

MECANISMES D'ACCIÓ DELS ANTIFÚNGICS I RESISTÈNCIA EN LLEVATS

JOSEP M. TORRES-RODRÍGUEZ, YOLANDA MORERA I EIDI ALVARADO

Unitat de Recerca en Micologia Experimental i Clínica, Institut Municipal d'Investigació Mèdica, IMAS, Universitat Autònoma de Barcelona.

Adreça per a la correspondència: Josep M. Torres. Unitat de Recerca en Micologia Experimental i Clínica, Institut Municipal d'Investigació Mèdica, IMAS, Universitat Autònoma de Barcelona. Dr. Aiguader, 80. 08003 Barcelona. Adreça electrònica: jmtorres@imim.es.

RESUM

Si bé s'ha avançat en la síntesi de nous antifúngics i se'n coneix el mode d'acció, els mecanismes moleculars de resistència encara són insuficientment coneguts, i afecten principalment els llevats i els azoles.

El fluconazole ha estat un dels antifúngics en els quals més s'ha aprofundit l'estudi de les resistències, i s'ha comprovat que aquestes poden ser degudes a mecanismes múltiples, entre els quals la major activitat dels transportadors o bombes d'*efflux* tenen un paper important, ja que expulsen a l'exterior l'antifúngic que ha penetrat a la cèl·lula. Les alteracions de la diana cel·lular i l'alteració de la via de síntesi de l'ergosterol present a la membrana també tenen un paper important. Els gens *CDR1* i *BEN-R* estan implicats en aquests mecanismes de resistència.

En altres antifúngics com l'amfotericina B i les equinocandines les resistències no semblen ser problemes clínics importants. *Candida albicans* pot presentar resistències secundàries a la 5-fluorocitosina per pèrdua d'activitat enzimàtica i disminució de l'efecte del metabòlit actiu.

La relació entre resistències i manca de resposta terapèutica ha estat demostrada en models animals i estudis clínics, tot i que la resposta al tractament antifúngic depèn en molts casos d'altres factors com l'estat immunitari del malalt, l'espècie fúngica causal, la farmacocinètica i la biodisponibilitat del fàrmac, entre d'altres.

Paraules clau: antifúngics, resistència, sensibilitat *in vitro*, llevats.

SUMMARY

Most of our knowledge on antifungal resistance mechanisms is related to yeasts and azoles. Fluconazole is the most studied antifungal and several resistance mechanisms have been demonstrated. Efflux pump seems to be the most important, but cell-target changes and modifications in the ergosterol metabolic way are also relevant.

CDR1 and BEN-R are two genes involved in those resistance mechanisms.

Resistance is not a major clinical problem with amphotericin B and echinocandins, but *Candida albicans* can have secondary resistances to 5-fluorocytosine when enzymatic activity is lost and the active metabolite is lacking.

Relationship among antifungal resistance and therapeutic response has been shown in experimental animal models and in clinical studies, but response to the treatment is also related to immunological status of the patient as well to the fungal species, and pharmacological aspects of the drug.

Keywords: antifungal agents, resistance, *in vitro* susceptibility, yeast.

INTRODUCCIÓ

En les darreres dues dècades s'han produït els avenços més importants pel que fa al desenvolupament de nous antifúngics, fet que ha estat motivat en gran part per l'increment de les infeccions fúngiques sistèmiques greus com a conseqüència de l'existència d'importants grups de risc, principalment els malalts immunosuprimits i els ingressats en unitats de vigilància intensiva, que són particularment susceptibles de contraure infeccions fúngiques oportunistes (Petri *et al.*, 1997; Sandven, 2000).

Els llevats del gènere *Candida* són els agents etiològics més freqüents d'aquestes infeccions o micosis, seguits a distància de floridures com *Aspergillus*, diferents zigomicets (*Rhizopus*, *Absidia*, *Rhizomucor*) i altres espècies que, si bé són excepcionals, comporten un pesseïm pronòstic per al malalt infectat, a causa de la seva resistència primària a pràcticament tots els antifúngics disponibles; entre aquests es troba *Scedosporium prolificans*, *Fusarium* sp. i d'altres (Guarro i Gené, 1995; Idigoras *et al.*, 2001).

Entre els llevats, *C. albicans* ocupa el primer lloc com a agent d'infeccions invasores i candidèmies, tot i que en alguns estudis o en grups particulars de malalts *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* o *C. glabrata* l'han reemplaçada. En tot cas, l'increment de candidosis per espècies diferents de *C. albicans* sembla ser una constant i aquest fet determina que algunes, com *C. krusei* o *C. lusitanae*, siguin resistents

de manera intrínseca a antifúngics de primera magnitud, com ara els triazòlics o l'amfotericina B, respectivament.

L'aparició i expansió de les infeccions pel virus de la immunodeficiència humana (VIH), que al nostre país va tenir la seva màxima expressió des de finals dels anys vuitanta fins a mitjan dècada dels noranta, va portar a una inusual freqüència de candidosis mucoses (orofaríngia, esofàgica, vaginal) com a resultat de la davallada dels limfòcits CD4. Aquestes infeccions van conduir a l'administració, de manera mai vista fins aleshores, d'antifúngics sistèmics i, principalment, del fluconazole (FNZ), triazole de primera generació. L'ús generalitzat i a vegades poc controlat d'aquest antifúngic va portar que apareguessin els primers fracassos terapèutics i es van trobar soques de *C. albicans* resistents a l'FNZ, la majoria de les vegades compartides també per l'itraconazole (ITZ), l'altre triazòlic de primera generació. Aquests fets, la comprovació de l'existència d'espècies de *Candida* intrínsecament resistents als triazòlics (*C. krusei*) i l'adquisició de resistències a aquests antifúngics (*C. albicans*, *C. glabrata*) van comportar les següents situacions:

a) El desenvolupament de tècniques estandarditzades per estudiar la sensibilitat *in vitro* als antifúngics.

b) La recerca per conèixer els mecanismes moleculars de les resistències.

c) La síntesi de nous antifúngics més actius o amb dianes diferents.

En la present revisió s'analitzen els coneixe-

ments actuals sobre els mecanismes de resistència dels llevats als antifúngics i, principalment, als triazoles.

ANTIFÚNGICS DISPONIBLES EN CLÍNICA HUMANA I MECANISME D'ACCIÓ

A la taula 1 es presenten els antifúngics utilitzats en clínica humana per al tractament de micosis sistèmiques.

L'amfotericina B (AMB) forma part dels grups dels antifúngics poliènics que inhibeixen la síntesi de l'ergosterol. Aquest antifúngic i els seus derivats lipídics són força utilitzats en les micosis sistèmiques greus, a causa de la seva gran activitat, l'efecte fungicida i l'ampli espectre d'acció. En llevats s'ha registrat un molt baix nombre de resistències, excepte en espècies de *Candida* poc freqüents, com *C. lusitaniae*, *C. norvergensis* o *C. guilliermondii*. L'elevada incidència d'efectes tòxics de l'AMB-desoxicolat o l'alt preu de les AMB associades a lípids fan que el seu ús no sigui tan generalitzat.

Els triazòlics i, principalment, el fluconazole, han estat els més utilitzats, per la seva eficàcia i bona tolerància, però l'efecte fungistàtic i l'aparició de resistències han portat al desenvolupament dels anomenats *triazoles de segona generació*, entre els quals fins ara només s'ha comercialitzat el voriconazole (VCZ), en el qual s'ha incrementat l'espectre d'activitat i s'han reduït les resistències, si bé no s'han eliminat per complet (Kauffman i Zarins, 1998).

En els darrers temps, la caspofungina, com a primer representant de les equinocandines, s'ha incorporat a la terapèutica antifúngica. Aquest fàrmac aporta un nou mecanisme d'acció, el més específic dels coneguts fins ara, ja que actua sobre la paret de la cèl·lula fúngica. La caspofungina és activa sobre soques de *Candida* resistents a altres antifúngics, però no sobre *Cryptococcus neoformans*. No es coneixen

fins al moment resistències adquirides de llevats a aquest antifúngic (Marco *et al.*, 1998).

Altres antifúngics com la 5-fluorocitosina (5-FC) tenen un ús molt més reduït, i es consideren d'associació amb l'AMB en la criptococcosi meníngia. La 5-FC, que actua sobre la síntesi del DNA del fong i ocasiona un efecte fungistàtic, presenta com a principal inconvenient el desenvolupament de resistències secundàries en *C. albicans* (Pfaller *et al.*, 2002).

A la figura 1 es mostren esquemàticament els diferents llocs d'acció dels antifúngics comentats.

MECANISME D'ACCIÓ DELS TRIAZOLES

El miconazole per via intravenosa i el ketoconazole per via oral van ser els primers antifúngics azoles a utilitzar-se en teràpia humana. Aquests imidazoles tenen un limitat espectre i escassa biodisponibilitat. Per la freqüència i importància dels efectes secundaris, es van deixar d'utilitzar (miconazole) o es va restringir a indicacions molt específiques.

Amb l'aparició dels triazoles (fluconazole, itraconazole i voriconazole) se'n va ampliar l'espectre, i amb el mateix mecanisme d'acció es van poder reduir els efectes secundaris. Actualment es disposa de nous triazoles en fases de desenvolupament, com són el posaconazole, el ravuconazole i l'albaconazole.

El voriconazole és el darrer triazole comercialitzat al nostre país. Comparteix característiques farmacocinètiques amb el fluconazole i l'itraconazole, i és més actiu que el primer, ja que inclou espècies que són resistents a l'FNZ, com *C. glabrata* o *C. krusei*, si bé les concentracions inhibidores mínimes (CIM) són superiors que amb *C. albicans*. També és actiu enfront de *Cryptococcus*, *Trichosporon* i sobre alguns fongs miceliars com *Aspergillus fumigatus*.

El mecanisme d'acció dels triazoles és el bloqueig de l'enzim 14 α -desmetilasa. Aquesta inhibició es produeix en formar-se un com-

TAULA 1. Antifúngics disponibles a l'Estat espanyol per al tractament de les micosis sistèmiques produïdes per llevats

Grup antifúngic	Fàrmac
Poliens	Amfotericina B
Pirimidines fluorades	5-fluorocitosina
Azoles	Fluconazole Itraconazole Voriconazole
Equinocandines	Caspofungina ^a

^aSense acció sobre *Cryptococcus neoformans*.

plex entre el triazole i part del citocrom P-450 del fong, que impedeix el pas del lanosterol a l'ergosterol, component fonamental de la membrana citoplasmàtica de la cèl·lula fúngica. L'alteració de la permeabilitat de la membrana i el cúmul de peròxids no solament aturen la reproducció, sinó que produeixen un dany cel·lular que la fa més susceptible al sistema fagocític i immunitari de l'hoste.

Segons el grau d'especificitat de l'antifúngic pel citocrom P-450, que també es troba present a les cèl·lules dels mamífers, hi haurà més o menys efectes adversos en els pacients que rebin la medicació.

RESISTÈNCIA ALS AZOLES

En els antifúngics azoles, els mecanismes de resistència clínica poden ser deguts a:

- La resistència intrínseca de la soca.
- El desplaçament de soques sensibles per altres de resistents, sigui de la mateixa espècie o d'espècies diferents.
- Les resistències adquirides durant el tractament.

Les resistències als azoles són degudes a alteracions genètiques o a l'expressió temporal de gens de resistència.

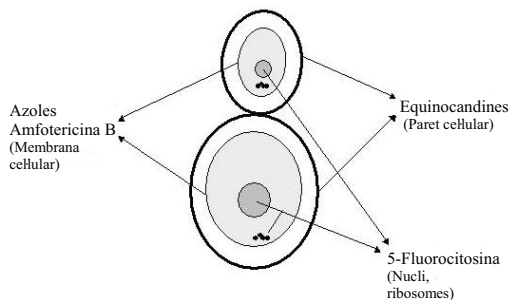


FIGURA 1. Representació esquemàtica dels llocs d'acció dels principals antifúngics d'administració sistèmica sobre *Candida* sp.

MECANISMES MOLECULARS DE LA RESISTÈNCIA ALS AZOLES

En els llevats, i principalment en *Candida*, fins ara s'han descrit els següents mecanismes de resistència als azoles:

- Major activitat per increment de les bombes transportadores d'efflux de l'antifúngic.
- Resistència als azoles per alteracions de la diana cel·lular.
- Mecanisme de resistència als azoles a causa d'alteracions en la ruta de la biosíntesi de l'ergosterol.
- Combinació de mecanismes de resistència.

MAJOR ACTIVITAT PER INCREMENT DE LES BOMBES TRANSPORTADORES D'EFFLUX DE L'ANTIFÚNGIC

Els dos transportadors implicats són els anomenats *transportadors ABC* (*ATP-binding cassette*) o *efflux multidrug* i el de la classe MF o *transportadors MFS* (*major facilitator superfamily*). El gen principal del transportador ABC és el *CDR1* i el de l'MF correspon al *BEN-R*, també anomenat *MDR1* (vegeu la figura 2).

En les soques de llevats resistents hi ha

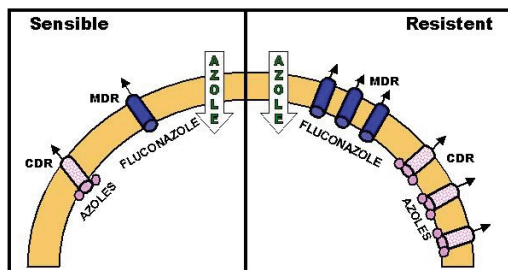


FIGURA 2. Bombes transportadores d'efflux. Els gens principals dels transportadors ABC són el grup CDR, i els dels transportadors MSF són del grup MDR.

una sobreexpressió dels gens que codifiquen aquests grups de transportadors.

Els transportadors ABC són una superfamília de proteïnes que es troben formant porus a la membrana de la cèl·lula fúngica i que posseeixen dos dominis citoplasmàtics (vegeu la figura 2). Aquestes proteïnes requereixen ATP perquè es produeixi el transport de substrats mitjançant bombeig a través d'una seqüència específica d'aminoàcids (coneguda com a *binding cassette*) (Ghannoum i Rice, 1999). S'ha descrit que aquestes bombes realitzen el transport de múltiples components, incloent-hi diversos tipus d'azoles cap a l'espai extracel·lular.

Fins ara, es coneixen diversos gens que codifiquen el sistema de transport ABC, obtinguts de *Candida* (Prasad *et al.*, 1995). Dintre d'aquests s'ha demostrat que la sobreexpressió dels gens *CDR1* té un paper important en el desenvolupament de la resistència (Ramage *et al.*, 2002). S'ha observat en *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis* i, recentment, en *Cryptococcus neoformans*, la presència del gen *CDR1*, que codifica proteïnes transportadores ABC i confereix resistència al fluconazole, amb gran semblança amb l'estructura de la P-glicoproteïna humana. Funciona com a bomba multidroga i està associada amb resistència a diversos agents quimioterapèutics (Ghannoum i Rice, 1999). Walsh *et al.* (1996) van observar que *C. albicans* podria tenir un o més gens diferents del *CDR1*, que també codificari-

en les proteïnes ABC, i fins ara se n'han descrit almenys cinc (*CDR1-CDR5*) que podrien estar relacionats amb el desenvolupament de la resistència als azoles.

Els transportadors MFS són un grup de proteïnes que també formen porus a la membrana de la cèl·lula fúngica (vegeu la figura 2) i estan codificades per diversos gens. Fins ara l'*MDR1* (també anomenat *BEN-R*) és l'únic clonat que sembla ser clínicament important. Aquest transportador ha demostrat conferir resistència contra diversos productes com la cicloheximida. Pel que fa als triazoles, sembla ser específic per al fluconazole.

Ambdós tipus de sistemes de transport són importants mecanismes de resistència contra els azoles, ja que s'ha observat que la inhibició de l'expressió dels gens *CDR* (transportadors ABC) i els gens *MDR1* (transportadors MFS) confereix hipersensibilitat als azoles i a altres drogues i, al contrari, la seva sobreexpressió incrementa la resistència (White *et al.*, 1998).

En aïllats de *C. albicans* que presenten resistències creuades amb altres derivats azòlics, s'ha comprovat que hi havia una sobreexpressió del gen *CDR2*. Aquest important mecanisme consisteix a expulsar l'antifúngic de la cèl·lula fúngica al medi extracel·lular per acció de proteïnes de membrana o intracel·lulars que provoquen un bombeig actiu (o *efflux*) que produeix una disminució de la concentració intracel·lular de l'antifúngic. Parkinson *et al.* (1995), van comparar aïllaments de *C. glabrata* que abans del tractament amb fluconazole eren sensibles i després van resultar resistents, i van observar que la quantitat de fluconazole acumulat en les soques resistents era menor. La baixa concentració de l'azole a l'interior de la cèl·lula fúngica resistent era conseqüència de l'acció de bombes d'*efflux*, dependents d'energia.

En *C. glabrata* s'ha descrit un altre mecanisme d'adquisició de resistència als azoles que consisteix en la pèrdua del DNA mitocondrial, si bé no és clar com es regulen els gens d'aquests transportadors.

La resistència als azoles pot ser reversible (Marr *et al.*, 1998) però en moltes ocasions es mantenen durant un gran nombre de generacions *in vitro*. Les modificacions en els transportadors poden produir resistències creuades amb altres antifúngics.

Els substrats dels transportadors estan inclosos en els codificats pels gens *CDR1* i *CDR2* i fins ara s'han comprovat els següents: fluconazole, itraconazole, posaconazole, ravuconazole i també en altres antifúngics no azoles com la terbinafina i amorolfina. En canvi, en els codificats pel gen *MDR1* el fluconazole és l'únic substrat conegut. L'amfotericina B i la 5-fluorocitosina no actuarien de substrats per a aquests tipus de transportadors.

RESISTÈNCIA ALS AZOLES PER ALTERACIONS DE LA DIANA CELLULAR

En aquest mecanisme s'incrementa la producció de l'enzim 14 α -desmetilasa, cosa que provoca que l'acció de l'azole sigui incompleta. S'ha observat que la sobreexpressió i amplificació del gen *ERG11* produeix aquest efecte (White, 1997).

La sobreexpressió del gen *ERG11* ha estat descrita en diversos aïllaments clínics de *C. albicans* amb fenotip resistent (Sanglard *et al.*, 1995). La importància que pugui tenir aquest tipus d'alteració genètica de l'*ERG11* sobre el desenvolupament de resistència als azoles s'ha vist limitada, atès que en les investigacions realitzades s'ha observat que la sobreexpressió sempre ha estat acompanyada per altres alteracions, ja sigui la mutació *R467K* o la sobreexpressió de gens del sistema de bombes d'*efflux*. És necessari ampliar més els estudis sobre aquest tipus d'alteració per avaluar en quin grau contribueix al desenvolupament de la resistència.

L'amplificació genètica és un altre tipus de mecanisme de resistència àmpliament utilitzat per les cèl·lules eucariotes. L'increment en

el nombre de còpies d'un gen (amplificació) usualment comporta un increment de la seva expressió.

Existeixen dades contradictòries pel que fa a l'estreta relació que tenen la sobreexpressió del gen *ERG11* i la seva amplificació. Sanglard *et al.* (1995) i White *et al.* (1998) suggereixen que la sobreexpressió del gen *ERG11* en *C. albicans* no estaria associada amb la seva amplificació. En canvi, Marichal *et al.* (1997) van observar en aïllaments clínics de *C. glabrata* nivells elevats de la 14 α -desmetilasa presumptament relacionats amb una amplificació de l'*ERG11*.

Les alteracions genètiques esmentades anteriorment signifiquen un important mecanisme de resistència en cèl·lules eucariotes i, pel que sembla, tenen un paper important en l'obtenció de cèl·lules resistents en *C. albicans* i probablement en altres fongs.

MECANISME DE RESISTÈNCIA ALS AZOLES A CAUSA D'ALTERACIONS EN LA RUTA DE LA BIOSÍNTESI DE L'ERGOSTEROL

Un mecanisme comú de resistència a les drogues és provocar canvis moleculars en els compostos que serveixen de diana o en aquells que hi estiguin relacionats. L'acció dels azoles és principalment sobre el citocrom P-450 (*ERG11*) i la 14 α -desmetilasa (també anomenada 14-*lanosterol-desmetilasa*) els quals són molt importants en la síntesi de l'ergosterol. Ambdós elements poden sofrir mutacions que n'impedeixin el reconeixement per part dels azoles. S'han identificat almenys dues alteracions genètiques que modifiquen l'estructura del gen *ERG11* de *C. albicans*: mutacions puntuals i conversió-recombinació mitòtica. En un estudi realitzat en *C. albicans*, es va observar la presència d'una mutació puntual a la posició 467 de l'estructura del gen *ERG11*. Un sol canvi d'arginina per lisina (*R467K*) va ser suficient per causar resistència als azoles, per

la qual cosa sembla que aquesta substitució es va donar de manera espontània en resposta a la presència del fàrmac (White, 1997). No obstant això, és possible que tinguin lloc alteracions simultànies perquè es produeixi aquest fenomen. La manipulació genètica al laboratori ha permès produir modificacions en la seqüència del gen *ERG11*, com el cas observat per Lamb *et al.* (1997), que van provocar una mutació puntual en *C. albicans* amb el canvi de treonina per alanina en la posició 315 (T315A), que ocupa un lloc molt proper al lloc actiu de l'enzim. Això va disminuir l'afinitat de la 14 α -desmetilasa pel fluconazole i va produir resistència. La conversió i la recombinació mitòtica del gen *ERG11* també ha tingut lloc en les cèl·lules fúngiques, White *et al.* (1998) van observar la conversió dels dos allels del gen *ERG11* a una versió mutada, i va donar com a resultat un canvi molecular de la 14 α -desmetilasa i resistència al fluconazole.

CANVIS EN LA COMPOSICIÓ DE LA MEMBRANA

Les interaccions entre els esterols i els fosfolípids presents al citoplasma afecten la fluïdesa i la asimetria de la membrana fúngica i, com a conseqüència, alteren el transport de productes a través d'aquesta. Hitchcock *et al.* (1987) van observar que la presència de grans quantitats de lípids a la membrana podrien alterar el pas del fluconazole a l'interior cel·lular i reemplaçar l'ergosterol per esterols metilats.

COMBINACIÓ DE MECANISMES DE RESISTÈNCIA ALS AZOLES

En llevats aïllats de pacients en tractament es pot anar observant l'increment en les CIM als azoles. Això indica que existeixen diferents mecanismes de resistència i que actuen de manera seqüencial, i explica que hi hagi

aïllaments amb valors molt elevats de resistència al fluconazole (> 64 μ g/ml).

Es donen a la vegada mecanismes de resistència per a les dues famílies de transportadors i alteracions en la diana d'alguns enzims. Hi ha una diversitat tan gran de mecanismes de resistència que existeixen multitud de patrons en les mutacions d'*ERG11* i en l'expressió de les proteïnes transportadores.

RESISTÈNCIES A ALTRES ANTIFÚNGICS

Mecanismes de resistència als poliens

Fins ara la resistència als poliens no es considerava un problema clínic; no obstant això, s'han comunicat casos aïllats de soques resistents, com per exemple, l'aïllament clínic de *C. tropicalis* resistent a AMB (White *et al.*, 1998).

També s'han modificat soques de *C. albicans* al laboratori que, probablement, per alteracions en l'esterol de la membrana, han desenvolupat resistència (Broughton *et al.*, 1991). També *in vitro* s'han obtingut soques de *C. neoformans* resistents a l'AMB, si bé el mecanisme no és prou clar i podria deure's a alteracions en l'esterol o a mutacions al gen que ho codifica (Kelly *et al.*, 1994).

Resistències a la 5-fluorocitosina

Com a pirimidina fluorada, la 5-FC, d'estructura molt pròxima al 5-fluoruracil, inhibeix la síntesi d'àcids nucleics per a llevats com *Candida* sp. i *Cryptococcus*. De fet, la 5-FC, per acció de la permeasa, entra a l'interior de la cèl·lula i és convertida per l'enzim citosina-desaminasa en 5-fluoruracil, i aquest passa a àcid fluorouridílic (FUMP), que després de ser fosforilat s'incorpora a l'RNA i inhibeix la síntesi de proteïnes (Polak i Scholer, 1975).

Les resistències primàries s'han descrit en

C. albicans en un petit nombre de soques, mentre que la secundària o adquirida sembla ser força més freqüent en funció de l'ús clínic de l'antifúngic i sobretot si s'administren dosis infraterapèutiques.

Els mecanismes de resistència són el resultat d'una disminució en la incorporació de la 5-FC a la cèl·lula fúngica, per pèrdua de l'activitat permeasa o per disminució de l'activitat enzimàtica que transforma la 5-FC en FUMP (Whelan, 1987).

El bloqueig en la formació del FUMP per pèrdua de l'activitat de la citosina-desaminasa o la disminució en l'activitat de la uracil-fosforibosiltransferasa (UPTRasa) confereix resistència a la 5-FC. Aquests canvis serien conseqüència de mutacions.

IMPORTÀNCIA CLÍNICA DE LA RESISTÈNCIA ALS ANTIFÚNGICS EN LLEVATS

Actualment s'utilitza un nombre limitat d'agents antifúngics, incloent-hi azoles, polienes i anàlegs de pirimidines per combatre les infeccions causades per llevats patògens.

Certs factors clínics poden contribuir al fracàs del tractament antifúngic, i això inclou el tipus i grau d'immunodeficiència, el compliment adequat del tractament, la dosi òptima, i aspectes farmacocinètics de l'antifúngic mateix.

També, els llevats exposats a aquests agents poden ser intrínsecament resistents o adquirir mecanismes de resistència específics, segons s'ha descrit anteriorment.

La resistència microbiològica pot ser definida com una disminució en la susceptibilitat a l'antifúngic. Actualment es disposa de mètodes de laboratori per mesurar la sensibilitat dels llevats patògens als antifúngics disponibles, i per distingir entre organismes sensibles i resistents. Aquesta distinció, de manera ideal, hauria de predir l'èxit o el fracàs del tractament des d'un punt de vista clínic, però com

s'ha indicat, intervenen altres factors independents de la resistència antifúngica.

Nombrosos estudis han buscat relacionar la sensibilitat a un determinat antifúngic mesurant les concentracions inhibidores mínimes i les concentracions fungicides mínimes, i comparant aquests valors amb els punts de tall de sensibilitat per predir l'èxit o el fracàs terapèutic d'aquest antifúngic davant de l'aïllament en concret. En models experimentals s'ha pogut relacionar la resposta terapèutica amb el nivell de sensibilitat o resistència i també en alguns assaigs clínics, però possiblement encara estem lluny de disposar dels coneixements suficients per poder assegurar que la resposta al tractament està directament relacionada amb la sensibilitat *in vitro* a un antifúngic concret.

BIBLIOGRAFIA

- BROUGHTON, M. C.; BARD, M.; LEES, N. D. (1991). «Polyene resistance in ergosterol producing strains of *Candida albicans*». *Mycoses*, vol. 34, pàg. 75-93.
- GHANNOUM, M. A.; RICE, L. B. (1999). «Antifungal agents: Mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance». *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 12, pàg. 501-517.
- GUARRO, J.; GENÉ, J. (1995). «Opportunistic fusarial infections in humans». *Europ. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 14, pàg. 7541-7545.
- HITCHCOCK, C. A.; BARRETT-BEE, K. A.; RUSSELL, N. J. (1987). «The lipid composition and permeability to azole of an azole- and polyene-resistant mutant of *Candida albicans*». *J. Med. Vet. Mycol.*, vol. 25, pàg. 29-37.
- IDIGORAS, P.; PÉREZ-TRALLERO, E.; PINEIRO, L.; LARRUSKAIN, J.; LOPEZ-LOPATEGUI, M. C.; RODRÍGUEZ, N.; GONZÁLEZ, J. M. (2001). «Disseminated infection and colonization by *Scedosporium prolificans*: a review of 18 cases 1990-1999». *Clin. Infect. Dis.*, vol. 32, pàg. 158-165.
- KAUFFMAN C. A.; ZARINS, I. T. (1998). «*In vitro* activity of voriconazole against *Candida* sp.» *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 31, pàg. 297-300.
- KELLY, S. L.; LAMB, C.; TAYLOR, M.; CORRAN, A. J.; BALDWIN, B. C.; POWDERLY, W. G. (1994). «Resistance to amphotericin B associated with defective sterol delta 8 → 7 isomerase in a *Cryptococcus neoformans* strain from an AIDS patient». *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 122, pàg. 39-42.
- LAMB, D. C.; KELLY, D. E.; SCHUNCK, W. H.; SHYADEHI, A. Z.; AKHTAR, M.; LOWE, D. J.; BALDWIN, B. C.;

- KELLY, S. L. (1997). «The mutation T315A in *Candida albicans* sterol 14 alpha-demethylase causes reduced enzyme activity and fluconazole resistance through reduced affinity». *J. Biol. Chem.*, vol. 272, pàg. 5682-5688.
- MARCO, F.; PFALLER, M. A.; MESSER, S. A.; JONES, R. N. (1998). «Activity of MK-0991 (L-743.872), a new echinocandin, compared with those of LY303366 and four other antifungal agents tested against blood stream isolates of *Candida* spp». *Diag. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 31, pàg. 33-37.
- MARICHAL, P.; BOSSCHE, H. VAN DEN; ODDS, F. C.; NOBELS, G.; WARNOCK, D. W.; TIMMERMAN, V.; BROECKHOVEN, C. VAN; FAY, S.; MOSSE LARSEN, P. (1997). «Molecular-biological characterization of an azole-resistant *Candida glabrata* isolate». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 41, pàg. 2229-2237.
- MARR, K. A.; LYONS, C. N.; RUSTAD, T. R.; BOWDEN, R. A.; WHITE, T. C.; RUSTAD, T. (1998). «Rapid transient fluconazole resistance in *Candida albicans* is associated with increased mRNA levels of CRD». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 42, pàg. 2584-2589.
- PARKINSON, T.; FALCONER, D. J.; HITCHCOCK, C. (1995). «Fluconazole resistance due to energy-dependent drug efflux in *Candida glabrata*». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 39, pàg. 1696-1699.
- PETRI, M. G.; KONIG, J.; MOECKE, H. P.; GRAMM, H. J.; BARKOW, H.; KUJATH, P.; DENNHART, R.; SCHAFER, H.; MEYER, N.; KALMAR, P.; THULIG, P.; MULLER, J.; LODE, H. (1997). «Epidemiology of invasive mycosis in ICU patients: a prospective multicenter study in 435 non-neutropenic patients». *Intensive. Care Med.*, vol. 23, pàg. 317-325.
- PFALLER, M. A.; MESSER, S. A.; BOYKEN, L.; HUYNH, H.; HOLLIS, R. J.; DIEKEMA, D. J. (2002). «In vitro activities of 5-fluorocytosine against 8,803 clinical isolates of *Candida* spp.: global assessment of primary resistance using National Committee for Clinical Laboratory Standards susceptibility testing methods». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 46, pàg. 3518-3521.
- POLAK, A.; SCHOLER, H. (1975). «Mode of action of 5-fluorocytosine and mechanisms of resistance». *Chemotherapy*, vol. 21, pàg. 113-130.
- PRASAD, R.; WERGIFOSSE, P. DE; GOFFEAU, A.; BALZI, E. (1995). «Molecular cloning and characterization of a novel gene of *Candida albicans*, *CDR1*, conferring multiple resistance to drugs and antifungals». *Curr. Genet.*, vol. 27, pàg. 320-329.
- RAMAGE, G.; BACHMANN, S.; PATTERSON, T. F.; WICKES, B. L.; LÓPEZ-RIBOT, J. L. (2002). «Investigation of multidrug efflux pumps in relation to fluconazole resistance in *Candida albicans* biofilms». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 49, pàg. 973-980.
- SANDVEN, P. (2000). «Epidemiology of candidemia». *Rev. Iberoamer. Micol.*, vol. 17, pàg. 73-81.
- SANGLARD, D.; KUCHLER, K.; ISCHER, F.; PAGANI, J. L.; MONOD, M.; BILLE, J. (1995). «Mechanisms of resistance to azole antifungal agents in *Candida albicans* isolates from AIDS patients involve specific multidrug transporters». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 39, pàg. 2378-2386.
- WALSH, T. J.; KASAI, M.; FRANCESCO, A.; LANDSMAN, D.; CHANOCK, S. J. (1996). «New evidence that *Candida albicans* possesses additional ATP-binding cassette MDR-like genes: implication for antifungal azole resistance». *J. Med. Vet. Mycol.*, vol. 35, pàg. 133-137.
- WHELAN, W. L. (1987). «The genetic basis of resistance to 5-fluorocytosine in *Candida* species and *Cryptococcus neoformans*». *Crit. Rev. Microbiol.*, vol. 15, pàg. 45-56.
- WHITE, T. C. (1997). «The presence of an R467K amino acid substitution and loss of allelic variation correlate with an azole-resistant lanosterol 14-alpha-demethylase in *Candida albicans*». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 41, pàg. 1488-1494.
- WHITE, T. C.; MARR, K. A.; BOWDEN, R. A. (1998) «Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance». *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 11, pàg. 382-402.