



Caso clínico

Candidiasis invasora en un receptor de trasplante hepático: tratamiento antifúngico de rescate precoz

Juan Carlos Pozo-Laderas^{a-c,*} y Antonio Pontes-Moreno^a

^aServicio de Medicina Intensiva, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba, España

^bInstituto Maimónides de Investigación Biomédica, Córdoba, España

^cCentro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBEREHD)

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 18 de marzo de 2011

Aceptado el 30 de marzo de 2011

Palabras clave:

Trasplante hepático

Infección fúngica invasora

Candida

Antifúngicos

RESUMEN

Antecedentes: Los receptores de trasplante hepático (RTH) pueden ser pacientes de riesgo para desarrollar candidemia o candidiasis invasora durante el período posoperatorio inmediato al trasplante. La profilaxis es la mejor estrategia para disminuir la incidencia de infección fúngica invasora (IFI) producida por *Candida* spp. en los receptores de riesgo alto. Pero en los casos de sospecha de aparición de IFI de brecha causada por *Candida*, un proceso de diagnóstico rápido y el tratamiento antifúngico precoz son los factores con un impacto mayor en el pronóstico.

Caso clínico: Presentamos un caso clínico de tratamiento de rescate precoz con anidulafungina en un RTH con curso posoperatorio complicado. Se discuten los factores de riesgo, la profilaxis, la sensibilidad de los biomarcadores y las características del tratamiento antifúngico.

Conclusiones: El tratamiento antifúngico de rescate precoz con candinas mejora sensiblemente el pronóstico en pacientes RTH de alto riesgo con IFI por *Candida*.

© 2011 Revista Iberoamericana de Micología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Invasive candidiasis in liver transplant recipient: Early rescue antifungal treatment

ABSTRACT

Background: Some liver transplant recipients could be at risk for candidemia or invasive candidiasis during the immediate postoperative period after transplantation. Prophylaxis is the best strategy to reduce the incidence of invasive fungal infection caused by *Candida* species in high-risk liver transplant recipients (HR-LTR), but in cases of suspected breakthrough invasive fungal infection due to *Candida*, both a rapid diagnosis process and early antifungal treatment are the most important factors impacting on the prognosis.

Clinical case: We report a case of early rescue treatment with anidulafungin in a HR-LTR with complicated postoperative course. We discuss risk factors, prophylaxis, sensitivity of biomarkers, and characteristics of antifungal management.

Conclusions: Early rescue antifungal treatment using candins improves the prognosis in HR-LTR suffering from invasive candidiasis.

© 2011 Revista Iberoamericana de Micología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Keywords:

Liver transplant

Invasive fungal infection

Candida

Antifungal agents

Los receptores de trasplante hepático (RTH) son pacientes de riesgo para presentar infección fúngica invasora (IFI) por *Candida* durante el período posoperatorio inmediato al trasplante^{30,35}. Se han descrito factores perioperatorios que incrementan el riesgo de IFI por

Candida en esta población³⁶. En los grupos de alto riesgo, la profilaxis se ha mostrado como la estrategia terapéutica con un impacto mayor para disminuir la incidencia de IFI^{9,46}. Recientemente se han publicado guías de práctica clínica que recomiendan el uso de fluconazol o anfotericina B liposomal para la profilaxis³⁷.

El diagnóstico de IFI por *Candida* en RTH durante el período posoperatorio inicial es un reto clínico. La incidencia de colonización en estos pacientes es muy elevada^{7,22}, y el crecimiento de *Candida* spp.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: juancarlos.pozo@ono.com (J.C. Pozo Laderas).

Tabla 1

Parámetros biológicos de la evolución posoperatoria del paciente y tratamiento antimicrobiano

	Pretrasplante	D1	D3	D6	D9	D10	D17	Al alta
Aspartato aminotransferasa (U/l)	55	2.637	684	253	129	451	148	76
Alanino aminotransferasa (U/l)	60	2.065	786	281	146	394	157	79
Fosfatasa alcalina (U/l)	32	55	76	354	423	633	256	153
Gammaglutamil transpeptidasa (U/l)	29	62	159	576	688	924	473	218
Bilirrubina total (mg/dl)	4,5	4,8	6,2	4,3	3,5	3,5	1,8	1,3
Hemoglobina (g/l)	105	90	87	92	92	90	94	92
Creatininemia (mg/dl)	0,8	1,8	2,4	1,8	1,7	1,7	1,3	1,2
Uremia (mg/dl)	25	75	112	153	148	142	73	65
Temperatura (°C)	37	35,5	37,5	37,5	37	38,5	36,5	37
Leucocitos (/μl)	2.400	4.500	12.070	15.400	12.800	14.200	8.900	7.800
Proteína C reactiva (ng/ml)	3	148	126	155	50	143	38	20
Procalcitonina (ng/ml)			57	16	10	6	0,5	
Inmunosupresión cuádruple terapia		Basiliximab Corticosteroides Micofenolato mofetilo			Tacrolimus (en dosis bajas) Corticosteroides Micofenolato mofetilo			
Tratamiento antibiótico			Amoxicilina/ácido clavulánico Cefotaxima		Linezolid Meropenem			
				Fluconazol			Anidulafungina	

en muestras no significativas tiene un valor cuestionable. Por otra parte, la sintomatología de la IFI por *Candida* es inespecífica, presenta criterios de gravedad muy variables dependiendo del estado general de los receptores, desde cuadros clínicos paucisintomáticos –incluso en IFI con importante diseminación–, hasta cuadros de extrema gravedad por síndrome de disfunción multiorgánica secundaria a shock séptico y, con frecuencia, se asocian a infecciones polimicrobianas. Sin embargo, en todos los casos de IFI por *Candida* la mortalidad atribuible a la infección es muy elevada (alrededor del 35-40%).

Caso clínico

Paciente varón de 43 años, diagnosticado de cirrosis hepática de etiología mixta (cirrosis etílica y hepatitis C), en estadio C-12 de Child-Pugh y con puntuación MELD de 30 y MELD-Na de 33 en el momento del trasplante. Se encontraba en lista activa de trasplante desde hacía un año por haber presentado deterioro de la función hepatocelular y episodios de descompensaciones clínicas (ascitis, episodios de peritonitis bacteriana espontánea, encefalopatía y desnutrición). Tras los episodios de deterioro de la función hepática, presentaba criterios de síndrome hepatorrenal de tipo 1, por lo que fue tratado con terlipresina, albúmina y sesiones de hemodiálisis intermitente días antes del trasplante.

El trasplante hepático se realizó sin complicaciones mediante técnica de preservación de cava, pero con necesidad de politransfusión de hemoderivados (hematíes 12 unidades de concentrados [UC], plasma 12 UC y plaquetas 2 UC) por hemorragia intraoperatoria difusa durante la hepatectomía. Tras el trasplante presentó una lesión de isquemia-reperfusión moderada-grave con incremento de las aminotransferasas por encima de 2.000 U/l, aunque con aceptable recuperación de la función de síntesis del injerto en la primera semana. Se inició una pauta de inmunosupresión dirigida a la protección renal, con basiliximab, esteroides en dosis decrecientes y micofenolato mofetilo, para realizar cuádruple terapia con introducción retardada de tacrolimus y profilaxis antimicrobiana con pauta habitual de amoxicilina/ácido clavulánico y cefotaxima, y se añadió profilaxis antifúngica con fluconazol a bajas dosis (200 mg/día). Se programó una profilaxis extendida durante 5 días.

A las 48 horas del trasplante precisó una reintervención quirúrgica urgente por anemización progresiva y presencia de colecciones perihepáticas. Se observaron puntos sangrantes difusos en el lecho quirúrgico, y se realizó una limpieza de cavidad y hemostasia. Tras la reintervención quirúrgica mantuvo la hemodinámica y la tasa de hemoglobina estables, pero aparecieron signos de fallo renal agudo posoperatorio con tendencia a oliguria (nivel RIFLE F)⁸. Fue tratado con repleción intensiva de volumen, albúmina y perfusión continua de bajas dosis de furosemida y eufilina con buena respuesta diurética. Al cuarto día posterior al trasplante se inició la administración de tacrolimus a dosis bajas (1 mg cada 12 h), alcanzando valores de tacrolimus en sangre de 3,7 ng/ml en estado estable, y se incrementó la dosis para mantenerlos alrededor de 5 ng/ml.

Al sexto día postrasplante, el paciente presentó episodios de encefalopatía, de causa probablemente multifactorial, y febrícula (< 38 °C) de forma intermitente. Se tomaron muestras de sangre para hemocultivos y muestras para cultivo del aspirado traqueal, de orina, de la herida quirúrgica y de los drenajes abdominales, y se inició un tratamiento antibiótico de amplio espectro con linezolid y meropenem, por lo que se decidió mantener la profilaxis con fluconazol. Se realizó una tomografía computarizada (TC) craneal que no mostró lesiones focales ni alteraciones densitométricas, ni en hemisferios cerebrales, cerebelo ni en estructuras troncoencefálicas, y una ecografía abdominal que mostraba el hígado sin alteraciones, una pequeña colección subhepática tabicada en su interior, y líquido peritoneal libre entre las asas intestinales, que parecían paréticas y llenas de líquido. Se confirmó una bacteriemia por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) y sensible a linezolid, y una colonización por *Candida* en tráquea y orina. La muestra de la herida quirúrgica mostró un crecimiento de estafilococos coagulasa-negativos, pero el aspecto clínico no confirmó el diagnóstico de infección. La radiografía de tórax no mostraba alteraciones parenquimatosas significativas, y sólo se observaba un pequeño derrame pleural en el lado derecho. Se cambió a través de una guía el catéter venoso central cuyo cultivo (de la punta) no mostró crecimiento de microorganismos. La evolución inicial fue favorable, con mejoría clínica, desaparición de la fiebre, y disminución de los biomarcadores de infección (tabla 1).

Al décimo día postrasplante el paciente presentó de nuevo fiebre de 38-38,5 °C con un deterioro progresivo del estado general y un nuevo incremento de los biomarcadores inflamatorios (tabla 1). Se realizaron nuevos hemocultivos, y se tomaron muestras del aspirado traqueal, de orina y de los drenajes abdominales para cultivo. La herida presentaba buen aspecto. Precisó aumentar el soporte de ventilación mecánica e iniciar una infusión continua de fármacos vasoactivos (noradrenalina a dosis de 0,2 µg/kg/min). Tras la toma de muestras para cultivos, se modificó el tratamiento antifúngico y se inició un tratamiento con anidulafungina según la pauta habitual, con dosis de carga de 200 mg en infusión de 180 min y dosis de mantenimiento de 100 mg/día en infusión de 90 min. Se realizó una TC abdominal que descartó la perforación de una víscera hueca, y que mostraba un derrame pleural bilateral, líquido libre perihepático en ligamento gastrohepático y gastroesplénico, y una colección subhepática de aspecto heterogéneo con tubo de drenaje en su interior. Se decidió realizar una segunda intervención quirúrgica. En quirófano se apreció el hígado con buen aspecto, colección fibrinoide y peritonitis plástica. Se tomaron muestras para microbiología y se realizó una limpieza de la colección subhepática y de cavidades. En los hemocultivos, cultivos de los drenajes abdominales y de las muestras obtenidas en la reintervención quirúrgica se aisló una cepa de *Candida albicans* resistente a fluconazol (concentración mínima inhibitoria [CMI] 8 µg/ml)¹² y sensible a candinas (CMI anidulafungina 0,12 µg/ml) y anfotericina B. Se mantuvo el tratamiento antifúngico durante 14 días. El paciente respondió favorablemente, con desaparición de la fiebre y mejoría progresiva del estado general. Durante su evolución no presentó efectos adversos significativos que pudieran relacionarse con la medicación antifúngica, y no se observó incremento de las aminotransferasas. Se apreció un leve incremento de la gamma-glutamiltranspeptidasa durante los primeros 2 días de tratamiento, difícil de relacionar con la medicación dado que posteriormente los valores sanguíneos disminuyeron de forma significativa. Los cultivos de control, en los días 7 y 14 de tratamiento fueron negativos. El paciente pudo ser dado de alta de la unidad de cuidados intensivos en el día 25 postrasplante.

Discusión

Los RTH son pacientes de riesgo para presentar infecciones agudas en el período posoperatorio precoz. Las infecciones bacterianas son las que presentan una incidencia mayor, pero existen factores de riesgo, bien conocidos en los RTH^{24,36}, que incrementan la incidencia de infecciones fúngicas, producidas por *Candida* predominantemente. A estos pacientes se les denomina pacientes de riesgo alto de IFI.

En nuestro paciente se inició una profilaxis antifúngica posoperatoria con fluconazol por presentar dos criterios de riesgo alto: disfunción renal previa con necesidad de hemodiálisis y politransfusión masiva durante la intervención quirúrgica. Posteriormente apareció otro factor de riesgo alto: la reintervención quirúrgica precoz.

En los pacientes de riesgo alto de IFI por *Candida*, la profilaxis está bien establecida³⁷, pero el seguimiento de las guías de práctica clínica es muy heterogénea³², posiblemente en relación con los efectos adversos producidos por los fármacos de uso habitual. Aunque se recomienda el uso de fluconazol o anfotericina B liposómica, no están bien establecidas ni la dosis, ni la duración de la profilaxis. El estudio que demostró que la profilaxis con fluconazol produce una disminución significativa de la incidencia de IFI y de la mortalidad atribuible^{46,52} utilizaba una dosis de 400 mg/día durante un período prolongado (mediana de 72 días). Sin embargo, la recomendación actual en las guías es de 200-400 mg/día durante 1-2 semanas, y en la práctica habitual se usan dosis próximas a 200 mg/día³². Esta práctica puede resultar ineficaz por la necesidad de tratamiento empírico⁹, producir una relación farmacocinética y farmacodinámica (PK/PD) subóptima, con incremento de la tasa de aislamientos de *Candida* resistentes a fluconazol^{11,15}, bien por desarrollo de resistencia en es-

pecies previamente sensibles o por selección de especies resistentes, y tener un potencial grave impacto sobre el pronóstico⁴. En RTH de riesgo alto seleccionados, la profilaxis con candinas puede ser una alternativa^{14,48}.

El diagnóstico clínico de IFI por *Candida* puede ser extremadamente difícil en estos pacientes. La sintomatología es inespecífica, y los criterios de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica aparecen con frecuencia en RTH sin criterios de infección activa. El diagnóstico a menudo es demasiado tardío, lo que condiciona el pronóstico. El hemocultivo, considerado el método de referencia para el diagnóstico de candidemia, tiene baja sensibilidad en los procedimientos automatizados (hasta un 43% de falsos negativos²⁰), especialmente cuando existe una baja concentración de unidades formadoras de colonias^{17,19}. Esto puede ocurrir cuando el paciente ha recibido profilaxis previa. Por otra parte, las muestras de especímenes tomados de lugares anatómicos no estériles tienen un valor relativo. Sólo el estudio histopatológico de muestras adecuadas es diagnóstico de confirmación de candidiasis invasora^{13,21}. Aunque nuestro paciente presentaba colonización multifocal de sitios no estériles, como es muy frecuente en los RTH, el diagnóstico de candidiasis invasora no puede por ello ser establecido. Pero el crecimiento de *Candida* en hemocultivos, además de en el lecho quirúrgico, confirma el diagnóstico de invasión.

Se ha estudiado una extensa lista de posibles biomarcadores de infección y sepsis⁴⁶ que puedan anticipar el diagnóstico, siendo procalcitonina uno de los biomarcadores que muestra la mejor curva característica (ROC de su acrónimo en inglés) para el diagnóstico de sepsis, pero que sin embargo presenta un bajo valor predictivo positivo en pacientes quirúrgicos con candidemia²⁶. En nuestro caso se apreció un incremento moderado y difícil de interpretar, dado que el paciente había sido trasplantado, precisó una reintervención quirúrgica precoz, presentó bacteriemia por MRSA y desarrolló candidiasis invasora en un intervalo de 10 días. La evolución de la proteína C reactiva se mostró más sensible a los cambios clínicos; aunque como otros marcadores de inflamación presenta una buena sensibilidad, su especificidad relacionada con la infección en pacientes quirúrgicos es baja.

También se han estudiado distintos componentes de las levaduras como biomarcadores específicos de infección fúngica^{6,7,34,40,47}. Actualmente sólo se acepta el betaglucano como marcador panfúngico de infección¹³, pero es una prueba difícil de implementar de forma sistemática en el laboratorio, con falsos positivos en el período posoperatorio precoz, y su uso es poco frecuente en la práctica clínica en España. La detección de ácidos nucleicos mediante la reacción en cadena de la polimerasa posiblemente se convertirá en la herramienta más útil para el diagnóstico precoz cuando se consiga una técnica estándar⁶. En nuestro centro no disponemos de la determinación de betaglucano, pero los ensayos preliminares de estudios moleculares para infección por *Candida* son esperanzadores, aunque en este caso no se realizaron.

La existencia de un biomarcador vicario de infección por *Candida* spp. o una técnica microbiológica de diagnóstico precoz no basada en el cultivo posibilitará en el futuro el inicio precoz del tratamiento antifúngico. Dado que todavía no existe ningún biomarcador que cumpla esta función, el tratamiento precoz ha de ser siempre instaurado de forma empírica ante la sospecha clínica de IFI por *Candida*, y retirado en ausencia de criterios de diagnóstico clínico-microbiológico positivo. Esta pauta de tratamiento se ha mostrado muy efectiva en la práctica clínica (observación personal).

La evolución de nuestro paciente (de alto riesgo) fue favorable tras el tratamiento de una infección bacteriana y se mantuvo la profilaxis con fluconazol a bajas dosis para evitar las interacciones con tacrolimus. Pero ante la presentación de un nuevo deterioro clínico, se realizó la toma de cultivos y se modificó el tratamiento antifúngico. La confirmación de candidemia y candidiasis invasora se estableció tras recibir los resultados microbiológicos 3 días después. La resistencia a fluconazol de distintas especies de *Candida*, y especialmente

en *C. albicans*, obliga a la determinación de la especie y el punto de corte de sensibilidad a los antifúngicos de todos los aislamientos en pacientes con candidiasis invasoras⁴⁹.

En la situación actual puede existir evidentemente riesgo de sobretratamiento, pero en pacientes de riesgo alto queda de sobra compensado por la elevada mortalidad atribuible a la IFI. Por otra parte, los estudios moleculares entre pacientes con candidiasis probadas o probables fueron positivos en el 85% (78-91%) de los casos, mientras que los hemocultivos lo fueron sólo en el 38% (29-46%). El tratamiento tardío, una vez recibidos los resultados de los estudios microbiológicos, conlleva un incremento significativo de la mortalidad^{16,25,31}. En nuestro medio, los resultados microbiológicos completos, con sensibilidad a los antifúngicos, tienen un retraso aproximado de 72-96 h desde la obtención de las muestras, aunque se han propuesto técnicas rápidas, como realizar un Etest directo¹⁸.

En la mayoría de los casos el tratamiento de la peritonitis por *Candida* debe ser mixto, tanto quirúrgico (de limpieza) como médico (con antifúngicos adecuados), dado que en otros casos los resultados pueden ser muy pobres²⁹.

Aunque no se ha observado un incremento significativo de la resistencia global a fluconazol en el transcurso de los años, sí se ha producido un incremento de resistencias en poblaciones específicas. Además, los puntos de corte para considerar la sensibilidad a los antifúngicos han variado para conseguir una mejor correlación con el resultado clínico^{38,39,43}. Una relación dosis/CMI > 75 se asoció con el éxito terapéutico, con una sensibilidad del 93%, una baja proporción de falsos positivos (29%), y con una curva ROC de 0,83¹¹. Por ello, el uso de dosis bajas puede predisponer a la aparición de infecciones de brecha durante la profilaxis.

El tratamiento recomendado por las guías de práctica clínica en pacientes que han recibido fluconazol o presentan cuadros clínicos graves son las candinas³⁷. Actualmente se conoce que no existe una resistencia cruzada entre fluconazol y candinas, y prácticamente todos los aislamientos de *Candida* resistentes a fluconazol son sensibles a las tres candinas, con CMI ≤ 0,25 µg/ml^{27,41}.

No hay evidencia científica que demuestre la superioridad de una candina frente a otra²⁸, aunque sí que existen diferencias en cuanto a la tolerabilidad y los efectos adversos, especialmente en relación con la hepatotoxicidad⁵¹. En el metaanálisis de Wang et al⁵¹, la anidulafungina presentó la menor tasa de riesgo de elevación de las enzimas hepáticas y no precisó el cese del tratamiento por la aparición de efectos adversos.

La anidulafungina, como la caspofungina o la micafungina, presenta un buen espectro de acción frente a *Candida* y tiene una intensa actividad fungicida in vitro con efecto antifúngico prolongado^{2,33}. Es un lipopéptido que se distribuye ampliamente en el organismo y exhibe una actividad dependiente de la concentración. El mayor volumen de distribución y su metabolismo extrahepático son características diferenciales respecto a la caspofungina y la micafungina. La anidulafungina se metaboliza por rotura fisiológica del anillo y degradación de éste por esterasas plasmáticas no específicas, por lo que su farmacocinética no se ve afectada por la función hepática ni presenta interacciones con fármacos que se metabolizan en el sistema del citocromo P450. Los valores de tacrolimus en sangre se comportaron de forma bastante previsible.

El parámetro PK/PD de las candinas que mejor se correlaciona con el pronóstico clínico es el área bajo la curva respecto a la CMI (ABC/CMI), aunque también se ha utilizado la concentración máxima (Cmax)/CMI. De forma global, una ratio Cmax/CMI mayor de 10 parecía correlacionarse con el éxito terapéutico³, pero también se manifestó que no existía una clara correlación entre la actividad fungicida en suero, la CMI y el resultado clínico^{41,50}, por lo que se recomendaba utilizar la respuesta clínica como el principal determinante para el tratamiento de la candidiasis³⁸. Sin embargo, estudios farmacodinámicos más recientes demuestran que existe una dependencia específica de especie, por lo que en casos de infecciones por *Candida* se

recomienda una ratio de fármaco libre ABC₀₋₂₄/CMI de 5-7 para *Candida parapsilosis* y *Candida glabrata* y entre 10 y 20 para *C. albicans*^{1,23}. Además, el EUCAST⁵ y el CLSI¹⁴ han publicado nuevos puntos de corte de sensibilidad dependiente de especie –integrando datos moleculares, clínicos y microbiológicos para cada una de las candinas–, que se comportan de forma más sensible para predecir el riesgo de fracaso clínico, y detectar la aparición de resistencias asociadas a mutaciones fks. La anidulafungina muestra una buena correlación entre la CMI y el pronóstico clínico, siendo sensibles el 99% de los aislamientos de *C. albicans* con los nuevos puntos de corte publicados y con un 93% de eficacia clínica.

En conclusión, en RTH de riesgo alto de IFI por *Candida* que han recibido previamente fluconazol a bajas dosis como profilaxis, pueden aparecer infecciones de brecha por especies resistentes a fluconazol. En estos casos, el tratamiento antifúngico de rescate precoz con candinas es efectivo, y posiblemente el factor con un impacto mayor en el pronóstico. La anidulafungina muestra un excelente perfil de seguridad con mínimos efectos adversos incluso en receptores con disfunción del injerto o disfunción renal, presenta una exposición al fármaco previsible y, en nuestro caso, una buena correlación con el pronóstico clínico.

Declaración de los autores

Los autores declaran que el contenido del presente artículo es original, no ha sido publicado previamente, ni está enviado ni sometido a consideración por ninguna otra publicación, ni en su totalidad ni en parte alguna.

Conflictos de intereses

Juan Carlos Pozo-Laderas ha recibido pagos por su participación en actividades de formación patrocinadas por Pfizer, Gilead y MSD, y participa en un estudio de investigación financiado por Astellas. Antonio Pontes-Moreno no declara conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Andes D, Diekema DJ, Pfaller MA, Bohrmuller J, Marchillo K, Lepak A. In vivo comparison of the pharmacodynamic targets for echinocandin drugs against *Candida* species. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54:2497-506.
2. Andes D, Diekema DJ, Pfaller MA, Prince RA, Marchillo K, Ashbeck J, et al. In vivo pharmacodynamic characterization of anidulafungin in a neutropenic murine candidiasis model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52:539-50.
3. Andes D, Marchillo K, Lowther J, Bryskier A, Stamstad T, Conklin R. In vivo pharmacodynamics of HMR 3270, a glucan synthase inhibitor, in a murine candidiasis model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;47:1187-92.
4. Arendrup MC, Cuenca-Estrella M, Donnelly JP, Lass-Flörl C, Rodriguez-Tudela JL. Association of fluconazole pharmacodynamics with mortality in patients with candidemia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53:2704-5.
5. Arendrup MC, Garcia-Effron G, Lass-Flörl C, Lopez AG, Rodriguez-Tudela JL, Cuenca-Estrella M, et al. Echinocandin susceptibility testing of *Candida* species: comparison of EUCAST EDef 7.1, CLSI M27-A3, Etest, disk diffusion, and agar dilution methods with RPMI and isosensitest media. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54:426-39.
6. Avni T, Leibovici L, Paul M. PCR diagnosis of invasive candidiasis: systematic review and meta-analysis. *J Clin Microbiol*. 2011;49:665-70.
7. Badiee P, Kordbacheh P, Alborzi A, Malekhoseini S, Zeini F, Mirhendi H, et al. Prospective screening in liver transplant recipients by panfungal PCR-ELISA for early diagnosis of invasive fungal infections. *Liver Transpl*. 2007;13:1011-6.
8. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P; ADQI workgroup: Acute renal failure – definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care*. 2004;8:R204-R212.
9. Cruciani M, Mengoli C, Malena M, Bosco O, Serpelloni G, Grossi P. Antifungal prophylaxis in liver transplant patients: a systematic review and meta-analysis. *Liver Transpl*. 2006;12:850-8.
10. Cuenca-Estrella M, Lee-Yang W, Ciblak MA, Arthington-Skaggs BA, Mellado E, Warnecke DW, et al. Comparative evaluation of NCCLS M27-A and EUCAST broth micro-dilution procedures for antifungal susceptibility testing of candida species. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:3644-7.
11. Cuesta I, Bielza C, Cuenca-Estrella M, Larrañaga P, Rodríguez-Tudela JL. Evaluation by data mining techniques of fluconazole breakpoints established by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and comparison with those of the Euro-

pean Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:1541-6.

12. Cuesta I, Bielza C, Larrañaga P, Cuenca-Estrella M, Laguna F, Rodriguez-Pardo D, et al. Data mining validation of fluconazole breakpoints established by the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53:2949-54.
13. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, et al; European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group; National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis.* 2008;46:1813-21.
14. Fortún J, Martín-Dávila P, Montejo M, Muñoz P, Cisneros JM, Ramos A, et al; GESITRA Study Group. Prophylaxis with caspofungin for invasive fungal infections in high-risk liver transplant recipients. *Transplantation.* 2009;87:424-35.
15. Garey KW, Pai MP, Suda KJ, Turpin RS, Rege MD, Mingo DE, et al. Inadequacy of fluconazole dosing in patients with candidemia based on Infectious Diseases Society of America (IDSA) guidelines. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2007;16:919-27.
16. Garey KW, Rege M, Pai MP, Mingo DE, Suda KJ, Turpin RS, et al. Time to initiation of fluconazole therapy impacts mortality in patients with candidemia: a multi-institutional study. *Clin Infect Dis.* 2006;43:25-31.
17. George BJ, Horvath LL, Hospenthal DR. Effect of inoculum size on detection of *Candida* growth by the BACTEC 9240 automated blood culture system using aerobic and anaerobic media. *J Clin Microbiol.* 2005;43:433-5.
18. Guinea J, Recio S, Escribano P, Torres-Narbona M, Peláez T, Sánchez-Carrillo C, et al. Rapid antifungal susceptibility determination for yeast isolates by use of Etest performed directly on blood samples from patients with fungemia. *J Clin Microbiol.* 2010;48:2205-12.
19. Horvath LL, George BJ, Hospenthal DR. Detection of fifteen species of *Candida* in an automated blood culture system. *J Clin Microbiol.* 2007;45:3062-4.
20. Horvath LL, Hospenthal DR, Murray CK, Dooley DP. Detection of simulated candidemia by the BACTEC 9240 system with plus aerobic/F and anaerobic/F blood culture bottles. *J Clin Microbiol.* 2003;41:4714-7.
21. Humar A, Michaels M; AST ID Working Group on Infectious Disease Monitoring. American Society of Transplantation recommendations for screening, monitoring and reporting of infectious complications in immunosuppression trials in recipients of organ transplantation. *Am J Transplant.* 2006;6:262-74.
22. Kusne S, Tobin D, Pasculle AW, Van Thiel DH, Ho M, Starzl TE. *Candida* carriage in the alimentary tract of liver transplant candidates. *Transplantation.* 1994;57:398-402.
23. Lepak A, Andes D. Fungal sepsis: optimizing antifungal therapy in the critical care setting. *Crit Care Clin.* 2011;27:123-47.
24. Liu X, Ling Z, Li L, Ruan B. Invasive fungal infections in liver transplantation. *Int J Infect Dis.* 2011. doi:10.1016/j.ijid.2011.01.005
25. MacCallum DM, Odds FC. Need for early antifungal treatment confirmed in experimental disseminated *Candida albicans* infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48:4911-4.
26. Martini A, Gottin L, Menestrina N, Schweiger V, Simion D, Vincent JL. Procalcitonin levels in surgical patients at risk of candidemia. *J Infect.* 2010;60:425-30.
27. Messer SA, Diekema DJ, Boyken L, Tendolkar S, Hollis RJ, Pfaller MA. Activities of mifafungin against 315 invasive clinical isolates of fluconazole-resistant *Candida* spp. *J Clin Microbiol.* 2006;44:324-6.
28. Mills EJ, Perri D, Cooper C, Nacheva JB, Wu P, Tleyjeh I, et al. Antifungal treatment for invasive *Candida* infections: a mixed treatment comparison meta-analysis. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2009;8:23.
29. Montravers P, Mira JP, Gangneux JP, Leroy O, Lortholary O; for the AmarCand study group. A multicentre study of antifungal strategies and outcome of *Candida* spp. peritonitis in intensive-care units. *Clin Microbiol Infect.* 2010. doi:10.1111/j.1469-0691.2010.03360.x.
30. Moreno A, Cervera C, Gavaldá J, Rovira M, De la Cámara R, Jarque I, et al. Bloodstream infections among transplant recipients: results of a nationwide surveillance in Spain. *Am J Transplant.* 2007;7:2579-86.
31. Morrell M, Fraser VJ, Kollef MH. Delaying the empiric treatment of *Candida* bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: a potential risk factor for hospital mortality. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:3640-5.
32. Muñoz P, Rojas L, Cervera C, Garrido G, Fariñas MC, Valerio M, et al; on behalf of the COMIT Study Group. Poor compliance with antifungal drug use guidelines by transplant physicians: a framework for educational guidelines and an international consensus on patient safety. *Clin Transplant.* 2011. doi:10.1111/j.1399-0012.2011.01405.x.
33. Nguyen KT, Ta P, Hoang BT, Cheng S, Hao B, Nguyen MH, et al. Anidulafungin is fungicidal and exerts a variety of postantifungal effects against *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, and *C. krusei* isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53:3347-52.
34. Obayashi T, Negishi K, Suzuki T, Funata N. Reappraisal of the serum (1-->3)-beta-D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections - a study based on autopsy cases from 6 years. *Clin Infect Dis.* 2008;46:1864-70.
35. Pappas PG, Alexander BD, Andes DR, Hadley S, Kauffman CA, Freifeld A, et al. Invasive fungal infections among organ transplant recipients: results of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET). *Clin Infect Dis.* 2010;50:1101-11.
36. Pappas PG, Andes D, Schuster M, Hadley S, Rabkin J, Merion RM, et al. Invasive fungal infections in low-risk liver transplant recipients: a multi-center prospective observational study. *Am J Transplant.* 2006;6:386-91.
37. Pappas PG, Kauffman CA, Andes D, Benjamin DK Jr, Calandra TF, Edwards JE Jr, et al; Infectious Diseases Society of America. Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2009;48:503-35.
38. Pemán J, Cantón E, Gobernado M; Spanish ECMM Working Group on Candidaemia. Epidemiology and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from blood: results of a 2-year multicentre study in Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2005;24:23-30.
39. Pemán J, Cantón E, Camarena Miñana JJ, Alcoba Florez J, Echeverría J, Navarro Ortega D, et al. Variación de la epidemiología de las fungemias y de la sensibilidad a flucanazol de los aislamientos en los últimos 10 años en España: resultados del estudio FUNGEMYCA. *Rev Iberoam Micol.* 2011;28:doi:10.1016/j.riam.2011.02.005.
40. Pemán J, Zaragoza R, Quindós G, Alkorta M, Cuétara MS, Camarena JJ, et al; the study group *Candida albicans* Germ Tube Antibody Detection in Critically Ill Patients (CAGTAUCI). Clinical factors associated with a *Candida albicans* germ tube antibody positive test in Intensive Care Unit patients. *BMC Infect Dis.* 2011;11:60.
41. Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ, Messer SA, Tendolkar S, Diekema DJ. In vitro activities of anidulafungin against more than 2,500 clinical isolates of *Candida* spp., including 315 isolates resistant to fluconazole. *J Clin Microbiol.* 2005;43:5425-7.
42. Pfaller MA, Diekema DJ, Andes D, Arendrup MC, Brown SD, Lockhart SR, et al; the CLSI Subcommittee for Antifungal Testing. Clinical breakpoints for the echinocandins and *Candida* revisited: Integration of molecular, clinical, and microbiological data to arrive at species-specific interpretive criteria. *Drug Resist Updat.* 2011 doi:10.1016/j.drup.2011.01.004
43. Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Ellis D, Tullio V, et al; and the Global Antifungal Surveillance Group. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. *J Clin Microbiol.* 2010;48:1366-77.
44. Pfaller MA, Espinel-Ingroff A, Boyken L, Hollis RJ, Kroeger J, Messer SA, et al. Comparison of the Broth Microdilution (BMD) Method of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing with the 24-hour CLSI BMD method for testing susceptibility of *Candida* species to fluconazole, posaconazole, and voriconazole by use of epidemiological cutoff values. *J Clin Microbiol.* 2011;49:845-50.
45. Pierrakos C, Vincent JL. Sepsis biomarkers: a review. *Crit Care.* 2010;14:R15.
46. Playford EG, Webster AC, Sorell TC, Craig JC. Antifungal agents for preventing fungal infections in solid organ transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004;(3):CD004291.
47. Pontón J, Del Palacio A. Avances y limitaciones del diagnóstico precoz de las infecciones invasoras causadas por levaduras. *Rev Iberoam Micol.* 2007;24:181-6.
48. Pozo Laderas JC. Profilaxis antifúngica en receptores de trasplante hepático VIH seropositivos. *Rev Iberoam Micol.* 2011;28. [En prensa]
49. Rex JH, Pfaller MA. Has antifungal susceptibility testing come of age? *Clin Infect Dis.* 2002;35:982-9.
50. Stein GE, El-Mortada M, Smith C, Dybas L, Prince R, Havlichek D. Fungicidal activity of anidulafungin in serum from patients does not correlate to its susceptible breakpoint against *Candida* spp. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65:374-6.
51. Wang JL, Chang CH, Young-Xu Y, Chan KA. Systematic review and meta-analysis of the tolerability and hepatotoxicity of antifungals in empirical and definitive therapy for invasive fungal infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:2409-19.
52. Winston DJ, Pakrasi A, Busuttil RW. Prophylactic fluconazole in liver transplant recipients. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med.* 1999;131:729-37.