

Original

Actividad *in vitro* de fluconazol, voriconazol y posaconazol frente a *Candida* spp.

M.C. Rubio Calvo¹, J. Gil¹, I. Ramírez de Ocáriz¹, R. Benito¹ y A. Rezusta²

¹Servicio de Microbiología, Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Zaragoza;

²Facultad de Ciencias de la Salud y del Deporte, Huesca

RESUMEN

Voriconazol y posaconazol son dos nuevos triazoles con un amplio espectro de actividad antifúngica. La actividad *in vitro* de estos antifúngicos se compara con la de fluconazol frente a 113 aislamientos clínicos de *Candida* spp. con un amplio rango de CMI de fluconazol ($\leq 0,125$ a >64 mg/l). Se estudiaron 22 *C. albicans*, 22 *C. glabrata*, 20 *C. tropicalis*, 15 *C. dubliniensis*, 13 *C. parapsilosis*, 13 *C. krusei*, 4 *C. lusitanae*, 3 *C. guilliermondii* y 1 *C. famata*. La determinación de las CMI se realizó siguiendo las especificaciones del National Committee for Clinical Laboratory Standards, documento M27-A. Voriconazol y posaconazol mostraron buena actividad frente a todas las cepas de *Candida* spp., con una CMI₉₀ de 0,25 y 0,5 mg/l, respectivamente. Las CMI₅₀ y CMI₉₀ de fluconazol fueron de 1 y 32 mg/l. Voriconazol y posaconazol poseen buena actividad tanto sobre las cepas de *Candida* spp. sensibles como resistentes al fluconazol. Las cepas con CMI de fluconazol más altas (≥ 16 mg/l) presentaban CMI de voriconazol y posaconazol ligeramente más elevadas que las sensibles al fluconazol. En las cepas resistentes al fluconazol las CMI₉₀ de voriconazol y posaconazol fueron de 0,5 mg/l, mientras que las sensibles al fluconazol tuvieron una CMI₉₀ de 0,06 mg/l para voriconazol y 0,25 mg/l para posaconazol. *C. dubliniensis* fue la especie más sensible y voriconazol el antifúngico con mejor actividad frente a estas cepas.

Palabras clave: Voriconazol - Posaconazol - Fluconazol - Nuevos triazoles

In vitro activity of fluconazole, voriconazole and posaconazole against *Candida* spp.

SUMMARY

Voriconazole and posaconazole are two new triazoles with broad-spectrum antifungal activity. The *in vitro* activity of these agents was compared with that of fluconazole against 113 clinical isolates of *Candida* spp. exhibiting a wide range of MICs for fluconazole (≤ 0.125 to >64 mg/l). They included 22 *C. albicans* isolates, 22 *C. glabrata*, 20 *C. tropicalis*, 15 *C. dubliniensis*, 13 *C. parapsilosis*, 13 *C. krusei*, 4 *C. lusitanae*, 3 *C. guilliermondii* and 1 *C. famata*. MICs were determined by broth microdilution test performed according to the National Committee for Clinical Laboratory Standards' M27-A document. Voriconazole and posaconazole were quite active against all *Candida* spp. isolates, with MIC₉₀ of 0.25 and 0.5 mg/l, respectively. Fluconazole MIC₅₀ and MIC₉₀ were 1 and 32 mg/l. Voriconazole and posaconazole showed *in vitro* activity against fluconazole-susceptible and -resistant *Candida* isolates. Higher voriconazole and posaconazole MICs were observed in isolates exhibiting higher fluconazole MICs (≥ 16 mg/l) than in those of fluconazole-susceptible isolates (MIC₉₀ for voriconazole and posaconazole in the fluconazole-resistant isolates were 0.5 mg/l versus 0.06 mg/l for voriconazole and 0.25 mg/l for posaconazole in the fluconazole-susceptible strains). *C. dubliniensis* was the most susceptible species, and voriconazole the most active antifungal agent against all *Candida* spp. tested.

Key words: Voriconazole - Posaconazole - Fluconazole - New triazoles

INTRODUCCIÓN

Si bien *Candida albicans* es la levadura que con más frecuencia produce infecciones fúngicas graves en los pacientes inmunodeprimidos, otras especies del género *Candida* se están comportando como importantes patógenos oportunistas.

La frecuencia y el aumento de las infecciones fúngicas hacen imprescindible disponer de tratamientos efectivos. Aunque la amfotericina B sigue siendo el antifúngico de elección en muchos casos, su uso no está exento de importantes limitaciones clínicas y efectos secundarios. Por otra parte, la amplia utilización del fluconazol se ha visto acompañada de la selección de cepas de *Candida* spp. resistentes, así como de la emergencia de especies distintas a *C. albicans* resistentes a este azol.

Para obviar estos problemas se modificó la estructura química del fluconazol y se obtuvo el voriconazol, nuevo antifúngico triazólico con espectro más amplio y mayor potencia *in vitro* frente a diversas especies de *Candida*, incluidas *C. krusei* y *C. glabrata* (1-12). Asimismo, el posaconazol es un derivado hidroxilado del itraconazol que, con una actividad similar a éste, es más activo que el fluconazol frente a *Candida* spp. (10-17). El objetivo de este trabajo fue estudiar la actividad *in vitro* de fluconazol, voriconazol y posaconazol frente a 113 aislamientos clínicos de *Candida* spp. mediante el método de microdilución propuesto por el NCCLS (18), con el fin de conocer el comportamiento de estos antifúngicos y poder comparar el voriconazol y el posaconazol con el fluconazol.

MATERIAL Y MÉTODOS

Levaduras

Se estudiaron un total de 113 cepas de *Candida* spp. obtenidas de muestras clínicas procedentes de pacientes atendidos en el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, de Zaragoza: 22 *C. albicans*, 22 *C. glabrata*, 20 *C. tropicalis*, 15 *C. dubliniensis*, 13 *C. krusei*, 13 *C. parapsilosis*, 4 *C. lusitaniae*, 3 *C. guilliermondii* y 1 *C. famata*. De las 113 cepas, 43 procedían de tracto urinario, 23 de vías respiratorias bajas, 18 de cavidad orofaríngea, 8 de lesiones de piel y uñas, 8 de tracto genital (7 de exudado vaginal y 1 de semen), 5 de sangre, 3 de catéter central, 3 de líquido peritoneal, 1 de líquido articular y 1 de exudado ótico. Como cepas control se incluyeron *C. parapsilosis* ATCC 22019 y *C. krusei* ATCC 6258.

Estudio de sensibilidad

El estudio de sensibilidad *in vitro* se realizó por el método de microdilución acorde con las especificaciones del NCCLS (18).

Inóculo

De un cultivo de 24 horas en medio de Sabouraud a 35 °C se suspendieron cuatro o cinco colonias en una solución salina estéril, ajustando la turbidez de la suspensión al 0,5 de la escala de McFarland mediante espectrofotometría. Posteriormente se realizó una dilución al 1:1000 en RPMI 1640 para obtener una concentración doble de la final de $0,5-2,5 \times 10^3$ UFC/ml. El inóculo se comprobó mediante recuento en medio de Sabouraud.

Antifúngicos

Fluconazol (Pfizer), voriconazol (Pfizer) y posaconazol (Schering) se obtuvieron directamente de sus fabricantes en forma de polvo. La solución madre de fluconazol se preparó con agua destilada estéril a una concentración de 1280 mg/l y se utilizó el medio de cultivo RPMI 1640 como diluyente. Voriconazol y posaconazol se disolvieron con dimetilsulfóxido (DMSO) a una concentración madre de 1600 mg/l y se diluyeron en DMSO primero y luego en RPMI 1640. En ambos casos las concentraciones obtenidas fueron el doble de las requeridas para llevar a cabo la prueba.

El rango de concentraciones finales fue de 0,125 a 64 mg/l para el fluconazol y de 0,015 a 8 mg/l para el voriconazol y el posaconazol.

Microdilución

Cada pocillo de la placa de microdilución, conteniendo 100 µl del antifúngico a doble concentración de la final, fue inoculado con 100 µl de la suspensión del inóculo. Para cada cepa probada se incluyeron control de esterilidad (200 µl de medio) y control de crecimiento (100 µl de RPMI 1640 y 100 µl de inóculo). Las placas de microdilución se incubaron a 35 °C y la lectura se efectuó a las 48 horas con la ayuda de un espejo de lectura. La CMI se definió como la menor concentración de antifúngico que inhibió al menos el 50% del crecimiento en comparación con el control de crecimiento.

RESULTADOS

Las 113 cepas de *Candida* spp. se inhibieron a una concentración de voriconazol y posaconazol ≤ 1 mg/l, estando

Tabla 1. CMI₅₀, CMI₉₀ y rango de CMI de fluconazol, voriconazol y posaconazol en 113 cepas de *Candida* spp.

Antifúngico	CMI (mg/l)		Rango
	CMI ₅₀	CMI ₉₀	
Fluconazol	1	32	≤0,125->64
Voriconazol	0,03	0,25	≤0,015-1
Posaconazol	0,125	0,5	≤0,015-1

las CMI de ambos antifúngicos comprendidas en un rango de ≤0,015 a 1 mg/l. Para el voriconazol la CMI₅₀ fue de 0,03 mg/l y la CMI₉₀ de 0,25 mg/l. La CMI₅₀ y la CMI₉₀ del posaconazol fueron de 0,125 y 0,5 mg/l, respectivamente. Para el fluconazol, con un rango de ≤0,125 a >64 mg/l, la CMI₅₀ fue de 1 mg/l y la CMI₉₀ de 32 mg/l (Tabla 1).

La especie más sensible a los tres antifúngicos probados fue *C. dubliniensis*. Todas las cepas se inhibieron a una concentración de fluconazol ≤0,125 mg/l y de voriconazol ≤0,015 mg/l, y para posaconazol la CMI₉₀ fue de 0,03 mg/l.

C. glabrata, *C. krusei* y *C. tropicalis* fueron las especies con CMI más elevadas de voriconazol y posaconazol. *C. glabrata* presentó una CMI₉₀ de 0,5 mg/l para ambos triazoles, la CMI₉₀ de *C. krusei* fue de 0,25 mg/l para voriconazol y de 0,5 mg/l para posaconazol, y en *C. tropicalis* la CMI₉₀ de voriconazol fue de 0,125 mg/l y la de posaconazol de 0,5 mg/l. En *C. albicans* el rango de CMI de fluconazol fue mucho más amplio (≤0,125->64 mg/l) que el de voriconazol (≤0,015-0,125 mg/l) y posaconazol (≤0,015-0,5 mg/l), con una CMI₉₀ de >64, 0,125 y 0,25 mg/l, respectivamente (Tabla 2).

De los 113 aislamientos, 74 fueron sensibles al fluconazol (CMI ≤8 mg/l), 28 fueron sensibles dependiendo de la dosis (CMI 16 a 32 mg/l) y 11 fueron resistentes (CMI ≥64 mg/l). Las 74 cepas sensibles al fluconazol presentaron unas CMI de voriconazol y posaconazol más bajas que las 39 cepas con sensibilidad disminuida al fluconazol (sensibles dependiendo de la dosis y resistentes). Así, las CMI₅₀ de voriconazol y posaconazol para las cepas sensibles al fluconazol fueron ≤0,015 y 0,125 mg/l, respectivamente, y

Tabla 2. Actividad de fluconazol, voriconazol y posaconazol frente a 113 cepas de *Candida* spp. distribuidas por especies.

Especie (n)	Antifúngico	CMI (mg/l)		
		CMI ₅₀	CMI ₉₀	Rango
<i>C. albicans</i> (22)	Fluconazol	0,5	>64	≤0,125->64
	Voriconazol	≤0,015	0,125	≤0,015-0,125
	Posaconazol	0,03	0,25	≤0,015-0,5
<i>C. glabrata</i> (22)	Fluconazol	16	>64	4->64
	Voriconazol	0,06	0,5	0,03-1
	Posaconazol	0,5	0,5	≤0,015-1
<i>C. tropicalis</i> (20)	Fluconazol	0,5	2	≤0,125->64
	Voriconazol	0,03	0,125	≤0,015-0,25
	Posaconazol	0,125	0,5	0,03-1
<i>C. dubliniensis</i> (15)	Fluconazol	≤0,125	≤0,125	≤0,125
	Voriconazol	≤0,015	≤0,015	≤0,015
	Posaconazol	≤0,015	0,03	≤0,015-0,125
<i>C. parapsilosis</i> (13)	Fluconazol	0,5	1	≤0,125-2
	Voriconazol	0,03	0,03	≤0,015-0,03
	Posaconazol	0,06	0,25	≤0,015-0,25
<i>C. krusei</i> (13)	Fluconazol	32	64	16-64
	Voriconazol	0,25	0,25	0,03-0,5
	Posaconazol	0,25	0,5	≤0,015-0,5
<i>C. lusitaniae</i> (4)	Fluconazol			0,5-8
	Voriconazol			≤0,015
	Posaconazol			0,06-0,125
<i>C. guilliermondii</i> (3)	Fluconazol			1-16
	Voriconazol			0,125-0,25
	Posaconazol			0,125-0,25
<i>C. famata</i> (1)	Fluconazol			2
	Voriconazol			0,06
	Posaconazol			0,06

Tabla 3. Actividad de voriconazol y posaconazol frente a 113 cepas de *Candida* spp. sensibles y con sensibilidad disminuida al fluconazol.

	Antifúngico	CMI (mg/l)		
		CMI ₅₀	CMI ₉₀	Rango
Cepas sensibles al fluconazol (n=74) (CMI ≤8 mg/l)	Voriconazol	≤0,015	0,06	≤0,015-0,25
	Posaconazol	0,125	0,25	≤0,015-1
Cepas no sensibles al fluconazol (n=39) (CMI ≥16 mg/l)	Voriconazol	0,125	0,5	≤0,015-1
	Posaconazol	0,25	0,5	≤0,015-1

0,125 y 0,25 mg/l para las cepas con sensibilidad disminuida al fluconazol. Para las cepas sensibles al fluconazol, la CMI₉₀ fue de 0,06 mg/l para voriconazol y de 0,25 mg/l para posaconazol, y para ambos antifúngicos fue de 0,5 mg/l en aquellas cepas con sensibilidad disminuida al fluconazol (Tabla 3).

Las 16 cepas de *C. glabrata* con sensibilidad disminuida al fluconazol presentaban una CMI₉₀ de 0,5 mg/l para ambos antifúngicos, mientras que con 0,25 mg/l de voriconazol se inhibieron las seis cepas sensibles y con la misma concentración de posaconazol sólo tres de ellas. Las 15 *C. albicans* sensibles al fluconazol fueron inhibidas con

≤0,015 mg/l de voriconazol, siendo necesarios 0,125 mg/l para inhibir a las siete cepas no sensibles. A la concentración de 0,25 mg/l de posaconazol se inhibieron todas las cepas de *C. albicans* no sensibles al fluconazol y 14 de 15 cepas sensibles. Las 13 cepas de *C. krusei* estudiadas presentaron sensibilidad disminuida al fluconazol, con una CMI₉₀ de 0,25 para voriconazol y 0,5 mg/l para posaconazol (Tabla 4).

DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo muestran una buena actividad de voriconazol y posaconazol frente a las diferentes especies de *Candida* probadas. En todos los casos ambos

Tabla 4. Actividad de voriconazol y posaconazol frente a 74 cepas de *Candida* spp. sensibles al fluconazol y 39 cepas de *Candida* spp. no sensibles al fluconazol.

Antifúngico y especie	Cepas sensibles al fluconazol				Cepas no sensibles al fluconazol			
	n	CMI (mg/l)			n	CMI (mg/l)		
		CMI ₅₀	CMI ₉₀	Rango		CMI ₅₀	CMI ₉₀	Rango
Voriconazol								
<i>C. albicans</i>	15	≤0,015	≤0,015	≤0,015	7			≤0,015-0,125
<i>C. glabrata</i>	6			0,03-0,25	16	0,125	0,5	0,03-1
<i>C. tropicalis</i>	18	0,03	0,25	≤0,015-0,25	2			≤0,015-0,06
<i>C. dubliniensis</i>	15	≤0,015	≤0,015	≤0,015	0	–	–	–
<i>C. parapsilosis</i>	13	≤0,015	0,03	≤0,015-0,03	0	–	–	–
<i>C. krusei</i>	0	–	–	–	13	0,25	0,25	0,03-5
<i>C. lusitaniae</i>	4			≤0,015	0	–	–	–
<i>C. guilliermondii</i>	2			0,125-0,25	1			0,25
<i>C. famata</i>	1			0,06	0	–	–	–
Posaconazol								
<i>C. albicans</i>	15	0,03	0,25	≤0,015-0,5	7			≤0,015-0,25
<i>C. glabrata</i>	6			0,25-1	16	0,5	0,5	≤0,015-1
<i>C. tropicalis</i>	18	0,125	1	0,03-1	2			0,06-0,5
<i>C. dubliniensis</i>	15	≤0,015	0,03	≤0,015-0,125	0	–	–	–
<i>C. parapsilosis</i>	13	0,06	0,25	≤0,015-0,25	0	–	–	–
<i>C. krusei</i>	0	–	–	–	13	0,25	0,5	≤0,015-0,5
<i>C. lusitaniae</i>	4			0,06-0,125	0	–	–	–
<i>C. guilliermondii</i>	2			0,125-0,25	1			0,25
<i>C. famata</i>	1			0,06	0	–	–	–

antifúngicos fueron más potentes que el fluconazol, incluso frente a aquellas cepas resistentes a este antifúngico o sensibles dependiendo de la dosis. En general, las CMI obtenidas son, para cada antifúngico y para cada especie, similares a las descritas por otros autores (2, 6, 8, 17, 19-26). En nuestro caso, el voriconazol presentó CMI ligeramente más bajas que el posaconazol para especies como *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis* y *C. lusitanae*, algo ya descrito por Pfaller y cols. (27) en *C. parapsilosis*.

Aunque en este estudio solamente hemos incluido cuatro cepas de *C. lusitanae*, tres de *C. guilliermondii* y una de *C. famata*, el rango de CMI del voriconazol y el posaconazol es similar al hallado por Pfaller y cols. (24, 28), Espinel-Ingroff (7) y Wildfeuer y cols. (20).

De acuerdo con Moran y cols. (29), Pfaller y cols. (30) y Quindós y cols. (31), ponemos de manifiesto que *C. dubliniensis* es muy sensible al voriconazol y el posaconazol. La capacidad de *C. dubliniensis* de desarrollar rápidamente resistencia estable al fluconazol, tras su exposición a este antifúngico, ha sido ampliamente descrita. En nuestro caso todas las cepas procedían de pacientes con sida y eran sensibles al fluconazol (CMI $\leq 0,125$ mg/l).

En este estudio hemos incluido no solamente cepas de *C. krusei* y *C. glabrata* no sensibles al fluconazol, sino también cepas de *C. albicans*, *C. tropicalis* y una cepa de *C. guilliermondii* resistentes a este antifúngico. En nuestro caso, las 13 cepas de *C. krusei*, así como 16 de las 22 *C. glabrata*, fueron inhibidas con una concentración de fluconazol ≥ 16 mg/l, mientras que $\leq 0,5$ mg/l de voriconazol y posaconazol fueron suficientes para inhibir a las primeras y una concentración ≤ 1 mg/l de ambos antifúngicos inhibió a las 16 cepas de *C. glabrata*; resultados semejantes a los obtenidos por otros autores (2, 8, 22). Las siete cepas de *C. albicans* no sensibles al fluconazol fueron inhibidas con una concentración $\leq 0,125$ mg/l de voriconazol y $\leq 0,25$ mg/l de posaconazol. En los trabajos de Cuenca-Estrella y cols. (21) y Lee y cols. (23) se necesitaron concentraciones más elevadas de voriconazol (hasta 8 mg/l) para inhibir las cepas de *C. albicans*, *C. krusei* y *C. glabrata* no sensibles al fluconazol. En contraste con lo descrito por Barry y cols. (2), no encontramos diferencias en las concentraciones inhibitorias de voriconazol entre las cinco cepas de *C. albicans* resistentes al fluconazol y las dos sensibles dependiendo de la dosis.

Nuestras dos cepas de *C. tropicalis* no sensibles al fluconazol fueron inhibidas con unas concentraciones de voriconazol $\leq 0,015$ y 0,06 mg/l. Estos hallazgos son similares a los descritos por Nguyen y cols. (8) y Barry y cols. (2), aunque este último no diferencia entre sensibles y no sensi-

bles al fluconazol; sin embargo, difieren de los de Cuenca-Estrella y cols. (21), en cuyas 12 cepas de *C. tropicalis* no sensibles al fluconazol el rango de CMI del voriconazol es de 4 a ≥ 128 mg/l.

En diversas series (6-8, 21, 32-35) se ha puesto de manifiesto que aquellos aislamientos de *Candida* spp. resistentes al fluconazol presentan CMI de voriconazol más elevadas que los aislamientos sensibles a este antifúngico, lo cual puede indicar la existencia de resistencia cruzada entre los azoles. El hecho de que en nuestro estudio las 39 cepas no sensibles al fluconazol fueran inhibidas por una concentración de voriconazol y posaconazol ≤ 1 mg/l sugiere la no existencia de resistencia cruzada a los azoles en estas cepas.

En conclusión, el voriconazol y el posaconazol presentan una buena actividad *in vitro* frente a *Candida* spp., aquellas cepas con sensibilidad disminuida al fluconazol (CMI ≥ 16 mg/l) poseen CMI ligeramente más elevadas de voriconazol y posaconazol que los aislamientos que son sensibles al fluconazol, *C. dubliniensis* fue la especie más sensible a todos los antifúngicos, y el voriconazol es algo más activo *in vitro* que el posaconazol frente a *Candida* spp.

Correspondencia: M^a Carmen Rubio Calvo. e-mail: mcrubio@posta.unizar.es

BIBLIOGRAFÍA

1. Troke, P.F., Bell, A.S., Dickinson, R.P. y cols. *UK-109,496, a novel, wide-spectrum triazole derivative for the treatment of fungal infections: Discovery and antifungal properties*. 35th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco 1995; abstr. F70: 125.
2. Barry, A.L., Brown, S.D. *In vitro studies of two triazole antifungal agents (voriconazole (UK-109,496) and fluconazole) against Candida species*. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40: 1948-1949.
3. Martin, M.V., Yates, J., Hitchcock, C.A. *Comparison of voriconazole (UK-109,496) and itraconazole in prevention and treatment of Aspergillus fumigatus endocarditis in guinea pigs*. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 13-16.
4. McGinnis, M.R., Pasarell, L., Sutton, D.A., Fothergill, A.W., Cooper, C.R., Rinaldi, M.G. *In vitro evaluation of voriconazole against some clinically important fungi*. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 1832-1834.
5. Radford, S.A., Johnson, E.M., Warnock, D.W. *In vitro studies of activity of voriconazole (UK-109,496), a new triazole antifungal agent, against emerging and less-common mold pathogens*. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 841-843.
6. Ruhnke, M., Schmidt-Weshausen, A., Trautmann, M. *In vitro activities of voriconazole (UK-109,496) against fluconazole-susceptible and -resistant Candida albicans isolates from oral cavities of patients with human immunodeficiency virus infection*. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 575-577.
7. Espinel-Ingroff, A. *In vitro activity of the new triazole voriconazole (UK-109,496) against opportunistic filamentous and dimorphic fungi*

- and common and emerging yeast pathogens. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 198-202.
8. Nguyen, M.H., Yu, C.Y. *Voriconazole against fluconazole susceptible and resistant Candida isolates: In-vitro efficacy compares with that of itraconazole and ketoconazole.* *J Antimicrob Chemother* 1998; 42: 253-256.
 9. Sabo, J.A., Abdel-Rahman, S.M. *Voriconazol: A new triazole antifungal.* *Ann Pharmacother* 2000; 34: 1032-1043.
 10. Hoffman, H.L., Ernst, E.J., Klepser, M.E. *Novel triazole antifungal agents.* *Expert Opin Investig Drugs* 2000; 9: 593-605.
 11. Ernst, J.E. *Investigational antifungal agents.* *Pharmacotherapy* 2001; 21: 165S-174S.
 12. Pfaller, M.A., Mecer, S.A., Hollis, R.J. y cols. *In vitro susceptibilities of Candida bloodstream isolates to the new triazole antifungal agents BMS-207147, Sch 56592, and voriconazole.* *J Clin Microbiol* 1998; 42: 3242-3244.
 13. Pfaller, M.A., Messer, S., Jones, R.N. *Activity of a new triazole, Sch 56592, compared with those of four other antifungal agents tested against clinical isolates of Candida spp. an Saccharomyces cerevisiae.* *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 233-235.
 14. Galgiani, J.N., Lewis, M.L. *In vitro studies of activities of the antifungal triazole SCH 56592 and itraconazole against Candida albicans, Cryptococcus neoformans, and other pathogenic yeasts.* *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 180-183.
 15. Law, D., Moore, C.B., Denning, D.W. *Activity of SCH 56592 compared with those of fluconazole and itraconazole against Candida spp.* *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 2310-2311.
 16. Barchiesi, F., Arzeni, D., Fothergill, A.W. y cols. *In vitro activities of the new antifungal triazole SCH 56592 against common and emerging yeast pathogens.* *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 226-229.
 17. Pfaller, M.A., Messer, S.A., Hollis, R.J., Jones, R.N. *In vitro activities of posaconazole (Sch 56592) compared with those of itraconazole against 3,685 clinical isolates of Candida spp. and Cryptococcus neoformans.* *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 2862-2864.
 18. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. M-27A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa. 1997.
 19. Belanger, P., Nast, C.C., Fratti, R., Sanati, H., Ghannoum, M. *Voriconazole (UK-109,496) inhibits the growth and alters the morphology of fluconazole-susceptible and -resistant Candida species.* *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 1840-1842.
 20. Wildfeuer, A., Seidl, H.P., Paule, I., Haberreiter, A. *In vitro evaluation of voriconazole against clinical isolates of yeasts, moulds and dermatophytes in comparison with itraconazole, ketoconazole, amphotericin B and griseofulvin.* *Mycoses* 1998; 41: 309-319.
 21. Cuenca-Estrella, M., Díaz-Guerra, T.M., Mellado, E., Monzón, A., Rodríguez-Tudela, J.L. *Comparative in vitro activity of voriconazole and itraconazole against fluconazole-susceptible and fluconazole-resistant clinical isolates of Candida species from Spain.* *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; 18: 432-435.
 22. Uzun, O., Arıkan, S., Kocagoz, S., Sancak, B., Unal, S. *Susceptibility testing of voriconazole, fluconazole, itraconazole and amphotericin B against yeast isolates in a Turkish University Hospital and effect of time of reading.* *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000; 38: 101-107.
 23. Lee, J.K., Peters, D., Obias, A.A., Noskin, G.A., Peterson, L.R. *Activity of voriconazole against Candida albicans and Candida krusei isolated since 1984.* *Int J Antimicrob Agents* 2000; 16: 205-209.
 24. Pfaller, M.A., Messer, S.A., Houston, A., Mills, K., Bolmstrom, A., Jones, R.N. *Evaluation of the E-test method for determining voriconazole susceptibilities of 312 clinical isolates of Candida species by using three different agar media.* *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3715-3717.
 25. Girmenia, C., Tuccinardi, C., Santilli, S. y cols. *In vitro activity of fluconazole and voriconazole against Candida albicans from patients with haematological malignancies.* *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 479-483.
 26. Pfaller, M.A., Diekema, D.J., Jones, R.N., Messer, S.A., Hollis, R.J. *Trends in antifungal susceptibility of Candida spp. isolated from pediatric and adult patients with bloodstream infections: SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997 to 2000.* *J Clin Microbiol* 2002; 40: 852-856.
 27. Pfaller, M.A., Messer, S.A., Hollis, R.J. y cols. *In vitro susceptibilities of Candida bloodstream isolates to the new triazole antifungal agents BMS-207147, Sch 56592, and voriconazole.* *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 3242-3244.
 28. Pfaller, M.A., Diekema, D.J., Messer, S.A., Boyken, L., Huynh, H., Hollis, R.J. *Clinical evaluation of a frozen commercially prepared microdilution panel for antifungal susceptibility testing of seven antifungal agents, including the new triazoles posaconazole, ravuconazole, and voriconazole.* *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1694-1697.
 29. Moran, G.P., Sullivan, D.J., Herman, M.C. y cols. *Antifungal drug susceptibilities of oral Candida dubliniensis isolates from human immunodeficiency virus (HIV)-infected and non-HIV-infected subjects and generation of stable fluconazole-resistant derivatives in vitro.* *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 617-623.
 30. Pfaller, M.A., Messer, S.A., Gee, S. y cols. *In vitro susceptibilities of Candida dubliniensis isolates tested against the new triazole and echinocandin antifungal agents.* *J Clin Microbiol* 1999; 37: 870-872.
 31. Quindós, G., Carrillo-Muñoz, A.J., Arévalo, M.P. y cols. *In vitro susceptibility of Candida dubliniensis to current and new antifungal agents.* *Chemother* 2000; 46: 395-401.
 32. Sheehan, D.J., Hitchcock, C.A., Sibley, C.M. *Current and emerging azole antifungal agents.* *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 40-79.
 33. Pfaller, M.A., Diekema, D.J., Jones, R.N. y cols. *International surveillance of bloodstream infections due to Candida species: Frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY antimicrobial surveillance program.* *J Clin Microbiol* 2001; 39: 3254-3259.
 34. Pfaller, M.A., Messer, S.A., Hollis, R.J., Jones, R.N., Diekema, D.J. *In vitro activities of ravuconazole and voriconazole compared with those of four approved systemic antifungal agents against 6,970 clinical isolates of Candida spp.* *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 1723-1727.
 35. Pfaller, M.A., Diekema, D.J., Messer, S.A., Boyken, L., Hollis, R.J., Jones, R.N. *In vitro activities of voriconazole, posaconazole, and four licensed systemic antifungal agents against Candida species infrequently isolated from blood.* *J Clin Microbiol* 2003; 41: 78-83.