excepto para fluconazol: ≤ 16 µg/ml), sería el siguiente: voriconazol (93%) > ravuconazol (91%) > posaconazol (85%) > anfotericina B (75%) > fluconazol (66%) [5].

#### **Cryptococcus neoformans y otras levaduras o pseudolevaduras de interés médico**

Las infecciones por levaduras de otros géneros son poco frecuentes. Las criptococosis meníngeas y diseminadas se observaban con relativa frecuencia en pacientes infectados por el VIH pero en la actualidad hay un descenso evidente de los casos de criptococosis gracias al tra-

tamiento antirretroviral combinado de alta actividad que está asociado a un mantenimiento o recuperación del número de linfocitos CD4+ de los enfermos. La sensibilidad a los antifúngicos de *Cryptococcus* es variable y depende de la especie y el área geográfica, pero la resistencia in vitro de *C. neoformans* a los antifúngicos es poco frecuente con tendencia a disminuir (del 2% de aislamientos resistentes a fluconazol en el periodo 1990-1994 al 1% en el periodo 2000-2004) [96]. La melanogénesis se considera un factor de virulencia y parece influir en la sensibilidad a los antifúngicos, principalmente a anfotericina B y caspofungina aunque su efecto es inapreciable sobre voriconazol [156]. Voriconazol es muy activo contra *C. neoformans* (Tabla 2) [147]. Los aislamientos procedentes de África son más sensibles a fluconazol que los de Asia o Europa [31,33,99,156], aunque en todos los casos, más del 99% de los aislamientos estudiados se inhibían con con-



**Tabla 2.** Actividad in vitro de voriconazol, anfotericina B, fluconazol e itraconazol contra especies de *Cryptococcus* y de otras levaduras y pseudolevaduras de interés médico.

Especie	Antifúngico	Número de aislamientos	Intervalo de CMI ( $\mu\text{g/ml}$ )	CMI <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )	Referencias
<i>Cryptococcus gattii</i>	VCZ	148	$\leq 0'03\text{-}0'5$	0'125	[41,63,83]
	AMB	93	$\leq 0'03\text{-}2$	0'125	
	FCZ	148	0'125-32	16	
	ITZ	93	$\leq 0'03\text{-}1$	0'5	
<i>Cryptococcus neoformans</i>	VCZ	535	$\leq 0'03\text{-}8$	0'125	[41,63,81,83,99]
	AMB	500	$\leq 0'03\text{-}2$	0'25	
	FCZ	500	0'125-32	4	
	ITZ	520	$\leq 0'03\text{-}2$	0'125	
<i>Malassezia</i> spp.	VCZ	71	$\leq 0'03\text{-}0'125$	0'06	[53b]
	AMB	71	$\leq 0'03\text{-}0'06$	0'06	
	FCZ	71	0'06	0'06	
	ITZ	71	2-4	4	
<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	VCZ	81	$\leq 0'03\text{-}2$	0'25	[8,41,81,151]
	AMB	32	0'25-0'5	0'25	
	FCZ	48	0'125-64	8	
	ITZ	48	$\leq 0'03\text{-}16$	0'5	
<i>Prototheca wickerhamii</i>	VCZ	104	$\leq 0'03\text{-}0'5$	0'5	[71]
	AMB	104	$\leq 0'03\text{-}4$	1	
	FCZ	104	64-> 256	256	
	ITZ	104	0'5-16	1	
<i>Trichosporon asahii</i>	VCZ	32	$\leq 0'03\text{-}> 16$	> 16	[41,131]
	AMB	32	2. > 16	> 16	
	FCZ	32	0'12-64	32	
	ITZ	32	$\leq 0'03\text{-}> 16$	> 16	

CMI= concentración mínima inhibitoria, VCZ= voriconazol, AMB= anfotericina B, FCZ= fluconazol, ITZ= itraconazol.

centraciones  $\leq 1 \mu\text{g/ml}$  de voriconazol. Esta actividad es muy superior a la mostrada in vitro por fluconazol e itraconazol [63,77,102,107,147,156]. Se ha descrito una menor sensibilidad a los azoles, sobre todo a fluconazol, en las especies *Cryptococcus gattii* y *Cryptococcus laurentii* aunque la gran mayoría de los aislamientos de ambas especies son sensibles a voriconazol [63,102,107,147,156].

*Trichosporon asahii* y *Trichosporon mucoides* son las especies de *Trichosporon* que se aíslan con más frecuencia en pacientes con neoplasias hematológicas, provocando infecciones con una tasa de mortalidad superior al 80% [54]. Aunque los estudios son limitados [41,131,146], se ha observado que *T. asahii* es resistente in vitro a la anfotericina B y que los azoles, particularmente voriconazol, tienen una actividad antifúngica superior a la anfotericina B. Por otra parte, el 30% de los aislamientos de *T. mucoides* son resistentes a fluconazol e itraconazol, pero la mayoría son sensibles a voriconazol [102]. Esta excelente actividad antifúngica in vitro de voriconazol también se ha observado contra aislamientos clínicos de *Sacharomyces*, *Blastoschyzomyces*, *Kodamaea*, *Geotrichum*, *Malassezia* y *Rhodotorula* (Tabla 2) [34,41,53-55,102]. Este dato es importante porque estos géneros fúngicos muestran tasas variables de resistencia a fluconazol, itraconazol y anfotericina B [4,15,34,46,53-55,80,123,146]. En este último género, *Rhodotorula*, Pfaller et al. [102] encuentran un importante porcentaje de aislamientos parcialmente resistentes a fluconazol y voriconazol. Finalmente, conviene destacar que las algas unicelulares aclorófilas del género *Prototheca* causantes esporádicamente de prototecosis humana invasora (subcutánea o diseminada) también son muy sensibles a la acción antimicrobiana de voriconazol [71].

### Actividad in vitro contra *Aspergillus* y otros hongos filamentosos de interés médico

Las candidiasis invasoras han sido la principal causa de infección fúngica en pacientes neutropénicos, pero en las últimas décadas han ido disminuyendo, mientras que las aspergilosis invasoras han mostrado un incremento considerable [142]. La aspergilosis invasora presenta una incidencia variable en función del tipo de paciente, siendo mayor en receptores de trasplante alógeno de médula ósea (7 al 12%) y menor en los de trasplante de riñón e hígado (0'5 al 2%). La mayoría de las aspergilosis son principalmente pulmonares o cerebrales y suelen estar causadas (> 80%) por *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus* [10,51,68]. Los mayores problemas asociados a la aspergilosis invasora son la mortalidad elevada (del 40% al 100%) y que los pacientes tratados con fármacos antifúngicos activos contra *A. fumigatus* pueden sufrir infecciones causadas por otras especies de *Aspergillus*, como *Aspergillus terreus* [68,150], o por otros hongos filamentosos oportunistas como *Scedosporium*, *Fusarium* o los mucorales [15,16,20,64,88-90,93].

Voriconazol muestra una potente actividad contra *Aspergillus* (Tabla 3) ya que más del 98% de los aislamientos clínicos evaluados son inhibidos por  $\leq 1 \mu\text{g/ml}$  [6,41,74,135,158]. Este antifúngico es muy activo contra *A. fumigatus*, *A. flavus* y *A. terreus* (especie a menudo resistente a anfotericina B) [52,68,69]. El resto de las especies de *Aspergillus* implicadas en patología humana también son muy sensibles al efecto fungicida de voriconazol. Basándonos en el porcentaje de cepas inhibidas por  $\leq 1 \mu\text{g/ml}$  de cada antifúngico, el orden de actividad contra *Aspergillus* es: voriconazol  $\approx$  posaconazol (98%)

**Tabla 3.** Actividad in vitro de voriconazol, anfotericina B e itraconazol contra especies de *Aspergillus*.

Especie	Antifúngico	Número de aislamientos	Intervalo de CMI (µg/ml)	CMI <sub>50</sub> (µg/ml)	Referencias
<i>Aspergillus flavus</i>	VCZ	324	0'25-2	0'5	[6,41,74,135,158]
	AMB	324	0'5-> 16	2	
	ITZ	324	0'06-4	1	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	VCZ	2069	≤ 0'03-8	0'5	[6,41,74,135,158]
	AMB	2050	≤ 0'03-2	2	
	ITZ	2069	≤ 0'03-16	1	
<i>Aspergillus niger</i>	VCZ	265	≤ 0'03-2	0'5	[6,41,74,135,158]
	AMB	265	0'125-2	0'5	
	ITZ	265	≤ 0'03-> 16	2	
<i>Aspergillus terreus</i>	VCZ	201	≤ 0'03-1	1	[6,41,69,74,135,158]
	AMB	201	0'25-> 16	8	
	ITZ	201	≤ 0'03-1	1	

CMI= concentración mínima inhibitoria, VCZ= voriconazol, AMB= anfotericina B, ITZ= itraconazol.

> ravuconazol (92%) > anfotericina B (89%) > itraconazol (72%) [5].

La tabla 4 muestra la actividad antifúngica in vitro de voriconazol contra otros hongos filamentosos de interés médico. Destaca la excelente actividad de voriconazol contra los hongos dimorfos (*Sporothrix schenckii*, *Blasatomyces dermatitidis*, *Coccidioides posadasii*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum* y *Paracoccidioides brasiliensis*) y otros hongos filamentosos como *Penicillium*, *Fusarium*, *Pseudoallescheria boydii* (anamorfo *Scedosporium apiospermum*), *Scopulariopsis brevicaulis* y diferentes dermatofitos [22,24,70]. Una actividad parecida se ha observado contra los hongos productores de eumicetoma, como *Madurella mycetomatis* [98,155]. Además, voriconazol se ha mostrado bastante activo contra los hongos dematiáceos causantes de feohifomicosis y otras micosis invasoras, como *Alternaria*., *Curvularia*, *Cladophialophora bantiana*, *Bipolaris*, *Wangiella* o *Ramichloridium mackenziei* [125,126]. Sin embargo, la actividad antifúngica de voriconazol es variable y cepa-dependiente contra *Scedosporium prolificans* y *Paecilomyces* y es casi nula su actividad contra las diferentes especies de cigomicetos (*Rhizopus*, *Mucor*, *Rhizomucor*, etc.) [70,152]. Es importante resaltar que la actividad in vitro de voriconazol contra muchos de estos hongos, habitualmente multiresistentes, ha abierto posibilidades terapéuticas hasta ahora inexistentes para estos pacientes.

### Resistencia a voriconazol y otros azoles

La importancia de la resistencia adquirida de los hongos a los azoles es mínima hasta el momento, con excepción de las infecciones orofaríngeas causadas por *C. albicans* en pacientes infectados por el VIH [8,38] e infecciones diseminadas puntuales por *C. glabrata* [14,23,56,81,96,100,102,110,132,157]. Es en estas dos especies y en *C. dubliniensis* donde mejor se han estudiado los mecanismos moleculares de resistencia a los azoles. También se van discerniendo los mecanismos moleculares de los casos poco comunes de resistencia adquirida a los azoles en hongos filamentosos, sobre todo en el género *Aspergillus* [79]. La resistencia a los azoles puede ocurrir por una variedad de mecanismos moleculares potenciales que incluyen mutaciones que modifican la diana (observado en *Aspergillus*), sobreexpresión del gen *ERG11* (*ERG16*), sobreexpresión de bombas de expulsión de la

membrana (genes *CDR* y *MDR*) que sacan el antifúngico del interior de la célula fúngica, interferencia con la acción sobre la 14 $\alpha$ -demetilasa, alteraciones en otras enzimas de la biosíntesis del ergosterol y la disminución de la permeabilidad de la membrana plasmática al fármaco. La sobreexpresión de los genes que codifican las bombas de expulsión se ha demostrado en el 85% de las cepas, las mutaciones en el gen *ERG11* en el 65% y la sobreexpresión de *ERG11* en el 35%. Aunque cada uno de los mecanismos mencionados puede disminuir la sensibilidad del hongo a los azoles, sobre todo a fluconazol, es muy probable en la resistencia final estén implicados varios mecanismos. En las cepas de *C. albicans* con alta resistencia a los azoles se ha confirmado la naturaleza multifactorial de la resistencia en el 75% de los aislamientos [110,157].

Probablemente el mecanismo más importante de resistencia a los azoles sea el déficit en la acumulación intracelular del fármaco mediante la sobreexpresión de los genes que codifican las bombas de expulsión (*CDR* -*CDR1* y *CDR2*- y *MDR*). Esta sobreexpresión de las bombas de expulsión afecta a la sensibilidad de los aislamientos de *Candida* a varios fármacos a la vez por lo que no es infrecuente que se observen resistencias cruzadas entre azoles [14,29,73,157]. Sin embargo, en *C. krusei* que presenta una resistencia intrínseca a fluconazol, los mecanismos de resistencia deben ser diferentes dada su elevada sensibilidad a otros azoles y especialmente a voriconazol. Para *C. glabrata*, que es menos sensible a fluconazol, se ha descrito la capacidad de desarrollar resistencia a los azoles mediante la inducción de bombas de expulsión similares a las de *C. albicans* y codificadas por los genes *CgCDR1* y *CgCDR2* (*PDH1*). La exposición de *C. glabrata* a concentraciones subterapéuticas de fluconazol favorece la aparición de resistencias, con un potencial incremento de la colonización e infección en los pacientes que han recibido profilaxis con fluconazol [14]. La mayoría de aislamientos de *C. dubliniensis* son sensibles a los azoles, pero se han observado aislamientos clínicos resistentes al fluconazol en pacientes con sida tratados previamente con este azol por sobreexpresión del gen *CdMDR1* [58].

Muchas de las micosis invasoras más graves y recalcitrantes al tratamiento están asociadas a la colonización y formación de biopelículas en catéteres y prótesis por *Candida* y otras levaduras (*Cryptococcus*, *Trichosporon*, etc.) [17,46,77,115-122]. Las biopelículas son una asociación ecológica compleja, en muchas ocasiones poli-

**Tabla 4.** Actividad in vitro de voriconazol, anfotericina B, fluconazol e itraconazol contra otros hongos filamentosos y dimorfos de interés médico.

Especie	Antifúngico	Número de aislamientos	Intervalo de CMI (µg/ml)	CMI <sub>50</sub> (µg/ml)	Referencias
<i>Coccidioides posadasii</i>	VCZ	10	0'125	0'125	[37]
	AMB	10	0'06-0'125	0'125	
	FCZ	10	0'125-0'5	0'25	
	ITZ	10	4-8	8	
<i>Fusarium oxysporum</i>	VCZ	27	4-> 16	> 16	[41,135]
	AMB	27	16-> 16	> 16	
	ITZ	15	2-> 16	> 16	
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	VCZ	36	1-> 16	16	[24,39]
	AMB	25	8-> 16	> 16	
	FCZ	11	> 256	> 256	
	ITZ	25	> 16	> 16	
<i>Epidermophyton floccosum</i>	VCZ	22	≤ 0'03-8	0'25	[24]
	FCZ	22	0'5-64	64	
<i>Microsporum canis</i>	VCZ	99	≤ 0'03-0'25	0'125	[24]
	FCZ	99	0'06-64	16	
<i>Fusarium solani</i>	VCZ	57	8-> 16	16	[41,135]
	AMB	57	1-> 16	8	
	ITZ	18	8-> 16	16	
<i>Scedosporium apiospermum</i>	VCZ	72	0'125-0'5	4	[41,82]
	AMB	65	0'25-> 16	> 16	
	ITZ	72	0'5->16	> 16	
<i>Scedosporium prolificans</i>	VCZ	46	2-> 16	> 16	[41,82]
	AMB	37	2-> 16	> 16	
	ITZ	46	0'5-> 16	> 16	
<i>Sporothrix schenckii</i>	VCZ	22	2-> 16	16	[82]
	ITZ	22	0'06-1	0'5	
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	VCZ	123	≤ 0'03-1	0'5	[24]
	FCZ	123	≤ 0'03-64	64	
<i>Trichophyton rubrum</i>	VCZ	139	≤ 0'03-1	0'25	[24]
	FCZ	139	0'06-64	16	

CMI= concentración mínima inhibitoria, VCZ= voriconazol, AMB= anfotericina B, FCZ= fluconazol, ITZ= itraconazol.

microbianas, donde las células están inmersas en una matriz de exopolímeros y fluidos atravesada por múltiples microcanales. La organización microbiana potencia su supervivencia y las células sésiles de las biopelículas presentan una sensibilidad menor a los fármacos antifúngicos, como anfotericina B desoxicolato, equinocandinas o los azoles, en monoterapia o combinados aunque se observa una gran variabilidad en los resultados obtenidos in vitro [60,148]. Los posibles mecanismos incluyen una escasa penetración de los antifúngicos a través de la matriz extracelular de la biopelícula, cambios fenotípicos en las células sésiles resultantes de un descenso en la velocidad de crecimiento o debidos a la limitación de nutrientes y expresión de genes de resistencia y de bombas de expulsión en las células sésiles [1,32,47,115-117,148,159].

### Combinación de voriconazol con otros fármacos

La combinación de voriconazol con otros fármacos con actividad antifúngica es una opción que está adquiriendo importancia como alternativa terapéutica en aquellas micosis producidas por hongos poco sensibles a la monoterapia antifúngica habitual o en determinadas infecciones asociadas a biopelículas. Varios estudios in vitro han mostrado una actividad sinérgica combinado voriconazol

con una equinocandina, anidulafungina [109], caspofungina [40,72,76,149] o micafungina [45,59,145,146], contra aislamientos de *Aspergillus* spp. y otros hongos filamentosos, *Cryptococcus* y *Trichosporon*. Además se ha encontrado una sinergia in vitro entre voriconazol y terbinafina contra *C. glabrata* o *S. prolificans* y en menor intensidad frente a aislamientos específicos de cigomicetos [9,12,19,44,92,134]. O'Shaughnessy et al. [91] encontraron que la triple combinación de anfotericina B, caspofungina y voriconazol tiene una acción sinérgica contra aislamientos de *A. fumigatus*, *A. flavus* y *A. terreus* que puede tener importantes implicaciones clínicas en el tratamiento de aspergilosis invasivas que no responden al tratamiento con los anteriores antifúngicos en monoterapia.

Otro campo de estudio interesante es la combinación terapéutica de antifúngicos y otros fármacos, como determinados anestésicos locales, como lidocaina y bupivacaina [129], o con las estatinas, como lovastatina, con la que se ha descrito una acción sinérgica in vitro de voriconazol combinado con lovastatina contra aislamientos clínicos de cigomicetos [30]. La eficacia de esta combinación también se ha observado en un modelo de cigomicosis en *Drosophila melanogaster*. La combinación de lovastatina y voriconazol permitiría ampliar el espectro de voriconazol contra un grupo de hongos habitualmente resistentes a la mayoría de los antifúngicos de uso clínico.

## Conclusión

Voriconazol es un antifúngico con una excelente y extensa actividad antifúngica contra la gran mayoría de los hongos causantes de micosis humanas. Destaca su especial eficacia contra *Aspergillus*, *Candida* y *Cryptococcus* y otros hongos filamentosos que son poco sensibles a la acción de los antifúngicos clásicos. Se han descrito un número muy reducido de candidiasis y aspergilosis intercurrentes en pacientes tratados con voriconazol que no disminuyen su gran eficacia clínica. Finalmente, la combinación in vitro de voriconazol con equinocandinas (anidulafungina, caspofungina y micafungina) o terbinafina ha mostrado sinergia in vitro contra algunos hongos resistentes

o poco sensibles a los antifúngicos convencionales, como *S. prolificans* o los cigomicetos. Estas combinaciones podrían ser muy útiles como alternativas terapéuticas en micosis recalcitrantes al tratamiento actual.

*Este trabajo ha sido parcialmente financiado por los proyectos GIU05/05 (Universidad del País Vasco-Euskal Herriko Unibertsitatea) y PI061895/2006 (Fondo de Investigación Sanitaria del Ministerio de Sanidad).*

## Bibliografía

1. Adam B, Baillie GS, Douglas LJ. Mixed species biofilms of *Candida albicans* and *Staphylococcus epidermidis*. *J Med Microbiol* 2002; 51: 344-349.
2. Alexander BD, Schell WA, Miller JL, Long GD, Perfect JR. *Candida glabrata* fungemia in transplant patients receiving voriconazole after fluconazole. *Transplantation* 2005; 80: 868-871.
3. Almirante B, Rodriguez D, Cuenca-Estrella M, Almela M, Sanchez F, Ayats J, Alonso-Tarres C, Rodriguez-Tudela JL, Pahissa A. Epidemiology, risk factors, and prognosis of *Candida parapsilosis* bloodstream infections: case-control population-based surveillance study of patients in Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 1681-1685.
4. Antachopoulos C, Papakonstantinou E, Dotis J, Bibashi E, Tamiolaki M, Kolioukas D, Roidis E. Fungemia due to *Trichosporon asahii* in a neutropenic child refractory to amphotericin B: clearance with voriconazole. *J Pediatr Hematol Oncol* 2005; 27: 283-285.
5. Aperis G, Mylonakis E. Newer triazole antifungal agents: pharmacology, spectrum, clinical efficacy and limitations. *Expert Opin Investig Drugs* 2006; 15: 579-602.
6. Araujo R, Pina-Vaz C, Rodrigues AG. Susceptibility of environmental versus clinical strains of pathogenic *Aspergillus*. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 29: 108-111.
7. Azanza JR, García-Quetglás E, Sádaba B. Farmacología de los azoles. *Rev Iberoam Micol* 2007; 24: en prensa.
8. Bagg J, Sweeney MP, Davies AN, Jackson MS, Brailsford S. Voriconazole susceptibility of yeasts isolated from the mouths of patients with advanced cancer. *J Med Microbiol* 2005; 54: 959-964.
9. Barchiesi F, Spreghini E, Maracci M, Fothergill AW, Baldassarri I, Rinaldi MG, Scalise G. In vitro activities of voriconazole in combination with three other antifungal agents against *Candida glabrata*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 3317-3322.
10. Barnes PD, Marr KA. Aspergillosis: spectrum of disease, diagnosis, and treatment. *Infect Dis Clin North Am* 2006; 20: 545-561.
11. Bassetti M, Trecarichi EM, Righi E, Sanguinetti M, Bisio F, Posteraro B, Soro O, Cauda R, Viscoli C, Tumbarello M. Incidence, risk factors, and predictors of outcome of candidemia. Survey in 2 Italian university hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; en prensa.
12. Bhat SV, Paterson DL, Rinaldi MG, Veldkamp PJ. *Scedosporium prolificans* brain abscess in a patient with chronic granulomatous disease: successful combination therapy with voriconazole and terbinafine. *Scand J Infect Dis* 2007; 39: 87-90.
13. Borg-von ZM, Kunz L, Ruchel R, Reichard U, Weig M, Gross U. Epidemiology and antifungal susceptibilities of *Candida* spp. to six antifungal agents: results from a surveillance study on fungaemia in Germany from July 2004 to August 2005. *J Antimicrob Chemother* 2007; en prensa.
14. Borst A, Raimer MT, Warnock DW, Morrison CJ, Arthington-Skaggs BA. Rapid acquisition of stable azole resistance by *Candida glabrata* isolates obtained before the clinical introduction of fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 783-787.
15. Bouza E, Muñoz P. Invasive infections caused by *Blastoschizomyces capitatus* and *Scedosporium* spp. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10 (Supl. 1): 76-85.
16. Bouza E, Muñoz P, Guinea J. Mucormycosis: an emerging disease? *Clin Microbiol Infect* 2006; 12 (Supl. 7): 7-23.
17. Cannizzo FT, Eraso E, Ezkurra PA, Villar-Vidal M, Bollo E, Castilla G, Cabañes FJ, Vidotto V, Quindós G. Biofilm development by clinical isolates of *Malassezia pachydermatis*. *Med Mycol* 2007; 45: 357-361.
18. Cantón E, Pemán J, Bosch M, Viudes A, Gobernado M. Actividad del voriconazol sobre levaduras aisladas de hemocultivo determinada por dos métodos. *Rev Esp Quimioter* 2005; 18: 308-312.
19. Cantón E, Pemán J, Gobernado M, Viudes A, Espinel-Ingroff A. Synergistic activities of fluconazole and voriconazole with terbinafine against four *Candida* species determined by checkerboard, time-kill, and Etest methods. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 1593-1596.
20. Carrillo AJ, Guarro J. In vitro activities of four novel triazoles against *Scedosporium* spp. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 2151-2153.
21. Carrillo-Muñoz AJ, Brio S, Quindós G. Una nueva generación de fármacos antifúngicos. *Rev Iberoam Micol* 2001; 18: 2-5.
22. Carrillo-Muñoz AJ, Cárdenes CD, Carrillo-Orive B, Rodríguez V, Del Valle O, Casals JB, Ezkurra PA, Quindós G. In vitro antifungal activity of voriconazole against dermatophytes and superficial isolates of *Scopulariopsis brevicaulis*. *Rev Iberoam Micol* 2005; 22: 110-113.
23. Carrillo-Muñoz AJ, Giusiano G, Ezkurra PA, Quindós G. Antifungal agents: mode of action in yeast cells. *Rev Esp Quimioter* 2006; 19: 130-139.
24. Carrillo-Muñoz AJ, Giusiano G, Guarro J, Quindós G, Guardia C, Del Valle O, Rodríguez V, Estivill D, Cárdenes CD. In vitro activity of voriconazole against dermatophytes, *Scopulariopsis brevicaulis* and other opportunistic fungi as agents of onychomycosis. *Int J Antimicrob Agents* 2007; en prensa.
25. Carrillo-Muñoz AJ, Pemán J, Gobernado M. Nuevos antifúngicos. Presente y futuro. *Rev Esp Quimioter* 1999; 12: 181-204.
26. Carrillo-Muñoz AJ, Quindós G, Gasser I, Tur-Tur C, Ruesga MT, Alonso-Vargas R, Arevalo P, Bornay-Llinares FJ, Santos P, Del Valle O. Determinación mediante el sistema Sensititre® de la sensibilidad in vitro a los antifúngicos de levaduras de interés médico. *Rev Esp Quimioter* 1999; 12: 126-135.
27. Carrillo-Muñoz AJ, Quindós G, López-Ribot JL. Current developments in antifungal agents. *Current Medicinal Chemistry - Anti-Infective Agents* 2004; 3: 297-323.
28. Carrillo-Muñoz AJ, Quindós G, Ruesga M, Del Valle O, Pemán J, Canton E, Hernandez-Molina JM, Santos P. In vitro antifungal susceptibility testing of filamentous fungi with Sensititre Yeast One. *Mycoses* 2006; 49: 293-297.
29. Cernicka J, Subik J. Resistance mechanisms in fluconazole-resistant *Candida albicans* isolates from vaginal candidiasis. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 27: 403-408.
30. Chamilos G, Lewis RE, Kontoyiannis DP. Lovastatin has significant activity against zygomycetes and interacts synergistically with voriconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 96-103.
31. Chandener J, Adou-Bryn KD, Douchet C, Sar B, Kombila M, Swinne D, Therizol-Ferly M, Buisson Y, Richard-Lenoble D. In vitro activity of amphotericin B, fluconazole and voriconazole against 162 *Cryptococcus neoformans* isolates from Africa and Cambodia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23: 506-508.
32. Chandra J, Zhou G, Ghannoum MA. Fungal biofilms and antimycotics. *Curr Drug Targets* 2005; 6: 887-894.



33. Chang WN, Huang CR, Lei CB, Lee PY, Chien CC, Chang HW, Chang CS, Lu CH. Serotypes of clinical cerebrospinal fluid *Cryptococcus neoformans* isolates from southern Taiwan and their in vitro susceptibilities to amphotericin B, fluconazole, and voriconazole. *Jpn J Infect Dis* 2004; 57: 113-115.
34. Christakis G, Perlorentzou S, Aslanidou M, Megalaki A, Velegaki A. Fatal *Blastoschizomyces capitatus* sepsis in a neutropenic patient with acute myeloid leukemia: first documented case from Greece. *Mycoses* 2005; 48: 216-220.
35. Chryssanthou E, Cuenca-Estrella M. Comparison of the Antifungal Susceptibility Testing Subcommittee of the European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing proposed standard and the E-test with the NCCLS broth microdilution method for voriconazole and caspofungin susceptibility testing of yeast species. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3841-3844.
36. Chryssanthou E, Cuenca-Estrella M. Comparison of the EUCAST-AFST broth dilution method with the CLSI reference broth dilution method (M38-A) for susceptibility testing of posaconazole and voriconazole against *Aspergillus* spp. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 901-904.
37. Cordeiro RA, Brilhante RS, Rocha MF, Fechine MA, Costa AK, Camargo ZP, Sidrim JJ. In vitro activities of caspofungin, amphotericin B and azoles against *Coccidioides posadasii* strains from Northeast, Brazil. *Mycopathologia* 2006; 161: 21-26.
38. Costa CR, de Lemos JA, Passos XS, de Araujo CR, Cohen AJ, Souza LK, Silva MR. Species distribution and antifungal susceptibility profile of oral *Candida* isolates from HIV-infected patients in the antiretroviral therapy era. *Mycopathologia* 2006; 162: 45-50.
39. Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Buitrago MJ, Mellado E, Garcia-Effron G, Rodriguez-Tudela JL. In vitro activities of 10 combinations of antifungal agents against the multiresistant pathogen *Scopulariopsis brevicaulis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 2248-2250.
40. Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Garcia-Effron G, Alcazar-Fuoli L, Mellado E, Buitrago MJ, Rodriguez-Tudela JL. Combined activity in vitro of caspofungin, amphotericin B, and azole agents against itraconazole-resistant clinical isolates of *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 1232-1235.
41. Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Mellado E, Buitrago MJ, Monzon A, Rodriguez-Tudela JL. Head-to-head comparison of the activities of currently available antifungal agents against 3,378 Spanish clinical isolates of yeasts and filamentous fungi. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 917-921.
42. Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Mellado E, Rodriguez-Tudela JL. Correlation between the procedure for antifungal susceptibility testing for *Candida* spp. of the European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing (EUCAST) and four commercial techniques. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: 486-492.
43. Cuenca-Estrella M, Rodriguez D, Almirante B, Morgan J, Planes AM, Almela M, Mensa J, Sanchez F, Ayats J, Gimenez M, Salvado M, Warnock DW, Pahissa A, Rodriguez-Tudela JL. In vitro susceptibilities of bloodstream isolates of *Candida* species to six antifungal agents: results from a population-based active surveillance programme, Barcelona, Spain, 2002-2003. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55: 194-199.
44. Dannaoui E, Afeltra J, Meis JF, Verweij PE. In vitro susceptibilities of zygomycetes to combinations of antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 2708-2711.
45. Denning DW, Marr KA, Lau WM, Facklam DP, Ratanatharathorn V, Becker C, Ullmann AJ, Seibel NL, Flynn PM, van Burik JA, Buell DN, Patterson TF. Micafungin (FK463), alone or in combination with other systemic antifungal agents, for the treatment of acute invasive aspergillosis. *J Infect* 2006; 53: 337-349.
46. Di Bonaventura G, Pompilio A, Piccioni C, Allezzi M, D'Antonio D, Piccolomini R. Biofilm formation by the emerging fungal pathogen *Trichosporon asahii*: development, architecture, and antifungal resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 3269-3276.
47. Douglas LJ. Medical importance of biofilms in *Candida* infections. *Rev Iberoam Micol* 2002; 19: 139-143.
48. Espinel-Ingroff A, Arthington-Skaggs B, Iqbal N, Ellis D, Pfaller MA, Messer S, Rinaldi M, Fothergill A, Gibbs DL, Wang A. Multicenter evaluation of a new disk agar diffusion method for susceptibility testing of filamentous fungi with voriconazole, posaconazole, itraconazole, amphotericin B, and caspofungin. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 1811-1820.
49. Espinel-Ingroff A, Barchiesi F, Cuenca-Estrella M, Pfaller MA, Rinaldi M, Rodriguez-Tudela JL, Verweij PE. International and multicenter comparison of EUCAST and CLSI M27-A2 broth microdilution methods for testing susceptibilities of *Candida* spp. to fluconazole, itraconazole, posaconazole, and voriconazole. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 3884-3889.
50. Fleck R, Dietz A, Hof H. In vitro susceptibility of *Candida* species to five antifungal agents in a German university hospital assessed by the reference broth microdilution method and Etest. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59: 767-771.
51. Fukuda T, Boeckh M, Guthrie KA, Mattson DK, Owens S, Wald A, Sandmaier BM, Corey L, Storb RF, Marr KA. Invasive aspergillosis before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: 10-year experience at a single transplant center. *Biol Blood Marrow Transplant* 2004; 10: 494-503.
52. García-Martos P, García-Agudo L, Gutiérrez-Calzada J, Ruiz-Aragón J, Saldarregua A, Marín P. Actividad in vitro de anfotericina B, itraconazol y voriconazol frente a 20 especies de *Aspergillus* empleando el método de microdilución Sensititre®. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2005; 23: 15-18.
- 53a. García-Tapia A, García-Agudo R, Marín P, Conejo JL, García-Martos P. Fungemia por *Kodamaea (Pichia) ohmeri* asociada a cirugía. *Rev Iberoam Micol* 2007; 24: 155-156.
- 53b. Garau M, Pereiro M, del Palacio A. In vitro susceptibilities of *Malassezia* species to a new triazole, albaconazole (UR-9825), and other antifungal compounds. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 2342-2344.
54. Girmenia C, Pagano L, Martino B, D'Antonio D, Fanci R, Specchia G, Mellillo L, Buelli M, Pizzarelli G, Venditti M, Martino P. Invasive infections caused by *Trichosporon* species and *Geotrichum capitatum* in patients with hematological malignancies: a retrospective multicenter study from Italy and review of the literature. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 1818-1828.
55. Gomez-Lopez A, Mellado E, Rodriguez-Tudela JL, Cuenca-Estrella M. Susceptibility profile of 29 clinical isolates of *Rhodotorula* spp. and literature review. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55: 312-316.
56. Gualco L, Debbia EA, Bandettini R, Pescetto L, Cavallero A, Ossi MC, Schito AM, Marchese A. Antifungal resistance in *Candida* spp. isolated in Italy between 2002 and 2005 from children and adults. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 29: 179-184.
57. Guinea J, Pelaez T, Alcalá L, Bouza E. Comparison of Sensititre YeastOne with the NCCLS M38-A microdilution method to determine the activity of amphotericin B, voriconazole, and itraconazole against clinical isolates of *Aspergillus fumigatus*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006; 56: 53-55.
58. Gutierrez J, Morales P, Gonzalez MA, Quindós G. *Candida dubliniensis*, a new fungal pathogen. *J Basic Microbiol* 2002; 42: 207-227.
59. Heyn K, Tredup A, Salvenmoser S, Muller FM. Effect of voriconazole combined with micafungin against *Candida*, *Aspergillus*, and *Scedosporium* spp. and *Fusarium solani*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 5157-5159.
60. Jabra-Rizk MA, Falkler WA, Meiller TF. Fungal biofilms and drug resistance. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 14-19.
61. Jabra-Rizk MA, Johnson JK, Forrest G, Mankes K, Meiller TF, Venezia RA. Prevalence of *Candida dubliniensis* fungemia at a large teaching hospital. *Clin Infect Dis* 2005; 41: 1064-1067.
62. Kale P, Johnson LB. Second-generation azole antifungal agents. *Drugs Today (Barc)* 2005; 41: 91-105.
63. Khan ZU, Randhawa HS, Kowshik T, Chowdhary A, Chandry R. Antifungal susceptibility of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* isolates from decayed wood of trunk hollows of *Ficus religiosa* and *Syzygium cumini* trees in north-western India. *J Antimicrob Chemother* 2007; en prensa.
64. Kontoyiannis DP, Lionakis MS, Lewis RE, Chamilos G, Healy M, Perego C, Safdar A, Kantarjian H, Champlin R, Walsh TJ, Raad IL. Zygomycosis in a tertiary-care cancer center in the era of *Aspergillus*-active antifungal therapy: a case-control observational study of 27 recent cases. *J Infect Dis* 2005; 191: 1350-1360.
65. Krishnan S, Manavathu EK, Chandrasekar PH. A comparative study of fungicidal activities of voriconazole and amphotericin B against hyphae of *Aspergillus fumigatus*. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55: 914-920.
66. Kuhn DM, Chandra J, Mukherjee PK, Ghannoum MA. Comparison of biofilms formed by *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* on bioprosthetic surfaces. *Infect Immun* 2002; 70: 878-888.
67. Kuhn DM, George T, Chandra J, Mukherjee PK, Ghannoum MA. Antifungal susceptibility of *Candida* biofilms: unique efficacy of amphotericin B lipid formulations and echinocandins. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 1773-1780.
68. Lass-Flörl C, Griff K, Mayr A, Petzer A, Gastl G, Bonatti H, Freund M, Kropshofer G, Dierich MP, Nachbauer D. Epidemiology and outcome of infections due to *Aspergillus terreus*: 10-year single centre experience. *Br J Haematol* 2005; 131: 201-207.
69. Lass-Flörl C, Rief A, Leitner S, Speth C, Wurzner R, Dierich MP. In vitro activities of amphotericin B and voriconazole against aleurioconidia from *Aspergillus terreus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 2539-2540.
70. Lewis RE, Wiederhold NP, Klepser ME. In vitro pharmacodynamics of amphotericin B, itraconazole, and voriconazole against *Aspergillus*, *Fusarium*, and *Scedosporium* spp. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 945-951.
71. Linares MJ, Solís F, Casal M. In vitro activity of voriconazole against *Prototheca wickerhamii*: comparative evaluation of sensititre and NCCLS M27-A2 methods of detection. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 2520-2522.
72. MacCallum DM, Whyte JA, Odds FC. Efficacy of caspofungin and voriconazole combinations in experimental aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 3697-3701.

73. Magill SS, Shields C, Sears CL, Choti M, Merz WG. Triazole cross-resistance among *Candida* spp.: case report, occurrence among bloodstream isolates, and implications for antifungal therapy. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 529-535.
74. Malle M, Bastide JM, Blancard A, Bonnin A, Bretagne S, Cambon M, Chandenier J, Chauveau V, Couprie B, Detry A, Feuilhade M, Grillot R, Guiguen C, Lavarde V, Letscher V, Linas MD, Michel A, Morin O, Paugam A, Piens MA, Raberin H, Tissot E, Toubas D, Wade A. In vitro susceptibility testing of *Candida* and *Aspergillus* spp. to voriconazole and other antifungal agents using Etest: results of a French multicentre study. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 25: 321-328.
75. Marr KA. Invasive *Candida* infections: the changing epidemiology. *Oncology* 2004; 18: 9-14.
76. Marr KA, Boeckh M, Carter RA, Kim HW, Corey L. Combination antifungal therapy for invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 797-802.
77. Martinez LR, Casadevall A. Susceptibility of *Cryptococcus neoformans* biofilms to antifungal agents in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 1021-1033.
78. Maschmeyer G, Haas A. Voriconazole: a broad spectrum triazole for the treatment of serious and invasive fungal infections. *Future Microbiology* 2006; 1: 365-385.
79. Mellado E, Alcazar-Fuoli L, Garcia-Effron G, Alastruey-Izquierdo A, Cuenca-Estrella M, Rodriguez-Tudela JL. New resistance mechanisms to azole drugs in *Aspergillus fumigatus* and emergence of antifungal drug-resistant *A. fumigatus* atypical strains. *Med Mycol* 2006; 44: 367-371.
80. Miranda KC, de Araujo CR, Costa CR, Passos XS, de Fatima Lisboa FO, do Rosario Rodrigues SM. Antifungal activities of azole agents against the *Malassezia* species. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 29: 281-284.
81. Morace G, Polonelli L. Voriconazole activity against clinical yeast isolates: a multicentre Italian study. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 26: 247-253.
82. Morera-Lopez Y, Torres-Rodriguez JM, Jimenez-Cabello T. Estudio de la sensibilidad in vitro de aislamientos clínicos de mohos y levaduras a itraconazol y voriconazol. *Rev Iberoam Micol* 2005; 22: 105-109.
83. Morera-Lopez Y, Torres-Rodriguez JM, Jimenez-Cabello T, Baro-Tomas T. *Cryptococcus gattii*: in vitro susceptibility to the new antifungal albaconazole versus fluconazole and voriconazole. *Med Mycol* 2005; 43: 505-510.
84. Muñoz P, Sanchez-Somolinos M, Alcalá L, Rodríguez-Creixems M, Peláez T, Bouza E. *Candida krusei* fungaemia: antifungal susceptibility and clinical presentation of an uncommon entity during 15 years in a single general hospital. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55: 188-193.
85. 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.
86. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard. 2nd Ed. NCCLS document M27-A2. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2002.
87. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts. Approved guidance. NCCLS document M44-A. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2004.
88. Nucci M, Marr KA. Emerging fungal diseases. *Clin Infect Dis* 2005; 41: 521-526.
89. Nucci M, Marr KA, Queiroz-Telles F, Martins CA, Trabasso P, Costa S, Voltarelli JC, Colombo AL, Imhof A, Pasquini R, Maiolino A, Souza CA, Anaissie E. *Fusarium* infection in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 1237-1242.
90. O'Bryan TA. Pseudallescheriasis in the 21st century. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2005; 3: 765-773.
91. O'shaughnessy EM, Meletiadiis J, Stergiopoulou T, Demchok JP, Walsh TJ. Antifungal interactions within the triple combination of amphotericin B, caspofungin and voriconazole against *Aspergillus* species. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58: 1168-1176.
92. Ortoneda M, Capilla J, Pastor FJ, Pujol I, Yustes C, Serena C, Guarro J. In vitro interactions of approved and novel drugs against *Paecilomyces* spp. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 2727-2729.
93. Panackal AA, Marr KA. *Scedosporium/Pseudallescheria* infections. *Semin Respir Crit Care Med* 2004; 25: 171-181.
94. Passos XS, Costa CR, Araujo CR, Nascimento ES, Souza LK, Fernandes OF, Sales WS, Silva MR. Species distribution and antifungal susceptibility patterns of *Candida* spp. bloodstream isolates from a Brazilian tertiary care hospital. *Mycopathologia* 2007; 163: 145-151.
95. Pelletier R, Alarie I, Lagace R, Walsh TJ. Emergence of disseminated candidiasis caused by *Candida krusei* during treatment with caspofungin: case report and review of literature. *Med Mycol* 2005; 43: 559-564.
96. Pemán J, Cantón E, Calabuig E, Bosch M, Valenti A, Viudes A, Gobernado M. Actividad in vitro del voriconazol frente a levaduras y algas con los nuevos puntos de corte del patrón de resistencia. *Rev Esp Quimioter* 2006; 19: 21-33.
97. Pemán J, Cantón E, Gobernado M. Epidemiology and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from blood: results of a 2-year multicentre study in Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24: 23-30.
98. Pemán J, Salvart M, Cantón E, Jarque I, Romá E, Zaragoza R, Viudes A, Gobernado M. Voriconazole in the management of nosocomial invasive fungal infections. *Therapeutics and Clinical Risk Management* 2006; 2: 1-30.
99. Perkins A, Gomez-Lopez A, Mellado E, Rodriguez-Tudela JL, Cuenca-Estrella M. Rates of antifungal resistance among Spanish clinical isolates of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 1144-1147.
100. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 133-163.
101. Pfaller MA, Diekema DJ, Colombo AL, Kibbler C, Ng KP, Gibbs DL, Newell VA. *Candida rugosa*, an emerging fungal pathogen with resistance to azoles: geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK antifungal surveillance program. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 3578-3582.
102. Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Meis JF, Gould IM, Fu W, Colombo AL, Rodríguez-Noriega E. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997-2005: An 8.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* and other yeast species to fluconazole and voriconazole by CLSI standardized disk diffusion testing. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 1735-1745.
103. Pfaller MA, Diekema DJ, Mendez M, Kibbler C, Erzebet P, Chang SC, Gibbs DL, Newell VA. *Candida guilliermondii*, an opportunistic fungal pathogen with decreased susceptibility to fluconazole: geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK antifungal surveillance program. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 3551-3556.
104. Pfaller MA, Diekema DJ, Rex JH, Espinel-Ingroff A, Johnson EM, Andes D, Chaturvedi V, Ghannoum MA, Odds FC, Rinaldi MG, Sheehan DJ, Troke P, Walsh TJ, Warnock DW. Correlation of MIC with outcome for *Candida* species tested against voriconazole: analysis and proposal for interpretive breakpoints. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 819-826.
105. Pfaller MA, Diekema DJ, Rinaldi MG, Barnes R, Hu B, Veselov AV, Tiraboschi N, Nagy E, Gibbs DL. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study: a 6.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* and other yeast species to fluconazole and voriconazole by standardized disk diffusion testing. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 5848-5859.
106. Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Rice C, Tendolkar S, Hollis RJ, Diekema DJ. Use of fluconazole as a surrogate marker to predict susceptibility and resistance to voriconazole among 13,338 clinical isolates of *Candida* spp. Tested by clinical and laboratory standards institute-recommended broth microdilution methods. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 70-75.
107. Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Rice C, Tendolkar S, Hollis RJ, Doern GV, Diekema DJ. Global trends in the antifungal susceptibility of *Cryptococcus neoformans* (1990 to 2004). *J Clin Microbiol* 2005; 43: 2163-2167.
108. Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Tendolkar S, Hollis RJ, Diekema DJ. Geographic variation in the susceptibilities of invasive isolates of *Candida glabrata* to seven systemically active antifungal agents: a global assessment from the ARTEMIS Antifungal Surveillance Program conducted in 2001 and 2002. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 3142-3146.
109. Philip A, Odabasi Z, Rodriguez J, Paetznick VL, Chen E, Rex JH, Ostrosky-Zeichner L. In vitro synergy testing of anidulafungin with itraconazole, voriconazole, and amphotericin B against *Aspergillus* spp. and *Fusarium* spp. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 3572-3574.
110. Pontón J, Quindós G. Mecanismos de resistencia a la terapéutica antifúngica. *Med Clin (Barc)* 2005; 125 (Supl. 1): 56-60.
111. Quindós G. New microbiological techniques for the diagnosis of invasive mycoses caused by filamentous fungi. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12 (Supl. 7): 40-52.
112. Quindós G, Alkorta M, Rodríguez-Andrés C, Ullibarrí B, Hernández-Almaraz JL. Epidemiological trends of candidemia in the tertiary-care hospital of Cruces, Barakaldo (Spain). The 16th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, Paris, 2006.
113. Quindós G, Carrillo-Muñoz AJ, Arévalo MP, Salgado J, Alonso-Vargas R, Rodrigo JM, Ruesga MT, Valverde A, Pemán J, Cantón E, Martín-Mazuelos E, Pontón J. In vitro susceptibility of *Candida dubliniensis* to current and new antifungal agents. *Chemotherapy* 2000; 46: 395-401.
114. Quindós G, Sánchez L, Villar M, Ahuad P, Erasó E, Hernández J. In vitro activities of fluconazole and voriconazole against Spanish bloodstream isolates of *Candida glabrata* and *Candida krusei*. 14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. The European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) Praga, 2004. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10 (Supl. 3): 112-113.
115. Ramage G, Bachmann S, Patterson TF, Wickes BL, Lopez-Ribot JL. Investigation of multidrug efflux pumps in relation to fluconazole resistance in *Candida albicans* biofilms. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49: 973-980.



116. Ramage G, Martinez JP, Lopez-Ribot JL. *Candida* biofilms on implanted biomaterials: a clinically significant problem. *FEMS Yeast Res* 2006; 6: 979-986.
117. Ramage G, Saville SP, Thomas DP, Lopez-Ribot JL. *Candida* biofilms: an update. *Eukaryot Cell* 2005; 4: 633-638.
118. Ramage G, Tomsett K, Wickes BL, Lopez-Ribot JL, Redding SW. Denture stomatitis: a role for *Candida* biofilms. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 98: 53-59.
119. Ramage G, Vande WK, Wickes BL, Lopez-Ribot JL. Biofilm formation by *Candida dubliniensis*. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 3234-3240.
120. Ramage G, Vande WK, Wickes BL, Lopez-Ribot JL. Standardized method for in vitro antifungal susceptibility testing of *Candida albicans* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 2475-2479.
121. Ramage G, Vandewalle K, Wickes BL, Lopez-Ribot JL. Characteristics of biofilm formation by *Candida albicans*. *Rev Iberoam Micol* 2001; 18: 163-170.
122. Ramage G, Wickes BL, Lopez-Ribot JL. Biofilms of *Candida albicans* and their associated resistance to antifungal agents. *Am Clin Lab* 2001; 20: 42-44.
123. Ramos JM, Cuenca-Estrella M, Gutierrez F, Elia M, Rodriguez-Tudela JL. Clinical case of endocarditis due to *Trichosporon inkin* and antifungal susceptibility profile of the organism. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 2341-2344.
124. Rementeria A, Sánchez-Vargas LO, Villar M, Casals JB, Carrillo-Muñoz AJ, Rodríguez AC, Eraso E, Quindós G. Comparison of tablet and disk diffusion methods for fluconazole and voriconazole in vitro activity testing against clinical yeast isolates. *J Chemother* 2007; 19: 172-177.
125. Revankar SG. Phaeohyphomycosis. *Infect Dis Clin North Am* 2006; 20: 609-620.
126. Revankar SG. Dematiaceous fungi. *Mycoses* 2007; 50: 91-101.
127. Ribeiro da Matta VL, Carvalho Melhem MS, Colombo AL, Moretti ML, Rodero L, Duboc de Almeida GM, Martins MA, Costa SF, Souza Dias MBG, Nucci M, Levin AS. Antifungal drug susceptibility profile of *Pichia anomala* isolates from patients presenting with nosocomial fungemia. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 1573-1576.
128. Richardson MD. Changing patterns and trends in systemic fungal infections. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56 (Supl 1): i5-i11.
129. Rodrigues AG, Araujo R, Pina-Vaz C. Interaction of local anaesthetics with other antifungal agents against pathogenic *Aspergillus*. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 27: 339-343.
130. Rodriguez D, Almirante B, Park BJ, Cuenca-Estrella M, Planes AM, Sanchez F, Gene A, Xercavins M, Fontanals D, Rodriguez-Tudela JL, Warnock DW, Pahissa A. Candidemia in neonatal intensive care units: Barcelona, Spain. *Pediatr Infect Dis J* 2006; 25: 224-229.
131. Rodriguez-Tudela JL, Diaz-Guerra TM, Mellado E, Cano V, Tapia C, Perkins A, Gomez-Lopez A, Rodero L, Cuenca-Estrella M. Susceptibility patterns and molecular identification of *Trichosporon* species. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 4026-4034.
132. Rogers TR. Antifungal drug resistance: limited data, dramatic impact? *Int J Antimicrob Agents* 2006; 27: 7-11.
133. Rubio MC, de Ocariz I, Gil J, Benito R, Rezusta A. Potential fungicidal effect of voriconazole against *Candida* spp. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 25: 264-267.
134. Ryder NS, Leitner I. Synergistic interaction of terbinafine with triazoles or amphotericin B against *Aspergillus* species. *Med Mycol* 2001; 39: 91-95.
135. Sabatelli F, Patel R, Mann PA, Mendrick CA, Norris CC, Hare R, Loebeberg D, Black TA, McNicholas PM. In vitro activities of posaconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole, and amphotericin B against a large collection of clinically important molds and yeasts. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 2009-2015.
136. Sahand IH, Moragues MD, Alhambra A, Del Palacio A, Quindós G, Ponton J. Isolation of *Issatchenkia occidentalis* from the esophagus of a leukemic patient. *Rev Iberoam Micol* 2006; 23: 235-237.
137. Salgado-Parreño FJ, Alcoba-Florez J, Arias A, Moragues MD, Quindós G, Pontón J, Arevalo MP. In vitro activities of voriconazole and five licensed antifungal agents against *Candida dubliniensis*: comparison of CLSI M27-A2, Sensititre YeastOne, disk diffusion, and Etest methods. *Microb Drug Resist* 2006; 12: 246-251.
138. San Miguel LG, Cobo J, Otheo E, Martos I, Muriel A, Fortún J, Moreno S. Candidemia in pediatric patients with congenital heart disease. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006; 55: 203-207.
139. San Miguel LG, Cobo J, Otheo E, Sanchez-Sousa A, Abreira V, Moreno S. Secular trends of candidemia in a large tertiary-care hospital from 1988 to 2000: emergence of *Candida parapsilosis*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26: 548-552.
140. Sandven P. Epidemiology of candidemia. *Rev Iberoam Micol* 2000; 17: 73-81.
141. Sandven P, Bevanger L, Digranes A, Haukland HH, Mannsaker T, Gaustad P. Candidemia in Norway (1991 to 2003): results from a nationwide study. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 1977-1981.
142. Sanz Alonso MA, Jarque I, Salavert M, Peman J. Epidemiology of invasive fungal infections due to *Aspergillus* spp. and *Zygomycetes*. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 2-6.
143. Schuster FL, Guglielmo BJ, Visvesvara GS. In-vitro activity of miltefosine and voriconazole on clinical isolates of free-living amoebae: *Balamuthia mandrillaris*, *Acanthamoeba* spp., and *Naegleria fowleri*. *J Eukaryot Microbiol* 2006; 53: 121-126.
144. Seifert H, Aurbach U, Stefanik D, Cornely O. In vitro activities of isavuconazole and other antifungal agents against *Candida* bloodstream isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 1818-1821.
145. Serena C, Fernandez-Torres B, Pastor FJ, Trilles L, Lazera MS, Nolard N, Guarro J. In vitro interactions of micafungin with other antifungal drugs against clinical isolates of four species of *Cryptococcus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 2994-2996.
146. Serena C, Marine M, Pastor FJ, Nolard N, Guarro J. In vitro interaction of micafungin with conventional and new antifungals against clinical isolates of *Trichosporon*, *Sporobolomyces* and *Rhodotorula*. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55: 1020-1023.
147. Serena C, Pastor FJ, Marine M, Rodriguez MM, Guarro J. Efficacy of voriconazole in a murine model of cryptococcal central nervous system infection. *J Antimicrob Chemother* 2007; en prensa.
148. Shuford JA, Piper KE, Steckelberg JM, Patel R. In vitro biofilm characterization and activity of antifungal agents alone and in combination against sessile and planktonic clinical *Candida albicans* isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; 57: 277-281.
149. Singh N, Limaye AP, Forrest G, Safdar N, Munoz P, Pursell K, Houston S, Rosso F, Montoya JG, Patton P, Del Busto R, Aguado JM, Fisher RA, Klintmalm GB, Miller R, Wagener MM, Lewis RE, Kontoyiannis DP, Husain S. Combination of voriconazole and caspofungin as primary therapy for invasive aspergillosis in solid organ transplant recipients: a prospective, multicenter, observational study. *Transplantation* 2006; 81: 320-326.
150. Steinbach WJ, Benjamin DK Jr, Kontoyiannis DP, Perfect JR, Lutsar I, Marr KA, Lionakis MS, Torres HA, Jafri H, Walsh TJ. Infections due to *Aspergillus terreus*: a multicenter retrospective analysis of 83 cases. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 192-198.
151. Swinne D, Watelle M, Nolard N. In vitro activities of voriconazole, fluconazole, itraconazole and amphotericin B against non *Candida albicans* yeast isolates. *Rev Iberoam Micol* 2005; 22: 24-28.
152. Torres-Narbona M, Guinea J, Martinez-Alarcon J, Pelaez T, Bouza E. In vitro activities of amphotericin B, caspofungin, itraconazole, posaconazole, and voriconazole against 45 clinical isolates of zygomycetes: comparison of CLSI M38-A, Sensititre YeastOne, and the Etest. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 1126-1129.
153. Tortorano AM, Kibbler C, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Grillot R. Candidaemia in Europe: epidemiology and resistance. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 27: 359-366.
154. Tortorano AM, Prigitano A, Biraghi E, Viviani MA. The European Confederation of Medical Mycology (ECMM) survey of candidaemia in Italy: in vitro susceptibility of 375 *Candida albicans* isolates and biofilm production. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 777-779.
155. van de Sande WW, Luijendijk A, Ahmed AO, Bakker-Woudenberg IA, van Belkum A. Testing of the in vitro susceptibilities of *Madurella mycetomatis* to six antifungal agents by using the Sensititre system in comparison with a viability-based 2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-5-[(phenylamino)carbonyl]-2H-tetrazolium hydroxide (XTT) assay and a modified NCCLS method. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 1364-1368.
156. van Duin D, Cleare W, Zaragoza O, Casadevall A, Nosanchuk JD. Effects of voriconazole on *Cryptococcus neoformans*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 2014-2020.
157. Wakiec R, Prasad R, Morschauser J, Barchiesi F, Borowski E, Milewski S. Voriconazole and multidrug resistance in *Candida albicans*. *Mycoses* 2007; 50: 109-115.
158. Warn PA, Sharp A, Denning DW. In vitro activity of a new triazole BAL4815, the active component of BAL8557 (the water-soluble prodrug), against *Aspergillus* spp. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 135-138.
159. Wynn RL, Jabra-Rizk MA, Meiller TF. Fungal drug resistance, biofilms, and new antifungals. *Gen Dent* 2003; 51: 94-98.
160. Zautits TE, Foraker E, McGowan KL, Mortensen J, Campos J, Walsh TJ, Klein JD. Antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from pediatric patients: a survey of 4 children's hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 52: 295-298.
161. Zaragoza R, Pemán J. Invasive fungal infections in critically ill patients: different therapeutic options and a uniform strategy. *Rev Iberoam Micol* 2006; 23: 59-63.