



# Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



## Tratamiento combinado de la aspergilosis invasora. ¿Una oportunidad para micafungina?

Isabel Ruiz-Camps

Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona, España

### RESUMEN

**Palabras clave:**

Terapia combinada  
Aspergilosis  
Micafungina

Las infecciones fúngicas invasoras, y en concreto la aspergilosis invasora, han aumentado en frecuencia en las últimas décadas, y pese a la aparición de nuevos antifúngicos se asocian a una elevada mortalidad que oscila entre el 40 y el 80%, dependiendo del paciente en el que incida y de la localización de ésta. Para intentar disminuir esta elevada tasa, se han planteado nuevas estrategias terapéuticas, entre las que se encuentra la terapia combinada. La mayoría de los datos disponibles sobre la eficacia de las combinaciones proceden de modelos experimentales, datos *in vitro* y estudios observacionales retrospectivos o con un número reducido de pacientes donde además mezclan pacientes en tratamiento de primera línea con pacientes en rescate, y hay muchas aspergilosis posibles y pocas probadas o probables. De momento, no se ha demostrado que el tratamiento combinado tenga una eficacia significativamente superior a la monoterapia; sin embargo, podría estar indicado en formas de aspergilosis grave, que cursen con afectación del sistema nervioso central o afectación pulmonar extensa con insuficiencia respiratoria, etc. Entre las combinaciones, la asociación de una equinocandina, grupo al que pertenece la micafungina, con voriconazol o anfotericina B liposomal parece mostrar sinergia y ha sido la más ensayada en estudios clínicos y, por tanto, aunque con escaso grado de evidencia, es la recomendada por las diferentes sociedades científicas.

© 2010 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

### Combination therapy for invasive aspergillosis

### ABSTRACT

**Keywords:**

Combination therapy  
Aspergillosis  
Micafungin

The frequency of invasive fungal infections, and specifically invasive aspergillosis, has increased in the last few decades. Despite the development of new antifungal agents, these infections are associated with high mortality, ranging from 40% to 80%, depending on the patient and the localization of the infection. To reduce these figures, several therapeutic strategies have been proposed, including combination therapy. Most of the available data on the efficacy of these combinations are from experimental models, *in vitro* data and retrospective observational studies or studies with a small number of patients that have included both patients in first-line treatment and those receiving rescue therapy; in addition there are many patients with possible forms of aspergillosis and few with demonstrated or probable forms. To date, there is no evidence that combination therapy has significantly higher efficacy than monotherapy; however, combination therapy could be indicated in severe forms of aspergillosis, or forms with central nervous involvement or extensive pulmonary involvement with respiratory insufficiency, etc. Among the combinations, the association of an echinocandin – the group that includes micafungin – with voriconazole or liposomal amphotericin B seems to show synergy. These combinations are those most extensively studied in clinical trials and therefore, although the grade of evidence is low, are recommended by the various scientific societies.

© 2010 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## Introducción

Las infecciones fúngicas invasoras, y en concreto la aspergilosis invasora (AI), han aumentado en frecuencia en las últimas décadas<sup>1-3</sup>. Este incremento se debe, en parte, a la existencia de un mayor número de pacientes sometidos a tratamientos inmunosupresores o terapias invasivas, y a la mejora que han proporcionado tanto los métodos microbiológicos como no microbiológicos (tomografía computarizada de alta resolución, galactomanano, betaglucano, etc.) en su diagnóstico y que permite que puedan ser diagnosticadas en vida del paciente y que no constituyan, como venía siendo habitual, un hallazgo necrópsico. Pese a esto, la AI se asocia a una elevada mortalidad que oscila entre el 40 y el 80% dependiendo del paciente en el que incida y de la localización de ésta<sup>4-6</sup>. Para intentar disminuir esta elevada tasa, se han planteado nuevas estrategias terapéuticas, entre las que se encuentra la terapia combinada.

La terapia combinada con anfotericina B y 5-fluorocitosina se venía usando desde hace tiempo para el manejo de la criptococosis meníngea en pacientes con sida<sup>7</sup>. Sin embargo, el verdadero interés por la terapia combinada nace con la aparición de las equinocandinas. Su novedoso mecanismo de acción, la pared fúngica y su escasa toxicidad ofrecen la posibilidad de combinarlas con fármacos como los polienos y los azoles, cuya diana se encuentra en la membrana.

La terapia combinada presenta a priori varias ventajas teóricas como la actividad sinérgica al actuar sobre dianas diferentes en la célula fúngica, aumentar la capacidad fungicida, disminuir el desarrollo de resistencias, compensar defectos de farmacocinética (los azoles alcanzan el estado de equilibrio más tarde y esta demora interindividual se solventaría con la combinación) o reducir la toxicidad al poder reducir, teóricamente, las dosis administradas<sup>8</sup>. Sin embargo, no puede obviarse que aumentan los costes económicos y que en ocasiones puede aumentar la toxicidad y el número de interacciones.

Por otra parte, la mayoría de los posibles beneficios de esta estrategia terapéutica proceden de estudios *in vitro* y de modelo experimental, sin que en la actualidad haya datos de eficacia y seguridad provenientes de ensayos clínicos aleatorizados.

## Estudios con combinaciones *in vitro*

Se han publicado más de 60 estudios *in vitro* que evalúan la actividad de los antifúngicos en combinación frente a diferentes especies de *Aspergillus*<sup>9</sup>.

La combinación de anfotericina B con itraconazol parece antagonica frente a *A. fumigatus*<sup>10</sup> mientras que el uso secuencial de un azol seguido de un polieno muestra la misma eficacia que el fármaco en monoterapia<sup>11</sup>. Perkhofe et al<sup>12</sup> demostraron que la combinación de posaconazol o voriconazol con anfotericina B era más activa frente a las hifas que frente a las conidias. Se objetivó sinergia en el 75% de los aislamientos expuestos a posaconazol asociado a anfotericina B y en un 37% de los expuestos a la combinación con voriconazol. La asociación de terbinafina con itraconazol o voriconazol muestra una potente actividad sinérgica y fungicida<sup>13</sup>.

Las combinaciones con equinocandinas han sido ampliamente estudiadas. La combinación de voriconazol con caspofungina demostró sinergia en un 88% de las cepas estudiadas y un efecto aditivo en el 12% de las cepas restantes<sup>14</sup>. Este efecto se mantiene incluso con cepas resistentes a itraconazol. Por el contrario, en otro estudio se demostró efecto sinérgico entre caspofungina e itraconazol o posaconazol, pero no con caspofungina y voriconazol o ravuconazol<sup>15</sup>. Utilizando un modelo matemático, Meletiadis et al<sup>16</sup> estudiaron las interacciones entre anfotericina B, voriconazol y caspofungina. Con respecto a la triple asociación, se obtuvo sinergia con dosis bajas de anfotericina B y voriconazol e intermedias de caspofungina, y antagonismo con dosis altas de anfotericina B y voriconazol. Al evaluar las combinaciones dobles, anfotericina B y caspofungina (cuando la dosis de la primera prevalecía sobre la de caspofungina) mostraron

sinergia para todas las cepas estudiadas, mientras que la combinación de voriconazol con caspofungina resultó sinérgica con dosis bajas de caspofungina y antagonica con dosis altas. Para Cuenca-Estrella et al<sup>17</sup> esta misma combinación mostró sinergia en el 50% de los aislamientos. Con el mismo modelo descrito se demostró sinergia con la combinación de micafungina y nikomicina, un inhibidor de la síntesis de quitina<sup>18</sup>. Otro estudio ha demostrado actividad de la combinación micafungina con voriconazol frente a *A. fumigatus* y *A. terreus* pero no frente a *A. flavus*<sup>19</sup>. Anidulafungina asociada a itraconazol o voriconazol también ha demostrado sinergia frente a *A. fumigatus* y *A. flavus* pero no frente a *A. terreus* y *A. niger*<sup>20</sup>.

## Estudios de combinaciones en modelo experimental

Hay más de 50 trabajos que evalúan la actividad de las diferentes combinaciones frente a especies de *Aspergillus* en modelos animales<sup>9</sup>. Estos estudios, en comparación con los realizados *in vitro*, pueden ser más útiles para predecir la utilidad clínica de las diferentes combinaciones aunque, en ocasiones, también muestran resultados controvertidos.

Cobayas inmunodeprimidos con esteroides y ciclofosfamida fueron tratados con la combinación voriconazol y caspofungina o con voriconazol en monoterapia, aunque no se registró mortalidad en ningún grupo; los que recibieron la combinación presentaron recuentos inferiores de colonias fúngicas<sup>21</sup>. La asociación de voriconazol con anidulafungina en conejos neutropénicos resultó superior a la monoterapia en la reducción de la carga fúngica<sup>22</sup>. Las asociaciones micafungina con ravuconazol<sup>23</sup> (en conejo neutropénico) o anfotericina B<sup>24</sup> resultaron también sinérgicas mientras que con anfotericina B liposomal se mostró indiferente<sup>24</sup> en un modelo murino. En el otro extremo, Chadrasekar no pudo demostrar beneficio entre la monoterapia y la combinación de voriconazol con anfotericina B o micafungina en el cobaya<sup>25</sup>.

En un modelo murino de aspergilosis del sistema nervioso central (SNC), las asociaciones de anfotericina B liposomal con micafungina o caspofungina no resultaron significativamente más eficaces que estas equinocandinas en monoterapia, pero ello se debe a que las dosis usadas fueron bajas y no se puede asegurar que con dosis más altas no se obtuviera un efecto sinérgico<sup>26</sup>. En otro estudio en el mismo modelo, las mismas equinocandinas, también a dosis bajas (1 mg/kg), asociadas a anfotericina B complejo lipídico prolongaron significativamente la supervivencia de los ratones respecto a las monoterapias aunque no había diferencias significativas en la concentración fúngica del hongo a niveles cerebral y renal en los animales que recibieron las combinaciones respecto a las monoterapias<sup>27</sup>. Clemons et al, en un modelo de ratón con aspergilosis pulmonar, demostraron que las combinaciones de micafungina (1 mg/kg/12 h) con anfotericina B o con nikomicina prolongaron la supervivencia respecto a los controles<sup>28</sup>. Más recientemente, otro estudio confirma los mismos datos con disminución de la carga fúngica en los pulmones y descenso de los valores de galactomanano al compararlo con la monoterapia o con los controles<sup>29</sup>. Aunque los autores de ambos estudios concluyen que la combinación de micafungina con anfotericina B podría ser eficaz en el tratamiento de la AI se debería probar, también, con la dosis de 3 mg/kg/12 h, que fue la que presentó eficacia en el estudio en monoterapia.

En resumen, en el modelo experimental, y aunque la mayoría de estudios se ha hecho con dosis bajas de micafungina, la combinación de ésta con un polieno puede constituir una pauta terapéutica para el tratamiento de la AI. Por otra parte, sería aconsejable la realización de estudios con diferentes dosificaciones y con azoles como voriconazol y posaconazol.

## Estudios clínicos

Hay pocos datos acerca de la eficacia de las combinaciones de antifúngicos que deriven de ensayos clínicos controlados. La mayoría

de los estudios son retrospectivos, se han realizado con un grupo reducido de pacientes y habitualmente en un único centro, mezclan pacientes en tratamiento de primera línea con pacientes en rescate o con intolerancia a otros antifúngicos y, en ocasiones, hay muchos pacientes con formas posibles de AI y pocos con formas probadas o probables. De estos trabajos, es difícil extraer datos de eficacia y tan sólo podemos obtener datos de seguridad.

En estos estudios, las combinaciones de antifúngicos con equinocandinas se toleran bien y aparecen como buenas alternativas en el tratamiento de rescate de la AI. Aliff et al<sup>30</sup> obtuvieron una respuesta favorable de un 75% con la combinación de anfotericina B y caspofungina en pacientes que habían fracasado con la monoterapia. Marr et al evaluaron la eficacia de voriconazol frente a la asociación voriconazol con caspofungina en pacientes que habían fracasado al tratamiento inicial, observando un descenso en la mortalidad e incremento en la tasa de supervivencia a los 3 meses<sup>31</sup>. Sin embargo, este mismo grupo, cuando compara los pacientes que han recibido esta misma combinación con los que tomaron voriconazol, en monoterapia en primera línea, no encuentran diferencias ni en la respuesta ni en la supervivencia<sup>32</sup>.

En otro estudio en el que se incluyó a 53 pacientes intolerantes o que habían fracasado al primer tratamiento, 29 pacientes (55%) presentaron una respuesta favorable al final del tratamiento con caspofungina asociada a anfotericina B liposomal o a un triazol<sup>33</sup>.

En otro estudio se incluyó a 48 pacientes afectados de AI, de los cuales 23 tenían infecciones probadas o probables y se trataron con la combinación anfotericina B liposomal y caspofungina. En 31 casos caspofungina se añadió al fracasar el polieno y en los 17 restantes la asociación constituyó el tratamiento inicial. Hubo una respuesta favorable en el 35% de los pacientes que recibieron la combinación por progresión de la enfermedad y en un 53% de los que la recibieron como tratamiento inicial. Sin embargo, la diferencia no fue estadísticamente significativa. Además, en los pacientes que persistieron neutropénicos la respuesta fue de un 37%<sup>34</sup>.

Más recientemente, el estudio Combistrat<sup>35</sup>, aleatorizado con 15 pacientes por brazo, comparó anfotericina B liposomal a dosis altas (10 mg/kg/día) con la combinación de la misma anfotericina B a la dosis habitual (3 mg/kg/día) y caspofungina. Al final del tratamiento la respuesta fue significativamente mejor en la rama de la combinación (el 67 frente al 27%;  $p = 0,028$ ).

En otro estudio se comparó la monoterapia con voriconazol o caspofungina con la combinación de ambos, tanto en primera línea como en rescate, en 69 pacientes en ambas situaciones. La tasa de respuesta en primera línea fue del 19% para caspofungina, del 30% para voriconazol y del 50% para la combinación de ambos. En terapia de rescate la mortalidad a los 6 meses resultó del 82% en los tratados con caspofungina frente al 52% para los de la combinación<sup>36</sup>.

En un estudio retrospectivo en trasplante de órgano sólido se comparó a un grupo que había recibido la combinación de voriconazol con caspofungina con el histórico que había recibido anfotericina B liposomal durante los 3 años previos. La supervivencia a los 3 meses fue superior en el grupo de la combinación (el 67,5 frente al 51%;  $p = 0,11$ ) aunque sin significación estadística. Sin embargo, en los pacientes con insuficiencia renal y con infección por *A. fumigatus* la combinación sí resultó significativamente más favorable ( $p < 0,05$ )<sup>37</sup>.

Micafungina ha sido también investigada como parte de las combinaciones en ensayos clínicos. En un estudio abierto, multicéntrico, no comparativo se empleó micafungina sola o en combinación con otros antifúngicos en 225 pacientes (adultos y niños) con AI probada o probable refractaria o intolerante al tratamiento de primera línea. La mayoría de los pacientes eran de alto riesgo: 98 trasplantados de progenitores (TPH), 48 con enfermedad del injerto contra el huésped (EICH) y 83 en tratamiento quimioterápico por enfermedad hematológica. Se añadió micafungina en 192 pacientes en los que fracasó el tratamiento primario. Realizaron una media de tratamiento de 54 días. Tras ser valorada la respuesta por un "comité ciego" de evaluación se demostró una respuesta favorable (respuesta completa

más respuesta parcial) en un 35,6% de los pacientes (80 casos). De los tratados en monoterapia con micafungina hubo respuesta favorable en 6 de los 12 que la recibieron en tratamiento primario (50%) y en 9 de los 22 pacientes en tratamiento de rescate (41%). Las respuestas fueron similares en el tratamiento combinado, 29,4% (5 de 17) en terapia inicial y 34,5% (60 de 174) en rescate<sup>38</sup>.

Más recientemente se ha presentado un subanálisis de los pacientes con TPH del estudio anterior. En éste, 98 AI, de las cuales 83 eran refractarias al tratamiento inicial, recibieron micafungina en monoterapia (8 casos: 4 refractarios, 2 intolerantes, 2 AI inicial) o en combinación (90 casos: 7 AI inicial y 83 refractaria) con otros antifúngicos comercializados. Un 43% de los pacientes presentaba EICH y un 27% presentaba neutropenia ( $< 500$  células/ $\mu$ l). Se constató una respuesta favorable en 25 de los 98 pacientes (26%) y en 12 pacientes más la AI se estabilizó. Si analizamos los diferentes subgrupos, respondieron 2 de los 9 tratamientos iniciales (22%), 21 de los 87 refractarios (24%) y el 100% de los pacientes intolerantes (2 de 2). Según el tipo de tratamiento respondió el 24% de los que recibieron combinación (22 de 90) y el 38% de los que recibieron monoterapia con micafungina (3 de 8). No hubo diferencias en cuanto a la respuesta según el tipo de trasplante, el estado de la EICH o la especie de *Aspergillus*. No se registraron efectos adversos graves en ninguno de los grupos<sup>39</sup>.

### Recomendación de la terapia combinada según las guías terapéuticas

Debido a que la evidencia clínica de una mayor actividad de las asociaciones frente a la monoterapia es, por el momento, y tal como hemos visto, escasa, la mayoría de las guías terapéuticas más utilizadas no recomienda la terapia combinada como práctica habitual ni en tratamiento de primera línea ni en rescate. En la tabla 1 aparecen los grados de evidencia otorgados a la terapia combinada por las diferentes sociedades científicas en sus guías o recomendaciones.

Sin embargo, según la Conferencia de Consenso de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia y la Sociedad Española de Quimioterapia podría contemplarse en situaciones clínicas asociadas a una elevada mortalidad como: a) infección del SNC; b) infección pulmonar con insuficiencia respiratoria o imagen radiológica bilateral, extensa y cavitada; c) evidencia de diseminación con criterios de sepsis grave, y d) inmunosupresión grave no corregible (neutropenia prolongada o tratamiento sostenido con dosis elevadas de corticoides)<sup>6</sup>. En estas situaciones, al igual que en la mayoría de las guías y consensos, se recomienda voriconazol o una anfotericina B lipídica asociada a caspofungina, aunque con un nivel de evidencia C-III. Después de 5-7 días de tratamiento, si la evolución es favorable podría pasarse a monoterapia con voriconazol.

Como resumen, y aunque no haya una clara evidencia, el uso de terapia combinada en el tratamiento de primera línea o de rescate de

**Tabla 1**

Recomendaciones y grado de evidencia de la terapia combinada según las diferentes guías de sociedades científicas

Guías	Primera línea	Rescate
IDSA <sup>40</sup>	BII	BII
ECIL-2009 <sup>41</sup>	DIII	CII (VOR+CAS/L-AB+CAS)
GITMO <sup>42</sup>		BII (EQ+VOR/L-AB)
DGHO <sup>43</sup>		CIII
FUNGINOS <sup>44</sup>	CII <sup>a</sup> (CAS+VOR/L-AB)	
SEQ-AEH <sup>6</sup>	CIII <sup>b</sup> (CAS+VOR/L-AB)	

DGHO: German Society of Hematology and Oncology; ECIL: European Conference on Infections in Leukemia; FUNGINOS: Fungal Infection Network of Switzerland; GITMO: Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo; IDSA: Infectious Diseases Society of America; SEQ-AEH: Sociedad Española de Quimioterapia y Asociación Española de Hematología.

<sup>a</sup>Pacientes críticos con infección grave.

<sup>b</sup>En situaciones determinadas.

la AI puede estar indicado en unos determinados pacientes, y la asociación de voriconazol o anfotericina B lipídica con una equinocandina sería la pauta recomendada.

### Perspectivas de futuro de micafungina en el tratamiento combinado de la aspergilosis invasora

Con los datos de que disponemos en la actualidad, procedentes de estudios in vitro, en modelo de experimentación animal y de estudios clínicos no controlados, la mayoría de ellos retrospectivos, es difícil evaluar la utilidad de las diferentes combinaciones que contienen micafungina. En todos estos estudios, parece que micafungina asociada a un polieno o un azol es una opción razonable en el tratamiento combinado de la AI.

Un punto a favor del uso de micafungina en terapia combinada sería, además, su perfil farmacológico más favorable respecto a caspofungina. Recientemente se ha demostrado que la concentración de micafungina, tanto en el fluido epitelial como en el alvéolo, está muy por encima de la CMI90 de *A. fumigatus* durante 24 h y que, además, estas concentraciones tienden a aumentar durante los primeros 14 días de administración. Este hecho es importante ya que asegura una concentración alta de fármaco en el órgano diana de *Aspergillus*, el pulmón, y sustenta la posibilidad de que micafungina pueda administrarse tanto en tratamiento de rescate como de primera línea en la AI, ya sea en monoterapia o en combinación<sup>40</sup>.

Es evidente que disponer de resultados de ensayos clínicos controlados y comparativos con asociaciones de antifúngicos nos permitiría conocer la eficacia real y la seguridad de cada combinación y, además, valorar si hay posibles diferencias entre las equinocandinas al ser asociadas a otro antifúngico. Sin embargo, llevar a cabo estos estudios es difícil, dado el escaso número de AI probadas y probables de que disponemos, la complejidad y heterogeneidad de los pacientes y la falta de marcadores que permitan evaluar la respuesta a las combinaciones. En la actualidad está en marcha un estudio aleatorizado multicéntrico en tratamiento primario de la AI en el que se compara la monoterapia con voriconazol frente a la asociación de voriconazol con anidulafungina, cuyo objetivo principal es evaluar la seguridad y la eficacia de esta combinación. Probablemente, el próximo año tengamos algún resultado al respecto que nos ayude a posicionar con más claridad la terapia combinada en el manejo de la AI.

En conclusión, y tras los estudios de que disponemos y extrapolando de los existentes con otras equinocandinas, es oportuno considerar que, tanto por sus características farmacológicas como de seguridad, micafungina pueda ser usada en terapia combinada asociada a voriconazol o a anfotericina B liposomal cuando en una AI se requiera el uso de este tipo de terapia.

### Conflicto de intereses

En el último año, Isabel Ruiz-Camps ha recibido honorarios por conferencias o actividades organizadas por los laboratorios Astellas, MSD, Pfizer, Gilead y Schering-Plough.

### Bibliografía

- Pagano L, Caira M, Nosari A, Van Lint MT, Candoni A, Offidani M, et al. Fungal infections in recipients of hematopoietic stem cell transplants: results of the SEIFEM B-2004 study-Sorveglianza Epidemiologica Infezioni Fungine Nelle Emopatie Maligne. *Clin Infect Dis.* 2007;45:1161-70.
- Morgan J, Wannemuehler KA, Marr KA, Hadley S, Kontoyiannis DP, Walsh TJ, et al. Incidence of invasive aspergillosis following hematopoietic stem cell and solid organ transplantation: interim results of a prospective multicenter surveillance program. *Med Mycol.* 2005;43 Suppl 1:S49-58.
- Gavaldá J, Len O, San Juan R, Aguado JM, Fortun J, Lumbreiras C, et al. Risk factors for invasive aspergillosis in solid-organ transplant recipients: a case-control study. *Clin Infect Dis.* 2005;41:52-9.
- Herbrecht R, Denning DW, Patterson TF, Bennett JE, Greene RE, Oestmann JW. Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. *N Engl J Med.* 2002;347:408-15.
- Cornely OA, Maertens J, Bresnik M, Ebrahimi R, Ullmann AJ, Bouza E. 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;44:1289-97.
- Mensa J, De La Cámara R, Carreras E, Cuenca Estrella M, García Rodríguez JA, Gobernado M, et al. Treatment of fungal infections in patients with hematologic neoplasia. *Med Clin (Barc).* 2009;132:507-21.
- Van der Horst CM, Saag MS, Cloud GA, Hamill RJ, Graybill JR, Sobel JD, et al. Treatment of cryptococcal meningitis associated with the acquired immunodeficiency syndrome. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group and AIDS Clinical Trials Group. *N Engl J Med.* 1997;337:15-21.
- Cuenca-Estrella M. Combinations of antifungal agents in therapy -what value are they? *J Antimicrob Chemother.* 2004;54:854-69.
- Vázquez JA. Clinical practice: combination antifungal therapy for mold infections: much ado about nothing? *Clin Infect Dis.* 2008;46:1889-901.
- Te Dorsthorst DT, Verweij PE, Meis JF, Punt NC, Mouton JW. In vitro interactions between amphotericin B, itraconazole, and flucytosine against 21 clinical *Aspergillus* isolates determined by two drug models. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48:2007-13.
- Maesaki S, Kawamura S, Miyazaki Y, Tomono K, Tashiro T, Kohno S. Effect of sequential combination of amphotericin B and azole antifungal agents against *Aspergillus fumigatus*. *J Infect Chemother.* 1999;5:125-9.
- Perkhofer S, Lugger H, Dierich MP, Lass-Flörl C. Posaconazole enhances the activity of amphotericin B against *Aspergillus hyphae* in vitro. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51:791-3.
- Ryder NS, Leitner I. Synergistic interaction of terbinafine with triazoles or amphotericin B against *Aspergillus* species. *Med Mycol.* 2001;39:91-5.
- Perea S, González G, Fothergill AW, Kirkpatrick WR, Rinaldi MG, Patterson TF. In vitro interaction of caspofungin acetate with voriconazole against clinical isolates of *Aspergillus* spp. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46:3039-41.
- Manavathu EK, Alangaden GJ, Chandrasekar PH. Differential activity of triazoles in two-drug combinations with the echinocandins caspofungin against *Aspergillus fumigatus*. *J Antimicrob Chemother.* 2003;51:1423-5.
- Meletiadi S, Stergiopoulou T, O'Shaughnessy EM, Peter J, Walsh TJ. Concentration-dependent synergy and antagonism within a triple antifungal drug combination against *Aspergillus* species: analysis by a new response surface model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51:2053-64.
- Cuenca-Estrella M, Gómez-López A, García-Effron G, Alcázar-Fuoli L, Mellado E, Buitrago MJ, et al. Combined activity in vitro of caspofungin, amphotericin B, and azole agents against itraconazole-resistant clinical isolates of *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:1232-5.
- Brun YF, Dennis CG, Greco WR, Bernacki RJ, Pera PJ, Bushey JJ, et al. Modeling the combination of amphotericin B, micafungin, and nikkomycin Z against *Aspergillus fumigatus* in vitro using a novel response surface paradigm. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51:1804-12.
- Lewis RE, Kontoyiannis DP. Micafungin in combination with voriconazole in *Aspergillus* species: a pharmacodynamic approach for detection of combined antifungal activity in vitro. *J Antimicrob Chemother.* 2005;56:887-92.
- Philip A, Odabasi Z, Rodríguez J, Paetznick VL, Chen E, Rex JH, et al. In vitro synergy testing of anidulafungin with itraconazole, voriconazole, and amphotericin B against *Aspergillus* and *Fusarium* spp. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:3572-4.
- Kirkpatrick WR, Perea S, Coco BJ, Patterson TF. Efficacy of caspofungin alone and in combination with voriconazole in a Guinea pig model of invasive aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46:2564-8.
- Petratits V, Petratiene R, Hope WW, Meletiadi S, Mickiene D, Hughes JE, et al. Combination therapy in treatment of experimental pulmonary aspergillosis: in vitro and in vivo correlations of the concentration- and dose- dependent interactions between anidulafungin and voriconazole by Bliss independence drug interaction analysis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53:2382-91.
- Petratits V, Petratiene R, Sarafandi AA, Kelaher AM, Lyman CA, Casler HE, et al. Combination therapy in treatment of experimental pulmonary aspergillosis: synergistic interaction between an antifungal triazole and an echinocandin. *J Infect Dis.* 2003;187:1834-43.
- Steinbach WJ, Stevens DA, Denning DW. Combination and sequential antifungal therapy for invasive aspergillosis: review of published in vitro and in vivo interactions and 6281 clinical cases from 1966 to 2001. *Clin Infect Dis.* 2003;37 Suppl 3:S188-224.
- Chandrasekar PH, Cutright JL, Manavathu EK. Efficacy of voriconazole plus amphotericin B or micafungin in a guinea-pig model of invasive pulmonary aspergillosis. *Clin Microbiol Infect.* 2004;10:925-8.
- Clemons KV, Espiritu M, Parmar R, Stevens DA. Comparative efficacies of conventional amphotericin B, liposomal amphotericin B (Am-Bisome), caspofungin, micafungin, and voriconazole alone and in combination against experimental murine central nervous system aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:4867-75.
- Clemons KV, Parmar R, Martínez M, Stevens DA. Efficacy of Abelcet alone, or in combination therapy, against experimental central nervous system aspergillosis. *J Antimicrob Chemother.* 2006;58:466-9.
- Clemons KV, Stevens DA. Efficacy of micafungin alone or in combination against experimental pulmonary aspergillosis. *Med Mycol.* 2006;44:69-73.
- Nagasaki Y, Eriguchi Y, Uchida Y, Miyake N, Maehara Y, Kadowaki M, et al. Combination therapy with micafungin and amphotericin B for invasive pulmonary aspergillosis in an immunocompromised mouse model. *J Antimicrob Chemother.* 2009;64:379-82.
- Aliff TB, Maslak PG, Jurcic JG, Heaney ML, Cathcart KN, Sepkowitz KA, et al. Refractory *Aspergillus* pneumonia in patients with acute leukemia: successful therapy with combination caspofungin and liposomal amphotericin. *Cancer.* 2003;97:1025-32.

31. Marr KA, Boeckh M, Carter RA, Kim HW, Corey L. Combination antifungal therapy for invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis.* 2004;39:797-802.
32. Upton A, Kirby KA, Carpenter P, Boeckh M, Marr KA. Invasive aspergillosis following hematopoietic cell transplantation: outcomes and prognostic factors associated with mortality. *Clin Infect Dis.* 2007;44:531-40.
33. Maertens J, Glasmacher A, Herbrecht R, Thiebaut A, Cordonnier C, Segal BH, et al. Multicenter, noncomparative study of caspofungin in combination with other antifungals as salvage therapy in adults with invasive aspergillosis. *Cancer.* 2006;107:2888-97.
34. Kontoyiannis DP, Hachem R, Lewis RE, Rivero GA, Torres HA, Thornby J, et al. Efficacy and toxicity of caspofungin in combination with liposomal amphotericin B as primary or salvage treatment of invasive aspergillosis in patients with hematologic malignancies. *Cancer.* 2003;98:292-9.
35. Caillot D, Thiébaud A, Herbrecht R, De Botton S, Pigneux A, Bernard F, et al. Liposomal amphotericin B in combination with caspofungin for invasive aspergillosis in patients with hematologic malignancies: a randomized pilot study (Combistrat trial). *Cancer.* 2007;110:2740-6.
36. Raad II, Hanna H, Boktour M, Torres H, Kontoyiannis D, Hachem R, et al. The combination of caspofungin (C) and voriconazole (V) as primary and salvage therapy of invasive aspergillosis (IA) in hematologic malignancy patients (HMP). Program and abstracts of the 46th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. San Francisco, CA. Washington DC: American Society for Microbiology, 2006. Abstract M-889.
37. Singh N, Limaye AP, Forrest G, Safdar N, Muñoz P, Pursell K, et al. Combination of voriconazole and caspofungin as primary therapy for invasive aspergillosis in solid organ transplant recipients: a prospective, multicenter, observational study. *Transplantation.* 2006;81:320-6.
38. Denning DW, Marr KA, Lau WM, Facklam DP, Ratanatharathorn V, Becker C, et al. Micafungin (FK463), alone or in combination with other systemic antifungal agents, for the treatment of acute invasive aspergillosis. *J Infect.* 2006;53:337-49.
39. Kontoyiannis DP, Ratanatharathorn V, Young JA, Raymond J, Laverdière M, Denning DW, et al. Micafungin alone or in combination with other systemic antifungal therapies in hematopoietic stem cell transplant recipients with invasive aspergillosis. *Transpl Infect Dis.* 2009;11:89-93.
40. Walsh TJ, Anaissie EJ, Denning DW, Herbrecht R, Kontoyiannis DP, Marr KA, et al. Treatment of aspergillosis: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2008;46:327-60.
41. European Leukemia Net. Antifungal prophylaxis. European Conference on Infections in Leukemia. Disponible en: <http://www.ichs.org/Ecilsides/ECIL%203%20Antifungal%20therapy%20Update%202009.pdf>
42. Girmenia C, Barosi G, Aversa F, Bacigalupo A, Barbui T, Baronciani D, et al. Prophylaxis and treatment of invasive fungal diseases in allogeneic stem cell transplantation: results of a consensus process by Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo (GITMO). *Clin Infect Dis.* 2009;49:1226-36.
43. Böhme A, Ruhnke M, Buchheidt D, Cornely OA, Einsele H, Enzensberger R, et al. Treatment of invasive fungal infections in cancer patients—recommendations of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO). *Ann Hematol.* 2009;88:97-110.
44. Flückiger U, Marchetti O, Bille J, Eggimann P, Zimmerli S, Imhof A, et al. Fungal Infection Network of Switzerland (FUNGINOS). Treatment options of invasive fungal infections in adults. *Swiss Med Wkly.* 2006;136:447-63.
45. Walsh TJ, Goutelle S, Jelliffe RW, Golden JA, Little EA, Devoe C, et al. Intrapulmonary pharmacokinetics and pharmacodynamics of micafungin in adult lung transplant patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:3451-9. Epub 2010 May 3.