

Actividad in vitro de anidulafungina. Comparación con la actividad de otras equinocandinas

Estrella Martín Mazuelos^a y Juan Luis Rodríguez-Tudela^b

^aServicio de Microbiología y Parasitología. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. España.

^bServicio de Micología. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. España.

La anidulafungina es una nueva equinocandina que actúa inhibiendo la pared celular de los hongos mediante la inhibición de la síntesis de (1,3)- β -D-glucano. Es un lipopéptido semisintético sintetizado a partir de un compuesto obtenido en la fermentación de *Aspergillus nidulans*. El espectro de actividad de la anidulafungina incluye *Candida* y *Aspergillus*, los dos principales agentes etiológicos de la infección fúngica invasora. Asimismo, es activa frente a cepas de estos géneros que presentan resistencia a los azoles o a la anfotericina B. Sin embargo, carecen de actividad contra *Cryptococcus* spp. y *Trichosporon* spp., *Fusarium* spp. y *Mucorales*. La información disponible de su actividad contra otras especies es limitada y no permite sacar conclusiones o establecer recomendaciones. La resistencia a las equinocandinas es un hecho infrecuente y con poca relevancia clínica.

Palabras clave: Anidulafungina. Resistencia in vitro. *Candida*. *Aspergillus*.

In vitro activity of anidulafungin. Comparison with the activity of other echinocandins

Anidulafungin is a new echinocandin that acts by inhibiting (1,3)- β -D-glucan synthesis in the fungal cell wall. This agent is a semisynthetic lipopeptide synthesized from a fermentation product of *Aspergillus nidulans*. The spectrum of activity of anidulafungin includes *Candida* and *Aspergillus*, the two main etiological agents causing invasive fungal infections. This drug is also active against strains of these genera resistant to azoles or amphotericin B. However, anidulafungin is not active against *Cryptococcus* spp., *Trichosporon* spp., *Fusarium* spp. or *Mucorales* spp. Data on the activity of this drug against other species are limited and do not allow conclusions to be drawn or

recommendations to be made. Echinocandin resistance is uncommon and has little clinical relevance.

Key words: Anidulafungin. In vitro resistance. *Candida*. *Aspergillus*

Introducción

Las equinocandinas han supuesto un avance significativo en el tratamiento de la infección fúngica invasora. La anidulafungina es una nueva equinocandina que, como las otras, actúa inhibiendo la pared celular de los hongos mediante la inhibición de la síntesis de (1,3)- β -D-glucano^{1,2}. Es un lipopéptido semisintético sintetizado a partir de un compuesto obtenido en la fermentación de *Aspergillus nidulans*. Actualmente existen otras 2 equinocandinas, caspofungina y micafungina, que han sido autorizadas para el tratamiento de las infecciones fúngicas humanas^{1,2}.

El objetivo de este artículo es la revisión de la actividad in vitro de la anidulafungina y su comparación con caspofungina y micafungina. Para ello, la revisión se ha dividido en dos partes. La primera de ellas versará sobre la actividad que tiene este antifúngico contra las levaduras y la segunda, contra los hongos filamentosos. En la parte final se analiza los datos existentes sobre la resistencia de los hongos a las equinocandinas y el llamado efecto paradójico.

Actividad in vitro contra levaduras

El espectro de actividad de las equinocandinas contra las levaduras no es completo. Su espectro abarca *Candida* spp., incluidas aquellas que son resistentes a los azoles y a la anfotericina B^{1,4}. Sin embargo, carecen de actividad contra basidiomicetos entre los que se incluyen *Cryptococcus* spp. y *Trichosporon* spp. Las equinocandinas son fungicidas contra *Candida* spp.

Hay dos metodologías de referencia para analizar la sensibilidad de las levaduras a las equinocandinas. Éstas han sido diseñadas por el Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) de Estados Unidos y por el Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (AFST) del European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) de la European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases^{5,6}. Esta revisión incluye únicamente resultados de sensibilidad in vitro obtenidos por una de estas metodologías. Estas dos técnicas producen resultados comparables, aunque muestran ligeras discrepancias que quedan recogidas en la tabla 1. EUCAST to-

Correspondencia: Dr. Juan Luis Rodríguez Tudela. Servicio de Micología. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Ctra. Majadahonda-Pozuelo, km 2. 28220 Majadahonda. España. Correo electrónico: jlrtudela@isciii.es

TABLA 1. Principales diferencias entre la metodología de referencia del EUCAST y del CLSI

	EUCAST E. def 7.1	CLSI M27 A2
Placas de microdilución	Fondo plano	Fondo redondo
Medio de cultivo	RPMI 1640	RPMI 1640
Concentración de glucosa	2%	0,2%
Inóculo	0,5-2,5 × 10 ⁵ UFC/ml	0,5-2,5 × 10 ³ UFC/ml
Incubación	24 h	48 h
Forma de lectura	Espectrofotométrica	Visual
Estimación de la CMI	Concentración más baja del antifúngico que alcanza un 50% de inhibición al compararla con el pocillo control de crecimiento	Concentración más baja del antifúngico que alcanza una inhibición prominente al compararlo con el pocillo control de crecimiento

davía no ha establecido puntos de corte para las equinocandinas. Por el contrario, el CLSI ha alcanzado un consenso para el punto de corte de sensibilidad y lo ha establecido en ≤ 2 mg/l para las 3 equinocandinas³.

Las tablas 2 y 3 muestran los datos de sensibilidad de las 3 equinocandinas obtenidos mediante metodología EUCAST en el Servicio de Micología del Centro Nacional de Microbiología⁶. La anidulafungina tiene una exce-

TABLA 2. Actividad in vitro en mg/l de anidulafungina, caspofungina y micafungina contra *Candida* spp.

Especie	n	Antifúngico	Media geométrica	Moda	CMI ₅₀	CMI ₉₀	Intervalo
<i>C. albicans</i>	280	Anidulafungina	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03-1
		Caspofungina	0,07	0,06	0,06	0,12	0,03-1
		Micafungina	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03-0,5
<i>C. parapsilosis</i>	145	Anidulafungina	0,7	1	1	2	0,03-2
		Caspofungina	0,76	1	1	1	0,06-4
		Micafungina	0,38	0,5	0,5	1	0,03-2
<i>C. glabrata</i>	114	Anidulafungina	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03-0,5
		Caspofungina	0,12	0,12	0,12	0,25	0,03-0,5
		Micafungina	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03-0,03
<i>C. tropicalis</i>	70	Anidulafungina	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03-0,06
		Caspofungina	0,08	0,12	0,12	0,25	0,03-0,25
		Micafungina	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03-0,03
<i>C. krusei</i>	35	Anidulafungina	0,03	0,03	0,03	0,06	0,03-0,06
		Caspofungina	0,3	0,25	0,25	0,5	0,12-0,5
		Micafungina	0,03	0,03	0,03	0,06	0,03-0,12
<i>C. guilliermondii</i>	15	Anidulafungina	0,87	1	1	16	0,06-32
		Caspofungina	0,72	0,5	0,5	16	0,25-32
		Micafungina	0,16	0,12	0,12	16	0,03-32
<i>C. lusitanae</i>	16	Anidulafungina	0,04	0,03	0,03	0,12	0,03-0,25
		Caspofungina	0,43	0,5	0,5	1	0,06-1
		Micafungina	0,03	0,03	0,03	0,12	0,03-0,25
<i>S. cerevisiae</i>	18	Anidulafungina	0,08	0,12	0,12	0,25	0,03-0,25
		Caspofungina	0,34	0,5	0,5	1	0,06-1
		Micafungina	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03-0,06
<i>C. kefyr</i>	10	Anidulafungina	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03-0,03
		Caspofungina	0,12	0,03	0,03	0,12	0,03-0,12
		Micafungina	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03-0,03

Datos obtenidos en el Servicio de Micología del Centro Nacional de Microbiología.

TABLA 3. Porcentajes acumulados de sensibilidad de anidulafungina, caspofungina y micafungina contra *Candida* spp.

Especie	n	Antifúngico	Porcentaje acumulado de cepas sensibles a la correspondiente concentración mínima inhibitoria (mg/l) de:											
			0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	
<i>C. albicans</i>	280	Anidulafungina	98,6	99,3	99,3	99,3	99,3	100						
		Caspofungina	21,4	62,5	90,7	99,3	99,3	100						
		Micafungina	99,3	99,3	99,3	99,6	100							
<i>C. parapsilosis</i>	145	Anidulafungina	0,7	3,4	4,1	14,5	41,4	86,9	100					
		Caspofungina	0	0,7	1,4	4,8	38,6	94,5	98,6	100				
		Micafungina	5,5	9	13,8	37,9	75,2	97,9	100					
<i>C. glabrata</i>	114	Anidulafungina	97,4	98,2	99,1	99,1	100							
		Caspofungina	3,5	25,5	76,3	98,2	100							
		Micafungina	100											
<i>C. tropicalis</i>	70	Anidulafungina	97,1	100										
		Caspofungina	20	40	88,6	100								
		Micafungina	100											
<i>C. krusei</i>	35	Anidulafungina	88,6	100										
		Caspofungina	0	0	5,7	65,7	100							
		Micafungina	88,6	97,1	100									
<i>C. guilliermondii</i>	15	Anidulafungina	0	6,7	6,7	20	33,3	80	93,3	93,3	93,3	93,3	100	
		Caspofungina	0	0	0	13,3	66,7	99,3	93,3	93,3	93,3	93,3	100	
		Micafungina	20	33,3	66,7	86,7	86,7	93,3	93,3	93,3	93,3	93,3	100	
<i>C. lusitanae</i>	16	Anidulafungina	68,8	93,8	100									
		Caspofungina	0	6,3	12,5	25	75	100						
		Micafungina	93,8	93,8	93,8	100								
<i>S. cerevisiae</i>	18	Anidulafungina	27,8	38,9	83,3	100								
		Caspofungina	0	17,6	17,6	35,3	82,4	100						
		Micafungina	94,1	100										
<i>C. kefyr</i>	10	Anidulafungina	100											
		Caspofungina	60	90	100									
		Micafungina	100											

Datos obtenidos en el Servicio de Micología del Centro Nacional de Microbiología.

lente actividad contra *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. lusitanae*, *Saccharomyces cerevisiae* y *C. kefyr*. Más del 99% de las cepas analizadas fueron inhibidas por concentraciones $\leq 0,25$ mg/l (tabla 3). La actividad in vitro de anidulafungina fue similar a la de micafungina, mientras que la actividad in vitro de caspofungina fue ligeramente menor (tablas 2 y 3). Sin embargo, para *C. parapsilosis* y especialmente *C. guilliermondii* la actividad in vitro es menos potente para todas las candidinas. En el caso de *C. parapsilosis* todas las cepas fueron inhibidas por concentraciones de 2 mg/l de anidulafungina y micafungina (tabla 3). Para *C. guilliermondii* se necesitaron 32 mg/l para inhibir todas las cepas, aunque más del 90% de las cepas fueron inhibidas por concentraciones ≤ 2 mg/l de anidulafungina y ≤ 1 mg/l de caspofungina y micafungina (tabla 3). Teniendo en cuenta los puntos de corte elaborados por el CLSI³, cualquier equinocandina sería activa contra la

inmensa mayoría de los aislados y especies recogidos en las tablas 2 y 3.

Teniendo en cuenta la epidemiología de la infección fúngica invasora causada por levaduras en España⁷, se puede afirmar que las equinocandinas son una buena opción de tratamiento ya que tienen una excelente actividad contra las 5 especies que causan el 97% de las infecciones invasoras, como *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. krusei*. Asimismo son activas contra otros patógenos que pueden ser considerados emergentes como *S. cerevisiae* y *C. kefyr* (tablas 2 y 3). Por otro lado, la única especie en la que se han detectado aislados con concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) elevadas, *C. guilliermondii*, es un patógeno muy poco frecuente en nuestro entorno⁷. Además, recientemente se han descrito 2 nuevas especies relacionadas con *C. parapsilosis*: *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis*. El análisis de la sensibilidad a las equinocandinas de estas nuevas especies indica que

tienen una buena actividad con CMI menores que frente a *C. parapsilosis*, especialmente la anidulafungina⁸.

Además de los datos ofrecidos más arriba, existen pocos trabajos donde se analice la actividad in vitro de las equinocandinas. El más extenso ha sido realizado por Pfaller et al³, en que se ha comparado la actividad de las 3 equinocandinas mediante la metodología del CLSI. Para ello han analizado 5.346 cepas aisladas en sangre o en otras muestras estériles. Los datos obtenidos por esos autores son muy parecidos a los de las tablas 2 y 3. Así, más del 90% de las cepas de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. lusitaniae* y *C. kefyr* fueron inhibidas por concentraciones $\leq 0,5$ mg/l. Al igual que ocurre con la metodología EUCAST, las equinocandinas tuvieron una menor actividad contra *C. parapsilosis* y *C. guilliermondii*, aunque más del 90% de las cepas fueron inhibidas por concentraciones ≤ 2 mg/l. En este trabajo, también se recoge la actividad de las equinocandinas contra *C. famata*, que tiene un patrón de sensibilidad similar al de *C. parapsilosis*.

Actividad in vitro contra hongos filamentosos

Hay dos metodologías de referencia para analizar la sensibilidad de las levaduras a las equinocandinas, realizadas por el CLSI de Estados Unidos y por el EUCAST^{9,10}. Para ambas metodologías la estimación de la concentración del antifúngico que produce la inhibición del hongo filamentosos no se establece mediante la clásica CMI, sino mediante la concentración mínima efectiva (CME), que se

conoce como la mínima concentración del antifúngico en la que se empieza a observar alteraciones microscópicas en las hifas¹¹. Recientemente, Espinel-Ingroff et al¹² han publicado las condiciones óptimas para ensayar la anidulafungina contra hongos filamentosos. Así establece que para *Aspergillus* spp. y *Paecilomyces variotii* se debe establecer la CME a las 24 h, mientras que para *Scedosporium apiospermum* se recomienda a las 48 h. Sin embargo, para *Fusarium* spp. se recomienda establecer el punto de corte estimando la CMI a las 48 h¹².

La mayoría de los estudios in vitro se han realizado siguiendo el estándar del CLSI⁹. El espectro de actividad de anidulafungina contra los hongos filamentosos es amplio. Así, tiene actividad contra diferentes especies de *Aspergillus*, incluyendo *A. terreus* resistente a la anfotericina B y *A. fumigatus* resistente al itraconazol¹³. En la tabla 4 se recoge la actividad de la anidulafungina comparada con la de caspofungina¹⁴ y micafungina de varias especies de *Aspergillus*. En ella se puede observar que todas las equinocandinas tienen una buena actividad contra las especies de *Aspergillus* estudiadas (tabla 4) y destaca que la anidulafungina y la micafungina tienen una mayor actividad in vitro como lo demuestran las CME₅₀ y CME₉₀. Otros autores han comunicado CMI más elevadas para *A. flavus* (CME₉₀, 1mg/l)¹⁵ y para *A. glaucus* (intervalo de CME, $\leq 0,03$ -> 8 mg/l).

La actividad de anidulafungina y caspofungina contra otros hongos filamentosos no es uniforme, pero hay que tener en cuenta que los datos comunicados son escasos. Así, es variable contra *Madurella micetomatis*, *Paecilomyces* spp., *Penicillium marneffeii*, *S. apiospermum*, *Curvularia* spp., *Alternaria* spp., *Exophiala* spp., *Fonsecaea pe-*

TABLA 4. Actividad in vitro en mg/l de anidulafungina, caspofungina y micafungina contra *Aspergillus* spp.

Especie	n	Antifúngico	Media geométrica	CME ₅₀	CME ₉₀	Intervalo
<i>A. fumigatus</i>	29	Anidulafungina	$\leq 0,03$	$\leq 0,03$	$\leq 0,03$	0,03-0,03
		Caspofungina	0,06	0,06	0,12	0,03-0,25
		Micafungina	$\leq 0,03$	$\leq 0,03$	0,03	0,03-0,03
<i>A. flavus</i>	18	Anidulafungina	$\leq 0,03$	$\leq 0,03$	$\leq 0,03$	0,03-0,03
		Caspofungina	0,05	0,06	0,12	0,03-0,25
		Micafungina	$\leq 0,03$	$\leq 0,03$	$\leq 0,03$	0,03-0,03
<i>A. terreus</i>	16	Anidulafungina	$\leq 0,03$	$\leq 0,03$	$\leq 0,03$	0,03-0,03
		Caspofungina	0,06	0,06	0,12	0,03-0,12
		Micafungina	$\leq 0,03$	$\leq 0,03$	$\leq 0,03$	0,03-0,03
<i>A. niger</i>	3	Anidulafungina	-	-	-	0,03-0,03
		Caspofungina	-	-	-	0,06-0,12
		Micafungina	-	-	-	0,03-0,03
<i>A. glaucus</i>	1	Anidulafungina	-	-	-	0,03
		Caspofungina	-	-	-	0,12
		Micafungina	-	-	-	0,03
Total	≤ 67	Anidulafungina	$\leq 0,03$	$\leq 0,03$	$\leq 0,03$	0,03-0,03
		Caspofungina	0,062	0,06	0,125	0,03-0,25
		Micafungina	$\leq 0,03$	$\leq 0,03$	$\leq 0,03$	0,03-0,03

CME: concentración mínima efectiva.

Datos del Servicio de Microbiología y Parasitología del Hospital Universitario de Valme.

drosi, *Phialophora* spp., *Pneumocystis jiroveci*, *Bipolaris* spp., *Chladophialophora* spp. y *Pseudallescheria boydii*^{7,10}. No parece que tenga actividad contra *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii*, *Fusarium* spp., *Rhizopus* spp., y *S. prolificans*^{13,15-17}.

La actividad de anidulafungina contra estos hongos es similar a la de caspofungina (CMI, 1- > 8 mg/l) y menor que la micafungina (CMI, ≤ 0,12-0,5 mg/l); esta última muestra actividad contra la fase micelial de los hongos dimórficos, excepto contra *Paracoccidioides brasiliensis*, para el que no tiene actividad contra ninguna de las fases¹⁵.

Dada la problemática de cómo hacer la lectura de la actividad in vitro de las equinocandinas contra los hongos filamentosos y de que la determinación de la CME es subjetiva y a la vez cualitativa, recientemente se ha publicado un trabajo¹⁸ en el que se hace una tentativa para determinar la actividad in vitro de este grupo de antifúngicos contra *A. flavus*, *A. fumigatus* y *A. terreus*, midiendo la disminución de la actividad metabólica en presencia de las 3 equinocandinas y comparando esta actividad con los valores de las CME según el CLSI M 38A, para ello se utilizan dos tipos de inóculos y conidias de *Aspergillus* spp. germinadas y no germinadas. Los resultados demuestran que la determinación de la actividad metabólica parece correlacionar mejor con los resultados in vivo que las CME. Concretamente, en *A. flavus* se observa una mayor actividad inhibitoria del metabolismo de las equinocandinas que en *A. fumigatus* y *A. terreus*, lo que explicaría la mayor respuesta in vivo de las infecciones por *A. flavus* que de las infecciones por otras especies¹⁸⁻²¹ tratadas con cualquiera de las tres equinocandinas, a pesar de que las CME fueron similares para los 3 antifúngicos y las 3 especies.

Por todas las razones anteriormente expuestas, así como por la dificultad y laboriosidad de los métodos utilizados, se ha intentado buscar otros métodos para el estudio de la sensibilidad in vitro de los hongos filamentosos a las equinocandinas. En este sentido hay datos en la literatura sobre el método de difusión disco placa con caspofungina y micafungina contra *Aspergillus* spp. y otros hongos filamentosos²²⁻²⁵. Los resultados obtenidos en diferentes laboratorios han sido similares con halos de inhibición de crecimiento > 15 mm, a pesar de la falta de uniformidad en el método, ya que se utilizaron distintos medios de cultivo y distintas concentraciones de los discos. Sin embargo, no hay nada publicado con la anidulafungina y el método disco placa. Nuestra experiencia, comunicada en el European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases de 2008, es con discos de anidulafungina a concentraciones de 1 y 2 µg. Se han empleado distintas especies de *Aspergillus* en agar Mueller-Hinton como medio de cultivo. Se han obtenido halos de inhibición mayores (> 22 mm) que los alcanzados con las otras 2 equinocandinas. Otros métodos de difusión en agar, como el E-test, también se han ensayado con caspofungina²⁶ y anidulafungina (datos presentados en el XIII Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica de 2008) y *Aspergillus* spp., y se obtuvo una buena correlación (> 90%) con el método de referencia del CLSI⁹ mediante las lecturas de las CME.

En resumen, son necesarios más estudios para poder establecer el método estándar para la determinación de la sensibilidad in vitro a las equinocandinas, así como aumentar los datos obtenidos in vitro.

Combinación in vitro

Por el mecanismo de acción de la anidulafungina de alterar la pared celular de los hongos filamentosos, se podría pensar en una interacción con otros antifúngicos como la anfotericina B y los azoles, que favorecería la entrada en la célula fúngica para actuar a nivel de la membrana celular. En este sentido, hay datos de combinación in vivo de anidulafungina con anfotericina B contra *Mucorales*²⁷, aunque se desconoce el mecanismo por el cual estos dos antifúngicos tienen una acción sinérgica contra *Mucorales* in vivo, ya que no tienen actividad in vitro contra este grupo de hongos. También hay datos in vitro de sinergia con nikomicina Z, voriconazol e itraconazol contra *Aspergillus* spp., pero no contra *Fusarium* spp., aunque en ningún caso se ha observado ausencia de efecto²⁸. Asociada con anfotericina B, 5-fluorocitosina, terbinafina, itraconazol y voriconazol mostró ausencia de efecto y sinergia con ravuconazol contra *S. apiospermum*, mientras que contra *S. prolificans* las asociaciones siempre mostraron ausencia de efecto, pero nunca hubo antagonismo²⁹. Estos datos son superponibles a los obtenidos con las otras 2 equinocandinas²⁹.

Resistencia a las equinocandinas

La resistencia a las equinocandinas es un hecho infrecuente, como lo demuestra el escaso número de publicaciones al respecto³⁰⁻³⁸. En alguno de estos trabajos se han estudiado los mecanismos de resistencia que explican las CMI elevadas. En todos los casos analizados se han encontrado mutaciones en el gen *FKS1* que conllevan un cambio de aminoácido en la proteína fks1 que es un componente esencial del complejo enzimático de la (1,3)-β-D-glucano sintasa. Las cepas que han desarrollado resistencia y descritas en la literatura pertenecen a las siguientes especies: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* y *C. krusei*.

Tomando en consideración los puntos de corte realizados por el CLSI⁹, en los que se considera como susceptibles a las cepas con CMI ≤ 2 mg/l, y analizando nuestros resultados, se puede afirmar que la aparición de cepas con CMI > 2 mg/l es un hecho muy infrecuente. Así, únicamente una cepa de *C. parapsilosis* tuvo una CMI de 4 mg/l de caspofungina y una cepa de *C. guilliermondii* tuvo CMI de 32 para las 3 equinocandinas. Por otro lado, otro aspecto controvertido es si el desarrollo de resistencia a una equinocandina produce resistencia cruzada a todo el grupo. Los datos disponibles por el momento indican que hay elevación de todas las CMI en paralelo. Sin embargo, si se admite que las cepas son sensibles cuando tienen CMI ≤ 2 mg/l como el CLSI recomienda⁹, la resistencia cruzada no es un hecho universal. Así, de 8 *C. albicans* con CMI ≥ 4 mg/l, sólo 2 tenían CMI ≥ 4 mg/l de micafungina y ninguna de anidulafungina³⁹.

En resumen, la aparición de cepas con CMI elevadas es un hecho anecdótico pero que ha sido descrito. Todas las cepas con CMI elevadas tienen mutaciones en el gen *FKS1*. Sin embargo, la resistencia cruzada puede no ser universal a tenor de los datos analizados.

Aunque los mecanismos de resistencia a los azoles han sido extensamente estudiados con *Aspergillus* spp., no hay datos en la literatura de fracaso terapéutico de aspergilosis

invasoras con equinocandinas, relacionado con resistencias a este grupo de antifúngicos. Recientemente, Rocha et al⁴⁰ han publicado un estudio de resistencia in vitro de *A. fumigatus* a las 3 equinocandinas por mutación del gen *FKS1*, reproduciendo in vitro lo que ocurre con *Candida* spp.

Efecto paradójico

Un fenómeno que se ha comunicado con las equinocandinas es el llamado efecto paradójico; descrito hace muchos años con las penicilinas, consiste en el crecimiento de los aislados a elevadas concentraciones del antifúngico mientras que son inhibidos a bajas concentraciones⁴¹⁻⁴⁴. Parece que el efecto paradójico es dependiente de especie y equinocandina. No se ha descrito en *C. glabrata*⁴¹ y sí en *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. krusei*. Es más evidente con caspofungina que con micafungina y anidulafungina⁴¹. El mecanismo por el cual este fenómeno sucede es prácticamente desconocido, aunque se han propuesto algunos. Se ha visto que la exposición a elevadas concentraciones de equinocandinas en aislados con efecto paradójico disminuye las concentraciones de (1,3)- β -glucano y (1,6)- β -glucano, mientras que aumenta la concentración de quitina⁴⁴. Asimismo, se ha demostrado en *C. albicans* un aumento de la expresión del gen *MKC1*, una proteína cinasa involucrada en la reparación de la pared celular. Las cepas en que se han interrumpido los genes no tienen efecto paradójico⁴⁵. Un efecto paradójico similar se ha observado en distintas especies de *Aspergillus* spp. y las equinocandinas; éste es más frecuente y con menor concentración con caspofungina que con anidulafungina y micafungina¹⁸.

En resumen, la elevada concentración de quitina en la pared celular de cepas expuestas a altas concentraciones de equinocandinas parece ser el resultado de la sobreexpresión de diferentes vías de síntesis de componentes de la pared celular en respuesta al daño que producen en ella las equinocandinas. Las implicaciones clínicas del efecto paradójico son desconocidas y por el momento no han sido detectadas en ninguno de los ensayos clínicos realizados.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores han declarado tener los siguientes conflictos de intereses:

J.L. Rodríguez-Tudela ha participado como ponente en actividades de formación continuada organizadas por Gilead, MSD, Pfizer y Schering Plough.

E. Martín Mazuelos no tiene ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- De la Torre P, Reboli AC. Anidulafungin: a new echinocandin for candidal infections. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2007;5:45-52.
- Vazquez J, Sobel J. Reviews of anti-infective agents: anidulafungin: a novel echinocandin. *Clin Infect Dis*. 2006;43:215-22.
- Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ, Kroeger J, Messer SA, Tendolkar S, et al. In vitro susceptibility of invasive isolates of *Candida* spp. to anidulafungin, caspofungin, and micafungin: six years of global surveillance. *J Clin Microbiol*. 2008;46:150-6.
- Cuenca-Estrella M, Mellado E, Diaz-Guerra TM, Monzon A, Rodriguez-Tudela JL. Susceptibility of fluconazole-resistant clinical isolates of *Candida* spp. to echinocandin LY303366, itraconazole and amphotericin B. *J Antimicrob Chemother*. 2000;46:475-7.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved stan-

- dard M27-A-Second edition. 2002. Wayne: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2002.
- Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (AFST) of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). EUCAST Definitive Document EDef 7.1: method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative yeasts. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14:398-405.
- Almirante B, Rodriguez D, Park BJ, Cuenca-Estrella M, Planes AM, Almelá M, et al. Epidemiology and predictors of mortality in cases of *Candida* bloodstream infection: results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *J Clin Microbiol*. 2005;43:1829-35.
- Gomez-Lopez A, Alastruey-Izquierdo A, Rodriguez D, Almirante B, Pahissa A, Rodriguez-Tudela JL, et al. Prevalence and susceptibility profile of *Candida metapsilosis* and *Candida orthopsilosis*. results from population-based surveillance of candidemia in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52:1506-9.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved standard M38-A. 2002. Wayne: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2002.
- Rodriguez-Tudela JL, Arendrup MC, Arikian S, Barchisei F, Bille J, Chrysantou E, et al. Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for conidia forming moulds. EUCAST; 2008.
- Arikian S, Lozano-Chiu M, Paetznick V, Rex JH. In vitro susceptibility testing methods for caspofungin against *Aspergillus* and *Fusarium* isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45:327-30.
- Espinel-Ingroff A, Fothergill A, Ghannoum M, Manavathu E, Ostrosky-Zeichner L, Pfaller MA, et al. Quality Control and reference guidelines for CLSI broth microdilution method (M38-A Document) for susceptibility testing of anidulafungin against molds. *J Clin Microbiol*. 2007;45:2180-2.
- Martin-Mazuelos E. Anidulafungin Vicuron. *IDrugs*. 2003;6:980-6.
- Serrano MD, Valverde-Conde A, Chavez M, Bernal S, Claro RM, Peman J, et al. In vitro activity of voriconazole, itraconazole, caspofungin, anidulafungin (VER002, LY303366) and amphotericin B against *Aspergillus* spp. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2003;45:131-5.
- Odabasi Z, Paetznick VL, Rodriguez JR, Chen E, Ostrosky-Zeichner L. In vitro activity of anidulafungin against selected clinically important mold isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:1912-5.
- Pfaller MA, Marco F, Messer SA, Jones RN. In vitro activity of two echinocandin derivatives, LY303366 and MK-0991 (L-743,792), against clinical isolates of *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus*, and other filamentous fungi. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1998;30:251-5.
- Zhanell GG, Karlowsky JA, Harding GA, Balko TV, Zelenitsky SA, Friesen M, et al. In vitro activity of a new semisynthetic echinocandin, LY-303366, against systemic isolates of *Candida* species, *Cryptococcus neoformans*, *Blastomyces dermatitidis*, and *Aspergillus* species. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997;41:863-5.
- Antachopoulos C, Meletiadiis J, Sein T, Roilides E, Walsh TJ. Comparative in vitro pharmacodynamics of caspofungin, micafungin, and anidulafungin against germinated and nongerminated *Aspergillus* conidia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52:321-8.
- Antachopoulos C, Meletiadiis J, Sein T, Roilides E, Walsh TJ. Concentration-dependent effects of caspofungin on the metabolic activity of *Aspergillus* species. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51:881-7.
- Bowman JC, Abruzzo GK, Flattery AM, Gill CJ, Hickey EJ, Hsu MJ, et al. Efficacy of caspofungin against *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus*, and *Aspergillus nidulans*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:4202-5.
- Maertens J, Raad I, Petrikos G, Boogaerts M, Selleslag D, Petersen F, et al. Efficacy and safety of caspofungin for treatment of invasive aspergillosis in patients refractory to or intolerant of conventional antifungal therapy. *Clin Infect Dis*. 2004;39:1563-71.
- Arikian S, Paetznick V, Rex JH. Comparative evaluation of disk diffusion with microdilution assay in susceptibility testing of caspofungin against *Aspergillus* and *Fusarium* isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:3084-7.
- Arikian S, Yurdakul P, Hascelik G. Comparison of two methods and three end points in determination of in vitro activity of micafungin against *Aspergillus* spp. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;47:2640-3.
- Espinel-Ingroff A, Arthington-Skaggs B, Iqbal N, Ellis D, Pfaller MA, Messer S, et al. 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;45:1811-20.
- Espinel-Ingroff A, Canton E. Comparison of neo-sensitabs tablet diffusion assay with CLSI broth microdilution M38-A and disk diffusion methods for susceptibility testing of filamentous fungi with amphotericin B, caspofungin,

- itraconazole, posaconazole and voriconazole. *J Clin Microbiol*. 2008. doi: 10.1128/JCM.01883-07.
26. Espinel-Ingroff A. Evaluation of broth microdilution testing parameters and agar diffusion test procedure for testing susceptibilities of *Aspergillus* spp. to caspofungin acetate (MK-0991). *J Clin Microbiol*. 2003;41:403-9.
 27. Ibrahim AS, Gebremariam T, Fu Y, Edwards JE Jr, Spellberg B. Combination echinocandin-polyene treatment of murine mucormycosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52:1556-8.
 28. Philip A, Odabasi Z, Rodriguez J, Paetznick VL, Chen E, Rex JH, et al. In vitro synergy testing of anidulafungin with itraconazole, voriconazole, and amphotericin B against *Aspergillus* spp. and *Fusarium* spp. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49:3572-4.
 29. Cuenca-Estrella M, Alastruey-Izquierdo A, Alcazar-Fuoli L, Bernal-Martinez L, Gomez-Lopez A, Buitrago MJ, et al. In vitro activities of 35 double combinations of antifungal agents against *Scedosporium apiospermum* and *Scedosporium prolificans*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52:1136-9.
 30. Baixench MT, Aoun N, Desnos-Ollivier M, Garcia-Hermoso D, Bretagne S, Ramires S, et al. Acquired resistance to echinocandins in *Candida albicans*: case report and review. *J Antimicrob Chemother*. 2007;59:1076-83.
 31. Hernandez S, Lopez-Ribot JL, Najvar LK, McCarthy DI, Bocanegra R, Graybill JR. Caspofungin resistance in *Candida albicans*: correlating clinical outcome with laboratory susceptibility testing of three isogenic isolates serially obtained from a patient with progressive *Candida* esophagitis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:1382-3.
 32. Kahn JN, Garcia-Effron G, Hsu MJ, Park S, Marr KA, Perlin DS. Acquired echinocandin resistance in a *Candida krusei* isolate due to modification of glucan synthase. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51:1876-8.
 33. Katiyar S, Pfaller M, Edlind T. *Candida albicans* and *Candida glabrata* clinical isolates exhibiting reduced echinocandin susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:2892-4.
 34. Krogh-Madsen M, Arendrup M, Heslet L, Knudsen J. Amphotericin B and caspofungin resistance in *Candida glabrata* isolates recovered from a critically ill patient. *Clin Infect Dis*. 2006;42:938-44.
 35. Laverdiere M, Lalonde RG, Baril JG, Sheppard DC, Park S, Perlin DS. Progressive loss of echinocandin activity following prolonged use for treatment of *Candida albicans* oesophagitis. *J Antimicrob Chemother*. 2006;57:705-8.
 36. Moudgal V, Little T, Boikov D, Vazquez JA. Multiechinocandin- and multiazole-resistant *Candida parapsilosis* isolates serially obtained during therapy for prosthetic valve endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49:767-9.
 37. Park S, Kelly R, Kahn JN, Robles J, Hsu MJ, Register E, et al. Specific substitutions in the echinocandin target Fks1p account for reduced susceptibility of rare laboratory and clinical *Candida* sp. isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49:3264-73.
 38. Pasquale T, Tomada JR, Ghannoun M, Dipersio J, Bonilla H. Emergence of *Candida tropicalis* resistant to caspofungin. *J Antimicrob Chemother*. 2008;61:219.
 39. Perlin DS. Resistance to echinocandin-class antifungal drugs. *Drug Resistance Updates*. 2007;10:121-30.
 40. Rocha EM, Garcia-Effron G, Park S, Perlin DS. A Ser678Pro substitution in Fks1p confers resistance to echinocandin drugs in *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51:4174-6.
 41. Chamilos G, Lewis RE, Albert N, Kontoyiannis DP. Paradoxical effect of echinocandins across *Candida* species in vitro: evidence for echinocandin-specific and *Candida* species-related differences. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51:2257-9.
 42. Clemons KV, Espiritu M, Parmar R, Stevens DA. Assessment of the paradoxical effect of caspofungin in therapy of candidiasis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:1293-7.
 43. Stevens DA, Espiritu M, Parmar R. Paradoxical effect of caspofungin: reduced activity against *Candida albicans* at high drug concentrations. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:3407-11.
 44. Stevens DA, Ichinomiya M, Koshi Y, Horiuchi H. Escape of *Candida* from caspofungin inhibition at concentrations above the MIC (paradoxical effect) accomplished by increased cell wall chitin; evidence for (beta)-1,6-glucan synthesis inhibition by caspofungin. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:3160-1.
 45. Wiederhold NP, Kontoyiannis DP, Prince RA, Lewis RE. Attenuation of the activity of caspofungin at high concentrations against *Candida albicans*: possible role of cell wall integrity and calcineurin pathways. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49:5146-8.