



## Revisión

# Aspectos actuales de las enfermedades invasoras causadas por *Candida* y otros hongos levaduriformes



Javier Pemán<sup>a,\*</sup> y Guillermo Quindós<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Servicio de Microbiología, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, España

<sup>b</sup> Unidad de Formación e Investigación 11/25 «Microbios y Salud», Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco-Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Bilbao, España

## INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

### Historia del artículo:

Recibido el 24 de septiembre de 2015

Aceptado el 16 de octubre de 2015

On-line el 8 de abril de 2016

### Palabras clave:

Micosis invasoras

*Candida*

*Cryptococcus*

Etiología

Diagnóstico

Tratamiento

## R E S U M E N

La candidiasis invasora es la más común de las enfermedades fúngicas invasoras y la causa de una mortalidad excesivamente alta. *Candida albicans* es la etiología más frecuente, pero se está observando un importante cambio epidemiológico en las últimas décadas. Algunas especies de *Candida* son causa frecuente de candidemias graves, y pueden mostrar una sensibilidad reducida a los fármacos antifúngicos de uso habitual en el tratamiento de estas enfermedades. *Candida parapsilosis* se aísla de candidemias en neonatos y adultos jóvenes, mientras que *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* y *Candida krusei* se aíslan con más frecuencia en hemocultivos de personas ancianas (>65 años). Otras levaduras son importantes en la etiología de las micosis invasoras, como *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Malassezia*, *Geotrichum* o *Saprochaete/Magnusiomyces*. La criptococosis es una causa importante de meningitis en personas infectadas por el VIH, y se está convirtiendo en un desafío clínico en receptores de trasplantes. El diagnóstico de estas infecciones invasoras continúa siendo un problema importante que causa retrasos inaceptables en el comienzo de la terapia dirigida más adecuada. Sin embargo, se están describiendo nuevas aproximaciones diagnósticas que pueden ayudar en el establecimiento de un diagnóstico rápido de las micosis causadas por levaduras, entre las que destacan la hibridación con sondas PNA-FISH, la identificación del agente etiológico en muestras de hemocultivo por MALDI-TOF MS o técnicas nuevas y rápidas de detección de ácidos nucleicos en las muestras clínicas.

© 2015 Asociación Española de Micología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

## Current aspects of invasive diseases caused by *Candida* and other yeast fungi

### A B S T R A C T

Invasive candidiasis is the most common invasive fungal disease causing an unacceptably high mortality. *Candida albicans* remains the predominant origin, but an epidemiological shift has been described in the last decades. Some species of *Candida* have emerged as an important cause of severe candidaemia and can exhibit reduced susceptibility to the current antifungal agents. *Candida parapsilosis* has been associated with candidaemia in neonates and young adults, whereas *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, and *Candida krusei* are most frequently isolated in blood cultures from older patients (>65 years). Other yeasts are becoming important causes of invasive mycoses, such as *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Malassezia*, *Geotrichum* or *Saprochaete/Magnusiomyces*. Cryptococcosis is more relevant as a cause of meningitis in HIV-infected people, but cryptococcal infections are also a clinical challenge in transplant recipients. Diagnosis remains an important problem, causing unacceptable delays in starting a correct and direct treatment. However, there are some new approaches that can help in the prompt and specific diagnosis of invasive yeast infections, such as *in situ* hybridisation using PNA-FISH probes, causal agent identification in blood cultures using MALDI-TOF MS, or new and rapid nucleic acids detection assays.

© 2015 Asociación Española de Micología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

### Keywords:

Invasive mycoses

*Candida*

*Cryptococcus*

Etiology

Diagnosis

Treatment

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [peman.jav@gva.es](mailto:peman.jav@gva.es) (J. Pemán).

La candidiasis invasora es la enfermedad fúngica invasora más frecuente en todas las latitudes, y junto con las micosis causadas por otros hongos levaduriformes, como *Cryptococcus*, *Trichosporon* o *Malassezia* representa cerca del 90% de las enfermedades fúngicas invasoras nosocomiales (tabla 1). La incidencia de las candidiasis invasoras se incrementó espectacularmente a partir de la década de 1980, coincidiendo con importantes avances médicos y quirúrgicos en el tratamiento de las neoplasias y el trasplante de órganos. Desde hace una década esta incidencia se mantiene estable o ha disminuido en algunas instituciones gracias a las mejoras diagnósticas y terapéuticas. Sin embargo, la mortalidad asociada a la candidiasis invasora no ha descendido de manera significativa<sup>60,62</sup>.

La mayoría de las candidiasis son leves y afectan a la piel, las uñas y, sobre todo, a las mucosas oral y vaginal. Sin embargo, *Candida* puede causar enfermedades invasoras graves en enfermos ingresados en UCI y en pacientes con neutropenia profunda o prolongada u otras inmunodeficiencias. En muchos hospitales terciarios *Candida* es el cuarto de los patógenos que son aislados con mayor frecuencia en hemocultivos, y es una de las causas más importantes de mortalidad. Este es un dato relevante porque la candidemia es solo la punta del iceberg de las candidiasis invasoras y *Candida* se recupera en menos del 70% de los hemocultivos de los pacientes que sufren una candidiasis invasora<sup>4,16</sup>.

La mayoría de las especies de *Candida* habitan en el ser humano y otros animales homeotermos. La colonización de las superficies corporales, sobre todo de las mucosas, se produce desde los primeros días de vida. La boca y el aparato digestivo están colonizados por *Candida* en el 30-50% de las personas. La colonización oral es mayor en los lactantes y niños pequeños, así como en los ancianos, donde esta colonización candidiásica se ve favorecida por el uso de prótesis dentales. También se ha descrito una mayor colonización en la boca y en el aparato digestivo en personas que han recibido un tratamiento con antibióticos o quimioterapia, en personas con diabetes mal controlada, en pacientes hospitalizados y en personas infectadas por el VIH. Además, es relativamente frecuente la colonización vaginal por *Candida albicans*, que puede aislarse en el 10-40% de las mujeres<sup>64</sup>.

La colonización del aparato digestivo es el origen endógeno de la mayoría de las candidiasis invasoras. El daño de las barreras anatómicas y fisicoquímicas, como ocurre durante las intervenciones quirúrgicas o la inserción de catéteres intravenosos o sondas urinarias, facilita la entrada de *Candida* en la circulación sanguínea y su diseminación a diferentes órganos. Además, la modificación o supresión de la microbiota por un tratamiento con antibióticos de amplio espectro facilita la proliferación y aumento de la población celular de *Candida*, y un desequilibrio con las defensas del huésped que incrementa el riesgo de translocación intestinal y el paso de *Candida* a la sangre.

La transmisión exógena de *Candida* puede producirse por materiales y objetos contaminados, por el personal sanitario o entre

**Tabla 1**

Incidencia y mortalidad de las principales micosis invasoras

Micosis invasora	Incidencia anual por millón de habitantes	Mortalidad atribuida
Candidiasis	20-200 <sup>a</sup>	30-50%
Criptococosis	20-60	10-20%
Aspergilosis	10-30	30-100%
Mucormicosis	1-2	40-100%
Escudoporioidosis, fusariosis y otras hialohifomicosis	1,2	40-100%
Feohifomicosis	0,5-1	40-100%

<sup>a</sup> Las mayores incidencias se han observado en Dinamarca, EE.UU. y España. Fuente: Quindós<sup>64</sup>.

pacientes. Suele asociarse a la nutrición parenteral, al uso intravenoso de fármacos, al reemplazamiento de válvulas cardíacas, prótesis o al trasplante de órganos. Se han descrito infecciones nosocomiales cruzadas por contacto entre pacientes o a partir de una persona colonizada o infectada a otra a través de las manos del personal sanitario o de fómites. En la mayoría de los brotes de candidiasis invasora por *C. albicans* observados en las UCI el origen de la infección ha sido las manos del personal sanitario. Sin embargo, en los brotes nosocomiales causados por *Candida parapsilosis* el origen de la infección candidiásica ha sido los catéteres o la nutrición parenteral. El ingreso en la UCI y la prolongación de la estancia en este servicio hospitalario son factores independientes de riesgo para padecer candidiasis invasora y para la transmisión nosocomial de *Candida*. Sin embargo, alrededor de un tercio de las candidiasis invasoras se diagnostican en pacientes ambulatorios, sobre todo en aquellos enfermos que reciben cuidados sanitarios en su domicilio porque requieren el uso de catéteres intravasculares, nutrición parenteral, quimioterapia, hemodiálisis o diálisis peritoneal ambulatoria crónica (tabla 2)<sup>60,65</sup>.

Alrededor del 95% de las candidiasis invasoras están causadas por cinco especies de *Candida*: *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. krusei*. Otras especies como *C. dubliniensis*, *C. guilliermondii*, *C. lusitanae*, *C. norvegensis* y *C. rugosa* pueden causar infecciones esporádicas y plantean problemas diagnósticos y terapéuticos. Las candidiasis invasoras están causadas en su mayoría (40-75%) por la especie *C. albicans*. Sin embargo, se está observando un cambio etiológico pronunciado y cada vez son más frecuentes las candidiasis invasoras causadas por *C. parapsilosis*, *C. glabrata* o *C. tropicalis*<sup>38,57,61,69</sup>.

En América del Norte y en los países del centro y norte de Europa (Alemania, Francia, Reino Unido y los países escandinavos) *C. glabrata* es un patógeno cada vez más frecuente. Sin embargo, en América Latina, España y otros países mediterráneos europeos *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* se aíslan con mayor frecuencia en los hemocultivos que *C. glabrata*<sup>5,17,19,24,35,58,61</sup>.

**Tabla 2**

Principales factores predisponentes para sufrir una micosis invasora por levaduras

Levadura	Neutropenia	Catéteres y otros dispositivos	Quimioterapia	Antibióticos de amplio espectro	Tratamiento con corticoides	Inmunodeficiencia (sida)	Otros factores
<i>Candida albicans</i>	+++	+++	++	++	++	+++	++
<i>Cryptococcus neoformans</i>	++	+/-	++	+	++	+++	+
<i>Cryptococcus gattii</i>	++	+/-	++	+	++	++	+
<i>Trichosporon asahii</i>	+++	+++	++	+	+	+	-
<i>Geotrichum candidum</i>	+++	+++	++	++	+	+	+
<i>Magnusiomyces capitatus</i>	+++	+	++	++	+	+	+
<i>Malassezia</i>	++	+++	+	+	++	+	+
<i>Rhodotorula</i>	+++	++	++	++	+	+	++
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	++	++	++	+	+	+	+

Otros factores: quemaduras graves, cirugía abdominal extensa, traumatismos, estancia en la unidad de cuidados intensivos, trasplante de órganos sólidos, lupus, sarcoidosis, etc.

Fuente: Quindós<sup>64</sup>.

*C. parapsilosis* predomina en las candidemias de neonatos y lactantes, sobre todo en los recién nacidos prematuros de bajo peso ingresados en las UCI neonatales. En algunos países *C. parapsilosis* puede aislarse en sangre en una proporción similar a la de *C. albicans*, en asociación sobre todo con la nutrición parenteral y con el uso de catéteres intravasculares. Las candidiasis invasoras causadas por *C. parapsilosis* tienen menor mortalidad (20%) y su origen exógeno permite adoptar medidas preventivas eficaces, como el lavado correcto de las manos, la manipulación adecuada de los catéteres y el cumplimiento estricto de los protocolos de control de las infecciones.

*C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. krusei* causan candidiasis invasoras en pacientes de edad avanzada, con una incidencia mayor en pacientes con neoplasias hematológicas y en receptores de trasplante de progenitores hematopoyéticos con neutropenia profunda o prolongada<sup>33</sup>. En los últimos años se han descrito especies crípticas dentro de las especies más comunes de *Candida* que podrían explicar algunas de las diferencias epidemiológicas. Así, *C. glabrata* es realmente un clado que engloba tres especies (*C. glabrata sensu stricto*, *C. bracarensis* y *C. nivariensis*), y *C. parapsilosis*, otro clado que agrupa otras tres especies (*C. parapsilosis sensu stricto*, *C. metapsilosis* y *C. orthopsilosis*)<sup>46</sup>. En el reciente estudio epidemiológico español Fungemyca, *C. orthopsilosis* era la quinta causa de candidemia, por delante de *C. krusei*, un hecho que tiene especial relevancia clínica<sup>58</sup>.

La posible relación entre el uso de azoles, tanto en profilaxis como en terapia dirigida, y la selección de especies con menor sensibilidad a estos fármacos antifúngicos, como *C. krusei* o *C. glabrata*, no ha sido constatada completamente<sup>7,11,32</sup>. Tampoco hay evidencias de que el uso de equinocandinas incremente la selección de *C. parapsilosis*, a pesar de que la concentración mínima inhibitoria de las equinocandinas sea más alta para esta especie<sup>13,25,27,41</sup>.

La variabilidad geográfica de la etiología de la candidiasis invasora es una peculiaridad epidemiológica observada en estudios multicéntricos<sup>47,56</sup>. En el estudio multicéntrico español Fungemyca, *C. albicans* se aisló en el 69% y 65% de las candidemias de los hospitales de Navarra y Aragón, respectivamente, mientras que únicamente se aisló en el 35% de los hospitales de Andalucía y Valencia. Además, *C. parapsilosis* era la causa del 40% de las candidemias de Valencia y del 36% de las de Murcia, mientras que solo causaba el 12% de las de Cataluña.

Las consecuencias clínicas de las candidiasis invasoras son muy graves: la aparición de una candidiasis invasora alarga el periodo de estancia hospitalaria y los pacientes presentan el doble de riesgo de morir en el hospital que los que padecen una infección nosocomial bacteriana<sup>9,10,73</sup>. La candidiasis invasora es un factor pronóstico independiente de muerte, y aunque la gravedad de muchas de las enfermedades subyacentes dificulta las estimaciones correctas de mortalidad, un tercio de estos enfermos morirá como consecuencia de la candidiasis invasora y un 10–20% morirá a causa de la enfermedad subyacente. Estos datos apenas han sufrido modificaciones desde la década de 1980. Se podría reducir este desenlace fatal mejorando las herramientas de diagnóstico, tratamiento y prevención. Las mejoras en prevención son fundamentales y deben cumplirse las directrices de los comités de control de las infecciones, supervisando de forma rigurosa la exposición de los enfermos a los patógenos potenciales, limitando la administración de fármacos antiviricos y antibacterianos de amplio espectro, y realizando una manipulación y cuidado adecuado de los catéteres endovenosos<sup>53,71,72</sup>.

### Criptococosis

*Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus gattii* son la segunda causa de enfermedad fúngica invasora causada por levaduras y presentan una epidemiología y una morbimortalidad diferenciadas. *C.*

*gattii* (serotipos B y C) predomina en zonas tropicales y subtropicales, con tasas de mortalidad muy bajas. El 90% de las infecciones por *C. neoformans* en sus dos variedades, *C. neoformans* variedad *grubii* (serotipo D, más propio de climas templados) y *C. neoformans* variedad *neoformans* (serotipo A, cosmopolita) infectan a pacientes con inmunodeficiencia (pacientes con sida, con neoplasias, receptores de órganos o tratados con corticoides, etc.) causando elevadas tasas de mortalidad<sup>64</sup>.

*C. neoformans* es un saprobio ubicuo en el suelo, vegetales, frutos y madera en descomposición, sobre todo enriquecidos con excrementos de paloma (*Columba livia*) y otras aves. Además, se ha aislado de productos alimenticios, como la leche de cabras y vacas con mastitis criptocócica. Un reservorio de *Cryptococcus* son las amebas (*Acanthamoeba castellanii*) y los nemátodos del suelo (*Caenorhabditis elegans*) en los que se mantiene activo después de ser fagocitado o ingerido<sup>15,64</sup>. *C. gattii* tiene como hábitat los árboles, sobre todo *Eucalyptus camaldulensis* y *Eucalyptus tereticornis*<sup>43,48,64</sup>.

*C. neoformans* se comporta a menudo como un hongo oportunista. Es la causa más frecuente de meningitis fúngica, sobre todo en pacientes con una inmunidad celular deficiente, y adquiere una relevancia especial en los países del África subsahariana. La criptococosis se adquiere habitualmente por inhalación de propágulos de *C. neoformans*. Comienza con una infección pulmonar subclínica con una diseminación posterior a la piel y a los órganos internos; existe un tropismo especial por el sistema nervioso central, lo que causa meningitis o meningoencefalitis. En los receptores de trasplantes de órgano sólido o de progenitores hematopoyéticos, y en los pacientes con neoplasias hematológicas o con tratamiento prolongado con corticoides, la criptococosis pulmonar puede ser más frecuente que la meníngea y la mortalidad más elevada. La enfermedad por *C. gattii* se asocia a una mortalidad más baja, pero las secuelas, sobre todo neurológicas, por la formación de granulomas cerebrales, son muy graves<sup>30,49</sup>.

### Micosis invasoras causadas por otras levaduras

Se describen cada vez con más frecuencia enfermedades fúngicas invasoras causadas por otras levaduras que presentan una gravedad mayor en los pacientes con alguna inmunodeficiencia importante. Estas micosis invasoras están causadas por hongos que pueden ser comensales de piel y mucosas, como *Malassezia*, *Trichosporon*, *Rhodotorula*, *Geotrichum*, *Saprochaete/Magnusiomyces*, *Saccharomyces* y *Hansenula*. La mayoría de estas micosis se han descrito en pacientes con neoplasias hematológicas que recibían un tratamiento de profilaxis con azoles<sup>4,45,55</sup>.

*Malassezia* forma parte de la microbiota de las zonas de la piel más ricas en grasas, pero también puede causar infecciones leves, como dermatitis seborreica y pitiriasis. Hay más de 14 especies descritas, pero *Malassezia furfur* y *Malassezia pachydermatis* son las de mayor interés médico<sup>4,64</sup>. La mayoría de las infecciones se han descrito en recién nacidos prematuros o de bajo peso y en otros pacientes que recibían una nutrición parenteral rica en lípidos. Se han descrito brotes de fungemia por *Malassezia pachydermatis* en pacientes cuidados por enfermeras dueñas de perros con otitis externa causadas por este patógeno que, a diferencia de *Malassezia furfur*, no es lipófila obligada<sup>4,44</sup>.

El género *Trichosporon* incluye 14 especies de interés médico dentro de las más de 40 aceptadas<sup>63</sup>. *Trichosporon asahii* y *Trichosporon mucoides* pueden causar trichosporonosis invasora, especialmente asociada al uso de catéteres, sobre todo en pacientes con neutropenia, con una mortalidad superior al 80%. Este hongo también puede acceder a la sangre a través de los aparatos digestivo y respiratorio. *Trichosporon* muestra una sensibilidad variable a la anfotericina B, lo que puede dificultar el tratamiento. La trichosporonosis hepática crónica puede remedar a la candidiasis hepatoesplénica<sup>1</sup>.

Hay ocho especies de *Rhodotorula* de interés clínico, pero la mayoría de las enfermedades fúngicas invasoras (fungemias, peritonitis y meningitis) son causadas por *Rhodotorula rubra* (*Rhodotorula mucilaginosa*), *Rhodotorula glutinis* y *Rhodotorula minuta* en pacientes con inmunodeficiencia o con sondas permanentes. *Rhodotorula* forma parte de la microbiota de la piel, las uñas y las mucosas, pero también se aísla del queso y otros productos lácteos, de los zumos de frutas y de diversas fuentes ambientales (aire, suelo, cortinas de ducha, bañeras y cepillos de dientes). También son contaminantes habituales de los laboratorios por dispersión aérea<sup>4</sup>.

*Geotrichum candidum* y *Saprochaete capitata* (*Magnusiomyces capitatus*) se aíslan de tierra, restos vegetales, frutos (cítricos) y algunos productos lácteos (quesos blandos) y suelen formar parte de la microbiota de la piel y de las mucosas. Pueden ocasionar micosis invasoras graves, con una mortalidad del 40-80% en pacientes con inmunodeficiencia profunda, de forma especial en pacientes con neoplasias hematológicas o aquellos infectados por el VIH. Las geotricosis pueden tener un origen tanto endógeno (aparato digestivo) como exógeno (inhalación de propágulos). Se ha descrito una infección diseminada crónica semejante a la candidiasis hepatoesplénica<sup>4,63</sup>.

### Novedades en el tratamiento y diagnóstico de las enfermedades fúngicas invasoras causadas por hongos levaduriformes

El tratamiento de las micosis invasoras causadas por *Candida* y otras levaduras se aborda de forma específica en otras contribuciones de este monográfico. En la [tabla 3](#) se describen los tratamientos recomendados de las principales presentaciones clínicas de la candidiasis invasora.

La técnica de referencia para el diagnóstico de las micosis invasoras sigue siendo el hemocultivo, a pesar de sus limitaciones: su sensibilidad no supera el 50-75% y el tiempo requerido desde la toma de la muestra hasta la identificación del hongo aislado y el estudio de la sensibilidad del agente causal es de 48-72 h, en el mejor de los casos<sup>4,16</sup>.

Debido a esta falta de sensibilidad y rapidez diagnóstica, en los últimos años se han desarrollado nuevas técnicas microbiológicas para detectar precozmente las micosis invasoras o agilizar la respuesta diagnóstica del hemocultivo convencional. Hay dos interesantes propuestas encaminadas a tal fin: una técnica comercializada de hibridación *in situ* (PNA-FISH Yeast Traffic Light) y el uso de una técnica de espectrometría de masas mediante ionización suave (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time-Of-Flight Mass Spectrometry*, MALDI-TOF MS) directamente sobre el hemocultivo.

**PNA-FISH Yeast Traffic Light** (AdvanDX, EE.UU.). Esta técnica utiliza sondas *peptide nucleic acid* (PNA) especie-específicas que hibridan *in situ* con el ADN diana de varias especies de *Candida*, lo que produce fluorescencia de diferente color: *C. albicans* y *C. parapsilosis* dan una fluorescencia verde, *C. glabrata* y *C. krusei* fluorescencia roja y *C. tropicalis* una fluorescencia amarilla. Es una técnica sencilla de realizar e interpretar que precisa poco equipamiento (microscopio de fluorescencia), es rápida (90 min) y con elevada sensibilidad (92-100%) y especificidad (95-100%)<sup>34,67</sup>. Al ser capaz de identificar especies sensibles al fluconazol permite ajustar el tratamiento e iniciar la desescalada terapéutica si las condiciones del paciente lo permiten, con la consiguiente disminución de los costes asistenciales<sup>28</sup>.

**MALDI-TOF MS.** La incorporación de la espectrofotometría de masas para la identificación de bacterias y hongos mediante análisis proteómico ha revolucionado el diagnóstico microbiológico en la práctica diaria, ya que permite una correcta identificación en menos de 30 min de los aislamientos fúngicos en medios de cultivo sólido<sup>6,14,20</sup>. Debido a su exquisita sensibilidad, MALDI-TOF MS podría también ser utilizado para la detección directa de patógenos del material clínico ya que, a diferencia de la detección de ácidos nucleicos mediante técnicas moleculares, no requiere amplificación previa de la diana<sup>14</sup>. Esta nueva aproximación diagnóstica ya ha sido aplicada directamente en hemocultivos, con la identificación de especies de *Candida* en menos de 30 min de media, con elevadas tasas de concordancia con los métodos convencionales (95,9% para *C. albicans* y 86,5% para otras especies)<sup>66</sup>. Los modernos sistemas de hemocultivo detectan el crecimiento en las primeras 24-48 h de incubación en la mayoría de los episodios

**Tabla 3**  
Tratamiento antifúngico de las candidiasis invasoras

Presentación clínica de la candidiasis	Comentarios	Tratamiento recomendado	Tratamientos alternativos
Esofágica		Fluconazol oral Candina intravenosa	Voriconazol, posaconazol o una formulación lipídica de anfotericina B
Urinaria Candidemia y candidiasis diseminada aguda	Si no se sabe aún la identidad de la especie	Fluconazol oral (y retirar la sonda urinaria) Candina intravenosa seguida de fluconazol Fluconazol intravenoso <sup>a</sup>	Voriconazol o una formulación lipídica de anfotericina B, seguidos de fluconazol
	Si se sabe la identidad de la especie	Fluconazol intravenoso si es sensible a este antifúngico <sup>a</sup>	
Candidiasis diseminada crónica o hepatoesplénica		Candina o una formulación lipídica de anfotericina B intravenosos seguidos de fluconazol (y corticoides)	Fluconazol intravenoso
Meningitis (meningoencefalitis, endoftalmítis, etc.)		Una formulación lipídica de anfotericina B intravenosa asociada a 5-fluorocitosina, seguida de fluconazol o voriconazol	Fluconazol o voriconazol asociados a una candina
Endocarditis (pericarditis, mediastinitis)		Candina intravenosa asociada a fluconazol, voriconazol o una formulación lipídica de anfotericina B	Una formulación lipídica de anfotericina B intravenosa asociada a 5-fluorocitosina
Osteoarticular		Candina intravenosa asociada a fluconazol, voriconazol o una formulación lipídica de anfotericina B	Una formulación lipídica de anfotericina B intravenosa asociada a 5-fluorocitosina
Peritonitis		Candina intravenosa asociada a fluconazol, voriconazol o una formulación lipídica de anfotericina B	Una formulación lipídica de anfotericina B intravenosa asociada a 5-fluorocitosina

<sup>a</sup> Si la infección es leve, no hay neutropenia, no hay colonización por *Candida krusei* o *Candida glabrata* y el paciente no ha recibido azoles en los últimos meses.  
Fuente: Quindós<sup>64</sup>.



de candidemia; con el empleo de MALDI-TOF MS podría obtenerse una identificación correcta de la especie en las primeras 48 h desde la extracción de la sangre del paciente para el hemocultivo, lo que facilitaría la elección más adecuada del tratamiento antifúngico y reduciría las estancias en UCI y las tasas de mortalidad asociadas<sup>36</sup>.

Un estudio reciente compara la utilidad de tres técnicas rápidas (tinción de Gram, PNA-FISH Yeast Traffic Light y MALDI-TOF MS) para la identificación de levaduras directamente de hemocultivo<sup>31</sup>. La identificación correcta de la especie se realizó en el 96% de los casos con PNA-FISH, en el 72% con la tinción de Gram y en el 78% con MALDI-TOF MS. Sin embargo, el coste del PNA-FISH (57 dólares por ensayo) puede ser una limitación importante para su uso en la práctica diaria, sobre todo si se compara con las otras dos analizadas (0,17 y 2,17 dólares la tinción de Gram y MALDI-TOF MS, respectivamente).

Una nueva e interesante aplicación de MALDI-TOF MS es la evaluación de la sensibilidad a los fármacos antifúngicos. MALDI-TOF MS parece identificar correctamente, en menos de 15 h, los aislamientos de *Candida* con mutaciones *fks*, con potencial sensibilidad reducida a la caspofungina, al basarse en los cambios que presentan las levaduras en el proteoma<sup>22,70</sup>. Esta nueva aplicación podría facilitar la iniciación precoz del tratamiento antifúngico más apropiado.

*Otras novedades en el diagnóstico.* En la candidiasis invasora las técnicas alternativas al diagnóstico convencional no se han desarrollado tanto en comparación con la aspergilosis invasora o la criptococosis.

La detección combinada mediante ELISA de antígeno manano y de anticuerpos frente a este antígeno de *Candida* está comercializada desde hace años (Platelia *Candida* Ag® y Platelia *Candida* Ab/Ac/Ak®; Bio-Rad). Esta técnica ha demostrado una gran fiabilidad para el diagnóstico de la candidemia y se realiza de forma seriada (dos veces por semana); en pacientes con riesgo puede adelantar el diagnóstico unos seis días. Además, debido a su alto valor predictivo negativo (85-95%) puede ser muy útil para descartar la infección y ahorrar tratamientos innecesarios. La *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* (ESCMID) recomienda su utilización (grado de evidencia II) en los laboratorios asistenciales para un mejor diagnóstico de la candidemia<sup>21</sup>.

La detección y cuantificación, mediante inmunofluorescencia, de anticuerpos anti-micelio o anti-tubos germinales (CAGTA) en suero está disponible comercialmente (*Candida albicans* IgG IFA, Vircell). Esta técnica presenta buenos resultados de sensibilidad (84,4%) y especificidad (94,7%) para el diagnóstico de las candidiasis invasoras con títulos de anticuerpos superiores a 1:160, y distingue entre candidemia transitoria o relacionada con catéter (CAGTA -) y la candidemia asociada a infección profunda (CAGTA +); por lo tanto, la detección de CAGTA en un paciente con candidemia descarta la participación del catéter intravenoso en la misma y justifica la búsqueda de focos más profundos (cavidad abdominal, tracto urinario, etc.) como origen de la candidemia<sup>42</sup>.

El 1,3-β-D-glucano (BG) es un componente de la pared celular fúngica que puede detectarse en los líquidos biológicos (principalmente suero) de pacientes con candidiasis, aspergilosis o neumocistosis, pero no con criptococosis o mucormicosis<sup>54</sup>. La técnica para su detección está comercializada como Fungitell® (Associates of Cape Cod Inc., EE.UU.). Es un marcador panfúngico, por lo que un resultado positivo no permite identificar la especie causante de la enfermedad fúngica invasora. En la candidemia y la candidiasis invasora el valor predictivo negativo del BG es superior al 90%, por lo que es muy útil para descartar la infección cuando se realizan determinaciones seriadas, y puede adelantar en siete días al diagnóstico por hemocultivo<sup>37</sup>. Esta técnica ha sido incluida en los criterios diagnósticos de la *European Organization for Research*

*and Treatment of Cancer/Mycosis Study Group* (EORTC/MSG) para las enfermedades fúngicas invasoras en 2008 y la ESCMID recomienda su determinación seriada (dos veces por semana) para el diagnóstico de la candidemia en adultos (grado de evidencia II)<sup>21,23</sup>. Sin embargo, la compleja realización e interpretación de los resultados no ha facilitado su incorporación en la rutina diaria de la mayoría de los laboratorios asistenciales.

La elevada sensibilidad teórica de las técnicas de detección de ácidos nucleicos mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) no se ha confirmado en la práctica clínica. La principal limitación de estas técnicas es la falta de estandarización y las distintas metodologías empleadas, lo que hace muy difícil la comparación entre los diferentes estudios<sup>54</sup>. Sin embargo, se han publicado varios metaanálisis que muestran una sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de la candidemia del 92% y del 95%, respectivamente. En el caso de enfermos ingresados en UCI con sospecha de candidiasis invasora la sensibilidad superó el 70%, mientras que los hemocultivos fueron positivos solo en el 38% de los casos<sup>8</sup>. Recientemente también se ha destacado la utilidad clínica de técnicas de PCR múltiple en tiempo real directamente en sangre completa o suero de pacientes críticos, tanto pediátricos como adultos<sup>29,68</sup>, así como el uso de *microarrays* o micromatrices de ADN de baja densidad con muestras de líquido peritoneal para el diagnóstico de la candidiasis peritoneal<sup>18</sup>.

Existen técnicas comercializadas como SeptiFast (Roche Diagnostics, EE.UU.) o FilmArray (BioFire DX, EE.UU.), que detectan ADN de bacterias y de algunas especies de *Candida* en sangre total o líquidos estériles mediante PCR múltiple en tiempo real o *microarrays*<sup>2,3,39</sup>. La mayor utilidad de estas técnicas se ha demostrado en pacientes críticos con sepsis, pero deben emplearse en combinación con el hemocultivo y nunca como sus sustitutos<sup>3,26,39</sup>.

El uso combinado de técnicas puede optimizar el diagnóstico de una candidiasis invasora. Un estudio prospectivo multicéntrico español de 176 pacientes críticos sin neutropenia ha demostrado que la combinación de los resultados positivos de BG y CAGTA es capaz de diferenciar la colonización de la infección por *Candida* en pacientes con enfermedades abdominales graves, con una sensibilidad y especificidad del 90,3% y 54,8%, respectivamente, y un valor predictivo positivo del 42,4% y negativo del 93,9%<sup>40</sup>. En otro estudio de candidiasis invasora la combinación del hemocultivo con la detección de ácidos nucleicos o BG mostró una sensibilidad del 79% y una especificidad del 98%<sup>52</sup>. El uso combinado de diferentes técnicas diagnósticas puede ser útil para reducir la tasa de pacientes con candidiasis invasora sin diagnosticar, pero aumenta la carga de trabajo en los laboratorios clínicos y los costes hospitalarios asociados<sup>59</sup>.

Recientemente se ha comercializado una técnica con una plataforma diagnóstica automatizada (T2Dx) que detecta ADN de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* o *C. krusei* directamente en una muestra de sangre en menos de 3 h (T2Candida assay, T2Biosystem Inc, EE.UU.). Dicha técnica detecta los productos de PCR unidos a nanopartículas metálicas mediante resonancia magnética T2 en una muestra de 3 ml de sangre total. T2Candida assay detecta una unidad formadora de colonias de *Candida* por mililitro de sangre con una sensibilidad del 100% y una especificidad del 98%, en comparación con el hemocultivo<sup>12,51</sup>. Un ensayo clínico multicéntrico que incluía 1.800 pacientes hospitalizados<sup>50</sup> mostraba una especificidad y sensibilidad globales del 99,4% y 91,1%, respectivamente, para el diagnóstico de las candidiasis invasoras en un tiempo medio de 4,3 h. El valor predictivo positivo estimado fue del 99,5% en un grupo de población con un 5% de prevalencia de candidemia, y del 99% en una población con un 10% de prevalencia. Esta técnica no requiere un cultivo previo, ni preparación ni purificación de la muestra, lo que constituye una ventaja evidente e inicia una nueva etapa en el diagnóstico molecular de las enfermedades fúngicas invasoras.

## Financiación

Guillermo Quindós ha recibido ayudas para la investigación de la Consejería de Educación, Universidades e Investigación del Gobierno Vasco-Eusko Jaurlaritz (GIC12 210-IT-696-13), Fondo de Investigación Sanitaria (FIS PI11/00203) y UPV/EHU (UFI 11/25).

## Conflicto de intereses

En los últimos años Javier Pemán ha recibido ayudas para la investigación de Astellas Pharma, Gilead Sciences, Pfizer SLU y Merck Sharp and Dohme, y ha participado en actividades científicas patrocinadas por Astellas Pharma, Gilead Sciences, Merck Sharp and Dohme, TEVA Pharma y Pfizer SLU. En los últimos cinco años Guillermo Quindós ha recibido ayudas para la investigación de Astellas Pharma, Gilead Sciences, Pfizer SLU, Schering Plough y Merck Sharp and Dohme. Ha sido consultor de Merck Sharp and Dohme y ha participado en actividades científicas patrocinadas por Abbvie, Astellas Pharma, Esteve Hospital, Gilead Sciences, Merck Sharp and Dohme y Pfizer SLU.

## Bibliografía

- Almeida Júnior JN, Song ATW, Campos SV, Strabelli TMV, Del Negro GM, Figueiredo DS, et al. Invasive *Trichosporon* infection in solid organ transplant patients: A report of two cases identified using IGS1 ribosomal DNA sequencing and a review of the literature. *Transpl Infect Dis*. 2014;16:135–40.
- Altun O, Almuhayawi M, Ullberg M, Özenci V. Clinical evaluation of the FilmArray blood culture identification panel in identification of bacteria and yeasts from positive blood culture bottles. *J Clin Microbiol*. 2013;51:4130–6.
- Altun O, Almuhayawi M, Ullberg M, Özenci V. Rapid identification of microorganisms from sterile body fluids by use of FilmArray. *J Clin Microbiol*. 2015;53:710–2.
- Arendrup MC, Boekhout T, Akova M, Meis JF, Cornely OA, Lortholary O, et al. ESCMID/ECMM joint clinical guideline for the diagnosis and management of rare invasive yeast infections. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20 Suppl 3:76–98.
- Arendrup MC, Bruun B, Christensen JJ, Fuursted K, Johansen HK, Kjaeldgaard P, et al. National surveillance of fungemia in Denmark (2004 to 2009). *J Clin Microbiol*. 2011;49:325–34.
- Arvanitis M, Anagnostou T, Fuchs BB, Caliendo AM, Mylonakis E. Molecular and nonmolecular diagnostic methods for invasive fungal infections. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27:490–526.
- Asmundsdottir LR, Erlendsdottir H, Gottfredsson M. Nationwide study of candidemia, antifungal use, and antifungal drug resistance in Iceland, 2000 to 2011. *J Clin Microbiol*. 2013;51:841–8.
- Avni T, Leibovici L, Paul M. PCR diagnosis of invasive candidiasis: systematic review and meta-analysis. *J Clin Microbiol*. 2011;49:665–70.
- Bassetti M, Righi E, Ansaldi F, Merelli M, Trucchi C, Cecilia T, et al. A multicenter study of septic shock due to candidemia: Outcomes and predictors of mortality. *Intensive Care Med*. 2014;40:839–45.
- Bassetti M, Righi E, Ansaldi F, Merelli M, et al. A multicenter multinational study of abdominal candidiasis: epidemiology, outcomes and predictors of mortality. *Intensive Care Med*. 2015;41:1601–10.
- Ben-Ami R, Rahav G, Elinav H, Kassir I, Shalit I, Gottesman T, et al. Distribution of fluconazole-resistant *Candida* bloodstream isolates among hospitals and inpatient services in Israel. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19:752–6.
- Beyda ND, Alam MJ, Garey KW. Comparison of the T2Dx instrument with T2Candida assay and automated blood culture in the detection of *Candida* species using seeded blood samples. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013;77:324–6.
- Beyda ND, John J, Kilic A, Alam MJ, Lasco TM, Garey KW. FKS mutant *Candida glabrata*: Risk factors and outcomes in patients with candidemia. *Clin Infect Dis*. 2014;59:819–25.
- Clark AE, Kaleta EJ, Arora A, Wolk DM. Matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of-flight mass spectrometry: A fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev*. 2013;26:547–603.
- Coelho C, Bocca AL, Casadevall A. The tools for virulence of *Cryptococcus neoformans*. *Adv Appl Microbiol*. 2014;87:1–41.
- Colombo AL, Cortes JA, Zurita J, Guzman-Blanco M, Alvarado Matute T, de Queiroz Telles F, et al. Recommendations for the diagnosis of candidemia in Latin America. *Rev Iberoam Micol*. 2013;150–7.
- Colombo AL, Nucci M, Park BJ, Nouér SA, Arthington-Skaggs B, da Matta DA, et al. Epidemiology of candidemia in Brazil: A nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. *J Clin Microbiol*. 2006;44:2816–23.
- Corrales I, Gimenez E, Aguilar G, Delgado C, Puig J, Izquierdo A, et al. Detection of fungal DNA in peritoneal fluids by a PCR DNA low-density microarray system and quantitation of serum (1-3)- $\beta$ -D-glucan in the diagnosis of peritoneal candidiasis. *Med Mycol*. 2015;53:199–204.
- Cortes JA, Reyes P, Gómez C, Buitrago G, Leal AL, et al. GREBO Group. Fungal bloodstream infections in tertiary care hospitals in Colombia. *Rev Iberoam Micol*. 2011;28:74–8.
- Criseo G, Scordino F, Romeo O. Current methods for identifying clinically important cryptic *Candida* species. *J Microbiol Methods*. 2015;111:50–6.
- Cuenca-Estrella M, Verweij PE, Arendrup MC, Arikian-Akdagli S, Bille J, Donnelly JP, et al. ESCMID\* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: Diagnostic procedures. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18:9–18.
- De Carolis E, Vella A, Florio AR, Posteraro P, Perlin DS, Sanguinetti M, et al. Use of matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of-flight mass spectrometry for caspofungin susceptibility testing of *Candida* and *Aspergillus* species. *J Clin Microbiol*. 2012;50:2479–83.
- De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, et al. 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.
- Ericsson J, Chryssanthou E, Klingspor L, Johansson AG, Ljungman P, Svensson E, et al. Candidaemia in Sweden: A nationwide prospective observational survey. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19:E218–21.
- Eschenauer GA, Nguyen MH, Shoham S, Vazquez JA, Morris AJ, Pasculle WA, et al. Real-world experience with echinocandin MICs against *Candida* species: A multi-center study of hospitals that routinely perform susceptibility testing of bloodstream isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014.
- Fernandez-Cruz A, Marin M, Kestler M, Alcalá L, Rodríguez-Creixems M, Bouza E. The value of combining blood culture and SeptiFast data for predicting complicated bloodstream infections caused by gram-positive bacteria or *Candida* species. *J Clin Microbiol*. 2013;51:1130–6.
- Fernández-Ruiz M, Aguado JM, Almirante B, Lora-Pablos D, Padilla B, Puig-Asensio M, et al. Initial use of echinocandins does not negatively influence outcome in *Candida parapsilosis* bloodstream infection: A propensity score analysis. *Clin Infect Dis*. 2014;58:1413–21.
- Forrest GN, Mankes K, Jabra-Rizk MA, Weekes E, Johnson JK, Lincalis DP, et al. Peptide nucleic acid fluorescence in situ hybridization-based identification of *Candida albicans* and its impact on mortality and antifungal therapy costs. *J Clin Microbiol*. 2006;44:3381–3.
- Fortun J, Meije Y, Buitrago MJ, Gago S, Bernal-Martinez L, Pemán J, et al. Clinical validation of a multiplex real-time PCR assay for detection of invasive candidiasis in intensive care unit patients. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69:3134–41.
- Franco-Paredes C, Womack T, Bohlmeyer T, Sellers B, Hays A, Patel K, et al. Management of *Cryptococcus gattii* meningoencephalitis. *Lancet Infect Dis*. 2015;15:348–55.
- Gorton RL, Ramnarain P, Barker K, Stone N, Rattenbury S, McHugh TD, et al. Comparative analysis of Gram's stain, PNA-FISH and Sepsityper with MALDI-TOF MS for the identification of yeast direct from positive blood cultures. *Mycoses*. 2014;57:592–601.
- Guinea J, Zaragoza O, Escribano P, Martín-Mazuelos E, Pemán J, Sánchez-Reus F, et al. Molecular identification and antifungal susceptibility of yeast isolates causing fungemia collected in a population-based study in Spain from 2010 to 2011. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58:1529–37.
- Hachem R, Hanna H, Kontoyiannis D, Jiang Y, Raad I. The changing epidemiology of invasive candidiasis: *Candida glabrata* and *Candida krusei* as the leading causes of candidemia in hematologic malignancy. *Cancer*. 2008;112:2493–9.
- Hall L, Le Febvre KM, Deml SM, Wohlfiel SL, Wengenack NL. Evaluation of the Yeast Traffic Light PNA FISH probes for identification of *Candida* species from positive blood cultures. *J Clin Microbiol*. 2012;50:1446–8.
- Horn DL, Neofytos D, Anaissie E, Fishman JA, Steinbach WJ, Olyaei AJ, et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapy alliance registry. *Clin Infect Dis*. 2009;48:1695–703.
- Huang AM, Newton D, Kunapuli A, Gandhi TN, Washer LL, Isip J, et al. Impact of rapid organism identification via matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight combined with antimicrobial stewardship team intervention in adult patients with bacteremia and candidemia. *Clin Infect Dis*. 2013;57:1237–45.
- Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Ntziora F, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Falagas ME.  $\beta$ -D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: A meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2011;52:750–70.
- Klingspor L, Tortorano AM, Pemán J, Willinger B, Hamal P, Sendid B, et al. Invasive *Candida* infections in surgical patients in intensive care units: a prospective, multicenter survey initiated by the European Confederation of Medical Mycology (ECMM) (2006–2008). *Clin Microbiol Infect*. 2015;21:87.e1–87.e10.
- Lefort A, Chartier L, Sendid B, Wolff M, Mainardi JL, Podglajen I, et al. Diagnosis, management and outcome of *Candida* endocarditis. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18:E99–109.
- León C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Castro C, Úbeda A, Loza A, et al. Value of  $\beta$ -D-glucan and *Candida albicans* germ tube antibody for discriminating between *Candida* colonization and invasive candidiasis in patients with severe abdominal conditions. *Intensive Care Med*. 2012;38:1315–25.
- Marcos-Zambrano LJ, Escribano P, Sánchez C, Muñoz P, Bouza E, Guinea J. Antifungal resistance to fluconazole and echinocandins is not emerging in yeast isolates causing fungemia in a Spanish tertiary care center. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58:4565–72.
- Martínez-Jiménez MC, Muñoz P, Guinea J, Valerio M, Alonso R, Escribano P, et al. Potential role of *Candida albicans* germ tube antibody in the diagnosis of deep-seated candidemia. *Med Mycol*. 2014;52:270–5.

43. Mazza M, Refojo N, Bosco-Borgeat ME, Taverna CG, Trovero AC, Rogé A, et al. *Cryptococcus gattii* in urban trees from cities in North-eastern Argentina. *Mycoses*. 2013;56:646–50.
44. Miceli MH, Díaz JA, Lee SA. Emerging opportunistic yeast infections. *Lancet Infect Dis*. 2011;11:142–51.
45. Miceli MH, Lee SA. Emerging moulds: Epidemiological trends and antifungal resistance. *Mycoses*. 2011;54:e666–78.
46. Miranda-Zapico I, Eraso E, Hernández-Almaraz JL, López-Soria LM, Carrillo-Muñoz AJ, Hernández-Molina JM, et al. Prevalence and antifungal susceptibility patterns of new cryptic species inside the species complexes *Candida parapsilosis* and *Candida glabrata* among blood isolates from a Spanish tertiary hospital. *J Antimicrob Chemother*. 2011;66:2315–22.
47. Morace G, Borghi E, Iatta R, Amato G, Andreoni S, Brigante G, et al. Antifungal susceptibility of invasive yeast isolates in Italy: The GISIA3 study in critically ill patients. *BMC Infect Dis*. 2011;11:130.
48. Morera N, Hagen F, Juan-Sallés C, Artigas C, Patricio R, Serra JI, et al. Ferrets as sentinels of the presence of pathogenic *Cryptococcus* species in the Mediterranean environment. *Mycopathologia*. 2014;178:145–51.
49. Muñoz P, Aguado JM. Enfermedades invasoras por hongos levaduriformes en el receptor de un trasplante de órgano sólido. *Rev Iberoam Micol*. 2015;33.
50. Mylonakis E, Clancy CJ, Ostrosky-Zeichner L, Garey KW, Alangaden GJ, Vazquez JA, et al. T2 magnetic resonance assay for the rapid diagnosis of candidemia in whole blood: A clinical trial. *Clin Infect Dis*. 2015;60:892–9.
51. Neely LA, Audeh M, Phung NA, Min M, Suchocki A, Plourde D, et al. T2 magnetic resonance enables nanoparticle-mediated rapid detection of candidemia in whole blood. *Sci Transl Med*. 2013;5:182ra54–4.
52. Nguyen MH, Wissel MC, Shields RK, Salomoni MA, Hao B, Press EG, et al. Performance of *Candida* real-time polymerase chain reaction,  $\beta$ -D-glucan assay, and blood cultures in the diagnosis of invasive candidiasis. *Clin Infect Dis*. 2012;54:1240–8.
53. Nucci M, Thompson-Moya L, Guzman-Blanco M, Tiraboschi IN, Cortes JA, Echevarría J, et al. Recommendations for the management of candidemia in adults in Latin America. Latin America Invasive Mycosis Network. *Rev Iberoam Micol*. 2013;30:179–88.
54. Ostrosky-Zeichner L. Invasive mycoses: Diagnostic challenges. *Am J Med*. 2012;125 1 Suppl:S14–24.
55. Paul S, Moye-Rowley WS. Multidrug resistance in fungi: Regulation of transporter-encoding gene expression. *Front Physiol*. 2014;5:143.
56. Pemán J, Cantón E, Camarena Miñana JJ, Alcoba-Flórez J, Echeverría J, Navarro Ortega 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.
57. Pemán J, Cantón E, Linares-Sicilia MJ, Roselló EM, Borrell N, Ruiz-Pérez-de-Pipaon MT, et al. Epidemiology and antifungal susceptibility of bloodstream fungal isolates in pediatric patients: A Spanish multicenter prospective survey. *J Clin Microbiol*. 2011;49:4158–63.
58. Pemán J, Cantón E, Quindós G, Eraso E, Alcoba-Flórez J, Guinea J, et al. Epidemiology, species distribution and in vitro antifungal susceptibility of fungaemia in a Spanish multicentre prospective survey. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67:1181–7.
59. Pemán J, Zaragoza R. Combined use of nonculture-based lab techniques in the diagnosis and management of critically ill patients with invasive fungal infections. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2012;10:1321–30.
60. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: A persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20:133–63.
61. Puig-Asensio M, Padilla B, Garnacho-Montero J, Zaragoza O, Aguado JM, Zaragoza R, et al. Epidemiology and predictive factors for early and late mortality in *Candida* bloodstream infections: a population-based surveillance in Spain. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20:O245–54.
62. Quindós G. Candidemias y candidiasis invasivas nosocomiales. *Med Clin (Barc)*. 2010;134:17–9.
63. Quindós G, Marcos-Arias C, Eraso E, Guarro J. *Trichosporon*, *Magnusiomyces* and *Geotrichum*. En: Paterson R, Lima N, editors. *Molecular biology of food and water borne mycotoxicogenic and mycotic fungi*. Boca Raton, Florida: 2015.
64. Quindós G. *Micología clínica*. Barcelona: Elsevier; 2015.
65. Quindós G. Epidemiology of candidaemia and invasive candidiasis. A changing face. *Rev Iberoam Micol*. 2014;31:42–8.
66. Spanu T, Posteraro B, Fiori B, D'Inzeo T, Campoli S, Ruggeri A, et al. Direct maldi-tof mass spectrometry assay of blood culture broths for rapid identification of *Candida* species causing bloodstream infections: an observational study in two large microbiology laboratories. *J Clin Microbiol*. 2012;50:176–9.
67. Stone NRH, Gorton RL, Barker K, Ramnarain P, Kibbler CC. Evaluation of PNA-FISH yeast traffic light for rapid identification of yeast directly from positive blood cultures and assessment of clinical impact. *J Clin Microbiol*. 2013;51:1301–2.
68. Taira CL, Okay TS, Delgado AF, Ceccon MEJR, de Almeida MTG, Del Negro GMB. A multiplex nested PCR for the detection and identification of *Candida* species in blood samples of critically ill paediatric patients. *BMC Infect Dis*. 2014;14:406.
69. Tragiannidis A, Fegeler W, Rellensmann G, Debus V, Müller V, Hoernig-Franz I, et al. Candidaemia in a European paediatric university hospital: A 10-year observational study. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18:E27–30.
70. Vella A, de Carolis E, Vaccaro L, Posteraro P, Perlin DS, Kostrzewa M, et al. Rapid antifungal susceptibility testing by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry analysis. *J Clin Microbiol*. 2013;51:2964–9.
71. Zaragoza R, Ferrer R, Maseda E, Linares P, Rodríguez A, EPICO Project Group. EPICO 2.0 PROJECT. Development of educational therapeutic recommendations using the DELPHI technique on invasive candidiasis in critically ill adult patients in special situations. *Rev Esp Quimioter*. 2014;27:196–212.
72. Zaragoza R, Linares P, Maseda E, Ferrer R, Rodríguez A, the Épico Project Group. Épico project. Development of educational recommendations using the DELPHI technique on invasive candidiasis in non-neutropenic critically ill adult patients. *Rev Iberoam Micol*. 2013;30:135–49.
73. Zaragoza R, Ramirez P, Borges M, Pemán J. Puesta al día en la candidiasis invasora en el paciente crítico no neutropénico. *Rev Iberoam Micol*. 2015;3:3.