



## Fórum Micológico

# AmBisome, tres retos: infección por *Candida auris*, infección del sistema nervioso central e infección asociada a biopelículas



Alba Ruiz-Gaitán<sup>a</sup> y José Luis del Pozo<sup>b,\*</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, España

<sup>b</sup> Servicio de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Microbiología, Clínica Universidad de Navarra, Pamplona, España

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 4 de febrero de 2021

Aceptado el 31 de marzo de 2021

On-line el 16 de junio de 2021

#### Palabras clave:

*Candida auris*

Candidemia

Tratamiento antifúngico

Infección del sistema nervioso central

Biopelícula

Catéter

Prótesis articular

Anfotericina B liposomal

### R E S U M E N

El tratamiento de la infección fúngica invasora sigue siendo un reto, tanto para el diagnóstico como para la instauración de la terapia antifúngica adecuada. *Candida auris* es una levadura patógena responsable de brotes hospitalarios, especialmente en las unidades de cuidados intensivos; se caracteriza por una elevada resistencia a los antifúngicos, pudiendo llegar a ser multirresistente. En la actualidad, el tratamiento recomendado de las infecciones invasivas por este patógeno consiste en la administración de una equinocandina, previa realización de pruebas *in vitro* de sensibilidad antifúngica. En caso de no observar respuesta clínica o candidemia persistente, podrá considerarse la adición de anfotericina B liposomal o isavuconazol. Tanto la infección fúngica del sistema nervioso central como aquella asociada a dispositivos biomédicos, aunque siguen siendo entidades poco frecuentes que afectan fundamentalmente a pacientes inmunodeprimidos, han mostrado un aumento de su incidencia en los últimos años junto a una elevada morbimortalidad. El tratamiento de estas infecciones está condicionado por el conocimiento limitado de las propiedades farmacocinéticas de los antifúngicos. En el caso de las infecciones del sistema nervioso central resulta imprescindible caracterizar mejor los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos de los fármacos antifúngicos para definir su eficacia en el tratamiento de estas infecciones.

© 2021 Asociación Española de Micología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

## AmBisome, three challenges: *Candida auris* infection, central nervous system infection, and biofilm-associated infection

### A B S T R A C T

The treatment of invasive fungal infections remains a challenge, both for the diagnosis and for the need of providing the appropriate antifungal therapy. *Candida auris* is a pathogenic yeast that is responsible for hospital outbreaks, especially in intensive care units; it is characterized by a high resistance to the antifungal agents and can become multidrug-resistant. At present, the recommended antifungal agents for the invasive infections with this pathogen are echinocandins, always after carrying out an antifungal susceptibility testing. In case of no clinical response or persistent candidemia, the addition of liposomal amphotericin B or isavuconazole may be considered. Both fungal infection of the central nervous system and that associated with biomedical devices remain rare entities affecting mainly immunocompromised patients. However, an increase in their incidence in recent years, along with high morbidity and mortality, has been shown. The treatment of these infections is conditioned by the limited knowledge of the pharmacokinetic properties of antifungals. A better understanding of the pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters of the different antifungals is essential to determine the efficacy of the antifungal agents in the treatment of these infections.

© 2021 Asociación Española de Micología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

#### Keywords:

*Candida auris*

Candidaemia

Antifungal therapy

Central nervous system infection

Biofilm

Catheter

Prosthetic joint

Liposomal amphotericin B

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [jdelpozo@unav.es](mailto:jdelpozo@unav.es) (J.L. del Pozo).

## Infección por *Candida auris*

*Candida auris* es una levadura emergente resistente a la mayoría de los fármacos antifúngicos disponibles. Desde su aparición, en 2009, ha sido considerada un patógeno estrechamente relacionado con los cuidados sanitarios, pudiendo causar infecciones invasivas con alta mortalidad asociada, sobre todo en pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos (UCI)<sup>13</sup>, tanto de adultos como pediátricos<sup>8</sup>. Ninguno de los estudios genómicos realizados hasta ahora han mostrado relación de las cinco especies del género *Candida* más prevalentes con *C. auris*. Sin embargo, se ha demostrado una estrecha relación de esta última con levaduras raramente asociadas a infección nosocomial como *Candida haemulonii*, *Candida ruelliae*, *Candida pseudoaemulonii*, *Candida duobushaemulonii* y *Candida heveicola*<sup>13</sup>.

### Epidemiología

Un reciente análisis completo del genoma de 304 aislamientos de *C. auris* de diferentes países ha dado lugar a su agrupación en cuatro clados ya descritos: clado I (Alemania, Canadá, Francia, India, Kenia, Pakistán, Arabia Saudí, Reino Unido, Emiratos Árabes Unidos y EE. UU.), clado II (Canadá, Japón, Corea del Sur y EE. UU.), clado III (Australia, Canadá, Kenia, Sudáfrica, España y EE. UU.) y clado IV (Colombia, Israel, Panamá, EE. UU. y Venezuela)<sup>9</sup>. A estos cuatro habría que añadir un posible V clado descrito en Irán<sup>10</sup>.

*C. auris* fue aislada por primera vez en 2009 a partir del exudado ótico de una paciente japonesa. Desde entonces, se han comunicado infecciones y colonizaciones por esta especie en 46 países de los cinco continentes<sup>6</sup>, y se ha convertido en una de las causas más frecuentes de candidemia en algunos hospitales de la India, Sudáfrica, Venezuela y España<sup>13,5,18</sup> (fig. 1).

### Manifestaciones clínicas

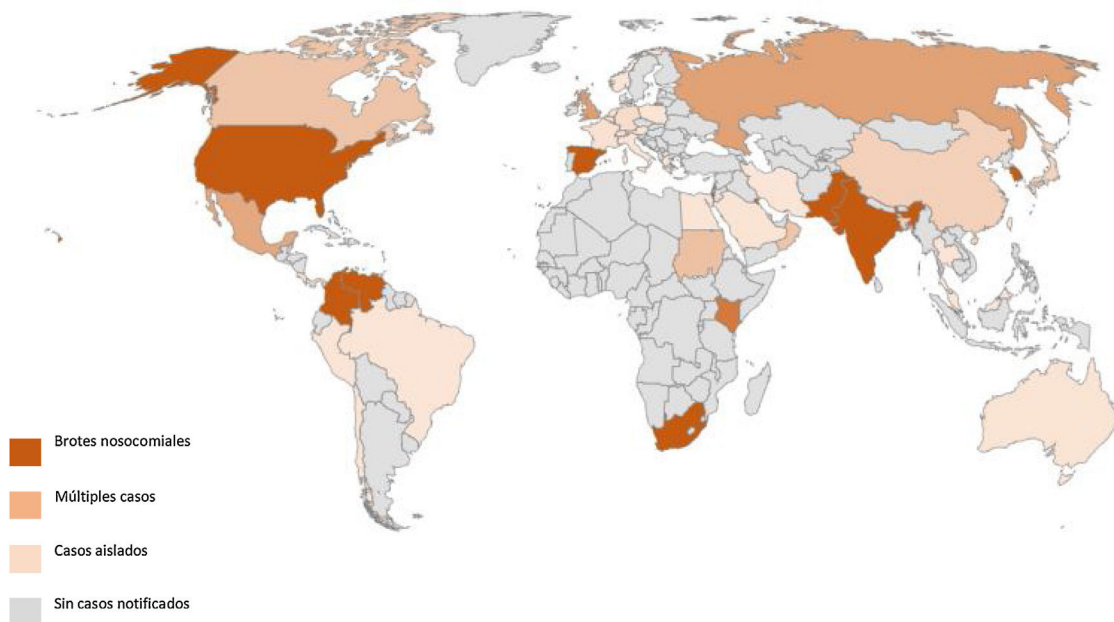
*C. auris* puede colonizar múltiples localizaciones anatómicas (fosas nasales, boca, conducto auditivo externo, ingles, axilas y recto), así como aislarse de orina y heridas. Estas colonizaciones

pueden ser muy persistentes, pudiendo permanecer hasta tres meses después del aislamiento inicial a pesar del uso de agentes como la clorhexidina, la nistatina o las equinocandinas<sup>18</sup>. Entre los factores de riesgo para la colonización se incluye el ingreso en UCI, principalmente en países endémicos, y el contacto con pacientes colonizados o la colonización de su entorno<sup>20</sup>. La persistencia de la colonización hace necesario el seguimiento de los pacientes mediante cultivos de vigilancia que se deben realizar semanalmente hasta el alta hospitalaria, así como el aislamiento de estos hasta obtener tres cultivos de vigilancia consecutivos negativos<sup>21</sup>.

La presentación clínica de las infecciones invasivas por *C. auris*, incluida la candidemia, es similar a la de las infecciones por otras especies del género *Candida*. Hasta la fecha, el espectro de infecciones por *C. auris* incluye candidemia, meningitis, osteomielitis, otomastoiditis, otitis media crónica, infecciones intraabdominales, pericarditis, derrame pleural, vulvovaginitis y panoftalmítis<sup>13,18,33</sup>. En el metaanálisis de Osei et al. que incluyó datos de 16 países, la candidemia fue la presentación más frecuente con un 67% de los casos<sup>18,33</sup>. La mortalidad atribuible a la infección por *C. auris* es difícil de determinar debido a la gran variedad de comorbilidades y/o coinfecciones de los pacientes que dificulta esta estimación. En la candidemia por *C. auris* la mortalidad global oscila entre el 28 y el 60%, incluida la de recién nacidos prematuros<sup>13,18,33</sup>. Independientemente del tipo de infección o estado inmunitario del paciente, el retraso en el inicio de la terapia antifúngica, ya sea por la identificación errónea de esta levadura o por un diagnóstico tardío, incrementa la mortalidad un 35%<sup>18</sup>. A pesar de la escasa información disponible, se han descrito varios episodios de complicaciones relacionadas con la candidemia: pericarditis, transmisión de *C. auris* de un donante a un receptor de un trasplante de pulmón, peritonitis, meningitis, endoftalmítis y osteomielitis<sup>18,40,41</sup>. En nuestro país, la tasa de complicaciones observada durante o después de la candidemia alcanzó el 8,8% a pesar de la instauración de un tratamiento antifúngico adecuado<sup>40,31</sup>.

### Tratamiento de las infecciones por *C. auris*

El tratamiento de las infecciones causadas por *C. auris* constituye un verdadero desafío para el clínico. Debido a sus altas tasas



**Figura 1.** Países con casos y brotes hospitalarios por *Candida auris* hasta diciembre del 2020 (imagen adaptada del Centers for Disease Control and Prevention [CDC] Tracking *Candida auris*/Fungal Diseases, 2020). Se han notificado brotes hospitalarios en Colombia, India, Israel, Japón, Kenia, Kuwait, Pakistán, Sudáfrica, Corea del Sur, España, Reino Unido, EE. UU. y Venezuela.

**Tabla 1**

Datos demográficos, perfil de sensibilidad, terapia antifúngica y evolución en nueve series de pacientes con candidemia e infección del sistema nervioso central por *Candida auris* (datos publicados hasta 2020)

País	Período (año)	Comorbilidades	N.º de casos	CMI (µg/ml)	Tratamiento antifúngico	Evolución
India <sup>46</sup>	2016-2017	Enfermedad neurológica, enfermedad respiratoria, enfermedad cardíaca, enfermedad renal, enfermedad gastrointestinal y cirugía previa	42	FLU $\geq$ 32 (97%); AmB $\geq$ 2 (93,7%); VOR $\geq$ 1 (32,3%) CAS $\geq$ 2 (3%)	EQ (71,4%), AmB (23,8%) (AmB-D 6/42, AmB-L 4/42)	Mortalidad global 66,6%; mortalidad atribuible 30,9%
España <sup>40</sup>	2016-2017	Politraumatismo, enfermedad cardiovascular, cáncer	79	FLU >256 (100%); VOR $\leq$ 2 (82%); POS $\leq$ 0,25 (100%); ISA $\leq$ 1 (100%); AmB $\leq$ 1 (100%)	EQ (100%); EQ + AmB-L (35,4%); ISA (10,1%)	Mortalidad global 58%; espondilodiscitis 3,7%; endocarditis 3,7%; ventriculitis 1,2%
Reino Unido <sup>43</sup>	2016	Cirugía cardíaca	9	FLU >256 (100%); EQ 0,06-0,25; 5-FL <0,06-0,12; AmB 0,5-2; MIC/CAS 0,06-0,25	EQ; AmB-L + 5-FL	Mortalidad global 0%
Pakistán <sup>42</sup>	2014-2017	Diabetes, cáncer, cirugía, estancia en UCI en los 30 días previos	92	FLU-R (100%); VOR-R (28,6%); AmB-R (7,9%); EQ-S (100%)	AmB (95,5%); FLU (4,5%)	Mortalidad global 48,7%
Arabia Saudí <sup>1</sup>	2018-2019	Neumonía, sepsis, enfermedad renal	23	FLU-R (100%); VOR-R (100%); ITR-R (100%); 5-FL-R (100%); CAS-S (100%); ANI-S (100%); AmB (100%)	AmB-L (39,1%); CAS (43,5%)	Mortalidad global 20%
Reino Unido <sup>23</sup>	2015-2017	Diabetes, hipotiroidismo, neurocirugía, linfoma no Hodgkin	3 <sup>a</sup>	NR	MIC (33,3%); AmB-L (33,3%); 5-FL+MIC (33,3%)	Mortalidad global 33%
Kuwait <sup>22</sup>	2014-2017	Diabetes mellitus, cirugía abdominal, cáncer, neumonía, esclerosis múltiple, linfoma, cirrosis hepática	16	FLU $\geq$ 256 (100%); VOR $\geq$ 2 (29,4%); AmB $\geq$ 2 (23,5%); CAS-0,139-0,227 (100%); MIC 0,082-0,105 (100%); 5-FL 0,0121-0,0129 (100%)	AmB-L (18,75%), CAS (50%); VOR (18,75%); FLU (12,5%)	Mortalidad global 64%
Rusia <sup>4</sup>	2017-2019	Politrauma, necrosis pancreática, cirugía abdominal, lesiones cerebrales	38	FLU $\geq$ 256 (97,4%); AmB $\geq$ 2 (76,3%); CAS 0,06-1 (100%); ANI 0,03-1 (100%); MIC 0,03-1 (100%)	CAS (13%); MIC (7,9); FLU (71), VOR (2,63%); AmB-L (5,26%)	Mortalidad global 55,6%; mortalidad atribuible 0%
India (neonatos) <sup>8</sup>	2016-2017	RNPT, cirugía previa, exposición previa a corticoides y NTP	17 <sup>b</sup>	FLU-R, VOR-R, MIC-R, AmB-I	FLU (17,6%); VOR (17,6); AmB-L+VOR (23,5%); AmB-L+MIC (29,4%); MIC+VOR (12%)	Mortalidad global 41%

<sup>a</sup> Infección del sistema nervioso central.

<sup>b</sup> Incluye candidemia e infección del sistema nervioso central.

AmB: anfotericina B; AmB-L: anfotericina B liposomal; AmB-D: anfotericina B desoxicolato; ANI: anidulafungina; CAS: caspofungina; CMI: concentración mínima inhibitoria; EQ: equinocandinas; FLU: fluconazol; I: intermedio; ISA: isavuconazol; ITRA: itraconazol; MIC: micafungina; NR: no reportado; NTP: nutrición parenteral; R: resistente; RNPT: recién nacido pretérmino; S: sensible; UCI: unidad de cuidados intensivos; VOR: voriconazol; 5-FL: 5-fluorocitosina.

de resistencia a los fármacos antifúngicos y a la falta de guías específicas de manejo, las opciones terapéuticas deben considerarse en cada paciente individualmente. Un reciente metaanálisis de Osei et al. en el que se revisaba la sensibilidad de aislamientos de *C. auris* de 16 países mediante la aplicación de los puntos de corte clínicos recomendados por el *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), arrojó unos porcentajes de resistencia del 80,79% al fluconazol, 7,24% al itraconazol, 6,33% al posaconazol, 38,11% al voriconazol, 9,24% al isavuconazol y 26,23% a la anfotericina B (AmB)<sup>33,41</sup>.

A pesar de la alta tasa de resistencia de *C. auris* a las distintas familias de fármacos antifúngicos, la mayoría de los aislamientos clínicos responden a las equinocandinas<sup>41</sup>, por lo que estas se siguen recomendando para el tratamiento inicial de infecciones invasivas por *C. auris* en pacientes adultos y niños de dos meses de edad o superior (excepto la anidulafungina, que no está aprobada para su uso pediátrico), siempre previa realización de las pruebas *in vitro* de sensibilidad antifúngica. En caso de no observar una respuesta clínica favorable o que la candidemia persista más allá del quinto día de tratamiento, podrá considerarse el cambio de tratamiento o la adición de anfotericina B liposomal (AmB-L) o isavuconazol<sup>40,41</sup>. En la *tabla 1* se describe la terapia antifúngica adoptada y la evolución clínica de nueve series de casos publicadas hasta el 2020, incluyendo casos pediátricos.

En el caso de los recién nacidos y lactantes de dos años o menores, el CDC recomienda la administración de 1 mg/kg/día de

anfotericina B desoxicolato (AmB-D) como tratamiento de primera línea; si tras cinco días de tratamiento no se observa mejoría clínica o microbiológica, se debe considerar el cambio de tratamiento a AmB-L (5 mg/kg/día) o instaurar una terapia combinada (equinocandina más AmB-L)<sup>41</sup>. A pesar de que el manejo de la infección por *C. auris* es similar al de otras infecciones por *Candida*, hay que tener en cuenta que *C. auris* desarrolla rápidamente resistencia a los fármacos antifúngicos y, por lo tanto, los pacientes deben ser cuidadosamente monitorizados con cultivos de seguimiento y pruebas de sensibilidad *in vitro* a los fármacos antifúngicos<sup>13,18,41</sup>. El tratamiento de la candidemia incluye no solo una terapia antifúngica temprana, sino también una serie de medidas que abarcan la retirada de catéteres, el drenaje de colecciones y la búsqueda de focos metastásicos. Asimismo, la duración del tratamiento antifúngico va a estar determinada por la respuesta microbiológica. Basándonos en nuestra experiencia, recomendamos mantener el tratamiento antifúngico más allá de lo que indican las guías clínicas<sup>34</sup> e iniciar la terapia antifúngica con tratamiento combinado (AmB-L junto con una equinocandina) durante cinco días. Si se observa una respuesta clínica favorable puede retirarse la AmB-L y continuar con la equinocandina durante 15 a 20 días más<sup>31</sup>.

### Infección fúngica del sistema nervioso central

La infección fúngica del sistema nervioso central (SNC) es una entidad clínica poco frecuente con una forma de presentación muy

**Tabla 2**

Principales formas de presentación de las infecciones fúngicas del sistema nervioso central

Síndrome	Géneros más frecuentemente implicados
Meningitis	<i>Cryptococcus</i> , <i>Coccidioides</i> , <i>Exserohilum</i> , <i>Candida</i> , <i>Histoplasma</i>
Meningoencefalitis	<i>Cryptococcus</i> , <i>Coccidioides</i> , <i>Candida</i>
Abscesos cerebrales	<i>Aspergillus</i> , <i>Candida</i> , mucormicetos, <i>Blastomyces</i> , <i>Coccidioides</i> , <i>Histoplasma</i>
Formas rinocerebrales	<i>Mucor</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Abidia</i> , <i>Rhizomucor</i> , <i>Syncephalastrum</i>
Osteomielitis de la base del cráneo	<i>Aspergillus</i>
Infartos cerebrales	Mucormicetos, <i>Aspergillus</i>
Formas diseminadas	Mucormicetos, <i>Candida</i> , <i>Cryptococcus</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Coccidioides</i>

Fuente: adaptado de Góralaska et al.<sup>16</sup>.

diversa<sup>16</sup> (tabla 2). No obstante, debemos tener en cuenta que, en la mayor parte de los casos de micosis diseminadas, el SNC se ve afectado. La mayoría de estas infecciones tienen lugar en pacientes sometidos a trasplante hematológico, trasplante de órgano sólido, pacientes con neoplasias hematológicas, individuos bajo tratamiento quimioterápico, personas con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), pacientes diabéticos o aquellos sometidos a tratamientos prolongados con corticoides. Además, los pacientes tratados con agentes inmunomoduladores se han convertido en un grupo de riesgo emergente en los últimos años. Hay que destacar que algunas micosis del SNC pueden tener lugar en sujetos inmunocompetentes, como por ejemplo la criptococosis, la histoplasmosis, la coccidioidomycosis o la infección fúngica diseminada por *Candida* en el neonato prematuro.

Los hongos que más frecuentemente están implicados en estas infecciones son *Candida*, *Cryptococcus* (excepto *Cryptococcus gattii*), *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Mucor* y *Trichosporon*. De manera más infrecuente, también se han descrito infecciones por *Cladophialophora bantiana* (frecuente en India), *Exophiala dermatitidis* (frecuente en Asia), *Rhinocladiella mackenziei* (principalmente en Oriente Medio), y *Verruconis gallopava* (syn. *Ochroconis gallopava*). Los hongos dimorfos *Blastomyces*, *Histoplasma*, *Coccidioides* y *Paracoccidioides* tienen también importancia en determinadas zonas geográficas<sup>29</sup>. De manera global, la infección fúngica más frecuente del SNC es la meningoencefalitis criptocócica.

La mayoría de las infecciones fúngicas del SNC tienen como base patogenética la diseminación hematológica desde un punto distante. Ese foco distante es, en la mayor parte de las ocasiones, el pulmón o los senos paranasales<sup>11</sup>. El tratamiento de estas

**Tabla 3**

Características neurofarmacocinéticas de los principales antifúngicos

* Antifúngico	Penetración en líquido cefalorraquídeo	Penetración en el parénquima cerebral	Eficacia clínica
Fluconazol	50-100%	70-100%	Sí
Isavuconazol	< 1%	50-100%	Sí
Posaconazol	0-25%	50-90%	Sí
Voriconazol	22-100%	50-100%	Sí
Anidulafungina	< 1%	< 1%	No
Caspofungina	< 1%	< 1%	Solo a altas dosis
Micafungina	< 1%	< 1%	No
Anfotericina B desoxicolato	< 1%	27%	Sí
Anfotericina B complejo lipídico	< 1%	27%	Sí
Anfotericina B liposomal	< 1%	3%	Sí
5-Fluorocitosina	75%	-	Sí

Fuente: adaptado de Ashley et al.<sup>3</sup>.**Tabla 4**

Características asociadas a una mejor penetración en sistema nervioso central

Característica	Antifúngicos
Lipofiliidad	Anfotericina B desoxicolato, anfotericina B complejo lipídico, anfotericina B liposomal, anidulafungina
Escasa unión a proteínas	Fluconazol, voriconazol, flucitosina
Bajo peso molecular	Isavuconazol, fluconazol, voriconazol, flucitosina
No sustrato de glicoproteína P	Anfotericina B desoxicolato, anfotericina B complejo lipídico, anfotericina B liposomal, isavuconazol, 5-fluorocitosina, caspofungina, micafungina, anidulafungina
Volumen de distribución en torno a 1 L/kg	Anfotericina B desoxicolato, anfotericina B complejo lipídico, anfotericina B liposomal, 5-fluorocitosina, anidulafungina, fluconazol

Fuente: adaptado de Ashley et al.<sup>3</sup>.

infecciones continúa siendo un reto a pesar de la mayor disponibilidad de nuevos fármacos antifúngicos en los últimos años. Es imprescindible caracterizar mejor los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos de los fármacos antifúngicos cuando abordamos una infección del SNC<sup>3</sup>.

#### Importancia de la neurofarmacocinética en el sistema nervioso central

El SNC es un santuario separado del torrente sanguíneo por la barrera hematoencefálica, y no todos los fármacos antifúngicos son capaces de penetrar por igual en su interior<sup>21</sup>. Realmente hay dos barreras: la que separa el líquido cefalorraquídeo (LCR) del torrente vascular y la que separa el parénquima cerebral del LCR. De hecho, la concentración de un fármaco antifúngico en el LCR no predice en numerosas ocasiones de manera adecuada la penetración de ese fármaco en el parénquima cerebral ni la eficacia clínica<sup>3</sup> (tabla 3). Las características farmacológicas que se asocian con una mejor penetración en el SNC son las siguientes<sup>3</sup> (tabla 4):

- Lipofilia: cuanto más lipófilo es un fármaco, mejor será su penetración a través de la membrana lipídica que rodea el SNC<sup>18</sup>.
- Unión a proteínas: únicamente la fracción libre de un fármaco es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica. Debemos tener en cuenta que los fármacos más lipófilos se unen más a proteínas y, por tanto, la suma de estas dos características hace complicado predecir la penetración de un fármaco en el SNC.
- Tamaño molecular: las moléculas con un peso molecular por debajo de 450 Da difunden mejor a través de la barrera hematoencefálica.

**Tabla 5**

Tratamiento recomendado de las infecciones fúngicas invasivas más frecuentes del sistema nervioso central (se excluyen las micosis endémicas)

Infección	Tratamiento
Meningoencefalitis criptocócica	Anfotericina B liposomal (3–4 mg/kg/día) + 5-fluorocitosina (100 mg/kg/día) las primeras 4 semanas; continuar con fluconazol (400–800 mg/día) durante al menos 8 semanas
Criptocomas cerebrales	Anfotericina B liposomal (3–4 mg/kg/día) + 5-fluorocitosina (100 mg/kg/día) las primeras 6 semanas; continuar con fluconazol (400–800 mg/día) durante 6–8 meses
Candidiasis del sistema nervioso central	Anfotericina B liposomal (5 mg/kg/día) durante 4–6 semanas; continuar con fluconazol (400–800 mg/día) hasta curación clínica y analítica
Aspergilosis	Voriconazol (según concentración sérica). Anfotericina B liposomal si aparece intolerancia o no hay respuesta. El tratamiento debe prolongarse hasta la resolución clínica, radiológica y analítica
Mucormicosis	Anfotericina B liposomal (10 mg/kg/día) durante 6–8 semanas
Infecciones por <i>Fusarium</i> o <i>Scedosporium apiospermum</i>	Voriconazol hasta resolución de la infección
Feohifomicosis	Voriconazol o posaconazol en combinación con 5-fluorocitosina o una equinocandina

Fuente: adaptado de las guías IDSA, ESCMID y ECMC

- Volumen de distribución: este factor influye claramente en la penetración en el SNC y los fármacos con volúmenes de distribución en torno a 1 L/kg son los que mejor penetran<sup>32</sup>.
- Afinidad por las bombas de eflujo: los fármacos que tienen una elevada afinidad por las bombas de eflujo, como por ejemplo la glicoproteína P, la bomba de flujo más relevante a este nivel, son eliminados más fácilmente del SNC<sup>39</sup>.

La respuesta inflamatoria frente a los hongos se debe, entre otros, al gran tamaño de estos microorganismos y habitualmente tiene consecuencias sobre la microcirculación meníngea, lo que ocasiona una enfermedad focal que conduce a una cerebritis con formación de abscesos y a la invasión de los grandes vasos cerebrales. Ello da lugar a una vasculitis con fenómenos de oclusión vascular, infartos cerebrales y/o desarrollo de aneurismas micóticos. Además, esta respuesta inflamatoria condiciona la producción de enormes cantidades de exudados que contienen células inflamatorias, fibrina y plaquetas, y que dan lugar a fenómenos de aracnoiditis<sup>30</sup>. Hay muchos otros factores que alteran los parámetros neurofarmacocinéticos, como las comorbilidades del paciente, el estado de inmunodeficiencia, la hipoproteïnemia y/o las modificaciones en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica debido al uso de fármacos concomitantes. Además, la permeabilidad del SNC varía con la edad, siendo esta mayor en pacientes ancianos. Un factor importante que afecta a los parámetros neurofarmacocinéticos es la inflamación meníngea. Esta inflamación aumenta el paso de fármacos desde el torrente sanguíneo al LCR y, además, las bombas de eflujo, incluida la glicoproteína P, tienen una actividad reducida durante la inflamación<sup>53</sup>.

#### Tratamiento antifúngico de las infecciones del sistema nervioso central

La elección del tratamiento antifúngico más adecuado depende de las características del antifúngico como, por ejemplo, su espectro de acción<sup>16</sup> (tabla 5), su actividad fungistática o fungicida o sus propiedades farmacocinéticas. Además del tratamiento farmacológico, el abordaje quirúrgico de las lesiones, si es factible, mejora claramente el pronóstico.

Parece claro que los parámetros farmacocinéticos/farmacodinámicos deberían desempeñar un papel esencial a la hora de definir la eficacia de los fármacos en el tratamiento de estas infecciones. Sin embargo, las guías terapéuticas se basan fundamentalmente en la experiencia clínica para definir las recomendaciones. La AmB y sus formulaciones lipídicas han sido y siguen siendo la piedra angular del tratamiento de la mayoría de las infecciones fúngicas del SNC<sup>35</sup>. Hay bastantes evidencias que sugieren que las tres formulaciones lipídicas no son terapéuticamente equivalentes. La AmB-L es menos tóxica que las otras y, además, se puede administrar a dosis más altas que la AmB-D<sup>50</sup>. La AmB-L alcanza concentraciones plasmáticas mucho más elevadas que las otras formulaciones. Además, el volumen de distribución de la AmB-L es muy inferior al de las otras, mientras que el área bajo la curva es mucho mayor. Del mismo modo, hay también muchos datos que sugieren que la AmB-L es la formulación lipídica preferida en el tratamiento de las infecciones del SNC: las concentraciones alcanzadas en este fueron significativamente más elevadas que las del resto de las formulaciones de AmB en un modelo experimental<sup>17</sup>. Con la AmB-L se consiguieron concentraciones próximas a 2 mg/g frente a cifras mucho más reducidas, hasta diez veces inferiores, en el caso de la anfotericina B complejo lipídico y en el de la AmB-D. Las concentraciones en el LCR de todas las formulaciones en los casos controles fueron inferiores a 0,1 mg/l. Además, la AmB-L alcanza concentraciones más elevadas en el parénquima cerebral que en el LCR cuando se administra de manera parenteral<sup>47</sup>.

A pesar de los datos, no se ha podido demostrar una correlación entre las concentraciones de AmB-L en el LCR y su eficacia en el tratamiento de estas infecciones<sup>21</sup>. En este contexto, la AmB se ha combinado en muchas ocasiones con la 5 fluorocitosina. Este fármaco tiene una excelente penetración en el SNC, pero no debería utilizarse como monoterapia debido al rápido desarrollo de resistencias<sup>27</sup>. También hay cierta experiencia clínica con el fluconazol, el voriconazol o el isavuconazol, que son opciones razonables de tratamiento en este tipo de infecciones<sup>45</sup>. Por el contrario, las equinocandinas no penetran adecuadamente en el SNC y no se emplean de rutina para tratar este tipo de infecciones.

Los fármacos con los que hay más experiencia en la administración por vía intratecal son la AmB-D y la AmB-L<sup>2,8</sup>. También se ha recurrido en ocasiones a la aplicación intraventricular de AmB-L mediante reservorios de Ommaya. Esta forma de administración no está exenta de efectos adversos, se han descrito cuadros de cefalea, náuseas y vómitos, y debería acompañarse siempre de un tratamiento sistémico para asegurar una exposición adecuada al fármaco.

#### Infecciones asociadas a biopelículas fúngicas

Las biopelículas representan la forma de desarrollo microbiano más frecuente en la naturaleza y son la base patogénica para la proliferación de infecciones asociadas a dispositivos biomédicos. Los hongos más frecuentemente implicados en este tipo de infecciones son las especies de *Candida*. Prácticamente todos los hongos son capaces de formar biopelículas, pero destacan los géneros *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Coccidioides* y *Pneumocystis*<sup>14</sup>. La candidiasis asociada con dispositivos biomédicos es especialmente problemática dada la elevada morbimortalidad que conlleva<sup>37,38</sup>.

La formación de una biopelícula de *Candida* es un proceso secuencial que requiere la adherencia a una superficie biótica o abiótica para la posterior proliferación de las levaduras y la formación de hifas. La síntesis de una matriz extracelular es fundamental porque contribuye a la maduración y cohesión de la biopelícula. Las biopelículas de *Aspergillus* también se pueden formar sobre

superficies bióticas o abióticas y son las conidias las estructuras que se adhieren al sustrato. La formación del micelio tiene lugar a lo largo del proceso de maduración de la biopelícula<sup>26</sup>.

#### Resistencia de las biopelículas fúngicas

Las biopelículas fúngicas son, en general, mucho más resistentes a la acción de los fármacos antifúngicos que sus correspondientes formas planctónicas. Hay múltiples trabajos que demuestran que las biopelículas de *Candida* son extremadamente resistentes a los agentes antifúngicos. Los mecanismos de resistencia de las biopelículas de *Candida* no están del todo bien establecidos y probablemente esta resistencia sea un fenómeno multifactorial que incluye la diferenciación a estados de crecimiento estacionario, la inducción de la expresión de elementos de resistencia, como por ejemplo bombas de eflujo, la dificultad en la difusión de los fármacos antifúngicos a través de la matriz extracelular y un microambiente hostil para estos fármacos<sup>25,28</sup>. La generación de esta resistencia a los fármacos antifúngicos es un proceso dinámico y se ha demostrado cómo esta aumenta a lo largo del desarrollo de la biopelícula<sup>7</sup>. Esta resistencia varía según el fármaco antifúngico y la especie implicada. Así, las biopelículas de *Candida albicans* y de *Candida parapsilosis* son relativamente resistentes al fluconazol, la AmB, la nistatina y el voriconazol. Las biopelículas de *Aspergillus fumigatus* son relativamente resistentes al itraconazol y las equinocandinas. Las de *Cryptococcus*, en cambio, no se ven afectadas por el fluconazol o el voriconazol y las biopelículas de *Trichosporon asahii* muestran una elevada resistencia a la AmB, la caspofungina, el voriconazol y el fluconazol. Por último, las biopelículas de *Pneumocystis carinii* son resistentes a los azoles y a la AmB<sup>14</sup>.

#### Tratamiento de las infecciones asociadas a biopelículas fúngicas

Las infecciones fúngicas asociadas a dispositivos biomédicos son raras, pero conllevan una morbimortalidad muy elevada. Los hongos más frecuentemente implicados son las especies de *Candida*, y los catéteres intravasculares y las prótesis articulares los dispositivos implicados más a menudo. Las biopelículas de *Candida* son resistentes a la acción de los azoles, incluidos los triazoles de nueva generación voriconazol, isavuconazol y ravuconazol<sup>19</sup>. Únicamente las formulaciones lipídicas de AmB y las equinocandinas parecen tener actividad frente a las biopelículas de *Candida*<sup>15,24</sup>. Otros fármacos antifúngicos como la nistatina, la terbinafina o la AmB-D tampoco han mostrado una gran actividad frente a biopelículas fúngicas. La capacidad de formación de una biopelícula *in vitro* puede ser un factor predictor independiente de mortalidad por candidemia asociada a catéter intravascular<sup>51</sup>.

La infección fúngica asociada a prótesis articulares representa menos de un 1% de todas las etiologías, pero su pronóstico es infausto. Aunque se han intentado tratamientos basados en el recambio de la prótesis en dos tiempos acompañados de terapias locales con AmB mediante espaciadores, la tasa de éxito oscila en torno a un 40% según los estudios<sup>48</sup>.

El tratamiento de estas infecciones únicamente con fármacos antifúngicos es, en general, insuficiente para conseguir la curación del paciente y habitualmente hay que retirar el dispositivo para conseguirla. La retirada de estos dispositivos tiene implicaciones complejas en el caso de, por ejemplo, catéteres de larga permanencia, válvulas cardíacas, prótesis articulares o *shunts* del SNC. En el caso concreto de los catéteres intravasculares, se ha ensayado en ocasiones, con éxito, el tratamiento local mediante el sellado de los catéteres con AmB-L o una equinocandina<sup>44,52,54</sup>.

El mecanismo que subyace en la extraordinaria actividad de las formulaciones lipídicas de AmB frente a las biopelículas de *Candida* no se conoce completamente. De hecho, es sorprendente que estas moléculas tan grandes sean capaces de penetrar a través de

la matriz extracelular. Su elevado contenido en fosfolípidos puede facilitar su paso a través de esta matriz. Este último hecho no explica del todo su buena actividad puesto que formulaciones lipídicas de otros fármacos antifúngicos no han mostrado una buena actividad frente a las biopelículas. El mecanismo de acción de las equinocandinas frente a las biopelículas de *Candida* también es desconocido. La caspofungina, con un efecto inhibitorio en la formación de biopelículas, parece afectar a la morfología y al metabolismo de las levaduras en la biopelícula.

#### Otras opciones terapéuticas

La combinación de agentes antifúngicos puede mejorar el pronóstico de las infecciones fúngicas asociadas a dispositivos biomédicos, además de prevenir la aparición de resistencias relacionadas con los tratamientos en monoterapia. Algunos estudios *in vitro* han analizado la actividad de varias combinaciones de fármacos antifúngicos frente a las biopelículas de *Candida*. Los mejores resultados se obtuvieron con la combinación AmB/posaconazol (sinérgica) en comparación con otras combinaciones que tuvieron acciones indiferentes (AmB/caspofungina, AmB/fluconazol, fluconazol/caspofungina), o incluso antagonicas (voriconazol/micafungina)<sup>49</sup>. Algunos trabajos indican que la combinación de AmB con antibióticos (rifampicina o claritromicina) son eficaces frente a biopelículas de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* y *Candida tropicalis*<sup>12</sup>. Otros antibióticos como la doxiciclina y la tigeciclina, además de agentes como la heparina y los parabenos, han mostrado una actividad sustancial contra las biopelículas de *C. albicans* en modelos *in vitro*. Raad et al. estudiaron en un modelo *in vitro* de formación de biopelículas de *C. albicans* la eficacia del sellado antibiótico. De las soluciones ensayadas, la minociclina en baja concentración más ácido etilendiaminatetraacético (EDTA) redujo significativamente la carga fúngica en el catéter, mientras que la minociclina en alta concentración asociada a EDTA o solo la minociclina en alta concentración erradicaron por completo la carga fúngica de las biopelículas<sup>36</sup>.

#### Financiación

La publicación de este artículo ha sido financiada por Gilead. Gilead no ha intervenido o influenciado en el contenido del mismo.

#### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

#### Bibliografía

1. Alshamrani MM, El-Saed A, Mohammed A, Alghoribi MF, Al Johani SM, Cabanalán H, et al. Management of *Candida auris* outbreak in a tertiary-care setting in Saudi Arabia. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2021;42:149–55.
2. Alvarez-Uria G, Midde M, Battula J, Pujari HNB. Safety and tolerability of intrathecal liposomal amphotericin B (AmBisome) for cryptococcal meningitis: a retrospective study in HIV-infected patients. *Ther Adv Infect Dis*. 2018;5:77–81.
3. Ashley ED. Antifungal drugs: Special problems treating central nervous system infections. *J Fungi (Basel)*. 2019;5:97.
4. Barantsevich NE, Vetokhina AV, Ayushinova NI, Orlova OE, Barantsevich EP. *Candida auris* bloodstream infections in Russia. *Antibiotics*. 2020;9:557.
5. Berrío I, Caceres DH, Coronell RW, Salcedo S, Mora L, Marin A, et al. Bloodstream infections with *Candida auris* among children in Colombia: Clinical characteristics and outcomes of 34 cases. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2020;10:151–4.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Tracking *Candida auris*/Fungal Diseases [Internet]. 2020 [consultado 23 Ene 2021]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/tracking-c-auris.html>.
7. Chandra J, Kuhn DM, Mukherjee PK, Hoyer LL, McCormick T, Ghannoum MA. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *J Bacteriol*. 2001;183:5385–94.
8. Chandramati J, Sadanandan L, Kumar A, Ponthenkandath S. Neonatal *Candida auris* infection: Management and prevention strategies - A single centre experience. *J Paediatr Child Health*. 2020;56:1565–9.

9. Chow NA, Munoz JF, Gade L, Berkow EL, Li X, Welsh RM, et al. Tracing the evolutionary history and global expansion of *Candida auris* using population genomic analyses. *mBio*. 2020;11.
10. Chow NA, De Groot T, Badali H, Abastabar M, Chiller TM, Meis JF. Potential fifth clade of *Candida auris* Iran, 2018. *Emerg Infect Dis*. 2019;25:1780–1.
11. De Medeiros BC, De Medeiros CR, Werner B, Neto JZ, Loddo G, Pasquini R, et al. Central nervous system infections following bone marrow transplantation: an autopsy report of 27 cases. *J Hematother Stem Cell Res*. 2000;9:535–40.
12. Del Pozo JL, Frances ML, Hernández S, Serrera A, Alonso M, Rubio MF. Effect of amphotericin B alone or in combination with rifampicin or clarithromycin against *Candida* species biofilms. *Int J Artif Organs*. 2011;34:766–70.
13. Du H, Bing J, Hu T, Ennis CL, Nobile CJ, Huang G. *Candida auris*: Epidemiology, biology, antifungal resistance, and virulence. *PLoS Pathog*. 2020;16:e1008921.
14. Fanning S, Mitchell AP. Fungal biofilms. *PLoS Pathog*. 2012;8:e1002585.
15. Fiori B, Posteraro B, Torelli R, Tumbarello M, Perlin DS, Fadda G, et al. In vitro activities of anidulafungin and other antifungal agents against biofilms formed by clinical isolates of different *Candida* and *Aspergillus* species. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55:3031–5.
16. Góralaska K, Blaszkowska J, Dzikowicz M. Neuroinfections caused by fungi. *Infection*. 2018;46:443–59.
17. Groll AH, Giri N, Petraitis V, Petraitiene R, Candelario M, Bacher JS, et al. Comparative efficacy and distribution of lipid formulations of amphotericin B in experimental *Candida albicans* infection of the central nervous system. *J Infect Dis*. 2000;182:274–82.
18. Hata DJ, Humphries R, Lockhart SR. College of American Pathologists Microbiology C *Candida auris*: An emerging yeast pathogen posing distinct challenges for laboratory diagnostics, treatment, and infection prevention. *Arch Pathol Lab Med*. 2020;144:107–14.
19. Katragkou A, Chatzimoschou A, Simitsopoulou M, Dalakiouridou M, Diza-Mataftsi E, Tsantali C, et al. Differential activities of newer antifungal agents against *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52:357–60.
20. Kenters N, Kiernan M, Chowdhary A, Denning DW, Peman J, Saris K, et al. Control of *Candida auris* in healthcare institutions: Outcome of an International Society for Antimicrobial Chemotherapy expert meeting. *Int J Antimicrob Agents*. 2019;93:400–6.
21. Kethireddy S, Andes D. CNS pharmacokinetics of antifungal agents. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2007;3:573–81.
22. Khan Z, Ahmad S, Al-Sweih N, Joseph L, Alfouzan W, Asadzadeh M. Increasing prevalence, molecular characterization and antifungal drug susceptibility of serial *Candida auris* isolates in Kuwait. *PLoS One*. 2018;13:e0195743.
23. Khatamzas E, Maddler H, Jeffery K. Neurosurgical device-associated infections due to *Candida auris* – Three cases from a single tertiary center. *J Infect*. 2019;78:409–21.
24. Kuhn DM, George T, Chandra J, Mukherjee PK, Ghannoum MA. Antifungal susceptibility of *Candida* biofilms: unique efficacy of amphotericin B lipid formulations and echinocandins. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:1773–80.
25. LaFleur MD, Kumamoto CA, Lewis K. *Candida albicans* biofilms produce antifungal-tolerant persister cells. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:3839–46.
26. Loussert C, Schmitt C, Prevost MC, Balloy V, Fadel E, Philippe B, et al. In vivo biofilm composition of *Aspergillus fumigatus*. *Cell Microbiol*. 2010;12:405–10.
27. Loyse A, Dromer F, Day J, Lortholary O, Harrison TS. Flucytosine and cryptococcosis: time to urgently address the worldwide accessibility of a 50-year-old antifungal. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68:2435–44.
28. Mathe L, Van Dijk P. Recent insights into *Candida albicans* biofilm resistance mechanisms. *Curr Genet*. 2013;59:251–64.
29. McCarthy M, Rosengart A, Schuetz AN, Kontoyiannis DP, Walsh TJ. Mold infections of the central nervous system. *N Engl J Med*. 2014;371:150–60.
30. Mohan S, Jain KK, Arabi M, Shah GV. Imaging of meningitis and ventriculitis. *Neuroimaging Clin N Am*. 2012;22:557–83.
31. Mulet Bayona JV, Tormo Palop N, Salvador García C, Herrero Rodríguez P, Abr López de Medrano V, Ferrer Gómez C, et al. Characteristics and management of candidaemia episodes in an established *Candida auris* outbreak. *Antibiotics (Basel)*. 2020;9:558.
32. Nau R, Sorgel F, Prange HW. Lipophilicity at pH 7.4 and molecular size govern the entry of the free serum fraction of drugs into the cerebrospinal fluid in humans with uninflamed meninges. *J Neuro Sci*. 1994;122:61–5.
33. Osei Sekyere J. *Candida auris*: A systematic review and meta-analysis of current updates on an emerging multidrug-resistant pathogen. *Microbiologyopen*. 2018;7:e00578.
34. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2016;62:e1–50.
35. Perfect JR, Dismukes WE, Dromer F, Goldman DL, Graybill JR, Hamill RJ, et al. Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2010;50:291–322.
36. Raad I, Chatzinikolaou I, Chaiban G, Hanna H, Hachem R, Dvorak T, et al. In vitro and ex vivo activities of minocycline and EDTA against microorganisms embedded in biofilm on catheter surfaces. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;47:3580–5.
37. Ramage G, Lopez-Ribot JL. Techniques for antifungal susceptibility testing of *Candida albicans* biofilms. *Methods Mol Med*. 2005;118:71–9.
38. Ramage G, Martinez JP, Lopez-Ribot JL. *Candida* biofilms on implanted biomaterials: a clinically significant problem. *FEMS Yeast Res*. 2006;6:979–86.
39. Rankovic Z. CNS drug design: balancing physicochemical properties for optimal brain exposure. *J Med Chem*. 2015;58:2584–608.
40. Ruiz-Gaitán A, Martínez H, Moret AM, Calabuig E, Tásias M, Alastruey-Izquierdo A, et al. Detection and treatment of *Candida auris* in an outbreak situation: risk factors for developing colonization and candidemia by this new species in critically ill patients. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2019;17:295–305.
41. Sabino R, Verissimo C, Pereira AA, Antunes F. *Candida auris*, an agent of hospital-associated outbreaks: Which challenging issues do we need to have in mind? *Microorganisms*. 2020;8:181.
42. Sayeed MA, Farooqi J, Jabeen K, Awan S, Mahmood SF. Clinical spectrum and factors impacting outcome of *Candida auris*: a single center study from Pakistan. *BMC Infect Dis*. 2019;19:384.
43. Schelenz S, Hagen F, Abdolrasouli A, Chowdhary A, Hall A, et al. First hospital outbreak of the globally emerging *Candida auris* in a European hospital. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2016;5:1–7.
44. Schinabeck MK, Long LA, Hossain MA, Chandra J, Mukherjee PK, Mohamed S, et al. Rabbit model of *Candida albicans* biofilm infection: liposomal amphotericin B antifungal lock therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:1727–32.
45. Schwartz S, Reisman A, Troke PF. The efficacy of voriconazole in the treatment of 192 fungal central nervous system infections: a retrospective analysis. *Infection*. 2011;39:201–10.
46. Shastri PS, Shankarnarayan SA, Oberoi J, Rudramurthy SM, Watal C, Chakrabarti A. *Candida auris* candidaemia in an intensive care unit – Prospective observational study to evaluate epidemiology, risk factors, and outcome. *J Crit Care*. 2020;57:42–8.
47. Strenger V, Meinitzer A, Donnerer J, Hofer N, Dornbusch HJ, Wanz U, et al. Amphotericin B transfer to CSF following intravenous administration of liposomal amphotericin B. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69:2522–6.
48. Theil C, Schmidt-Braekling T, Gosheger G, Idelevich EA, Moellenbeck B, Dieckmann R. Fungal prosthetic joint infection in total hip or knee arthroplasty: a retrospective single-centre study of 26 cases. *Bone Joint J*. 2019;101-B:589–95.
49. Tobudic S, Lassnigg A, Kratzer C, Graninger W, Presterl E. Antifungal activity of amphotericin B, caspofungin and posaconazole on *Candida albicans* biofilms in intermediate and mature development phases. *Mycoses*. 2010;53:208–14.
50. Tollemar J, Klingspor L, Ringden O. Liposomal amphotericin B (AmBisome) for fungal infections in immunocompromised adults and children. *Clin Microbiol Infect*. 2001;7:68–79.
51. Tumbarello M, Posteraro B, Trecarichi EM, Fiori B, Rossi M, Porta R, et al. Biofilm production by *Candida* species and inadequate antifungal therapy as predictors of mortality for patients with candidemia. *J Clin Microbiol*. 2007;45:1843–50.
52. Viale P, Petrosillo N, Signorini L, Puoti M, Carosi G. Should lock therapy always be avoided for central venous catheter-associated fungal bloodstream infections? *Clin Infect Dis*. 2001;33:1947–8.
53. Von Wedel-Parlow M, Wolte P, Galla HJ. Regulation of major efflux transporters under inflammatory conditions at the blood-brain barrier in vitro. *J Neurochem*. 2009;111:111–8.
54. Walraven CJ, Lee SA. Antifungal lock therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57:1–8.