



Revista Iberoamericana de Micología

www.elsevier.es/reviberoammicol



Revisión

Hacia el diagnóstico temprano de la candidiasis invasora en el paciente crítico

Javier Pemán^{a,*} y Rafael Zaragoza^b

^aServicio de Microbiología, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, España

^bServicio de Medicina Intensiva, Hospital Universitario Dr. Peset, Valencia, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 29 de octubre de 2011

Aceptado el 6 de diciembre de 2011

Palabras clave:

Candidiasis invasiva
Diagnóstico temprano
Paciente crítico

Keywords:

Invasive candidiasis
Early diagnosis
Critically ill patient

RESUMEN

En la actualidad, el tratamiento de las infecciones fúngicas invasivas en el paciente crítico, desde su diagnóstico hasta la elección de la mejor opción terapéutica, continúa siendo un desafío. El diagnóstico y el tratamiento tempranos de éstas se asocia a un mejor pronóstico, pero —excepto en los casos con aislamiento fúngico en sangre, líquidos estériles o tejidos— el diagnóstico microbiológico es poco sensible y específico, lo cual suscita la necesidad de nuevos marcadores que ayuden al mejor diagnóstico de estas graves infecciones. Se han desarrollado técnicas serológicas, como la detección de manano y anticuerpos antimanano o anticuerpos antimicelio, o la detección de componentes no antigénicos, como (1→3)-β-D-glucano y de ácidos nucleicos, con resultados esperanzadores para su uso en el paciente crítico. Sin embargo, la evaluación de los factores de riesgo de infección en pacientes críticos para identificar a los que se beneficiarían de un tratamiento anticipado o empírico es una de las claves diagnósticas en estos pacientes. Para ayudar a este cribado, se han diseñado varios sistemas de puntuación (*scores*), alguno de ellos con elevado valor predictivo negativo. Actualmente, la clave para mejorar el diagnóstico y el pronóstico de la infección fúngica invasiva en el paciente crítico radica en el uso combinado de los *scores* predictivos junto con las técnicas microbiológicas independientes del cultivo.

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

Towards an early diagnosis of invasive candidiasis in the critically ill patient

ABSTRACT

The management of invasive fungal infections in critically ill patients, from diagnosis to selection of the therapeutic protocol, is often a challenge. Early diagnosis and treatment are associated with a better prognosis, but apart from cases with positive cultures from blood or fluid/tissue biopsy, diagnosis is neither sensitive nor specific, and there is a need for specific markers in these diseases. Serodiagnostic assays such as mannan antigen, mannan antibodies, *Candida albicans* germ-tube antibodies or (1→3)-β-D-glucan detection, and molecular techniques for the detection of fungal-specific DNA have been developed with promising results in critical care settings. One of the main features in diagnosis is the evaluation of risk factors for infection, which will identify patients in need of preemptive or empirical treatment. Clinical scores were built from those risk factors. The combination of prediction rules and non-culture microbiological tools could be currently be the key to improving the diagnosis and prognosis of invasive fungal infections in critically ill patients.

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

Etiología y epidemiología de las infecciones fúngicas invasivas

En las últimas décadas, la medicina intensiva ha evolucionado notablemente. En la actualidad, pacientes gravemente enfermos sobreviven más fácilmente debido a los avances experimentados tanto en el

ámbito médico, como quirúrgico. Por desgracia, esta nueva medicina, más tecnificada e invasiva, provoca con frecuencia un “daño colateral” en el sistema inmunitario del paciente, y facilita la aparición de graves procesos infecciosos. Aproximadamente el 10,4% de las infecciones en una unidad de cuidados intensivos (UCI) están producidas por diferentes especies de *Candida*, y la mayoría de estas infecciones son de origen nosocomial². En el recientemente publicado estudio EPIC II sobre infección grave en la UCI, la incidencia de candidemia fue de 6,9 episodios/1.000 pacientes¹⁴. Sin embargo, esta cifra puede

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: peman_jav@gva.es (J. Pemán).

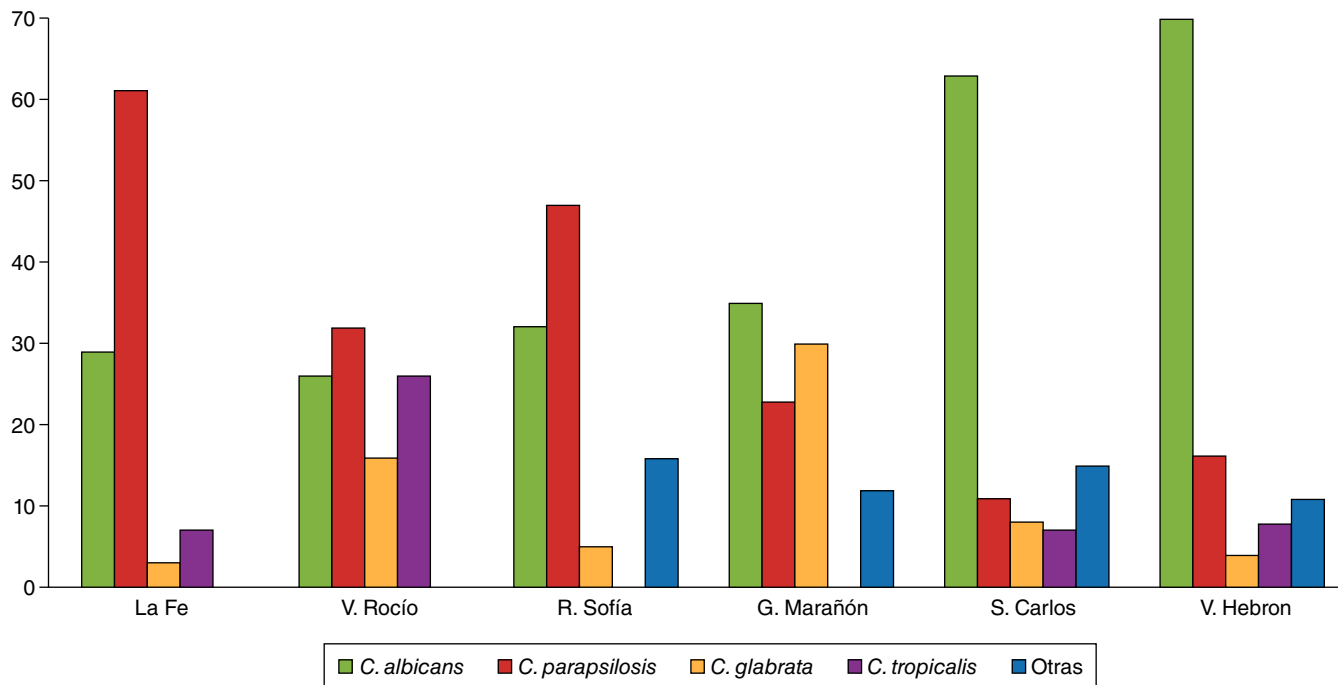


Figura 1. Distribución de las principales especies causales de candidemia en las unidades de cuidados intensivos de seis hospitales españoles durante 2009 (estudio FUNGEMYCA). Hospitales: La Fe (Valencia), Virgen del Rocío (Sevilla), Reina Sofía (Córdoba), Gregorio Marañón (Madrid), San Carlos (Madrid) y Vall d'Hebron (Barcelona).

ser mayor, ya que, al menos, en el 4% de los pacientes que fallece en la UCI se diagnostica una infección fúngica, no sospechada en vida, en el examen necrópsico⁹. Además, la estancia en una UCI es, por sí misma, un factor independiente de riesgo para desarrollar una candidiasis invasiva (CI)^{40,42}. Con menos frecuencia, pero asociados a una elevada morbilidad y mala evolución, también se han descrito casos de aspergilosis invasiva (sobre todo en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica)^{12,13,23} y otras micosis profundas causadas por hongos emergentes, como *Trichosporon asahii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Hansenula anomala*, *Dipodascus capitatus* y *Rhizopus microsporus*²¹.

En el último estudio sobre la epidemiología de las candidemias realizado en España durante 2009 (estudio FUNGEMYCA), el 55% de las candidemias fueron causadas por especies de *Candida* no-*Candida albicans*: *Candida albicans* (45%), *Candida parapsilosis* (29%), *Candida glabrata* (11%), *Candida tropicalis* (8%) y otras especies (7%)³⁴. Sin embargo, en este estudio se observan notables diferencias en la distribución de las especies causantes en función de la unidad de hospitalización y del hospital participante. Esta distribución propia de cada centro también se aprecia en las UCI, donde el aislamiento de *C. albicans* fluctúa entre el 26 y el 72%; el de *C. parapsilosis* entre el 11 y el 61%, y el de *C. glabrata* entre el 3 y el 30% (fig. 1). Esta distribución tan variable de especies causantes de candidemia confirma la necesidad de realizar estudios periódicos para conocer la realidad epidemiológica de cada unidad de hospitalización, y así sirvan de guía en la instauración del tratamiento empírico más adecuado.

Factores de riesgo asociados al mal pronóstico de la candidiasis invasiva

Las CI se asocian a una tasa de mortalidad elevada, especialmente en pacientes críticos¹⁷. La tasa de mortalidad bruta estimada para estas infecciones es del 40-75%, y su mortalidad atribuible, del 25-43%^{4,28,35,42}. La elevada tasa de mortalidad asociada a la candidemia debe atribuirse, en gran parte, a la propia infección, y no sólo a otros factores de comorbilidad presentes en la mayoría de estos pacientes¹⁰.

Las especies del género *Candida* distintas a *C. albicans* se aíslan cada vez con más frecuencia y representan la mitad o más de los aislamientos

en la mayoría de las series de candidemia publicadas^{4,8,34,42}. Diferentes autores coinciden en constatar su peor pronóstico en comparación con las candidemias producidas por *C. albicans*^{6,16,26} y se ha atribuido su incremento al uso generalizado de fluconazol y equinocandinas^{20,41}. Aunque, al igual que en otros países mediterráneos y sudamericanos, en España se observa un número mayor de candidemias por *C. parapsilosis* en comparación con otros países del norte de Europa, Canadá o Estados Unidos. No hay que olvidar que las candidemias por esta especie se asocian con una tasa de mortalidad menor (28-31%)^{3,35}.

Además de la especie causal, se han descrito otros factores predictores de mal pronóstico en la candidemia, como la estancia prolongada en UCI, fallo renal, trombocitopenia, neoplasias hematológicas y la necesidad de ventilación mecánica o de soporte inotrópico^{4,6}. En un estudio español multicéntrico en el que participaron UCI de 28 hospitales, un Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II > 20 en el momento de la candidemia se asoció con tasas de mortalidad mayores, mientras que el tratamiento antifúngico temprano y la retirada del catéter venoso central fueron factores protectores^{4,28}. Por otra parte, el tratamiento empírico inadecuado también se ha asociado al desarrollo de infección fúngica invasiva (IFI) y a un peor pronóstico de ésta³². En dos estudios diferentes se ha demostrado una fuerte interrelación entre el retraso del tratamiento antifúngico y el aumento de la tasa de mortalidad intrahospitalaria^{11,27}, en especial en los pacientes con shock séptico³³; por lo tanto, es necesario reconocer que el tiempo desempeña un papel importante cuando se valora el tratamiento de un paciente con factores de riesgo para desarrollar una IFI. El uso adecuado y temprano del tratamiento antifúngico se asocia de forma clara con un menor coste y una estancia hospitalaria más breve⁴⁶.

Evaluación del riesgo

La identificación temprana de los factores de riesgo para desarrollar candidemia (peritonitis, cirugía abdominal, administración previa de antibióticos de amplio espectro, nutrición parenteral, catéteres multilumen, colonización previa por *Candida*, hemodiálisis o ventilación mecánica) se ha convertido en la herramienta fundamental del

Tabla 1

Técnicas microbiológicas para el diagnóstico de la candidiasis invasiva en la unidad de cuidados intensivos

Técnica	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Ventajas	Inconvenientes
(1→3)-β-D-glucano	70-100	87-96	Marcador panfúngico, sensibilidad y VPP elevados, útil en suero y otras muestras	Resultados falsos positivos. Experiencia limitada, dificultades metodológicas
Manano y anticuerpos antimanano	60-89	80-84	Buena especificidad y sensibilidad en combinación	Experiencia limitada
Anticuerpos antimicelio	77-89	91-100	Diagnóstico y control de la evolución, elevada especificidad	Experiencia limitada
Ácidos nucleicos	90	100	Elevada especificidad, útil en suero y otras muestras	Escasos métodos comercializados
Combinación de métodos sin cultivo	87	100	Elevada especificidad, sensibilidad y VPP. Diagnóstico y control de la evolución	Coste elevado
Cultivo	50	100	Método de referencia, permite estudios de sensibilidad, Útil en sangre y otras muestras	Sensibilidad baja, lentitud

VPP: valor predictivo positivo.

tratamiento empírico de las IFI en el paciente crítico para así reducir la alta mortalidad asociada a estas infecciones^{5,7,38}.

La regla de Ostrosky-Zeichner

Como resultado de un estudio retrospectivo multicéntrico realizado en 12 UCI de Estados Unidos y Brasil, Ostrosky-Zeichner et al³¹ han propuesto una regla capaz de predecir el desarrollo de CI en pacientes críticos. Esta regla se obtuvo analizando a un grupo de 2.890 pacientes, con una incidencia de CI del 3%. El modelo estadístico demostró un riesgo particularmente elevado de CI en los pacientes tratados con antibióticos de amplio espectro (1-3 días) o portadores de catéter venoso central (1-3 días) y con al menos dos de los siguientes factores de riesgo: nutrición parenteral total (1-3 días), cualquier tipo de diálisis (1-3 días), cirugía mayor (-7-0 días), pancreatitis (-7-0 días), corticoides (-7-3 días) u otros tratamientos inmunodepresores (-7-0 días). A la hora de predecir una CI, esta regla tiene una sensibilidad del 34%, una especificidad del 90% y su valor predictivo positivo y negativo es del 1 y del 97%, respectivamente. En este estudio, los pacientes con cualquier combinación de diabetes mellitus, hemodiálisis, nutrición parenteral total o antibióticos de amplio espectro presentaron una tasa de candidemia del 16,6%, significativamente superior a la tasa de los pacientes que no presentaron ninguno de esos factores de riesgo (5,1%; $p = 0,001$). Nuevas combinaciones realizadas de las variables incluidas en esta regla de predicción mejoran ligeramente su capacidad diferenciadora, alcanzando una sensibilidad del 50% y una especificidad del 83%, aunque su valor predictivo positivo y negativo no varía (el 1 y el 97%, respectivamente)³⁰.

Candida score

En el último lustro, un grupo español ha desarrollado un sistema de puntuación (*score*) que permite identificar a los pacientes críticos no neutropénicos, con sospecha de candidemia, que se beneficiarían de un tratamiento antifúngico temprano¹⁸. El *Candida score* se basa en el valor predictivo de diferentes factores de riesgo previamente demostrados, ajustado para posibles variables de confusión mediante un análisis de regresión logística. La puntuación asignada para cada factor de riesgo es: nutrición parenteral (1), cirugía previa (1), colonización multifocal por *Candida* (1) y sepsis grave (2). Según los autores del estudio, un *Candida score* superior a 2,5 puede seleccionar a los pacientes que se beneficiarían de un tratamiento antifúngico temprano (sensibilidad del 81% y especificidad del 74%). Posteriormente, en el estudio CAVA, se validó de forma prospectiva este índice y se demostró la hipótesis de que menos del 5% de los pacientes con un *Candida score* menor de 3 desarrollan una CI¹⁹. Según este estudio, el área bajo la curva fue de 0,77, mejorando al índice de colonización. Además, se demostró una correlación lineal entre el valor del *Candida score* y la incidencia de CI, siendo mucho más llamativo este hecho en los pacientes sometidos

a cirugía abdominal, ya que, cuando presentan un *score* mayor de 3 puntos, uno de cada 3 pacientes desarrollan una CI. A la vista de estos resultados, nuestro grupo recomienda el tratamiento empírico de pacientes quirúrgicos con un *Candida score* de 4-5 puntos³⁶.

Índice de colonización corregido

Piarroux et al³⁹ confirmaron la eficacia del tratamiento antifúngico anticipado para prevenir la CI probada, en pacientes quirúrgicos críticos, utilizando el índice de colonización corregida (ICC). Este índice (número de muestras con alta colonización/número total de muestras analizadas) cuantifica la intensidad de la colonización de mucosas por *Candida*. Los pacientes con un ICC $\geq 0,4$ recibieron tratamiento antifúngico anticipado con fluconazol y la incidencia de candidiasis probada intra-UCI disminuyó de modo significativo del 2,2 al 0%. Sin embargo, es posible que la sobrecarga de muestras enviadas al laboratorio de microbiología, que la aplicación de esta estrategia implica, limite el uso generalizado de ésta.

Técnicas diagnósticas

La mala evolución de las IFI se debe, en parte, a las dificultades para su diagnóstico microbiológico en sus primeros estadios. El hemocultivo sólo es eficaz en el 50% de las infecciones invasivas por *Candida* y *Fusarium*, y es excepcionalmente positivo en las aspergilosis invasiva. Por su parte, los cultivos de lavado broncoalveolar o cepillado bronquial sólo son positivos en < 50% de los pacientes con aspergilosis pulmonar invasiva. Además, los cultivos positivos de muestras no estériles pueden deberse tanto a colonización como a infección, y la distinción entre ambas no siempre es fácil.

Por lo tanto, el empleo de técnicas diagnósticas independientes del cultivo puede proporcionar una valiosa ayuda a los métodos tradicionales. Hasta la fecha, los resultados publicados con la detección de (1→3)-β-D-glucano, galactomanano, manano y antimanano, anticuerpos antimicelio o ácidos nucleicos son prometedores y podrían ser muy útiles como guía del tratamiento antifúngico anticipado. En la tabla 1 se describen las ventajas e inconvenientes de cada una de estas técnicas.

Detección de (1→3)-β-D-glucano

La detección de este componente de la pared celular de muchos hongos, pero no de todos, mediante la técnica comercializada GlucateLL® (Associates of Cape Cod [Estados Unidos]) goza de gran especificidad y valor predictivo positivo (VPP) en pacientes con IFI probada o probable²⁹. Sin embargo, esta técnica no detecta (1→3)-β-D-glucano en pacientes con infección por *Mucor*, *Rhizopus* o *Cryptococcus*, y en pacientes hemodializados y colonizados por *Candida*, con bacteriemia, en quimioterapia, en tratamiento con albúmina, con factores de coagulación, con amoxicilina-

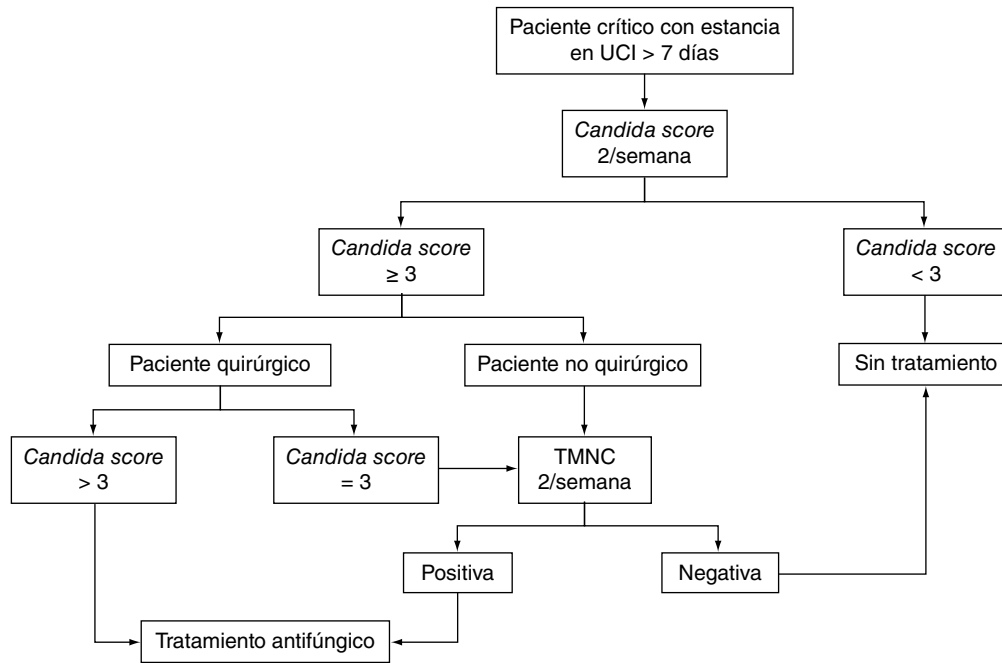


Figura 2. Algoritmo para el inicio del tratamiento antifúngico empírico o anticipado en el paciente crítico con sospecha de infección fúngica invasiva. TMNC: técnicas microbiológicas no basadas en el cultivo: detección de (1→3)-β-D-glucano, manano y anticuerpos antimanano, anticuerpos antimicelio o ácidos nucleicos; UCI: unidad de cuidados intensivos.

ácido clavulánico o con piperacilina-tazobactam, puede dar lugar a resultados falsamente positivos. No obstante, esta técnica puede ser útil tanto si se utiliza de forma aislada, como si se incluye en una estrategia de vigilancia en pacientes de riesgo alto. Utilizando un punto de corte diagnóstico (*cut-off*) de 60 pg/ml, la sensibilidad y la especificidad de la técnica es del 69,9 y del 87,1%, respectivamente, con un VPP del 83,8% y un valor predictivo negativo (VPN) del 75,1%. Con un *cut-off* de 80 pg/ml, la sensibilidad y especificidad son del 64,4 y el 92,4%, respectivamente (VPP del 89% y VPN del 73%).²⁹

En un estudio español recientemente publicado, para esta técnica se asigna un área bajo la curva de 0,60 para pacientes críticos y CI, con un VPN del 94%, y únicamente es positivo el 30% de las determinaciones en pacientes diagnosticados de CI¹. Acaba de publicarse un estudio realizado en 57 pacientes críticos quirúrgicos en el que se ha usado un punto de corte igual o mayor de 80 pg/ml.²⁵ Aunque se observaron hasta un 25% de falsos positivos en las muestras tomadas en el día +3 del estudio, la técnica ofreció una sensibilidad del 87% y una especificidad del 73%, siendo llamativa su positivización entre 4 y 8 días antes que los hemocultivos, por lo que a partir del cuarto día podría ser una técnica muy válida para anticipar de forma correcta el tratamiento, si bien este hecho debe confirmarse en nuevos estudios.

Detección de antígeno manano y anticuerpo antimanano

Desde hace años se comercializa (Platelia Candida Ag® y Platelia Candida Ab/Ac/Ak®; Bio-Rad) la detección de antígeno manano y de anticuerpos frente a este antígeno de *Candida*, mediante ELISA. Para evitar el escaso rendimiento de estas técnicas cuando se emplean por separado (debido a la baja sensibilidad de la detección de antígeno y a la alta prevalencia de anticuerpos antimanano en la población sana o colonizada), se recomienda realizar de forma conjunta ambas pruebas en todo paciente con sospecha de CI. En una reciente revisión sistemática de la bibliografía, que incluye tanto a pacientes oncohematológicos, como a críticos, se demuestra que la detección combinada de antígeno y anticuerpo es superior a la de cada uno por separado en CI (sensibilidad del 83% y especificidad del 86%), por lo que su uso podría ser útil en estos pacientes²⁴.

Detección de anticuerpos antimicelio

En 2006 nuestro grupo evaluó la técnica de inmunofluorescencia indirecta (*C. albicans* IFA IgG, Vircell) para detectar anticuerpos antimicelio (CAGTA) en una población seleccionada de pacientes críticos⁴⁴. En el estudio no se apreciaron diferencias de edad, sexo, fallo hepático o renal en los pacientes CAGTA-positivos y CAGTA-negativos; sin embargo, la tasa de mortalidad intra-UCI fue significativamente más baja en pacientes CAGTA-positivos (el 25 frente al 65,2%; $p = 0,025$). En un análisis posterior se encontraron diferencias estadísticamente significativas en mortalidad a favor de los pacientes que tuvieron títulos crecientes y recibieron tratamiento antifúngico.⁴⁵ Además, su positividad se asoció a pacientes quirúrgicos, sin modificarse por la colonización ni el tratamiento antifúngico previo³⁷. Por lo tanto, el empleo de una estrategia basada en la determinación temprana CAGTA puede reducir la mortalidad de los pacientes con riesgo de desarrollar una CI en la UCI, especialmente en los pacientes quirúrgicos. No obstante, son necesarios más estudios para confirmar estos resultados en el paciente crítico.

Detección de ácidos nucleicos

En los últimos años se han desarrollado nuevos métodos moleculares mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real, que constituyen una interesante alternativa para el diagnóstico rápido de la IFI, ya que su número de resultados falsos positivos es bajo y, además, ofrecen la posibilidad de identificar el patógeno causal en 4-5 h, llegando a alcanzar una sensibilidad y especificidad muy elevadas (el 90,9 y el 100%, respectivamente)^{15,22,43}. Desgraciadamente, y aunque parezca el formato más práctico y adecuado, la falta de estandarización de la PCR a tiempo real (método de extracción, cebadores, y sistema de detección del material amplificado) impide su uso generalizado y su reconocimiento en guías y documentos de consenso.

Por lo tanto, es evidente la necesidad de realizar un diagnóstico temprano de los pacientes críticos con sospecha de IFI que facilite la instauración temprana del tratamiento antifúngico, para así poder disminuir la elevada tasa de mortalidad de estas graves infecciones.

Pero hasta que no haya un nuevo método de referencia diagnóstico, una aproximación adecuada podría ser una estrategia basada en la combinación de índices clínicos de predicción junto con el uso de técnicas microbiológicas no basadas en el cultivo. En la figura 2 se propone un algoritmo de actuación para estos pacientes.

Conflicto de intereses

Los autores han recibido honorarios de Pfizer en relación con la coordinación y la edición de este número monográfico de la REVISTA IBEROAMERICANA DE MICOLOGÍA.

Bibliografía

- Acosta J, Catalán M, Del Palacio-Perez-Medel A, Montejo JC, De-La-Cruz-Bertolo J, Moragues MD, et al. Prospective study in critically ill non-neutropenic patients: diagnostic potential of (1,3)-beta-D-glucan assay and circulating galactomannan for the diagnosis of invasive fungal disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2011. (En prensa)
- Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H, Martin C, Goodman S, Artigas A, et al. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. *Intensive Care Med*. 2002;28:108-21.
- Almirante B, Rodríguez D, Cuenca-Estrella M, Almela M, Sanchez F, Ayats J, et al. Epidemiology, risk factors, and prognosis of *Candida parapsilosis* bloodstream infections: case-control population-based surveillance study of patients in Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *J Clin Microbiol*. 2006;44:1681-5.
- Almirante B, Rodríguez D, Park BJ, Cuenca-Estrella M, Planes AM, Almela M, et al. The Barcelona Candidemia Project Study Group. Epidemiology and predictors of mortality in cases of *Candida* bloodstream infection: Results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *J Clin Microbiol*. 2005;43:1829-35.
- Álvarez-Lerma F, Palomar M, León C, Olaechea P, Cerda E, Bermejo B. Colonización y/o infección fúngica en unidades de cuidados intensivos. Estudio multicéntrico de 1.562 pacientes. *Med Clin (Barc)*. 2003;121:161-6.
- Ben Abraham R, Keller N, Teodorovitch N, Barzilai A, Harel R, Barzilay Z, et al. Predictors of adverse outcome from candidal infection in a tertiary care hospital. *J Infect*. 2004;49:317-23.
- Blumberg HM, Jarvis WR, Soucie JM, Edwards JE, Patterson JE, Pfaller MA, et al. Risk factors for candidal bloodstream infections in surgical intensive care unit patients: the NEMIS prospective multicenter study. *The National Epidemiology of Mycosis Survey*. *Clin Infect Dis*. 2001;33:177-86.
- Cisterna R, Ezpeleta G, Telleria O, Guinea J, Regueiro B, García-Rodríguez J, et al. Nationwide sentinel surveillance of bloodstream *Candida* infections in 40 tertiary care hospitals in Spain. *J Clin Microbiol*. 2010;48:4200-6.
- Dimopoulos G, Piagnerelli M, Berre J, Salmon I, Vincent JL. Post mortem examination in the intensive care unit: still useful? *Intensive Care Med*. 2004;30:2080-5.
- Falagas ME, Apostolou KE, Pappas VD. Attributable mortality of candidemia: a systematic review of matched cohort and case-control studies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2006;25:419-25.
- 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.
- Garnacho-Montero J, Amaya-Villar R, Ortiz-Leyba C, Leon C, Alvarez-Lerma F, Nolla-Salas J, et al. Isolation of *Aspergillus* spp. from the respiratory tract in critically ill patients: risk factors, clinical presentation and outcome. *Crit Care*. 2005;9:R191-R199.
- Janssen JJ, Strack van Schijndel RJ, Van der Poest Clement EH, Ossenkoppele GJ, Thijs LG, Huijgens PC. Outcome of ICU treatment in invasive aspergillosis. *Intensive Care Med*. 1996;22:1315-22.
- Kett DH, Azoulay E, Echeverría PM, Vincent JL. *Candida* bloodstream infections in intensive care units: analysis of the extended prevalence of infection in intensive care unit study. *Crit Care Med*. 2011;39:665-70.
- Klingspor L, Jalal S. Molecular detection and identification of *Candida* and *Aspergillus* spp. from clinical samples using real-time PCR. *Clin Microbiol Infect*. 2006;12:745-53.
- Klingspor L, Tornqvist E, Johansson A, Petrini B, Forsum U, Hedin G. A prospective epidemiological survey of candidaemia in Sweden. *Scand J Infect Dis*. 2004;36:52-5.
- Leleu G, Aegerter P, Guidet B. Systemic candidiasis in intensive care units: a multicenter, matched-cohort study. *J Crit Care*. 2002;17:168-75.
- León C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Almirante B, Nolla-Salas J, Álvarez-Lerma F, et al. A bedside scoring system ("Candida score") for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with *Candida* colonization. *Crit Care Med*. 2006;34:730-7.
- Leon C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Galvan B, Blanco A, Castro C, et al. Usefulness of the "Candida score" for discriminating between *Candida* colonization and invasive candidiasis in non-neutropenic critically ill patients: a prospective multicenter study. *Crit Care Med*. 2009;37:1624-33.
- Lortholary O, Desnos-Ollivier M, Sitbon K, Fontanet A, Bretagne S, Dromer F. Recent exposure to caspofungin or fluconazole influences the epidemiology of candidemia: a prospective multicenter study involving 2,441 patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55:532-8.
- Maravi-Poma E, Rodríguez-Tudela JL, De Jalon JG, Manrique-Larralde A, Torroba L, Urtasun J, et al. Outbreak of gastric mucormycosis associated with the use of wooden tongue depressors in critically ill patients. *Intensive Care Med*. 2004;30:724-8.
- McMullan R, Metwally L, Coyle PV, Hedderwick S, McCloskey B, O'Neill HJ, et al. A prospective clinical trial of a real-time polymerase chain reaction assay for the diagnosis of candidemia in nonneutropenic, critically ill adults. *Clin Infect Dis*. 2008;46:890-6.
- Meersseman W, Vandecasteele SJ, Wilmer A, Verbeken E, Peetermans WE, Van Wijngaerden E. Invasive aspergillosis in critically ill patients without malignancy. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;170:621-5.
- Mikulska M, Calandra T, Sanguinetti M, Poulain D, Viscoli C. The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the Third European Conference on Infections in Leukemia. *Crit Care*. 2010;14:R222.
- Mohr JF, Sims C, Paetznick V, Rodríguez J, Finkelman MA, Rex JH, et al. Prospective survey of (1→3)-beta-D-glucan and its relationship to invasive candidiasis in the surgical intensive care unit setting. *J Clin Microbiol*. 2011;49:58-61.
- Morgan J, Meltzer MI, Plikaytis BD, Sofair AN, Huie-White S, Wilcox S, et al. Excess mortality, hospital stay, and cost due to candidemia: a case-control study using data from population-based candidemia surveillance. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2005;26:540-7.
- 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.
- Nolla-Salas J, Sitges-Serra A, León-Gil C, Martínez-González J, León-Regidor MA, Ibáñez-Lucía P, et al. Candidemia in non-neutropenic critically ill patients: analysis of prognostic factors and assessment of systemic antifungal therapy. Study Group of Fungal Infection in the ICU. *Intensive Care Med*. 1997;23:23-30.
- Ostrosky-Zeichner L, Alexander BD, Kett DH, Vazquez J, Pappas PG, Saeki F, et al. Multicenter clinical evaluation of the (1→3) beta-D-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. *Clin Infect Dis*. 2005;41:654-9.
- Ostrosky-Zeichner L, Pappas PG, Shoham S, Reboli A, Barron MA, Sims C, et al. Improvement of a clinical prediction rule for clinical trials on prophylaxis for invasive candidiasis in the intensive care unit. *Mycoses*. 2011;54:46-51.
- Ostrosky-Zeichner L, Sable C, Sobel J, Alexander BD, Donowitz G, Kan V, et al. Multicenter retrospective development and validation of a clinical prediction rule for nosocomial invasive candidiasis in the intensive care setting. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2007;26:271-6.
- Parkins MD, Sabuda DM, Elsayed S, Laupland KB. Adequacy of empirical antifungal therapy and effect on outcome among patients with invasive *Candida* species infections. *J Antimicrob Chemother*. 2007;60:613-8.
- Patel GP, Simon D, Scheetz M, Crank CW, Lodise T, Patel N. The effect of time to antifungal therapy on mortality in Candidemia associated septic shock. *Am J Ther*. 2009;16:508-11.
- Pemán J, Cantón E, Camarena J, Alcoba J, Echeverría J, Navarro D, et al. Variación de la epidemiología de las fungemias y de la sensibilidad a fluconazol de los aislamientos en los últimos 10 años en España: resultados del estudio FUNGEMYCA. *Rev Iberoam Micol*. 2011;28:91-9.
- Pemán J, Cantón E, Gobernado M. Epidemiology and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from blood: results of a 2-year multicenter study in Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2005;24:23-30.
- Pemán J, Zaragoza R. Current diagnostic approaches to invasive candidiasis in critical care settings. *Mycoses*. 2010;53:424-33.
- Pemán J, Zaragoza R, Quindós G, Alkorta M, Cuétara MS, Camarena JJ, et al. Clinical factors associated with a *Candida albicans* Germ Tube Antibody positive test in Intensive Care Unit patients. *BMC Infect Dis*. 2011;11:60.
- Petri MG, König J, Moeckel HP, Gramm HJ, Barkow H, Kujath P, et al. Epidemiology of invasive mycosis in ICU patients: a prospective multicenter study in 435 non-neutropenic patients. *Paul-Ehrlich Society for Chemotherapy, Divisions of Mycology and Pneumonia Research*. *Intensive Care Med*. 1997;23:317-25.
- Piarroux R, Grenouillet F, Balvay P, Tran V, Blasco G, Millon L, et al. Assessment of preemptive treatment to prevent severe candidiasis in critically ill surgical patients. *Crit Care Med*. 2004;32:2443-9.
- Puzniak L, Teutsch S, Powderly W, Polish L. Has the epidemiology of nosocomial candidemia changed? *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2004;25:628-33.
- Sendid B, Cotteau A, Francois N, D'Haveloose A, Standaert A, Camus D, et al. Candidaemia and antifungal therapy in a French University Hospital: rough trends over a decade and possible links. *BMC Infect Dis*. 2006;6:80.
- Tortorano AM, Pemán J, Bernhardt H, Klingspor L, Kibbler CC, Faure O, et al. Epidemiology of candidaemia in Europe: results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2004;23:317-22.
- Westh H, Lisby G, Breyse F, Boddingshaus B, Chomarar M, Gant V, et al. Multiplex real-time PCR and blood culture for identification of bloodstream pathogens in patients with suspected sepsis. *Clin Microbiol Infect*. 2009;15:544-51.
- Zaragoza R, Pemán J, Quindós G, Iruretagoyena JR, Cuétara MS, Ramirez P, et al. Clinical significance of the detection of *Candida albicans* germ tube-specific antibodies in critically ill patients. *Clin Microbiol Infect*. 2009;15:592-5.
- Zaragoza R, Pemán J, Quindós G, Iruretagoyena JR, Cuétara MS, Ramirez P, et al. Kinetic Patterns of *Candida albicans* Germ Tube Antibody (CAGTA) in Critically Ill Patients: Influence on Mortality. *Clin Vaccine Immunol*. 2009;16:1527-8.
- Zilberberg MD, Kollef MH, Arnold H, Labelle A, Micek ST, Kothari S, et al. Inappropriate empiric antifungal therapy for candidemia in the ICU and hospital resource utilization: a retrospective cohort study. *BMC Infect Dis*. 2010;10:150.