

Valle Otero
Lidia García-Agudo
Inmaculada Guerrero
Pilar Aznar
Pedro García-Martos
Manuel Rodríguez-Iglesias

Sensibilidad a antifúngicos de especies de *Scopulariopsis* de origen clínico

Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Puerta del Mar, Cádiz

RESUMEN

Introducción. *Scopulariopsis* es un hongo saprofito del suelo. En los últimos años se ha incrementado el número y diversidad de las infecciones causadas por este hongo, incluyendo micosis superficiales e invasoras, y se ha descrito resistencia *in vitro* a antifúngicos, aunque existe escasa información al respecto. Nuestro objetivo fue establecer la sensibilidad *in vitro* de especies de origen clínico frente a un amplio número de antifúngicos.

Material y métodos. Veintiocho cepas de *Scopulariopsis* (10 *S. brevicaulis*, 7 *S. koningii*, 3 *S. acremonium*, 3 *S. candida*, 3 *S. flava*, 1 *S. brumptii* y 1 *S. fusca*) fueron ensayadas mediante el método Sensititre YeastOne y el de microdilución en caldo, para determinar las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) frente a anfotericina B, fluconazol, itraconazol, posaconazol, voriconazol y 5-fluorocitosina, y las concentraciones mínimas efectivas (CME) frente a anidulafungina, caspofungina y micafungina.

Resultados. Nuestros datos confirman la alta resistencia *in vitro* a los antifúngicos de *Scopulariopsis*. Anidulafungina, caspofungina, micafungina (CMI ≥ 8 mg/L), 5-fluorocitosina (CMI ≥ 64 mg/L) y fluconazol (CMI ≥ 128 mg/L) fueron inactivas para todas las especies. Las CMI para anfotericina B (rango 2 a ≥ 8 mg/L) e itraconazol (0,5 a ≥ 16 mg/L) fueron altas. La mejor actividad se observó para posaconazol y voriconazol (0,5 a ≥ 8 mg/L). Con el método Sensititre YeastOne se obtuvieron CMI ligeramente inferiores. *Scopulariopsis candida*, *S. flava* y *S. fusca*, fueron las especies más resistentes; *S. acremonium* y *S. brevicaulis* las de CMI más bajas.

Conclusiones. Las CMI de todos los antifúngicos ensayados fueron elevadas para *Scopulariopsis*, lo que demuestra que las infecciones causadas por especies de *Scopulariopsis* podrían no responder al tratamiento. En infecciones graves, voriconazol sería una buena elección para el tratamiento, asociado a anfotericina B.

Palabras clave: *Scopulariopsis*. Antifúngicos. Hongos filamentosos. Voriconazol. Sensititre YeastOne.

Antifungal susceptibility of clinical isolates of *Scopulariopsis* species

ABSTRACT

Introduction. *Scopulariopsis* is a common soil saprophyte. In the last years the infections caused by *Scopulariopsis* species have increased, included superficial and invasive mycoses. This fungi has been reported resistant *in vitro* to some antifungal agents, although there is little information about this. The aim of the study was to establish *in vitro* antifungal susceptibility of clinical isolates of *Scopulariopsis* species against to broad-spectrum antifungal agents.

Methods. A total of 28 *Scopulariopsis* strains (10 *S. brevicaulis*, 7 *S. koningii*, 3 *S. acremonium*, 3 *S. candida*, 3 *S. flava*, 1 *S. brumptii* and 1 *S. fusca*) were tested using Sensititre YeastOne and broth microdilution methods to determine the minimum inhibitory concentrations (MICs) to amphotericin B, fluconazole, itraconazole, posaconazole, voriconazole and 5-fluorocytosine, and minimum effective concentration (MECs) to anidulafungin, caspofungin and micafungin.

Results. Our data confirm the high *in vitro* resistance of *Scopulariopsis* to antifungal agents. Anidulafungin, caspofungin, micafungin (MICs ≥ 8 mg/L), 5-fluorocytosine (MICs ≥ 64 mg/L), and fluconazole (MICs ≥ 128 mg/L) were inactive *in vitro* in all species. MICs of amphotericin B (range 2 to ≥ 8 mg/L) and itraconazole (0.5 to ≥ 16 mg/L) were high. The best antifungal activity was observed for posaconazole and voriconazole (0.5 to ≥ 8 mg/L). With Sensititre YeastOne method MICs obtained slightly lower. *Scopulariopsis candida*, *S. flava* and *S. fusca* were the most resistant species, while *S. acremonium* and *S. brevicaulis* showed the lowest MICs.

Conclusions. MICs of all tested antifungal agents for *Scopulariopsis* were very high. Infections caused by *Scopulariopsis* species may not respond to antifungal treatment. Voriconazole is the drug of choice for treatment. We consider it appropriate to add amphotericin B in serious infections.

Correspondencia:
Dr. Pedro García-Martos
Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Puerta del Mar.
Avda. Andalucía, 61-3ªA
11007 Cádiz (Spain)
E-mail: pedromartos@hotmail.com

Key words: *Scopulariopsis*. Antifungal agents. Filamentous fungi. Voriconazole. Sensititre YeastOne.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha observado un incremento de infecciones por hongos filamentosos poco habituales cuya sensibilidad a antifúngicos es variable y puede constituir un problema a la hora de instaurar una terapia empírica. El género *Scopulariopsis* se incluye en este grupo de hongos resistentes a un amplio número de antifúngicos^{1,2}. Se trata de hongos hifomicetos saprofitos del suelo, aislados con frecuencia de alimentos y una gran variedad de sustratos. Se conocen 11 especies de *Scopulariopsis*: *S. acremonium*, *S. candida* (anamorfo de *Microascus manginii*), *S. brevicaulis*, *S. cinereus* (anamorfo de *Microascus cinereus*), *S. asperula*, *S. brumptii*, *S. flava*, *S. fusca*, *S. koningii*, *S. paisii* (anamorfo de *Microascus cirrosus*) y *S. trigonospora* (anamorfo de *Microascus trigonosporus*)³. La mayoría de estas especies, sobre todo *S. brevicaulis*, se asocian con frecuencia con onicomiosis^{4,5}, y algunas se han implicado en lesiones dérmicas⁶⁻⁸, queratitis^{9,10}, sinusitis invasora^{11,12}, neumonía^{13,14}, endoftalmítis¹⁵, absceso cerebral^{16,17}, meningitis¹⁸, endocarditis¹⁹ e infección invasora en pacientes con enfermedades graves y factores predisponentes, como trasplante, inmunodepresión, administración de corticosteroides, diálisis peritoneal y cirugía²⁰⁻²⁴.

El tratamiento de las infecciones producidas por *Scopulariopsis* es complicado, dado el alto nivel de resistencia que presentan la mayoría de las especies. Algunos autores han descrito que *S. brevicaulis* es resistente *in vitro* a anfotericina B, fluorocitosina y azoles^{1,2}, pero apenas existen estudios sobre la sensibilidad de especies de *Scopulariopsis* a los antifúngicos.

El objetivo de nuestro trabajo ha sido determinar la sensibilidad de varias especies de *Scopulariopsis* a los antifúngicos de uso habitual, mediante el método comercial Sensititre YeastOne y el método de microdilución en caldo, con el fin de establecer con más precisión el perfil de resistencia de especies de este género diferentes de *S. brevicaulis*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron un total de 28 cepas del género *Scopulariopsis* de origen clínico, productoras de onicomiosis, pertenecientes a 7 especies (10 *S. brevicaulis*, 7 *S. koningii*, 3 *S. acremonium*, 3 *S. candida*, 3 *S. flava*, 1 *S. brumptii* y 1 *S. fusca*). La identificación de las cepas se llevó a cabo mediante el estudio de las características macro y microscópicas de las colonias crecidas en agar de Sabouraud. Se determinó la sensibilidad de estas cepas frente a anfotericina B, fluconazol, itraconazol, posaconazol, voriconazol, 5-fluorocitosina, caspofungina, micafungina y anidulafungina, mediante el método Sensititre YeastOne® (Trek Diagnostics System, UK), el cual ha demostrado su utilidad y concordancia con el M38-A2 propuesto por el CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) para la determinación de la sensibilidad a los antifúngicos de hongos

filamentosos^{25,26}. Este método consiste en una microplaca que contiene los antifúngicos a diluciones crecientes, con un indicador de crecimiento de óxido-reducción (colorante Alamar Blue) que facilita la lectura de los puntos finales por un cambio de color, de azul (negativo) a rojo (positivo).

Paralelamente se ensayó la sensibilidad de las cepas mediante el método de microdilución en caldo propuesto por el CLSI en el documento M38-A2²⁷. Los antifúngicos fueron diluidos en dimetil sulfoxido o agua destilada estéril según su solubilidad, preparando una solución madre de 1280 mg/L, a partir de la cual se obtuvieron las concentraciones finales desde 128 mg/L hasta 0,125 mg/L, utilizando como diluyente RPMI 1640 suplementado con glucosa al 2%.

El inóculo se preparó tras cultivo de las cepas en agar de Sabouraud durante siete días a 30°C. La superficie del agar fue inundada con 1 ml de solución salina estéril conteniendo un 0,05% de tween 80 y frotada suavemente con un escobillón para obtener una suspensión de conidios en 5 ml de agua destilada estéril. Esta suspensión se filtró a través de gasa estéril de cuatro dobleces para eliminar las hifas acompañantes, y se diluyó para ajustar la concentración del inóculo en un espectrofotómetro a 530 nm hasta obtener una transmitancia del 80% al 82%, equivalente a una concentración de 4×10^5 a 5×10^6 conidios/ml. A partir de esta suspensión se efectuó una dilución en caldo RPMI 1640 tamponado con MOPS a pH 7 hasta alcanzar un inóculo final de $0,4-5 \times 10^4$ conidios/ml. La inoculación de los pocillos de la placa se efectuó con 100 μ l de esta suspensión. Las placas se incubaron a 35°C durante 72 horas, antes de realizar la lectura definitiva. Todas las pruebas se realizaron por duplicado para evitar errores de técnica. Como CMI (concentración mínima inhibitoria) se consideró la concentración más baja que produjo inhibición del crecimiento. Para equinocandinas se consideró la CME (concentración mínima efectiva), menor concentración que causa cambios estructurales en el hongo, equivalente a la llamada CMI-2 (50% de inhibición del crecimiento)²⁸.

Incorporamos en el estudio una cepa de *Aspergillus flavus* ATCC 204304 y otra de *Aspergillus fumigatus* ATCC 204305, como cepas control.

RESULTADOS

Fluconazol (≥ 128 mg/L) y 5-fluorocitosina (≥ 64 mg/L) presentaron CMIs muy elevadas para todas las especies de *Scopulariopsis* en los dos métodos de sensibilidad ensayados. Igualmente, todas las equinocandinas (caspofungina, micafungina y anidulafungina) mostraron CMEs de ≥ 8 mg/L en ambos métodos. Con el resto de antifúngicos se obtuvieron CMIs comprendidas entre 1 y ≥ 8 mg/L para anfotericina B; 0,5 y ≥ 16 mg/L para itraconazol; y 0,5 y ≥ 8 mg/L para posaconazol y voriconazol. En la tabla 1 se reflejan las CMIs de anfotericina B, itraconazol, posaconazol y voriconazol, obtenidas con los dos métodos de sensibilidad ensayados para las diferentes especies de *Scopulariopsis*. Con el método Sensititre YeastOne las CMIs son ligeramente inferiores a las del método de microdilución en caldo.

Tabla 1 Distribución de 28 cepas de especies de *Scopulariopsis* según su sensibilidad a anfotericina B, itraconazol, posaconazol y voriconazol, por el método Sensititre YeastOne y el método de microdilución en caldo (CLSI).

Especie (n)	Antifúngicos	Distribución según sensibilidad (CMI mg/L)					
		Rango	Sensititre YeastOne / Microdilución en caldo				
			0,5	1	2	4	≥8
<i>S. brevicaulis</i> (10)	Anfotericina B	1 - ≥8	1/-	5/3	1/3	3/4	
	Itraconazol	1 - ≥16	1/-	1/3	6/2	2/1	-/4
	Posaconazol	1 - 4	1/-	5/6	4/3	-/1	
	Voriconazol	1 - ≥8	2/-	6/-	2/7	-/3	
<i>C. koningii</i> (7)	Anfotericina B	2 - ≥8	1/-	1/1	3/2	3/4	
	Itraconazol	0,5 - ≥16	-/-	-/1	-/-	-/-	6/6
	Posaconazol	1 - ≥8	1/-	-/1	-/-	6/6	
	Voriconazol	0,5 - ≥8	1/-	-/-	-/-	5/6	
<i>S. acremonium</i> (3)	Anfotericina B	1 - 2	1/-	2/2			
	Itraconazol	2 - 8	1/-	1/1	2/-	-/2	
	Posaconazol	0,5 - 2	2/3				
	Voriconazol	1 - 2	3/-	-/3			
<i>S. candida</i> (3)	Anfotericina B	2 - 4		1/-	2/3		
	Itraconazol	≥16					3/3
	Posaconazol	≥8					3/3
	Voriconazol	4 - ≥8			1/1	2/2	
<i>S. flava</i> (3)	Anfotericina B	4 - ≥8			1/1	2/2	
	Itraconazol	≥16					3/3
	Posaconazol	4 - ≥8			1/1	2/2	
	Voriconazol	2 - ≥8		1/-	-/1	2/2	
<i>S. brumptii</i> (1)	Anfotericina B	≥8				1/1	
	Itraconazol	≥16					1/1
	Posaconazol	4		1/-	-/1		
	Voriconazol	4		1/-	-/1		
<i>S. fusca</i> (1)	Anfotericina B	≥8				1/1	
	Itraconazol	≥16					1/1
	Posaconazol	≥8				1/1	
	Voriconazol	≥8				1/1	

En general, estos antifúngicos mostraron CMIs más elevadas para *S. candida*, *S. flava* y *S. fusca*, mientras que las CMIs de anfotericina B, posaconazol y voriconazol fueron más moderadas para *S. acremonium* y *S. brevicaulis*.

DISCUSIÓN

En las infecciones por especies de *Scopulariopsis* existe poca experiencia sobre la efectividad de los antifúngicos y no están bien definidas las pautas de tratamiento. La mayoría de los casos han sido tratados con anfotericina B, aunque su efec-

tividad es cuestionable^{1,9,28,30-32}. Algunos autores aseguran que la cirugía asociada a combinaciones de antifúngicos, particularmente anfotericina B y azoles, puede mejorar los resultados del tratamiento^{1,22,33}.

Existe escasa información sobre la actividad *in vitro* de muchos antifúngicos frente a *Scopulariopsis*. La mayoría de los datos publicados se refieren a la especie *S. brevicaulis* y describen una susceptibilidad moderada a anfotericina B y resistencia a itraconazol, fluconazol y 5-fluorocitosina, aunque los datos son contradictorios, debido probablemente a la variedad de métodos utilizados para determinar la sensibilidad^{1,2,11,25,32,34}. Si coinciden todas las publicaciones en que la sensibilidad de *Scopulariopsis* a los antifúngicos disponibles es reducida.

El método elegido por nosotros para determinar la sensibilidad a antifúngicos, Sensititre YeastOne, ha demostrado ser de utilidad para hongos filamentosos, a pesar de que las pruebas de sensibilidad para estos hongos son controvertidas y los resultados *in vitro* pueden no concordar con la respuesta clínica. Su correlación con el método de microdilución en caldo recomendado por el CLSI es satisfactoria. Los resultados obtenidos en nuestro estudio con este método muestran CMIs ligeramente inferiores a las del método de referencia pero coinciden con los publicados por los pocos autores que han realizado estudios de sensibilidad en especies de *Scopulariopsis*. Estos resultados confirman que las equinocandinas, 5-fluorocitosina y fluconazol son ineficaces para *Scopulariopsis*; anfotericina B e itraconazol muestran alguna actividad frente a determinadas especies, mientras que posaconazol y voriconazol son eficaces frente a un número mayor de especies. Aunque nosotros no hemos ensayado la actividad de terbinafina, es eficaz frente a *S. brevicaulis*^{2,25} según algunos autores, y otros opinan lo contrario^{22,33,35}.

Podemos concluir que las diferentes especies del género *Scopulariopsis* muestran resistencia frente a los antifúngicos de uso habitual en el tratamiento de la infecciones por hongos filamentosos oportunistas; solamente posaconazol y voriconazol parecen ser una buena elección para el tratamiento, asociados a anfotericina B en infecciones graves.

FINANCIACIÓN

Los autores no han recibido financiación por parte de organismos públicos ni privados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilar C, Pujol I, Guarro J. In vitro antifungal susceptibilities of *Scopulariopsis* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:1520-2.
2. Cuenca-Estrella M, Gómez-López A, Mellado E, Buitrago MJ, Monzón A, Rodríguez-Tudela JL. *Scopulariopsis brevicaulis*, a fungal pathogen resistant to broad-spectrum antifungal agents. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:2339-41.
3. De Hoog GS, Guarro J, Gené J, Figueras MJ. Atlas of clinical fungi, Electronic version 3.1. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands, and the Rovira i Virgili University, Reus, Spain. 2011.
4. García-Martos P, Domínguez I, Marín P, Linares M, Mira J, Calap J. Onicomicosis por hongos filamentosos no dermatofitos en Cádiz. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2000;18:319-24.
5. Gupta M, Sharma NL, Kanga AK, Mahajan VK, Tegta GR. Onychomycosis: Clinico-mycologic study of 130 patients from Himachal Pradesh, India. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2007;73:389-92.
6. Oh BJ, Chae MJ, Cho D, Kee SJ, Shin MG, Shin JH, et al. Infection with *Scopulariopsis brevicaulis* after cosmetic surgery of the face. *Korean J Lab Med* 2006;26:32-5.
7. Wu CY, Lee CH, Lin HL, Wu CS. Cutaneous granulomatous infection caused by *Scopulariopsis brevicaulis*. *Acta Derm Venereol* 2009;89:103-4.
8. Petanović M, Tomić Paradzik M, Kristof Z, Cvitković A, Topolovac Z. *Scopulariopsis brevicaulis* as the cause of dermatomycosis. *Acta Dermatovenereol Croat* 2010;18:8-13.
9. Lotery AJ, Kerr JR, Page BA. Fungal keratitis caused by *Scopulariopsis brevicaulis*: successful treatment with topical amphotericin B and chloramphenicol without the need for surgical debridement. *Br J Ophthalmol* 1994;78:730.
10. Malecha MA. Fungal keratitis caused by *Scopulariopsis brevicaulis* treated successfully with natamycin. *Cornea* 2004;23:201-3.
11. Gluck O, Segal N, Yariv F, Polachek I, Puterman M, Greenberg D, et al. Pediatric invasive sinonasal *Scopulariopsis brevicaulis*--a case report and literature review. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2011;75:891-3.
12. Beltrame A, Sarmati L, Cudillo L, Cerretti R, Picardi A, Anemona L, et al. A fatal case of invasive fungal sinusitis by *Scopulariopsis acremonium* in a bone marrow transplant recipient. *Int J Infect Dis* 2009;13:488-92.
13. Mohammedi I, Piens MA, Audigier-Valette C, Gantier JC, Argaud L, Martin O, et al. Fatal *Microascus trigonosporus* (anamorph *Scopulariopsis*) pneumonia in a bone marrow transplant recipient. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004;23:215-7.
14. Yang Q, Wei J, Chen Z. Fatal bronchial invasion of *Scopulariopsis brevicaulis* in an acute monocytic leukemia patient. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012;73:369-71.
15. Mondal KK, Chattopadhyay C, Ray B, Das D, Biswas S, Banerjee P. Corneal ulcer with *Scopulariopsis brevicaulis* and *Staphylococcus aureus*. A rare case report. *J Indian Med Assoc* 2012;110:253-4.
16. Baddley JW, Moser SA, Sutton DA, Pappas PG. *Microascus cinereus* (Anamorph *Scopulariopsis*) brain abscess in a bone marrow transplant recipient. *J Clin Microbiol* 2000;38:395-7.
17. Hart AP, Sutton DA, McFeeley PJ, Kornfeld M. Cerebral phaeohyphomycosis caused by a dematiaceous *Scopulariopsis* species. *Clin Neuropathol* 2001;20:224-8.
18. Nwabuisi C, Salami AK, Abdullahi NA, Agbede OO. *Scopulariopsis* associated meningitis in adult Nigerian AIDS patient--a case report. *West Afr J Med* 2003;22:364-5.
19. Célard M, Dannaoui E, Piens MA, Guého E, Kirkorian G, Greenland T, et al. Early *Microascus cinereus* endocarditis of a prosthetic valve implanted after *Staphylococcus aureus* endocarditis of the native valve. *Clin Infect Dis* 1999;29:691-2.
20. Wuyts WA, Molzahn H, Maertens J, Verbeke EK, Lagrou K, Dupont LJ, et al. Fatal *Scopulariopsis* infection in a lung transplant recipient: a case report. *J Heart Lung Transplant* 2005;24:2301-4.
21. Ng KP, Soo-Hoo TS, Na SL, Gan GG, Sangkar JV, Teh AK. *Scopulariopsis brevicaulis* infection in a patient with acute myeloid leukemia. *Med J Malaysia* 2003;58:608-12.
22. Vignon M, Michonneau D, Baixench MT, Al-Nawakil C, Bouscary D, Buzyn A, et al. Disseminated *Scopulariopsis brevicaulis* infection in an allogeneic stem cell recipient. *Bone Marrow Transplant* 2011;46:1276-7.
23. Salmon A, Debourgogne A, Vasbien M, Clément L, Collomb J, Plénat F, et al. Disseminated *Scopulariopsis brevicaulis* infection in an allogeneic stem cell recipient: case report and review of the literature. *Clin Microbiol Infect* 2010;16:508-12.
24. Iwen PC, Schutte SD, Florescu DF, Noel-Hurst RK, Sigler L. Invasive *Scopulariopsis brevicaulis* infection in an immunocompromised patient and review of prior cases caused by *Scopulariopsis* and *Microascus* species. *Med Mycol* 2012;50:561-9.
25. Skóra M, Macura AB. In vitro antifungal susceptibility testing of *Scopulariopsis brevicaulis* strains using agar diffusion method. *Wiad Parazytol* 2011;57:111-6.
26. Carrillo-Muñoz AJ, Quindós G, Ruesga M, Del Valle O, Pemán J, Cantón E, et al. In Vitro antifungal susceptibility testing of filamentous fungi with Sensititre Yeast One. *Mycoses* 2009;49:293-7.
27. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungals susceptibility testing of conidium-forming filamentous fungi. Approved standard, 2nd ed. M38-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2008.
28. Pastor FJ, Guarro J. Actividad in vitro de las equinocandinas. ¿Cómo debe evaluarse? *Rev Iberoam Micol* 2005;22:133-40.
29. Chung WK, Sung H, Kim MN, Lee MW, Shin JH, Choi JH, et al. Treatment-resistant *Scopulariopsis brevicaulis* infection after filler injection. *Acta Derm Venereol* 2009;89:636-8.
30. Ragge NK, Dean Hart JC, Easty DI, Tyers AG. A case of fungal keratitis caused by *Scopulariopsis brevicaulis*: treatment with antifungal agents and penetrating keratoplasty. *Br J Ophthalmol* 1990;74:561-2.

31. Steinbach WJ, Schell WA, Miller JL, Perfect JR, Martin PL. Fatal *Scopulariopsis brevicaulis* infection in a paediatric stem-cell transplant patient treated with voriconazole and caspofungin and a review of *Scopulariopsis* infections in immunocompromised patients. *J Infect* 2004;48:112-6.
32. Carrillo-Muñoz AJ, Santos P, del Valle O, Casals JB, Quindós G. ¿Es activa la anfotericina B frente a hongos dermatofitos y *Scopulariopsis brevicaulis*?. *Rev Esp Quimioter* 2004;17:244-9.
33. Ginarte M, Pereiro M, Fernandez-Redondo V, Toribio J. Plantar infection by *Scopulariopsis brevicaulis*. *Dermatology* 1996;193:149-51.
34. Wildfeuer A, Seidl HP, 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;41:309-19.
35. Carrillo-Muñoz AJ, Giusiano G, Cárdenes D, Hernández-Molina JM, Eraso E, Quindós G, et al. Terbinafine susceptibility patterns for onychomycosis-causative dermatophytes and *Scopulariopsis brevicaulis*. *Int J Antimicrob Agents* 2008;31:540-3.