

Universidad de Costa Rica  
Sistema de Estudios de Posgrado  
Programa de Posgrado en Especialidades Médicas

Actualización en aspergilosis pulmonar invasiva en el paciente  
inmunocomprometido y críticamente enfermo en el siglo XXI

Trabajo Final de Graduación sometido a la consideración del comité de la  
Especialidad en Medicina Interna para optar por el grado y título de Especialista en  
Medicina Interna

Esteban Rodríguez Soto

2021

## **Agradecimientos**

Al doctor José Pablo Madrigal Rojas como mi tutor principal y a todo el servicio de Infectología del Hospital Rafael Ángel Calderón Guardia por su colaboración a lo largo de mi formación como especialista y su guía para realizar este trabajo.

Al doctor Marco Antonio Retana Peña del Departamento de Inmunología y Biología Molecular y a la doctora Yenzie Robinson Mitchell del Departamento de Bacteriología y Micología del Laboratorio Clínico del Hospital Calderón Guardia por la información técnica y científica brindada.

## **Dedicatoria**

A mi madre Leyni Soto Soto y a mi padre Edgar Rodríguez Romero, por todo el apoyo emocional, físico y económico brindado durante esta larga carrera desde la escuela de medicina. Sin ellos no estaría terminando hoy esta especialidad.

A Ana Zamora Bolaños, a quien conozco desde finales de mi residencia como médico internista y me ha acompañado constantemente a pesar de la carga laboral y académica que hemos vivido juntos durante la pandemia por covid-19.

De esta forma, toda mi familia celebra con alegría este logro profesional del cual son partícipes y a los que debo respeto y agradezco todo lo bueno que está por venir.

## **Hoja de aprobación**

Este trabajo final de graduación fue aceptado por la Subcomisión de la Especialidad en Medicina Interna del Programa de Posgrado en Especialidades Médicas de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado y título de Especialista en Medicina Interna.

Dra. Lydiana Ávila de Benedictis

Directora del Programa de Posgrados en Especialidades Médicas

Dr. Daniel Murillo Castro

Coordinador de la Especialidad en Medicina Interna

JOSE PABLO MADRIGAL ROJAS (FIRMA)  
PERSONA FISICA, CPF-01-1390-0624.  
Fecha declarada: 26/07/2021 08:52:06 PM  
Esta representación visual no es fuente  
de confianza. Valide siempre la firma.

Dr. José Pablo Madrigal Rojas

Tutor de la Investigación

José Acuña Feoli

Lector

EDGAR ESTEBAN RODRIGUEZ SOTO (FIRMA) Firmado digitalmente por  
EDGAR ESTEBAN  
RODRIGUEZ SOTO (FIRMA)  
Fecha: 2021.07.25 23:10:39  
-06'00'

Edgar Esteban Rodríguez Soto

Médico Residente en Medicina Interna



**Autorización para digitalización y comunicación pública de Trabajos Finales de Graduación del Sistema de Estudios de Posgrado en el Repositorio Institucional de la Universidad de Costa Rica.**

Yo, Esteban Rodríguez Soto, con cédula de identidad 1-1475-0619, en mi condición de autor del TFG titulado \_\_\_\_\_

Actualización en Aspergilosis Pulmonar Invasiva en el paciente inmunocomprometido y críticamente enfermo en el siglo XXI

Autorizo a la Universidad de Costa Rica para digitalizar y hacer divulgación pública de forma gratuita de dicho TFG a través del Repositorio Institucional u otro medio electrónico, para ser puesto a disposición del público según lo que establezca el Sistema de Estudios de Posgrado. SI  NO \*

\*En caso de la negativa favor indicar el tiempo de restricción: \_\_\_\_\_ año (s).

Este Trabajo Final de Graduación será publicado en formato PDF, o en el formato que en el momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre, con el fin de permitir la consulta e impresión, pero no su modificación.

Manifiesto que mi Trabajo Final de Graduación fue debidamente subido al sistema digital Kerwá y su contenido corresponde al documento original que sirvió para la obtención de mi título, y que su información no infringe ni violenta ningún derecho a terceros. El TFG además cuenta con el visto bueno de mi Director (a) de Tesis o Tutor (a) y cumplió con lo establecido en la revisión del Formato por parte del Sistema de Estudios de Posgrado.

**INFORMACIÓN DEL ESTUDIANTE:**

Nombre Completo: Edgar Esteban Rodríguez Soto

Número de Carné: A95362 Número de cédula: 1-1475-0619

Correo Electrónico: esteban19a@icloud.com

Fecha: 25 julio del 2021 Número de teléfono: 8918-8203

Nombre del Director (a) de Tesis o Tutor (a): Jose Pablo Madrigal Rojas

EDGAR ESTEBAN RODRIGUEZ SOTO (FIRMA) Firmado digitalmente por EDGAR ESTEBAN RODRIGUEZ SOTO (FIRMA) Fecha: 2021.07.25 23:22:20 -06'00'

**FIRMA ESTUDIANTE**

Nota: El presente documento constituye una declaración jurada, cuyos alcances aseguran a la Universidad, que su contenido sea tomado como cierto. Su importancia radica en que permite abreviar procedimientos administrativos, y al mismo tiempo genera una responsabilidad legal para que quien declare contrario a la verdad de lo que manifiesta, puede como consecuencia, enfrentar un proceso penal por delito de perjurio, tipificado en el artículo 318 de nuestro Código Penal. Lo anterior implica que el estudiante se vea forzado a realizar su mayor esfuerzo para que no sólo incluya información veraz en la Licencia de Publicación, sino que también realice diligentemente la gestión de subir el documento correcto en la plataforma digital Kerwá.

## Certificación de revisión filológica

Alajuela, 4 de junio de 2021

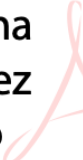
Programa de Posgrado en Especialidades Médicas  
Sistema de Estudios de Posgrado  
Universidad de Costa Rica

Estimados señores:

Yo, Dahiana Jiménez Picado, cédula de identidad 2 0697 0098, número de asociada 222, hago constar que he revisado el documento **“Actualización en aspergilosis broncopulmonar invasiva en paciente inmunocomprometido y crítico en el siglo XXI”** del estudiante Esteban Rodríguez Soto, cédula 1 1475 0619, para optar al grado y título de Especialista en Medicina Interna.

Doy fe de que se han observado y aplicado las normativas vigentes sobre la corrección de estilo de los componentes notacionales (ortografía), gramaticales (morfosintaxis), lingüísticos (discurso, léxico y semántica) y conceptuales (cohesión y coherencia).

Sin más particulares,

**Dahiana  
Jiménez  
Picado**  Firmado digitalmente  
por Dahiana Jiménez  
Picado  
Fecha: 2021.06.04  
14:19:13 -05'00'

---

**Dahiana Jiménez Picado**  
Filóloga española  
Asociada n.º 222  
Tel. 8476 2434

## ÍNDICE GENERAL

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>2</b>
<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>3</b>
<b>CERTIFICACIÓN DE REVISIÓN FILOLÓGICA</b> .....	<b>6</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>9</b>
<b>ABSTRACT:</b> .....	<b>10</b>
<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	<b>11</b>
<b>LISTA DE ILUSTRACIONES</b> .....	<b>11</b>
<b>ABREVIATURAS</b> .....	<b>12</b>
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	<b>13</b>
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	<b>13</b>
<b>METODOLOGÍA</b> .....	<b>13</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>14</b>
<b>EPIDEMIOLOGÍA DEL HONGO</b> .....	<b>15</b>
<b>PATOGÉNESIS</b> .....	<b>15</b>
<b>FACTORES DE RIESGO</b> .....	<b>18</b>
<b>DIAGNÓSTICO</b> .....	<b>20</b>
<b>EXAMEN DIRECTO DE ESPECÍMENES RESPIRATORIOS:</b> .....	<b>21</b>
<b>CULTIVO:</b> .....	<b>21</b>
<b>HISTOPATOLOGÍA:</b> .....	<b>22</b>
<b>DETECCIÓN DE ANTÍGENO GALACTOMANANO:</b> .....	<b>22</b>
<i>Interpretación:</i> .....	<b>25</b>
<i>Suero</i> .....	<b>25</b>
<i>Consideraciones:</i> .....	<b>26</b>
<i>Rendimiento de la prueba:</i> .....	<b>27</b>
<i>Fluido de LBA:</i> .....	<b>27</b>
<b>BETA-D-GLUCANO:</b> .....	<b>28</b>
<i>Consideraciones</i> .....	<b>29</b>
<b>REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR):</b> .....	<b>30</b>
<b>COMBINAR PRUEBAS:</b> .....	<b>30</b>

IMÁGENES:.....	33
<b>ASPERGILOSIS INVASIVA EN LA UNIDAD DE CUIDADO INTENSIVO .....</b>	<b>35</b>
<b>ASPERGILOSIS Y COVID-19.....</b>	<b>38</b>
<b>TRATAMIENTO .....</b>	<b>42</b>
<b>FACTORES PRONÓSTICOS.....</b>	<b>49</b>
<b>PREVENCIÓN.....</b>	<b>50</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>51</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>53</b>
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>54</b>

## Resumen

Aspergilosis broncopulmonar invasiva se refiere a la infección micótica del parénquima pulmonar, vía aérea, hasta la diseminación extra pulmonar causada por el hongo del género *Aspergillus spp* y especies *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. terreus*.

La invasión ocurre frecuentemente ante inmunosupresión en malignidades hematológicas o trasplante de órgano sólido u hematológico, y recientemente en el paciente crítico, por esta razón se conoce como una infección oportunista.

Para su diagnóstico se utilizan marcadores no invasivos (séricos) como el antígeno galactomanano (GM) y el  $\beta$ -1,3-D-Glucano, muestras respiratorias de esputo o lavado bronqueoalveolar para frotis y cultivo por hongos, y el GM de muestras invasivas de vía respiratoria inferior. También se puede utilizar la tomografía axial computarizada para ayudar a apoyar el diagnóstico. De acuerdo con las definiciones de enfermedad invasiva de la Organización Europea para la Investigación y el Tratamiento del Cáncer/Micosis se clasifica la enfermedad en probada, probable y posible.

Se reporta que *Aspergillus spp* puede causar coinfecciones en pacientes con COVID-19, especialmente en enfermedades graves o críticas.

El inicio temprano de la terapia antifúngica en pacientes con sospecha fuerte se justifica mientras se realiza el abordaje diagnóstico. Las guías de la Infectious Diseases Society of America recomiendan el uso de voriconazol como terapia primaria para la aspergilosis invasiva.

Esta enfermedad es una de las causas mayores de muerte en pacientes inmunocomprometidos, particularmente posterior al trasplante de células madre hematopoyéticas.

### **Abstract:**

Invasive bronchopulmonary aspergillosis refers to fungal infection of the lung parenchyma, airway, up to the extra pulmonary spread caused by the fungus of the genus *Aspergillus spp* and species *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. terreus*. Invasion occurs frequently with immunosuppression in hematological malignancies or solid or hematological organ transplantation and recently in critically ill patients, for this reason it is known as an opportunistic infection. Non-invasive (serum) markers such as Galactomannan Antigen (GM) and  $\beta$ -1,3-D-Glucan are used for its diagnosis; respiratory samples of sputum or bronchoalveolar lavage for smear and culture for fungi and the GM of invasive samples of the lower respiratory tract. Computerized axial tomography can also be used to help support the diagnosis. According to the definitions of invasive disease of the European Organization for Research and Treatment of Cancer / Mycosis, the disease is classified as proven, probable and possible. *Aspergillus spp* can cause co-infections in COVID-19 patients, especially in serious or critical illness. The early initiation of antifungal therapy in patients with strong suspicion is justified while the diagnostic approach is being carried out. The Infectious Diseases Society of America guidelines recommend the use of voriconazole as the primary therapy for invasive aspergillosis. This disease is one of the major causes of death in immunocompromised patients, particularly after hematopoietic stem cell transplantation.

## **Lista de tablas**

TABLA 1. FACTORES PREDISPONETES DEL HUÉSPED Y CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E HISTOLÓGICAS ASOCIADAS CON LA API(6) .....	19
TABLA 2. RESUMEN DE RECOMENDACIONES PARA LA UTILIZACIÓN DE MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS ALTERNATIVOS PARA LA INVESTIGACIÓN DE LABORATORIO DE LA ENFERMEDAD INVASIVA DEL MOHO .....	32
TABLA 3. CARACTERÍSTICAS DE LAS PRUEBAS MOLECULARES UTILIZADAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE API .....	33
TABLA 4. HERRAMIENTAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE API Y APLICABILIDAD EN LA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS (UCI).....	37
TABLA 5. MODELO DE PUNTUACIÓN DE PREDICCIÓN Y PROBABILIDAD DE API.....	38
TABLA 6. CARACTERÍSTICAS DE LOS AZOLES ACTIVOS CONTRA EL MOHO .....	44
TABLA 7. ESCENARIOS CLÍNICOS EN LOS QUE LA MONITORIZACIÓN TERAPÉUTICA DE FÁRMACOS ES ÚTIL EN EL TRATAMIENTO DE LA ASPERGIOSIS .....	48

## **Lista de ilustraciones**

ILUSTRACIÓN 1. PATOGENIA DE LA ASPERGIOSIS INVASIVA EN DIFERENTES ENTORNOS INMUNOLÓGICOS.....	15
ILUSTRACIÓN 2. MODELO DE RESPUESTA INMUNE A ESPECIES DE <i>ASPERGILLUS SPP</i> INHALADAS .....	17
ILUSTRACIÓN 3. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DEL PROCEDIMIENTO DE INMUNOENSAYO ELISA DE GALACTOMANANO DE <i>ASPERGILLUS SPP</i> .....	24
ILUSTRACIÓN 4. DEFINICIÓN Y DIAGNÓSTICO DE CAPA (FORMA PULMONAR) .....	41

## **Abreviaturas**

API: Aspergilosis pulmonar invasiva  
ADN: Ácido desoxirribonucleico  
AFST: Antifungic Sensibility Test  
GM: Antígeno Galactomanano  
AI: Aspergilosis invasiva  
CAPA: Coronavirus Associated Pulmonary Aspergillosis  
CMV: Citomegalovirus  
COVID-19: Coronavirus Infectious Disease 2019  
EIA: Enzyme Immunoassay  
EPOC: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica  
FDA: Food and Drug Association  
IV: Intravenoso  
LBA: Lavado Bronquioalveolar  
LCR: Líquido cefaloraquídeo  
NADPH: Nicotinamida adenina dinucleotido fosfato  
ODI: Optic Density Index  
PCR: Polymerase Chain Reaction  
PMNL: Polimorfonuclear  
RMN: Resonancia Magnética Nuclear  
SDRA: Síndrome de Distress Respiratorio del Adulto  
SIDA: Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida  
TC: Tomografía computarizada  
TCMH: Trasplante de células madre hematopoyéticas  
TLR: Receptores tipo toll  
UCI: Unidad de cuidados intensivos  
VATS: Video-assisted thoracic surgery  
VIH: Virus de inmunodeficiencia humana

## **Objetivo general**

Realizar una revisión completa, actualizada y práctica acerca de la aspergilosis broncopulmonar invasiva en pacientes inmunocomprometidos y críticos en el siglo XXI.

## **Objetivos específicos**

1. Describir la fisiopatología, epidemiología y factores de riesgo para aspergilosis invasiva.
2. Analizar las pruebas disponibles y los criterios para el diagnóstico de la aspergilosis invasiva.
3. Examinar la asociación y circunstancias de la aspergilosis invasiva en la Unidad de Cuidado Intensivo y en pacientes con COVID-19.
4. Analizar el tratamiento en pacientes con aspergilosis invasiva
5. Describir los factores pronósticos y preventivos en la aspergilosis invasiva.

## **Metodología**

Se realizará una revisión narrativa de los artículos científicos más recientes y significativos del siglo XXI, consultados en las bases de datos MedLine mediante el vocabulario Mesh, en la base The Cochrane Library y PUBMED en los idiomas español e inglés, así como una revisión de las guías de mayor importancia.

## Introducción

*Aspergillus spp* es un género de moho ubicuo que se encuentran en la materia orgánica, y su forma filamentosa causa enfermedad por las especies *fumigatus*, *flavus* y *terreus*.

La invasión no es común y ocurre frecuentemente ante inmunosupresión en malignidades hematológicas o trasplante de órgano sólido u hematológico, por esta razón se conoce como una infección oportunista. Su importancia consiste en que representa la enfermedad fúngica invasiva más frecuente en inmunocomprometidos.(1)

*Aspergillus spp* puede causar un amplio espectro de enfermedades en el huésped humano, que van desde reacciones de hipersensibilidad hasta angioinvasión, invasión del pulmón o vía aérea, infección cutánea o diseminación extrapulmonar, causando los siguientes cuatro síndromes principales a nivel pulmonar:

1. Aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA)
2. Neumonía por *Aspergillus spp* necrotizante crónica (o aspergilosis pulmonar necrotizante crónica [CNPA])
3. Aspergiloma
4. Aspergilosis broncopulmonar invasiva (API)

La API es una infección rápidamente progresiva, a menudo mortal, que ocurre en pacientes con inmunosupresión severa, incluidos los que están profundamente neutropénicos, los que han recibido trasplantes de médula ósea u órganos sólidos, y pacientes con sida avanzado o enfermedad granulomatosa crónica, incluso paciente agudamente enfermo en unidad de cuidado intensivo.

En estos pacientes la infección puede diseminarse hematógicamente más allá del pulmón, lo que puede causar endoftalmitis, endocarditis y abscesos en miocardio,

riñones, hígado, bazo, tejidos blandos, sistema nervioso central (SNC) y huesos. Además, *Aspergillus spp* es la segunda causa de endocarditis fúngica.(2,3)

## Epidemiología del hongo

Clasificación: Anteriormente los micólogos utilizaban el fenotipo para identificar este género y luego la especie; sin embargo, algunas de estas no son distinguibles basadas en el fenotipo. El uso de métodos moleculares ha expandido el número de especies reconocidas y ha aumentado el conocimiento.(4)

Prevalencia de las especies: La mayoría de las infecciones son debido a *Aspergillus fumigatus*. En un reporte de 218 infecciones en 24 centros de trasplante en Estados Unidos, 67% fueron causados por esta especie, 13% por *A. flavus*, 9% por *A. niger* y 7% por *A. terreus*(5). La *Aspergillus fumigatus* ha ido cambiando desde el siglo pasado; esto refleja cambios en la epidemiología, diferencias en centros y cambios en detección.

## Patogénesis

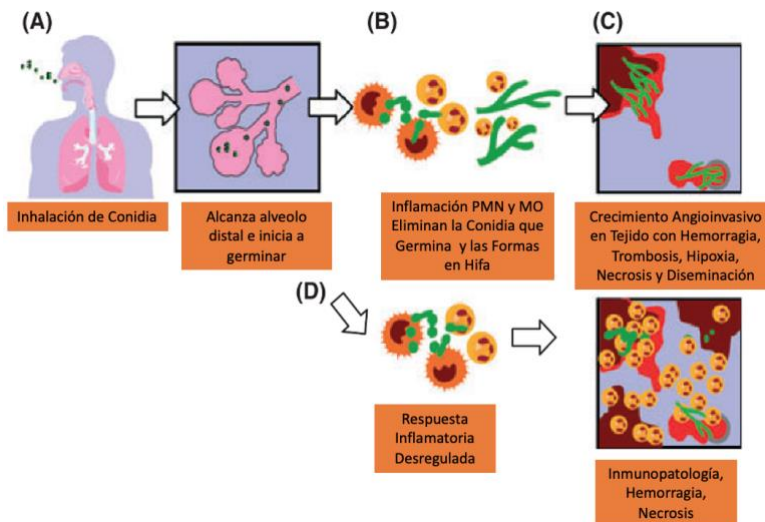


Ilustración 1. Patogenia de la aspergilosis invasiva en diferentes entornos inmunológicos. Modificada de (1)

(A) Los conidios (esporas asexuales que sirven para dispersar al hongo) son inhalados por humanos y alcanzan las vías respiratorias terminales y los alvéolos pulmonares, debido a su pequeño diámetro. (B) En los alvéolos, las conidias son destruidas por macrófagos alveolares y leucocitos PMN. (C) En individuos con defectos cuantitativos o cualitativos en los PMN la germinación de *A. fumigatus* y la invasión de tejidos prosiguen sin cesar. (D) Los huéspedes no neutropénicos con una respuesta inmune desregulada a *A. fumigatus*, como pacientes que reciben corticosteroides en dosis altas, desarrollan daño tisular como resultado del reclutamiento de PMNL, infiltración tisular y necrosis inflamatoria.(1)

La conidia inhalada es identificada por la inmunidad innata del pulmón que consiste en fagocitos residentes, células epiteliales en la vía aérea y macrófagos alveolares.(6)

Estos últimos contribuyen a eliminar las conidias y la producción de inflamación secundaria. Las conidias germinan en hifas (son la forma invasiva) y son reconocidas por estas células por los componentes de su pared celular (B-D-Glucano). Esto recluta a los neutrófilos y la activación de la inmunidad celular, que se encarga de eliminar las hifas, además de determinar la extensión de la respuesta inmune, por lo tanto, el riesgo y el tipo de enfermedad es resultado de lo anterior.(6)

Los macrófagos alveolares y las células epiteliales son las primeras células huésped en el pulmón que se acoplan a las conidias de *Aspergillus spp* inhalados. Los receptores de reconocimiento de patógenos en las células huésped, como la dectina-1 y los TLR, y los receptores solubles de reconocimiento de patógenos, como la pentraxina 3 y la lectina de unión a manosa, reconocen motivos fúngicos específicos. Por ejemplo, los betaglucanos asociados a la pared celular de hongos ligan TLR-2 y dectina-1, y el ADN de *Aspergillus spp* contiene secuencias CpG no metiladas que ligan TLR-9. La ligadura de receptores de reconocimiento de patógenos generalmente conduce a la inducción de quimiocinas y citocinas que

activan y reclutan neutrófilos y otras células inflamatorias. La nicotinamida adenina dinucleotido fosfato (NADPH) oxidasa puede ser activada por dectina-1 y potencialmente cebada por otros receptores de reconocimiento de patógenos como TLR4. La activación de NADPH oxidasa conduce a la generación de especies reactivas de oxígeno y en los neutrófilos se acopla a la activación de proteasas granulares antimicrobianas. Las células dendríticas también detectan motivos de *Aspergillus spp* a través de receptores de reconocimiento de patógenos y estimulan respuestas dependientes de antígenos en las células T colaboradoras (Th) y las células T reguladoras (Tregs). La interrelación entre las células dendríticas y las células T en la regulación del desarrollo de las células T es un área de intenso interés de investigación que es ampliamente relevante para la defensa del huésped, la alergia y el desarrollo de vacunas. La mayoría de los datos de este modelo se derivan de estudios *in vitro* y modelos animales de aspergilosis.

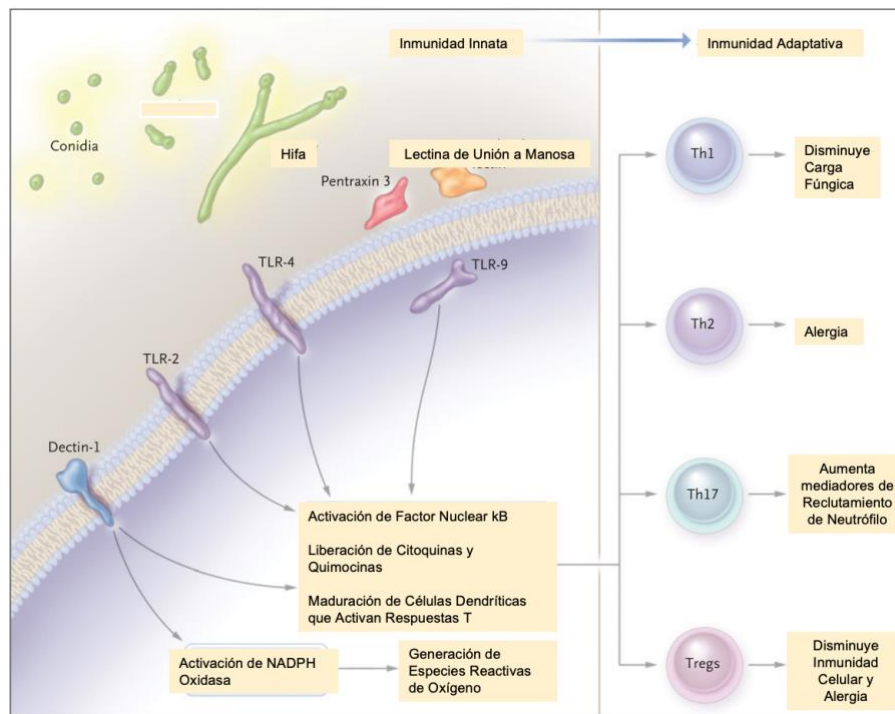


Ilustración 2. Modelo de respuesta inmune a especies de *Aspergillus spp* inhaladas. Modificada de (6)

Hay factores del microorganismo que impactan la evolución de la enfermedad; entre ellos toxinas, proteasas y metabolitos secundarios que pueden inhibir la NADPH (importante para la defensa contra hongos filamentosos), inhibir el macrófago y suprimir las respuestas T funcionales.(6)

Histopatológicamente la invasión se caracteriza por progresión de la infección a través de planos tisulares; la invasión vascular es lo usual, con zonas de infarto y necrosis tisular mediada por componentes de la pared del hongo.

### **Factores de riesgo**

La enfermedad invasiva es más frecuente cuando hay exposición de la vía aérea a construcciones o cuando el huésped tiene condiciones en las que se afecta el aclaramiento de la conidia.(7)

Históricamente, el riesgo más alto para infecciones invasivas se ha visto en pacientes severamente inmunocomprometidos, particularmente Trasplantados de Células Madre Hematopoyéticas (TCMH), trasplante de órganos sólidos (pulmón, corazón e hígado) y neutropenia prolongada; también en inmunodeficiencias primarias como en enfermedad granulomatosa crónica.(1)

La evidencia sugiere que esta enfermedad puede ocurrir en pacientes con menor inmunocompromiso, como en Unidades de Cuidado Intensivo, particularmente en pacientes portadores de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) recibiendo glucocorticoides.(2, 3)

<b>Población de pacientes</b>	<b>Factores predisponentes del hospedador</b>
Leucemia aguda, síndrome mielodisplásico, anemia aplásica y otras causas de insuficiencia medular	Neutropenia por quimioterapia o enfermedad hematológica subyacente
Trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas después de la recuperación de neutrófilos	Inmunosupresión para GVHD (p. Ej., El uso de corticosteroides, depleción de células T, inhibición del factor de necrosis tumoral $\alpha$ )
Trasplante de órganos sólidos	Inmunosupresión para prevenir el rechazo del aloinjerto
SIDA	Recuento de células T CD4 + generalmente <100 por milímetro cúbico; otras afecciones inmunitarias (p. ej., neutropenia)
Enfermedad granulomatosa crónica	NADPH oxidasa defectuosa
Enfermedad pulmonar estructural preexistente (p. Ej., Enfisema, tuberculosis cavitaria previa)	Condiciones coexistentes (por ejemplo, diabetes y desnutrición) y el uso de corticosteroides inhalados y sistémicos

Tabla 1. Factores predisponentes del huésped y características clínicas e histológicas asociadas con la API. (6)

En pacientes que reciben TCMH el riesgo cambia según ocurra de forma temprana o tardía después de recibir las células madre. En tempranos, varía según la enfermedad de fondo, tiempo de neutropenia persistente, principalmente tipo de TCMH (autólogo o alogénico), y en los tardíos adicionales, se incluye enfermedad de injerto contra huésped e infección por citomegalovirus (CMV).(8)

Un factor de riesgo para desarrollar aspergilosis posterior al trasplante es la colonización de las vías aéreas en receptores de trasplante de pulmón con fibrosis quística.(9, 10)

En trasplante de hígado, la inmunosupresión, hemodiálisis y CMV son coadyuvantes.(11, 12)

En trasplante de riñón, periodos prolongados de hemodiálisis previos y la leucopenia son factores de riesgo para infección temprana (menos de 3 meses), mientras que

donadores positivos por CMV son un factor de riesgo para infección tardía (más de 3 meses).(13)

### **Diagnóstico**

Para el diagnóstico definitivo de aspergilosis invasiva, se requiere un cultivo de *Aspergillus spp* de tejido en conjunto con demostración histopatológica de invasión tisular por hifas, siempre en un contexto clínico adecuado. En muchas ocasiones no es posible obtener una biopsia pulmonar por diferentes razones, por lo cual no se puede cumplir con estos criterios.(14)

Como valoración inicial, se pueden utilizar biomarcadores no invasivos como el galactomanano (GM) en sangre o lavado bronquioalveolar (LBA) y el  $\beta$ -1,3-D-Glucano (BDG) en sangre. Además, se debe obtener esputo o LBA para frotis directo y cultivo por hongos.

El GM es específico para aspergilosis invasiva; en contraste, el B-D-Glucano puede estar presente en varias infecciones fúngicas invasivas incluyendo candidiasis, neumonía por *Pneumocystis jirovecii* e infecciones por *Trichosporon*.

La sospecha es clínica y radiológica; cuando el GM sérico y el frotis y cultivo de esputo es negativo se debe solicitar broncoscopia con LBA.

Se debe realizar la biopsia de pulmón si es posible de manera temprana; estudios han demostrado que la broncoscopia es segura y es la única manera de realizar un diagnóstico definitivo, especialmente si se realiza de forma temprana en la evaluación y el tratamiento de pacientes con infiltrado pulmonar nuevo, como se explicará más adelante en la sección de imágenes.(15, 16)

Las opciones para biopsia incluyen broncoscopia con biopsia transbronquial, biopsia con aguja transtorácica guiada por TAC y toracoscopia video-asistida (VATS); la técnica ideal depende de la localización de la lesión, el riesgo individual

del paciente de complicaciones para cada procedimiento y la necesidad de establecer el diagnóstico.

Debido a que es un hongo ambiental y que constantemente se inhalan conidias de *Aspergillus spp*, el aislamiento en cultivo no necesariamente indica enfermedad; por lo tanto, el diagnóstico se basa en su aislamiento (o marcadores) y la probabilidad que sea la causa de la enfermedad (factores de riesgo del huésped para la enfermedad y la presentación clínica); sin embargo, filamentos del hongo invadiendo tejidos (biopsia) representa un diagnóstico probado. Debido a esto, muchas veces el diagnóstico de API se da en una escala de certeza como posible, probable (inmunocomprometido) o probada. Estas definiciones se realizaron para mantener consistencia en estudios epidemiológicos o clínicos, no para tomar decisiones terapéuticas.(17, 18)

**Examen directo de especímenes respiratorios:** se realizan tinciones con calcoflúor blanco al 10% de hidróxido de potasio para detectar la presencia de estructuras fúngicas.(19) La metenamina gomori de plata puede ser usada para teñir preparaciones citológicas. Los organismos pueden ser observados como hifas angostas, septadas e hialinas con ramas en ángulo agudo dicotómicas a 45 grados; no obstante, otros hongos filamentosos como el *Scedosporium spp* y el *Fusarium spp* tienen apariencia similar en microscopia directa.(20)

**Cultivo:** Cuando es positivo en combinación con invasión tisular en histopatología o un cultivo de un sitio normalmente estéril demuestra la evidencia más certera de enfermedad invasiva;(17) sin embargo, tanto el frotis como el cultivo tienen baja sensibilidad (21) y la terapia debe iniciarse aun en ausencia de dicha confirmación, si persiste la sospecha. No todos los pacientes son candidatos a biopsia, pero en pacientes con factores de riesgo y hallazgos clínicos y/o radiológicos sugestivos de enfermedad invasiva, el cultivo del *Aspergillus spp* de secreciones respiratorias demuestra adecuada evidencia microbiológica de enfermedad invasiva.

Este hongo crece rápidamente en el laboratorio y es típicamente visible en 1-3 días de incubación; no obstante, identificar la especie requiere esporulación para examinar las estructuras que contienen esporas al microscópico; algunos la realizan lentamente como *Aspergillus lentulus* y *Neosartorya udGMwae* que se pensaron no patógenos, pero han demostrado estar implicados en infecciones invasivas.(22)

Muchos pacientes con enfermedad documentada tienen cultivos negativos, lo cual ha sido observado en estudios de vigilancia. El 25-50% de TCMH que cumplieron criterios para enfermedad invasiva basado en GM tuvieron cultivos positivo.(23, 24)

El valor predictivo positivo (VPP) de cultivos del esputo o del LBA depende del huésped y de la presentación clínica. En este estudio esto fue evaluado en diferentes tipos de pacientes con aspergilosis pulmonar invasiva posible o probable; el VPP fue más alto en TCMH, malignidad hematológica, neutropenia (72%), comparado con trasplante de órgano sólido, glucocorticoides (58%) y HIV (14%). (25) El VPP fue mayor en LBA (la prevalencia es mayor en pacientes con anormalidades que requieren broncoscopia).(25)

**Histopatología:** Ya fue descrito el aspecto histológico de las hifas, al igual que las tinciones usuales. También se puede utilizar la tinción con ácido peryódico de Schiff ya que, por su similitud con otras especies y al tratamiento diferir es importante confirmar género y especie. Algunas veces se pueden diferenciar los mucorales (mucormicosis) al ser hifas no septadas con ramas a la derecha; si la hifa es pequeña puede ser difícil de diferenciar o si el organismo se pliega sobre sí mismo y crea “pseudo-septos”. Es importante diferenciar del mucormicosis, dado que no es susceptible al voriconazol, el cual es el tratamiento de elección de la aspergilosis invasiva.

**Detección de antígeno galactomanano:** Es un polisacárido que es el mayor constituyente de la pared celular del *Aspergillus spp*; constituye un inmunoensayo

enzimático (EIA) que utiliza el anticuerpo monoclonal EB-A2 en el set comercial actual Platelia®, aprobado por la FDA para realizar el test en suero y en LBA. Este anticuerpo detecta múltiples epítomos de las cadenas laterales de galactofuranosa que están unidas al polímero largo manano.(26) Galactofuranosa es el miembro de seis anillos de la galactosa que se realiza por eucariotas no mamíferos y algunos procariotas y es un antígeno común de varios glucoconjugados. Alguna vez se describió específico de aspergilosis, pero ahora se sabe que la galactofuranosa está presente en otros hongos y ciertas sustancias.(27)

El inmunoensayo enzimático sándwich Platelia Aspergillus (EIA) se utiliza para la detección de transgénicos. Esta prueba utiliza anticuerpo monoclonal EB-A2 derivado de ratas, que se une específicamente a cuatro residuos de galactofuranosilo de la molécula GM.(17) Con la presencia de antígeno en la muestra, se forma un complejo anticuerpo monoclonal-GM-anticuerpo monoclonal; se agrega un sustrato cromogénico para revelar la presencia de tales complejos volviéndose azul; las microplacas se leen utilizando un lector óptico que calcula la relación entre la densidad óptica y un control proporcionado por el fabricante; los resultados se reportan con este índice de densidad óptica (ODI).(28)

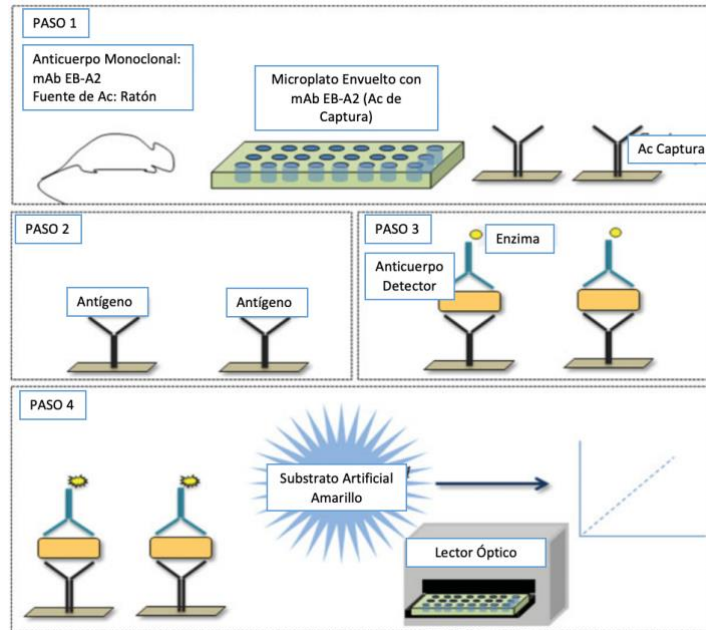


Ilustración 3. Representación esquemática del procedimiento de inmunoensayo ELISA de galactomanano de *Aspergillus spp.* Modificado de (28)

Paso 1: Los pocillos de la microplaca se recubren con anticuerpo monoclonal murino (mAb) EB-A2 (anticuerpo de captura).

Paso 2: Se agrega suero tratado o muestra de lavado broncoalveolar a los pocillos.

Paso 3: Se añade a los pocillos el anticuerpo anti-mAb EB-A2 marcado (anticuerpo de detección). En presencia del antígeno (EB-A2) se forma un “complejo anti-mAb marcado con mAb-antígeno”.

Paso 4: Se agrega solución de sustrato a los pocillos y se revela la presencia de “complejo anti-mAb marcado con antígeno mAb” formando un color azul. A continuación, se utiliza un lector óptico para calcular el índice de densidad óptica (es decir, el resultado de la prueba de GM).(28)

Recientemente se ha utilizado el ensayo vircell® por inmunoensayo quimioluminiscente tipo sándwich (CLIA) para la detección del GM de *Aspergillus spp* en muestras de suero, plasma y lavado broncoalveolar (LBA) con un 91% de correlación con un ensayo ELISA de referencia; los índices significativos fueron 0,5

para Platelia y 0,2 para Virclia.

Se utiliza por una serie de beneficios logísticos y de costo como:(29)

- Solución única y definitiva para muestras urgentes.
- Resultados en el mismo día, sin externalizar ni acumular muestras.
- Control de calidad individual por monotest, sin necesidad de controles o calibraciones adicionales.
- Protocolo simple y totalmente automatizado con resultados en aproximadamente 1 hora.

Interpretación: El GM por EIA tiene una lectura óptica que se interpreta como un radio relativo de densidad óptica (OD) de un umbral control que es proveído por el desarrollador; el radio se conoce como índice OD. Estudios subsecuentes han demostrado que umbrales bajos de 0.5 a 0.7 tienen un rendimiento mejor; el ensayo apoyado por la FDA sostiene este umbral mayor o igual a 0.5.(30, 31)

Suero: En algunos pacientes se puede detectar el GM en suero antes de la presencia de signos o síntomas clínicos de enfermedad invasiva. Existe literatura donde valoran sus características (28, 32) y existen diferencias en los estudios por las poblaciones, por los cortes y además de pruebas realizadas en pacientes ya con antifúngico. Una revisión describe que la sensibilidad del test varía entre 30-100%, la especificidad se mantiene relativamente alta y constante más del 75%.(33)

Un metanálisis que incluyó 50 estudios, con un total de 5660 pacientes inmunocomprometidos de los cuales 586 fueron enfermedad invasiva probable o probada, reportó que usar un índice OD de 0.5 tenía una sensibilidad del GM de 82% y una especificidad del 81%, semejantes.(32) En otro metanálisis, el análisis de subgrupo sugiere que el ensayo actúa mejor en pacientes con malignidad hematológica y TCMH, y por el contrario, el rendimiento del examen puede ser limitado en pacientes con trasplante de órgano sólido.(34) No está claro si esto se

relaciona con diferencias biológicas en el tipo de enfermedad invasiva.

Consideraciones:

- La sensibilidad del GM en suero está disminuida con la administración concurrente de terapia antifúngica como en el caso de profilaxis (35-37).
- En el pasado, resultados falsos positivos fueron demostrados en pacientes que estuvieron recibiendo piperacilina-tazobactam IV, por la presencia de GM en la formulación (antígeno reactivo cruzado), los cuales persistían hasta por 5 días después de discontinuar el antibiótico.(38) Las formulaciones recientes raramente reaccionan con el ensayo.(39) También han sido reportados en caso de Amoxicilina-clavulanato IV.(40)
- Muchos hongos demuestran GM o mejor dicho polisacáridos conteniendo residuos de galactofuranosa en su pared celular, por lo tanto son una causa de falsos positivos (FP), por ejemplo, ascomicetes filamentosos (*Fusarium*, *Penicillium*, *Histoplasma Capsulatum*). (41)
- Se describen más FP durante los primeros 100 días posteriores a TCMH y en pacientes con mucositis de TGI causados por quimioterapia o enfermedad de injerto vs. huésped.(42) El mecanismo propuesto es que el galactomanano en comida y epitopos bacterianos que hacen reacción cruzada pueden translocarse por la mucosa intestinal afectada.(43)
- Puede existir contaminación de la comida con moho de *Aspergillus spp* u hongos relacionados estrechamente como el género *Penicillium spp*. Existe evidencia que demuestra que la ingesta de numerosas paletas congeladas contaminadas en pacientes con enfermedad de injerto vs. huésped puede explicar un falso positivo.(44)
- También se han visto FP reportados en pacientes que recibieron transfusiones de sangre que fueron recolectadas en bolsas producidas por Fresenius KAPI, Germany.(45)
- No está claro si la Gammaglobulina IV o los niños dan FP.

- No se recomienda GM para exámenes de sangre de rutina en pacientes que reciben terapia antimicótica activa o profilaxis contra mohos, pero se puede aplicar a las muestras de broncoscopia de esos pacientes.(14)

Rendimiento de la prueba: Los estudios en general reportan valores predictivos positivos (VPP) relativamente bajos (< 50%), y valores predictivos negativos (VPN) altos (> 90%). Estos valores se deben principalmente a la baja prevalencia de la enfermedad, incluso al medirla en poblaciones de alto riesgo (ronda menos del 20%), por lo tanto se debe considerar el contexto clínico para determinar la probabilidad de infección.(33)

Algunos investigadores han sugerido usar el GM sérico por ELISA para tamizar semanal o dos veces por semana para detectar API previo al desarrollo de signos o síntomas y así guiar la terapia preemptiva. También se puede utilizar para valorar inicio de tratamiento empírico en fiebre.

En realidad, la utilidad del GM sérico por ELISA se ha establecido mejor en el escenario de alta sospecha, en pacientes de alto riesgo con malignidad hematológica, donde la prevalencia es alta; también puede ser útil en otros pacientes inmunocomprometidos en riesgo, pero se debe interpretar con cautela, ya que la sensibilidad no es tan alta en pacientes con enfermedades de vías aéreas como trasplante de pulmón.

Fluido de LBA: El GM detecta antígenos fúngicos incluso cuando el organismo no crece en el laboratorio, por lo que provee una indicación potencial de enfermedad invasiva; al realizarse en LBA representa sensibilidad adicional del 70% comparada con el cultivo.(46-50)

El umbral óptimo del índice OD para positividad continúa en debate. Un umbral más alto como 1.0 resulta en baja sensibilidad pero alta especificidad en pacientes

inmunocomprometidos al compararlos con OD de 0.5; sin embargo, la FDA sigue recomendando el corte de 0.5 para el ensayo de Platelia.(50)

Existen falsos positivos y son especialmente comunes cuando la detección del hongo en las vías aéreas representa colonización, como ocurre en pacientes con trasplante de pulmón o cuando el fluido utilizado para el LBA está contaminado con GM. Sin embargo, un estudio realizado en estos pacientes sugiere una alta especificidad del 95%.(46) Consiste en una herramienta adjunta cuando hay sospecha y ya que depende de las variables técnicas deben existir protocolos para tomarlo. También puede medirse en LCR y líquido pleural según el contexto.

Se recomienda realizar una broncoscopia con LBA en pacientes con sospecha de API (recomendación fuerte; evidencia de calidad moderada). Las comorbilidades importantes, como hipoxemia grave, hemorragia y trombocitopenia refractaria a la transfusión de plaquetas, pueden excluir el LBA. El rendimiento de LBA es bajo para las lesiones nodulares periféricas, por lo que se debe considerar la biopsia pulmonar percutánea o endobronquial, el uso de un procedimiento LBA estandarizado y el envío de la muestra de LBA para cultivo y citología de rutina, así como métodos no basados en cultivo (GM).(14)

**Beta-D-Glucano:** 1,3-β-D-Glucano es un componente de la pared celular de algunos hongos. El test de Fungitell® ha sido aprobado por la FDA como ayuda para diagnosticar infecciones invasivas por hongos; la transmisión es leída como espectrofotometría en la cual la densidad óptica es convertida a una concentración de la sustancia. Los resultados se interpretan como negativos (rango < 60 pg/mL), indeterminados (60 a 79 pg/mL) o positivos (> 80 pg/mL).(51) Es importante acotar que estos cortes fueron definidos en el contexto clínico de infecciones fúngicas invasivas, principalmente candidiasis invasiva en personas expuestas a tratamiento por neoplasias hematológicas. Cortes precisos para optimizar el rendimiento del ensayo en aspergilosis invasiva no se han identificado y podrían ser diferentes.

En un metanálisis del 2011 que incluyó 16 estudios donde se evaluó el B-D Glucano como prueba diagnóstica general, la sensibilidad fue de 77% y la especificidad del 85%.(52) En otro metanálisis del 2012 que incluyó seis cohortes de pacientes con neoplasias hematológicas se presentó una sensibilidad menor al 50% y una especificidad más alta; sin embargo, existieron menores casos de aspergilosis invasiva.(53)

En estudios individuales, la sensibilidad varía entre 55-95% y la especificidad entre 77-96%.(51, 54-58) Las diferencias en el rendimiento de las pruebas, se explican por distintos umbrales de positividad, diferentes ensayos, poblaciones y diseños, a pesar de estos, la molécula ha probado distinguir con adecuada sensibilidad para pacientes con aspergilosis probable o posible.(52)

Un estudio comparó el rendimiento del GM por ELISA contra el B-D-Glucano en plasma en 105 pacientes con aspergilosis invasiva y 50 pacientes saludables donadores de sangre. Los resultados demostraron una alta especificidad con el GM (97 vs. 82%), pero una baja sensibilidad (81 vs. 49%).(59)

### Consideraciones

- El  $\beta$ -1,3-D-Glucano no es específico para aspergilosis y puede ser positivo en pacientes con una variedad de micosis sistémicas como *Candida sp* y *Pneumocystis jirovecii*; mientras que es típicamente negativo en mucormicosis y criptococcosis.(56, 57, 60, 61)
  
- La especificidad puede disminuirse y dar falsos positivos en:(60)
  - Hemodiálisis con membranas de celulosa o filtros IV (actualmente poco utilizados)
  - Inmunoglobulinas IV
  - Albumina

- Amoxicilina-ácido clavulánico IV
- Infecciones bacterianas que contienen betaglucanos celulares como *Pseudomonas aeruginosa*(62)

Rol de la prueba: Se puede usar de forma temprana en el curso de la infección, antes del inicio de hallazgos clínicos. Este estudio evaluó una estrategia de tamizaje en la cual 95 pacientes recibieron quimioterapia para leucemia aguda, al realizar la prueba dos veces por semana en la ausencia de fiebre y diariamente en la presencia de fiebre, tamizar acorta el tiempo entre la sospecha y establecer el diagnóstico al compararlo con esperar por signos y síntomas de la enfermedad; sin embargo, no ha sido validado en estudios randomizados.(63)

**Reacción en cadena de la polimerasa (PCR):** La detección de ADN ha arrojado resultados ambiguos; en algunos estudios han demostrado rendimiento superior comparado con ensayos basados en antígenos, y en otros, lo contrario.(54,64-68) En los resultados de múltiples ensayos, entre ellos un metanálisis de 25 estudios, la sensibilidad y especificidad de la PCR para detectar aspergilosis fue de 84 y 76%, respectivamente; cuando al menos dos resultados de PCR fueron positivos, la sensibilidad fue 64% y la especificidad del 95%.(69) Otro metanálisis tuvo resultados similares.(70)

**Combinar pruebas:** En un metanálisis valoraron el rendimiento diagnóstico del galactomanano sérico y de la PCR en sangre completa como tamizaje semanal en pacientes de alto riesgo. Un único resultado positivo tuvo buena sensibilidad (92% para GM y 84% para PCR) y especificidad (90% GM y 76% para PCR) para detectar API probable o probada. Cuando la positividad fue definida como al menos un resultado positivo (cualquier prueba), la sensibilidad fue de 99%, mientras que cuando ambas fueron positivas la especificidad fue del 98%; de igual forma fue alta con dos GM positivos o dos PCR positivas (95 y 93%, respectivamente).(71)

En un estudio randomizado APlerto de pacientes de alto riesgo con malignidad hematológica que no estaban recibiendo profilaxis antifúngica, los médicos tratantes tamizaban bisemanalmente y eran informados de cualquier marcador positivo de solo GM, con lo cual se realizaba TAC de tórax y se iniciaba terapia antifúngica. El uso combinado como tamizaje de ambas pruebas fue asociado con más diagnósticos tempranos y menor incidencia de API que el uso de GM solo.(72)

La mayoría de estudios comparando el rendimiento de diferentes ensayos en LBA enfatizan la baja sensibilidad del cultivo para aislar el germen y sugieren que la mejor aproximación puede ser combinar los ensayos. En un total de 78 LBA, la sensibilidad de los ensayos rondó el 70-88%, y la combinación del GM y la PCR aumentó la sensibilidad de 94 a 100% sin comprometer la especificidad.

El B-D-Glucano en LBA resultó en altos falsos positivos, por lo cual no se recomienda.

<b>Método</b>	<b>Indicación</b>	<b>Recomendaciones</b>
<b>GM</b>	Detección temprana ABI	<p>Pruebas seriadas en conjunto con tomografía de alta resolución en pacientes adultos neutropénicos sometidos a quimioterapia intensiva para la leucemia o que han recibido un trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas.</p> <p>Corte: un índice positivo único de .0.7 o dos muestras consecutivas de .0.5.</p> <p>En pacientes no neutropénicos, la cuantificación de GM en suero no tiene el mismo valor diagnóstico y pronóstico. Un valor sérico de 1 se considera un signo de fracaso terapéutico en pacientes adultos y pediátricos. La cuantificación en muestras de BAL (corte 1) y LCR (corte 0.5) puede ser útil en pacientes neutropénicos y no neutropénicos.</p>
<b>b-D-Glucano</b>	Diagnóstico de enfermedad fúngica invasiva	<p>Pruebas seriadas en suero tanto en pacientes neutropénicos como en pacientes no neutropénicos.</p> <p>Punto de corte: 60–80 pg / mL para la prueba de Fungitell y 7 pg / mL para la prueba de Wako.</p> <p>Se ha descrito una menor precisión en pacientes hematológicos, lo que podría ser una limitación significativa para su uso como cribado.</p> <p>Menos utilizado que la prueba de AGA. Menos datos disponibles.</p>
<b>PCR</b>	Detección de Aspergilosis, Sin datos para otras micosis	Técnica adicional que aún se encuentra en desarrollo y su disponibilidad es limitada en muchos casos para laboratorios de micología de referencia

Tabla 2. Resumen de recomendaciones para la utilización de métodos microbiológicos alternativos para la investigación de laboratorio de la enfermedad invasiva del moho(21)

	<b>BDG</b>	<b>AGA</b>
Método	Ensayo biológico en cascada	Anticuerpo monoclonal anti-GM (mAb EB-A2)
Ensayo Comercial	Fungitell	Platelia Aspergillus EIA
Interpretación de los resultados	Resultado negativo: <60pg/mL Resultado intermedio: 60–79 Resultado positivo: >80 pg / mL	Resultado Negativo: <0.5 ODI Resultado positivo: 0,5 ODI
Aplicaciones clínicas	Detección Temprana ABI	Diagnóstico Temprano ABI
Aprobación FDA y CE	Suero	Suero y BAL
Rendimiento para el diagnóstico de ABI	Sensibilidad: 77% (67-84%) Suero-GMb Especificidad: 85% (80 a 90%)	Suero Sensibilidad: 41–78% Especificidad: 60–95% BAL Sensibilidad: 87% (79–92%) Especificidad: 89% (85–92%)
Importancia clínica en el diagnóstico de ABI	Inespecífico	Específico

Tabla 3. Características de las pruebas moleculares utilizadas para el diagnóstico de API(28)

**Imágenes:** Es un componente importante de la evaluación diagnóstica. Los pulmones son el sitio más comúnmente afectado, el TAC ayuda a apoyar el diagnóstico, también en pacientes con hallazgos clínicos que sugieren afección de los senos paranasales, y cuando se sospecha afección de cerebro se recomienda resonancia magnética nuclear (RMN).

Los hallazgos como nódulos con hipointensidad alrededor llamados “signo del halo” pueden ser vistos en otras infecciones pulmonares invasivas; sin embargo, este hallazgo representa más frecuentemente aspergilosis en un paciente con el contexto adecuado, al ser la causa más común de micosis invasiva pulmonar.

El signo del halo inverso tampoco es patognomónico, ya que se describe con frecuencia en mucormicosis debido a necrosis interna temprana.(73)

Se recomienda realizar un TAC de tórax de alta resolución siempre que exista una sospecha clínica de API independientemente de los resultados de la radiografía de tórax, y no se recomienda el uso rutinario de contraste durante un TAC de tórax por sospecha de API. Se sugiere un TAC de tórax de seguimiento para evaluar la respuesta de API al tratamiento después de un mínimo de 2 semanas de tratamiento. Está indicada una evaluación más temprana si el paciente se deteriora clínicamente.(14)

El diagnóstico de API es particularmente problemático. De acuerdo con las definiciones revisadas de enfermedad fúngica invasiva del Grupo de Estudio de la Organización Europea para la Investigación y el Tratamiento del Cáncer/Micosis (EORTC/MSG), la API se clasifica en enfermedad fúngica invasiva probada, probable y posible:(74)

Aspergilosis pulmonar invasiva probada:

Análisis microscópico en material estéril: examen histopatológico, citopatológico o microscópico directo de una muestra obtenida por aspiración con aguja o biopsia estéril en la que se observan hifas acompañadas de evidencia de daño tisular asociado. Cultivo sobre material estéril: recuperación de *Aspergillus spp* mediante cultivo de una muestra obtenida por biopsia pulmonar.

Aspergilosis pulmonar invasiva probable (se deben cumplir los tres criterios):

1. Factores del hospedador (uno de los siguientes):
  - Historial reciente de neutropenia (500 neutrófilos/mm<sup>3</sup>) durante 110 d
  - Recepción de un trasplante alogénico de células madre
  - Uso prolongado de corticosteroides en una dosis mínima media de 0.3 mg/kg/d de equivalente de prednisona durante 13 semanas
  - Tratamiento con otros inmunosupresores de células T reconocidos

- Inmunodeficiencia grave hereditaria
2. Características clínicas (uno de los siguientes signos en la TC): lesiones densas y bien circunscritas con o sin un signo de halo, signo de media luna de aire en cavidad
3. Criterios micológicos (uno de los siguientes):
- Prueba directa (citología, microscopía directa o cultivo) en esputo, líquido LBA, cepillo bronquial que indique la presencia de elementos fúngicos o recuperación del cultivo *Aspergillus spp.*
  - Pruebas indirectas (detección de antígeno o componentes de la pared celular): antígeno de GM detectado en plasma, suero o líquido LBA.

Aspergilosis pulmonar invasiva posible:

Presencia de factores del hospedador y características clínicas (cf. probable API), pero en ausencia o hallazgos micológicos negativos.(74)

### **Aspergilosis invasiva en la unidad de cuidado intensivo**

Los datos sobre la incidencia de API en la unidad de cuidados intensivos (UCI) son escasos y la incidencia varía. Se ha informado una incidencia de 5.8% en UCI médica. La mayoría de los pacientes no tenían neoplasias hematológicas, pero las enfermedades como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y la insuficiencia hepática se reconocieron como factores de riesgo. El diagnóstico de API sigue siendo difícil. La ventilación mecánica dificulta la interpretación de los signos clínicos y los diagnósticos radiológicos se ven alterados por patologías pulmonares subyacentes. La importancia de un cultivo respiratorio positivo es muy incierta, porque los cultivos de muestras respiratorias tienen baja sensibilidad (50%) y especificidad (20-70%), dependiendo de si el paciente está inmunodeprimido y según su cuadro clínico. El uso de marcadores serológicos no ha sido validado en una población de UCI. La experiencia limitada con la detección de GM en muestras de líquido de lavado broncoalveolar ha arrojado resultados prometedores. Debido a

un retraso en el diagnóstico de API, la tasa de mortalidad supera el 50%. (3)

Herramienta de diagnóstico	Hallazgo característico	Aplicabilidad a UCI	Comentarios
<b>CT</b>	Signo de halo	No; el signo llega demasiado pronto (5 días antes del inicio de la enfermedad)	No específico para especies de <i>Aspergillus spp</i> (también otros mohos).
<b>CT</b>	Signo de media luna	No; oscurecido por atelectasia, SDRA y/o derrame pleural (figura 1)	La TC a menudo no es factible en un paciente con una alta fracción de oxígeno inspirado.
<b>Evidencia histopatológica</b>	Aplicabilidad para la UCI	Sí, estándar gloLBA	Las biopsias a menudo no son factibles en pacientes con trombocitopenia o una alta fracción de oxígeno inspirado.
<b>Cultivos</b>	Crecimiento en GMr Sabouraud	Aplicabilidad moderada tanto para cultivos como para microscopía como resultado de una sensibilidad y especificidad deficientes	Aplicabilidad moderada tanto para cultivos como para microscopía como resultado de una sensibilidad y especificidad deficientes. El aislamiento de la especie lleva varios días. El 50% de los casos se pasan por alto debido a los hallazgos de cultivos y microscopía; la discriminación de la colonización frente a la enfermedad invasiva es difícil; el valor predictivo positivo aumenta con el aumento de la inmunosupresión.
<b>Microscopia directa</b>	PAS, tinción de Grocott, visualización de calcofluor de	Aplicabilidad moderada tanto para cultivos como para	Aplicabilidad moderada tanto para cultivos como para microscopía como resultado de una sensibilidad y especificidad deficientes. El aislamiento de la especie lleva varios días. El

	elementos hifales (no solo especies de <i>Aspergillus spp</i> ), prueba rápida	microscopía como resultado de una sensibilidad y especificidad deficientes	50% de los casos se pasan por alto debido a los hallazgos de cultivos y microscopía; la discriminación de la colonización frente a la enfermedad invasiva es difícil; el valor predictivo positivo aumenta con el aumento de la inmunosupresión.
<b>GM</b>	Polisacárido liberado por el hongo en caso de invasividad (umbral, 0,5 a 1,5 ng / ml)	No probado en la UCI	No probado en la UCI En el paciente crítico no neutropénico, el líquido broncoalveolar puede funcionar mejor que el suero
<b>PCR</b>	Material de ADN de <i>Aspergillus spp fumigatus</i> .	No probado en la UCI	No probado en la UCI. En el paciente crítico no neutropénico, el líquido broncoalveolar puede funcionar mejor que la sangre.
<b>b- (1,3) d- glucano</b>	Componente de la pared celular fúngica	Solo 1 estudio	No es específico para especies de <i>Aspergillus spp</i> ; también presente en levaduras y bacterias; puede ser útil como predictor negativo de infección por hongos.

Tabla 4. Herramientas para el diagnóstico de API y aplicabilidad en la unidad de cuidados intensivos (UCI). (75)

Los médicos de cuidados intensivos necesitan un instrumento útil para guiar la práctica clínica. Actualmente se explora el papel de la GM en el lavado broncoalveolar en un amplio grupo de pacientes críticamente enfermos que están en riesgo de adquirir IA. Puede resultar en un algoritmo que puede identificar una infección invasiva por *Aspergillus spp* en una etapa temprana o que puede descartar una infección en pacientes críticamente enfermos de alto riesgo. Mientras tanto, se puede utilizar el modelo de predicción que involucra herramientas de diagnóstico actualmente disponibles (es decir, factores de riesgo y resultados de cultivo)

propuesto por Bouza et al. (tabla 5).(76)

<b>Puntuación</b>	<b>Número de pacientes</b>	<b>% de pacientes con API</b>
<b>0</b>	119	2.5
<b>1-2</b>	106	10.3
<b>3-4</b>	25	40
<b>&gt; 5</b>	10	70

Tabla 5. Modelo de puntuación de predicción y probabilidad de API(76)

En este modelo se puntuaba de la siguiente manera: 2 muestras de vías respiratorias positivas consecutivas; 1 muestra obtenida por procedimiento invasivo; 1 leucemia; 2 tratamiento con corticosteroides; 2 neutropenia.

A medida que continúan las investigaciones en el área, recomendamos que los médicos que opten por utilizar los ensayos de PCR los empleen con cuidado en el tratamiento de pacientes individuales, caso por caso. Los médicos deben conocer las metodologías y las características de rendimiento del ensayo específico utilizado e interpretar los resultados en consecuencia. Cuando se utilizan ensayos de PCR, los resultados deben considerarse junto con otras pruebas de diagnóstico y el contexto clínico.(14)

Recientemente, el arsenal terapéutico contra la API ha mejorado. Sin embargo, faltan datos sobre la seguridad y eficacia de los nuevos agentes antimicóticos en la UCI.(3)

### **Aspergilosis y COVID-19**

El coronavirus causa daño directo al epitelio de las vías respiratorias, lo que permite la invasión de *Aspergillus spp.*(77) Se reporta que este hongo puede causar

sobreinfecciones en pacientes con COVID-19, especialmente en enfermedades graves o críticas.(78) Los informes de CAPA han suscitado preocupaciones acerca de que empeore el curso de la enfermedad por COVID-19 y aumente la mortalidad; de hecho, en una cohorte prospectiva de 108 pacientes críticos con síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA), se observó una mayor mortalidad a 30 días en pacientes con aspergilosis pulmonar asociada a COVID-19 (CAPA) que en pacientes sin aspergilosis (44% frente a 19%).(77)

La CAPA se diagnosticó una mediana de 10 días después del diagnóstico de la enfermedad por coronavirus. Se identificó *Aspergillus fumigatus* en el 80.3% de los cultivos de pacientes, 4 de los cuales eran resistentes a los azólicos. La mayoría de los pacientes (52.7%) recibieron voriconazol. En total, falleció el 52.2% de los pacientes; de las muertes, 33.0% se atribuyó a CAPA. Encontramos que la incidencia acumulada de CAPA en la UCI osciló entre el 1.0 y 39.1%.(79)

Los factores de riesgo convencionales de API no fueron comunes entre estas poblaciones específicas. El cultivo de hongos y la prueba de GM, especialmente de muestras respiratorias, podrían ayudar al diagnóstico temprano. *Aspergillus fumigatus* fue la especie más común que causó coinfección en pacientes con COVID-19, seguido de *Aspergillus flavus*. Existen similitudes evidentes entre IAPA y CAPA, incluida la alta prevalencia, la ausencia de factores clásicos del huésped para la infección micótica invasiva, el momento similar en el diagnóstico de la enfermedad después de la admisión en la UCI y la presencia de linfopenia.

Se propone definir la aspergilosis pulmonar asociada a COVID-19 como posible, probable o probada sobre la base de la validez de la muestra y, por tanto, la certeza diagnóstica.

En este contexto, muchos signos atípicos de la neumonía por COVID-19 pueden imitar el API y viceversa, y la radiología por sí sola no es suficiente para definir a los

pacientes con CAPA. Existe una complejidad adicional en los pacientes con SDRA, que pueden presentar múltiples procesos, como infecciones mixtas o toxicidad por fármacos. De hecho, las lesiones que sugieren API pueden estar ocultas o imitadas por la afectación pulmonar en pacientes con COVID-19 grave.

A pesar de todas las limitaciones dadas anteriormente, se puede hacer la siguiente afirmación para pacientes críticamente enfermos con COVID-19: los nódulos pulmonares múltiples o la cavitación pulmonar deben dar lugar a una investigación exhaustiva de la API, ya que rara vez se atribuyen solo a COVID-19 y se han descrito en una pequeña proporción de pacientes con CAPA hasta la fecha.(77)

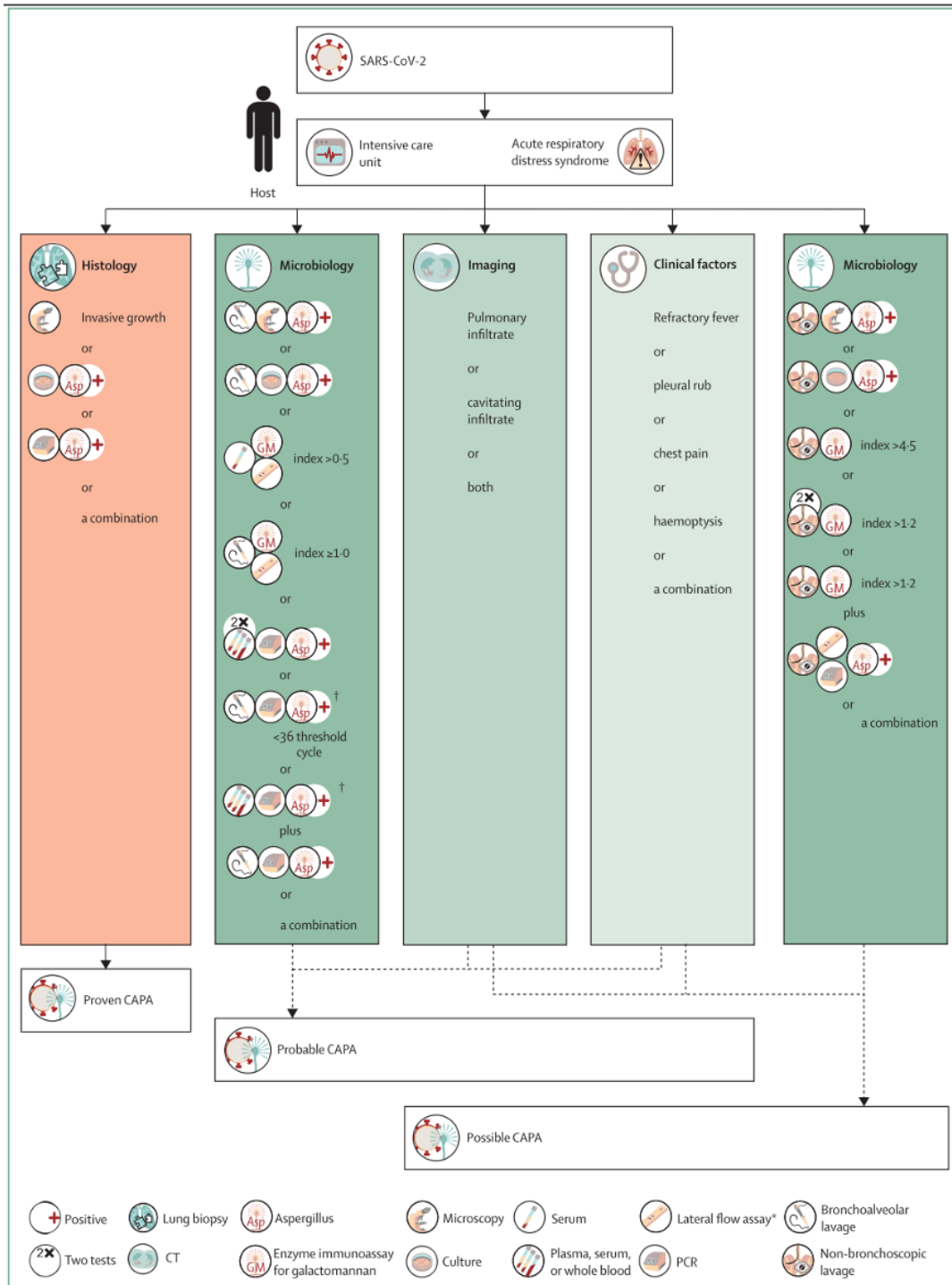


Ilustración 4. Definición y diagnóstico de CAPA (forma pulmonar)(77)

Lo más probable es que la clasificación de CAPA posible sea suficiente para iniciar

la terapia antifúngica en la clínica, pero, de acuerdo con otras declaraciones de consenso, no se recomienda para inscribir pacientes en ensayos clínicos. Se necesitan estudios adicionales para confirmar la especificidad de la prueba en LBA, ya que no se considera equivalente al lavado no broncoscópico.

Se debe utilizar un lector visual para el resultado primario y se debe buscar una prueba confirmatoria de GM. En el caso de pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica o enfermedad respiratoria crónica, los resultados de la PCR o del cultivo deben ser confirmados por pruebas de GM para descartar colonización o aspergilosis crónica. El índice de GM debe estar disponible; el umbral del índice de GM se aplica tanto al inmunoensayo enzimático como al ensayo de flujo lateral.(77)

### **Tratamiento**

El inicio temprano de la terapia antifúngica en pacientes con sospecha API se justifica mientras que una evaluación de diagnóstico es conducida.(14)

Las formas saprofitas de aspergilosis traqueobronquial (TBA) no requieren tratamiento antifúngico, excepto en pacientes sintomáticos o inmunosuprimidos. El tratamiento incluye la eliminación broncoescópica de la impactación mucoide. Se recomiendan triazoles activos contra el moho para pacientes inmunodeprimidos en los que no se puede descartar la posibilidad de enfermedad invasiva.(14)

También se justifica la terapia empírica en pacientes de alto riesgo con neutropenia prolongada que continúan con fiebre persistente a pesar del tratamiento antibiótico de amplio espectro. El uso de biomarcadores fúngicos en suero o LBA como GM o  $\beta$ -1,3-D-glucano en sangre para guiar la terapia antifúngica en pacientes asintomáticos o febriles de alto riesgo (a menudo denominada terapia antifúngica preemptiva o basada en biomarcadores) puede reducir la terapia antimicótica innecesaria. El enfoque preemptivo puede resultar en casos más documentados de

Al sin comprometer la supervivencia y puede usarse como una alternativa a la terapia antifúngica empírica.(14)

Las guías de la Infectious Diseases Society of America recomiendan el uso de voriconazol como terapia de primera línea para la API. El voriconazol fue más eficaz que la anfotericina B desoxicolato como tratamiento inicial para la API y se asoció significativamente con mejor supervivencia (71% frente a 58%).

La eliminación no lineal de voriconazol en adultos tiene implicaciones importantes para la selección de la dosis. Según el prospecto, se estima que el aumento de la dosis oral de voriconazol de 200 mg cada 12 horas a 300 mg cada 12 horas conduce a un aumento de la exposición en adultos en un factor de 2.5 veces.

Pequeños estudios han observado una relación entre los niveles plasmáticos bajos de voriconazol y el fracaso del tratamiento, y entre los niveles altos de voriconazol y la toxicidad. Se debe considerar la monitorización terapéutica de niveles de voriconazol sanguíneos durante los tratamientos.(6)

<b>Antifúngico</b>	<b>Dosis</b>	<b>Propiedades farmacológicas</b>	<b>Comentarios</b>
<b>Voriconazol</b>	Terapia intravenosa: 6 mg por kilogramo cada 12 h para 2 dosis, luego 4 mg por kilogramo cada 12 h como terapia inicial. Terapia oral: para adultos, 200 mg dos veces al día o 4 mg	Biodisponibilidad oral, aproximadamente 95%; variabilidad sustancial en la exposición sistémica entre pacientes; polimorfismos genéticos para CYP2C19, y se espera	Fármaco de elección como tratamiento primario para la aspergilosis invasiva (con superioridad sobre la anfotericina B en un ensayo aleatorizado); consideración de la vigilancia de fármacos terapéuticos en casos selectos; mala actividad contra

	por kilogramo dos veces al día; para niños de 2 a 11 años, 7 mg por kilogramo dos veces al día sin dosis de carga; para niños > 11 años, dosis para adultos.	que entre el 15 y el 20% de los asiáticos tengan una tasa de metabolismo lento.	zigomicetos.
<b>Itraconazol</b>	Cápsulas orales: para adultos, 400 mg al día (en una o dos dosis); solución oral: 2,5 mg por kilogramo dos veces al día; para niños > 5 años de edad: 2,5 mg por kilogramo dos veces al día; faltan estudios en niños más pequeños; terapia intravenosa: 200 mg dos veces al día por cuatro dosis, luego 200 mg al día.	La biodisponibilidad oral de la solución es mejor que la de las cápsulas, pero ambas formulaciones tienen una variabilidad significativa en la exposición sistémica. La biodisponibilidad oral de las cápsulas (pero no la solución) aumenta cuando se toma con alimentos y se reduce por el aumento del pH gástrico.	Se recomienda la monitorización de los niveles mínimos en suero para > 0,25 µg por mililitro en cromatografía líquida de alta resolución debido a los efectos inotrópicos negativos; contraindicado en pacientes con disfunción ventricular sustancial o antecedentes de insuficiencia cardíaca congestiva; eficaz como profilaxis en la enfermedad granulomatosa crónica <sup>70,71</sup> ; eficaz como terapia para la aspergilosis broncopulmonar alérgica dependiente de corticosteroides.

Tabla 6. Características de los azoles activos contra el moho(6)

Las formas IV de itraconazol y voriconazol deben usarse con precaución en pacientes con enfermedad renal crónica significativa (aclaramiento menor a 50cc/min debido a la acumulación potencial del vehículo cyclodextrina que puede causar toxicidad renal; esta preocupación no aplica a las formas orales).(6)

Para pacientes con enfermedad grave o progresiva, sugerimos agregar un equinocandina a voriconazol para la primera o primeras dos semanas de terapia.(14)

Cuando se sospecha un fracaso en la terapia, se deben evaluar diferentes aspectos. Primero, el diagnóstico de aspergilosis invasiva puede ser incorrecto (o pueden existir dos infecciones simultáneamente, como zigomicosis que responde a anfotericina B).

En segundo lugar, en pacientes con neutropenia persistente, las lesiones pulmonares pueden aumentar de tamaño, a pesar de la eventual respuesta al tratamiento antifúngico.

En tercer lugar, las lesiones pulmonares pueden aumentar de tamaño después de la recuperación de los neutrófilos debido a la reconstitución inmunitaria más que al fracaso de la terapia.

Como cuarta consideración, se pueden producir niveles sistémicos subterapéuticos de azoles activos contra el moho.

Por último, la resistencia de los aislados de especies de *Aspergillus spp* a los azoles activos contra el moho es poco común, pero también es una causa potencial de fracaso terapéutico que además ha ido en aumento.

Hay escasez de datos para orientar la administración de la terapia antifúngica en pacientes con API resistente a voriconazol. Las opciones incluyen anfotericina B liposomal, una equinocandina o terapia antifúngica combinada.

Un análisis de un gran registro de datos sobre el uso de la terapia con complejo

lipídico de anfotericina B para la API mostró hallazgos alentadores con respecto a la eficacia y la seguridad, incluida la tolerabilidad del fármaco en pacientes con insuficiencia renal.(89)

Las equinocandinas son agentes antifúngicos que actúan inhibiendo la síntesis de  $\beta$ -glucanos de la pared celular. La caspofungina está aprobada por la Administración de Alimentos y Medicamentos como terapia de rescate para aspergilosis invasiva. Existe un interés sustancial en emparejar equinocandinas, que tienen actividad en la pared celular, con formulaciones de anfotericina B, que tienen actividad en la membrana celular, o azoles activos contra mohos como terapia para la API.

Un componente importante en la terapia para la API implica anticipar y gestionar los efectos tóxicos de varios fármacos. Los azoles reaccionan de forma cruzada con inhibidores y sustratos de isoenzimas del citocromo P-450 de mamíferos. La inhibición de la isoenzima CYP3A4 por los azoles (especialmente los azoles activos contra hongos filamentosos, en comparación con el fluconazol) representa la mayor parte de los fármacos. De hecho, varios agentes que se utilizan para tratar el cáncer (p. ej. ciclofosfamida y alcaloides de la vinca) y como terapia inmunosupresora en receptores de trasplantes (p. ej. inhibidores de calcineurina y sirolimus) se metabolizan a través del CYP3A4 hepático.

Todos los azoles pueden causar hepatotoxicidad, incluida colestasis y daño hepatocelular, las cuales suelen ser reversibles. El voriconazol suele causar síntomas visuales reversibles que a veces requieren la suspensión del fármaco. Los principales efectos tóxicos asociados con las formulaciones de anfotericina B son las reacciones a la infusión y la nefrotoxicidad. Las equinocandinas generalmente se toleran bien y tienen pocos efectos adversos.(6)

Para los pacientes que reciben terapia basada en triazol para API, profilaxis

prolongada con azol u otras terapias para las que se anticipan interacciones farmacológicas con azoles, se recomienda la monitorización terapéutica de fármacos (TDM) una vez que se haya alcanzado el estado estable. Se sugiere medir niveles para mejorar la eficacia terapéutica, evaluar los fracasos terapéuticos atribuibles a exposiciones subóptimas a los fármacos y minimizar las toxicidades potencialmente atribuibles a los azoles; especialmente en itraconazol, voriconazol y posaconazol.(14)

<b>Escenario clínico</b>	<b>Ejemplos</b>
<b>Poblaciones con mayor variabilidad farmacocinética</b>	Función gastrointestinal deteriorada; hepático (voriconazol, posaconazol, itraconazol); pacientes pediátricos, ancianos, obesos, críticos.
<b>Cambio de farmacocinética</b>	Cambio de intravenoso a oral, cambio de la función gastrointestinal, cambio de la función hepática o renal, inestabilidad fisiológica.
<b>Interacciones de medicamentos</b>	Paciente que recibe medicación que induce CYP3A4, antiácidos, inhibidores de la bomba de protones (cápsulas de itraconazol, suspensión de posaconazol), medicamentos antirretrovirales, posiblemente corticosteroides (voriconazol).
<b>Enfermedad grave</b>	Infección extensa, lesiones contiguas a estructuras críticas, infección del SNC, infección multifocal o diseminada.
<b>Adherencia</b>	Problema importante con la terapia de consolidación a más largo plazo o la profilaxis secundaria.
<b>Sospecha de infección aguda</b>	TDM puede ayudar a establecer si la progresión de la enfermedad fúngica ocurrió en el contexto de una

	exposición inadecuada a los antimicóticos.
<b>Sospecha de toxicidad por fármacos, especialmente neurotoxicidad (voriconazol)</b>	Aunque las relaciones exposición-respuesta se describen para otras toxicidades (p. ej., hepatotoxicidad, enfermedad ósea), la utilidad de TDM para prevenir su aparición está menos establecida.

Tabla 7. Escenarios clínicos en los que la monitorización terapéutica de fármacos es útil en el tratamiento de la aspergilosis(14)

No se recomiendan las pruebas de sensibilidad a los antifúngicos (AFST) de rutina de los aislados recuperados durante la infección inicial. La AFST de los aislados de *Aspergillus spp* se reserva para los pacientes que se sospecha que tienen un aislado resistente a los azoles, a quienes no responden al tratamiento inicial, o con fines epidemiológicos.(14)

Las directrices de la Infectious Diseases Society of America recomiendan que la duración de la terapia sea de al menos 6 a 12 semanas para la API. En pacientes inmunodeprimidos, la terapia debe continuarse durante todo el período de inmunosupresión y hasta que resuelvan las lesiones.

Cuando sea posible, se debe reducir, readecuar o suspender la terapia inmunosupresora (como los corticosteroides). Los factores estimulantes de colonias mieloides coadyuvantes (factor estimulante de colonias de granulocitos o granulocitos-macrófagos) deben considerarse en pacientes con neutropenia que tienen infecciones graves, como aspergilosis. Uso de interferón- $\gamma$  recombinante (que activa neutrófilos y macrófagos) pueden considerarse en pacientes que tienen aspergilosis refractaria o diseminada.(6)

La terapia de primera línea en CAPA recomendada es voriconazol o isavuconazol. Si la resistencia a los azólicos es una preocupación, entonces la anfotericina B

liposomal es el fármaco de elección. Además, se han informado los primeros casos de aspergilosis pulmonar asociada a COVID-19 causada por *Aspergillus spp* resistente a los azoles.(77)

### **Factores pronósticos**

La aspergilosis broncopulmonar invasiva es una de las principales causas de mortalidad en pacientes inmunocomprometidos, particularmente posterior a los TCMH alogénicos. Históricamente, la mortalidad a un año posterior al inicio de aspergilosis en esta población fue tan alta como 80%.(5)

En Estados Unidos, un estudio multicéntrico del 2001-2005, la mortalidad por todas las causas a 12 semanas en TCMH por aspergilosis fue de 58%.(80) Menores tasas de mortalidad han sido observadas en estudios que incluyeron otros pacientes; por ejemplo, en este que solo el 29% eran de TCMH, la mortalidad a 12 semanas en pacientes que recibieron voriconazol fue de 29% vs. 42% en aquellos con anfotericina B deoxicolato.(81)

Se consideran factores pronóstico los siguientes: enfermedad diseminada, afección cerebral, neutropenia severa y persistente, uso de glucocorticoides, TCMH alogénico y enfermedad de injerto vs. huésped (82-85). También se deben considerar variables como la función pulmonar, renal y hepática de base, y en TCMH los regímenes no mielo ablativos tienen mejores resultados pos infección.

Empeora el pronóstico de los pacientes el retraso en el diagnóstico y en el inicio de terapia apropiada. En un estudio retrospectivo, la mortalidad en pacientes con terapia apropiada inicial con voriconazol fue de 24% en comparación con 47% en aquellos con terapia inicial inapropiada.

El GM también tiene valor pronóstico:(13,87-91)

- En una revisión de 27 estudios de pacientes con malignidad hematológica y aspergilosis probada o probable, aquellos con GM persistentemente positivos tuvieron mayor mortalidad que los que normalizan los niveles.
- Otro estudio demostró que tanto el GM sérico al diagnóstico y la caída en el control semanal fueron predictivos de mortalidad por todas las causas. Cada unidad de aumento en el valor al momento del diagnóstico aumenta un 25% la mortalidad por todas las causas a las 6 semanas y cada disminución la disminuyó en 22%.
- En contraste, en las muestras bronquiales, ni la detección ni la magnitud del resultado correlacionó con mortalidad en TCMH con aspergilosis.

La monitorización en serie de GM en suero se puede utilizar en las subpoblaciones de pacientes apropiadas (neoplasias hematológicas, TCMH) que tienen un GM elevado al inicio del estudio para monitorear la progresión de la enfermedad, la respuesta terapéutica y predecir el resultado.

El  $\beta$ -1,3-D-glucano no se ha estudiado de manera adecuada en IA para predecir mortalidad. (14)

### **Prevención**

Los pacientes altamente inmunodeprimidos y con mayor riesgo de AI, como los pacientes que reciben regímenes de inducción/reinducción para leucemia o TCMH alogénicos, deben colocarse en un entorno protegido para reducir la exposición al moho.

En los hospitales en los que no se dispone de un aislamiento adecuado, se recomienda mantener al paciente en una habitación privada, sin exposición a obras de construcción y no permitir que se lleven plantas o flores cortadas a la habitación

del paciente.(14)

Recomendamos precauciones razonables para reducir la exposición al moho entre los pacientes ambulatorios con alto riesgo de AI, incluyendo evitar la jardinería, esparcir mantillo (abono) y evitar exponerse a construcciones o a renovación de casas (recomendación fuerte; evidencia de baja calidad). (14)

Se recomienda la profilaxis con posaconazol (recomendación fuerte; evidencia de alta calidad), voriconazol (recomendación fuerte; evidencia de calidad moderada) y/o micafungina (recomendación débil; evidencia de baja calidad) durante la neutropenia prolongada para aquellos que están en alto riesgo de AI (recomendación fuerte; evidencia de alta calidad). La profilaxis con caspofungina también es probablemente eficaz (recomendación débil; evidencia de baja calidad). La profilaxis con itraconazol es eficaz, pero el tratamiento puede estar limitado por la absorción y la tolerancia (recomendación fuerte; evidencia de calidad moderada). Los triazoles no deben coadministrarse con otros agentes que se sabe que tienen niveles potencialmente tóxicos con la coadministración concomitante de estos antifúngicos (p. ej. alcaloides de la vinca y otros).

Para los pacientes con API tratada con éxito que requieran inmunosupresión posterior, se debe iniciar una profilaxis secundaria para prevenir la recurrencia.(14)

### **Conclusiones**

- La patogénesis de la API es compleja y varía entre pacientes de acuerdo con su estado inmunológico reciente y también según la gravedad de enfermedad crónica y actual.
- Los métodos de diagnóstico de laboratorio convencionales, como el cultivo y la microscopía, aunque son muy útiles cuando son positivos, son insensibles

y requieren mucho tiempo, lo que provoca un diagnóstico y tratamiento tardío y conlleva a altas tasas de mortalidad.

- A nivel internacional ha mejorado el abordaje diagnóstico de la AI con la implementación de biomarcadores en sangre y LBA; además, la definición precisa de criterios de diagnóstico y algoritmos incluso en pacientes críticos y COVID-19 ha permitido un cambio de la terapia empírica a la preemptiva, especialmente cuando se fundamenta en hallazgos radiológicos sugestivos.
- La API en pacientes agudamente enfermos representa un reto diagnóstico y de tratamiento para el clínico, ya que no existe mucha evidencia al respecto, lo cual ha hecho que se note más durante la pandemia por COVID-19.
- La disponibilidad de agentes antimicóticos más activos y mejor tolerados ha mejorado significativamente la terapia de los pacientes con riesgo de infecciones graves por *Aspergillus spp.*
- La resistencia a azoles es un problema que aumenta con la gravedad del paciente y por tiempo de tratamiento, y explica en algunos pacientes la falla terapéutica y morbimortalidad.
- Los estudios de susceptibilidad *in vitro* deben realizarse de forma rutinaria con cepas de casos de fracaso terapéutico, en fungemias refractarias, en pacientes que han recibido previamente profilaxis antifúngica y en casos con especies poco frecuentes.
- Realizar evaluaciones de riesgo de control de infecciones e implementar las medidas de control recomendadas es esencial para prevenir los brotes de hongos asociados con la atención médica durante la construcción y la renovación.

## Recomendaciones

- El conocimiento de estos factores genéticos del huésped puede resultar importante para estratificar el riesgo de aspergilosis invasiva durante los períodos de inmunosupresión, para orientar la selección de donantes y la profilaxis antifúngica dirigida, y para identificar nuevas dianas terapéuticas.
- Se necesitan mejores pruebas de diagnóstico e implementar modelos de rutina en la atención de pacientes de riesgo de AI para el diagnóstico temprano y así mejorar su morbimortalidad.
- Ya que incluso con una terapia antifúngica óptima la tasa de mortalidad sigue siendo alta, es muy necesario un mayor desarrollo de nuevos agentes antifúngicos incluyendo evaluar la utilidad de la terapia combinada.
- Es necesario investigar sobre el desarrollo de la resistencia a los azoles que justifican a la vez un mayor conocimiento sobre la biología de *Aspergillus spp* en el microambiente humano. Es necesario investigar las estrategias que utiliza durante la infección para aumentar su diversidad genética, especialmente en relación con el proceso de reproducción y la enfermedad.
- Realizar nuevas investigaciones en el área de prevención y profilaxis para determinar las medidas efectivas para el control de la enfermedad, como determinar la concentración mínima de esporas de hongos por muestreo de aire para la adquisición de infección y así la población de pacientes que podría beneficiarse del uso de algún antifúngico de manera temprana.
- El conocimiento de la inmunidad innata y de células T contra *Aspergillus spp* puede ayudar en el camino hacia nuevas estrategias de inmunomodulación, incluyendo el desarrollo de vacunas.

## Referencias

1. Ben-Ami R, Lewis RE, Kontoyiannis DP. Enemy of the (immunosuppressed) state: An update on the pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* infection. *Br J Haematol.* 2010; 150(4): 406-417.
2. Barberán J, Mensa J. Invasive pulmonary aspergillosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Rev Iberoam Micol.* 2014; 31(4): 237-241.
3. Meersseman W, Lagrou K, Maertens J, Wijngaerden E Van. Invasive Aspergillosis in the Intensive Care Unit. 2007;205. <https://academic.oup.com/cid/article-abstract/45/2/205/422246>
4. LBAajee SA, Marr KA. Phenotypic and genotypic identification of human pathogenic aspergilli. *Future Microbiol.* 2006; 1: 435-445.
5. Marr KA, Carter RA, Crippa F, Wald A, Corey L. Epidemiology and Outcome of Mould Infections in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients. *Clin Infect Dis.* 2002; 34(7): 909-917.
6. Brahm S. Aspergillosis. *NEJM.* 2009; 360: 1870-84.
7. Kanamori H, Rutala WA, Sickbert-Bennett EE, Weber DJ. Review of Fungal Outbreaks and Infection Prevention in Healthcare Settings during Construction and Renovation. *Clin Infect Dis.* 2015; 61(3): 433-444.
8. Marr KA, Carter RA, Boeckh M, Martin P, Corey L. Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: Changes in epidemiology and risk factors. *Blood.* 2002; 100(13): 4358-4366.
9. Luong ML, Chaparro C, Stephenson A, Rotstein C, Singer LG, Waters V, et al. Pretransplant aspergillus colonization of cystic fibrosis patients and the incidence of post-lung transplant invasive aspergillosis. *Transplantation.* 2014; 97(3): 351-357.
10. Iversen M, Burton CM, Vand S, Skovfoged L, Carlsen J, Milman N, et al. Aspergillus infection in lung transplant patients: Incidence and prognosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2007; 26(12): 879-886.
11. Osawa M, Ito Y, Hirai T, Isozumi R, Takakura S, Fujimoto Y, et al. Risk factors

- for invasive aspergillosis in living donor liver transplant recipients. *Liver Transplant*. 2007; 13(4): 566-570.
12. Rosenhagen M, Feldhues R, Schmidt J, Hoppe-Tichy T, Geiss HK. A risk profile for invasive aspergillosis in liver transplant recipients. *Infection*. 2009; 37(4): 313-319.
  13. Heylen L, Maertens J, Naesens M, Van Wijngaerden E, Lagrou K, Bammens B, et al. Invasive aspergillosis after kidney transplant: Case-control study. *Clin Infect Dis*. 2015; 60(10): 1505-1511.
  14. Patterson TF, Thompson GR, Denning DW, Fishman JA, Hadley S, Herbrecht R, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of aspergillosis: 2016 update by the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis*. 2016; 63(4): e1-60.
  15. Shannon VR, Andersson BS, Lei X, Champlin RE, Kontoyiannis DP. Utility of early versus late fiberoptic bronchoscopy in the evaluation of new pulmonary infiltrates following hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2010; 45(4): 647-655.
  16. Sampsonas F, Kontoyiannis DP, Dickey BF, Evans SE. Performance of a standardized bronchoalveolar lavage protocol in a comprehensive cancer center: A prospective 2-year study. *Cancer*. 2011; 117(15): 3424-3433.
  17. 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) C. *Clin Infect Dis*. 2008; 46(12): 1813-21.
  18. Ascoglu S, Rex JH, de Pauw B, Bennett JE, Bille J, Crokaert F, et al. Defining Opportunistic Invasive Fungal Infections in Immunocompromised Patients with Cancer and Hematopoietic Stem Cell Transplants: An International Consensus. *Clin Infect Dis*. 2002; 34(1): 7-14.
  19. Procop GW, Hayden RT RG. Filamentous fungi. In: *Diagnostic Microbiology*

- of the Immunocompromised Host. Washington DC: ASM Press; 2009. 195 p.
20. Verweij PE BM. *Aspergillus*, *Fusarium*, and Other Opportunistic Moniliaceous Fungi. In: *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. Washington DC: ASM Press; 2007. p. 1802.
  21. Cuenca-Estrella M, Bassetti M, Lass-Flörl C, Ráčil Z, Richardson M, Rogers TR. Detection and investigation of invasive mould disease. *J Antimicrob Chemother*. 2011; 66(SUPPL. 1): 15-24.
  22. LBAajee SA, Kano R, Baddley JW, Moser SA, Marr KA, Alexander BD, et al. Molecular identification of *Aspergillus* species collected for the transplant-associated infection surveillance network. *J Clin Microbiol*. 2009; 47(10): 3138-3141.
  23. Neofytos D, Horn D, Anaissie E, Steinbach W, Olyaei A, Fishman J, et al. Epidemiology and Outcome of Invasive Fungal Infection in Adult Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients: Analysis of Multicenter Prospective Antifungal Therapy (PATH) Alliance Registry. *Clin Infect Dis*. 2009; 48(3): 265-73.
  24. Kontoyiannis DP, Marr KA, Park BJ, Alexander BD, Anaissie EJ, Walsh TJ, et al. Prospective Surveillance for Invasive Fungal Infections in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients, 2001-2006: Overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database. *Clin Infect Dis*. 2010; 50(8): 1091-1100.
  25. Horvath JA, Dummer S. The use of respiratory-tract cultures in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *Am J Med*. 1996; 100(2): 171-178.
  26. Kudoh A, Okawa Y, Shibata N. Significant structural change in both O- and N-linked carbohydrate moieties of the antigenic galactomannan from *Aspergillus fumigatus* grown under different culture conditions. *Glycobiology*. 2015; 25(1): 74-87.
  27. Tefsen B, Ram AFJ, Van Die I, Routier FH. Galactofuranose in eukaryotes: Aspects of biosynthesis and functional impact. *Glycobiology*. 2012; 22(4): 456-469.

28. Miceli MH, Maertens J. Role of Non-Culture-Based Tests, with an Emphasis on Galactomannan Testing for the Diagnosis of Invasive Aspergillosis. *Semin Respir Crit Care Med.* 2015; 36(5): 650-661.
29. Alonso R. Comparison of the performance of two galactomannan detection tests: Platelia Galactomannan (Bio-Rad) and Galactomannan Virclia (Vircell) [Internet]. 2020. [https://www.aspergillus.org.uk/conference\\_abstracts/comparison-of-the-performance-of-two-galactomannan-detection-tests-platelia-galactomannan-bio-rad-and-galactomannan-virclia-vircell/](https://www.aspergillus.org.uk/conference_abstracts/comparison-of-the-performance-of-two-galactomannan-detection-tests-platelia-galactomannan-bio-rad-and-galactomannan-virclia-vircell/)
30. Maertens J, Theunissen K, Verbeken E, Lagrou K, Verhaegen J, Boogaerts M, et al. Prospective clinical evaluation of lower cut-offs for galactomannan detection in adult neutropenic cancer patients and haematological stem cell transplant recipients. *Br J Haematol.* 2004; 126(6): 852-860.
31. Marr KA, LBAajee SA, McLaughlin L, Tabouret M, Bentsen C, Walsh TJ. Detection of Galactomannan Antigenemia by Enzyme Immunoassay for the Diagnosis of Invasive Aspergillosis: Variables That Affect Performance. *J Infect Dis.* 2004; 190(3): 641-649.
32. Mmg L, Yj D, Wang J, Ce V, Rjpm S, Hooft L, et al. Galactomannan detection for invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *Cochrane Database Syst Rev Galactomannan.* 2017; (12).
33. Marr KA, Leisenring W. Design Issues in Studies Evaluating Diagnostic Tests for Aspergillosis. *Clin Infect Dis.* 2005; 41(Supplement\_6): S381-6.
34. Pfeiffer CD, Fine JP, Safdar N. Diagnosis of Invasive Aspergillosis Using a Galactomannan Assay: A Meta-Analysis. *Clin Infect Dis.* 2006; 42(10): 1417-1727.
35. Marr KA, Laverdiere M, Gugel A, Leisenring W. Antifungal Therapy Decreases Sensitivity of theAspergillus Galactomannan Enzyme Immunoassay. *Clin Infect Dis.* 2005; 40(12): 1762-1769.
36. Duarte RF, Sánchez-Ortega I, Cuesta I, Arnan M, Patiño B, Fernández De Sevilla A, et al. Serum galactomannan-based early detection of invasive

- aspergillosis in hematology patients receiving effective antimold prophylaxis. *Clin Infect Dis.* 2014; 59(12): 1696-702.
37. Cornely OA. Editorial commentary: Galactomannan testing during mold-active prophylaxis. *Clin Infect Dis.* 2014; 59(12): 1703-1704.
  38. Walsh TJ, Shoham S, Petraitiene R, Sein T, Schaufele R, Kelaher A, et al. Detection of galactomannan antigenemia in patients receiving piperacillin-tazobactam and correlations between in vitro, in vivo, and clinical properties of the drug-antigen interaction. *J Clin Microbiol.* 2004; 42(10): 4744-4748.
  39. Mikulska M, Furfaro E, Del Bono V, Raiola AM, Ratto S, Bacigalupo A, et al. Piperacillin/tazobactam (Tazocin™) seems to be no longer responsible for false-positive results of the galactomannan assay. *J Antimicrob Chemother.* 2012; 67(7): 1746-1748.
  40. Mattei D, Rapezzi D, Mordini N, Cuda F, Nigro C Lo, Musso M, et al. False-positive *Aspergillus* galactomannan enzyme-linked immunosorbent assay results in vivo during amoxicillin-clavulanic acid treatment. *J Clin Microbiol.* 2004; 42(11): 5362-5363.
  41. Wheat LJ, Hackett E, Durkin M, Connolly P, Petraitiene R, Walsh TJ, et al. Histoplasmosis-associated cross-reactivity in the biorad platelia *Aspergillus* enzyme immunoassay. *Clin Vaccine Immunol.* 2007; 14(5): 638-640.
  42. Asano-mori Y, Kanda Y, Oshima K, Kako S, Shinohara A, Nakasone H, et al. False-positive *Aspergillus* galactomannan antigenaemia after haematopoietic stem cell transplantation. *J Antimicrob Chemother.* 2008; 61(2): 411-416.
  43. Mennink-Kersten MASH, Donnelly JP, Verweij PE. Detection of circulating galactomannan for the diagnosis and management of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis.* 2004; 4(6): 349-357.
  44. Guigue N, Menotti J, Ribaud P. False positive galactomannan test after ice-pop ingestion. *N Engl J Med.* 2013; 369(1): 97-98.
  45. Martín-Rabadán P, Gijón P, Fernández RA, LBAlesteros M, Anguita J, Bouza E. False-positive *aspergillus* antigenemia due to blood product conditioning fluids. *Clin Infect Dis.* 2012; 55(4): 22-27.

46. Husain S, Clancy CJ, Nguyen MH, Swartzentruber S, Leather H, LeMonte AM, et al. Performance characteristics of the platelia Aspergillus enzyme immunoassay for detection of Aspergillus galactomannan antigen in bronchoalveolar lavage fluid. *Clin Vaccine Immunol*. 2008; 15(12): 1760-1763.
47. Musher B, Fredricks D, Leisenring W, LBAajee SA, Smith C, Marr KA. Aspergillus galactomannan enzyme immunoassay and quantitative PCR for diagnosis of invasive aspergillosis with bronchoalveolar lavage fluid. *J Clin Microbiol*. 2004; 42(12): 5517-5522.
48. Maertens J, Maertens V, Theunissen K, Meersseman W, Meersseman P, Meers S, et al. Bronchoalveolar Lavage Fluid Galactomannan for the Diagnosis of Invasive Pulmonary Aspergillosis in Patients with Hematologic Diseases. *Clin Infect Dis*. 2009; 49(11): 1688-1693.
49. D'Haese J, Theunissen K, Vermeulen E, Schoemans H, De Vlieger G, Lammertijn L, et al. Detection of galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid samples of patients at risk for invasive pulmonary aspergillosis: Analytical and clinical validity. *J Clin Microbiol*. 2012; 50(4): 1258-1263.
50. De Heer K, Gerritsen MG, Visser CE, Leeflang MMG. Galactomannan detection in broncho-alveolar lavage fluid for invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019;2019(5).
51. Pickering JW, Sant HW, Bowles CAP, Roberts WL, Woods GL. Evaluation of a 1,3-B-D-Glucan Assay for Diagnosis of Invasive Fungal Infections. *J Clin Microbiol*. 2005; 43(12): 5957-5962.
52. Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Ntziora F, Michalopoulos A, Rafailidis PI, FalGMs ME.  $\beta$ -D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: A meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2011; 52(6): 750-770.
53. Lamoth F, Cruciani M, Mengoli C, Castagnola E, Lortholary O, Richardson M, et al.  $\beta$ -glucan antigenemia assay for the diagnosis of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies: A systematic review and meta-analysis of cohort studies from the third European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-3). *Clin Infect Dis*. 2012; 54(5): 633-643.

54. Kawazu M, Kanda Y, Nannya Y, Aoki K, Kurokawa M, Chiba S, et al. Prospective comparison of the diagnostic potential of real-time PCR, double-sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for galactomannan, and a (1→3)-β-D-glucan test in weekly screening for invasive aspergillosis in patients with hematological disorders. *J Clin Microbiol.* 2004; 42(6): 2733-2741.
55. Obayashi T, Negishi K, Suzuki T, Funata N. Reappraisal of the Serum (1→3)-β-D-Glucan Assay for the Diagnosis of Invasive Fungal Infections—A Study Based on Autopsy Cases from 6 Years. *Clin Infect Dis.* 2008; 46(12): 1864-1870.
56. Odabasi Z, Mattiuzzi G, Estey E, Kantarjian H, Saeki F, Ridge RJ, et al. Beta-D-Glucan as a Diagnostic Adjunct for Invasive Fungal Infections: Validation, Cutoff Development, and Performance in Patients with Acute Myelogenous Leukemia and Myelodysplastic Syndrome. *Clin Infect Dis.* 2004; 39(2): 199-205.
57. Luis Ostrosky-Zeichner BDA. Multicenter Clinical Evaluation of the (1r3) b-d-Glucan Assay as an Aid to Diagnosis of Fungal Infections in Humans Luis. *Clin Infect Dis.* 2005; 41.
58. Koo S, Bryar JM, Page JH, Baden LR, Marty FM. Diagnostic Performance of the (1→3)-β-d-Glucan Assay for Invasive Fungal Disease. *Clin Infect Dis.* 2009; 49(11): 1650-1659.
59. Sulahian A, Porcher R, Bergeron A, Touratier S, Raffoux E, Menotti J, et al. Use and limits of (1-3)-β-D-glucan assay (fungitell), compared to galactomannan determination (platelia Aspergillus), for diagnosis of invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol.* 2014; 52(7): 2328-2333.
60. Marty FM, Koo S. Role of (1 → 3)-β-D-glucan in the diagnosis of invasive aspergillosis. *Med Mycol.* 2009; 47(SUPPL. 1): 233-240.
61. Obayashi T, Kawai T, Yoshida M, Mori T, Goto H, Yasuoka A, et al. Plasma (1→3)-β-D-glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. *Lancet.* 1995; 345(8941): 17-20.

62. Monique A. S. H. Mennink-Kersten, Dorien Ruegebrink and PEV. *Pseudomonas aeruginosa* as a Cause of 1,3-b-d-Glucan Assay Reactivity. *Clin Infect Dis.* 2008; 46(12): 1928-1930.
63. Pazos C, Pontón J, Del Palacio A. Contribution of (1→3)-β-D-glucan chromogenic assay to diagnosis and therapeutic monitoring of invasive aspergillosis in neutropenic adult patients: A comparison with serial screening for circulating galactomannan. *J Clin Microbiol.* 2005; 43(1): 299-305.
64. Costa C, Costa JM, Desterke C, Botterel F, Cordonnier C, Bretagne S. Real-time PCR coupled with automated DNA extraction and detection of galactomannan antigen in serum by enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol.* 2002; 40(6): 2224-2227.
65. Donnelly JP. Polymerase Chain Reaction for Diagnosing Invasive Aspergillosis: Getting Closer but Still a Ways to Go. *Clin Infect Dis.* 2006; 42(4): 487-489.
66. Loeffler J, Kloepfer K, Hebart H, Najvar L, Graybill JR, Kirkpatrick WR, et al. Polymerase Chain Reaction Detection of *Aspergillus* DNA in Experimental Models of Invasive Aspergillosis. *J Infect Dis.* 2002; 185(8): 1203-1206.
67. Raad I, Hanna H, Sumoza D, Albitar M. Polymerase chain reaction on blood for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in cancer patients. *Cancer.* 2002; 94(4): 1032-1036.
68. White PL, Wingard JR, Bretagne S, Löffler J, Patterson TF, Slavin MA, et al. *Aspergillus* Polymerase Chain Reaction: Systematic Review of Evidence for Clinical Use in Comparison with Antigen Testing. *Clin Infect Dis.* 2015; 61(8): 1293-1303.
69. Arvanitis M, Ziakas PD, Zacharioudakis IM, Zervou FN, Caliendo AM, Mylonakis E. PCR in diagnosis of invasive Aspergillosis: A Meta-Analysis of diagnostic performance. *J Clin Microbiol.* 2014; 52(10): 3731-3742.
70. Cruciani M, Mengoli C, Loeffler J, Donnelly P, Barnes R, Jones BL, et al. Polymerase chain reaction blood tests for the diagnosis of invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *Cochrane Database Syst Rev.*

2019 (1).

71. Arvanitis M, Anagnostou T, Mylonakis E. Galactomannan and Polymerase Chain Reaction-Based Screening for Invasive Aspergillosis among High-Risk Hematology Patients: A Diagnostic Meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2015; 61(8): 1263-1272.
72. Aguado JM, Vazquez L, Fernandez-Ruiz M, Villaescusa T, Ruiz-Camps I, Barba P, et al. Serum galactomannan versus a combination of galactomannan and polymerase chain reaction-based aspergillus DNA detection for early therapy of invasive aspergillosis in high-risk hematological patients: A randomized controlled trial. *Clin Infect Dis*. 2015; 60(3): 405-414.
73. Cornillet A, Camus C, Nimubona S, Gandemer V, Tattevin P, Belleguic C, et al. Comparison of Epidemiological, Clinical, and Biological Features of Invasive Aspergillosis in Neutropenic and Nonneutropenic Patients: A 6-Year Survey. *Clin Infect Dis*. 2006; 43(5): 577-584.
74. Blot SI, Taccone FS, Van Den Abeele AM, Bulpa P, Meersseman W, Brusselaers N, et al. A Clinical Algorithm to Diagnose Invasive Pulmonary Aspergillosis in Critically Ill Patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012; 186(1): 56-64.
75. Meersseman W, Lagrou K, Maertens J, Van Wijngaerden E. Invasive aspergillosis in the intensive care unit. *Clin Infect Dis*. 2007; 45(2): 205-216.
76. Bouza E, Guinea J, Peláez T, Pérez-Molina J, Alcalá L, Muñoz P. Workload due to *Aspergillus fumigatus* and significance of the organism in the microbiology laboratory of a general hospital. *J Clin Microbiol*. 2005; 43(5): 2075-2079.
77. Koehler P, Bassetti M, Chakrabarti A, Chen SCA, Colombo AL, Hoenigl M, et al. Defining and managing COVID-19-associated pulmonary aspergillosis: the 2020 ECMM/ISHAM consensus criteria for research and clinical guidance. *Lancet Infect Dis*. 2021; 3099(20).
78. Lai CC, Yu WL. COVID-19 associated with pulmonary aspergillosis: A literature review. *J Microbiol Immunol Infect [Internet]*. 2021;54(1):46-53.

<https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.09.004>

79. Salmanton-garcía J, Sprute R, Stemler J, Bartoletti M, Dupont D, Valerio M, et al. COVID-19-Associated Pulmonary Aspergillosis, March-August 2020. *Emerg Infect Dis.* 2021; 27(4).
80. Baddley JW, Andes DR, Marr KA, Kontoyiannis DP, Alexander D, Kauffman CA, et al. Factors Associated with Mortality in Transplant Patients with Invasive Aspergillosis. 2011; 50(12): 1559-1567.
81. Raoul Herbrecht, M.D., David W. Denning, F.R.C.P., Thomas F. Patterson Md. Voriconazole Versus Amphotericin B For Primary Therapy Of Invasive Aspergillosis. 2002; 347(6): 408-415.
82. Upton A, Kirby KA, Carpenter P, Boeckh M, Marr KA. Invasive Aspergillosis following Hematopoietic Cell Transplantation: Outcomes and Prognostic Factors Associated with Mortality. *Clin Infect Dis.* 2007; 44(4): 531-540.
83. Parody R, Martino R, Sánchez F, Subirá M, Hidalgo A, Sierra J. Predicting survival in adults with invasive aspergillosis during therapy for hematological malignancies or after hematopoietic stem cell transplantation: Single-center analysis and validation of the Seattle, French, and Strasbourg prognostic indexes. *Am J Hematol.* 2009; 84(9): 571-578.
84. Ribaud P, Chastang C, Latgé J, Baffroy-Lafitte L, Parquet N, Espéton ADH, et al. Survival and Prognostic Factors of Invasive Aspergillosis After Allogeneic Bone Marrow Transplantation. *Clin Infect Dis.* 1999; 28(2): 322-330.
85. Cordonnier C, Ribaud P, Herbrecht R, Milpied N, Valteau-Couanet D, Morgan C, et al. Prognostic Factors for Death Due to Invasive Aspergillosis after Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A 1-Year Retrospective Study of Consecutive Patients at French Transplantation Centers. *Clin Infect Dis.* 2006; 42(7): 955-963.
86. Pieter P. Lestrade , Robbert G. Bentvelsen AFADS. Voriconazole resistance and mortality in invasive aspergillosis.
87. Miceli MH, Graziutti ML, Woods G, Zhao W, Kocoglu MH, Barlogie B, et al. Strong Correlation between Serum Aspergillus Galactomannan Index and

Outcome of Aspergillosis in Patients with Hematological Cancer: Clinical and Research Implications. *Clin Infect Dis.* 2008; 46(9): 1412-1422.

88. Koo S, Bryar JM, Baden LR, Marty FM. Prognostic features of galactomannan antigenemia in galactomannan-positive invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol.* 2010; 48(4): 1255-1260.
89. Woods G, Miceli MH, Graziutti ML, Zhao W, Barlogie B, Anaissie E. Serum aspergillus galactomannan antigen values strongly correlate with outcome of invasive aspergillosis: A study of 56 patients with hematologic cancer. *Cancer.* 2007; 110(4): 830-834.
90. Nouér SA, Nucci M, Kumar NS, Graziutti M, Barlogie B, Anaissie E. Earlier response assessment in invasive aspergillosis based on the kinetics of serum aspergillus galactomannan: Proposal for a new definition. *Clin Infect Dis.* 2011; 53(7): 671-676.
91. Fisher CE, Stevens AM, Leisenring W, Pergam SA, Boeckh M, Hohl TM. The serum galactomannan index predicts mortality in hematopoietic stem cell transplant recipients with invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis.* 2013; 57(7): 1001-1004.