

Revisión

Zigomicetos y zigomicosis en la era de las nuevas terapias antifúngicas

M. Torres-Narbona¹, J. Guinea^{1,2}, P. Muñoz^{1,2} y E. Bouza^{1,2}

¹Servicio de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Universidad Complutense, Madrid; ²CIBER de Enfermedades Respiratorias (CIBERES CD06/06/0058), Madrid, España

RESUMEN

La zigomicosis o mucormicosis es la tercera infección fúngica invasora tras la candidiasis y la aspergilosis. Tradicionalmente se ha considerado una enfermedad de adquisición comunitaria, pero se está convirtiendo en una infección de frecuente adquisición nosocomial. En los últimos años, numerosos estudios en instituciones aisladas apuntan a un aumento del número de casos de zigomicosis invasora a raíz de las nuevas terapias antifúngicas e inmunosupresoras, y al aumento de la población inmunodeprimida. Por otro lado, el diagnóstico de la zigomicosis muchas veces es complicado, sobre todo en las formas pulmonares y diseminadas. Uno de los principales problemas que presenta el aislamiento de zigomicetos de muestras clínicas en el laboratorio de microbiología es que con frecuencia los resultados tienen una difícil interpretación. Además, el aumento del número de micosis invasoras por hongos resistentes a los antifúngicos ha llevado al desarrollo de nuevas moléculas con actividad antifúngica y diferentes perfiles de actividad frente a los zigomicetos.

Palabras clave: Zigomicetos - Zigomicosis - Mucormicosis - Mucor - Voriconazol

Zygomycetes and zygomycosis in the new era of antifungal therapies

SUMMARY

Zygomycosis or mucormycosis is the third most invasive fungal infection after candidiasis and aspergillosis. Traditionally, it has been considered a community-acquired disease, but it is becoming a frequent nosocomial-acquired disease. Recently, several publications from different institutions have reported an increase in the number of cases of invasive zygomycosis as a result of the new antifungal and immunosuppressive therapies and the emerging immunocompromised population. In addition, the diagnosis of zygomycosis is elusive, mainly in pulmonary and disseminated forms. One of the main limitations in isolating Zygomycetes from clinical samples is the interpretation of results. The increasing number of invasive fungal infections caused by multiresistant fungi has led to the development of new antifungal drugs with variable activity against Zygomycetes.

Key words: Zygomycetes - Zygomycosis - Mucormycosis - Mucor - Voriconazole

HISTORIA Y TAXONOMÍA

Los zigomicetos son hongos filamentosos que fueron descritos por primera vez como causantes de enfermedad en seres humanos en 1885 (1). Clásicamente se han clasificado en función de sus caracteres morfológicos, pero este criterio está cambiando con la introducción de las nuevas técnicas de biología molecular (2, 3) (Fig. 1). La clase *Zygomycetes* se divide en dos órdenes principales: Mucorales y Entomoftorales. Los hongos del orden Mucorales son los agentes causantes de lo que clásicamente llamamos mucormicosis o zigomicosis, y se distribuyen en seis familias diferentes: *Mucoraceae*, *Cunninghamellaceae*, *Mortierellaceae*, *Saksenaceae*, *Syncephalastraceae* y *Thamnidaceae*. Los géneros y especies de la familia *Mucoraceae* son los que causan más frecuentemente mucormicosis, y de ellos los más comunes son *Rhizopus arrhizus* (*oryzae*), *Rhizopus microsporus* var. *Rhizopodiformis*, *Rhizomucor pusillus*, *Cunninghamella bertholletiae*, *Apophysomyces elegans* y *Saksenaea vasiformis* (4).

ESTRUCTURA Y FISIOLÓGÍA DE LOS ZIGOMICETOS

Los zigomicetos son hongos filamentosos que presentan una serie de elementos fenotípicos que apoyan en gran medida su identificación microbiológica. Crecen bien y rápidamente tanto en medios no selectivos como selectivos, formando elementos miceliales que se expanden rápidamente y cubren toda la placa en pocos días. Producen colonias algodonosas blancas, grisáceas o marrones, sin bordes definidos. La caracterización del género es microscópica y se basa en la presencia de hifas grandes y no tabicadas, anchas, similares a cintas, con un tamaño de 10 a 20 micras de diámetro y con ramificaciones que se separan de la principal en ángulos próximos a los 90°, con producción de esporangiosporas dentro de los esporangios. La variación interespecie se da en altura, índice de crecimiento y grado de pigmentación. La diferenciación entre especies se consigue cuando se estudian elementos tales como los rizoides, los estolones y las columelas.

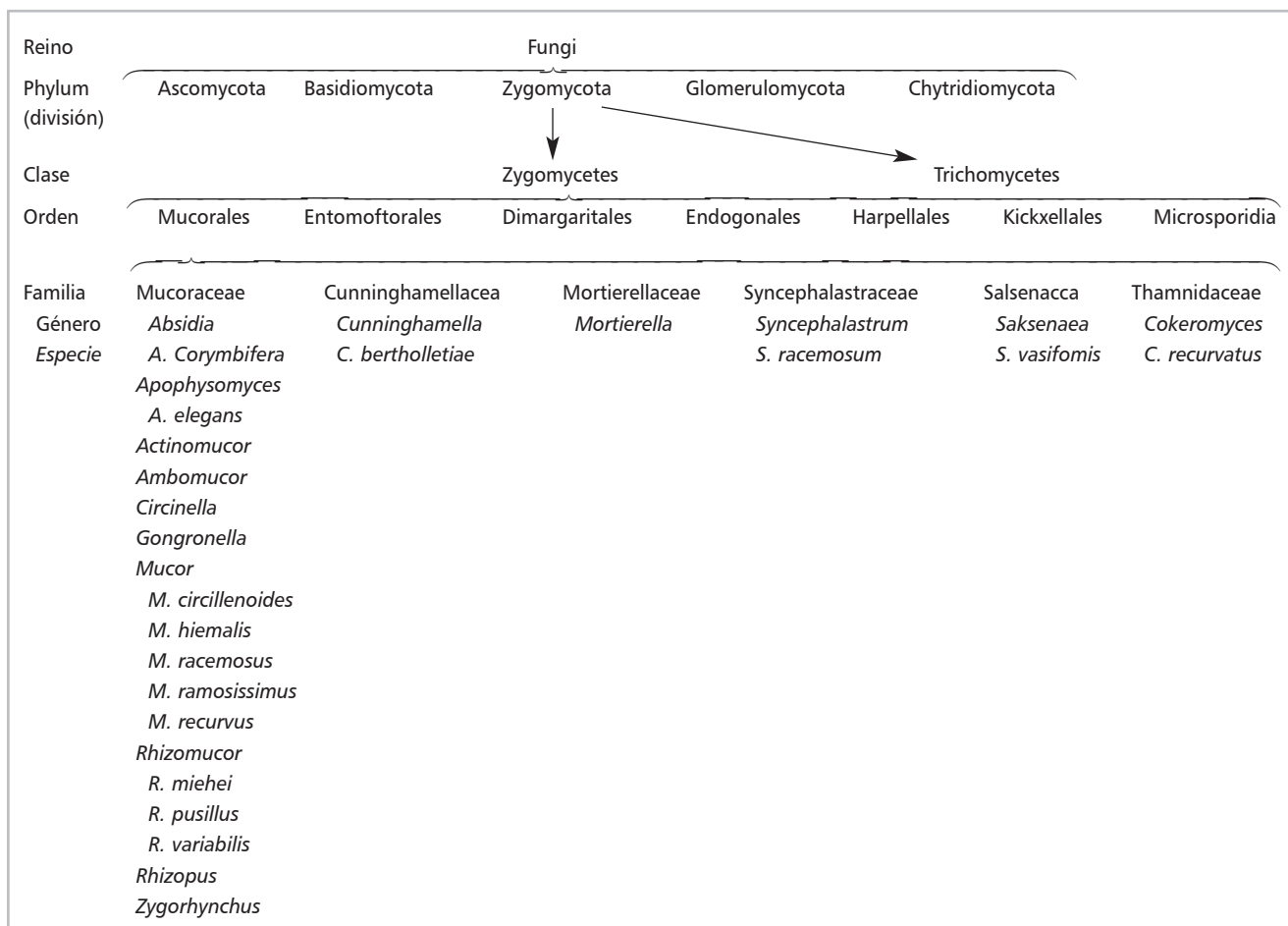


Figura 1. Clasificación taxonómica de los hongos pertenecientes a la clase *Zygomycetes*.

VÍAS DE TRANSMISIÓN

Los zigomicetos son hongos ubicuos que se encuentran distribuidos de forma universal y sus esporas se distribuyen ampliamente en el ambiente. Pueden aislarse de un 20% a 39% de las muestras de aire libre (5) y en un 1,6% a 9,5% de las muestras de aire de un hospital (6, 7). El modo principal de transmisión de la enfermedad es por inhalación de esporas de fuentes ambientales (4, 8) o por vía percutánea, objetivándose la implantación traumática de esporas en un considerable número de pacientes (9), en los sitios de inserción de catéteres (10), en zonas de venopunción en personas drogodependientes (11), en tatuajes (12), en zonas corporales donde se usaban productos adhesivos para tapar heridas (13) y en mordeduras o picaduras de insectos (14). Otra vía menos común es la ingestión de esporas. La ingestión de leche fermentada con los productos secados del pan (15) o las gachas de avena fermentadas y las bebidas alcohólicas derivadas del maíz puede desempeñar un papel en la zigomicosis gástrica (16), así como productos de herbolario u homeopáticos contaminados por esporas (17). Una serie de casos fueron transmitidos por los depresores linguales de madera contaminados por esporas usados para los exámenes orofaríngeos en una clínica de oncohematología (18).

MECANISMOS DE PATOGENICIDAD Y DEFENSA DEL HUÉSPED

Los zigomicetos, tras el contacto con los tejidos, raramente producen infecciones e invasión, y en una alta proporción de los casos se comportan como meros colonizadores. La integridad de las barreras cutaneomucosas y un sistema inmunitario competente son las primeras líneas de defensa con que se encuentran las esporas. En el huésped inmunocompetente, los fagocitos mononucleares y polinucleares matan a los mucorales mediante la generación de metabolitos oxidativos y defensinas (péptidos catiónicos) (19, 20). Los pacientes neutropénicos, los inmunodeprimidos por otros mecanismos y aquellos que presentan disfunción fagocitaria (por ejemplo hiperglucemia), presentan mayor riesgo de sufrir zigomicosis. La cetoacidosis disminuye la movilidad de dichos fagocitos y su capacidad lítica, tanto por mecanismos oxidativos como no oxidativos, aunque el modo exacto se desconoce (21, 22). Otro factor importante que predispone al paciente a desarrollar zigomicosis es la disponibilidad de elevadas concentraciones de hierro en suero. En los pacientes tratados con desferrioxamina se produce una elevada incidencia de zigomicosis, debido probablemente a que el propio hongo utiliza este

quelante como un sideróforo para proporcionarse mayores cantidades de hierro (23). Después del fracaso de las líneas de defensa, los zigomicetos producen angioinvasión, mediada por su capacidad de adherencia a las células endoteliales, capacidad que, por ejemplo *Rhizopus oryzae*, mantiene incluso cuando no es viable (24).

EPIDEMIOLOGÍA Y SITUACIÓN ACTUAL DE LA ZIGOMICOSIS

La incidencia de zigomicosis invasora en Estados Unidos se estimó en 1,7 casos por 1.000.000 de habitantes entre 1992 y 1993, lo que suponía unos 500 pacientes por año (25). Cuando se diagnostica en autopsias, la enfermedad es 10 a 50 veces menos frecuente que la candidiasis y la aspergilosis invasora, con uno a cinco casos por 10.000 autopsias (26, 27). En estos últimos años se ha descrito un incremento importante en la incidencia de esta enfermedad en instituciones aisladas o unidades específicas europeas y americanas (28-37), alcanzando un 8% en pacientes con leucemia, un 2% a 3% en receptores de trasplante de médula ósea y un 13% en pacientes oncológicos en grupos de enfermos en situaciones particulares (28, 38). Este aumento del número de casos se produce generalmente en pacientes y unidades donde se administra con liberalidad profilaxis antifúngica con antimicóticos de amplio espectro con actividad frente a *Aspergillus*, predominantemente voriconazol (39-42). Kontoyiannis y cols. (32) describieron retrospectivamente 27 pacientes con zigomicosis invasora recogida durante un corto periodo de tiempo en su institución, donde la profilaxis previa con voriconazol fue un factor predictivo independiente de zigomicosis invasora, junto con la diabetes *mellitus*. La zigomicosis invasora llegó a ser la segunda micosis invasora más frecuente durante el periodo de estudio, después de la aspergilosis. Siwek y cols. (36) describieron una incidencia del 8,9% después del uso de voriconazol y ningún caso antes de utilizarlo. Imhof y cols. (43) recogieron 13 pacientes con trasplante de células madre en un periodo de cinco años que desarrollaron zigomicosis invasora, y todos ellos habían recibido voriconazol como tratamiento o profilaxis, pero no aportan datos de la incidencia previa. Marty y cols. (28) analizaron la incidencia de zigomicosis en pacientes hematológicos receptores de trasplantes en relación a la introducción del voriconazol en el año 2002, y hallaron una incidencia de dos casos en 282,6 pacientes/año antes de 2002 frente a cuatro casos en 119,6 pacientes/año después de 2002. En un estudio del Hospital Gregorio Marañón (44) que recoge datos de pacientes desde 1988 a 2006, la incidencia de zigomicosis no superó los 1,5 casos por 100.000 ingresos durante el periodo de

estudio. Desde la introducción del voriconazol en el hospital en 2002, solamente hubo dos casos de zigomicosis y estos enfermos no habían recibido voriconazol. Esta baja incidencia puede explicarse por el poco consumo de voriconazol en el hospital en comparación con otras instituciones europeas y americanas (45). En un estudio poblacional multicéntrico llevado a cabo en 50 hospitales españoles que recoge datos del año 2005, la incidencia de zigomicosis fue de 0,43 casos por millón de habitantes/año y de 0,62 casos por 100.000 ingresos, y sólo uno de los casos con zigomicosis invasora había recibido profilaxis antifúngica con voriconazol (46).

FACTORES DE RIESGO PARA LA INFECCIÓN POR ZIGOMICETOS

La mucormicosis o zigomicosis ocurre preferentemente en pacientes con diabetes *mellitus* y en situación de cetoacidosis (23, 47). La leucemia, el linfoma y otras enfermedades hematológicas malignas, tales como los síndromes mielodisplásicos o el mieloma múltiple, constituyen los trastornos hematológicos subyacentes más frecuentes. En ellos se une con frecuencia el factor predisponente que representan la neutropenia o la enfermedad del injerto contra el huésped, junto con los tratamientos con corticosteroides y otros medicamentos inmunosupresores (48, 49). Durante el año 2005, cinco de los seis pacientes que desarrollaron zigomicosis en el estudio llevado a cabo en España tenían enfermedades hematológicas malignas (46). La neutropenia es un factor de riesgo presente en el 40% a 100% de los pacientes con enfermedades hematológicas malignas que desarrollan zigomicosis, y suele estar presente durante un mínimo de 10 días antes del episodio (38, 49-51). Por el contrario, raramente se producen casos de zigomicosis en los tumores sólidos si no hay otros factores de inmunodepresión asociados (52). El trasplante de órgano sólido constituye la enfermedad subyacente en un 7% de los casos de mucormicosis en la revisión de Roden y cols. (53), y la mayoría de ellos ocurren después de los primeros 90 días tras el trasplante (30, 38). Los factores que aumentan el riesgo en esta población son las dosis altas de corticosteroides, los anticuerpos anti OKT3 o la gammaglobulina antitumoral, la coinfección con citomegalovirus, la necesidad de múltiples transfusiones, el retrasplante y las infecciones bacterianas asociadas (50, 54-56). El tratamiento con desferroxiamina usado en pacientes con sobrecarga de hierro o aluminio, en enfermos en hemodiálisis, con cuadros mielodisplásicos o de talasemia, se ha asociado con riesgo de zigomicosis. La introducción de la eritropoyetina ha disminuido considerablemente la necesidad de transfusiones e in-

directamente de desferroxiamina, y por tanto este factor es, progresivamente, menos frecuente en los casos de zigomicosis actuales (23, 57). Hay datos que sugieren que la sobrecarga de hierro por sí misma, sin tratamiento con desferroxiamina, es un factor predisponente a la zigomicosis (8, 57). En el paciente VIH positivo, la zigomicosis se ha descrito en forma de casos aislados y que con frecuencia tenían además otros factores de riesgo asociados, tales como la adicción a drogas por vía parenteral (58, 59). La zigomicosis puede producirse tras simples traumatismos, particularmente los que se acompañan de contaminación con agua y tierra (60, 61). En una revisión reciente, la diabetes, la neutropenia y la prematuridad eran los factores predisponentes más importantes para el desarrollo de zigomicosis en niños (62).

FORMAS CLÍNICAS DE ZIGOMICOSIS

La presentación clínica y el lugar anatómico permiten distinguir, al menos, las siguientes formas de mucormicosis: rinocerebral, pulmonar, cutánea, gastrointestinal, diseminada y una miscelánea de otras localizaciones (Tabla 1). La distribución anatómica de las lesiones se correlaciona muchas veces con factores predisponentes, como por ejemplo afección craneofacial en pacientes con cetoacidosis diabética, afección pulmonar y diseminada en pacientes con leucemia aguda, y cutánea en pacientes con lesiones locales y traumatismos. En los últimos años ha aumentado la prevalencia de las infecciones cutáneas con respecto a las craneofaciales y las pulmonares, un cambio que tiene que ver con la emergencia de *R. microsporus* (var. *Rhizopodiformis*) como patógeno (63). La distribución de las formas clínicas en el trabajo de Roden y cols. (53) es como sigue: sinusal 39%, pulmonar 24%, cutánea 19%, cerebral 9%, gastrointestinal 7%, diseminada 6% y miscelánea de otras formas 6%. En

Tabla 1. Manifestaciones clínicas de la mucormicosis.

Forma clínica	Enfermedad de base	Ref.
Rinocerebral	Diabetes Cetoacidosis	53, 147, 148
Pulmonar	Neutropenia Esteroides	53, 149, 150
Cutánea	Traumatismo Diabetes	9, 75, 151-154
Gastrointestinal	Malnutrición	53, 155
Diseminada	Desferroxiamina Neutropenia	53, 156, 157
Otras	SNC, endocarditis, etc.	53, 68

un estudio llevado a cabo en España, las formas cutáneas supusieron un 42%, seguidas de las pulmonares (25%) y las sinusales (17%) (64). En una revisión de zigomicosis en niños, las formas cutáneas supusieron un 27%, seguidas de las gastrointestinales (21%), las rinocerebrales (18%) y las pulmonares (16%) (62). La mucormicosis puede ser causa anecdótica de endocarditis, tanto sobre válvula natural como protésica (65-67), de invasión y obstrucción de vasos grandes (68), de afección renal (69, 70) o de osteomielitis (71). Puede tener lugar ocasionalmente en pacientes sometidos a diálisis peritoneal ambulatoria crónica, en los que suele complicar una peritonitis bacteriana previa (72). En cuanto a las formas diseminadas, en la mayoría de los casos los pacientes están profundamente inmunodeprimidos y generalmente neutropénicos. Todas las formas clínicas pueden dar lugar a zigomicosis diseminadas (23% a 62%), que son muy frecuentes en los pacientes neutropénicos con infecciones pulmonares (49, 51, 57, 73, 74).

La mortalidad global de los pacientes con zigomicosis es de aproximadamente el 40%, pero las cifras dependen de la forma de presentación clínica, de la enfermedad de base, del grado de cirugía y de la extensión de la enfermedad (75, 76). La supervivencia varía dependiendo del lugar de la afección: enfermedad cutánea aislada 90%, sinusitis sin afectación cerebral 87%, rinocerebral 45%, pulmonar 36%, enfermedad cerebral focal 33%, diseminada 16% y gastrointestinal 10% (53).

DIAGNÓSTICO DE LA ZIGOMICOSIS INVASORA

El diagnóstico de la zigomicosis invasora es especialmente difícil, ya que pocos clínicos tienen suficiente experiencia para sentirse seguros en el diagnóstico y el tratamiento de esta enfermedad. El diagnóstico final se basa en exámenes histopatológicos que no suelen estar disponibles con carácter inmediato. Además, la microbiología tiene poco valor en el diagnóstico. Las enfermedades de base de los pacientes, junto con las pruebas de imagen y métodos no basados en el cultivo, pueden ser de utilidad, pero con frecuencia no pueden obtenerse de forma rápida, son de difícil interpretación o son demasiado costosas para un uso general.

La limitación de las técnicas diagnósticas justifica que hasta el 50% de los casos en algunas series sólo se diagnostiquen *post mortem* (26, 77, 78). El diagnóstico de sospecha de la zigomicosis es difícil cuando el hongo invade tejidos poco accesibles a la inspección directa, como es el caso de la zigomicosis pulmonar. En pacientes hematoló-

gicos con formas pulmonares, el diagnóstico *ante mortem* se hace sólo en una proporción inferior al 50% de los casos (38, 49, 51, 79). Los cultivos tienen una sensibilidad limitada, especialmente cuando se trata de muestras de biopsia que son trituradas y machacadas antes de su inoculación en los medios de cultivo, por lo que se recomienda no machacar las muestras y cultivar pequeños fragmentos de tejido cortados con cuchilla.

El aislamiento de un zigomiceto en muestras clínicas supone la voz de alarma para el seguimiento de los pacientes de riesgo y su posterior diagnóstico, sobre todo en aquéllos con formas pulmonares, en los cuales el diagnóstico en muchas ocasiones es tardío. A su vez, es una herramienta limitada porque a menudo un cultivo positivo para zigomicetos no supone la presencia de una zigomicosis invasora. El valor clínico de un aislamiento de zigomicetos en muestras de pacientes se presupone bajo, puesto que su carácter ambiental les permite colonizar pacientes que no presentan infección, o contaminar los cultivos en el propio laboratorio. Existen estudios en los que se ha determinado el valor diagnóstico del cultivo para otras infecciones fúngicas invasoras producidas por otro grupo de hongos ambientales, como es el caso de la aspergilosis invasora y *Aspergillus* (80). Por el contrario, no existen estudios que determinen el valor de un cultivo positivo en el caso de la zigomicosis invasora en una población no seleccionada. En el hospital Gregorio Marañón, los zigomicetos no superaron el 1% de los aislamientos fúngicos totales en el laboratorio y el 5% de las muestras con hongos filamentosos entre los años 1988 y 2006 (*A. fumigatus* supuso el 32% de los hongos procedentes de estas muestras). Se demostró que menos del 8% de los pacientes con un cultivo positivo estaban realmente infectados, mientras que la gran mayoría presentaban colonización o contaminación de laboratorio. El valor del cultivo es, pues, bajo en una población no seleccionada, y el aislamiento no tiene la misma importancia cuando se tiene en cuenta el tipo de paciente de quien procede el hongo (44). En lo referente a los aislamientos de zigomicetos no indicativos de infección, se observó que un amplio número de pacientes estaban con tratamiento esteroideo (muchos de ellos con EPOC o asmáticos) o con tratamiento antibiótico de amplio espectro, lo que induce a pensar en la posible colonización por zigomicetos y a reflexionar sobre el amplio uso que se hace de estos dos grupos de fármacos, con el consecuente riesgo de infecciones asociadas (44). En el estudio español que recoge datos del año 2005 de 50 hospitales se muestra que el aislamiento de zigomicetos en los laboratorios de microbiología españoles fue muy bajo, suponiendo sólo seis por cada 100.000 muestras

procesadas, y sólo una pequeña proporción de pacientes con aislamiento de zigomicetos (6 de 78) en una o más muestras clínicas presentaron zigomicosis invasora (46).

El diagnóstico por la imagen es también dificultoso. En el caso de la zigomicosis pulmonar, las lesiones pueden ser inespecíficas e indiferenciables de las de la aspergilosis invasora, pero Chamilos y cols. (81) encuentran que la presencia de sinusitis, la presentación multifocal pulmonar y el desarrollo tras un tratamiento antifúngico previo con fármacos activos frente a *Aspergillus* permiten apuntar a zigomicosis. En la radiografía simple y en fases iniciales, las lesiones pueden incluso pasar desapercibidas y debe recurrirse a la TC de alta resolución.

El diagnóstico serológico no es útil para detectar infecciones por zigomicetos. Éstos comparten varios determinantes antigénicos, lo que dificulta la distinción entre especies e incluso entre géneros (82, 83).

Las técnicas moleculares para la detección de zigomicosis invasora son escasas y se emplean fundamentalmente para determinar asignaciones taxonómicas. Aunque estas herramientas pueden ser útiles en los estudios epidemiológicos de brotes de zigomicosis, se conoce mal su rendimiento en el diagnóstico primario. La identificación de especies de zigomicetos por los métodos convencionales de laboratorio muchas veces es lenta y requiere personal con experiencia. Una identificación más exacta de las distintas especies de zigomicetos ayudaría a indicar un tratamiento antifúngico más preciso y adecuado. La identificación molecular se ha evaluado en diversos grupos de hongos patógenos para el hombre (84-86). La amplificación de las secuencias del gen que codifica la subunidad 18S del rRNA junto con la identificación de patrones de polimorfismos conformacionales se han empleado ocasionalmente con éxito para ayudar a distinguir infecciones por *Rhizopus* de otras causadas por otros hongos patógenos (87), pero globalmente permiten identificar correctamente menos del 50% de los zigomicetos (88). Existen estudios en que la secuenciación de ITS (*Internal Transcribed Spacer*) o “espaciadores”, donde se amplifica el gen que codifica para la región ITS1-5.8S-ITS2 ribosomal, se ha usado con éxito para identificar especies de zigomicetos tanto de cultivos como de muestra directa en animales infectados (89). Machouart y cols. (90) han desarrollado un método basado en PCR-RFLP, en el cual primeramente amplifican una región del gen 18S usando *primers* específicos para los principales mucorales (*Absidia*, *Mucor*, *Rhizopus* y *Rhizomucor*), y cuando esta PCR es positiva se analiza el producto de la amplificación mediante digestión con enzimas de restricción (RFLP), con buenos resultados tanto en cultivo como de forma retrospectiva en muestras clínicas.

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD *IN VITRO* DE LOS ANTIFÚNGICOS

El método de referencia aceptado actualmente para la determinación de la sensibilidad de los zigomicetos es el protocolo M38-A del NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*), actualmente llamado CLSI (*Clinical Laboratory Standards Institute*) (91). Los resultados discrepantes de nuevos y antiguos agentes antifúngicos frente a aislamientos clínicos de zigomicetos hacen necesario el desarrollo de unos métodos para la determinación de la sensibilidad que sean rápidos, sencillos y realizables, y que ofrezcan unos resultados válidos en el menor tiempo posible frente al método CLSI M38-A. Existen escasos estudios con respecto a este punto. En un estudio reciente que analiza 45 cepas de zigomicetos se ha visto una pobre correlación *in vitro* en la determinación de la actividad antifúngica frente a los zigomicetos entre el método tradicional de microdilución CLSI M38-A y los métodos alternativos rápidos, como *Sensititre YeastOne*[®] y *E-test*[®], de distintos antifúngicos (anfotericina B, itraconazol, voriconazol, posaconazol y caspofungina) con distintos tiempos de incubación (92).

La agresividad de las micosis invasoras y la debilidad de los enfermos que las padecen hacen difícil llevar a cabo estrategias para evitar y disminuir la resistencia a los antifúngicos. Pocos estudios han evaluado la actividad antifúngica y los mecanismos de resistencia en los zigomicetos. La determinación de la actividad frente a los zigomicetos presenta como limitación fundamental la ausencia, en la actualidad, de puntos de corte para clasificar los aislamientos como sensibles o resistentes. En su ausencia, el valor de las determinaciones de sensibilidad antifúngica en los zigomicetos es controvertido y debe interpretarse con mucha precaución.

Para la anfotericina B se ha visto que la mayor parte de los hongos oportunistas en humanos presentan CMI comprendidas entre 0,5 y 2 mg/l (93, 94), que son las más bajas en los estudios de sensibilidad *in vitro* de los zigomicetos, por lo que hasta ahora se considera el fármaco más activo frente a ellos (95-98). La combinación *in vitro* de anfotericina B y rifampicina, así como la de anfotericina B y terbinafina, fueron sinérgicas en un 20% de los aislamientos (99). Las equinocandinas no son capaces de matar a los zigomicetos (CMI >128 mg/l) (92), aunque se han visto efectos sinérgicos en estudios *in vitro* con caspofungina y posaconazol (CMI 128-0,25 mg/l) (100), y en múridos entre anfotericina B liposomal y equinocandinas (micafungina y caspofungina) (101). La caspofungina ha demostrado ser activa *in vitro* frente a la (1,3)- β -D-glucano sintetasa de *Rhizopus oryzae* (102). Para el itraconazol, las CMI obte-

nidas en hongos filamentosos se distribuyen en un rango comprendido entre 0,03 y 32 mg/l, con una actividad variable frente a los zigomicetos (95, 97, 98). En estudios *in vitro* se ha visto que existe una distinta sensibilidad a los antifúngicos entre los diferentes géneros, presentando *Mucor* y *Cunninghamella* las CMI más altas y *Syncephalastrum* las más bajas (95, 103). El voriconazol tiene siempre CMI muy elevadas (92, 95, 96, 98, 103) para las distintas especies de zigomicetos, aunque en un estudio se mostró que la combinación de terbinafina y voriconazol fue sinérgica en un 44% de los aislamientos (99). Los estudios de sensibilidad *in vitro* con posaconazol son muy prometedores, con rangos de CMI que oscilan entre 0,25 y 2 mg/l, por lo que actualmente se presenta como la alternativa a la anfotericina B en el tratamiento de la zigomicosis (92, 95, 96, 98, 103).

TRATAMIENTO DE LA ZIGOMICOSIS INVASORA

El tratamiento de la zigomicosis se basa en cuatro principios: diagnóstico rápido, eliminación de los factores predisponentes, desbridamiento y resección quirúrgica, y tratamiento antifúngico adecuado. El tratamiento quirúrgico, combinado con el uso de antifúngicos, resulta siempre superior al uso de antifúngicos exclusivamente (49, 104). El problema fundamental del tratamiento antifúngico de la zigomicosis es la escasez de ensayos clínicos, que se justifica por la infrecuencia de la enfermedad, por el enorme coste y la dificultad que supondría un gran estudio multicéntrico, y por la presencia de una serie de variables, tales como el tipo y la extensión de la cirugía, que interferirían con la interpretación de los resultados.

La elección del antifúngico adecuado se basa en la interpretación de los datos de la actividad antifúngica *in vitro* de los fármacos, de su comportamiento en modelos experimentales animales y de la experiencia anecdótica recogida en el tratamiento de pacientes. Pocos de los antifúngicos disponibles en el medio hospitalario presentan actividad frente a los zigomicetos y pueden ser efectivos para el tratamiento de sus infecciones asociadas.

Los datos actuales, aunque indirectos, apuntan a la anfotericina B liposomal como el fármaco de elección en la zigomicosis, pues ha demostrado tener actividad *in vitro* contra los agentes causantes de esta enfermedad y es mejor tolerada, por su menor toxicidad, que la anfotericina convencional (8, 105). Los datos a favor del uso de anfotericina B liposomal se basan también en que tiene una buena penetración en el parénquima cerebral, superior a la de la anfotericina B convencional y en complejo lipídico (102,

106). En modelos animales muridos, las altas dosis de anfotericina B liposomal (15 mg/kg/día) son significativamente más eficaces que las dosis de anfotericina B desoxicolato convencional (1 mg/kg), con clara mejoría en la supervivencia de los animales (107), pero esto no es extrapolable al tratamiento de la infección en humanos. En una serie retrospectiva de 120 casos de zigomicosis en pacientes hematológicos, el uso de anfotericina B liposomal demostró una mayor supervivencia que cuando se utilizó anfotericina B convencional (67% frente a 39%) (108). Las dosis de anfotericina B liposomal para el tratamiento de la zigomicosis invasora no están bien establecidas, pero el reciente estudio AmBiLoad sugiere una gran prudencia a la hora de aplicar dosis superiores a 3 mg/kg de peso (109).

La caspofungina tiene escasa actividad *in vitro* frente a los agentes de la mucormicosis (92). En cualquier caso, la ausencia de parámetros bien establecidos para determinar la actividad antifúngica de las equinocandinas frente a los zigomicetos exige cautela en la afirmación de una absoluta falta de actividad frente a estos hongos. En un modelo experimental de zigomicosis diseminada causada por dichos microorganismos, la caspofungina a dosis bajas mejoró la supervivencia de los ratones con ceotacidosis diabética inducida. Estos estudios justifican continuar explorando el potencial de la caspofungina en la zigomicosis, a juicio de algunos autores (102). Globalmente, sin embargo, la experiencia clínica con caspofungina en la zigomicosis es muy limitada y por el momento no justifica su recomendación. Otras equinocandinas, como la micafungina, se han asociado ocasionalmente a alguna respuesta en casos de zigomicosis (110).

La experiencia con itraconazol en el tratamiento de la zigomicosis invasora se limita a unos pocos estudios, con una respuesta *in vivo* variable (97, 111). El empleo limitado de itraconazol en el tratamiento de la zigomicosis invasora no nos permite llegar a conclusiones fiables en función de los datos de su actividad *in vitro*. El itraconazol tiene actividad *in vitro* frente a los mucorales (112) y ocasionalmente se ha utilizado con éxito en el tratamiento de casos aislados de zigomicosis (97, 113). Sin embargo, el uso profiláctico de itraconazol puede incluso predisponer a la infección (29, 114). Por otro lado, preocupan los resultados de modelos experimentales en los que el uso de itraconazol se ha asociado con fracasos terapéuticos aun en presencia de aislamientos sensibles *in vitro* a su acción (98, 115).

Los resultados *in vitro* del voriconazol se correlacionan bien con la ineficacia clínica en el tratamiento de la zigomicosis (98, 103, 116). Hay fracasos terapéuticos bien documentados con voriconazol en el tratamiento de la mucormicosis y no es un tratamiento aceptable (39, 40, 42);

en los últimos años se le ha considerado la causa del aumento en la incidencia de zigomicosis, sobre todo en unidades de alto riesgo como las oncohematológicas, donde se usa ampliamente como tratamiento y profilaxis de las infecciones fúngicas invasoras (28-30, 35, 36, 43, 81, 110, 117, 118).

En cuanto a los nuevos triazoles de tercera generación, el posaconazol tiene un amplio espectro de actividad frente a los zigomicetos (92, 96) y está siendo una gran promesa para el tratamiento de la zigomicosis invasora (119-122). Algunos estudios sugieren que la combinación de posaconazol con otros antifúngicos podría ser muy esperanzadora para el tratamiento de la zigomicosis invasora (123), así como su uso en la prevención de otras infecciones fúngicas invasoras (124). Estudios *in vivo* han mostrado en el tratamiento de la zigomicosis invasora con posaconazol una tasa de éxito del 60% al 70% (121, 125, 126), así como su eficacia en profilaxis antifúngica invasora, por lo que ha sido aprobado como agente profiláctico (127-130). En animales de experimentación el posaconazol es más eficaz que el itraconazol, pero menos que la anfotericina B desoxicolato (131, 132). En los últimos meses se ha acumulado una serie de pacientes en que el posaconazol en uso compasivo se ha mostrado eficaz tras haber fracasado la anfotericina B y otros tratamientos (127, 131-134).

El ravuconazol (BMS 207147, Bristol-Myers Squibb, Wallingford, CT) es un triazol derivado del fluconazol. Tiene un amplio espectro de actividad *in vitro* e *in vivo* sobre levaduras y mohos, pero parece poco activo frente a zigomicetos (135, 136). El isavuconazol (BAL 4815, Basilea Pharmaceutica, Basilea, Suiza) es un nuevo triazol de amplio espectro del que existen aún pocos estudios (137, 138), y su actividad tanto *in vitro* como *in vivo* está por demostrar.

Combinación de antifúngicos

La combinación de diferentes fármacos con actividad antifúngica tiene por objeto aumentar la eficacia clínica, disminuir la toxicidad y ampliar el espectro de actividad. En un modelo experimental de mucormicosis diseminada en ratones producida por *Rhizopus oryzae* se asoció anfotericina B en complejo lipídico con caspofungina. La asociación consiguió una mayor supervivencia que cada fármaco por separado, aunque no fue superior en la disminución de la carga fúngica tisular. Tampoco fue superior en profilaxis que la anfotericina B en complejo lipídico en monoterapia (102). Se ha descrito el éxito en el tratamiento de la mucormicosis diseminada con la asociación de an-

fotericina B y posaconazol (139), pero faltan estudios adecuados que demuestren la superioridad de esta asociación.

Otras alternativas terapéuticas

Una vía a explorar es la de los quelantes del hierro, distintos de la desferroxamina, que pudieran tener un efecto contrario a ésta y ser, por tanto, agentes eficaces frente a la zigomicosis (22, 140, 141). El uso de oxígeno hiperbárico es un potencial auxiliar en el tratamiento de la mucormicosis, especialmente en los casos de enfermedad rinocerebral, pues las altas concentraciones de oxígeno podrían disminuir el crecimiento del hongo al tiempo que mejorar la actividad de los fagocitos. La demostración de la eficacia clínica de este tratamiento aguarda a la realización de ensayos clínicos adecuados, que parecen poco factibles (142-144). Otras posibles alternativas terapéuticas consisten en el uso de citocinas tales como el interferón gamma y el factor estimulante del crecimiento de granulocitos y macrófagos (145, 146).

Para correspondencia: Jesús Guinea Ortega, Servicio de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas-HIV, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, C/ Dr. Esquerdo nº 46, 28007 Madrid. Tfno: 91 426 51 04; Fax: 91 372 17 21; E-mail: jguineaortega@yahoo.es

BIBLIOGRAFÍA

1. Platauf, A.P. *Mycosis mucorina*. Virchows Arch 1885; 543-564.
2. White, M., James, T., O'Donnell, K. y cols. *Phylogeny of the Zygomycota based on nuclear ribosomal sequence data*. Mycologia 2006; 98: 872-884.
3. Hibbett, D., Binder, M., Bischoff, J. y cols. *A higher-level phylogenetic classification of the Fungi*. Mycol Res 2007; 111: 509-547.
4. Ribes, J.A., Vanover-Sams, C.L., Baker, D.J. *Zygomycetes in human disease*. Clin Microbiol Rev 2000; 13: 236-301.
5. Guinea, J., Peláez, T., Muñoz, P. y cols. *How frequent are agents responsible for mucormycosis in outdoor air?* 45th Annual Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Washington DC 2005; abst. M-962.
6. Panagopoulou, P., Filioti, J., Farmaki, E. y cols. *Filamentous fungi in a tertiary care hospital: Environmental surveillance and susceptibility to antifungal drugs*. Infect Control Hosp Epidemiol 2007; 28: 60-67.
7. Peláez, T., Guinea, J., Martínez-Alarcón, J. y cols. *Are agents responsible for mucormycosis commonly found in hospital air? Analysis of air samples in a general hospital over a six-year period*. 45th Annual Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Washington DC 2005; abst. M-963.
8. Prabhu, R. M., Patel, R. *Mucormycosis and entomophthoramyco- sis: A review of the clinical manifestations, diagnosis and treatment*. Clin Microbiol Infect 2004; 10(Suppl. 1): 31-47.

9. Adam, R.D., Hunter, G., DiTomasso, J. y cols. *Mucormycosis: Emerging prominence of cutaneous infections*. Clin Infect Dis 1994; 19: 67-76.
10. Leong, K.W., Crowley, B., White, B. y cols. *Cutaneous mucormycosis due to Absidia corymbifera occurring after bone marrow transplantation*. Bone Marrow Transplant 1997; 19: 513-515.
11. Fong, K.M., Seneviratne, E.M., McCormack, J.G. *Mucor cerebral abscess associated with intravenous drug abuse*. Aust NZ J Med 1990; 20: 74-77.
12. Parker, C., Kaminski, G., Hill, D. *Zygomycosis in a tattoo, caused by Saksenaea vasiformis*. Australas J Dermatol 1986; 27: 107-111.
13. Bottone, E.J., Weitzman, I., Hanna, B.A. *Rhizopus rhizopodiformis: Emerging etiological agent of mucormycosis*. J Clin Microbiol 1979; 9: 530-537.
14. Bearer, E.A., Nelson, P.R., Chowers, M.Y. y cols. *Cutaneous zygomycosis caused by Saksenaea vasiformis in a diabetic patient*. J Clin Microbiol 1994; 32: 1823-1824.
15. Neame, P., Rayner, D. *Mucormycosis. A report on twenty-two cases*. Arch Pathol 1960; 70: 261-268.
16. Sutherland, J.C., Jones, T.H. *Gastric mucormycosis: Report of case in a Swazi*. S Afr Med J 1960; 34: 161.
17. Oliver, M.R., Van Voorhis, W.C., Boeckh, M. y cols. *Hepatic mucormycosis in a bone marrow transplant recipient who ingested naturopathic medicine*. Clin Infect Dis 1996; 22: 521-524.
18. Leeming, L.G., Moss, H.A., Elliott, T.S. *Risk of tongue depressors to the immunocompromised*. Lancet 1996; 348: 441-443.
19. Waldorf, A.R. *Pulmonary defense mechanisms against opportunistic fungal pathogens*. Immunol Ser 1989; 47: 243-271.
20. Diamond, R.D., Haudenschild, C.C., Erickson, N.F. *Monocyte-mediated damage to Rhizopus oryzae hyphae in vitro*. Infect Immun 1982; 38: 292-297.
21. Chinn, R.Y., Diamond, R.D. *Generation of chemotactic factors by Rhizopus oryzae in the presence and absence of serum: Relationship to hyphal damage mediated by human neutrophils and effects of hyperglycemia and ketoacidosis*. Infect Immun 1982; 38: 1123-1129.
22. Spellberg, B., Edwards, J., Jr., Ibrahim, A. *Novel perspectives on mucormycosis: Pathophysiology, presentation, and management*. Clin Microbiol Rev 2005; 18: 556-569.
23. Boelaert, J.R., De Locht, M., Van Cutsem, J. y cols. *Mucormycosis during deferioxamine therapy is a siderophore-mediated infection. In vitro and in vivo animal studies*. J Clin Invest 1993; 91: 1979-1986.
24. Ibrahim, A.S., Spellberg, B., Avanesian, V. y cols. *Rhizopus oryzae adheres to, is phagocytosed by, and damages endothelial cells in vitro*. Infect Immun 2005; 73: 778-783.
25. Rees, J.R., Pinner, R.W., Hajjeh, R.A. y cols. *The epidemiological features of invasive mycotic infections in the San Francisco Bay area, 1992-1993: Results of population-based laboratory active surveillance*. Clin Infect Dis 1998; 27: 1138-1147.
26. Tietz, H.J., Brehmer, D., Janisch, W. y cols. *Incidence of endomycoses in the autopsy material of the Berlin Charite Hospital*. Mycoses 1998; 41(Suppl. 2): 81-85.
27. Yamazaki, T., Kume, H., Murase, S. y cols. *Epidemiology of visceral mycoses: Analysis of data in annual of the pathological autopsy cases in Japan*. J Clin Microbiol 1999; 37: 1732-1738.
28. Marty, F.M., Cosimi, L.A., Baden, L.R. *Breakthrough zygomycosis after voriconazole treatment in recipients of hematopoietic stem-cell transplants*. N Engl J Med 2004; 350: 950-952.
29. Rickerts, V., Bohme, A., Just-Nubling, G. *Risk factor for invasive zygomycosis in patients with hematologic malignancies*. Mycoses 2002; 45 (Suppl. 1): 27-30.
30. Marr, K.A., Carter, R.A., Crippa, F. y cols. *Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients*. Clin Infect Dis 2002; 34: 909-917.
31. Wingard, J.R. *The changing face of invasive fungal infections in hematopoietic cell transplant recipients*. Curr Opin Oncol 2005; 17: 89-92.
32. Kontoyiannis, D.P., Lionakis, M.S., Lewis, R.E. y cols. *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.
33. Tricot, S., Gastine, T., Sendid, B. y cols. *Pulmonary zygomycosis in a patient treated for invasive aspergillosis*. Med Mal Infect 2006; 36: 118-121.
34. Schalk, E., Mohren, M., Jentsch-Ullrich, K. y cols. *Zygomycoses in patients with acute leukaemia*. Ann Hematol 2006; 85: 327-332.
35. Vigouroux, S., Morin, O., Moreau, P. y cols. *Zygomycosis after prolonged use of voriconazole in immunocompromised patients with hematologic disease: Attention required*. Clin Infect Dis 2005; 40: e35-37.
36. Siwek, G.T., Dodgson, K.J., De Magalhaes-Silverman, M. y cols. *Invasive zygomycosis in hematopoietic stem cell transplant recipients receiving voriconazole prophylaxis*. Clin Infect Dis 2004; 39: 584-587.
37. Kobayashi, K., Kami, M., Murashige, N. y cols. *Breakthrough zygomycosis during voriconazole treatment for invasive aspergillosis*. Haematologica 2004; 89: ECR42.
38. Maertens, J., Demuynck, H., Verbeken, E.K. y cols. *Mucormycosis in allogeneic bone marrow transplant recipients: Report of five cases and review of the role of iron overload in the pathogenesis*. Bone Marrow Transplant 1999; 24: 307-312.
39. Ritz, N., Ammann, R.A., Aebischer, C.C. y cols. *Failure of voriconazole to cure disseminated zygomycosis in an immunocompromised child*. Eur J Pediatr 2005; 164: 231-235.
40. Oren, I. *Breakthrough zygomycosis during empirical voriconazole therapy in febrile patients with neutropenia*. Clin Infect Dis 2005; 40: 770-771.
41. Lionakis, M.S., Kontoyiannis, D.P. *Sinus zygomycosis in a patient receiving voriconazole prophylaxis*. Br J Haematol 2005; 129: 2.
42. Trifilio, S.M., Bennett, C.L., Yarnold, P.R. y cols. *Breakthrough zygomycosis after voriconazole administration among patients with hematologic malignancies who receive hematopoietic stem-cell transplants or intensive chemotherapy*. Bone Marrow Transplant 2007.
43. Imhof, A., Balajee, S.A., Fredricks, D.N. y cols. *Breakthrough fungal infections in stem cell transplant recipients receiving voriconazole*. Clin Infect Dis 2004; 39: 743-746.
44. Torres-Narbona, M., Guinea, J., Martínez-Alarcón, J. y cols. *Workload and clinical significance of the isolation of zygomycetes in a tertiary general hospital*. Med Mycol 2008 (en prensa).
45. Maertens, J. *Evaluating prophylaxis of invasive fungal infections in patients with hematologic malignancies*. Eur J Haematol 2007; 78: 275-282.
46. Torres-Narbona, M., Guinea, J., Martínez-Alarcón, J. y cols. *Impact of zygomycosis on microbiology workload: A survey study in Spain*. J Clin Microbiol 2007; 45: 2051-2053.
47. Waldorf, A.R., Levitz, S.M., Diamond, R.D. *In vivo bronchoalveolar macrophage defense against Rhizopus oryzae and Aspergillus fumigatus*. J Infect Dis 1984; 150: 752-760.

48. Herbrecht, R., Letscher-Bru, V., Bowden, R.A. y cols. *Treatment of 21 cases of invasive mucormycosis with amphotericin B colloidal dispersion*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2001; 20: 460-466.
49. Kontoyiannis, D.P., Wessel, V.C., Bodey, G.P. y cols. *Zygomycosis in the 1990s in a tertiary-care cancer center*. Clin Infect Dis 2000; 30: 851-856.
50. Baddley, J.W., Stroud, T.P., Salzman, D. y cols. *Invasive mold infections in allogeneic bone marrow transplant recipients*. Clin Infect Dis 2001; 32: 1319-1324.
51. Nosari, A., Oreste, P., Montillo, M. y cols. *Mucormycosis in hematologic malignancies: An emerging fungal infection*. Haematologica 2000; 85: 1068-1071.
52. Lionakis, M.S., Kontoyiannis, D.P. *The significance of isolation of saprophytic molds from the lower respiratory tract in patients with cancer*. Cancer 2004; 100: 165-172.
53. Roden, M.M., Zaoutis, T.E., Buchanan, W.L. y cols. *Epidemiology and outcome of zygomycosis: A review of 929 reported cases*. Clin Infect Dis 2005; 41: 634-653.
54. Jiménez, C., Lumbreras, C., Aguado, J.M. y cols. *Successful treatment of mucor infection after liver or pancreas-kidney transplantation*. Transplantation 2002; 73: 476-480.
55. Mattner, F., Weissbrodt, H., Strueber, M. *Two case reports: Fatal Absidia corymbifera pulmonary tract infection in the first post-operative phase of a lung transplant patient receiving voriconazole prophylaxis, and transient bronchial Absidia corymbifera colonization in a lung transplant patient*. Scand J Infect Dis 2004; 36: 312-314.
56. Kerbaul, F., Guidon, C., Collart, F. y cols. *Abdominal wall mucormycosis after heart transplantation*. J Cardiothorac Vasc Anesth 2004; 18: 822-823.
57. Kubota, N., Miyazawa, K., Shoji, N. y cols. *A massive intraventricular thrombosis by disseminated mucormycosis in a patient with myelodysplastic syndrome during deferroxamine therapy*. Haematologica 2003; 88: EIM13.
58. Keogh, C.F., Brown, J.A., Phillips, P. y cols. *Renal mucormycosis in an AIDS patient: Imaging features and pathologic correlation*. Am J Roentgenol 2003; 180: 1278-1280.
59. Sánchez, M.R., Ponge-Wilson, I., Moy, J.A. y cols. *Zygomycosis and HIV infection*. J Am Acad Dermatol 1994; 30: 904-908.
60. Hay, R.J. *Mucormycosis: An infectious complication of traumatic injury*. Lancet 2005; 365: 830-831.
61. Carter, J.E., Uluarac, O. *Widespread cutaneous involvement by invasive Apophysomyces elegans in a gravid patient following trauma*. Cutis 2003; 72: 221-224, 227-228.
62. Zaoutis, T.E., Roilides, E., Chiou, C.C. y cols. *Zygomycosis in children: A systematic review and analysis of reported*. Pediatr Infect Dis J 2007; 26: 723-727.
63. Richardson, M.D., Koulkila-Kahkola, P., Shankland, G.S. *Rhizomucor, Absidia, and other agents of systemic and subcutaneous zygomycoses*. En: Murray, P., Baron, E., Jorgensen, J. y cols. (Eds.). Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. ASM, Washington 2003; 761-780.
64. Torres-Narbona, M., Guinea, J., Martínez-Alarcón, J. y cols. *Zygomycosis in a general hospital during a 17-year period. Is there an increase in incidence after introducing voriconazole?* 16th ECCMID, Niza 2006; abst. P1201.
65. Mehta, N.N., Romanelli, J., Sutton, M.G. *Native aortic valve vegetative endocarditis with Cunninghamella*. Eur J Echocardiogr 2004; 5: 156-158.
66. Erdos, M.S., Butt, K., Weinstein, L. *Mucormycotic endocarditis of the pulmonary valve*. JAMA 1972; 222: 951-953.
67. Sánchez-Recalde, A., Merino, J. L., Domínguez, F. y cols. *Successful treatment of prosthetic aortic valve mucormycosis*. Chest 1999; 116: 1818-1820.
68. Chen, L., Xiao, Y., Wang, X. *Successful treatment of mucormycosis in the pulmonary artery after cardiac surgery*. J Card Surg 2005; 20: 186-188.
69. Minz, M., Sharma, A., Kashyap, R. y cols. *Isolated renal allograft arterial mucormycosis: An extremely rare complication*. Nephrol Dial Transplant 2003; 18: 1034-1035.
70. Singh, S.K., Wadhwa, P., Sakhuja, V. *Isolated bilateral renal mucormycosis*. Urology 2004; 63: 979-980.
71. Chan, L.L., Singh, S., Jones, D. y cols. *Imaging of mucormycosis skull base osteomyelitis*. Am J Neuroradiol 2000; 21: 828-831.
72. Nannini, E.C., Paphitou, N.I., Ostrosky-Zeichner, L. *Peritonitis due to Aspergillus and zygomycetes in patients undergoing peritoneal dialysis: Report of 2 cases and review of the literature*. Diagn Microbiol Infect Dis 2003; 46: 49-54.
73. Solano, T., Atkins, B., Tambosis, E. y cols. *Disseminated mucormycosis due to Saksenaea vasiformis in an immunocompetent adult*. Clin Infect Dis 2000; 30: 942-943.
74. Blin, N., Morineau, N., Gaillard, F. y cols. *Disseminated mucormycosis associated with invasive pulmonary aspergillosis in a patient treated for post-transplant high-grade non-Hodgkin's lymphoma*. Leuk Lymphoma 2004; 45: 2161-2163.
75. Petrikos, G., Skiada, A., Sambatakou, H. y cols. *Mucormycosis: Ten-year experience at a tertiary-care center in Greece*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2003; 22: 753-756.
76. Nithyanandam, S., Jacob, M.S., Battu, R.R. y cols. *Rhino-orbito-cerebral mucormycosis. A retrospective analysis of clinical features and treatment outcomes*. Indian J Ophthalmol 2003; 51: 231-236.
77. Kontoyiannis, D.P., Vartivarian, S., Anaissie, E.J. y cols. *Infections due to Cunninghamella bertholletiae in patients with cancer: Report of three cases and review*. Clin Infect Dis 1994; 18: 925-928.
78. Mori, T., Egashira, M., Kawamata, N. y cols. *Zygomycosis: Two case reports and review of reported cases in the literature in Japan*. Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi 2003; 44: 163-179.
79. Pagano, L., Offidani, M., Fianchi, L. y cols. *Mucormycosis in hematologic patients*. Haematologica 2004; 89: 207-214.
80. Bouza, E., Guinea, J., Peláez, T. y cols. *Workload due to Aspergillus fumigatus and significance of the organism in the microbiology laboratory of a general hospital*. J Clin Microbiol 2005; 43: 2075-2079.
81. Chamilos, G., Marom, E.M., Lewis, R.E. y cols. *Predictors of pulmonary zygomycosis versus invasive pulmonary aspergillosis in patients with cancer*. Clin Infect Dis 2005; 41: 60-66.
82. Pierce, P.F., Jr., Solomon, S.L., Kaufman, L. y cols. *Zygomycetes brain abscesses in narcotic addicts with serological diagnosis*. JAMA 1982; 248: 2881-2882.
83. Kaufman, L., Turner, L.F., McLaughlin, D.W. *Indirect enzyme-linked immunosorbent assay for zygomycosis*. J Clin Microbiol 1989; 27: 1979-1982.
84. Iwen, P.C., Sigler, L., Noel, R.K., Freifeld, A.G. *Mucor circinelloides identified by molecular methods as a cause of primary cutaneous zygomycosis*. J Clin Microbiol 2007; 45: 636-640.
85. Iwen, P.C., Freifeld, A.G., Sigler, L. y cols. *Molecular identification of Rhizomucor pusillus as a cause of sinus-orbital zygomycosis in a patient with acute myelogenous leukemia*. J Clin Microbiol 2005; 43: 5819-5821.

86. Gil-Lamaignere, C., Roilides, E., Hacker, J. y cols. *Molecular typing for fungi – A critical review of the possibilities and limitations of currently and future methods*. Clin Microbiol Infect 2003; 9: 172-185.
87. Walsh, T.J., Francesconi, A., Kasai, M. y cols. *PCR and single-stranded conformational polymorphism for recognition of medically important opportunistic fungi*. J Clin Microbiol 1995; 32: 16-3220.
88. Hall, L., Wohlfiel, S., Roberts, G.D. *Experience with the MicroSeq D2 large-subunit ribosomal DNA sequencing kit for identification of filamentous fungi encountered in the clinical laboratory*. J Clin Microbiol 2004; 42: 622-626.
89. Schwarz, P., Bretagne, S., Gantier, J.C. y cols. *Molecular identification of zygomycetes from culture and experimentally infected tissues*. J Clin Microbiol 2006; 44: 340-349.
90. Machouart, M., Larche, J., Burton, K. y cols. *Genetic identification of the main opportunistic Mucorales by PCR-restriction fragment length polymorphism*. J Clin Microbiol 2006; 44: 805-810.
91. NCCLS. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved standard. NCCLS document M38-A. NCCLS, Wayne, PA 2002.
92. Torres-Narbona, M., Guinea, J., Martínez-Alarcón, J. y cols. *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 E-test*. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51: 1126-1129.
93. Espinel-Ingroff, A. *In vitro antifungal activities of anidulafungin and micafungin, licensed agents and the investigational triazole posaconazole as determined by NCCLS methods for 12,052 fungal isolates: Review of the literature*. Rev Iberoam Micol 2003; 20: 121-136.
94. Guinea, J., Peláez, T., Alcalá, L. y cols. *Antifungal susceptibility of 596 Aspergillus fumigatus strains isolated from outdoor air, hospital air, and clinical samples: Analysis by site of isolation*. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 3495-3497.
95. Singh, J., Rimek, D., Kappe, R. *In vitro susceptibility of 15 strains of zygomycetes to nine antifungal agents as determined by the NCCLS M38-A microdilution method*. Mycoses 2005; 48: 246-250.
96. Sabatelli, F., Patel, R., Mann, P.A. y cols. *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.
97. Eisen, D.P., Robson, J. *Complete resolution of pulmonary Rhizopus oryzae infection with itraconazole treatment: More evidence of the utility of azoles for zygomycosis*. Mycoses 2004; 47: 159-162.
98. Dannaoui, E., Meletiadis, J., Mouton, J.W. y cols. *In vitro susceptibilities of zygomycetes to conventional and new antifungals*. J Antimicrob Chemother 2003; 51: 45-52.
99. Dannaoui, E., Meis, J.F., Mouton, J.W. y cols. *In vitro susceptibilities of Zygomycota to polyenes*. J Antimicrob Chemother 2002; 49: 741-744.
100. Guembe, M., Guinea, J., Peláez, T. y cols. *Synergistic effect of posaconazole and caspofungin against clinical zygomycetes*. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51: 3457-3458.
101. Spellberg, B., Gebremarian, T., Fu, Y. y cols. *Liposomal amphotericin B and micafungin are synergistic in the treatment of murine mucormycosis*. 46th Annual Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco 2006; abst. M-1744.
102. Spellberg, B., Fu, Y., Edwards, J.E., Jr. y cols. *Combination therapy with amphotericin B lipid complex and caspofungin acetate of disseminated zygomycosis in diabetic ketoacidotic mice*. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 830-832.
103. Gil-Lamaignere, C., Hess, R., Salvenmoser, S. y cols. *Effect of media composition and in vitro activity of posaconazole, caspofungin and voriconazole against zygomycetes*. J Antimicrob Chemother 2005; 55: 1016-1019.
104. Reid, V.J., Solnik, D.L., Daskalakis, T. y cols. *Management of bronchovascular mucormycosis in a diabetic: A surgical success*. Ann Thorac Surg 2004; 78: 1449-1451.
105. Tryfon, S., Stanopoulos, I., Kakavelas, E. y cols. *Rhinocerebral mucormycosis in a patient with latent diabetes mellitus: A case report*. J Oral Maxillofac Surg 2002; 60: 328-330.
106. Perfect, J.R. *Treatment of non-Aspergillus moulds in immunocompromised patients, with amphotericin B lipid complex*. Clin Infect Dis 2005; 40(Suppl. 6): S401-S408.
107. Ibrahim, A.S., Avanesian, V., Spellberg, B. y cols. *Liposomal amphotericin B, and not amphotericin B deoxycholate, improves survival of diabetic mice infected with Rhizopus oryzae*. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 3343-3344.
108. Gleissner, B., Schilling, A., Anagnostopoulos, I. y cols. *Improved outcome of zygomycosis in patients with hematological diseases? Leuk Lymphoma 2004; 45: 1351-1360*.
109. Cornely, O.A., Maertens, J., Bresnik, M. y cols. *Liposomal amphotericin B as initial therapy for invasive mold infection: A randomized trial comparing a high-loading dose regimen with standard dosing (AmBiLoad trial)*. Clin Infect Dis 2007; 44: 1289-1297.
110. Jacobs, P., Wood, L., Du Toit, A. y cols. *Eradication of invasive mucormycosis – Effectiveness of the Echinocandin FK463*. Hematology 2003; 8: 119-123.
111. Hunter, A.J., Bryant, R.E. *Abdominal wall mucormycosis successfully treated with amphotericin and itraconazole*. J Infect 2002; 44: 203-204.
112. Sun, Q.N., Fothergill, A.W., McCarthy, D.I. y cols. *In vitro activities of posaconazole, itraconazole, voriconazole, amphotericin B, and fluconazole against 37 clinical isolates of zygomycetes*. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 1581-1582.
113. Quinio, D., Karam, A., Leroy, J.P. y cols. *Zygomycosis caused by Cunninghamella bertholletiae in a kidney transplant recipient*. Med Mycol 2004; 42: 177-180.
114. Trifilio, S., Singhal, S., Williams, S. y cols. *Breakthrough fungal infections after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients on prophylactic voriconazole*. Bone Marrow Transplant 2007; 40: 451-456.
115. Van Cutsem, J., Van Gerven, F., Franssen, J. y cols. *Treatment of experimental zygomycosis in guinea pigs with azoles and with amphotericin B*. Chemotherapy 1989; 35: 267-272.
116. Dannaoui, E., Afeltra, J., Meis, J. F. y cols. *In vitro susceptibilities of zygomycetes to combinations of antimicrobial agents*. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 2708-2711.
117. Kauffman, C.A. *Zygomycosis: Reemergence of an old pathogen*. Clin Infect Dis 2004; 39: 588-590.
118. Ide, L., Buyschaert, I., Demuyne, H. y cols. *Zygomycosis in neutropenic patients with past Aspergillus infection: A role for posaconazole? Clin Microbiol Infect 2004; 10: 862-863*.
119. Brugiere, O., Dauriat, G., Mal, H. y cols. *Pulmonary mucormycosis (zygomycosis) in a lung transplant recipient: Recovery after posaconazole therapy*. Transplantation 2005; 80: 1361-1362.
120. Leather, H.L., Correll, T.A., Meyer, C.L. y cols. *Treatment of zygomycosis with posaconazole in a patient with acute myeloid leukemia*. Clin Adv Hematol Oncol 2005; 3: 773-777.

121. Van Burik, J.A., Hare, R.S., Solomon, H.F. y cols. *Posaconazole is effective as salvage therapy in zygomycosis: A retrospective summary of 91 cases*. Clin Infect Dis 2006; 42: 61-65.
122. Gilman, A.L., Serrano, A., Skelley, J. y cols. *Successful treatment of pulmonary zygomycosis with posaconazole in a recipient of a haploidentical donor stem cell transplant*. Pediatr Blood Cancer 2005; 47: 956-963.
123. Hof, H. *A new, broad-spectrum azole antifungal: Posaconazole – Mechanisms of action and resistance, spectrum of activity*. Mycoses 2006; 49(Suppl. 1): 2-6.
124. Groll, A.H., Walsh, T.J. *Antifungal efficacy and pharmacodynamics of posaconazole in experimental models of invasive fungal infections*. Mycoses 2006; 49(Suppl. 1): 7-16.
125. Greenberg, R.N., Mullane, K., Van Burik, J.A. y cols. *Posaconazole as salvage therapy for zygomycosis*. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50: 126-133.
126. Page, R.L., Schwiesow, J., Hilts, A. *Posaconazole as salvage therapy in a patient with disseminated zygomycosis: Case report and review of the literature*. Pharmacotherapy 2007; 27: 290-298.
127. Paugam, A. *The latest data on posaconazole*. Med Mal Infect 2007; 37: 71-76.
128. Barchiesi, F., Spreghini, E., Santinelli, A. y cols. *Posaconazole prophylaxis in experimental systemic zygomycosis*. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51: 73-77.
129. Cornely, O.A., Maertens, J., Winston, D.J. y cols. *Posaconazole vs. fluconazole or itraconazole prophylaxis in patients with neutropenia*. N Engl J Med 2007; 356: 348-359.
130. Ullmann, A.J., Lipton, J.H., Vesole, D.H. y cols. *Posaconazole or fluconazole for prophylaxis in severe graft-versus-host disease*. N Engl J Med 2007; 356: 335-347.
131. Dannaoui, E., Meis, J.F., Loebeberg, D. y cols. *Activity of posaconazole in treatment of experimental disseminated zygomycosis*. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 3647-3650.
132. Pfaller, M.A., Messer, S.A., Hollis, R.J. y cols. *Antifungal activities of posaconazole, ravuconazole, and voriconazole compared to those of itraconazole and amphotericin B against 239 clinical isolates of Aspergillus spp. and other filamentous fungi: Report from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2000*. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 1032-1037.
133. Keating, G.M. *Posaconazole*. Drugs 2005; 65: 1553-1567; discussion 1568-1569.
134. Sun, Q.N., Najvar, L.K., Bocanegra, R. y cols. *In vivo activity of posaconazole against Mucor spp. in an immunosuppressed-mouse model*. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 2310-2312.
135. Boucher, H.W., Groll, A.H., Chiou, C.C. y cols. *Newer systemic antifungal agents: Pharmacokinetics, safety and efficacy*. Drugs 2004; 64: 1997-2020.
136. Minassian, B., Huczko, E., Washo, T. y cols. *In vitro activity of ravuconazole against Zygomycetes, Scedosporium and Fusarium isolates*. Clin Microbiol Infect 2003; 9: 1250-1252.
137. Warn, P.A., Sharp, A., Mosquera, J. y cols. *Comparative in vivo activity of BAL4815, the active component of the prodrug BAL8557, in a neutropenic murine model of disseminated Aspergillus flavus*. J Antimicrob Chemother 2006; 57: 135-138.
138. Warn, P.A., Sharp, A., Denning, D.W. *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.
139. Rickerts, V., Atta, J., Herrmann, S. y cols. *Successful treatment of disseminated mucormycosis with a combination of liposomal amphotericin B and posaconazole in a patient with acute myeloid leukaemia*. Mycoses 2006; 49(Suppl. 1): 27-30.
140. Ibrahim, A.S., Edwards, J.E., Jr., Fu, Y., Spellberg, B. *Deferiprone iron chelation as a novel therapy for experimental mucormycosis*. J Antimicrob Chemother 2006; 58: 1070-1073.
141. Scheinfeld, N. *A review of deferasirox, bortezomib, dasatinib, and cyclosporine eye drops: Possible uses and known side effects in cutaneous medicine*. J Drugs Dermatol 2007; 6: 352-355.
142. Chassaing, N., Valtou, L., Kany, M. y cols. *Rhino-cerebral fungal infection successfully treated with supplementary hyperbaric oxygen therapy*. Rev Neurol (Paris) 2003; 159: 1178-1180.
143. García-Covarrubias, L., Barratt, D. M., Bartlett, R. y cols. *Treatment of mucormycosis with adjunctive hyperbaric oxygen: Five cases treated at the same institution and review of the literature*. Rev Invest Clin 2004; 56: 51-55.
144. John, B.V., Chamilos, G., Kontoyiannis, D.P. *Hyperbaric oxygen as an adjunctive treatment for zygomycosis*. Clin Microbiol Infect 2005; 11: 515-517.
145. Abzug, M.J., Walsh, T.J. *Interferon-gamma and colony-stimulating factors as adjuvant therapy for refractory fungal infections in children*. Pediatr Infect Dis J 2004; 23: 769-773.
146. Gil-Lamaignere, C., Simitsopoulou, M., Roilides, E. y cols. *Interferon-gamma and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor augment the activity of polymorphonuclear leukocytes against medically important zygomycetes*. J Infect Dis 2005; 191: 1180-1187.
147. Shi, B.Y., Lan, L., Guo, H. y cols. *Concomitant diabetic ketoacidosis and rhinocerebral mucormycosis: Report of a case*. Chin Med J (Engl) 2004; 117: 1113-1115.
148. Barron, M.A., Lay, M., Madinger, N.E. *Surgery and treatment with high-dose liposomal amphotericin B for eradication of craniofacial zygomycosis in a patient with Hodgkin's disease who had undergone allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*. J Clin Microbiol 2005; 43: 2012-2014.
149. Tedder, M., Spratt, J.A., Anstadt, M.P. y cols. *Pulmonary mucormycosis: Results of medical and surgical therapy*. Ann Thorac Surg 1994; 57: 1044-1050.
150. McAdams, H.P., Rosado de Christenson, M., Strollo, D.C. y cols. *Pulmonary mucormycosis: Radiologic findings in 32 cases*. Am J Roentgenol 1997; 168: 1541-1548.
151. Al-Asiri, R.H., Van Dijken, P.J., Mahmood, M.A. y cols. *Isolated hepatic mucormycosis in an immunocompetent child*. Am J Gastroenterol 1996; 91: 606-607.
152. Alsuwaidia, K. *Primary cutaneous mucormycosis complicating the use of adhesive tape to secure the endotracheal tube*. Can J Anaesth 2002; 49: 880-882.
153. Kerr, O.A., Bong, C., Wallis, C. y cols. *Primary cutaneous mucormycosis masquerading as pyoderma gangrenosum*. Br J Dermatol 2004; 150: 1212-1213.
154. Pérez-Urbe, A., Molina de Soschin, D., Arenas, R. y cols. *Primary cutaneous mucormycosis. Report of a case in a HIV patient*. Rev Iberoam Micol 2005; 22: 118-121.
155. Stamm, B. *Mucormycosis of the stomach in a patient with multiple trauma*. Histopathology 2005; 47: 222-223.
156. Teggi, A., Fedele, A., Bagnato, R. y cols. *A case of disseminated mucormycosis*. Recenti Prog Med 1989; 80: 308-313.
157. Goodill, J.J., Abuelo, J.G. *Mucormycosis – A new risk of deferoxamine therapy in dialysis patients with aluminum or iron overload?* N Engl J Med 1987; 317: 54.