

haematologica

Journal of Hematology

ISSN 1592-8721
educational edition

volume 89,
supplement no. 3
March 2004

Published by the
Ferrata-Storti
Foundation,
Pavia, Italy

s3

**Nuove Prospettive nella Terapia
delle Infezioni Fungine
in Oncoematologia**

Guest Editors: Corrado Girmenia, Pietro Martino

editorial board

editor-in-chief

Mario Cazzola (Pavia)

deputy editors

Joan Bladé (Barcelona), Carlo Brugnara (Boston), Rosangela Invernizzi (Pavia), Francesco Lo Coco (Roma), Paolo Rebulla (Milano), Gilles Salles (Lyon), Jordi Sierra Gil (Barcelona), Vicente Vicente Garcia (Murcia)

assistant editors

Gaetano Bergamaschi (Pavia), Luca Malcovati (Pavia), Vittorio Rosti (Pavia)

scientific societies committee

Sergio Amadori (Roma, Italian Society of Hematology), Maria Benedetta Donati (Santa Maria Imbaro, Italian Society of Hemostasis and Thrombosis), Gianluca Gaidano (Novara, Italian Society of Experimental Hematology), Momcilo Jankovic (Monza, Italian Association of Pediatric Hematology/Oncology), Fernando Martinez Brotons (Barcelona, Spanish Society of Thrombosis and Hemostasis), Ciril Rozman (Barcelona, Spanish Association of Hematology and Hemotherapy)

consulting editors

Adriano Aguzzi (Zürich), Claudio Anasetti (Seattle), Justo Aznar Lucea (Valencia), Carlo L. Balduini (Pavia), Michele Baccarani (Bologna), Giovanni Barosi (Pavia), Yves Beguin (Liège), Javier Batlle Fonrodona (A Coruña), Marie Christine Béné (Vandoeuvre Les Nancy), Dina Ben-Yehuda (Jerusalem), Mario Boccadoro (Torino), David T. Bowen (Dundee), Juan A. Bueren (Madrid), Dario Campana (Memphis), Marco Cattaneo (Milano), Michele Cavo (Bologna), Thérèse L. Coetzer (Johannesburg), Francesco Dazzi (London), Valerio De Stefano (Roma), Judith Dierlamm (Hamburg), Meletios A. Dimopoulos (Athens), Ginés Escolar Albadalejo (Barcelona), Elihu H. Estey (Houston), J.H. Frederik Falkenburg (Leiden), Felicetto Ferrara (Napoli), Lourdes Florensa (Barcelona), Jordi Fontcuberta Boj (Barcelona), Renzo Galanello (Cagliari), Paul L. Giangrande (Oxford), Paolo G. Gobbi (Pavia), Lawrence T. Goodnough (St. Louis), Sakari Knuutila (Helsinki), Yok-Lam Kwong (Hong Kong), Bernhard Laemmle (Bern), Mario Lazzarino (Pavia), Ihor R. Lemischka (Princeton), Franco Locatelli (Pavia), Gabriel Márquez (Madrid), Estella Matutes (London), Cristina Mecucci (Perugia), Giampaolo Merlini (Pavia), Charlotte Niemeyer (Freiburg), Ulrike Nowak-Göttl (Münster), Michael O'Dwyer (Galway), Alberto Orfao (Salamanca), Antonio Páramo (Pamplona), Stefano A. Pileri (Bologna), Giovanni Pizzolo (Verona), Susana Raimondi (Memphis), Alessandro Rambaldi (Bergamo), Vanderson Rocha (Paris), Francesco Rodeghiero (Vicenza), Guillermo F. Sanz (Valencia), Miguel Angel Sanz (Valencia), Jerry L. Spivak (Baltimore), Alvaro Urbano-Ispizua (Barcelona), Elliott P. Vichinsky (Oakland), Giuseppe Visani (Pesaro), Neal S. Young (Bethesda)

editorial office

Luca Arcaini, Matteo Giovanni Della Porta, Igor Ebuli Poletti, Marta Fossati, Michele Moscato, Lorella Ripari, Rachel Stenner

official organ of

AEHH (Spanish Association of Hematology and Hemotherapy)
AIEOP (Italian Association of Pediatric Hematology/Oncology)
SETH (Spanish Society of Thrombosis and Hemostasis)
SIE (Italian Society of Hematology)
SIES (Italian Society of Experimental Hematology)
SISET (Italian Society for Studies on Hemostasis and Thrombosis)

Direttore responsabile: Prof. Edoardo Ascari; Autorizzazione del Tribunale di Pavia n. 63 del 5 marzo 1955.
Editing: ♠ Mikimos - Medical Editions via gen. C.A. Dalla Chiesa 22, Voghera, Italy
Printing: Tipografia PI-ME via Vigentina 136, Pavia, Italy
Printed in March 2004

Haematologica is sponsored by educational grants from the following institutions and companies:



IRCCS Policlinico S. Matteo, Pavia, Italy



University of Pavia, Italy

José Carreras International Leukemia Foundation

haematologica

The origin and power of a name

Ancient Greek

αιμα [aima] = blood;
αιματος [aimatos] = of blood,
λογος [logos] = reasoning

Scientific Latin

haematologicus (adjective) = related to blood

Scientific Latin

haematologica (adjective, plural and neuter,
used as a noun) = hematological subjects

Modern English

Journal of Hematology
2002 JCR® Impact Factor = 3.226



h

information for authors, readers and subscribers

Haematologica (print edition, ISSN 0390-6078) publishes peer-reviewed papers across all areas of experimental and clinical hematology. The journal is owned by a non-profit organization, the Ferrata Storti Foundation, and the way it serves the scientific community is detailed online: <http://www.haematologica.org/main.htm> (journal's policy).

Papers should be submitted online: <http://www.haematologica.org/submission>. For the time being the journal considers also papers submitted via surface mail (Editorial Office, Haematologica, Strada Nuova 134, 27100 Pavia, Italy) or as attachments to email messages (office@haematologica.org). However, these submission modalities are discouraged and will be abolished shortly.

Haematologica publishes editorials, research papers, decision making & problem solving papers, review articles and scientific letters. Manuscripts should be prepared according to the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals, prepared by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) and fully available online (<http://www.icmje.org>). Additional information is available online: <http://www.haematologica.org/instructions.htm> (instructions to authors).

Additional papers may be considered for the purely online journal (Haematologica on Internet, ISSN 1592-8721). Because there are no space constraints online, Haematologica on Internet will publish several items deemed by peer review to be scientifically sound and mainly useful as educational papers. These will include case reports, irreplaceable images, educational material from scientific meetings, meeting abstracts, and letters to the Editor.

Galley Proofs and Reprints. Galley proofs should be corrected and returned by email, fax or express delivery within 72 hours. Minor corrections or reasonable additions are permitted; however, excessive alterations will require editorial re-evaluation and will be possibly charged to the authors. Papers accepted for publication will be printed without cost. The cost of printing color figures will be communicated upon request. Preprints may be ordered at cost by returning the appropriate form sent by the Publisher.

Transfer of Copyright and Permission to Reproduce Parts of Published Papers. Authors will grant copyright of their articles to the Ferrata Storti Foundation. No formal permission will be required to reproduce parts (tables or illustrations) of published papers, provided the source is quoted appropriately and reproduction has no commercial intent. Reproductions with commercial intent will require written permission and payment of royalties.

Haematologica is published in two printed editions: International (worldwide except Spain, Portugal and Latin Americas) and Spanish (in Spain, Portugal and Latin Americas). Detailed information about subscriptions is available online: <http://www.haematologica.org/subscribe.htm> (subscriptions). While access to the online journal is free, online access to additional items of the website <http://www.haematologica.org/> will require either institutional or personal subscription.

Rates of the International edition for the year 2003 are as following:

	<i>Institutional</i>	<i>Personal</i>
Print edition and full access to the online journal plus additional items of haematologica.org	Euro 350	Euro 150
Full access to the online journal plus additional items of haematologica.org	Euro 350	Euro 75

To subscribe to the International edition, please go to our web site at <http://www.haematologica.org/subscribe/> or contact the Haematologica Journal Office, Strada Nuova 134, 27100 Pavia, Italy (phone +39.0382.531182, fax +39.0382.27721, E-mail orders@haematologica.org). To subscribe to the Spanish print edition, please contact: Ediciones Doyma SA, Travesera de Gracia, 17-21, 08021 Barcelona, Spain (phone +34.3.4145706, fax +34.3.414-4911, E-mail: doyma@doyma.es).

Advertisements. Contact the Advertising Manager, Haematologica Journal Office, Strada Nuova 134, 27100 Pavia, Italy (phone +39.0382.531182, fax +39.0382.27721, E-mail: mikimos@haematologica.org).

Disclaimer. Whilst every effort is made by the publishers and the editorial board to see that no inaccurate or misleading data, opinion or statement appears in this journal, they wish to make it clear that the data and opinions appearing in the articles or advertisements herein are the responsibility of the contributor or advisor concerned. Accordingly, the publisher, the editorial board and their respective employees, officers and agents accept no liability whatsoever for the consequences of any inaccurate or misleading data, opinion or statement. Whilst all due care is taken to ensure that drug doses and other quantities are presented accurately, readers are advised that new methods and techniques involving drug usage, and described within this journal, should only be followed in conjunction with the drug manufacturer's own published literature.



Associated with USPI, Unione Stampa Periodica Italiana.

Premiato per l'alto valore culturale dal Ministero dei Beni Culturali ed Ambientali

Nuove Prospettive nella Terapia delle Infezioni Micotiche Invasive in Oncoematologia

-
- 1 Nuove prospettive nella terapia delle infezioni fungine
in oncoematologia
Corrado Girmenia, Pietro Martino





[haematologica]
2004;89(s3):1-10

Nuove prospettive nella terapia delle infezioni fungine in oncoematologia

CORRADO GIRMENIA
PIETRO MARTINO

*From the Dipartimento di
Biotecnologie Cellulari ed Ema-
tologia, Università "La Sapienza",
Roma.*

Tra le patologie infettive che complicano il decorso delle emopatie maligne, le micosi invasive rappresentano quelle che comportano le più gravi problematiche cliniche. Le difficoltà nella gestione di queste gravi infezioni sono determinate dai limiti delle conoscenze epidemiologiche, dal fatto che i quadri clinici sono spesso aspecifici, dalla scarsa sensibilità dei mezzi diagnostici strumentali e di laboratorio e, soprattutto, dalla mancanza di terapie veramente efficaci. Infatti, i progressi nel trattamento delle infezioni fungine invasive continuano ad essere lenti e deludenti come dimostrato dalla letalità ancora elevatissima, soprattutto nelle infezioni da funghi filamentosi. Il farmaco antifungino di prima scelta continua ad essere l'amfotericina B desossicolato (AmB-d) sin dal suo primo impiego clinico avvenuto ormai nel 1958. Il fatto che da oltre 40 anni l'AmB-d sia ancora considerato il farmaco di riferimento nel trattamento di molte micosi invasive non dipende dalla sua efficacia che, troppo spesso, risulta essere assolutamente insoddisfacente, ma piuttosto dal fatto che continuano a mancare valide alternative terapeutiche. Negli ultimi dieci anni, l'introduzione di nuovi antifungini azolici, il fluconazolo e l'itraconazolo, e delle nuove formulazioni lipidiche di AmB ha offerto importanti alternative nel trattamento di alcuni tipi di infezioni fungine, prime fra tutte le candidosi invasive, e nel contenimento della tossicità che rappresenta uno dei principali limiti dell'AmB-d. Tuttavia, nonostante la disponibilità di queste alternative terapeutiche, la letalità correlata a molti tipi di micosi invasive continua ad essere tragicamente elevata, raggiungendo l'80% dei casi in alcune categorie di pazienti.

La crescente attenzione a queste problematiche infettive ha sollecitato le industrie farmaceutiche ad intensificare la ricerca farmacologica con lo studio di nuove molecole appartenenti a vecchie (azoli) e nuove (echinocandine) classi di antifungini. Finalmente, negli ultimi due anni sono stati pub-

blicati importanti studi clinici controllati nei quali è emerso il ruolo rilevante dell'azolo voriconazolo e della echinocandina caspofungin che hanno dimostrato di poter contribuire al miglioramento della terapia di molte gravi infezioni fungine.¹ I dati della letteratura, che continuano a fornire interessanti evidenze sull'importanza di questi nuovi farmaci in termini sia di efficacia che di tossicità, sembrano tali da supportare nuove prospettive nel trattamento delle micosi invasive.

In questo articolo vengono illustrate brevemente le ultime linee guida dell'*Infectious Diseases Society of America* (IDSA) sulle principali indicazioni alla terapia antifungina;²⁻⁵ vengono inoltre discussi i dati della più recente letteratura che possono apportare ulteriore contributo al miglioramento delle strategie antimicotiche.

Il trattamento delle aspergillosi invasive

Tra le micosi che colpiscono i pazienti immunocompromessi, le infezioni da funghi filamentosi rappresentano quelle a prognosi più infausta e nelle quali sono stati ottenuti i progressi più deludenti.⁶⁻⁹ Infatti, nonostante la disponibilità di migliori strumenti diagnostici e di nuove strategie terapeutiche, la prognosi di queste particolari infezioni fungine sembra essere immutata negli anni. Fino al 2002, i farmaci a disposizione nel trattamento dell'aspergilloso erano l'AmB-d convenzionale, le sue tre formulazioni lipidiche e l'itraconazolo. Le ultime indicazioni dell'IDSA nel trattamento dell'aspergilloso invasivo, che risalgono ormai al 2000,² indicano l'AmB-d quale farmaco di prima linea, suggeriscono l'uso delle formulazioni lipidiche di AmB nel trattamento di salvataggio in caso di intolleranza all'AmB-d o in prima linea nei pazienti con alterata funzionalità renale, infine riservano all'itraconazolo orale l'uso potenziale quale terapia di mantenimento dopo un trattamento iniziale con AmB-d. La scel-

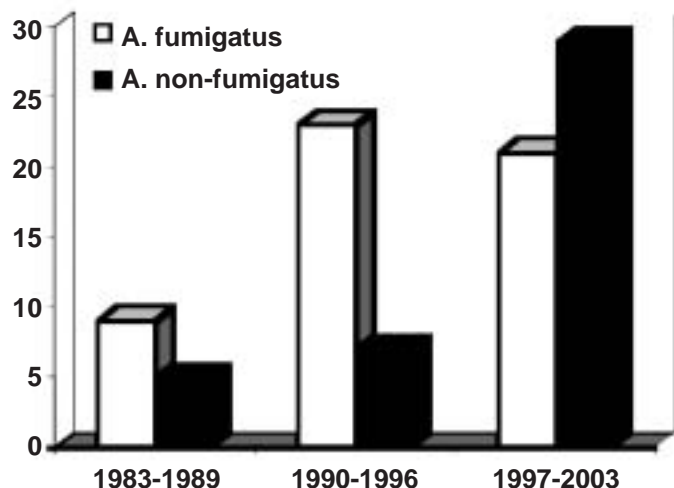


Figura 1. Incidenza delle infezioni microbiologicamente documentate da *Aspergillus fumigatus* e da specie di *Aspergillus non-fumigatus* in tre periodi successivi presso il Dipartimento di Biotecnologie Cellulari ed Ematologia di Roma.

ta dell'AmB-d quale antifungino di prima linea nel trattamento dell'aspergillosi deriva, secondo la definizione delle linee guida dell'IDSA, da una *moderata evidenza clinica basata non su studi controllati ma su opinioni di esperti nel campo delle infezioni opportuniste*.¹ Due sono i principali motivi che giustificano il basso grado di raccomandazione dell'uso di questa molecola nel trattamento dell'aspergillosi e, paradossalmente, l'indicazione al suo impiego in terapia di prima linea:

- primo, la risposta complessiva al trattamento con AmB-d è inferiore al 40% nei vari studi ed è circa del 20% nei pazienti sottoposti a trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche.⁸ La scarsa sensibilità dei patogeni fungini alla molecola o le inadeguate concentrazioni che si ottengono nei vari siti di infezione possono spiegare la sostanziale scarsa efficacia del farmaco. Un aspetto che sta emergendo dai recenti studi sulla attività *in vitro* delle molecole antifungine è la crescente incidenza di infezioni da particolari specie di *Aspergillus* resistenti all'amfotericina B. In particolare la maggior parte dei ceppi di *A. terreus* e alcuni ceppi di *A. flavus* sono sensibili *in vitro* a concentrazioni superiori a 1 mg/L di AmB, limite soglia oltre il quale la molecola sembra essere clinicamente meno attiva come dimostrato da alcuni studi sperimentali e clinici che hanno valutato le correlazioni tra attività *in vitro* ed *in vivo*.¹²⁻¹⁷ Presso il Dipartimento di Biotecnologie Cellulari ed Ematologia dell'Università "La Sapienza" di Roma è stato evidenziato un progressivo cambiamento nella epidemiologia delle specie di *Aspergillus* causa di infezione invasiva in pazienti affetti da emopatie maligne. Negli ultimi anni, infatti, le specie di *Aspergillus non fumigatus*, come *A. terreus* e *A. flavus*,

rappresentano i patogeni più frequentemente isolati (Figura 1). Un simile cambiamento epidemiologico è stato osservato anche in altri centri europei e statunitensi^{12,18,19} ed è presumibile che l'approfondimento della diagnostica micologica nelle singole istituzioni possa meglio delineare il reale peso delle specie di *Aspergillus non-fumigatus* potenzialmente resistenti all'AmB e, di conseguenza, guidare ad una più corretta politica di impiego delle molecole antifungine. Anche se a tutt'oggi non sono stati ancora completamente definiti i limiti di sensibilità dei funghi filamentosi agli antifungini, i test di sensibilità *in vitro* per questi patogeni sono ormai standardizzati e possono essere considerati pronti per una applicazione clinica.²⁰ Tale supporto di laboratorio appare, a questo punto, di cruciale importanza soprattutto per la disponibilità di nuove molecole in alternativa ai polieni;

- secondo, per oltre 30 anni l'AmB-d è stata l'unico farmaco antifungino a disposizione nel trattamento delle infezioni da *Aspergillus*, senza quindi la possibilità di terapie alternative. Inoltre, nonostante la disponibilità da circa 10 anni di nuove molecole, quali l'itraconazolo e le formulazioni lipidiche di AmB, fino ad oggi sono mancati studi prospettici controllati di efficacia nei quali l'AmB-d veniva messa a confronto con altri farmaci. Solo nel 2002 sono stati pubblicati i primi due studi randomizzati di confronto con AmB a dispersione colloidale (ABCD) e con il voriconazolo nel trattamento delle infezioni documentate da *Aspergillus*.¹⁰⁻¹¹

Lo studio di Bowden *et al.*¹⁰ costituisce l'unica esperienza attualmente disponibile nella quale una formulazione lipidica di AmB è stata confrontata con l'AmB-

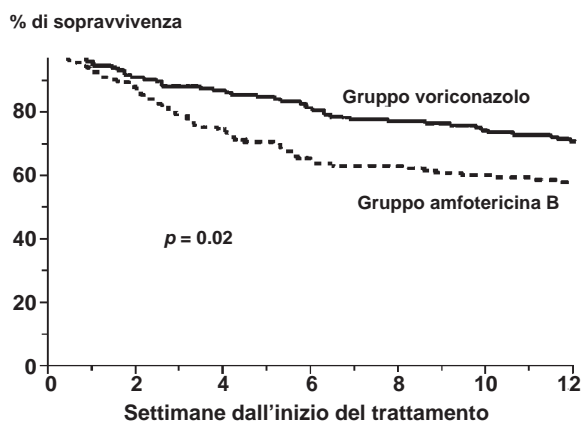


Figura 2. Voriconazolo vs AmB nella terapia di prima linea dell'aspergillosi invasiva: curve di sopravvivenza in base al farmaco impiegato.¹¹

d nel trattamento dell'aspergillosi. In tale studio, la differenza osservata fra i due farmaci è stata nella tossicità renale (minore nei pazienti trattati con ABCD) e negli effetti collaterali da infusione (addirittura inferiori in corso di AmB-d). Per quanto riguarda l'efficacia, pur apparendo i due farmaci non differenti in termini di risposta terapeutica, mortalità generale e letalità correlata all'infezione fungina, la valutazione è risultata inadeguata per il limitato numero di pazienti arruolati nello studio. Negli ultimi due anni, inoltre, sono stati pubblicati almeno due studi importanti nei quali è stata valutata l'efficacia e la tossicità del voriconazolo nel trattamento delle infezioni invasive da *Aspergillus*.^{11,21} In un primo studio multicentrico non controllato²¹ su 116 pazienti trattati in terapia primaria o di salvataggio, il voriconazolo è risultato efficace nel 48% dei casi tra i quali vi erano anche pazienti con localizzazione cerebrale di infezione. Ad eccezione di transitori disturbi del visus, la tossicità del farmaco è risultata molto contenuta. Il secondo studio rappresenta la più importante ed ampia esperienza prospettica in cui due farmaci sono stati confrontati nel trattamento dell'aspergillosi invasiva.¹¹ Una peculiare caratteristica di questo studio è stata la possibilità di proseguire il trattamento con un altro antifungino (*other licensed antifungal treatment, OLAT*) in caso di sospensione del farmaco iniziale (voriconazolo o AmB-d) per tossicità o inefficacia. Un totale di 144 pazienti nel gruppo voriconazolo e 133 pazienti nel gruppo AmB-d hanno ricevuto almeno una dose di trattamento. La valutazione alla dodicesima settimana dimostrava una risposta significativamente migliore nel gruppo voriconazolo (52,8% vs 31,6%). Un altro dato importante è rappresentato dalla maggiore sopravvivenza associata all'uso di voriconazolo (70,8%

vs 57,9%) (Figura 2). I pazienti trattati con voriconazolo hanno presentato inoltre meno effetti collaterali pur soffrendo di disturbi visivi nel 44,8% dei casi.

I risultati di questo studio chiaramente supportano l'impiego del voriconazolo nella terapia primaria dell'aspergillosi invasiva in quanto per la prima volta un farmaco antifungino ha dimostrato di essere più efficace, di ridurre la mortalità e di associarsi ad una minore incidenza di effetti collaterali rispetto all'AmB-d che fino ad oggi era considerato il *golden standard* della terapia delle infezioni da funghi filamentosi. Tali risultati, tuttavia, non sembrano essere esenti da critiche in quanto il disegno dello studio ha comportato la sospensione del trattamento iniziale con AmB-d nell'80% dei casi contro il 37% dei pazienti trattati con voriconazolo e la durata media di trattamento con il farmaco iniziale è stata di 77 giorni nel gruppo voriconazolo e solo di 10 giorni nel gruppo AmB-d. Di fatto questo secondo gruppo ha ricevuto, a discrezione dei singoli sperimentatori, un antifungino (OLAT) diverso dall' AmB-d per la maggior parte del trattamento senza che fossero specificati nel protocollo precisi criteri per la sospensione del trattamento antifungino primario. Nonostante le potenziali critiche nel disegno dello studio e nell'interpretazione dei risultati, questa esperienza offre chiare indicazioni all'uso del voriconazolo nel trattamento delle infezioni da *Aspergillus* soprattutto nelle forme disseminate e con localizzazione cerebrale nelle quali la letalità con le terapie attualmente disponibili è vicina al 100%.

Altri nuovi farmaci, tra cui le echinocandine caspofungin e micafungina, hanno dimostrato di essere valide alternative terapeutiche nell'aspergillosi. Il caspofungin, che tra questi è l'antifungino in fase più avanzata di studio, è stato approvato dall'FDA e dall'EMA nella terapia di salvataggio dell'aspergillosi invasiva in base ai risultati di uno studio su 83 pazienti immunocompromessi.²² Tali pazienti erano stati inclusi in questo studio non controllato in quanto non rispondenti (86%) o non tolleranti (14%) ad altra terapia antifungina di prima linea (AmB-d, formulazioni lipidiche di AmB, itraconazolo). Rispetto ad altri studi di terapie di salvataggio nei quali sono state impiegati altri antifungini (ad es. voriconazolo, ABLC, AmB liposomiale), questo ha la peculiarità di includere per la maggior parte pazienti non rispondenti a precedenti terapie e solo una minoranza di pazienti che avevano interrotto precedenti trattamenti per tossicità. Il trattamento con caspofungin ha dimostrato di essere efficace nel 45% della popolazione totale e nel 56% dei casi trattati almeno per 7 giorni (39% dei non rispondenti e 75% degli intolleranti). Il farmaco ha inoltre mostrato un eccellente profilo di tollerabilità essendo associato ad effetti collaterali in solo il 2% dei pazienti.

Un ulteriore aspetto di cui sembra importante dis-

cutere è il potenziale uso delle echinocandine, tra cui il caspofungin, nella terapia di combinazione con altre classi di antifungini. Mentre i polieni e gli azoli agiscono direttamente o indirettamente sull'ergosterolo presente nella membrana cellulare dei funghi, il sito di azione delle echinocandine, la β -1,3-D-glucano sintetasi, è posizionato nella parete cellulare. I differenti siti di azione di tali farmaci hanno fatto immediatamente ipotizzare la potenzialità di una azione sinergica tra classi di antifungini in analogia con quanto dimostrato per le molecole antibatteriche. Gli studi *in vitro* sembrano allo stato attuale non mostrare effetto antagonista tra echinocandine ed altri antifungini, mentre numerosi sono i modelli sperimentali che dimostrano la frequente attività sinergica, o quanto meno additiva.²³⁻²⁸ Non sono ancora disponibili studi clinici randomizzati nei quali la terapia di associazione comprendente echinocandine sia stata adeguatamente paragonata ad una monoterapia. Tuttavia, recenti studi non controllati nei quali il caspofungin è stato associato all'AmB liposomiale sembrano dimostrare innanzitutto una ottima tollerabilità, ma anche una promettente efficacia (42-60% di risposta) sia in terapia primaria che di salvataggio.²⁹⁻³¹ Le evidenze cliniche offerte dalla letteratura non consentono, allo stato attuale, di raccomandare l'uso del caspofungin in associazione con altri antifungini nel trattamento di prima linea delle aspergillosi invasive; tuttavia, in particolari quadri clinici come le infezioni disseminate — nei quali anche con le più recenti terapie la letalità continua ad essere elevatissima — l'associazione di antifungini comprendente una echinocandina potrebbe già essere considerata una possibile strategia terapeutica.

Il trattamento delle candidosi invasive

Con l'avvento del fluconazolo, da alcuni anni l'AmB-d non rappresenta più l'unico farmaco di scelta nel trattamento delle candidosi invasive,³ tuttavia, l'elevata mortalità ancora associata a tali infezioni e l'emergenza di specie di *Candida* resistenti al fluconazolo hanno stimolato la ricerca farmacologica e clinica allo studio di strategie terapeutiche alternative. Negli ultimi due anni, vari studi randomizzati hanno evidenziato il possibile ruolo di nuove molecole antifungine nel trattamento delle candidosi invasive.¹ I primi studi pubblicati tra il 2001 e il 2003 confrontavano il voriconazolo e il caspofungin con AmB-d o fluconazolo nel trattamento delle esofagiti da *Candida species*.³²⁻³⁴ Probabilmente perché il fluconazolo e l'AmB-d sono molto efficaci in questo tipo di infezione superficiale da *Candida*, sia il voriconazolo che il caspofungin non hanno dimostrato vantaggi in termini di efficacia, tut-

tavia, questi studi hanno evidenziato l'ottima tollerabilità dei nuovi farmaci sicuramente migliore rispetto all'AmB-d e almeno pari a quella del fluconazolo. Recentemente, il caspofungin e l'AmB-d sono stati confrontati in uno studio randomizzato, in doppio cieco, nel trattamento di 224 pazienti con infezione invasiva da *Candida*.³⁵ Nella valutazione della intera popolazione, non è stata osservata una differenza significativa tra i due farmaci in termini di efficacia (73,4% nel gruppo caspofungin vs 61,7% nel gruppo AmB-d). Tuttavia, considerando esclusivamente i 185 pazienti che presentavano determinate caratteristiche (non altra terapia antifungina concomitante, non grave violazione del protocollo, appropriata valutazione alla fine del trattamento e durata del trattamento non inferiore a 5 giorni) la percentuale di risposta è risultata significativamente migliore nel gruppo caspofungin (80,7% vs 64,9%). La mortalità è risultata paragonabile nei due gruppi (34,2% nel gruppo caspofungin vs 30,4% nel gruppo AmB-d). Solo lo 0,9% dei pazienti nel gruppo caspofungin contro il 40% nel gruppo AmB-d hanno presentato effetti collaterali di rilievo. Questo studio sembra dimostrare che il caspofungin è una efficace e poco tossica alternativa all'AmB-d nel trattamento delle candidosi invasive allargando quindi ulteriormente le possibilità di scelta terapeutica di queste gravi infezioni micotiche. Tuttavia, i pazienti inclusi in questa esperienza erano nel 90% dei casi non neutropenici ed il 50% di essi era portatore di catetere venoso centrale. Pertanto, in analogia con quanto già osservato in precedenti studi nei quali erano stati impiegati altri antifungini, come il fluconazolo,^{36,37} questa esperienza sicuramente supporta l'uso del caspofungin nel trattamento delle candidosi invasive nei pazienti non neutropenici ma, forse, necessità di ulteriori conferme nella popolazione dei pazienti neutropenici.

Gli studi pubblicati dopo il 2000 sulle nuove opzioni terapeutiche delle infezioni da *Candida* hanno apportato importanti progressi nel trattamento di queste gravi micosi. Per tale motivo l'IDSA ha pubblicato nel Gennaio 2004 nuove linee guida⁴ a soli 4 anni di distanza dalle precedenti.³ Come si può osservare nella Tabella 1, nel trattamento di prima linea della candidemia nell'adulto, all'AmB-d, fluconazolo e prodotti lipidici di AmB si aggiunge il caspofungin sia nel paziente non neutropenico che neutropenico.

TESTO AGGIUNTO INCOMPRESIBILE

L'echinocandina è per il momento raccomandata dalle linee guida IDSA 2000 come trattamento di seconda linea della candidemia del bambino per mancanza di adeguati studi di farmacocinetica. L'echinocandina, inoltre, viene considerata di seconda linea nella candidosi disseminata cronica o candidosi epatosplenica in quanto l'esperienza clinica in tali particolari forme di

Tabella 1. Sintesi delle linee guida dell'IDSA nel trattamento di alcune infezioni da *Candida*.⁴

Tipo di infezione	Terapia		Durata	Commenti
	Prima scelta	Seconda scelta		
Candidemia				
Adulto non neutropenico	AmB-d 0,6-1 mg/kg/die; o FLU 400-800 mg/die e.v. o p.os; o CASPO	AmB-d 0,7 mg/kg/die più FLU 800 mg/die per 4-7 gg, poi FLU 800 mg/die	14 gg dopo l'ultima emocoltura positiva e risoluzione dei segni e sintomi di infezione	Rimuovere il catetere venoso se possibile
Bambino	AmB-d 0,6-1 mg/kg/die; o FLU 6 mg/kg/12 h e.v o p.os	CASPO	14-21 gg dopo l'ultima emocoltura positiva e risoluzione dei segni e sintomi di infezione	Mancano studi di farmacocinetica per CASPO nel bambino
Neutropenico	AmB-d 0,7-1 mg/kg/die; o Lipid AmB 3-6 mg/kg/die; o CASPO	FLU 6-12 mg/kg/die e.v. o p.os	14 gg dopo l'ultima emocoltura positiva e risoluzione dei segni e sintomi di infezione	La rimozione del catetere venoso centrale nel neutropenico è una procedura controversa; spesso la porta di ingresso è l'apparato gastroenterico. Nelle forme più gravi può essere utile la terapia di associazione con flucitosina.
Candidosi disseminata cronica	AmB-d 0,6-0,7 mg/kg/die o Lipid AmB 3-5 mg/kg/die	FLU 6-12 mg/kg/die	3-6 mesi e risoluzione o calcificazione delle lesioni radiologiche	Il FLU può sostituire l'AmB-I dopo 1-2 settimane di trattamento se le condizioni cliniche sono stabili o migliorate
Endoftalmite	AmB-d 0,7-1 mg/kg/die; o FLU 6-12 mg/kg/die e.v o p.os	–	6-12 settimane dopo la vitrectomia	La vitrectomia è solitamente indicata quando è presente vitreite. Il ruolo della iniezione intravitreale di antifungini è poco chiaro.
Esofagite	FLU 100-200 mg/die e.v. o p.os; o ITRA 200 mg/die	VORI 4 mg/kg/12h e.v. o p.os; o AmB-I 0,3-0,7 mg/kg/die; o CASPO	14-21 giorni dopo il miglioramento clinico	La terapia endovenosa è necessaria nei pazienti con esofagite grave o refrattaria al trattamento orale

AmB-d: amfotericina B deossicolato; FLU: fluconazolo; CASPO: caspofungina; Lipid-AmB: prodotto lipidico di amfotericina B; ITRA: itraconazolo

candidosi è ancora limitata. Per quanto riguarda il voriconazolo, le linee guida dell'IDSA contemplano l'uso di tale farmaco solo nel trattamento di seconda linea della esofagite da *Candida*.

Il trattamento delle infezioni fungine rare

I recenti studi sulle infezioni da *Aspergillus* e *Candida* dimostrano come ampie casistiche prospettiche multicentriche rappresentino un mezzo prezioso e insostituibile nella sperimentazione di nuove opzioni terapeutiche. Il disomogeneo andamento epidemiologico di queste patologie infettive e la difficoltà nell'esecuzione di studi prospettici che coinvolgano un numero elevato di centri da più continenti possono far

capire come sia difficile poter condurre una sperimentazione in grado di offrire delle risposte solide e definitive a problematiche terapeutiche complesse. Questi sono i motivi che giustificano il limitato numero di adeguati studi disegnati per valutare differenze di efficacia nel trattamento delle più frequenti infezioni fungine. L'esempio più eclatante, come già osservato, è rappresentato dalla aspergillosi invasiva: solo nel 2002 sono stati pubblicati i primi due studi prospettici controllati e solo uno di essi ha offerto utili informazioni in termini di efficacia.^{10,11}

Per quanto riguarda altri tipi di infezioni fungine molto meno frequenti delle precedenti, come le mucormicosi, le fusariosi, le scedosporiosi, e le tricosporonosi il ricorso a studi prospettici, randomizzati, su un adeguato numero di pazienti si può considerare praticamente inattuabile, anche coinvolgendo molti speri-

mentatori. Per questo, la valutazione di nuovi approcci terapeutici in questi rari tipi di infezione deve essere affidata alla attenta e critica speculazione sugli studi *in vitro*, sulle infezioni sperimentali nell'animale, su piccole casistiche o, addirittura, su singoli casi clinici che la letteratura scientifica è in grado di fornire.

Le attuali strategie terapeutiche per la maggior parte delle infezioni fungine rare sono assolutamente inadeguate. Infatti, la mortalità in questi tipi di infezioni oscilla tra il 50% ed il 90% e le forme disseminate sono quasi sempre fatali. Recenti studi di laboratorio e limitate esperienze cliniche sembrano suggerire un potenziale ruolo dei nuovi triazoli, voriconazolo, posaconazolo e ravuconazolo in molte di queste micosi.^{1,38,41} Anche se la loro bassa incidenza non permette di effettuare adeguati studi che possano confermare il reale ruolo terapeutico di questi farmaci, la inaccettabile letalità associata ad alcune di queste infezioni, soprattutto le fusariosi e le scedosporiosi, sembra poter autorizzare l'impiego di nuovi farmaci potenzialmente utili in attesa di ulteriori conferme cliniche. Il voriconazolo, allo stato attuale sembra essere l'unica alternativa disponibile all'AmB nelle sue varie formulazioni nel trattamento delle fusariosi, scedosporiosi e tricosporonosi. Un discorso a parte deve essere fatto per le infezioni da zigomiceti. Questo gruppo di patogeni, tra i quali ricordiamo i generi *Mucor*, *Absidia*, *Rhizopus*, *Rhizomucor* e *Cunninghamella* determinano infezioni quasi sempre fatali nei pazienti con emopatie maligne, in particolare se affetti da leucemia acuta.^{42,43}

La diagnosi eziologica delle mucormicosi è resa particolarmente difficile dalla scarsa sensibilità degli esami microbiologici, minore rispetto a quella osservata per gli altri miceti. Inoltre, i quadri clinici che si osservano in corso di mucormicosi nel paziente leucemico o trapiantato sono aspecifici e spesso sovrapponibili a quelli osservati nelle aspergillosi invasive (pansinusiti, lesioni polmonari cavitari e col segno dell'alone perilesionale, lesioni cerebrali). Il più delle volte, solo gli esami biotici possono, ad un occhio esperto, condurre ad una diagnosi di infezione da zigomiceti. L'incidenza delle mucormicosi sembra essere molto bassa, ma, in considerazione delle enormi difficoltà diagnostiche, è probabilmente sottostimata.

Le opzioni terapeutiche attualmente proponibili sono rappresentate esclusivamente dall'AmB nelle sue varie formulazioni. Né il voriconazolo, né il caspofungin offrono alcun vantaggio terapeutico in quanto entrambe inattive nei confronti degli zigomiceti. Solo il posaconazolo sembra avere una qualche attività *in vitro*, ma non sono ancora disponibili dati clinici o sperimentali utili a confermare una qualche attività *in vivo*. Il limitato spettro di sensibilità delle mucormicosi agli antifungini che, in pratica, controindica tutte le nuove molecole particolarmente utili nei confronti del-

le altre infezioni fungine, impone una particolare attenzione alla diagnostica microbiologica e alla epidemiologia locale.

La terapia antifungina empirica

La terapia antifungina empirica viene universalmente impiegata da due decenni nei pazienti neutropenici.⁵ L'elevata letalità correlata alle micosi invasive e l'utilità di un trattamento precoce hanno indotto ad adottare anche per gli antifungini la stessa politica vincente già impiegata nella terapia antibatterica. In realtà i risultati positivi ottenuti per le infezioni batteriche non lo sono stati per le infezioni fungine per le quali si è in cerca di nuove strategie con l'impiego di nuovi antifungini ma soprattutto con la rivalutazione critica degli approcci terapeutici, compresa la stessa politica dell'uso empirico della terapia antimicotica. Gli sforzi nella ricerca clinica effettuati negli ultimi 10 anni hanno dato come risultato comune che molti antifungini come le formulazioni lipidiche di AmB, il fluconazolo e l'itraconazolo sono una possibile alternativa all'AmB-d, in quanto meno tossici pur con la stessa efficacia.^{6,44} Le linee guida dell'IDSA pongono l'indicazione all'uso dell'AmB liposomiale nei casi di patologia renale di base o, in terapia di salvataggio in pazienti intolleranti o non rispondenti all'AmB-d.⁵ La cautela nell'impiego in prima linea di un farmaco come l'AmB liposomiale che ha dimostrato, rispetto all'AmB-d, il solo vantaggio della minore tossicità è determinata soprattutto dalla enorme differenza di costo tra i due antifungini (l'AmB-d costa circa 50 volte in meno) che necessariamente deve essere tenuta in considerazione nella complessa politica dell'uso dei farmaci. Inoltre, molti studi clinici e sperimentali hanno dimostrato ormai da anni che il principale effetto collaterale dell'AmB-d, la nefrotossicità, può essere notevolmente contenuto con una adeguata idratazione e supplementazione di elettroliti, in particolare di sodio.⁴⁵⁻⁴⁸ Per tutti questi motivi, l'AmB-d viene ancora considerato il *golden standard* della terapia antifungina empirica e molti sono i sostenitori di una attenta scelta dei farmaci antifungini che, in assenza di chiare differenze di efficacia, venga guidata da una valutazione che tenga conto della tollerabilità ma anche dei costi.^{49,50}

Nel settembre 2003 al 43° ICAAC sono stati ufficialmente presentati i risultati di uno studio nel quale AmB liposomiale e il caspofungin sono stati confrontati in terapia empirica.⁵¹ Per le dimensioni del campione e per il tipo di disegno usato (i due farmaci sono stati confrontati in doppio cieco) questo rappresenta il più importante studio di questo genere mai effettuato. Ben 1123 pazienti oncologici provenienti da

Tabella 2. Caspofungina vs AmB liposomiale nella terapia empirica dei pazienti neutropenici con febbre persistente: risultati nella popolazione di pazienti "modified intention-to-treat" (Ref 51).

	<i>Caspofungina</i> N = 556 %	<i>AmB-lip</i> N = 539 %
Percentuale globale di successo	34,2	33,6
Terapia delle infezioni presenti all'inizio del trattamento	51,9 (14/27)	25,9 (7/27)
Assenza di infezioni insorte dopo l'inizio della terapia	94,8	95,5
Sopravvivenza a 7 giorni dopo la terapia	92,6	89,2
Non sospensione della terapia per tossicità o mancanza di efficacia	89,7	85,5
Risoluzione della febbre	41,2	41,4

Tabella 3. Criteri di scelta della terapia antifungina alla luce delle linee guida e dei recenti studi clinici.

<i>Indicazione</i>	<i>Terapia di prima scelta</i>	<i>Terapia alternativa</i>
Terapia empirica	AmB-d Caspofungin* AmB liposomiale®	—
Aspergillosi	Voriconazolo	Caspofungin AmB-d Formulazioni lipidiche di AmB® Itraconazolo [§]
Candidosi	AmB-d Fluconazolo Caspofungin	Formulazioni lipidiche di AmB® Itraconazolo
Mucormicosi	AmB-d	Formulazioni lipidiche di AmB®
Fusariosi	Voriconazolo	AmB-d Formulazioni lipidiche di AmB®
Scedosporiosi	Voriconazolo	Itraconazolo
Tricosporonosi	AmB-d ± flucitosina	Voriconazolo Formulazioni lipidiche di AmB® Fluconazolo
Criptococchi	AmB-d ± flucitosina	Fluconazolo Itraconazolo Formulazioni lipidiche di AmB®

*In alternativa all'AmB-d in presenza di tossicità, nefropatia di base o interazioni farmacologiche. ®In alternativa all'AmB-d in presenza di tossicità o nefropatia di base.
[§]Limitato alla terapia orale di prosecuzione

116 ospedali in 26 nazioni ed affetti da febbre resistente alla terapia antibatterica in corso di neutropenia, sono stati inclusi nello studio. In analogia con i criteri impiegati in precedenti studi,⁴⁴ il successo della terapia era definito dal raggiungimento di un endpoint composito costituito da 5 obiettivi: 1) sfebbramento prima della risalita dei granulociti neutrofilici; 2) non sospensione della terapia per tossicità o inefficacia; 3) cura di ogni eventuale infezione fungina presente, ma non diagnosticata, all'inizio della terapia empirica; 4) prevenzione di infezioni fungine insorte dopo l'inizio della terapia; 5) sopravvivenza a 7 giorni dopo il termine della terapia. Caspofungin si è dimostrato non inferiore rispetto all'AmB liposomiale, raggiungendo

l'endpoint primario e soddisfacendo così tutti e 5 gli obiettivi prefissati (Tabella 2). Tuttavia, i risultati importanti a vantaggio del caspofungin sono stati la migliore attività nel trattamento dei pazienti con infezione fungina presente alla randomizzazione (53% vs 26%) e, soprattutto, la migliore sopravvivenza della popolazione globale (93% vs 89%) e dei pazienti con infezione fungina all'esordio (89% vs 56%). Come era prevedibile, conoscendo la notevole tollerabilità del caspofungin, l'incidenza di effetti collaterali è stata significativamente inferiore nei pazienti trattati con caspofungin, specialmente per la minore incidenza di nefrotossicità (2,6% vs 11,5%) e di tossicità peri-infusione (35,1% vs 51,6%).

Per concludere, questo studio di terapia antifungina empirica fornisce risultati di grande valore scientifico grazie innanzitutto al particolare disegno dello studio (randomizzazione in doppio cieco e ben oltre mille pazienti valutabili), ma soprattutto alle importanti implicazioni cliniche: è la prima volta nella storia degli studi di terapia antifungina empirica che un farmaco dimostra chiari vantaggi in termini di efficacia oltre che di tollerabilità. E' comunque necessario attendere la pubblicazione estesa dello studio per una valutazione critica dei risultati e per individuare il ruolo del caspofungin nel futuro della terapia antimicotica empirica.

Conclusioni

Questi ultimi due anni hanno rappresentato una fase cruciale nella storia della terapia delle infezioni fungine. Due nuovi farmaci con caratteristiche antimicrobiche e farmacocinetiche interessanti sembrano poter migliorare, se non rivoluzionare, le potenzialità terapeutiche di molte micosi invasive (Tabella 3). Un aspetto importante che ha interessato entrambi i farmaci è stata l'elevata qualità degli studi clinici che, per il numero di pazienti arruolati e per il rigore scientifico nel disegno delle sperimentazioni, hanno permesso di ottenere risultati fino ad ora mai raggiunti.

- Il voriconazolo in prima linea, e il caspofungin in terapia di salvataggio, costituiscono valide alternative alle varie formulazioni di AmB nel trattamento dell'aspergillosi, anche nelle infezioni sostenute da specie di *Aspergillus* potenzialmente resistenti all'AmB.
- il caspofungin potrà essere impiegato nel trattamento delle candidosi invasive dimostrando elevata attività antimicrobica anche nei confronti della maggior parte dei ceppi di *Candida* resistenti agli altri anti-

fungini.

- Il voriconazolo, pur in assenza di validi studi clinici controllati, può essere considerato di scelta nel trattamento delle scedosporiosi, fusariosi e tricosporiosi.
- Purtroppo, i recenti progressi non sembrano interessare le infezioni da zigomiceti per le quali l'AmB, nelle varie formulazioni, continua ad essere l'unica molecola antifungina con una certa efficacia.
- Il caspofungin ha finalmente dimostrato di essere una vantaggiosa alternativa all'AmB in termini di tossicità ma soprattutto di efficacia nella terapia antifungina empirica nel paziente neutropenico.

Il numero di farmaci utili nel trattamento delle gravi micosi si è quindi notevolmente ampliato ed è presumibile che nei prossimi anni altre molecole della classe degli azoli e delle echinocandine con nuove e interessanti caratteristiche saranno a disposizione dei clinici. Tuttavia, la possibilità di scelta tra farmaci con differenti attività antimicrobiche impone un supporto diagnostico che fino ad oggi poteva essere ritenuto superfluo in mancanza di alternative terapeutiche. L'uso ottimale dei diversi antifungini e, di conseguenza, il miglioramento della prognosi delle gravi infezioni micotiche, dipenderà, come per le infezioni batteriche, dalla differenziazione clinica dei numerosi patogeni che potrà essere ottenuta grazie all'intensificazione della diagnostica invasiva e all'implementazione del laboratorio di micologia. A tal riguardo, il microbiologo dovrà essere in grado di approfondire la diagnostica micologica con l'identificazione dei miceti a livello di genere e di specie e con la valutazione della sensibilità in vitro ai vari antimicotici. Solo grazie ad una attenta collaborazione multispecialistica potranno essere ottenuti i progressi che tanto ci aspettiamo dalle nuove strategie terapeutiche delle gravi micosi invasive.

Bibliografia

1. Girmenia C, Martino P. New antifungal drugs and new clinical triads: interpreting results may be difficult. *Curr Opin Oncol* 2003;15:283-8.
2. Stevens DA, Kan VL, Judson MA, Morrison VA, Dummer S, Denning DW, et al. Practice guidelines for diseases caused by *Aspergillus*. Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2000; 30:696-709.
3. Rex JH, Walsh TJ, Sobel JD, Filler SG, Pappas PG, Dismukes WE, et al. Practice guidelines for the treatment of candidiasis. Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2000;30:662-78.
4. Pappas PG, Rex JH, Sobel JD, Filler SG, Dismukes WE, Walsh TJ, Edwards JE. Guidelines for treatment of candidiasis. *Clin Infect Dis* 2004;38:161-89.
5. Hughes WT, Armstrong D, Bodey GP, Bow EJ, Brown AE, Calandra T, et al. 2002 guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. *Clin Infect Dis* 2002;34:730-51.
6. Lin SJ, Schranz J, Teutsch SM. Aspergillosis case-fatality rate: systematic review of the literature. *Clin Infect Dis* 2001;32:358-66.
7. Denning DW, Stevens DA. Antifungal and surgical treatment of invasive aspergillosis: review of 2121 published cases. *Rev Infect Dis* 1990;12:1147-201.
8. Denning DW. Therapeutic outcome in invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 1996;23:608-15.
9. Marr KA, Carter RA, Crippa F, Wald A, Corey L. Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2002;34:909-17.
10. Bowden R, Chandrasekar P, White MH, Li X, Pietrelli L, Gurwith M, et al. A double-blind, randomized, controlled trial of amphotericin B colloidal dispersion versus amphotericin B for treatment of invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *Clin Infect Dis* 2002;35:359-66.
11. Herbrecht R, Denning DW, Patterson TF, Bennett JE, Greene RE, Oestmann JW, et al. Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. Invasive Fungal Infections Group of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer and the Global Aspergillus Study Group. *N Engl J Med* 2002;347:408-15.
12. Lass-Flörl C, Kofler G, Kropshofer G, Hermans J, Kreczy A, Dierich MP, et al. In vitro testing of susceptibility to amphotericin B is a reliable predictor of clinical outcome in invasive aspergillosis. *J Antimicrob Chemother* 1998;42:497-502.

13. Walsh TJ, Petraitis V, Petraitiene R, Field-Ridley A, Sutton D, Ghannoum M, et al. Experimental pulmonary aspergillosis due to *Aspergillus terreus*: pathogenesis and treatment of an emerging fungal pathogen resistant to amphotericin B. *J Infect Dis* 2003; 188:305-19.
14. Tracy SL, McGinnis MR, Peacock JE, Cohen MS, Walker DH. Disseminated infection by *Aspergillus terreus*. *Am J Clin Pathol* 1983;80:728-33.
15. Tritz DM, Woods GL. Fatal disseminated infection with *Aspergillus terreus* in immunocompromised hosts. *Clin Infect Dis* 1993; 16:118-22.
16. Hara KS, Ryu JH, Lie JT, Roberts GD. Disseminated *Aspergillus terreus* infection in immunocompromised hosts. *Mayo Clin Proc* 1989;64:770-5.
17. Trachana M, Roilides E, Gompakis N, et al. Case report. Hepatic abscesses due to *Aspergillus terreus* in an immunodeficient child. *Mycoses* 2001;44:415-8.
18. Torres HA, Rivero GA, Lewis RE, Hachem R, Raad II, Kontoyiannis DP. Aspergillosis caused by non-fumigatus *Aspergillus* species: risk factors and in vitro susceptibility compared with *Aspergillus fumigatus*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003; 46:25-8.
19. Baddley JW, Pappas PG, Smith AC Moser SA. Epidemiology of *Aspergillus terreus* at a University hospital. *J Clin Microbiol* 2003; 41:5525-9.
20. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; approved standard. M38-A Wayne, PA: USA. NCCLS. 2001
21. Denning DW, Ribaud P, Milpied N, Caillot D, Herbrecht R, Thiel E, et al. Efficacy and safety of voriconazole in the treatment of acute invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 2002;34:563-71.
22. Maertens J, Raad I, Petrikos G. Update of the multicenter noncomparative study of caspofungin in adults with invasive aspergillosis refractory or intolerant to other antifungal agents: analysis of 90 patients. Program and abstracts of the 42nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy; Sept 27-30, 2002; San Diego, CA, USA [388 abstract M-686].
23. Arikan S, Lozano-Chiu M, Paetznic V. In vitro synergy of caspofungin and amphotericin B against *Aspergillus* and *Fusarium* spp. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:245-7.
24. Perea S, Gonzalez 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.
25. Shalit I, Shadkhan Y, Samra Z, Oshero N. In vitro synergy of caspofungin and itraconazole against *Aspergillus* spp.: MIC versus minimal effective concentration end points. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:1416-8.
26. Schwarz P, Dromer F, Lortholary O, Danaoui E. In vitro interaction of flucytosine with conventional and new antifungals against *Cryptococcus neoformans* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:3361-4.
27. Hossain MA, Reyes GH, Long LA, Mukherjee PK, Ghannoum MA. Efficacy of caspofungin combined with amphotericin B against azole-resistant *Candida albicans*. *J Antimicrob Chemother* 2003;51:1427-9.
28. 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.
29. Aliff TB, Maslak PG, Jurcic JG, Heaney ML, Cathcart KN, Sepkowitz KA, et al. Refractory *Aspergillus* pneumonia in patients with acute leukemia. *Cancer* 2003;97: 1025-32.
30. Rubin MA, Carrol KC, Cahill BC. Caspofungin in combination with itraconazole for the treatment of invasive aspergillosis in humans. *Clin Infect Dis* 2002;34: 1160-1.
31. Tascini C, Tagliaferri E, Iapoco R, Leonildi A, Menichetti F. Caspofungin in combination with itraconazole and amphotericin B for the treatment of invasive aspergillosis in humans, with a method to test ex vivo synergism. *Clin Microbiol Infect* 2003;9:901-2.
32. Ally R, Schurmann D, Kreisler W, Carosi G, Aguirrebengoa K, Dupont B, et al. A randomized, double-blind, double-dummy, multicenter trial of voriconazole and fluconazole in the treatment of esophageal candidiasis in immunocompromised patients. Esophageal Candidiasis Study Group. *Clin Infect Dis* 2001; 33:1447-54.
33. Villanueva A, Arathoon EG, Gotuzzo E, Berman RS, DiNubile MJ, Sable CA. A randomized double-blind study of caspofungin versus amphotericin B for the treatment of candidal esophagitis. *Clin Infect Dis* 2001;33:1529-35.
34. Villanueva A, Gotuzzo E, Arathoon EG, Noriega LM, Kartsonis NA, Lupinacci RJ, et al. A randomized double-blind study of caspofungin versus fluconazole for the treatment of esophageal candidiasis. *Am J Med* 2002;113:294-9.
35. Mora-Duarte J, Betts R, Rotstein C, Colombo AL, Thompson-Moya L, Smetana J, et al. Comparison of caspofungin and amphotericin B for invasive candidiasis. Caspofungin Invasive Candidiasis Study Group. *N Engl J Med* 2002;347: 2020-9.
36. Rex JH, Bennett JE, Sugar AM, Pappas PG, van der Horst CM, Edwards JE, et al. A randomized trial comparing fluconazole with amphotericin B for the treatment of candidemia in patients without neutropenia. Candidemia Study Group and the National Institute. *N Engl J Med* 1994;331:1325-30.
37. Girmenia C, Martino P. The treatment of candidemia. *N Engl J Med* 1995;332: 1101.
38. Perfect JR, Marr KA, Walsh TJ, Greenberg RN, DuPont B, de la Torre-Cisneros J, et al. Voriconazole treatment for less-common, emerging, or refractory fungal infections. *Clin Infect Dis* 2003; 36:1122-31.
39. Walsh TJ, Lutsar I, Driscoll T, Dupont B, Roden M, Ghahramani P, et al. Voriconazole in the treatment of aspergillosis, scedosporiosis and other fungal infections in children. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21:240-8.
40. Girmenia C, Pizzarelli G, D'Antonio D, Cristini F, Martino P. In vitro susceptibility testing of *Geotrichum capitatum*: comparison of the E-test, disk diffusion, and Sensititre colorimetric methods with the NCCLS M27-A2 broth microdilution reference method. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:3985-8.
41. Paphitou NI, Ostrosky-Zeichner L, Paetznic VL, Rodriguez JR, Chen E, Rex JH. In vitro antifungal susceptibilities of *Trichosporon* species. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:1144-6.
42. Pagano L, Offidani M, Fianchi L, Nosari A, Candoni A, Piccardi M, et al. Mucormycosis in hematologic malignancies. The GIMEMA (Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto) Infection Program. *Haematologica* 2004;89:207-14.
43. Nosari A, Oreste P, Montillo M, Carrafiello G, Draisci M, Muti G, et al. Mucormycosis in hematologic malignancies: an emerging fungal infection. *Haematologica* 2000;85:1068-71.
44. Walsh TJ, Pappas P, Winston DJ, Lazarus HM, Petersen F, Raffalli J, et al. Voriconazole compared with liposomal amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with neutropenia and persistent fever. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group. *N Engl J Med* 2002;346: 225-34.
45. Branch RA. Prevention of amphotericin B-induced renal impairment: a review on the use of sodium supplementation. *Arch Intern Med* 1988;148:2389-94.
46. Girmenia C, Gentile G, Micozzi A, Martino P. Nephrotoxicity of amphotericin B deoxycholate. *Clin Infect Dis* 2001;33: 915-6.
47. Girmenia C, Cimino G, Micozzi A, Gentile G, Martino P. Risk factors for nephrotoxicity associated with conventional amphotericin B therapy. *Am J Med* 2002; 113:351.
48. Mayer J, Doubek M, Doubek J, Horky D, Scheer P, Stepanek M. Reduced nephrotoxicity of conventional amphotericin B therapy after minimal nephroprotective measures: animal experiments and clinical study. *J Infect Dis* 2002;186:379-88.
49. Johnson JR. Reduction of nephrotoxicity associated with amphotericin B deoxycholate. *Clin Infect Dis* 2004;38:303.
50. Spellberg B, Witt MD, Beck CK. Amphotericin B: is a lipi-formulation gold standard feasible? *Clin Infect Dis* 2004;38: 304-5.
51. Walsh TJ, Sable C, De Pauw B. A randomized, double-blind, multicenter trial of caspofungin vs liposomal amphotericin B for empirical antifungal therapy of persistently febrile neutropenic patients. 43rd Annual Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. OP M-1761. Chicago. Sept. 14-17, 2003.