



Carta a los Directores

Sensibilidad *in vitro* de especies crípticas de *Aspergillus fumigatus* a isavuconazol, itraconazol y voriconazol mediante E-test



In vitro susceptibility of cryptic species of *Aspergillus fumigatus* to isavuconazole, itraconazole and voriconazole by means of E-test

Señores Directores:

En los últimos años, además de *Aspergillus fumigatus sensu stricto* como principal responsable de la aspergilosis invasora, otras especies crípticas del complejo *Aspergillus fumigatus sensu lato* (sección *Fumigati*) han sido las causantes de hasta el 3-6% de los casos^{1,2,8}. Estas especies poseen una patogenicidad menor que *A. fumigatus* debido a una menor termotolerancia y menor cantidad de micotoxinas⁶. Muestran normalmente una sensibilidad menor a los triazoles y otros antifúngicos, hecho que puede tener una gran trascendencia clínica por la posibilidad de dar lugar a aspergilosis refractarias⁸.

El isavuconazol es un triazol de segunda generación indicado en la aspergilosis invasora, la mucormicosis y las infecciones por hongos dimórficos y otras levaduras, además de aquellas producidas por *Candida*¹⁰. No obstante, los mucorales presentan *in vitro* valores más altos de concentración mínima inhibitoria (CMI) frente a este antifúngico⁵. En comparación con el voriconazol, el isavuconazol no se muestra menos eficaz y tiene una farmacocinética favorable y predecible sin necesidad de monitorizar la concentración terapéutica ni de ajustar la dosis⁹.

Presentamos un estudio de sensibilidad *in vitro* en 25 aislamientos de especies crípticas de *A. fumigatus* frente a isavuconazol, voriconazol e itraconazol mediante el método de difusión en gradiente. Las cepas, aisladas de muestras clínicas, proceden del Centro Nacional de Microbiología-Instituto de Salud Carlos III (Majadahonda, Madrid). Se utilizó una cepa ATCC (*Aspergillus fumigatus* KM 8001) como control de calidad. Las especies incluidas (tabla 1) fueron identificadas mediante secuenciación del gen de la beta-tubulina y MALDI-TOF. Posteriormente, según instrucciones del fabricante, se realizó el estudio de difusión mediante las tiras en gradiente del itraconazol, el voriconazol y el isavuconazol en placas de agar RPMI (de 20 × 140 mm) incubadas a 37 °C durante 24 h.

Se obtuvieron valores de CMI muy homogéneos y por debajo del punto de corte epidemiológico (ECV) para los tres triazoles ($\leq 1 \mu\text{g/ml}$)³ (tabla 1), sugestivo de aislamientos *wild-type* (sin probables mutaciones). Solo hubo dos cepas de *A. novofumigatus* que mostraron unos valores de CMI ligeramente más altos. Las CMI₅₀ y CMI₉₀ frente al isavuconazol coincidieron con aquellas frente al voriconazol (0,12 y 0,25 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente). Sin embargo, el rango de valores de CMI (y la media geométrica) frente al isavuconazol fue ligeramente menor (0,006-0,5

Tabla 1

Sensibilidad *in vitro* obtenida en algunos aislamientos de especies crípticas de *Aspergillus fumigatus*

Aislamiento	Especie críptica	CMI ($\mu\text{g/ml}$)		
		IVU	VZ	IZ
CM5085	<i>Neosartorya pseudofischeri</i>	0,06	0,06	0,016
CM5655	<i>Aspergillus fumigati</i> affinis	0,012	0,12	0,03
CM6098	<i>Aspergillus novofumigatus</i>	0,5	1	1,5
CM5793	<i>Aspergillus hirsutiae</i>	0,006	0,012	0,012
CM6083	<i>Aspergillus viridimutans</i>	0,25	0,12	0,5
CM4555	<i>Neosartorya glabra</i>	0,03	0,12	0,12
CM3769	<i>Aspergillus pseudofischeri</i>	0,06	0,06	0,12
CM3740	<i>Aspergillus hirsutiae</i>	0,016	0,03	0,03
CM5827	<i>Aspergillus udagawae</i>	0,06	0,06	0,25
CM5416	<i>Aspergillus viridimutans</i>	0,06	0,06	0,12
CM3147	<i>Aspergillus viridimutans</i>	0,25	0,25	0,25
CM6976	<i>Aspergillus fumigati</i> affinis	0,06	0,06	0,12
CM6069	<i>Aspergillus lentulus</i>	0,25	0,25	0,5
CM3673	<i>Aspergillus hirsutiae</i>	0,06	0,06	0,12
CM6623	<i>Aspergillus fumigati</i> affinis	0,03	0,12	0,12
CM1290	<i>Aspergillus lentulus</i>	0,25	0,25	0,5
CM6098	<i>Aspergillus novofumigatus</i>	0,25	0,25	0,5
CM2270	<i>Neosartorya pseudofischeri</i>	0,25	0,25	0,5
CM6099	<i>Aspergillus novofumigatus</i>	0,25	0,5	1
CM5623	<i>Aspergillus viridimutans</i>	0,25	0,25	0,5
CM6457	<i>Aspergillus fumigati</i> affinis	0,12	0,12	0,25
CM4485	<i>Neosartorya fischeri</i>	0,12	0,12	0,5
CM6056	<i>Aspergillus udagawae</i>	0,12	0,25	0,5
FILPOP45	<i>Aspergillus lentulus</i>	0,12	0,12	0,25
FILPOP46	<i>Aspergillus lentulus</i>	0,12	0,12	0,25
Datos CMI ($\mu\text{g/ml}$)				
Rango CMI	0,006-0,5	0,012-1	0,012-1,5	
Media geométrica CMI	0,14	0,18	0,34	
CMI ₅₀	0,12	0,12	0,25	
CMI ₉₀	0,25	0,25	0,5	

CMI: concentración mínima de antifúngico que inhibe el crecimiento del aislamiento; CMI₅₀: concentración mínima de antifúngico que inhibe el crecimiento del 50% de los aislamientos; CMI₉₀: concentración mínima de antifúngico que inhibe el crecimiento del 90% de los aislamientos; IZ: itraconazol; IVU: isavuconazol; VZ: voriconazol.

y 0,14 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente) que aquellos para el voriconazol (0,012-1 y 0,18 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente). Los valores CMI₅₀ y CMI₉₀ (0,25 y 0,50 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente) con el itraconazol, así como el rango de CMI y la media geométrica (0,012-1,5 y 0,34 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente), fueron comparativamente más altos. Cabe destacar que con el itraconazol pueden obtenerse valores de CMI discrepantes con el método de microdilución en caldo (método de referencia). Los valores suelen ser más altos con el método de difusión en gradiente y pueden variar con el tiempo de incubación (24-48 h)⁴.

Según lo publicado en la literatura, el isavuconazol presenta una actividad similar a la del resto de los triazoles en especies de *A. fumigatus*, con una alta correlación además con el voriconazol; esta correlación es menor con el itraconazol y el posaconazol. Todo

ello es debido a la similitud de la estructura química del isavuconazol y el voriconazol, que difiere de la del posaconazol y el itraconazol. La correlación en la actividad se observa igualmente en cepas con una sensibilidad disminuida (valores de CMI por encima del ECV). Los aislamientos con valores de CMI altos a los triazoles muestran resistencia cruzada al isavuconazol debido a una mutación en el gen *cyp51A* (lanosterol desmetilasa)⁷. Como limitaciones del estudio caben destacar el bajo número de aislamientos estudiados y la ausencia de un estudio *in vivo* que permita encontrar correlaciones con el estudio *in vitro*, lo que ayudaría a recomendar un tratamiento en pacientes con aspergilosis invasora.

Concluimos que en este estudio *in vitro* preliminar el isavuconazol mostró una actividad similar a aquellas del itraconazol y el voriconazol en las especies crípticas de *A. fumigatus*, y presentó una alta correlación con el voriconazol, tal y como revelaron los dos aislamientos con los valores de CMI más elevados.

Bibliografía

1. Alastruey-Izquierdo A, Mellado E, Peláez T, Pemán J, Zapico S, Alvarez M, et al., FILPOP Study Group. Population-based survey of filamentous fungi and antifungal resistance in Spain (FILPOP study). *Antimicrob Agents and Chemother.* 2013;57:3380–7.
2. Escribano P, Peláez T, Muñoz P, Bouza E, Guinea J. Is azole resistance in *Aspergillus fumigatus* a problem in Spain? *Antimicrob Agents and Chemother.* 2013;57:2815–20.
3. Espinel-Ingroff A, Chowdhary A, Gonzalez GM, Lass-Flörl C, Martin-Mazuelos E, Meis J, et al. Multicenter study of isavuconazole MIC distributions and epidemiological cutoff values for *Aspergillus* spp. for the CLSI M38-A2 broth microdilution method. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57:3823–8.
4. Espinel-Ingroff A, Rezusta A. E-test method for testing susceptibilities of *Aspergillus* spp. to the new triazoles voriconazole and posaconazole and to established antifungal agents: Comparison with NCCLS broth microdilution method. *J Clin Microbiol.* 2002;40:2101–7.
5. European Medicines Agency (EMA). Cresemba: Summary of product characteristics. 2015.
6. Frisvad JC, Larsen TO. Exolites of *Aspergillus fumigatus* and other pathogenic species in *Aspergillus* section Fumigati. *Front Microbiol.* 2016;6:1485.
7. Gregson L, Goodwin J, Johnson A, McEntee L, Moore CB, Richardson M, et al. *In vitro* susceptibility of *Aspergillus fumigatus* to isavuconazole: Correlation with itraconazole, voriconazole, and posaconazole. *Antimicrob Agents and Chemother.* 2013;57:5778–80.
8. Lamoth F. *Aspergillus fumigatus*-related species in clinical practice. *Front Microbiol.* 2016;7:683.
9. Shirley M, Scott LJ. Isavuconazole: A review in invasive aspergillosis and mucormycosis. *Drugs.* 2016;76:1647–57.
10. Thompson GR 3rd, Wiederhold NP. Isavuconazole: A comprehensive review of spectrum of activity of a new triazole. *Mycopathologia.* 2010;170:291–313.

Iker Falces-Romero *, Inmaculada Quiles-Melero
y Julio García-Rodríguez

Servicio de Microbiología y Parasitología Clínicas, Hospital
Universitario La Paz, Madrid, España

* Autor para correspondencia.
Correo electrónico: falces88@gmail.com (I. Falces-Romero).