

Symposium 7

**Tratamiento antifúngico de las micosis sistémicas.
Nuevas moléculas y nuevos conceptos
en las pruebas *in vitro***

Dificultades del diagnóstico micológico de las infecciones fúngicas sistémicas

M. Santos

Servicio de Microbiología, Hospital Universitario La Fe, Valencia

Las infecciones fúngicas sistémicas presentan una incidencia creciente, sobre todo en el hospital y especialmente en enfermos inmunodeprimidos, los que tienen riesgo vital y algunos inmunocompetentes. Los hongos implicados suelen ser *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Cryptococcus* spp., especies importadas y hongos emergentes raros. Se conoce cada vez mejor el huésped susceptible y los factores favorecedores, tanto los del huésped como los relacionados con tratamientos y técnicas de soporte vital o con el entorno. El cuadro clínico es poco específico, el diagnóstico por imagen ha mejorado recientemente, el curso suele ser rápido y el pronóstico malo, incluso con tratamiento específico. Los dos pilares para mejorar el panorama de las infecciones fúngicas sistémicas son el diagnóstico y el tratamiento precoces. Las dificultades del diagnóstico micológico estriban en:

- a) Las muestras, muy variadas, han de ser representativas del foco, suficientes, en condiciones estériles y enviadas rápidamente al laboratorio, junto con sangre para hemocultivo, detección de Ag y Ac o ácidos nucleicos. Han de ir acompañadas de una petición clara, con datos clínicos orientativos del enfermo y su tratamiento. Los fallos pueden provenir de una muestra obtenida sin condiciones de esterilidad, insuficiente o con envío demorado, o de que el procesamiento sea inadecuado por falta de información.
- b) Es obligado el examen macroscópico y microscópico de la muestra para racionalizar su empleo y optimizar la preparación para el cultivo; el examen directo en fresco o con tinciones, aunque limitado por material no adecuado o poca pericia del observador, puede proporcionar un diagnóstico presuntivo, barato, rápido y orientativo para el tratamiento. Los cultivos permiten aislar, identificar y hacer pruebas de sensibilidad. El aislamiento es lento, la identificación es sobre todo morfológico-bioquímica y manual, y las pruebas de sensibilidad, con tendencia a la normalización, tienen limitaciones técnicas e incompleta correlación *in vitro-in vivo*. El hemocultivo sólo permite recuperar algunos hongos, principalmente levaduriformes, y puede realizarse por sistemas convencionales siempre que un frasco sea aerobio y el volumen ≥ 10 ml, pero existen medios específicos para casos seleccionados y el método de lisis-centrifugación es más sensible para los hongos dimórficos, aunque es más caro, engorroso y contaminable. El hemocultivo da información certera del hongo circulante, pero falla por el volumen de sangre y defectos técnicos o por tratamientos previos, y es menos sensible para los hongos filamentosos.
- c) La detección de Ac, técnicamente posible para algunos hongos, no es una información excelente para el diagnóstico, si es caso para la evolución, y falla en los inmunodeprimidos con escasa respuesta inmunitaria. La detección de Ag es posible en *Candida*, *Cryptococcus* y *Aspergillus*. Para detectar mananos de *Candida* en sangre no existe una prueba de aceptación universal, con falsos negativos por la corta duración de la “mananemia” y falsos positivos por algún tratamiento y tipo de alimentación. La detección de Ag de criptococo en LCR y suero, por técnica de látex, es rápida, sencilla y específica, pero puede dar falsos positivos por *T. beigeli* y alguna situación clínica; por ELISA, en sangre y orina, es más específico pero más lento. Para *A. fumigatus* y *A. flavus* se pueden detectar los galacto-

mananos de la pared celular en suero, LBA y otros líquidos y tejidos. Actualmente se hace por ELISA, con límites de detección de 0,5-1 ng/ml en suero; se recomienda hacerlo de manera seriada en enfermos seleccionados en periodos críticos. La técnica es sensible, específica, de detección precoz, correlación cuantitativa y útil también para valorar la respuesta al tratamiento. Puede dar falsos positivos relacionados con la alimentación y tratamientos antifúngicos.

- d) La detección de componentes no inmunogénicos, como el D-arabinitol para *Candida*, o el 1-3- β -D-glucano para *Candida*, *Aspergillus* y *P. carinii*, en fase de desarrollo, son por ahora de utilidad marginal.
- e) A las técnicas de detección de ácidos nucleicos, de secuencias altamente conservadas en los hongos o muy específicas, cada vez más extendidas, les falta estandarización, cuantificación y posición concreta en la clínica, pero son de gran utilidad epidemiológica.

Las técnicas microbiológicas más convencionales tienen limitaciones por la muestra, los métodos, el tiempo, los contaminantes y la correlación *in vitro-in vivo*. La detección de Ag, Ac y componentes no inmunogénicos está en fase de adaptación, siendo los más útiles los de Ag de *Cryptococcus* y *Aspergillus*; y la de ácidos nucleicos, en fase prometedora. El diagnóstico micológico de las infecciones fúngicas invasoras debe ser técnicamente combinado, individualizando cada muestra-enfermo. A pesar del esfuerzo por mejorar el diagnóstico micológico en calidad, seguridad y rapidez, lo más importante es su interpretación en el contexto clínico, lo cual requiere un ejercicio constante y fluido de comunicación.

Ponencia

Correlación de las pruebas *in vitro* y la eficacia *in vivo*. ¿Se mantiene en todos los antifúngicos?

M. Gobernado

Servicio de Microbiología, Hospital Universitario La Fe, Valencia

A la hora de tratar las micosis graves se plantean varios problemas; por un lado, el disponer de pocos fármacos antifúngicos, y por otro la aparición de cepas resistentes, y relacionado con esto la falta de criterios universales que correlacionen la actividad *in vitro* de los fármacos con la respuesta *in vivo*.

De las pruebas de sensibilidad *in vitro* debemos esperar poder medir la actividad intrínseca de los antifúngicos, detectar poblaciones resistentes, conocer la acción de nuevos agentes antifúngicos y, lo que es más importante, predecir la respuesta en las enfermedades infecciosas fúngicas, estableciendo lo mejor posible la correlación de los resultados *in vitro* y la evolución clínica del enfermo. Para establecer esa relación hay que considerar más factores que el par anti-biótico-hongo. La evolución clínica de una infección se ve afectada por condicionantes importantes: la especie del hongo, su virulencia y poder patógeno, poder invasor y focalidad; la inmunidad y defensas del huésped; pautas y dosis del antifúngico, su farmacocinética, interacciones medicamentosas, cumplimiento por parte del enfermo con el tratamiento prescrito y el tratamiento adecuado del foco de infección, junto con otras medidas no antifúngicas directas.

Los estudios de correlación *in vitro-in vivo* se pueden realizar utilizando modelos animales o en humanos. Los modelos experimentales con animales son más homogéneos y controlables, pero es difícil extrapolar las conclusiones al ser humano. En el hombre infectado se pueden estudiar las localizaciones mucocutáneas, menos graves y más homogéneas, o las profundas, más graves, complejas y con parámetros más difíciles de controlar. En estos estudios hay que tener en cuenta que la CMI no es una medida absoluta, pues depende del tipo de prueba, el tamaño del inóculo, el tiempo de incubación y la definición de la lectura de resultados, y que son determinantes los factores del huésped, así como las maniobras terapéuticas asociadas o las interacciones con otros medicamentos. La sensibilidad *in vitro* no predice necesariamente éxito *in vivo*, al estar tan condicionado, pero probablemente la resistencia *in vitro* sí conduce al fracaso terapéutico al ser este hecho una causa importante de patogenicidad, sobre todo en el enfermo con defensas disminuidas. La estandarización de las pruebas de sensibilidad *in vitro*, como proponen los documentos M27-A y M38-A del NCCLS americano, para levaduras y hongos filamentosos, junto con los estudios de farmacodinamia que relacionan CMI, CMF, C_{max} , AUC, AUC/CMI, están ayudando en la interpretación de la correlación *in vitro-in vivo*.

Para la anfotericina B, al igual que con itraconazol, la información disponible sobre este tema para cualquier hongo es escasa. Para fluconazol, la respuesta clínica de los enfermos con candidiasis orofaríngea se correlaciona bien con la sensibilidad *in vitro*; sin embargo, existen pocos trabajos sobre lo que sucede con las candidemias o candidiasis profundas. La valoración de la 5-fluorocitosina es muy difícil porque casi nunca se administra sola y porque los puntos de corte de sensibilidad para ella se han derivado de modelos experimentales animales. Con caspofungina, la realidad clínica pide una revisión de las pruebas de sensibilidad *in vitro*.

En general, para las levaduras, en más de 40 artículos revisados se observa que la mayor parte de los datos disponibles se refieren a estudios de candidiasis orofaríngea en enfermos con sida, tratados con fluconazol, algunos de candidiasis sistémica, criptococosis, aspergilosis y coccidioidomicosis, con más variedad de antifúngicos, solos o asociados,

como amfotericina B, itraconazol, ketoconazol y clotrimoxazol; el método empleado ha sido en la mayoría de las ocasiones el M27 estándar, pero en algunos casos con variaciones en el medio de cultivo, el sistema de dilución, la manera de realizar la lectura y otras variantes. Sólo hay cuatro trabajos que taxativamente no encuentran una correlación *in vitro-in vivo*, mientras que en los restantes la tendencia es que a mayor CMI peor respuesta clínica, y que esto es más predecible en los enfermos con candidiasis orofaríngea infectados por el VIH.

Es necesario seguir haciendo más estudios, sobre todo en las infecciones sistémicas por hongos filamentosos oportunistas, en los que además de valorar la sensibilidad del hongo se controlen los distintos parámetros que afectan a la evolución clínica. Y mejorar las técnicas disponibles en el laboratorio para los estudios *in vitro*, sin olvidar que la perfecta identificación de los hongos, al tener patogenicidad diferente, es un factor determinante en la evolución de la enfermedad.

Ponencia

Particularidades en la interpretación de los resultados *in vitro* de caspofungina. ¿Es necesario un nuevo estándar para este antifúngico?

A. Espinel-Ingroff

Medical College of Virginia Commonwealth University, Division of Infectious Diseases,
Medical Mycology Research Laboratory, Richmond, Virginia, USA

Aunque las micosis causadas por hongos filamentosos no son tan frecuentes como las producidas por levaduras, estas infecciones han aumentado últimamente, en especial en el huésped inmunodeprimido. En los últimos años se ha documentado resistencia *in vitro* e *in vivo* a los antifúngicos disponibles. Recientemente se han aprobado dos antifúngicos para el tratamiento primario de la aspergilosis y otras micosis sistémicas producidas por hongos filamentosos (voriconazol) y para las aspergilosis refractarias y la candidemia (caspofungina). El mecanismo de acción de la caspofungina es la inhibición del glucano de la pared celular del hongo. Aunque el NCCLS ha desarrollado pruebas estándar para la valoración *in vitro* de los hongos filamentosos con la amfotericina B y los triazoles (documento M38-A), y de las levaduras (M27-A2), los parámetros para estudiar los azoles y los polienos tal vez no sean adecuados para el estudio de las equinocandinas. En infecciones experimentales, la caspofungina ha sido eficaz en el tratamiento de la aspergilosis sistémica, pero esta actividad *in vivo* no correlaciona con el resultado *in vitro* si se mide por la CMI basándose en la inhibición del crecimiento fúngico $\geq 50\%$, debido a que la caspofungina y otras equinocandinas presentan el mismo fenómeno *trailing* (crecimiento a concentraciones superiores a la CMI) que se observa con los triazoles en las levaduras, especialmente *Candida albicans* y *C. tropicalis*, sobre todo con fluconazol. Una alternativa es valorar la actividad *in vitro* de las equinocandinas sobre los hongos filamentosos considerando el cambio morfológico del crecimiento del hongo en presencia del antifúngico, la concentración mínima efectiva (CME), en lugar del porcentaje de inhibición del crecimiento (CMI). Para las levaduras, sin embargo, la CMI de la caspofungina representa en la mayoría de los casos una inhibición del crecimiento del 95% al 100% (o ausencia de *trailing*). Además, se ha demostrado que este antifúngico tiene actividad fungicida sobre algunas especies o cepas de levaduras. A pesar de que se han examinado distintos parámetros a los descritos en los documentos del NCCLS para valorar la actividad de la caspofungina y otras equinocandinas, la utilidad clínica de estos resultados *in vitro* (CMI, CME, o CMF) no ha sido establecida cuando se han correlacionado con los datos de los ensayos clínicos. El dilema de las pruebas *in vitro* de la caspofungina será la base de esta presentación.

Papel de la caspofungina en la práctica clínica

J. Mensa

Instituto Clínico de Infecciones e Inmunología, Hospital Clínico, Barcelona

Las equinocandinas (caspofungina), a semejanza de los polienos (amfotericina B), tienen actividad fungicida dependiente de la concentración y efecto postantifúngico prolongado frente a especies de *Candida* y de *Aspergillus*. En consecuencia, para ambas familias de antifúngicos, el parámetro farmacodinámico que mejor se correlaciona con la eficacia clínica es el valor del cociente pico sérico/CMI, conocido como cociente inhibitorio (CI). En modelos de infección fúngica en el animal se ha obtenido el máximo efecto fungicida con un valor de CI en torno a 10 (Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 1179-1186). La CMI₉₀ de caspofungina y de amfotericina B desoxicolato frente a especies de *Candida* y *Aspergillus* es de 1-2 mg/l, y la concentración sérica obtenida con dosis múltiples de 50 mg/día de caspofungina o de 0,8-1 mg/kg/día de amfotericina B desoxicolato es de 12-16 mg/l y 1,5-2 mg/l, respectivamente. En consecuencia, el CI es más favorable para caspofungina (entre 4 y 8 veces superior al de amfotericina B). La elevada concentración sérica de la amfotericina liposomal no mejora sensiblemente este parámetro, porque la CMI frente a *Candida* spp. supera en más de 8 veces a la del desoxicolato.

La experiencia clínica publicada hasta la fecha demuestra que caspofungina es igual o superior a amfotericina B desoxicolato en el tratamiento de la candidiasis orofaríngea (Clin Infect Dis 2001; 33: 1529-1535; Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 451-457) y esofágica, y especialmente en el tratamiento de la candidiasis invasora (N Engl J Med 2002; 347: 2020-2029). Así mismo, cerca del 50% de los casos de aspergilosis invasora refractaria al tratamiento con amfotericina B responden a la caspofungina.

Las principales indicaciones clínicas de empleo de un antifúngico son el tratamiento empírico de la fiebre que no responde a la antibioticoterapia en el paciente neutropénico y el tratamiento de la infección invasora por *Candida* o por *Aspergillus*. La fiebre que no responde al tratamiento antibiótico en el paciente neutropénico es una indicación bien establecida de empleo de amfotericina B. En esta situación, la probabilidad de infección fúngica es de aproximadamente el 10%. En caso de que el paciente esté recibiendo profilaxis con fluconazol o se halle hospitalizado en una habitación con aire filtrado, el riesgo de infección fúngica es sensiblemente menor. En estas circunstancias, es necesario valorar cuidadosamente la tolerabilidad y la potencial toxicidad del tratamiento antifúngico empírico elegido.

Caspofungina puede ser una mejor alternativa terapéutica que amfotericina B puesto que la nefrotoxicidad de ésta (incluyendo las formulaciones lipídicas), definida por un aumento del doble del valor de la creatinina basal, es en el mejor de los casos superior al 10%. Próximamente se dispondrá de los resultados de un ensayo clínico aleatorizado y doble ciego en el que caspofungina se ha comparado con amfotericina B liposomal en el tratamiento antifúngico empírico del paciente neutropénico febril.

La identificación de una levadura en el hemocultivo o en otro líquido estéril de un paciente séptico es indicación de tratamiento antifúngico con fluconazol. Sin embargo, existen dos situaciones en que debe darse prioridad a la caspofungina, hasta disponer de la identificación de especie de la más que probable *Candida*. Se trata del paciente que ha recibido tratamiento previo con fluconazol o lo está recibiendo como pauta de profilaxis, y del paciente que cumple criterios

de sepsis grave. En ambos casos es prudente sustituir el fluconazol por caspofungina, al menos durante las primeras 48 horas, en espera de conocer la especie de *Candida* y el antifungograma.

El antifúngico de elección para el tratamiento de la infección invasora por *Aspergillus* spp. es voriconazol (N Engl J Med 2002; 347: 408-415). Cuando la infección pulmonar cursa con insuficiencia respiratoria o con afección extensa o cavitada de más de un lóbulo, se extiende al sistema nervioso central o se desarrolla en un paciente receptor de un trasplante de progenitores hematopoyéticos, la mortalidad es superior al 80%. En estos casos el tratamiento inicial debe incluir la asociación, potencialmente sinérgica, de caspofungina con voriconazol o con una formulación lipídica de amfotericina B.