



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

11237

95
2ej

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION
SECRETARIA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA

COMPORTAMIENTO DE LA ASPERGILOSIS
NOSOCOMIAL EN NIÑOS ATENDIDOS EN UNA
INSTITUCION DE TERCER NIVEL DE ATENCION

TRABAJO DE INVESTIGACION
QUE PRESENTA:
DRA. ARSHELI ROJAS GARRIDO
PARA OBTENER EL DIPLOMA DE
ESPECIALISTA EN PEDIATRIA



INP

MEXICO, D. F.

1999

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

0278435



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

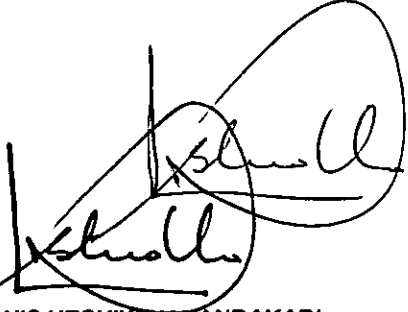
SIN

PAGINACION

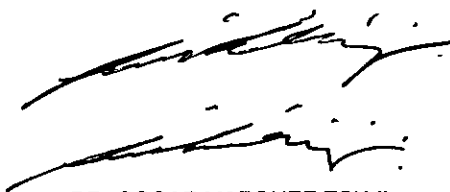
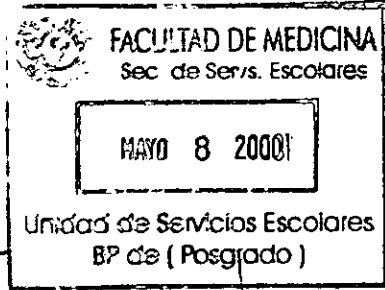
**COMPORTAMIENTO DE LA ASPERGILOSIS NOSOCOMIAL EN NIÑOS
ATENDIDOS EN UNA INSTITUCION DE TERCER NIVEL DE ATENCION**



DR. PEDRO A. SANCHEZ MARQUEZ
SUBDIRECTOR GENERAL DE ENSEÑANZA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO
DE PEDIATRIA



DR. LUIS HESHIKI NAKANDAKARI
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE
ENSEÑANZA DE PRE Y
POSGRADO



DR. OSCAR VAZQUEZ TSUJI
JEFE DEL DEPARTAMENTO
DE PARASITOLOGIA Y MICOLOGIA
TUTOR DE TESIS



DR. PEDRO GUTIERREZ CASTRELLON
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE
METODOLOGIA DE LA INVESTIGACION
TUTOR DE TESIS



COMPORTAMIENTO DE LA ASPERGILOSIS NOSOCOMIAL EN NIÑOS ATENDIDOS EN UNA INSTITUCION DE TERCER NIVEL DE ATENCION

* Dr. Oscar Vázquez Tsuji, ** Dr. Rogelio Paredes Aguilera, *** Dra. Arsheli Rojas Garrido, **** Dr. Leonardo Rivera, * Dra. Teresita Campos Rivera, ***** Dr. Pedro Gutiérrez Castellón.

* Servicio de Parasitología y Micología, ** Departamento de Hematología, *** Residente de Pediatría, **** Departamento de Metodología de la Investigación. Instituto Nacional de Pediatría, SSA, México.

RESUMEN

Diseño: Estudio observacional, comparativo, retrospectivo, longitudinal, de casos y testigos.

Objetivos: 1) Describir las características epidemiológicas de los niños con aspergilosis nosocomial, 2) Reportar las principales especies de *Aspergillus* aisladas en los pacientes afectados, 3) Determinar las principales especies de *Aspergillus* aisladas en los cubículos en donde se inició el brote, 4) Describir el comportamiento clínico y paraclínico de la enfermedad y 5) Identificar los factores de riesgo capaces de influir en la evolución inadecuada de la enfermedad, 6) Determinar la utilidad del examen directo y cultivo para el diagnóstico de aspergilosis, teniendo como estándar de oro al antígeno galactomanan.

Material y Métodos: Se incluyeron en el estudio niños con edad comprendida entre 1 día y 18 años con diagnóstico de aspergilosis nosocomial, hospitalizados en los diferentes Departamentos o Servicios del Instituto Nacional de Pediatría entre el 1ero. de octubre de 1997 y el 31 de julio de 1998, cualquier género, con diagnóstico de aspergilosis nosocomial y sintomáticos a la enfermedad. Se excluyeron niños con infecciones bacterianas o virales capaces de producir manifestaciones similares a las causadas por la enfermedad bajo estudio y/o con antecedentes de uso de medicamentos no específicos para la aspergilosis, capaces de modificar el curso clínico de la enfermedad o aquellos con falta en el expediente de las variables de interés en el estudio. De acuerdo a la evolución de los pacientes se clasificaron en dos grupos: 1) Pacientes con desarrollo de complicaciones severas (hemoptisis, diseminación sistémica, etc) o muerte, atribuidas a la infección por *Aspergillus* (Casos) y 2) Pacientes con aspergilosis nosocomial con evolución adecuada (sin desarrollo de complicaciones severas ni muerte) (Controles). Se efectuó reporte de los resultados obtenidos mediante media \pm desviación estándar y/o mediana (valor mínimo-máximo). Se realizó cálculo univariado de razón de momios así como cálculo de regresión logística múltiple. $P < 0.05$.

Resultados y conclusiones: No hubo diferencias epidemiológicas significativas en la población estudiada. El *Aspergillus flavus* fue el principal agente etiológico de la enfermedad en esta serie. Se encontraron como factores clínicos y estadísticamente significativos para predecir la evolución de la enfermedad la dosis de anfotericina utilizada, así como la coexistencia de aspergilosis con tuberculosis y/o sepsis. La mortalidad fue en la mayoría de los casos debida a choque séptico secundario a sepsis bacteriana. La detección de antígeno galactomanan mediante anticuerpos monoclonales fue encontrada como la prueba más útil para el diagnóstico de aspergilosis.

Palabras clave: *Aspergilosis, nosocomial, niños.*

ANTECEDENTES.

La aspergilosis representa un grupo heterogéneo de enfermedades producidas por hongos del género *Aspergillus*. La palabra *Aspergillus* se refiere al globo perforado usado para asperjar agua bendita durante las ceremonias religiosas ("Aspergus te"). Mitchell acuñó el nombre para estos hongos debido a la similitud de los órganos de reproducción de estos microorganismos con dicho instrumento. Posteriormente en 1909, Link describió varios tipos de *Aspergillus* que aisló de vegetación en descomposición. En 1856 Virchow publicó un estudio acerca de la enfermedad bronquial y pulmonar de cuatro casos de Aspergilosis, acompañado de una descripción exacta de los agentes etiológicos que permitieron realizar la identificación de *A. fumigatus*. (1). Pero fue hasta 1952, cuando la gran diversidad de cuadros producidos por las especies de *Aspergillus* empiezan a ser descritos (2). Actualmente se han descrito una gran cantidad de cuadros clínicos que incluyen manifestaciones de hipersensibilidad en el tracto respiratorio, colonización saprofítica de cavidades pulmonares, enfermedad pulmonar invasiva, sinusitis invasiva primaria e infección diseminada. Existen alrededor de 900 especies del hongo del género *Aspergillus*. Son los hongos más comunes en todos los ambientes. Se encuentran en el suelo y vegetación de todo el mundo, en desechos orgánicos, alimentos en descomposición, polvo de construcciones, ductos de aire, etc., (3). Sin embargo, son pocas las especies que se han aislado en casos de infecciones en el ser humano por el género *Aspergillus*. *Aspergillus fumigatus*, es en la mayoría de los casos, el causante de enfermedad. También se han asociado a patología alérgica otras especies como *A. flavus*, *A. deflexus*, *A. ochraceus* y otras.

◆ Manifestaciones clínicas

El espectro de las manifestaciones clínicas de la aspergilosis es sumamente complejo y representa todo un gran grupo de enfermedades que para su estudio se pueden considerar en categorías que permiten su caracterización (1).

I. *Aspergilosis pulmonar*. Incluye:

Aspergilosis alérgica: Alveolitis alérgica extrínseca, asma extrínseca y *aspergilosis broncopulmonar alérgica*.

Aspergilosis saprofítica: *Aspergiloma*

Aspergilosis invasiva pulmonar: Bronconeumonía, traqueobronquitis necrotizante, *aspergilosis crónica necrotizante complicada con extensión a estructuras intratorácicas, fistulizante y obstructiva de la vía aérea cavitaria*.

Aspergilosis diseminada.

Aspergilosis del sistema nervioso central.

Aspergilosis cutánea.

Aspergilosis sinusal: Sinusitis *aspergilar alérgica*, sinusitis invasora crónica. y *Aspergilosis invasiva sinusal*.

II. *Aspergilosis nosocomial*. Se define *aspergilosis nosocomial* a la infección por hongos del género *Aspergillus*, adquirida por un paciente previamente sin datos de infección micótica que inicia con manifestaciones a las 72 horas de encontrarse hospitalizado y que puede presentarse como:

Aspergilosis Broncopulmonar Alérgica: En esta forma clínica se presenta una respuesta alérgica sin invasión directa de la hifas del hongo a los tejidos, en esta entidad se presenta broncoespasmo mediado por una respuesta de IgE de hipersensibilidad inmediata, se presenta inflamación bronquial y peribronquial inducida por la formación de complejos inmunes. El espectro clínico de la presentación de este cuadro va a depender de la severidad de la enfermedad. Los episodios leves pueden confundirse con asma extrínseca y pueden remitir sin tratamiento. Los cuadros a menudo se presentan en pacientes con asma como infiltrados pulmonares evanescentes inexplicables, presencia de bronquiectasias y eosinofilia periférica. La sintomatología más común consiste en broncoespasmo con sibilancias, disnea y tos productiva (4). La hemoptisis se ha reportado en el 34 al 85 %, dolor pleurítico en el 50 % y fiebre en el 34 a 68 % de los casos, lo anterior se puede acompañar de hiporexia, malestar general y cefalea. Estos

pacientes presentan tos y expectoración de color café con tapones de moco con cristales de Charcot-Leyden, eosinófilos y *Aspergillus* sp. (5). El hongo puede alterar la calidad del moco bronquial, pudiendo impactar porciones de la vía respiratoria con distensión mecánica secundaria. El hallazgo de estos tapones se encuentra en el 10 % de los casos el cual puede ser el único signo de Aspergilosis broncopulmonar alérgica. Estas manifestaciones aunadas a eosinofilia, con pruebas positivas de hipersensibilidad cutánea a antígenos de *Aspergillus*, elevación total de IgG, IgE e IgM ante *Aspergillus* (6), confirman los criterios diagnósticos de la enfermedad.

Aspergilosis Pulmonar Invasiva: La aspergilosis invasiva se desarrolla principalmente en pacientes inmunocomprometidos, los factores predisponentes más comúnmente involucrados en niños son granulocitopenia, terapia con corticoesteroides, inmunodeficiencias cuantitativas tales como la enfermedad granulomatosa crónica. Entre los pacientes que reciben terapia con corticoesteroides se incluyen a los que cursan con enfermedades autoinmunes, trasplante de órganos sólidos, trasplante de médula ósea, linfoma y neoplasias cerebrales. La hipercortisolemia endógena como la del síndrome de Cushing, también predispone al desarrollo de Aspergilosis invasiva. La granulocitopenia es el factor de riesgo más importante encontrado en la aspergilosis invasiva, principalmente en paciente que reciben quimioterapia citotóxica intensiva en pacientes con leucemia, linfoma, trasplante de médula ósea, etc., (7). Recientemente se ha reconocido al síndrome de inmunodeficiencia adquirida en niños con aspergilosis invasiva. Algunos de estos pacientes no tienen antecedentes de haber recibido terapia con corticoesteroides ni de presentar granulocitopenia, lo que sugiere una alteración intrínseca en la actividad fungicida. Ocasionalmente la aspergilosis invasiva pulmonar se presenta como complicación de cirrosis hepática, tuberculosis miliar, psitacosis pulmonar, lupus eritematoso diseminado, poliarteritis nodosa y carcinoma hepatocelular (7). La aspergilosis pulmonar invasiva ha mostrado un incremento significativo como causa de morbilidad y mortalidad en pacientes con mielosupresión. La enfermedad se

puede presentar en pacientes severamente inmunocomprometidos o debilitados crónicamente con una mortalidad que va del 10 al 100 % (7 - 9). La sobrevida de estos pacientes va a depender del diagnóstico temprano y de la instauración temprana de medidas terapéuticas específicas. Las limitaciones para realizar el diagnóstico antemortem de la aspergilosis pulmonar invasiva son bien conocidas, los cultivos de esputo son positivos raramente en las etapas tempranas de la enfermedad, mientras que las pruebas serológicas para determinación de anticuerpos son poco confiables. Lo anterior puede ser subsanado con las técnicas de detección de antígeno fúngico (10 - 13). La radiografía de tórax es anormal en el 75 a 100 % de los pacientes en fases tempranas de la enfermedad. Las lesiones tempranas se presentan como nódulos únicos o múltiples. Las radiografías pueden mostrar uno de tres patrones en la aspergilosis pulmonar invasiva: 1.- Cavitación o existencia de nódulos; 2.- Progresión y crecimiento de nódulos pulmonares en un marco de consolidación pulmonar difusa bilateral; 3.- Desarrollo abrupto de grandes lesiones en la base pleural que semeja infarto pulmonar leve. Las manifestaciones radiológicas de la aspergilosis pulmonar invasiva incluyen bronconeumonía, consolidación lobar, neumonía segmentaria, nódulos cavitados y lesiones nodulares múltiples que semejan embolia séptica. La radiografía de tórax de pacientes neutropénicos puede evolucionar rápidamente con infiltrados pulmonares que causan opacificación de lóbulos completos (14). En la experiencia del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán los hallazgos radiológicos más frecuentemente encontrados en autopsias en donde el diagnóstico final fue de aspergilosis pulmonar invasiva son los siguientes (15): 1) Focos neumónicos múltiples 58.88%; 2) Condensación parahiliar 11.76%; 3) Atelectasia 11.76% y 4) Sin infiltrados 17.60%.

Aspergilosis sinusal: La sinusitis por *Aspergillus* tiene cuatro formas de presentación: 1) Sinusitis aspergilar alérgica: esta forma de presentación se observa en pacientes adultos jóvenes con historia de asma, atopia y poliposis nasal. Se manifiesta como un cuadro persistente de sinusitis recurrente no específico. El tratamiento es conservador mediante drenaje quirúrgico y resección

quirúrgica de los pólipos. En algunos pacientes se ha visto buena respuesta a los corticoesteroides (16). 2) Micetomas aspergiliares: éstos a menudo se encuentran confinados a las cavidades sinusales, son únicos y usualmente se encuentran en el antro maxilar provocando escasa inflamación, pero pueden cursar con invasión local. El pilar del tratamiento es la cirugía, a la que los pacientes responden excelentemente (17), 3) Sinusitis invasiva crónica: se observa en pacientes diabéticos, se manifiesta con una duración de meses o años, por lo general afecta senos maxilares y etmoidales, asociándose a inflamación crónica y algunas veces a invasión local (18). El tratamiento consiste en drenaje quirúrgico, debridación local y administración de anfotericina B. La aspergilosis sinusal invasiva con falla al tratamiento quirúrgico y postoperatorio con anfotericina B conlleva a una mortalidad prácticamente de todos los casos. En la literatura solo existe un caso reportado por Streppel y cols., con invasión a senos paranasales y región frontal basal que fue tratada con anfotericina B y remoción incompleta de la masa micótica sin la obtención de respuesta terapéutica con progresión del proceso invasivo, en el que se decidió usar terapia antimicótica combinada con anfotericina liposomal e itraconazol, obteniéndose 10 semanas después de iniciado el esquema, remisión completa clínica y radiológica. El paciente falleció 63 semanas después del tratamiento debido a proceso neumónico bacteriano fulminante. En el examen postmortem no se demostró aspergilosis en la base del cráneo, senos paranasales o pulmón (4, 19). Aspergilosis invasiva sinusal: esta forma clínica se encuentra predominantemente en paciente inmunocomprometidos. Los senos maxilares o etmoidales son los más comúnmente afectados. La enfermedad progresa con la formación de costras en la mucosa nasal o septum cartilaginoso, lo cual es a menudo asintomático. También se presenta destrucción de los cornetes inferiores y senos secundaria a la angioinvasión. La extensión a órbita y cerebro a menudo es un evento terminal. La diseminación a pulmones, hígado y bazo también puede presentarse (18). La osteomastoiditis aspergilar asociada con la destrucción de las células mastoideas secundaria a invasión por *Aspergillus* es secundaria a progresión de la infección a partir del oído medio. El dolor del oído es un hallazgo de presentación frecuente. Los lóbulos temporales pueden estar

involucrados secundariamente. El manejo incluye debridación agresiva, drenaje de los senos y administración de anfotericina B; la mortalidad es extremadamente elevada (18, 20). Patterson y cols., realizaron un monitoreo epidemiológico para la detección de aspergilosis nosocomial durante el período de construcción de un hospital mediante la prueba de detección de antígeno y cultivos. En dicho estudio se lograron identificar 24 casos a lo largo de un período de 12 meses. De estos casos, 7 fueron nosocomiales y 17 fueron adquiridos en la comunidad. Mediante el cultivo se identificaron solo 14 (58%) de 24 casos, mientras que con el antígeno para *Aspergillus* fueron positivos 19 de los 24 casos (79%). En este estudio se encontró una especificidad para la detección de antígeno del 98%, mientras que el cultivo tuvo una especificidad del 91% (21).

◆ **Histología de la Aspergilosis:**

En cuanto a la histopatología de la aspergilosis, Orr y cols. (22), describieron la lesión típica inicial de la aspergilosis pulmonar invasiva con la presencia de nódulos de 1 a 3 cm, o lesiones blancas compuestas de una zona gris amarilla central de tejido necrótico rodeada por un borde de hemorragia y una arteria trombosada en el borde de la lesión. Surgen por vía endobronquial con proliferación de hifas seguidas por invasión transbronquial de arteriolas pulmonares subyacentes con necrosis e isquemia de áreas pequeñas en el pulmón. Las lesiones blancas se presentan en las primeras 2 semanas del síndrome de aspergilosis pulmonar invasiva, evolucionando abruptamente a consolidación pulmonar bilateral difusa (con o sin cavitación) o menos comúnmente en forma de infiltrado pleural basal, con presencia de infarto hemorrágico de la arteria pulmonar principal. Sorprendentemente es una minoría de pacientes con aspergilosis pulmonar invasiva la que presenta signos y síntomas de infarto pulmonar agudo.

◆ **Diagnóstico de Laboratorio.**

La aspergilosis pulmonar invasiva y la aspergilosis diseminada son enfermedades difíciles de diagnosticar sin la realización de biopsia de tejidos. La prueba de

precipitación para *Aspergillus* mediante inmunodifusión en gel a menudo es positiva cuando existen títulos altos en la aspergilosis broncopulmonar alérgica y aspergiloma pulmonar. En la aspergilosis pulmonar invasiva generalmente no es detectable o se presenta positiva a títulos bajos. Las precipitinas en suero determinadas mediante contraelectroforesis, ELISA o hemaglutinación son positivas en el 70 a 80% de los pacientes con aspergilosis pulmonar invasiva. Por consiguiente, la especificidad y sensibilidad de una prueba aislada para la determinación de títulos de anticuerpo es relativamente bajo (1). La prueba de detección de antígeno galactomanan polisacárido en suero recientemente ha sido utilizada para el diagnóstico de la aspergilosis invasiva ya que esta prueba es capaz de detectar el antígeno a partir de 15 ng / ml. Más recientemente se ha implementado una prueba más sensible para detección de antígeno galactomanan, que es capaz de detectar el antígeno a partir de 1 ng / ml de suero. Este aumento en la sensibilidad desgraciadamente conlleva a un mayor número de falsas positivas, lo que no sucede con la prueba del antígeno a mayores concentraciones (11 - 13). El examen directo en fresco de expectoración es un recurso útil para el diagnóstico de la aspergilosis pulmonar invasiva, sin embargo, debe ser asociada a parámetros inmunológicos ya que puede haber colonización transitoria de la mucosa respiratoria por parte del hongo, especialmente en pacientes con bronquiectasias y cavernas tuberculosas persistentes (1, 4). En relación al cultivo de expectoración, se acepta por regla general que para establecer el diagnóstico de aspergilosis pulmonar se requiere por lo menos de tres muestras de cultivos positivos para una especie de *Aspergillus*, ya que los cultivos aislados pueden significar solamente contaminación. De igual manera, este parámetro deberá ser cotejado con pruebas inmunológicas en suero o bien mediante detección de antígeno específico (1, 23). El diagnóstico de laboratorio para el establecimiento de la entidad aspergilosis rinosinusal se basa en el hallazgo de hifas dicotomizadas septadas en las lesiones que se presentan en el septo nasal o cavidades sinusales, aunadas a cultivo positivo para especies de *Aspergillus*, en este caso no deberán aparecer en las muestras cristales de Charcot-Leyden ni eosinófilos así como tampoco antecedentes de atopia o

presencia de pólipos nasales ya que esto enmarcaría al cuadro como una aspergilosis alérgica (24, 25). El diagnóstico de los micetomas aspergilaes se basa en el hallazgo de hifas dicotomizadas en los aspirados sinusales con imágenes radiológicas o tomográficas que evidencian la presencia de una masa micótica dentro de las cavidades sinusales (18). El diagnóstico de aspergilosis cutánea se basa primero en el antecedente de parches adhesivos oclusivos en piel, vendas de látex y en pacientes con traumatismo cutáneo o quemaduras, en los cuales aparece una lesión de bordes eritematosos, de crecimiento lento y fiebre persistente, en estos casos se deberá tomar examen directo en fresco aclarado con hidróxido de potasio para buscar hifas dicotomizadas septadas, cultivo en medio de Sabouraud, biopsia y hemocultivo seriado para intentar el aislamiento del hongo a nivel sistémico, procurando realizar pruebas inmunológicas con detección de antígeno simultáneamente (26). En los casos en que se sospecha aspergilosis del sistema nervioso central por la coexistencia de focos en otras partes del cuerpo (pulmón, piel, etc.) deberá realizarse prueba de detección de antígeno en el líquido cefalorraquídeo, cultivo en medio de Sabouraud, detección de antígeno en suero y tomografía computarizada (13, 27). La sospecha de aspergilosis sistémica se fundamenta ante la presencia de un cuadro febril, respiratorio o bien ante la presencia de infiltrados inexplicables en la radiografía de tórax, en pacientes leucémicos bajo quimioterapia en los cuales se hallan descartado otras etiologías microbianas, fundamentalmente si el cuadro radiológico se caracteriza por la presencia de nódulos o imágenes de reforzamiento en abanico que sugieren diseminación del hongo a lo largo del árbol respiratorio, esta situación también se deberá sospechar en pacientes trasplantados de médula ósea o de órganos sólidos, debiéndose realizar inmediatamente detección de antígeno en suero, hemocultivo seriado para detección de hongos y aspirado bronquial para cultivo y examen directo en caso que lo amerite, pudiéndose realizar también prueba de inmunodifusión en gel y reacción de fijación del complemento para correlacionar el cuadro (7, 13 - 15). La aspergilosis broncopulmonar alérgica se presenta en pacientes con antecedentes de atopia, asma alérgica extrínseca, presencia de eosinofilia periférica, presencia

de eosinófilos en el moco bronquial con presencia de cristales de Charcot-Leyden, datos de hiperreactividad bronquial ante la presencia de los antígenos propios del hongo, así como pruebas cutáneas positivas de especies de *Aspergillus*. En este tipo de pacientes se pueden encontrar hallazgos radiológicos caracterizados por bronquiectasias y fibrosis intersticial de predominio basal. El diagnóstico se realiza mediante el hallazgo de IgE específica, prueba de reacción de antígeno negativa, prueba de precipitación en tubo capilar, ELISA positiva a títulos altos en las fases iniciales de los cuadros. La aspergilosis nosocomial (28) comprende prácticamente todo el grupo heterogéneo de cuadros de aspergilosis invasiva en pacientes inmunosuprimidos, especialmente en pacientes que se encuentra hospitalizados en áreas en remodelación, tanto en pacientes hematológicos y trasplantados. El pronto reconocimiento de esta situación es fundamental ya que la mortalidad de los brotes es extremadamente elevada. En estudios recientes se ha reportado que el rastreo de estos pacientes se puede llevar a cabo con 95 % de efectividad mediante la prueba de detección de antígeno galactomanan, prueba mediante la cual ya se han detectado brotes en algunos hospitales en Estados Unidos. Con anterioridad este rastreo se hacía mediante cultivos seriados de expectoración, considerándolos como positivos los que así se reportaban en 3 muestras seriadas. Los autores recomiendan que el rastreo epidemiológico en hospitales en remodelación se realice mediante la prueba de detección de antígeno galactomanan (21, 29)

◆ Tratamiento de la aspergilosis.

La anfotericina B a dosis altas de 1 a 1.5 mg/Kg/día es el tratamiento de elección para las formas invasivas, algunos autores han recomendado el uso concomitante con rifampicina o flucitosina, sin embargo, otros expertos piensan que no es benéfico para estos cuadros la asociación de dichos fármacos, inclusive, existen algunos reportes que han sugerido que la combinación de anfotericina B con imidazoles como el ketoconazol y el itraconazol pueden ser antagonistas (30) Sin embargo, existen reportes en donde se demuestra lo contrario, es decir, que la asociación de anfotericina B e itraconazol tienen efectos sinérgicos (28). Este

imidazol puede ser utilizado en aspergilosis invasiva siempre y cuando no se trate de formas meníngeas, las dosis recomendadas para este tipo de cuadros en el caso del itraconazol es de 10 mg/kg/día. La duración exacta del tratamiento en formas invasivas aún no ha sido determinada mediante estudios aleatorizados, por lo que fundamentalmente se han basado en parámetros como administración total, en el caso de los adultos para la anfotericina B de 2 a 2.5 g., mientras que en niños se ha manejado una dosis total acumulada de 30 mg. En la mayoría de las publicaciones el criterio predominante ha sido la respuesta clínica, la falta de desarrollo del hongo en medios de cultivo y la no positividad del antígeno en suero una vez que éste se ha negativizado, así como otros parámetros menos confiables como son la negativización de antígeno en suero. En los casos de aspergilosis pulmonar invasiva con áreas de necrosis y hemorragia se encuentra indicado el tratamiento quirúrgico para llevar a cabo la resección del área afectada asociado a terapia antimicótica, fundamentalmente cuando se acompañan de fenómenos tromboembólicos. En este tipo de pacientes la mortalidad es sumamente elevada llegando incluso a ser en algunas casuísticas hasta del 100%. En el caso de la sinusitis aspergilar se recomienda el tratamiento con anfotericina B, además de la resección quirúrgica de las áreas afectadas. La aspergilosis cutánea se maneja con anfotericina B sistémica y desbridación local de las áreas necróticas cutáneas. La aspergilosis broncopulmonar alérgica se maneja mediante corticoesteroides y antihistamínicos. En todos los casos de aspergilosis invasiva con fiebre persistente, se deberá descartar sepsis por gram negativos, ya que en la mayoría de las gentes estudiadas 1 de cada 10 puede presentar sepsis concomitante por klebsiella, pseudomona y otros microorganismos como cándida. De igual manera, se han reportado sucesiones de aspergilosis con tuberculosis miliar y psitacosis por lo que se deberá recordar la asociación de estos agentes como parte del protocolo diagnóstico para llevar a cabo una terapia efectiva.

◆ Estrategias de Prevención.

El aumento significativo de los reportes de brotes de aspergilosis nosocomial subraya la importancia del mantenimiento de ambientes libres de esporas de *Aspergillus* en pacientes con granulocitopenia severa. Por lo anterior, en algunos hospitales se han instalado ambientes protegidos, además de aumentarse la vigilancia epidemiológica durante periodos de construcción y remodelación. Otras medidas que se han implementado son erigir barreras entre las áreas de atención de los pacientes y sitios de construcción, reparación de sistemas de aire y ventilación defectuosos, así como, el reemplazo de filtros de aire contaminados. (31).

JUSTIFICACIÓN.

La aspergilosis representa una enfermedad con elevada tasa de morbilidad y mortalidad, especialmente en pacientes inmunocomprometidos. Si bien, existe una gran cantidad de reportes relacionados efectuados en población adulta, a nivel pediátrico, la información con que se cuenta es escasa. Por otro lado, resulta de gran interés evaluar la evolución clínica y paraclínica del padecimiento una vez que se ha instaurado el tratamiento, así como, identificar los factores de riesgo que originan una evolución inadecuada (muerte o complicaciones severas).

Aunado a lo anterior no existen reportes sistemáticos con adecuada metodología en la literatura nacional y los pocos que están reportados son casos aislados, generalmente material de autopsia.

◆ Estrategias de Prevención.

El aumento significativo de los reportes de brotes de aspergilosis nosocomial subraya la importancia del mantenimiento de ambientes libres de esporas de *Aspergillus* en pacientes con granulocitopenia severa. Por lo anterior, en algunos hospitales se han instalado ambientes protegidos, además de aumentarse la vigilancia epidemiológica durante periodos de construcción y remodelación. Otras medidas que se han implementado son erigir barreras entre las áreas de atención de los pacientes y sitios de construcción, reparación de sistemas de aire y ventilación defectuosos, así como, el reemplazo de filtros de aire contaminados. (31).

JUSTIFICACIÓN.

La aspergilosis representa una enfermedad con elevada tasa de morbilidad y mortalidad, especialmente en pacientes inmunocomprometidos. Si bien, existe una gran cantidad de reportes relacionados efectuados en población adulta, a nivel pediátrico, la información con que se cuenta es escasa. Por otro lado, resulta de gran interés evaluar la evolución clínica y paraclínica del padecimiento una vez que se ha instaurado el tratamiento, así como, identificar los factores de riesgo que originan una evolución inadecuada (muerte o complicaciones severas).

Aunado a lo anterior no existen reportes sistemáticos con adecuada metodología en la literatura nacional y los pocos que están reportados son casos aislados, generalmente material de autopsia.

OBJETIVO GENERAL.

Describir el comportamiento de la aspergilosis nosocomial en niños atendidos en una institución de 3er. nivel de atención.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Describir las características epidemiológicas de los niños con aspergilosis nosocomial.
2. Reportar las principales especies de *Aspergillus* aisladas en los pacientes afectados.
3. Determinar las principales especies de *Aspergillus* aisladas en los cubículos en donde se inició el brote.
4. Describir el comportamiento clínico y paraclínico de la enfermedad.
5. Identificar los factores de riesgo capaces de influir en la evolución inadecuada de la enfermedad.
6. Determinar la utilidad del examen directo y cultivo para el diagnóstico de aspergilosis, teniendo como estándar de oro al antígeno galactomanan.

HIPOTESIS.

1. El *aspergillus flavus*, *fumigatus* y *niger* son las tres principales especies que producen más del 60% de los casos de aspergilosis nosocomial.
2. La edad menor de 2 años, la desnutrición (Valor Z de peso/talla < - 2.0), la presencia de < 500 neutrófilos totales y la presencia de enfermedades crónicas constituyen factores de riesgo significativos para una evolución inadecuada de la enfermedad.
3. El examen directo posee una sensibilidad, especificidad y valores predictivos para el diagnóstico de la infección por *Aspergillus*, superior al 70%.

OBJETIVO GENERAL.

Describir el comportamiento de la aspergilosis nosocomial en niños atendidos en una institución de 3er. nivel de atención.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Describir las características epidemiológicas de los niños con aspergilosis nosocomial.
2. Reportar las principales especies de *Aspergillus* aisladas en los pacientes afectados.
3. Determinar las principales especies de *Aspergillus* aisladas en los cubículos en donde se inició el brote.
4. Describir el comportamiento clínico y paraclínico de la enfermedad.
5. Identificar los factores de riesgo capaces de influir en la evolución inadecuada de la enfermedad.
6. Determinar la utilidad del examen directo y cultivo para el diagnóstico de aspergilosis, teniendo como estándar de oro al antígeno galactomanan.

HIPOTESIS.

1. El *aspergillus flavus*, *fumigatus* y *niger* son las tres principales especies que producen más del 60% de los casos de aspergilosis nosocomial.
2. La edad menor de 2 años, la desnutrición (Valor Z de peso/talla $< - 2.0$), la presencia de < 500 neutrófilos totales y la presencia de enfermedades crónicas constituyen factores de riesgo significativos para una evolución inadecuada de la enfermedad.
3. El examen directo posee una sensibilidad, especificidad y valores predictivos para el diagnóstico de la infección por *Aspergillus*, superior al 70%.

CLASIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.

Estudio observacional, comparativo, retrospectivo, longitudinal, de casos y testigos.

MATERIAL Y MÉTODOS.

◆ Población objetivo:

Niños de 1 día a 18 años con diagnóstico de aspergilosis nosocomial hospitalizados en los diferentes Departamentos o Servicios del Instituto Nacional de Pediatría entre el 1ero. de octubre de 1997 y el 31 de diciembre de 1998.

◆ Criterios de Inclusión:

Edad de 1 día a 18 años

Cualquier género

Diagnóstico de aspergilosis nosocomial (Ver sección de antecedentes)

Pacientes sintomáticos a la enfermedad (Ver sección de antecedentes)

◆ Criterios de exclusión:

Infecciones bacterianas o virales capaces de producir manifestaciones similares a las producidas por la enfermedad bajo estudio.

Uso de medicamentos no específicos para la aspergilosis, que pueden modificar el curso clínico de la enfermedad.

Falta en el expediente de las variables de interés en el estudio.

◆ Material y métodos:

Se realizó un estudio retrospectivo de los pacientes hospitalizados en el Instituto Nacional de Pediatría entre el 1ero. de octubre de 1997 y el 31 de diciembre de 1998 que cursaron con aspergilosis nosocomial. De acuerdo a la evolución de los pacientes se clasificaron en dos grupos: 1) Pacientes con desarrollo de complicaciones severas (absceso cerebral, meningoencefalitis, choque séptico) o muerte, atribuidas a la infección por *Aspergillus* (Casos) y 2) Pacientes con aspergilosis nosocomial con evolución adecuada (sin desarrollo de complicaciones

CLASIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.

Estudio observacional, comparativo, retrospectivo, longitudinal, de casos y testigos.

MATERIAL Y MÉTODOS.

◆ Población objetivo:

Niños de 1 día a 18 años con diagnóstico de aspergilosis nosocomial hospitalizados en los diferentes Departamentos o Servicios del Instituto Nacional de Pediatría entre el 1ero. de octubre de 1997 y el 31 de diciembre de 1998.

◆ Criterios de Inclusión:

Edad de 1 día a 18 años

Cualquier género

Diagnóstico de aspergilosis nosocomial (Ver sección de antecedentes)

Pacientes sintomáticos a la enfermedad (Ver sección de antecedentes)

◆ Criterios de exclusión:

Infecciones bacterianas o virales capaces de producir manifestaciones similares a las producidas por la enfermedad bajo estudio.

Uso de medicamentos no específicos para la aspergilosis, que pueden modificar el curso clínico de la enfermedad.

Falta en el expediente de las variables de interés en el estudio.

◆ Material y métodos:

Se realizó un estudio retrospectivo de los pacientes hospitalizados en el Instituto Nacional de Pediatría entre el 1ero. de octubre de 1997 y el 31 de diciembre de 1998 que cursaron con aspergilosis nosocomial. De acuerdo a la evolución de los pacientes se clasificaron en dos grupos: 1) Pacientes con desarrollo de complicaciones severas (absceso cerebral, meningoencefalitis, choque séptico) o muerte, atribuidas a la infección por *Aspergillus* (Casos) y 2) Pacientes con aspergilosis nosocomial con evolución adecuada (sin desarrollo de complicaciones

severas ni muerte) (Controles). Una vez clasificados los pacientes en ambos grupos, se recolectó por parte de uno de los investigadores (quien estuvo totalmente cegado a que tipo de paciente se trataba) la información necesaria para dar respuesta a los objetivos planteados (variables de interés primario), la cual se capturó en formato de recolección de datos que fue diseñado especialmente para los objetivos del proyecto. Durante el periodo de estudio, se realizó muestreo de las salas del Servicio de Hematología (lugar donde se detectó el brote), efectuando cultivos en medio de Sabouraud, posterior a ello, se realizó la sanitización de dichas áreas con compuestos derivados de amonio cuaternario con toma de cultivos de control.

◆ Cálculo del tamaño muestral:

De acuerdo al estudio de Patterson y cols (21), quienes consideraron que 60% de los pacientes que fallecieron o presentaron evolución inadecuada tenían < 500 neutrófilos totales, mientras que sólo el 15% de los pacientes con evolución adecuada tenían esta característica, se estableció $p_1: .60$, $p_2: .15$, con P ponderada de .375 y Q ponderada de .625. Se consideró la fórmula para cálculo del tamaño muestral en estudio comparativo de proporciones:

$$n: [(2PQ) * (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2] / \delta^2 = 18 \text{ casos con } 18 \text{ controles}$$

◆ Variables de Interés en el estudio:

Variables epidemiológicas: Nombre, género, edad y condiciones de hacinamiento previas a su hospitalización.

Antecedentes personales no patológicos: Contacto con polvos, materiales de construcción, material orgánico en descomposición, jardines y habitaciones húmedas.

Antecedentes personales patológicos: Enfermedades inmunosupresoras, manejo con medicamentos inmunosupresores, sinusitis crónica bacteriana, sinusitis alérgica, presencia de bronquiectasias, preexistencia de cavemas tuberculosas, coexistencia o preexistencia de enfermedades que se asocian a aspergilosis tales como mucormicosis, tuberculosis miliar, psitacosis, sepsis por pseudomona, klebsiella y cándida.

Manifestaciones clínicas atribuibles a la Aspergilosis:

Estudios de laboratorio: Biometría hemática, además de los estudios específicos para el diagnóstico de la aspergilosis como son la prueba de detección de antígeno mediante la búsqueda de antígeno galactomanan en suero a partir de 15 ng/ml, cultivo en medio de Sabouraud en tubos inclinados, examen directo de secreciones y fluidos orgánicos aclarados con KOH, para la búsqueda de micelio del hongo y hemocultivos.

Estudios radiológicos: El expediente radiológico fue revisado realizándose la concentración de los principales datos radiológicos en las hojas de recolección destinadas para este fin.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO E INTERPRETACIÓN DE DATOS.

La información colectada en los formatos estructurados para los objetivos del estudio, se capturó en hoja de cálculo de Excel para Windows. Una vez efectuada la captura y limpieza de la base de datos, se efectuó análisis estadístico a través del paquete SPSS versión 8.0 para Windows en computadora personal Pentium II-Pro, disco duro de 2 Gigabytes. Se realizó cálculo de medidas de tendencia central y dispersión con determinación de promedios y desviaciones estándar para variables continuas y/o con distribución Gaussiana y de medianas, valores mínimos-máximos, así como porcentajes para variables categóricas o con distribución sesgada. Se efectuó cálculo de riesgo para los factores considerados modificadores de la evolución del padecimiento mediante razón de momios y

Antecedentes personales patológicos: Enfermedades inmunosupresoras, manejo con medicamentos inmunosupresores, sinusitis crónica bacteriana, sinusitis alérgica, presencia de bronquiectasias, preexistencia de cavernas tuberculosas, coexistencia o preexistencia de enfermedades que se asocian a aspergilosis tales como mucormicosis, tuberculosis miliar, psitacosis, sepsis por pseudomona, klebsiella y cándida.

Manifestaciones clínicas atribuibles a la Aspergilosis:

Estudios de laboratorio: Biometría hemática, además de los estudios específicos para el diagnóstico de la aspergilosis como son la prueba de detección de antígeno mediante la búsqueda de antígeno galactomanan en suero a partir de 15 ng/ml, cultivo en medio de Sabouraud en tubos inclinados, examen directo de secreciones y fluidos orgánicos aclarados con KOH, para la búsqueda de micelio del hongo y hemocultivos.

Estudios radiológicos: El expediente radiológico fue revisado realizándose la concentración de los principales datos radiológicos en las hojas de recolección destinadas para este fin.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO E INTERPRETACIÓN DE DATOS.

La información colectada en los formatos estructurados para los objetivos del estudio, se capturó en hoja de cálculo de Excell para Windows. Una vez efectuada la captura y limpieza de la base de datos, se efectuó análisis estadístico a través del paquete SPSS versión 8.0 para Windows en computadora personal Pentium II-Pro, disco duro de 2 Gigabytes. Se realizó cálculo de medidas de tendencia central y dispersión con determinación de promedios y desviaciones estándar para variables continuas y/o con distribución Gaussiana y de medianas, valores mínimos-máximos, así como porcentajes para variables categóricas o con distribución sesgada. Se efectuó cálculo de riesgo para los factores considerados modificadores de la evolución del padecimiento mediante razón de momios y

comparación de porcentajes a través de chi cuadrada. Los factores con significancia univariada se sometieron a análisis de riesgo multivariado mediante cálculo de regresión logística con nivel de significancia estadística < 0.05 .

ASPECTOS ETICOS.

Se trató de un estudio retrospectivo en el cual se tomaron aquellos pacientes con diagnóstico de aspergilosis nosocomial, por lo tanto no implicó ningún riesgo para el paciente, por lo que no hubo necesidad de someter el proyecto al comité de ética.

RESULTADOS.

Se incluyeron en el estudio 16 niños que reunieron los criterios de inclusión y exclusión señalados. 9 fueron del sexo masculino (56.3%) y 7 del femenino (43.8%). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en relación con la edad de ambos grupos de pacientes (niños 122 ± 62 vs niñas 127 ± 38 meses, $p 0.86$). El promedio de peso, talla e índices antropométricos para el total de la muestra se describe en la tabla 1.

Tabla 1. Índices antropométricos en niños con aspergilosis nosocomial

| Parámetro | $x \pm d.s.$ |
|-----------------------|-----------------|
| Peso (kg) | 30.5 ± 12.7 |
| Talla (cm) | 91.7 ± 66.9 |
| Valor Z de peso/talla | 6.5 ± 5.0 |
| Valor Z de talla/edad | -1.7 ± 1.46 |
| Valor Z de peso/edad | $-1.2 \pm .99$ |
| Porcentila de peso | 22.4 ± 22.0 |
| Porcentila de talla | 19.7 ± 26.0 |

Las principales causas que motivaron el ingreso hospitalario de estos niños fueron la neutropenia y fiebre y la administración de quimioterapia (18.8 % en ambos casos) (Ver tabla 2).

comparación de porcentajes a través de chi cuadrada. Los factores con significancia univariada se sometieron a análisis de riesgo multivariado mediante cálculo de regresión logística con nivel de significancia estadística < 0.05.

ASPECTOS ETICOS.

Se trató de un estudio retrospectivo en el cual se tomaron aquellos pacientes con diagnóstico de aspergilosis nosocomial, por lo tanto no implicó ningún riesgo para el paciente, por lo que no hubo necesidad de someter el proyecto al comité de ética.

RESULTADOS.

Se incluyeron en el estudio 16 niños que reunieron los criterios de inclusión y exclusión señalados. 9 fueron del sexo masculino (56.3%) y 7 del femenino (43.8%). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en relación con la edad de ambos grupos de pacientes (niños 122 ± 62 vs niñas 127 ± 38 meses, p 0.86). El promedio de peso, talla e índices antropométricos para el total de la muestra se describe en la tabla 1.

Tabla 1. Índices antropométricos en niños con aspergilosis nosocomial

| Parámetro | $x \pm d.s.$ |
|-----------------------|-----------------|
| Peso (kg) | 30.5 ± 12.7 |
| Talla (cm) | 91.7 ± 66.9 |
| Valor Z de peso/talla | 6.5 ± 5.0 |
| Valor Z de talla/edad | -1.7 ± 1.46 |
| Valor Z de peso/edad | $-1.2 \pm .99$ |
| Porcentila de peso | 22.4 ± 22.0 |
| Porcentila de talla | 19.7 ± 26.0 |

Las principales causas que motivaron el ingreso hospitalario de estos niños fueron la neutropenia y fiebre y la administración de quimioterapia (18.8 % en ambos casos) (Ver tabla 2).

Tabla 2. Causa de ingreso en niños con aspergilosis nosocomial

| Causa de Ingreso | (%) |
|----------------------------------|------------|
| Neutropenia y fiebre | 18.8 |
| Administración de quimioterapia | 18.8 |
| Abordeje diagnóstico | 18.8 |
| Artritis | 6.3 |
| Trasplante renal | 6.3 |
| Dolor abdominal | 6.3 |
| Desequilibrio hidroelectrolítico | 6.3 |
| Lisis tumoral | 6.3 |
| Varicela | 6.3 |
| Colitis neutropénica | 6.3 |

El intervalo de tiempo entre el ingreso hospitalario y el establecimiento del diagnóstico fue en promedio de 27 ± 22 días (Md 18, Min 4 días, Máx 45 días). Los principales servicios ó departamentos a los que ingresaron los pacientes fueron Hematología (50%), unidad de cuidados intensivos (18.8%), infectología y oncología (12.5% cada uno) y nefrología (6.3%). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el tiempo transcurrido entre la hospitalización y el diagnóstico de acuerdo a los servicios referidos (Tabla 3).

Tabla 3. Intervalo entre el ingreso y el diagnóstico de acuerdo al área de hospitalización

| Area de hospitalización | Intervalo de tiempo entre el ingreso y el diagnóstico (días) $x \pm$ d.s. |
|--------------------------------|---|
| Oncología | 48.5 ± 37.5 |
| Unidad de Cuidados Críticos | 33.0 ± 18.0 |
| Infectología | 24.0 ± 22.6 |
| Nefrología | 23.0 ± 0.0 |
| Hematología | 21.0 ± 22.2 |

X^2 2.9, 4 g.l., p Kruskal Wallis 0.56

En relación con la enfermedad de base, el 50% de los pacientes presentaron leucemia aguda linfoblástica, 18.8% leucemia aguda no linfoblástica o rabdomiosarcoma, 6.3 % hepatocarcinoma o linfoma de Burkitt.

En cuanto a las enfermedades asociadas en estos pacientes al momento del diagnóstico de aspergilosis, se identificó a un 12.5% de pacientes con tuberculosis miliar, 6.3% con sepsis por klebsiella, 6.3% con sepsis por cándida y 43.8 % con sepsis sin germen aislado.

De los casos estudiados, 7 correspondieron a aspergilosis pulmonar (43.75%), 6 a formas sinusales (37.50%), un caso a aspergilosis sistémica (6.25%) y dos casos a formas mixtas (sinusal y pulmonar) (12.50%).

Se correlacionaron las manifestaciones clínicas de acuerdo a las diferentes formas identificadas de aspergilosis, en un intento de identificar datos clínicos sugestivos de las mismas (Tabla 4).

Tabla 4. Manifestaciones clínicas de acuerdo al tipo de aspergilosis

| Manifestación Clínica | Aspergilosis Pulmonar (%) | Aspergilosis Sinusal (%) | Aspergilosis Sistémica (%) | Aspergilosis Mixta (%) | P |
|-----------------------------------|---------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------------|-----|
| Fiebre | 85.7 | 85.7 | 100.0 | 100.0 | .95 |
| Cefalea | 0.0 | 14.3 | 0.0 | 0.0 | .71 |
| Descarga retranasal | 14.3 | 28.6 | 100.0 | 100.0 | .14 |
| Alteraciones de los Cornetes | 14.3 | 14.3 | 0.0 | 0.0 | .95 |
| Úlceras nasales | 14.3 | 42.9 | 0.0 | 0.0 | .51 |
| Lesiones palatinas | 14.3 | 0.0 | 100.0 | 0.0 | .04 |
| Accesos tusígenos | 85.7 | 42.8 | 14.3 | 0.0 | .17 |
| Hemoptisis | 14.3 | 0.0 | 0.0 | 100.0 | .04 |
| Disnea | 71.4 | 0.0 | 100.0 | 100.0 | .01 |
| Cianosis | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 100.0 | .01 |
| Broncoespasmo | 14.3 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | .71 |
| Crisis convulsivas | 0.0 | 0.0 | 100.0 | 0.0 | .01 |
| Alteraciones del estado de alerta | 0.0 | 0.0 | 100.0 | 0.0 | .01 |
| Focalización | 0.0 | 0.0 | 100.0 | 0.0 | .01 |
| Afección visceral | 0.0 | 0.0 | 100.0 | 0.0 | .01 |

Se identificaron 5 pacientes con *Aspergillus flavus* (31.5 %) y 3 pacientes con *Aspergillus fumigatus* y *niger* (18.7). En 8 pacientes no fue posible identificar el tipo de *Aspergillus*, debido a falta de cultivo. Se efectuó una correlación entre los datos clínicos descritos y el tipo de hongo identificado sin encontrar algún síntoma significativo para la detección del tipo de hongo. Igualmente se efectuó análisis de asociación entre el tipo de hongo y el tipo de aspergilosis, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas (Tabla 5).

Tabla 5. Asociación entre el tipo de hongo y cuadro clínico

| Tipo de Hongo | Aspergilosis pulmonar (%) | Aspergilosis sinusal (%) | Aspergilosis sistémica (%) | Aspergilosis mixta (%) |
|-------------------------------------|---------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------------|
| A. flavus | 57.1 | 16.7 | 0.0 | 0.0 |
| A. fumigatus + A. Flavus + A. niger | 14.3 | 33.3 | 0.0 | 0.0 |
| No identificado | 28.6 | 50.0 | 100.0 | 100.0 |

χ^2 1.7, 6 g.l., p .18

La mediana de hemoglobina del total de la muestra fue de 10.3 g/dl (Min-Máx 5.7 a 13.9 gr/dl), la mediana de leucocitos fue de $2,500 \times 10^6$ (Min-Máx de 500 a $66,800 \times 10^6$) y la mediana de neutrófilos fue de 674 (Min-Máx de 0 a $3,990 \times 10^6$). Desde el punto de vista radiológico 7 pacientes presentaron radiografía de tórax con patrón intersticial (43.8%), 3 con patrón de neumonía basal (18.8%), 1 con neumonía del lóbulo medio (6.3%), 2 con neumonía apical (12.5%), 2 con patrón bronconeumónico (12.5%), 3 con edema agudo pulmonar (18.8%) y 1 compatible con neumonía de focos múltiples (6.3%).

A nivel terapéutico 15 pacientes (93.8%) recibieron anfotericina con una dosis media total de 38 mg/Kg (Min-Máx 5 a 81 mg/Kg), 2 pacientes (12.5%) recibieron fluconazol y 5 pacientes (31.3%) recibieron itraconazol con una dosis media de 8 mg/Kg (Min-Max 6.5 a 10 mg/Kg) y con una mediana de duración de 30 días (Min-Máx 21 a 41 días).

En cuanto a la evolución, del total de pacientes 9 (56.3%) evolucionaron satisfactoriamente y se egresaron por mejoría; 6 fallecieron (37.5%) y 1 paciente (6.3%) se egresó con secuelas relacionadas con la enfermedad. Las causas de muerte en los 6 pacientes fueron por choque séptico secundario a sepsis bacteriana asociada a la aspergilosis en 4 de los casos y hemoptisis en 2 de ellos.

En un intento de establecer factores pronósticos en la evolución de los pacientes, se analizaron la edad al momento del diagnóstico, el estado nutricional, la cuenta de leucocitos y neutrófilos, la dosis de anfotericina utilizada, la coexistencia de otras enfermedades (tuberculosis, sepsis por *Klebsiella*, sepsis por *Candida* o sepsis sin germen identificado), encontrando que la dosis de anfotericina utilizada, así como la coexistencia de tuberculosis miliar y/o sepsis fueron factores clínicos y estadísticamente significativos para predecir la evolución de los pacientes (Tabla 6)

Tabla 6. Análisis de factores pronósticos en la evolución de niños con aspergilosis nosocomial

| Factor | Alta sin secuelas N=9 | Alta con secuelas N=1 | Muerte N=6 | P |
|---|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------|----------|
| Edad (meses) | 106 ± 54 | 151 ± 0.0 | 147 ± 44 | .31 |
| Porcentila de peso | 24.0 ± 20.4 | 3.0 ± 0.0 | 27.3 ± 11.1 | .52 |
| Porcentila de talla | 18.4 ± 26.1 | 3.0 ± 0.0 | 26.2 ± 32.5 | .30 |
| Leucocitos totales (10⁶) | 11.9 ± 2.2 | 8.2 ± 0.0 | 2.2 ± 1.1 | .41 |
| Neutrófilos totales (10⁶) | 1.6 ± 1.5 | .51 ± 0.0 | 1.1 ± .90 | .65 |
| Dosis de anfot. (mg/Kg) | 51.6±20.5 | 33.5±0.0 | 28.2±13.9 | .08 |
| Tuberculosis miliar (%) | 0.0 | 100.0 | 16.7 | .01 |
| Sepsis/klebsiella (%) | 0.0 | 0.0 | 100.0 | .01 |
| Sepsis por <i>Candida</i> (%) | 0.0 | 0.0 | 16.7 | .41 |
| Sepsis sin germen (%) | 28.6 | 0.0 | 83.3 | .04 |

Los resultados obtenidos de los muestreos realizados para el aislamiento de los hongos mediante cultivo en Sabouraud en 4 salas del Servicio de Hematología antes y después de sanitizar con compuestos de amonio cuaternario se indican en las tablas 7 y 8.

Tabla 7. Aislamiento de hongos previo a la sanitización

| HONGO AISLADO | NUMERO DE SALA |
|-----------------------|----------------|
| Aspergillus fumigatus | I |
| Aspergillusfumigatus | I |
| Penicillium sp. | I |
| Penicillium sp. | I |
| Desarrollo bacteriano | I |
| Desarrollo bacteriano | II |
| Desarrollo bacteriano | II |
| Penicillium | II |
| Rhizopus sp. | II |
| Penicillium sp. | II |
| Aspergillus flavus | III |
| Desarrollo bacteriano | III |
| Desarrollo bacteriano | III |
| Desarrollo bacteriano | III |
| Aspergillus niger | III |
| Penicillium sp. | III |
| Desarrollo bacteriano | IV |
| Mucor sp. | IV |
| Micelia sterilia | IV |
| Aspergillus niger | IV |
| Monilia sp. | IV |
| Rhizopus sp. | IV |
| Aspergillus fumigatus | IV |
| Micelia sterilia | IV |
| Aspergillus niger | IV |
| Rhizopus sp. | IV |

Tabla 8. Aislamiento de hongos posterior a la sanitización

| HONGO AISLADO | NUMERO DE SALA |
|-----------------------|----------------|
| Negativo | I |
| Negativo | I |
| Negativo | I |
| Negativo | II |
| Negativo | II |
| Negativo. | II |
| Negativo | III |
| Negativo | III |
| Desarrollo bacteriano | III |
| Negativo | IV |
| Negativo. | IV |
| Desarrollo bacteriano | IV |

Se realizó aislamiento de 20 hongos contaminantes en cuatro áreas hospitalarias que incluyeron *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Monilia* y *Micelia*. Posterior a la sanitización no se aisló ningún tipo de hongo en los diferentes puntos de muestreo de cada cubículo, solamente se reportó desarrollo bacteriano en los cultivos de control, como resultado un 100% de efectividad en áreas hospitalarias que requieren bajo índice de hongos contaminantes.

En cuanto a la utilidad del cultivo para el diagnóstico de aspergilosis y teniendo en cuenta como estándar de oro a la determinación del antígeno galactomanan, se encontró una sensibilidad de 0.54, una especificidad de 0.97, un valor predictivo positivo de 0.78 y negativo de 0.91.

La utilidad del examen directo para el diagnóstico de aspergilosis presentó una sensibilidad de 0.31, una especificidad de 1.0, un valor predictivo positivo de 1.0 y negativo de 0.87.

Durante el periodo de estudio del brote se diagnosticaron tres casos más de aspergilosis nosocomial mediante autopsia, los cuales no fueron incluidos en esta serie por no contar con información clínica ni paraclínica.

DISCUSION.

Aunque en la literatura se refiere que el hongo más frecuentemente involucrado en los casos de aspergilosis es el *A. fumigatus* (1,7), en esta serie se encontró como el agente causal más frecuente al *A. flavus*. Cabe mencionar que en varios pacientes se encontró en el cultivo más de una especie de *Aspergillus*, asociándose *A. flavus* con *A. niger* y con *A. fumigatus*. Lo anterior abre la posibilidad de que puedan existir infecciones mixtas por especies de *Aspergillus*, por lo que se requiere realizar estudios dirigidos para confirmar este hallazgo.

La leucemia se encontró como la principal enfermedad de base asociada a los cuadros de aspergilosis, sin embargo, debe considerarse que es la neoplasia más frecuente en edad pediátrica y que por sus características obliga al uso de drogas inmunosupresoras.

A diferencia de lo reportado por otros autores (28), en nuestro grupo de estudio no encontramos diferencias significativas en la cifra de neutrófilos totales entre los pacientes que fallecieron y los que sobrevivieron que permita catalogar a este parámetro como factor pronóstico, sin embargo, se requiere de una muestra mayor para poder confirmar estos hallazgos ya que se encontró un intervalo de confianza muy amplio (0.13601-16.54230).

Aunque el patrón radiológico más frecuentemente encontrado al realizar el diagnóstico de aspergilosis fue el intersticial seguido por el neumónico, debe considerarse que el patrón radiológico en cada paciente es evolutivo, pudiéndose manifestar también como neumonía de focos múltiples, infiltrados macronodulares, patrón mixto micro y macronodular, entre otros (2,14,15,22), dependiendo de la fase en que se encuentre la enfermedad, y es indiferenciable de los cuadros radiológicos que se presentan en otras micosis sistémicas.

En relación a la utilidad del antígeno galactomanan, examen directo y cultivo, se observó que el cultivo en comparación con la detección de antígeno es de poca utilidad para el diagnóstico de aspergilosis. Esto se puede explicar por el hecho de que el hongo es uno de los principales contaminantes en muestras inertes y orgánicas, por lo que su aislamiento en cultivo, incluso repetidamente, no indica necesariamente infección y puede ser causado por contaminación o colonización

saprobia. (1,7) Sin embargo, a pesar de que la utilidad del cultivo no puede circunscribirse al diagnóstico, es de valor para realizar el diagnóstico de la especie involucrada y posteriormente para realizar el seguimiento de la respuesta al tratamiento, ya que la detección de antígeno no es un método idóneo para este fin, debido a que los niveles de antigenemia detectados por la prueba deben ser de 15 ng/ml y una vez iniciado el tratamiento antimicótico estos niveles descienden a partir de las 72 hrs., no siendo valorables niveles más bajos a pesar de que el hongo aún continúe en los tejidos (21, 29).

En cuanto al examen directo, se observó que es de gran utilidad y que correlaciona paralelamente con la detección de antígeno, por lo que recomendamos emplearse en forma conjunta durante la detección de casos.

La detección de antígeno, consideramos, debe ser el estándar de oro para el diagnóstico de la aspergilosis, ya que la detección de antígeno galactomanan mediante anticuerpos monoclonales es específico para especies de *Aspergillus* y no es producido por el humano. (10-11, 21, 29, 32-33). En relación a falsas positivas o reacciones cruzadas, no existe actualmente información en la literatura revisada. Cabe mencionar que hemos podido observar solamente una vez una reacción cruzada con el antígeno y fue en un paciente con síndrome de Morquio tipo A, en el que la carencia de N-acetil galactosamina-6 sulfato-sulfatasa inhibe la degradación de galactosa 6 sulfato, e hipotéticamente los metabolitos intermedios por la semejanza con la poligalactosamina del hongo crucen con el anticuerpo monoclonal, lo cuál es en este momento motivo de investigación.

No se ha establecido una dosis media de anfotericina para el tratamiento de pacientes con aspergilosis nosocomial (28, 30). En esta serie se encontró que en los pacientes que lograron recibir dosis acumuladas de anfotericina mayores de 38 mg/Kg la sobrevida se incrementó. Cabe aclarar, que los pacientes que recibieron dosis bajas de anfotericina B fue debido a que ingresaron al hospital con grave deterioro y que fallecieron en los primeros días aún con la administración del antimicótico.

La mortalidad observada en esta serie fue menor a la publicada por otros autores. (7, 18). Lo anterior se puede explicar debido a que en cuanto se detectó el brote,

se inició un rastreo epidemiológico mediante detección de antígeno monoclonal para *Aspergillus* en suero de todos los pacientes con factores de riesgo que se encontraban hospitalizados durante el mismo, diagnosticándose y tratándose los casos subsecuentes en forma oportuna.

Hay que considerar que durante periodos de construcción y/o remodelación en hospitales, es necesario tomar medidas para la prevención de brotes nosocomiales. La implementación de medidas de control es un mecanismo eficiente para reducir la contaminación micótica ambiental en áreas hospitalarias de alto riesgo para la adquisición de aspergilosis, tales como unidades de trasplante de médula ósea, hematología y oncología. Es importante que los comités de infecciones nosocomiales diseñen estrategias de prevención para la adquisición de aspergilosis nosocomial en conjunto con especialistas de las áreas involucradas, micólogos y la esfera administrativa de las instituciones de tercer nivel que manejan a este tipo de pacientes. Lo anterior redundará en una disminución de la morbilidad y mortalidad, así como en la reducción día estancia hospitalaria y en el costo por concepto de medicamentos. Por otra parte, la detección temprana de casos de aspergilosis también debe ser considerada dentro de las estrategias de prevención, porque esto aumenta la probabilidad de que una fuente ambiental de diseminación de *Aspergillus* pueda ser identificada dentro del hospital.

CONCLUSIONES.

1. No hay diferencias estadísticamente significativas en relación con el sexo y la edad en los pacientes con aspergilosis nosocomial.
2. Los estados de inmunosupresión son los principales factores de riesgo para el desarrollo de la enfermedad.
3. El *Aspergillus flavus* es el principal agente causal de la enfermedad en esta serie.
4. La aspergilosis pulmonar es el cuadro clínico más frecuente, seguido del sinusal, en los pacientes con aspergilosis nosocomial.

se inició un rastreo epidemiológico mediante detección de antígeno monoclonal para *Aspergillus* en suero de todos los pacientes con factores de riesgo que se encontraban hospitalizados durante el mismo, diagnosticándose y tratándose los casos subsecuentes en forma oportuna.

Hay que considerar que durante periodos de construcción y/o remodelación en hospitales, es necesario tomar medidas para la prevención de brotes nosocomiales. La implementación de medidas de control es un mecanismo eficiente para reducir la contaminación micótica ambiental en áreas hospitalarias de alto riesgo para la adquisición de aspergilosis, tales como unidades de trasplante de médula ósea, hematología y oncología. Es importante que los comités de infecciones nosocomiales diseñen estrategias de prevención para la adquisición de aspergilosis nosocomial en conjunto con especialistas de las áreas involucradas, micólogos y la esfera administrativa de las instituciones de tercer nivel que manejan a este tipo de pacientes. Lo anterior redundará en una disminución de la morbilidad y mortalidad, así como en la reducción día estancia hospitalaria y en el costo por concepto de medicamentos. Por otra parte, la detección temprana de casos de aspergilosis también debe ser considerada dentro de las estrategias de prevención, porque esto aumenta la probabilidad de que una fuente ambiental de diseminación de *Aspergillus* pueda ser identificada dentro del hospital.

CONCLUSIONES.

1. No hay diferencias estadísticamente significativas en relación con el sexo y la edad en los pacientes con aspergilosis nosocomial.
2. Los estados de inmunosupresión son los principales factores de riesgo para el desarrollo de la enfermedad.
3. El *Aspergillus flavus* es el principal agente causal de la enfermedad en esta serie.
4. La aspergilosis pulmonar es el cuadro clínico más frecuente, seguido del sinusal, en los pacientes con aspergilosis nosocomial.

5. No existe correlación estadísticamente significativa entre el tipo de hongo aislado y el cuadro clínico identificado en este brote.
6. Manifestaciones clínicas a nivel del sistema nervioso central, tales como, crisis convulsivas, alteraciones del estado de alerta y focalización, así como datos clínicos y de gabinete de afectación visceral, son factores estadísticamente significativos para sospechar aspergilosis sistémica en pacientes con aspergilosis nosocomial.
7. El patrón radiológico más frecuentemente encontrado en nuestros pacientes al momento del diagnóstico fue el intersticial.
8. La mortalidad en los pacientes con aspergilosis nosocomial es en la mayoría de los casos debida a choque séptico secundario a sepsis bacteriana asociada.
9. La hemoptisis es una causa de muerte directamente atribuible a la aspergilosis que se presenta en un bajo porcentaje de los casos.
10. La edad al momento del diagnóstico, el estado nutricional, la cuenta de leucocitos y neutrófilos, no se encontraron como factores pronósticos en la evolución del padecimiento.
11. La dosis de anfotericina utilizada, así como la coexistencia de tuberculosis y/o sepsis, son factores clínica y estadísticamente significativos para predecir la evolución de los pacientes.
12. La detección de antígeno galactomanan mediante anticuerpos monoclonales para *Aspergillus* es la prueba más útil de laboratorio para realizar el diagnóstico de aspergilosis.
13. El cultivo de *Aspergillus* es de utilidad para identificar la especie de hongo involucrado y se propone para realizar el seguimiento terapéutico del paciente.
14. Los compuestos de amonio cuaternario aplicados sobre superficies inertes, son efectivos en la sanitización de áreas contaminadas por especies de *Aspergillus*.

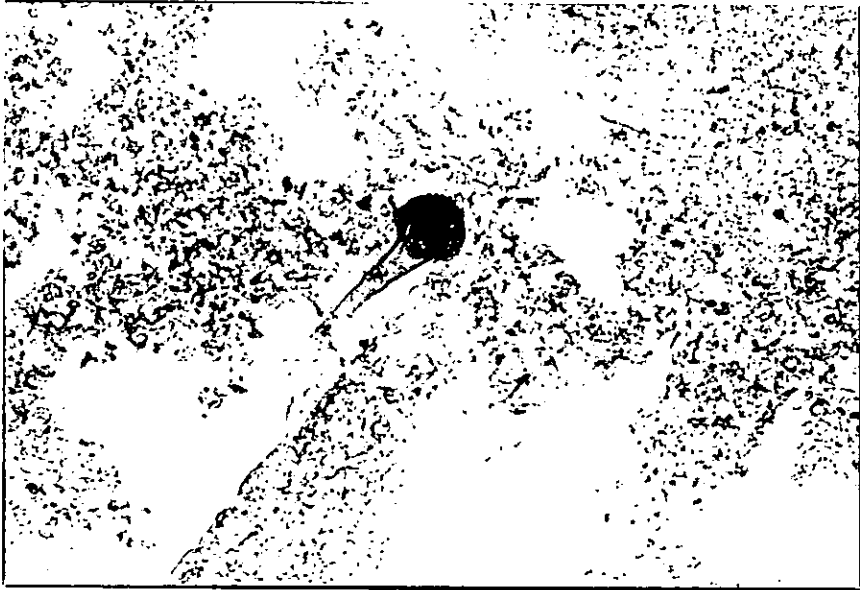


Figura 1. Cabeza aspergilar teñida con lugol en una muestra de aspirado de senos maxilares de un paciente con sinusitis aspergilar.

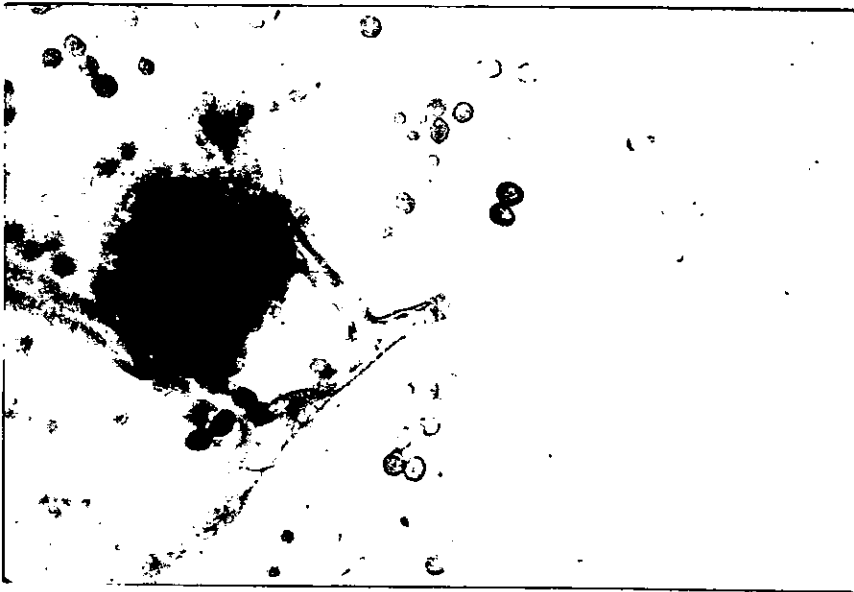


Figura 2. Fotomicrografía que muestra la presencia de micelio dicotomizado septado en un examen directo aclarado con KOH de un aspirado bronquial en un paciente con aspergilosis pulmonar necrotizante.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- 1.- Aspergilosis Rippon J. Tratado de Micología Médica. 3 Ed. 1990 Interamericana. Cap 23, 668 - 703
- 2.- Deve F, Une nouvelle forme anatomoradiologi de mycose pulmonaire primitive. Le méga-mycétome intrabronchetasique. Arch. Med. Chir. App. Respir, 1938; 13: 337 - 61
- 3.- Chupan DM, and Cazin J. Humoral responde to experimental petriellidosis. Infect. Immun., 1979; 24: 843 - 50
- 4.- Glimp RA, Bayer SA, Fungal Pneumonias. P. 3 Alergic Bronchopulmonary Aspergillosis. Chest. 1981; 80: 85 - 94
- 5.- Rosenberg M, Patterson R, Mintzer R, Clinical and Immunologic criteria for the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis. Ann. Intern. Med. 1977; 16: 405 - 14
- 6.- Patterson R, Fink JN, Pruzansky JJ, Serum immunoglobulin levels in pulmonary allergic aspergillosis and certain other lung diseases with special reference to immunoglobulin E. Am. J. Med. 1973; 54: 16 - 22
- 7.- Herbert AP, Bayer SA, Fungal pneumonia invasive pulmonary Aspergillosis. P4. Chest. 1981; 80: 220 - 5
- 8.- Adler-More J, Proffitt TR, Development, characterization, efficacy and mode of action of Am. Bisome, a unilamellar liposomal formulation of amphotericin B. J. Liposome Res. 1993; 3: 429 - 50
- 9.- Aherens J, Graybill RJ, Craven CP, Taylor LR, Tratment of experimental murine candidiasis withliposome associated amphotericin B. Sabuuraudia. 1984;22: 63-6.
- 10.- Verweij EP, Rijs MMJA, Depauw EB, Horrevorts MA, Hoogkamp-Korstanje AA J, Meis MGFJ, Clinical evaluation and reproducibility of the Pastorex Aspergillus antigen latex agglutination test for diagnosing invasive aspergillosis. J. Clin., Pathol. 1995; 48: 474 - 6
- 11.- Hopwood V, Johnson ME, Foot MBA, Evans VGE, Warnock WD, Use of the Pastorex aspergillus antigen latex agglutination test for the diagnosis of invasive aspergillosis J. Clin., Pathol. 1995; 48: 210 - 3

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 12.- Warnock WD, Foot MB, Johnson ME, Mitchel SB, Cornish MJ, Oakhill A. Aspergillus antigen latex test for diagnosis of invasive aspergillosis. *Lancet (letter)*. 1991; 338: 1023 - 4
- 13.- Röhrlich P, Sarfati J, Mariani P, Duval M, Carol A, Saint-Martin E, Bringen E, Latge JP, Vilmer E. Prospective sandwich enzyme-linked immuno sorbent assay for serum galactomanan : early predictive value and clinical use in invasive aspergillosis. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1996; 15: 232 -7
- 14.- Blum U, Windfuhr M, Buitrago Tellez C, Günther S. Eberhard WH, Langer M. Invasive pulmonary Aspergillosis. MRI, CT, and Plain Radiographic Findings and Fheir contribution for Early Diagnosis. *Chest* 1994; 106: 1156 - 61.
- 15.- Reyes GE, Doinguez Ch G, Acuña SR. Infección por aspergillus en el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán. Estudio de 17 casos de autopsia. *Rev. Invest. Clin. (Mex.)*. 1985; 37: 97 - 102
- 16.- Schlanger G, Lutwick LI, Kurzman M, Hoch B, Chandler FW, Sinusitis caused by Legionella pneumophila in a patient with the acquired immune deficiency syndrome. *Am. J. Med.* 1984; 77: 957 - 60
- 17.- Kotler DP, Scholes JV, Jacob AL, Edelheit W. Disseminated CMV infection (Letter). *JAMA*. 1985; 253: 3093 - 4
- 18.- Teh W, Matti SB, Marisiddaiah H, Minamoto GY. Aspergillus Sinusitis en Patients with AIDS: Report of Three cases and Review. *Clin. Infect. Dis.* 1995; 21: 529 - 35.
- 19.- Streppel M, Stennert F, Lackner KJ, Fckel HF, Hals-Nasen-Ohren GA, Medikamentöse Behand - lung der invasiven Aspergillose der Nasennchenh Ohlen. *Laryngorhinootologic.* 1997; 76: 19 - 22
- 20.- Hall PJ, Farnior JB. Aspergillus mastoiditis. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1993; 108: 167 - 70
- 21.- Patterson JF, Zidooh A, Minitier P, Andriole VT, Patterson TF, Hospital epidemiologic surveillance for invasive aspergillosis: patient demographics and the utility of antigen detection. *Infect Control Hosp. Epidemiol.* 1997; 18: 104 - 8
- 22.- Orr DP, Myerowitz RL, Dubois PJ. Patho radiologic correlation of invasive pulmonary aspergillosis en the compromised nost. *Cancer.* 1978; 41: 20 - 28

- 23.- Mc Carthy DS, Pepys J. Allergic broncopulmonary aspergillosis: Clinical immunology: clinical features. *Clin. Allerg.* 1971; 1: 261 - 86
- 24.- Rubin JS, Honigberg R. Sinusitis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Ear nose throat. J.* 1990; 69: 460 - 3
- 25.- Invasive Fungal Infections in Children Walsh TJ. *Advances in Pediatric Infections Diseases 1a.* Edición 1996, Edit. Mosby, pags. 209-216
- 26.- Schwartz DA, Jacquette M, Chawla HS: Disseminated neonatal aspergillosis: Report of a fatal case and analysis of risk factors. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1988; 349-53.
- 27.- Mrowka C, Heintz B, Weis J, Mayfrank L, Sieberth GH. Isolated Cerebral aspergilloma-long-term. Survival of a renal transplant recipient. *Clinical Nephrology.* 1997; 47: 394 - 6
- 28.- Walsh TJ, Pizzo PA: Nosocomial fungal infections. *Ann Rev. Microbio.* 1988; 517-45
- 29.- Von Fiff M, Roos N, Schulten R, Hesse M, Zuhlsdorf M, Van de Ioo J. Pulmonary aspergillosis: early diagnosis improves survival. *Respiration.* 1995; 62: 341 - 7
- 30.- Hughes CE, Harris C. In vitro activities of amphotericin B in combination with four antifungal agents and rifampin against *Aspergillus* spp. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1984; 25: 560 - 2
- 31.- Vázquez Tsuji O. Estrategias en la prevención de aspergilosis nosocomial. *Revista de Enfermedades Infecciosas en pediatría.* 1998; 46:1-2.
- 32.- Dupont B., Huber M., Kin S.J., and Bennett J. E. Galactomannan Antigenemia and Antigenuria in Aspergillosis: Studies in Patients and Experimentally infected Rabbits. *J. Infect. Dis.,* 1987;155:1-11.
- 33.- Goris A., Sarfati J., Diaquin M., Debeaupuis J.P., Moitaouakil M., Latge J.P. and Stynen D. Monoclonal antibodies against galactomannan: characterization and application in immunoelectron microscopy. Abstract n° 148 in: 4th European Congress of Clinical Microbiology, Nice 1988.