

ARTÍCULO  
DE REVISIÓN

Dra. Sonia Arza Fernández<sup>1</sup>  
Dr. José de Jesús Coria Lorenzo<sup>2</sup>  
Dr. R. Erick Rosales Uribe<sup>3</sup>  
Dr. Demóstenes Gómez Barreto<sup>4</sup>

**1**Pediatra, residente de infectología pediátrica del Hospital Infantil de México Federico Gómez, SSa.

**2**Pediatra infectólogo adscrito al Departamento de Infectología Pediátrica del Hospital Infantil de México Federico Gómez, SSa.

**3**Pediatra infectólogo, jefe del Servicio de Infectología del Hospital Infantil de México Federico Gómez SSa.

**4**Pediatra infectólogo, exjefe del Laboratorio de Bacteriología Intestinal del Hospital Infantil de México Federico Gómez, SSa. Asesor en Infectología del Hospital Gea González SSa.

Correspondencia de sobretiros:

Dr. José de Jesús Coria Lorenzo,  
Departamento de Infectología.  
Hospital Infantil de México  
"Federico Gómez", Dr. Márquez  
#162, Col Doctores, Delegación  
Cuahtémoc, México, DF. C.P.  
06720. e-mail: jjcoril@yahoo.com

## Aspergilosis invasiva en el paciente pediátrico oncológico: revisión del tema a propósito de un caso

### RESUMEN

**Introducción:** *Aspergillus* es un hongo filamentosos ubicuo que provoca complicaciones sobre todo en pacientes con alteración de la defensa celular, fundamentalmente neutropénicos.

**Caso clínico:** Masculino de 3 años de edad portador de histiocitosis (27-04-01), última quimioterapia 9 días antes del ingreso (metotrexate). Ingresó con epistaxis de 3 hrs. de evolución, de difícil manejo a pesar de taponamiento nasal anterior y administración de concentrado plaquetario. Desde el ingreso neutropenia y plaquetopenia, por lo que se inicia ceftazidima, amikacina, clindamicina y fluconazol (por lesiones de probable candidiasis). Persiste febril y neutropénico aislándose en orina *E.coli* 16 días postingreso. Se suspenden ceftazidima y fluconazol, iniciándose cefepime y anfotericina-B. Por el patrón de sensibilidad favorable a meropenem y resistente al resto de los antibióticos, se suspende cefepime e inicia meropenem. La tele de tórax con infiltrado difuso bilateral, sin dificultad respiratoria. Se realiza TC de tórax con hallazgo de imagen nodular, sugerente de aspergilosis pulmonar. La PCR (suero) positiva para *Aspergillus fumigatus*. Por incremento de creatinina continúa terapia con anfotericina liposomal (7mg/kg/día). A los 30 días después del ingreso, por mala evolución se realiza resección de lóbulo pulmonar superior y parte del medio derecho con hallazgo anatomopatológico de granuloma orientador de *Aspergillus*. Completa dos semanas más de tratamiento endovenoso posterior a la exéresis de la lesión. y es dado de alta estable con indicaciones de continuar terapia con itraconazol por 4-6 meses y control periódico ambulatorio.

**Palabras clave:** Aspergilosis pulmonar, aspergiloma, antimicóticos.

### ABSTRACT

**Introduction:** *Aspergillus* is a ubiquitous filamentous fungus that mainly causes complications, fundamentally in neutropenic patients with cellular defense disorder.

**Clinical case:** Male, 3 years old, suffering histiocytosis (27-04-01); last chemotherapy 9 days before admittance (methotrexate). He is admitted with epistaxis of 3 hours evolution and hard to control, in spite of previous administration of platelet concentrate and nasal tampon. Since admittance he was neutropenic, with low platelet count, so we began ceftazidime, amikacin, clindamycin and fluconazole (due to suspicion of candidiasis). He remains febrile and neutropenic; *E. coli* was isolated in urine 16 days after admittance; ceftazidime and fluconazole were withdrawn, initiating cefepime and amphotericin B. The pattern of sensitivity was favorable to meropenem and resistance to the rest of antibiotics determined interruption of cefepime and initiation of meropenem. Thorax X-ray showed a diffuse bilateral infiltrate, that didn't seem to cause respiratory difficulty. Thorax CT showed a nodular image, suggestive of pulmonary aspergillosis. PCR (serum) was positive for *Aspergillus fumigatus*. Due to creatinine increase we continued therapy with liposomal amphotericin (7mg/kg/day). Thirty days after admittance, due to unfavorable evolution, resection of superior pulmonary lobe and a portion of right medium lobe was performed. Anatomopathological finding was granuloma, suggestive of *Aspergillus*. Patient completed two weeks with i.v treatment post-resection surgery, and was released in stable condition with indications to continue ambulatory therapy with itraconazole for 4-6 months and periodic controls.

**Key words:** Pulmonary aspergillosis, aspergilloma, antifungal agents.

## INTRODUCCIÓN

*Aspergillus* se encuentra en la morada del hombre y sus alrededores, en plantas, macetas, pimienta y otras especias. Es probable que su nicho ecológico primario sea la materia vegetal en descomposición.<sup>1</sup> No es conocido el inóculo necesario para el desarrollo de cualquiera de las manifestaciones de aspergilosis, pero es probable que sea inferior en la mayoría de los pacientes inmunocomprometidos. El periodo de incubación entre la exposición a *Aspergillus* y la aspergilosis invasiva es variable, pudiendo presentarse entre 36 horas hasta 3 meses. En los neutropénicos la invasión casi nunca se manifiesta antes del día 12 de neutropenia profunda, aunque desde un principio tengan colonización de los senos paranasales o de las vías aéreas.<sup>2</sup>

Los avances en el tratamiento de pacientes graves por complicaciones clínicas o quirúrgicas, el uso de antimicrobianos de amplio espectro, de la nutrición parenteral, radioterapia en oncohematología, el desarrollo de la transplantología en general, la pandemia del SIDA, la expansión de la drogadicción y sus consecuencias, han determinado el aumento de las infecciones oportunistas por organismos conocidos como *Aspergillus*.

## CASO CLÍNICO

Paciente masculino de 3 años de edad, residente del Estado de México, con diagnóstico conocido de histiocitosis desde 27-04-01, última quimioterapia con metotrexate 9 días antes del ingreso. Presenta epistaxis de 3 hrs. de evolución, de difícil manejo a pesar de taponamiento nasal anterior y administración de concentrado plaquetario. Presencia de fiebre al cuarto día a partir del ingreso, neutropenia y plaquetopenia por lo que se inicia ceftazidima, amikacina, clindamicina y fluconazol, éste por lesiones de probable candidiasis, cubriendo *Ps. aeruginosa* y *St. aureus* por taponamiento nasal. Posteriormente, por persistencia de fiebre y aislamiento en orina de *E.coli* (16 días postingreso) se suspenden ceftazidi-

ma y fluconazol, iniciándose cefepime y anfotericina. El patrón de sensibilidad fue favorable a meropenem, con multirresistencia al resto de los antibióticos por lo que se suspende cefepime e inicia meropenem. Durante su estancia presenta tos persistente, sin dificultad respiratoria, pero datos clínicos compatibles con neumonía, por lo que se solicita radiografía de tórax (infiltrado difuso bilateral), TC de tórax y senos paranasales; la primera con hallazgo de imagen nodular de intensidad aumentada con base pleural, sugerente de aspergilosis pulmonar, y en senos paranasales solo engrosamiento de mucosa. Se solicita PCR (reacción en cadena de polimerasa) resultando positiva para *Aspergillus fumigatus*. Incrementó la creatinina y se cambió a anfotericina liposomal (7mg/kg/día). Evoluciona mal y al día 30 de su ingreso se realiza cirugía con resección de lóbulo pulmonar superior y parte del medio derechos con hallazgo anatomopatológico de granuloma; en la tinción de plata-metenamina se observan hifas tabicadas con bifurcación en 45°, hallazgo orientador de *Aspergillus*. El cultivo de la lesión fue negativo. El paciente deja de presentar fiebre, recuperándose clínica y laboratorialmente; completa dos semanas más de tratamiento endovenoso posterior a la exéresis de la lesión pulmonar con anfotericina B liposomal (total 31 días de terapia con anfotericina: 10 con desoxicolato y 21 liposomal, respectivamente) y es dado de alta estable con indicaciones de continuar terapia con itraconazol por 4-6 meses y control periódico ambulatorio.

## DISCUSIÓN

**Patogenia:** Se han documentado infecciones por *Aspergillus* en pacientes inmunocompetentes, cuadros como oncomicosis y otitis externa<sup>3-5</sup> así como infección invasiva, por lo que puede comportarse como un patógeno primario, a pesar de que éste no es su patrón más frecuente, sino que afecta a inmunocomprometidos, constituyendo así un patógeno secundario.

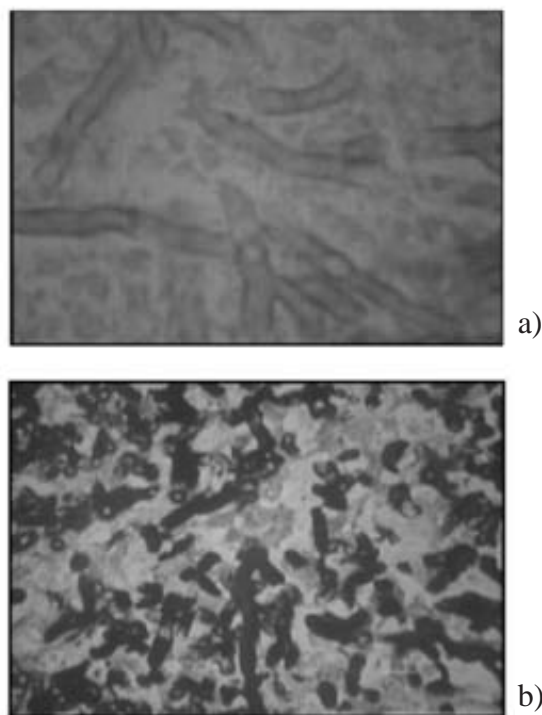
La mayoría de las especies de *Aspergillus* no pueden crecer a 37°, por lo que esta propiedad es característica para distinguir especies patógenas de las que no lo son. Las velocidades de crecimiento varían entre las especies de *Aspergillus* siendo la más rápida la del *A. fumigatus*, por lo que este patrón fue tomado como parámetro de la patogenicidad y la rápida progresión de la enfermedad. La capa de revestimiento proteico hidrófobo de las conidias evita el ataque del huésped.<sup>6-8</sup> Otra característica importante es la unión a la laminina y al fibrinógeno que se ve más con *A. fumigatus*, debido a que la adhesión a las vías aéreas antes de la invasión es mayor.<sup>9-11</sup> También se ha visto que produce distintos tipos de proteasas que, en conjunto con las producidas durante la infección, inducen el desprendimiento de células epiteliales pulmonares y liberación de citocinas proinflamatorias. La gran mayoría de las especies de *Aspergillus* producen metabolitos secundarios como aflatoxinas, ocratoxina A, fumalgilina y gliotoxina, que producen diferentes tipos de acción, interviniendo en la patogenia de este agente.

En la respuesta defensiva del huésped, luego de la acción de la capa de moco y de los cilios en los pulmones, los macrófagos son la primera línea de defensa contra *Aspergillus*, ya que se fijan a las conidias, las ingieren y destruyen. Las hifas son dañadas por acción de neutrófilos, monocitos y macrófagos.<sup>12-15</sup> El complemento facilita daño de hifas por los neutrófilos y la destrucción de conidias por los monocitos.<sup>16-17</sup> Las hifas son destruidas a nivel extracelular, a diferencia de las bacterias, en las que la destrucción se lleva a cabo intracelularmente.

La destrucción oxidativa por los fagocitos es fundamental para la recuperación de la aspergilosis invasiva, de tal manera que, en individuos que presentan alteración de base o secundaria de este grupo de células, la progresión de la enfermedad y el deterioro clínico del paciente sin un manejo adecuado es la evolución más frecuente.

### ***Datos anatomopatológicos de invasión por Aspergillus.***

Los datos observables en la anatomía patológica dependen de la respuesta del huésped. En pacientes inmunocomprometidos la invasión vascular acompañada de inflamación necrosante se observa con frecuencia. Esto conduce a infarto, necrosis, edema y hemorragia en los tejidos. En la forma crónica se puede presentar invasión pulmonar con formación de granulomas con o sin *caseum*, acompañado de necrosis y consolidación alveolar. Así también se han reportado formación de bronquiectasias y fibrosis pleural.<sup>18</sup> Las hifas generalmente son abundantes y forman grupos con ramificaciones radiales en el tejido; tienen 2 a 4 micrómetros de ancho, tabicadas y ramificadas a 45 grados. (Fig.1) Visualizadas con tinciones argénticas (b), pueden pasar



**Figura 1:** Anatomía patológica del paciente. Formas invasivas de *Aspergillus*: Se observan hifas tabicadas con desprendimientos (ramificaciones a 45°). a) Tinción de Gram, b) Tinción con plata metenamina.

inadvertidas (sobre todo si son escasas) con tinción de Gram (a). En el caso de infecciones crónicas las hifas presentan áreas de ensanchamiento. Muy pocas veces se observa esporulación en el tejido salvo en aquellas regiones que tienen aire, como el pulmón o los senos paranasales.

### *Manifestaciones clínicas*

Se presentan en forma de aspergilosis alérgica con cuadros de asma, neumonía eosinofílica o impactación mucóide, sobre todo en pacientes atópicos o con fibrosis quística subyacente, o bien se presentan como sinusitis alérgica.

*Aspergillus* puede llegar a colonizar cavidades, quistes o bronquios ectásicos preexistentes, siendo llamado aspergiloma, a diferencia de la aspergilosis pulmonar que nombra a la invasión pulmonar por el hongo sin cavidad albergante. Algunos pacientes con aspergiloma se encuentran asintomáticos, pero la mayoría presenta tos productiva persistente, signos de atrapamiento de aire, pérdida de peso o hipocratismo digital.

En el caso de la aspergilosis pulmonar invasiva, tiene varias formas de presentación según los diferentes grupos de pacientes. Los pacientes más inmunocomprometidos (ej. receptores de trasplante de médula ósea) tienen al inicio pocos síntomas y el ritmo progresivo es rápido. Sin embargo, en los pacientes menos inmunocomprometidos la presentación es más sintomática e indolente, con progresión lenta (aspergilosis pulmonar invasiva crónica).

Generalmente los pacientes neutropénicos presentan neumotórax como complicación.

Otra de las formas de presentación es la sinusitis invasiva, que puede ser aguda o crónica. Los síntomas son inespecíficos y compatibles con infecciones bacterianas. Manifestaciones de tos, fiebre, epistaxis y cefalea son las más frecuentes y son menos habituales la odinofagia, el dolor sinusal y la secreción nasal; están afectadas las fosas nasales anteriores pero muy frecuentemente se extiende en forma rápida hasta el paladar, órbita o encéfalo.<sup>19-21</sup> Además de

provocar sinusitis aguda, también se ha observado sinusitis crónica con congestión nasal, pérdida del olfato, cefalea e importante secreción nasal que evoluciona con dolor ocular, proptosis, ceguera, y accidente cerebro-vascular, sobre todo cuando se afecta el seno esfenoidal. En la enfermedad diseminada se desarrolla aspergilosis cerebral en 20% de los casos, constituyendo la forma más grave de infección por *Aspergillus* y la de peor pronóstico, ya que generalmente no hay respuesta clínica. El meningismo es raro y en alto porcentaje la primera manifestación son crisis convulsivas *premortem*; esto teniendo en cuenta el contexto del huésped en el que se presenta: inmunocompromiso. Otros sitios de afectación son la cutánea en forma similar al hipoderma gangrenoso observado en pacientes neutropénicos en sitios de inserción de catéteres, o afectación de las heridas postoperatorias. En aspergilosis diseminada puede quedar afectado cualquier órgano o sistema, (válvulas cardíacas, huesos etc.).<sup>22</sup>

## Clasificación de las formas clínicas de presentación

### A. alérgica

Broncopulmonar y sinusal

*B. de colonización/saprofítica*

Senos paranasales/Traqueobronquial/Pulmonar

### C. *Invasiva*

a) Por vía aérea                      b) Por vía no aérea

Pulmonar invasiva aguda Ocular

Crónica necrótica	Postquirúrgica
<p>1. <b>Definición:</b> Es una infección localizada que persiste durante un tiempo prolongado, caracterizada por la presencia de tejido necrótico y la formación de abscesos.</p> <p>2. <b>Causas:</b> Puede ser causada por una infección bacteriana que no responde al tratamiento antibiótico, o por una infección que se desarrolla después de una cirugía.</p> <p>3. <b>Signos y síntomas:</b> Se caracteriza por la presencia de un absceso que puede ser doloroso y que puede drenar pus. También puede haber fiebre y dolor en la zona afectada.</p> <p>4. <b>Diagnóstico:</b> Se realiza a través de un examen físico y de pruebas de laboratorio, como un análisis de sangre o un cultivo de pus.</p> <p>5. <b>Tratamiento:</b> El tratamiento principal es la cirugía para drenar el absceso y eliminar el tejido necrótico. También se puede utilizar antibióticos para tratar la infección.</p>	<p>1. <b>Definición:</b> Es una infección localizada que se desarrolla después de una cirugía, caracterizada por la presencia de tejido necrótico y la formación de abscesos.</p> <p>2. <b>Causas:</b> Puede ser causada por una infección bacteriana que se desarrolla después de la cirugía, o por una infección que se desarrolla durante la cirugía.</p> <p>3. <b>Signos y síntomas:</b> Se caracteriza por la presencia de un absceso que puede ser doloroso y que puede drenar pus. También puede haber fiebre y dolor en la zona afectada.</p> <p>4. <b>Diagnóstico:</b> Se realiza a través de un examen físico y de pruebas de laboratorio, como un análisis de sangre o un cultivo de pus.</p> <p>5. <b>Tratamiento:</b> El tratamiento principal es la cirugía para drenar el absceso y eliminar el tejido necrótico. También se puede utilizar antibióticos para tratar la infección.</p>

Traqueobronquial Postraumatismo

#### D. Diseminada metastásica

### *Relación huésped –hongo– medio ambiente*

*Aspergillus* puede causar un amplio espectro de infecciones en el ser humano que van desde una afección superficial hasta formas invasoras profundas que plantean incluso retos en el diagnóstico así como en la clínica.

La aspergilosis invasora es adquirida mediante la inhalación de conidias, produciéndose una infección



**Tabla 1. Formas clínicas de presentación.**

Localización	Tx MO %	Malignidad hematológica %	SIDA %
Pulmón (difusa)	25	53	61
Pulmón (localizada)	3	10	21
Senos	6	5	4
Traquea – bronquios	0	0	2
Cutánea	2	1	0
Diseminada	53	29	4

pulmonar invasiva y aguda; las otras formas de presentación son menos frecuentes (Tabla 1).<sup>25</sup> En esta revisión se destaca que las formas pulmonares son las más prevalentes (aspergilosis pulmonar) en los distintos grupos de huéspedes, y que las formas invasora y diseminada en 82% de los casos se presentan en pacientes con trasplante de medula ósea y malignidad hematológica.

Teniendo en cuenta que el diagnóstico generalmente es tardío por la clínica inespecífica, describiéndose que hasta en 30% el diagnóstico no es establecido<sup>26-27</sup>, en la práctica habitual es importante tamizar primero a los enfermos neutropénicos y luego estratificarlos por grupos de riesgo para intervenir en forma apropiada a

tiempo, evitando así desenlaces fatales. En la tabla 2 se agrupan los criterios de Prentice y col.<sup>28</sup> donde fueron ordenados de mayor a menor los factores de riesgo que predisponen a padecer infección fúngica invasiva.

El diagnóstico temprano es esencial para iniciar un tratamiento. Se ha visto que dar inicio temprano disminuye la mortalidad en 40%.

## DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

Ante la sospecha clínica de la afección, la confirmación posterior se realiza a través del “estándar de oro”: microbiología y anatomopatología. El examen directo con KOH, calcoflúor o Gram permite un diagnóstico presuntivo rápido. En el Gram adoptan la coloración positiva y no son identificables, sobre todo si el inóculo es pequeño. El examen de tejidos obtenidos por biopsia teñidos con PAS o plata-metnamina permite visualizar filamentos (hifas) septados con ramificaciones en ángulo agudo (Fig. 1). El cultivo es un método sensible para detectar infección, pero no es específico ya que no es posible diferenciar infección de colonización. Esto teniendo en cuenta que *Aspergillus* forma parte de la microbiota normal saprófita orofaríngea, de fosas nasales, tegumentos y del tubo gastrointestinal, de tal forma que aislarlo de esputo o de un lavado bronco-alveolar puede significar una contaminación.<sup>29</sup> Teniendo presente lo ante-

**Tabla 2: Factores de riesgo de micosis invasora en neutropénicos. Riesgo elevado**

- \* < 100 neutrófilos > 3 semanas
- \* Trasplante de medula ósea no relacionada
- \* Enfermedad injerto contra huésped
- \* Neutropenia < 500 > 5 semanas
- \* Corticosteroides > 2 mg/kg > 2 semanas
- \* Corticosteroides > 1 mg/kg con neutropenia
- \* Ara C altas dosis
- \* Fludarabina

**Tabla 3. Riesgo de aspergilosis invasiva en enfermos con cultivo positivo para *Aspergillus* spp.**

<b>Riesgo alto</b>	
Transplante alogénico de médula ósea	64%
Neutropenia	64%
Cáncer hematológico	50%
<b>Riesgo intermedio</b>	
Transplante autólogo de médula ósea	28%
Esteroides	20%
VIH	19%
Transplante de órgano sólido	17%
Diabetes	11%
Enfermedad pulmonar	9%
Cáncer no hematológico	8%

rior y dada la urgencia en realizar la diferencia para dar inicio a la terapia correspondiente, Perfect y col. observaron que, en los huéspedes con alto riesgo, un cultivo positivo se relaciona con aspergilosis invasiva entre un 50% y 64%, mientras que los de riesgo intermedio muestran una posibilidad entre el 8% y el 28% (Tabla 3).<sup>30</sup>

Teniendo en cuenta los problemas de especificidad que presenta el cultivo, su correcta valoración requiere la utilización conjunta de la histología, que permite establecer la existencia de micosis invasora por hongos filamentosos citados en los criterios de la EORTC (European Organization for

**Tabla 4. Definición de infección fúngica invasiva en pacientes con cáncer y transplantados de médula ósea**

Tipo de infección, categoría	Descripción
<b>Infección invasiva probada</b>	
<b>Infección de tejidos profundos</b>	
Mohos	Examen histopatológico o citopatológico que muestra hifas tomadas por aspiración o biopsia con evidencia de daño tisular asociado (por uno u otro, microscopía o imagen inequívoca); o cultivo positivo de una muestra obtenida de un sitio normalmente estéril y clínica o radiológicamente anormal, coincidente con una infección excluyendo orina y membranas mucosas.
Levaduras	Examen histopatológico o citopatológico que muestra levaduras ( <i>Candida</i> ) especies puede también mostrar pseudohifas o hifas verdaderas tomadas por aspiración o biopsia, excluyendo membranas mucosas, o cultivo positivo de una muestra obtenida de un sitio normalmente estéril y clínica y radiológicamente anormal coincidente con la infección, excluyendo orina, membranas mucosas y sinusales; o microscopía ( <i>Indian Ink</i> , tinte de mucicarmin) o positividad antigénica (b) para <i>Cryptococcus</i> especies en LCR.
<b>Fungemia</b>	
Mohos	Hemocultivo positivo para hongo, excluyendo <i>Aspergillus</i> sp. y <i>Penicillium</i> sp. Otros como <i>Penicillium marneffe</i> , acompañado por signos clínicos temporales y síntomas compatibles con organismo relevante.
Levaduras	Hemocultivo positivo para <i>Candida</i> sp. y otras levaduras en pacientes con signos clínicos temporales y síntomas compatibles con organismo relevante.
<b>Infección fúngica endémica</b>	
Sistémica o localizada en pulmón	Debe ser probada por cultivo del sitio afectado, en huésped con síntomas atribuibles a infección fúngica, si el cultivo es inasequible o negativo, histopatología o demostración microscópica de formas morfológicas apropiadas es considerada para hongos dismórficos ( <i>Blastomyces</i> , <i>Coccidioides</i> , y <i>Paracoccidioides</i> sp.) con apariencia realmente distintiva; <i>Histoplasma capsulatum</i> puede parecerse a <i>Candida glabrata</i> .

**Tabla 4. Continuación**

Diseminada	Puede ser establecida por hemocultivo positivo o urocultivo positivo o antígeno sérico por medio de RIA.
Probable infección fúngica invasiva	Al menos un criterio del huésped; y un criterio microbiológico; y un criterio clínico mayor o dos menores de un sitio anormal con infección.
Posible infección fúngica invasiva	Al menos un factor del huésped; y un microbiológico o un criterio clínico mayor o dos menores de un sitio anormal con infección.

**Tabla 5. Factores del huésped, microbiológicos y criterios clínicos para infecciones invasivas en pacientes con trasplante de médula ósea.**

Tipo de criterio	Criterio
Factores del huésped	Neutropenia (<500 neutrófilos/mm <sup>3</sup> por >10 días). Persistencia de fiebre por >96 hrs. refractaria a un tratamiento antibacteriano de amplio espectro en pacientes con alto riesgo. Temperatura corporal >38° o <36° y algunos de los factores predisponentes siguientes: neutropenia prolongada (>10 días) en 60 días previos, uso reciente o corriente de agentes inmunosupresivos en 30 días previos, infección fúngica probada o probable durante episodios previos de neutropenia o coexistencia de SIDA sintomático. Signos o síntomas de enfermedad injerto vs. huésped, particularmente severa (grado ≥ 2) o enfermedad extensiva crónica. Prolongado uso de corticoides (>3 semanas) en 60 días previos.
Microbiológico	Resultado de cultivo positivo para moho (incluyendo <i>Aspergillus</i> <i>Fusarium</i> o <i>Scedosporium</i> sp. o <i>Zygomycetes</i> ) o <i>Cryptococcus neoformans</i> o un patógeno fúngico endémico obtenido de esputo o lavado broncoalveolar. Cultivo positivo o descubrimiento de evaluación directa citológica para moho de aspirado de senos paranasales. Cultivo positivo o descubrimiento tras evaluación directa citológica para moho o <i>Cryptococcus</i> sp. de esputo o lavado broncoalveolar. Resultado positivo para antígeno <i>Aspergillus</i> en lavado broncoalveolar, LCR o ≥ 2 muestras de sangre. Resultado positivo para antígeno criptocócico en muestra de sangre. Hallazgo positivo citológico o microscópico directo para elementos fúngicos de un fluido de sitio estéril (Ej. <i>Cryptococcus</i> sp. en LCR). Hallazgo positivo de antígeno para <i>Histoplasma capsulatum</i> en orina, sangre o LCR. Dos resultados positivos de cultivo de orina para levaduras en ausencia de catéter urinario. <i>Candida</i> en orina en ausencia de catéter urinario. Resultados de cultivo positivo para <i>Candida</i> en sangre.
<b>Clínico</b>	
Tracto respiratorio inferior	
Mayor	Cualquiera de los siguientes infiltrados en TAC: signo del halo, signo de aire creciente o cavidad sin área de consolidación.
Menor	Síntomas de tracto respiratorio inferior (tos, dolor de pecho, hemoptisis, disnea); hallazgo de frote pleural; infiltrado no parecido al criterio mayor; efusión pleural.

**Tabla 5. Continuación**

<b>Infección sinusal</b>	
Mayor	Evidencia radiológica sugerente (Ej. Erosión sinusal o extensión de la infección en áreas adyacentes óseas, destrucción extensa de base de cráneo).
Menor	Síntomas respiratorios superiores (Ej. Descarga nasal, estornudo); ulceración nasal o encharcamiento de mucosa o epistaxis; hinchazón periorbitaria, sensibilidad maxilar, lesiones necróticas negruzcas o perforación del paladar.
<b>Infección del SNC</b>	
Mayor	Evidencia radiológica sugerente de infección del SNC (Ej. Mastoiditis u otro foco parameningeo, empiema extradural, signos de lesión intraparenquimatosa cerebral o medular).
Menor	Signos y síntomas neurológicos focales(incluyendo convulsiones focales, hemiparesias y parálisis de nervio craneal); cambios mentales; signos de meningitis, anormalidades en el LCR, bioquímica y cuenta celular (negativo para cultivo para otro patógeno y células neoplásicas).
Infec. fúngica diseminada	Lesión en piel nodular o papular sin otra explicación, hallazgo intraocular, sugerente de corioretinitis por hongo o endoftalmitis.
<b>Candidiasis diseminada</b>	
Crónica	Pequeños abscesos periféricos en hígado o bazo demostrados por TAC, RMN o ecografía, con niveles elevados de fosfatasa alcalina.
Candidemia	Criterio clínico no requerido para probable candidemia, definición no posible para candidemia.

Research and Treatment of Cancer, Invasive Fungal Infections Cooperative Group) y el *Mycoses Study Group* de la NIAID( The National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Mycoses Study Group)( Tablas 4 y 5).

Debe tenerse en cuenta que una infiltración de tejido viable por micelios tabicados demuestra de forma concluyente la invasión fúngica.

#### **Valor que aporta el hemocultivo positivo.**

Una aspergilemia es verdaderamente excepcional, representando entre 0,5 y 2% de las fungemias. Son más frecuentes si existe endocarditis por *Aspergillus* spp, estimándose que el 10% de éstas son significativas, debiéndose el 90% restante a contaminaciones.

En pacientes con cáncer hematológico la aspergilemia es tardía y prácticamente imposible de intervenir.<sup>30</sup>

#### **Serología.**

La detección de anticuerpos es útil en el aspergilo- ma y en la aspergilosis alérgica, pero su utilidad es deficiente en la forma invasora.<sup>31-32</sup> La detección del antígeno es de mayor utilidad en la forma invasora de aspergilosis. De los más de 100 antígenos que presenta *Aspergillus fumigatus* (agente más frecuentemente involucrado), solamente 2 son los más empleados para el diagnóstico: el galactomanano y el (1-3)-  $\beta$ -D- glucano.<sup>2</sup> Este último es un componente de la pared celular de *Aspergillus* y otros hongos como *Candida* y *Pneumocystis jiroveci*, que



puede ser detectado con pruebas comercializadas. Su detección presenta una sensibilidad de 90%, una especificidad de 100%, valor predictivo positivo de 59% y valor predictivo negativo de 97% con una eficacia global del 85%. Pero, por la limitada experiencia clinicomicológica, se requieren más estudios, sobre todo prospectivos y en poblaciones con factores de riesgo.

El galactomanano es un componente de la pared celular del género *Aspergillus*, siendo el principal exoantígeno liberado durante una invasión tisular. La ventaja que tiene es que puede ser detectado en orina, LCR, suero, líquido pericárdico y lavado broncoalveolar. Existen comercializados dos métodos: uno de ellos utiliza partículas de látex recubiertas con antígeno monoclonal que reacciona aglutinando el galactomanano, con un límite de detección de 15 ng/ml, razón por la cual ya no se utiliza (poco sensible). La segunda manera de detectarlo es a través de inmunoensayo con ELISA, que emplea el mismo antígeno monoclonal pero con un punto de corte menor (0.5 y 1 ng/ml de galactomanano).<sup>2</sup> En EEUU la FDA (*Food and Drug Administration*), ha aceptado este último método para realizar el diagnóstico. Como no es conocida la cinética del galactomanano (excepto que es depurada por las células de Kupffer) se ha determinado que, para aceptarlo como positivo, son necesarias dos tomas de suero por semana. Quedan, sin embargo, varias dudas acerca de este método, ya que el punto de corte no ha sido dilucidado en forma acabada, dado que mientras estudios en Europa aseguran que el corte se encuentra en 0.5 ng/ml de galactomanano, estudios estadounidenses aseguran que el punto de corte es de 1 ng/ml. Además de lo citado, en los no muy neutropénicos se observa que son producidos anticuerpos anti-*Aspergillus*, formándose complejos antígeno-anticuerpo que pudieran interferir con la detección del galactomanano y reducir la sensibilidad del estudio cerca de un 40%.<sup>33</sup> Así también se ha visto un alto porcentaje de falsos positivos en pacientes pediátricos. No obstante, con este tipo de estudios se

adelanta en varios días el diagnóstico de aspergilosis invasora, permitiendo iniciar una terapia oportuna y evitar desenlaces fatales. Además, a través del mismo se puede monitorizar la terapia antifúngica administrada. En estudios realizados se corrobora una sensibilidad superior al 90%, una especificidad de 94%, un valor predictivo positivo superior al 87% y negativo de 95%.<sup>28-30</sup> En tanto, debe ser recordado que la sensibilidad en la detección del galactomanano de *Aspergillus* es más elevada en pacientes con aspergilosis invasora probada, que en aquellos con aspergilosis invasora catalogada de probable o posible.<sup>34</sup> Su máxima utilidad es en poblaciones con riesgo alto para aspergilosis invasora, ya que los valores predictivos positivo y negativo así lo demuestran.

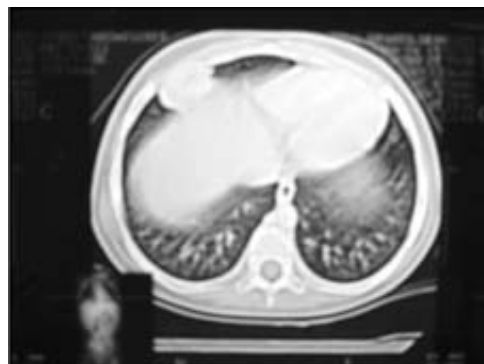
### **Detección molecular del *Aspergillus***

No existen actualmente técnicas comercializadas para detectar ADN de *Aspergillus* a través de reacción en cadena de polimerasa (PCR), razón por la cual no se ha implementado de forma rutinaria. Así entonces todos los estudios que se han realizado son con técnicas desarrolladas en cada laboratorio, incurriendo en la variabilidad y dificultad en la interpretación de los resultados. La muestra tomada debe ser definida entre infección y colonización, ya que el 25% de individuos presentan positiva la PCR para *Aspergillus* (ubícuo y microbiota normal del hombre). Por lo anterior, la muestra idónea es sangre entera, ya que la sensibilidad es menor en plasma.<sup>35</sup> Cabe señalar que la PCR es 20 veces más sensible que el cultivo,<sup>36</sup> detectándose de 1-10 fg de ADN fúngico o 1-5 unidades formadoras de colonia. Generalmente se amplifica el ADN mitocondrial de *Aspergillus* que es específico para la especie y según estudios que se han realizado<sup>37</sup> es útil en el diagnóstico temprano de aspergilosis invasora. Sin embargo, este método estándar no puede ser utilizado para monitorizar el tratamiento, excepto que sea empleado PCR de tiempo real, donde en el mismo momento de introducción del *primer* ya son captadas las bases amplificadas, siendo entonces un procedimiento más rápido, espe-

cífico y más sensible comparado con el estándar.<sup>36,37</sup> Se han comparado la detección de *Aspergillus* con PCR y ELISA, evidenciándose disparidad en cada uno de los trabajos. Para algunos como Costa y col.<sup>41</sup> la detección del galactomanano era más sensible comparado con la PCR en tiempo real (52% vs. 45%) para establecer el diagnóstico de aspergilosis invasora. Otros, sin embargo, defienden la posición de que la PCR es más sensible comparada con ELISA galactomanano.<sup>38</sup> Actualmente no existe un acuerdo claro al respecto; no se conoce con exactitud la cinética de paso de ADN fúngico a la sangre, así como tampoco la manera en que se metaboliza o desaparece de la sangre, datos estos muy importantes para intentar establecer una calendarización para obtención de muestras para el estudio del ADN.<sup>41</sup>

### ***El diagnóstico a través de estudios de imágenes complementarios***

La imagen más característica de la presentación pulmonar evaluada a través de una radiografía de tórax es una lesión bien delimitada, cavitada y con base pleural, aunque puede aparecer como nódulos no cavitados. También pueden evaluarse sombras finas y difusas, sobre todo en lóbulos inferiores. El derrame pleural es raro. Un neumotórax espontáneo es muy sugestivo de aspergilosis.<sup>33</sup> Un 10% de las radiografías son falsos negativos en la aspergilosis pulmonar invasiva y esto debe ser tenido en cuenta. La tomografía de tórax de alta resolución desempeña un papel importante en el diagnóstico temprano. Presentándose como nódulos pequeños periféricos a nivel pulmonar con base pleural definida con bordes rectos e hipodensidad circundante (signo del halo), sobre todo valorado en pacientes neutropénicos. A medida que progresa la lesión los nódulos pueden cavitarse (con la recuperación de neutrófilos) mostrando el signo de la semiluna de aire. Estos dos signos son muy característicos de invasión micótica pulmonar y frecuentemente son provocados por *Aspergillus*, aunque también pueden producirse por bacterias como *Ps. aeruginosa*.



**Figura 2:** TC de tórax con imagen nodular de base pleural: lesión compatible con *Aspergillus* spp.

### ***Tratamiento actual de la aspergilosis invasora en pacientes inmunocomprometidos***

Teniendo presente que la aspergilosis invasora es una de las complicaciones infecciosas más severas de los pacientes con neutropenia prolongada y de los receptores de trasplante, es importante abordarlo y sobre todo hacer una revisión actualizada en cuanto al tratamiento, ya que un diagnóstico precoz y el inicio inmediato de un régimen terapéutico reducen la mortalidad relacionada con esta infección.

Son frecuentes las veces en que el infectólogo enfrenta a pacientes que sufren procesos indicativos, aunque no definitivos, de enfermedad pulmonar invasiva. En estos casos, debe iniciarse el tratamiento, fundamentalmente en el paciente más inmunodeprimido y con factores de riesgo, así como acelerar las exploraciones complementarias para confirmar o rechazar el diagnóstico.

Se citan pocos estudios que han comparado anfotericina B desoxicolato con las formulaciones lipídicas. Algunos refieren que la forma liposomal es mucho más efectiva, partiendo desde el punto de su menor toxicidad renal.<sup>30-41</sup> Así también trabajos que han comparado voriconazol con la forma desoxicolato, mostraron mayor efectividad del voriconazol.<sup>42-43</sup> Por lo expuesto, actualmente es dudosa la utilidad de la anfotericina desoxicolato en el tratamiento de esta forma de aspergilosis. En

cuanto a los nuevos antifúngicos, merecen citarse las equinocandinas: la caspofungina (BII) ha sido aprobada por la FDA para el tratamiento de la aspergilosis invasiva que no ha respondido al tratamiento convencional o en pacientes intolerantes al mismo. Ahora bien, la falta de efectividad de los tratamientos existentes ha expuesto diferentes tipos de combinaciones de fármacos como anfotericina B con 5-fluorocitosina o itraconazol o rifampicina. *In vitro* se muestra sinergia entre anfotericina y 5 fluorocitosina, mas la falta de experiencias clínicas desaconsejan su uso. Hasta que sea obtenida más información, la combinación entre anfotericina B e itraconazol está descartada, por la presencia *in vitro* de antagonismo. Rifampicina asociada con anfotericina B mostró sinergia en modelos animales, mas la ausencia de experiencia clínica y la posibilidad de interacción con inmunosupresores como ciclosporina o tacrolimus también hacen limitada su aplicación.

**Queda comprobado que:**

- 1- No se demuestra sinergia entre anfotericina B y voriconazol.<sup>44</sup>
- 2- Las combinaciones entre azoles (voriconazol, posaconazol, ravuconazol) o polienos y equinocandinas (caspofungina, micafungina) son por lo general sinérgicas o aditivas.<sup>44-46</sup>
- 3- Las combinaciones de terfinabina con azoles muestran sinergia, pero con anfotericina B hay antagonismo.<sup>47-49</sup>

Según datos obtenidos actualmente, el tratamiento de elección de la aspergilosis invasiva es el voriconazol o las formas lipídicas de anfotericina (Tabla 6). Si se presenta enfermedad pulmonar con insuficiencia respiratoria, donde la mortalidad es superior al 80%, deberán de plantearse nuevas estrategias que a primera instancia mejorarían el pronóstico sin aumentar la toxicidad, como las siguientes:

- 1- Incremento de la dosis de anfotericina B liposomal a 10 mg/kg/día (CIII).<sup>50</sup>

- 2- Combinar anfotericina liposomal con voriconazol, o con caspofungina (BIII).<sup>51-53</sup>
- En caso de fracaso terapéutico (progresión de la enfermedad al final de la primera semana o la estabilidad de las lesiones tras un mes de tratamiento correcto), está indicado asociar anfotericina B liposomal en dosis de 5mg/kg/día con caspofungina (BIII), o aumentar la dosis de anfotericina liposomal a 10 mg/kg/día (CIII), o el cambio de anfotericina B por caspofungina (BII) o voriconazol (monoterapia) o la asociacion de ambas (caspofungina asociada con voriconazol) (BIII).<sup>53-56</sup>

**COMENTARIOS**

Es importante tener en cuenta que este tipo de micosis presenta “tropismo” por huéspedes con baja defensa celular, por lo cual el diagnóstico inmediato debe ser el objetivo primario ya que la presentación clínica de una invasión es variable, inespecífica y tardía, siendo por lo tanto regla sospecharla en situaciones de riesgo.<sup>23-24</sup> La duración óptima del tratamiento con cualquier tipo de antifúngico es desconocida y depende de la extensión de la enfermedad, la respuesta al mismo y el estado inmunitario del paciente, por lo que deberá estar guiada por la respuesta clínica más que por una

Tabla 6. Enfermedad pulmonar más insuficiencia respiratoria o diseminación	
Inicial:	ABL 5mg/kg/día o ABCL 5mg/kg Voriconazol 6mg/kg/12 h un día y seguir 4mg/kg/12 h
Mantenimiento:	Itraconazol VO 10 mg/kg/día
Fracaso terapéutico	ABL 7.5-10 mg/kg/día Voriconazol 6mg/kg/12h un día seguido 4 mg/kg/12h

dosis total arbitraria. Es razonable continuar el tratamiento por varios meses (mínimo de 4-6 meses) con el fin de tratar microfocos de probable infección.<sup>54</sup> Concluyendo, una secuencia lógica de tratamiento sería comenzar con terapia endovenosa con voriconazol o anfotericina liposomal hasta la desaparición de los signos radiológicos o, como mínimo, hasta detener la progresión de la enfermedad, y luego continuar con voriconazol o itraconazol por vía oral durante un tiempo prolongado tratando los posibles microfocos.

## REFERENCIAS

1. Rankin NE. Disseminated aspergillosis and moniliasis associated with agranulocytosis and antibiotic therapy. *BMJ*. 1953; 25:918-919.
2. Samson RA, Pitt JA, eds. *Modern Concepts in Penicillium and Aspergillosis Classification*. New York: Plenum; 1990.
3. Groll AH, Shah PM, Mentzel C, et al. Trends in the post mortem epidemiology of invasive fungal infections at a university hospital. *J Infect*. 1996; 33:23-32.
4. Hall LA, Denning DW. Oxygen requirements of *Aspergillus species*. *J Microbiol*. 1994; 41:311-315.
5. Tang CM, Cohen J, et al. The alkaline protease of *Aspergillus fumigatus* is not virulence determinant in two murine models of invasive pulmonary aspergillosis. *Infect Immun*. 1993; 61:1650-1656.
6. Staib F. Ecological and epidemiological aspects of aspergilli pathogenesis for man and animal in Berlin. *Zentralbl Bakteriol* 1984; 257:240-245.
7. Mullins J, Harvey R, et al. Sources and incidence of airborne *Aspergillus fumigatus*. *Clin Allergy*. 1976; 6:209-217.
8. Simmonds EJ, et al. *Aspergillus fumigatus* colonization and population density of place of residence in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 1994; 70:139-140.
9. Debeaupuis JP, et al. Genetic diversity among clinical and environmental isolates of *Aspergillus fumigatus*. *Infect Immun*. 1997; 19:3080-3085.
10. Latge JP, et al. Longitudinal study of *Aspergillus fumigatus* strain isolated from cystic fibrosis patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1997; 16:747-750.
11. Gerson SL, et al. Prolonged granulocytopenia: The major risk factor for invasive pulmonary aspergillosis in patients with acute leukemia. *Ann Intern Med*. 1984; 100:345-351.
12. Martino P, et al. *Aspergillus* colonization of the nose and pulmonary aspergillosis in neutropenic patients: Retrospective study. *Haematologica*. 1989; 74:263-265.
13. Gefer WB, et al. Invasive pulmonary aspergillosis: A new look at the spectrum of *Aspergillus* infections of the lung. *Radiology*. 1981; 140:313-321.
14. Karim M, et al. Chronic invasive aspergillosis in apparently immunocompetent host. *Clin Infect Dis*. 1997; 24:723-733.
15. Parta M, Chang Y, et al. HYPI, a hydrophobin gene from *Aspergillus nidulans*. *Infect Immun*. 1994; 62: 4380-4395.
16. Monod M, et al. The secreted proteases of pathogenic species of *Aspergillus* and their possible role in virulence. *Can J Bot*. 1995; 73(suppl 1) 1081-1086.
17. Markaryam A, et al. Purification and characterization of an elastolytic metalloprotease from *Aspergillus fumigatus* and immunoelectron microscopic evidence of secretion of this enzyme by the fungus invading murine lung. *Infect Immun* 1994; 62:2149-2157.
18. Chris JF, et al. Proteases from *Aspergillus fumigatus* induce release of proinflammatory cytokines and cell detachment in airway epithelial cell lines. *J Infect Dis*. 1997; 176:300-303.
19. Birch M, et al. Evidence of multiple phospholipase activities of *Aspergillus fumigatus*. *Infect Immun*. 1996; 64:751-755.
20. Denning DW, et al. Risk factors and outcomes from invasive aspergillosis. Presented at the Thirty-sixth ICAAC. New Orleans 1996.
21. Levy H, et al. The value of bronchoalveolar lavage and bronchial washings in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *Am J Clin Pathol*. 1986; 86:243-248.
22. Denning DW. Invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 1998; 26:781-805.
23. Paterson D, Singh N. Invasive aspergillosis in transplant recipients. *Medicine* 1999; 78:123-138.
24. Lin SJ, Schanz J, Teutsch SM. Aspergillosis case fatality rate: systematic review of the literature. *Clin Infect Dis* 2001; 32:358-366.
25. Groll AH, Shah PM, Mentzel C, et al. Trends in the post-mortem epidemiology of invasive fungal infections at a University hospital. *J Infect* 1996; 33:23-32.
26. Vogesen M, Wanders A, Haas A, et al. A four year review of fatal aspergillosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; 18:42-45.
27. Prentice HG, Kibbler CC, Prentice AG. Towards a targeted, risk based, antifungal strategy in neutropenic patients. *Br J Haematol* 2000; 110:273-284.
28. Palaio A, Cuetara MS, Ponton J. El diagnóstico de laboratorio de la aspergilosis invasora. *Rev Iberoam Micol* 2003; 20:90-98.
29. Perfect JR, Cox GM, et al. The impact of culture isolation of *Aspergillus sp.*: a hospital-based survey of aspergillosis. *Clin Infect Dis* 2001; 33:1824-1833.
30. Ascioglu S, de Paw B, Bennett JE, et al. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis* 2002; 34:7-14.
31. Herbrecht R, Letscher-Bru V, Oprea C, et al. Aspergillosis galactomannan detection in the diagnosis of invasive aspergillosis in cancer patients. *L Clin Oncol* 2002; 20:1898-1906.
32. Chan C, Woo PCY, et al. Detection of antibodies specific to an antigen all wall galactomannoprotein for serodiagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. *Lancet* 1995; 345:17-20.
33. Duthie R, Denning DW. *Aspergillus* fungemia: reports of two cases and review. *Clin Infect Dis* 1995; 20:598-605.
34. Obayashi T, Toshida M, Mori T et al. Plasma (1-3)- $\beta$ -D glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. *Lancet* 1995; 345:17-20.
35. Sulhian A, Boutboul, et al. Value of antigen detection using an enzyme immunoassay in the diagnosis and prediction of invasive aspergillosis in two adult and pediatric hematology units during a 4 year prospective study. *Cancer* 2001; 91:311-318.
36. Siemann N, Koch-Dorfler M, et al. False positive results in premature infants with the Platelia® *Aspergillus* sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *Mycoses* 1998; 41:373-377.
37. Löffler J, Hebart H et al. Polymerase chain reaction detection of *Aspergillus* DNA in experimental models of invasive aspergillosis. *J Infect Dis* 2002; 185:1203-1206.
38. Jones ME, Fox AJ, Barnes AJ, et al. PCR-ELISA for the early diagnosis of invasive pulmonary *Aspergillus* infection in neutropenic patients. *J Clin Pathol* 1998; 51:652-656.



39. Kami M, Fukui T, Ogawa S, et al. Use of real time PCR on blood samples for diagnosis of invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 2001; 33:1504-1512.
40. Spiess B, Buchheidt D, et al. Development of a Light Cycler PCR assay for detection and quantification of *Aspergillus fumigatus* DNA in clinical samples from neutropenic patients. *J Clin Microbiol* 2003; 41:1811-1818.
41. Costa C, Costa JM, et al. Real time PCR coupled with automatic DNA extraction and detection of antigen in serum by Enzyme-Linked Immunosorbent assay for the diagnosis of invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol* 2002; 40:2224-2227.
42. Hebart H, Löffler J, Meisner C, et al. Early detection of *Aspergillus* infection after allogeneic stem cell transplantation by polymerase chain reaction screening. *J Infect Dis* 2000; 181:1203-1206.
43. Verweij PE, Weemaes CM, Curfs Jo et al. Failure to detect circulating *Aspergillus* markers in a patient with chronic granulomatous disease and invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol* 2000; 38:3900-3901.
44. Severens JL, Donnelly JP, et al. Two strategies for managing invasive aspergillosis: a decision analysis. *Clin Infect Dis* 1997; 25:1148-1154.
45. Wingard JR, Kubulis P, Lee L, et al. Clinical significance of nephrotoxicity in patients treated with amphotericin B for suspected or proven aspergillosis. *Clin Infect Dis* 1999; 29:1402-1407.
46. Bowden R, Chandrasekar P, White M, et al. A double blind randomized controlled trial of amphotericin B colloidal dispersion versus amphotericin B for the treatment of invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *Clin Infect Dis* 2002; 35:359-66.
47. Arikan S, Rex JH. Lipid based antifungal agents: Current status. *Curr Pharmaceutical Design* 2001; 7:393-415.
48. Herbrecht R, Denning DW, et al. Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. *N Engl J Med* 2002; 347:408-15.
49. Denning DW, Ribaud P, et al. Efficacy and safety of voriconazole in the treatment of acute invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 2002; 34:563-71.
50. Gavalda J, López P, Martín M, Gomis X, Pahissa A. Activity of amphotericin B (Ab)+voriconazole(V) or terfenabine(T) and V+T against *Aspergillus fumigatus* (AF) strains by using chitin quantification. Program and Abstracts in 42<sup>nd</sup> Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. San Diego. 2002. Washington: American Society for Microbiology 2000: Abs. M-1817; p.416.
51. Perea S, González G, et al. In vitro interaction of caspofungin acetate with voriconazole against clinical isolates of *Aspergillus* spp. *Antimicrobial Agents Chemother* 2002; 46:3039-41.
52. Arikan S, Lozano-Chiu M, Paetznick V, Rex J. In vitro synergy of caspofungin and amphotericin B against *Aspergillus* and *Fusarium* spp. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:2564-68.
53. Lum LR, Turco TF, Leone J. Combination therapy with caspofungin and amphotericin B lipid complex. *Am J Health Syst Pharm* 2002; 59:80-1.
54. Mosquera J, Sharp A, et al. In vitro interaction of terfenabine with itraconazole, fluconazole, amphotericin B and 5-fluorocytosine against *Aspergillus* spp. J-124 Abstract of the 41<sup>st</sup> ICAAC. Chicago. 2001. Washington: American Society for Microbiology. 2001; Abstract. J-124; p.363.