



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
HOSPITAL DE PEDIATRÍA "SILVESTRE FRENK FREUND"**

TESIS

**"DESEMPEÑO DE LA PRUEBA DE GALACTOMANANO PARA EL
DIAGNÓSTICO DE ASPERGILOSIS INVASIVA EN PACIENTES CON
INMUNOCOMPROMISO EN EL HOSPITAL DE PEDIATRÍA DE CMN SXXI"**

**PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN:
INFECTOLOGIA**

PRESENTA:

DRA. GENOVEVA RODRIGUEZ COELLO

TUTOR:

DR. JOSÉ GUILLERMO VÁZQUEZ ROSALES

COTUTOR Y ASESOR METODOLOGICO:

DRA. MA. GUADALUPE MIRANDA NOVALES

No. De Registro: R- 2013-3603-43



MEXICO, D.F.

FEBRERO 2014



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.

JURADO

Dr. José Guillermo Vázquez Rosales.

Presidente

Jefe de Servicio y Profesor Titular de la especialidad en Infectología Pediátrica.

Dra. Julia Rocío Herrera Márquez.

Secretario

División de Investigación en Salud

Dr. Daniel Octavio Pacheco Rosas.

Sinodal. Médico adscrito al servicio de Infectología Pediátrica.

Dra. Gloria Huerta García.

Sinodal. Médico adscrito al servicio de Infectología Pediátrica.

Dr. Eric Moisés Flores Ruiz.

Sinodal. Médico adscrito al servicio de Infectología Pediátrica

Dra. Ma. Guadalupe Miranda Novales.

Cotutor. Unidad de Investigación Médica en Epidemiología Hospitalaria

INDICE

RESUMEN ESTRUCTURADO	4
ANTECEDENTES	6
JUSTIFICACION	12
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
Pregunta de Investigación	13
HIPÓTESIS	13
OBJETIVO	13
PACIENTES Y METODOS	14
• Criterios de Inclusión	14
• Criterios de Exclusión	14
• Criterios de Eliminación	14
DESCRIPCIÓN DE VARIABLES	15
MUESTREO	17
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	17
ASPECTOS ETICOS	17
DESCRIPCION GENERAL DEL ESTUDIO	18
RESULTADOS	19
DISCUSION	26
CONCLUSION	29
ANEXO 1 (Clasificación de Aspergilosis invasiva EORT/MSG)	30
ANEXO 2 (Hoja de recolección de datos)	31
BIBLIOGRAFIA	34

RESUMEN

Antecedentes. La aspergilosis invasiva (AI) es una enfermedad causada por hongos oportunistas del género *Aspergillus*. Los datos clínicos pueden ser inespecíficos o bien presentarse cuando la enfermedad está avanzada en pacientes con inmunocompromiso. La detección del antígeno galactomanano de *Aspergillus* es una prueba útil para el diagnóstico temprano. En el Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI, se realiza esta prueba (Platelia Bio Rad ®) desde Julio 2012, pero no se ha evaluado su utilidad clínica y el desenlace de los pacientes a quienes se les ha solicitado. **Objetivo.** Determinar la utilidad clínica de la detección antigénica de galactomanano (GM) en pacientes con sospecha de aspergilosis invasiva, describir las características demográficas y clínicas de los pacientes con AI y correlacionar los resultados de la prueba con la presentación clínica, hallazgos radiológicos, resultados de histopatología y cultivos. **Diseño.** Transversal descriptivo. Prueba diagnóstica fase IV. **Pacientes.** Se analizaron los expedientes de todos los pacientes menores de 16 años de edad de cualquier género, a quienes se les realizó la prueba Platelia® para la detección de GM en suero entre el 1 de julio de 2012 al 31 de octubre de 2013, con sospecha de Aspergilosis invasiva; se recolectaron los datos clínicos, microbiológicos y radiológicos. **Análisis estadístico:** estadística descriptiva, cálculo de sensibilidad, especificidad, valores predictivos negativo y positivos, índices de verosimilitud. **Aspectos éticos:** estudio sin riesgo, no requirió de consentimiento informado. **Resultados:** Se incluyeron un total de 31 pacientes con sospecha de AI, de los cuales se obtuvo un total de 47 muestras séricas para análisis de GM, a ocho pacientes se les tomó más de una muestra. De las 47, 23 fueron positivas en 15 pacientes y 24 negativas en 16 pacientes. Doce pacientes se clasificaron como AI probada, probable o posible con 19 pruebas positivas. Las cuatro pruebas positivas restantes fueron de tres pacientes en los que se descartó AI. El rendimiento de la prueba fue aceptable, para el global de todos los pacientes, la sensibilidad fue de 83.3%, y especificidad de 60% con valor predictivo positivo de 33.3% y negativo de 93.7%, el índice de verosimilitud de 2.08. **Conclusiones.** La utilidad clínica de la prueba es aceptable en pacientes con sospecha de aspergilosis invasiva. Otras infecciones micóticas contribuyen a resultados falsos positivos.

Palabras clave: aspergilosis, galactomanano, prueba diagnóstica.

ABSTRACT

Background. Invasive aspergillosis (IA) is an infection due to opportunistic fungi of the genus *Aspergillus*. Clinical data can be unspecific or present only when disease has progressed in immunocompromised patients. *Aspergillus* galactomannan (GM) detection is a useful test for early diagnosis. In the Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI, the test (Platelia Bio Rad ®) was introduced in July 2012, but the clinical utility and outcome of patients included for testing have not been reported. **Objective:** to determine the clinical utility of *Aspergillus* galactomannan (GM) detection in patients with suspicion of IA. To describe the demographic and clinical characteristics and correlate the result of the test with the clinical presentation, radiological abnormalities, histopathology and culture results. **Design:** Cross-sectional. Phase IV diagnostic test. **Patients.** All files of patients aged 16 years and younger were analyzed, if a GM Platelia® test was performed due to a suspect diagnosis of AI, from July 2012 to October 2013. Clinical, microbiological and radiological data were collected for analysis and comparison with result of GM test. **Statistical analysis:** descriptive statistics. Specificity, sensitivity, specificity, positive and negative predictive values, and likelihood ratios were calculated. **Ethical aspects:** no risk study, informed consent was not required. **Results:** A total of 31 patients with suspicion of AI were included, of them 47 samples were obtained, eight patients with more than one sample. 23/47 was positive, from 15 patients and 24 negative from 16 patients. Twelve patients were classified as proven, probable or possible invasive aspergillosis, with 19 positive results. The four remaining positive test corresponded to patients with discarded IA. Performance of test was acceptable, a sensitivity of 83.3%, specificity 60% positive predictive value 33.3%, negative predictive value 93.7%, likelihood ratio 2.08. **Conclusions:** Utility of the test was acceptable in patients with suspicion of AI. False positive results were observed in patients with other invasive mycoses. **Key words:** aspergillosis, galactomannano, diagnostic test.

ANTECEDENTES

La aspergilosis invasiva (AI) es una micosis oportunista que amenaza la vida en pacientes inmunocomprometidos (1) y la mortalidad en los pacientes que son diagnosticados en estas condiciones varía de 70% a 90% en un año (2). Es causada por un hongo del género *Aspergillus sp* que se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, generalmente asociado a zonas húmedas o materia orgánica en descomposición y es considerado una de las especies más ubicuas debido a sus requisitos metabólicos simples y su gran capacidad de soportar un amplio rango de temperaturas. Estos hongos producen alta cantidad de conidias que están adaptadas para la diseminación aérea. La inhalación de conidias de *Aspergillus sp* por el ser humano no suele producir manifestaciones clínicas, salvo reacciones alérgicas como rinitis, sinusitis, aspergilosis broncopulmonar alérgica y alveolitis alérgica extrínseca. Sin embargo, en pacientes inmunocomprometidos la inhalación de esporas fúngicas puede alcanzar el tracto respiratorio inferior produciendo aspergilosis pulmonar o aspergiloma (3). Desde este punto puede diseminarse por vía hematológica a diversas partes del cuerpo, hasta manifestarse como Aspergilosis Invasiva. *Aspergillus fumigatus* es la especie aislada con mayor frecuencia, cercano a 90% de los casos. Otras especies aisladas son *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus* y *A. nidulans*(4).

Durante los últimos 10 años ha aumentado la incidencia de pacientes inmunocomprometidos, esto en relación al aumento de los trasplantes generado a nivel mundial, presentando vulnerabilidad para su desarrollo los pacientes receptores, de tal forma que en el mundo se ha reportado infección por *Aspergillus sp* entre 2 y 26% en pacientes con trasplante hematopoyético y entre 1 a 15% en pacientes con trasplante de órganos sólidos lo cual se explica por la condición de inmunosupresión generada a través de quimioterapia intensificada y el tiempo prolongado de su administración. Otros grupos de riesgo lo representan pacientes con neutropenia prolongada, infección avanzada por el virus de la inmunodeficiencia humana e inmunodeficiencia hereditaria (5).

La presentación clínica de AI es variable, inespecífica y tardía, siendo esencial sospecharla en las situaciones de riesgo mencionadas, establecer su diagnóstico en una etapa temprana de la enfermedad e iniciar el tratamiento oportuno con el objeto de mejorar las posibilidades de supervivencia (6). El diagnóstico de esta entidad continúa siendo difícil por la poca especificidad de las manifestaciones clínicas, y en algunos casos, la inexistencia de

hallazgos radiológicos patognomónicos, además de la baja sensibilidad que presentan los métodos convencionales de diagnóstico de laboratorio existentes (7). La única norma de referencia definitiva para confirmar AI es la biopsia, combinada con cultivo de muestras de tejidos o líquidos normalmente estériles, o demostrar la invasión de hifas en porciones de tejido obtenidas por procedimientos invasivos, en combinación con un cultivo positivo para las especies de *Aspergillus sp* de las mismas muestras (8,9). A menudo, el estado del paciente prohíbe el uso de técnicas invasivas dadas las condiciones clínicas críticas, así como de neutropenia y trombocitopenia severas, que frecuentemente dificultan las maniobras diagnósticas mencionadas, por lo que desde hace mucho tiempo se ha intentado encontrar un procedimiento confiable y no invasivo como estándar de oro (10).

En 2001, un comité integrado por el Grupo Cooperativo de Infecciones Invasivas Fúngicas de la Organización Europea para la Investigación y Tratamiento del Cáncer (EORTC), el Grupo de Estudio de Micosis (MSG) y el Instituto Nacional de Alergias y Enfermedades Infecciosas propuso graduar el diagnóstico de Aspergilosis Invasiva en tres niveles: probada, probable y posible AI (tabla 1) (11):

Tabla 1. CRITERIOS EORTC/ MSG PARA DIAGNOSTICO DE ASPERGILOSIS INVASIVA

AI PROBADA	Presencia histo/citopatológica de hifas tabicadas procedentes de aspiración con aguja o biopsia con evidencia (microscópica o por imagen) de daño tisular asociado. Cultivo positivo de <i>Aspergillus sp</i> procedente de una muestra (obtenida por procedimiento estéril) de una localización habitualmente estéril donde existen datos clínicos o radiológicos compatibles (excluyendo orina y mucosas).
AI PROBABLE	Deben cumplirse al menos un criterio de la sección de factores del huésped más un criterio microbiológico más un criterio clínico mayor (o dos criterios clínicos menores) compatibles con infección.
AI POSIBLE	Deben cumplirse al menos un criterio de la sección de factores del huésped más un criterio microbiológico o un criterio clínico mayor (o dos criterios clínicos menores) compatibles con infección.

Factores del huésped: neutropenia < 500 neutrófilos/mm³ > 10 días, fiebre persistente (>96 h) refractaria a antibióticos de amplio espectro en pacientes de alto riesgo, temperatura > 38 °C o < 36 °C y alguno de los factores predisponentes: neutropenia (> 10 días) en los 60 días anteriores, uso de inmunosupresores en los 30 últimos días, infección fúngica invasora (probada o probable) durante un episodio neutropénico previo, coexistencia de SIDA sintomático, signos y síntomas de enfermedad injerto contra huésped severa o enfermedad extensa crónica, uso prolongado (>3 semanas) de corticosteroides en los 60 días previos.

Criterios microbiológicos: cultivo positivo para *Aspergillus sp* a partir de esputo o lavado broncoalveolar, o microscopía directa positiva para *Aspergillus sp* de aspirado sinusal, esputo o lavado broncoalveolar. Antígeno de *Aspergillus sp* positivo en muestras de lavado broncoalveolar, líquido cefalorraquídeo o dos o más muestras de sangre. Citología o microscopía directa positiva para *Aspergillus sp* en muestras habitualmente estériles.

Criterios clínicos mayores: evidencia radiológica de invasión, hallazgos radiológicos pulmonares en estudios de alta resolución (tomografía axial) de signo del halo.

Criterios clínicos menores: síntomas y signos clínicos sugestivos.

Desafortunadamente, estos niveles son sólo útiles para fines de investigación y en la práctica clínica un gran número de los pacientes se clasifican como AI posible, lo que puede conducir a la sobreuso de la terapia antifúngica si todos estos casos son tratados (12). Con

el objetivo de mejorar el diagnóstico e instaurar un tratamiento antifúngico dirigido que permita disminuir la mortalidad asociada a AI, se han desarrollado técnicas serológicas alternativas al cultivo basadas en la detección de antígenos tales como el polisacárido celular denominado galactomanano (GM), un componente de la pared celular del género *Aspergillus* y principal exoantígeno liberado durante la invasión tisular (13,14).

Prueba de antígeno galactomanano

El GM puede detectarse en muestras de suero, lavado broncoalveolar, biopsias, orina y líquidos (pericárdico, cefalorraquídeo y pleural) de pacientes con AI (15,16). Actualmente hay dos ensayos comercialmente disponibles para la detección de galactomanano: la prueba de aglutinación en látex © Pastorex y la prueba de ELISA en sándwich © Platelia. De estos dos, el Pastorex © kit raramente se utiliza hoy en día mientras que la prueba de ELISA comercializada (Platelia *Aspergillus* EIA, Bio-Rad) utiliza un anticuerpo monoclonal EBA-2 que reconoce las cadenas laterales de 1-5-D-galactofuranósido de las moléculas de GM, se emplea para la detección de antígeno en el suero y en el líquido que se obtiene a través lavado broncoalveolar (LBA). Otras muestras en las que la prueba también se puede utilizar son el líquido cefalorraquídeo (LCR) y orina (9,17). Se centra la realización de la prueba en el suero porque su obtención representa menor dificultad comparado con la toma de LBA. Los resultados de la prueba se reportan por índice de densidad óptica (IDO), que corresponde a la relación de la densidad óptica dado por 1 ng / ml de galactomanano frente a la densidad óptica de la muestra, el nivel de corte recomendado para la positividad en América es de 0.5 a 1.5 IDO (18). Los estudios publicados mas recientemente acerca de la detección antigénica de GM han demostrado que este análisis contribuye al diagnóstico precoz de la AI, presentando una sensibilidad y especificidad muy aceptables, que tienden a aumentar en la medida que se realiza un estudio seriado (muestras de días diferentes) de los niveles de dicho antígeno, en algunos casos, antes de la aparición de los signos y síntomas clínicos (19, 20).

La validez diagnóstica de la detección de GM depende de la población de pacientes en la que se emplee, existiendo variaciones en el resultado de la prueba según las condiciones. En estudios publicados en pacientes oncohematológicos y receptores de precursores hematopoyéticos, Herbrecht y cols. demostraron que la detección de GM tiene una alta especificidad alrededor del 90% y una sensibilidad variable entre el 30% y el 100%, observando que esta variabilidad en la sensibilidad se encontró relacionada con las

diferencias en los criterios utilizados para definir los casos de AI, así como diferencias en los puntos de corte diagnósticos de los índices de GM y las distintas poblaciones de pacientes incluidos en el estudio (10). Respecto a la variación en relación a los puntos de corte de GM en suero, en otro estudio, Allan y cols. encontraron sensibilidad hasta 90-95% en todos los puntos de corte (0.5, 1.0 y 1,5 IDO) y especificidad de 91, 99% y 99% respectivamente sin aclarar con exactitud el tamaño de la muestra (21), mientras que Kawazu y cols. analizaron a pacientes con enfermedades hematológicas con sospecha de aspergilosis invasiva y observaron en el punto de corte de GM en 0.5 IDO sensibilidad hasta 100% y especificidad 83% y, hasta 97% con GM entre 1.0 y 1.5 IDO(22). En otro estudio Suankratay y cols. analizaron 55 eventos de 44 pacientes con enfermedad hematológica y neutropenia que tuvieron diagnóstico de sospecha de aspergilosis invasiva y observaron que el punto de corte de GM >0.75 IDO, tuvo una sensibilidad de 91% y especificidad 78.8%, en sus resultados (23), parte de la heterogeneidad encontrada en los distintos niveles de corte se debe al poco número de pacientes incluidos y a la baja prevalencia de los estudios. Respecto a la recomendación del número de pruebas de GM por semana, Florent y cols. observaron en su estudio de realización de GM comparado con PCR en pacientes con enfermedades malignas hematológicas, una sensibilidad y especificidad similares tanto para AI probada como posible (63.6% y 89.7% respectivamente), con valor predictivo positivo de 63.3% y valor predictivo negativo 89.7%. Al aunar los resultados de PCR y GM se incrementando la sensibilidad hasta 83.3% y el valor predictivo negativo fue de 97.6%, pero existió disminución de especificidad a 69.8%, sin encontrar variabilidad en el número de veces por semana de la realización de la prueba (24). Otras publicaciones analizaron el resultado de la prueba de galactomanano y su influencia para la estadificación de AI de acuerdo a los criterios EORTC/MSG, Lai y cols obtuvieron prevalencia de la enfermedad en los casos de AI probada mediante uso de GM hasta 80% y 77% en AI probable, tomando en cuenta como punto de corte niveles de GM mayores o igual a 1.5 IDO, con sensibilidad de 78.6%, especificidad 93.9%, valor predictivo positivo 55% y valor predictivo negativo 97.9%. Se observó incremento en la sensibilidad hasta 100% con punto de corte de 0.5 IDO, concluyendo que la variabilidad de la sensibilidad se encuentra en relación al establecimiento de los criterios clínicos y los factores del huésped los cuales pueden ser consideraciones subjetivas (25).

Para evaluar la exactitud del GM, en el año 2006 se realizó un metanálisis por Pfeifer y cols., que incluyó 27 estudios realizados entre los años 1996 y 2005. Los casos incluidos de

AI fueron diagnosticados de acuerdo con los criterios European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group/. La sensibilidad y especificidad reportada en los casos probados de AI en este metanálisis fue del 71% y 89%, respectivamente. El valor predictivo negativo fue de 92-98%, y el valor predictivo positivo fue del 25-62%. Este metanálisis también concluye que el GM es más útil en pacientes que tienen malignidad hematológica o que han sido sometidos a trasplante alogénico que en trasplante de órganos sólidos o pacientes no neutropénicos (26).

En pacientes pediátricos, existen menos estudios, pero ha resultado útil en enfermos de alto riesgo, si bien varios trabajos han destacado que esta técnica tiene muchos falsos positivos cuando se realiza en niños debido a la antigenemia elevada observada de manera transitoria. Existen publicaciones que han comparado directamente los resultados de la prueba antigénica de GM en AI probada y probable entre pacientes pediátricos y adultos receptores de trasplante alogénico de células madre y se observó de manera predominante resultados falsos positivos en grupos pediátricos en una sola prueba de galactomanano sin evidencia clínica ni radiológica de infección fúngica invasiva lo que ha impulsado al inicio de terapia antifúngica de manera poco sustentable (27-30).

La especificidad de GM se ve reducida por la posibilidad de falsos positivos, habitualmente asociados al uso de betalactámicos. En un estudio realizado por Gerlinger y cols. se incluyeron a 207 pacientes donde se comparó el uso de piperacilina-tazobactam de 3 fabricantes, no se identificó ninguna asociación significativa entre los falsos positivos de GM y el fabricante 1 y 3, pero no fue así para el fabricante 2, en el que si existió una asociación significativa; estos resultados sugieren que la asociación entre los falsos positivos de GM y piperacilina- tazobactam no es sistemática, pero todavía puede prevalecer dependiendo de los fabricantes. El GM también se encuentra en los alimentos y puede ser absorbido por el tracto digestivo, especialmente en pacientes posquimioterapia por mucositis, resultando en una reacción de falsos positivos (31).

JUSTIFICACIÓN

La aspergilosis invasiva (AI) es una de las micosis oportunistas más frecuente con elevada morbilidad y letalidad en pacientes inmunocomprometidos. En la UMAE Hospital de Pediatría se hospitalizan aproximadamente 240 pacientes con inmunocompromiso por año, de los cuales un 10 a 20% tienen alto riesgo para el desarrollo de aspergilosis invasiva. Los métodos diagnósticos disponibles en la unidad se limitaban a cultivo de secreción bronquial, y en un menor número de pacientes, estudio histopatológico de biopsia pulmonar. Con estos métodos se confirmaba el diagnóstico en 2 a 3 pacientes al año. Después de la introducción de la prueba de galactomanano se incrementó el número de pacientes en que se diagnostica AI, sin embargo, no hay registro del total de pacientes en los que se confirma el diagnóstico gracias a la prueba, ni el número de tratamientos que se indican.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la Unidad Médica de Alta Especialidad del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI se realiza la prueba de galactomanano a partir de Julio 2012. No se ha registrado la utilidad clínica en la población del hospital

Preguntas

1. ¿Cuál es la utilidad clínica de la prueba de galactomanano en el diagnóstico de Aspergilosis invasiva en pacientes pediátricos?
2. ¿Cuáles son las características clínicas, radiológicas y resultados de los estudios histopatológicos y cultivos de los pacientes con prueba positiva?

HIPÓTESIS

1. En los casos de Aspergilosis invasiva probada y posible, la prueba de galactomanano tendrá una sensibilidad de 60-70%(13,) y especificidad de 85%.
2. Las características clínicas, radiológicas y los estudios histopatológicos y cultivos de los pacientes con prueba positiva, apoyarán el diagnóstico de AI.

OBJETIVOS

1. Determinar la utilidad clínica de la detección antigénica de galactomanano (GM) en pacientes con sospecha de aspergilosis invasiva.
2. Describir las características clínicas, radiológicas y resultados de los estudios histopatológicos y cultivos de los pacientes con prueba positiva.

PACIENTES Y MÉTODOS

Lugar donde se realizó el estudio: UMAE Hospital de Pediatría de Centro Médico Nacional Siglo XXI, que es una Unidad Hospitalaria de Tercer Nivel de atención en Pediatría y que recibe pacientes procedentes del Sur del Distrito Federal y de los Estados de Morelos, Guerrero, Querétaro, Chiapas, Puebla, Veracruz y Tlaxcala.

Diseño.

Por el número de mediciones: transversal.

Por método de análisis: descriptivo.

Por la recolección de los datos: ambispectivo.

Universo de estudio: Todos los pacientes ingresados a la UMAE Hospital de Pediatría con diagnóstico de sospecha de Aspergilosis invasiva.

El periodo de estudio: julio 2012 hasta octubre 2013.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes de 2 a 17 años 11 meses de edad de cualquier género, que ingresaron a hospitalización y se haya sospechado durante la misma diagnóstico de Aspergilosis invasiva.
- Que se les haya realizado prueba antigénica de galactomanano.
- Que cuenten con expediente completo

CRITERIOS ELIMINACIÓN

- Pacientes que no cuenten con los resultados completos de los estudios de laboratorio, gabinete e histopatología.

DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Definición Operacional	Unidades de medición o categoría	Tipo de variable / Escala
Sexo	Conjunto de caracteres, anatómicos fisiológicos que distinguen al hombre de la mujer entre los individuos de una misma especie.	Género identificado al ingreso y referido en el expediente.	Masculino Femenino	Universal Cualitativa Nominal
Edad.	Tiempo que ha transcurrido desde su nacimiento a la fecha actual.	Número de años y meses referidos por el paciente y anotados en el expediente.	Años y meses.	Universal Cuantitativa Continua
Inmunocompromiso	Condición del paciente en el que existe alteración de uno o algunos de los mecanismos de defensa, ya sea de origen primario o adquirido.	Paciente que por alguna condición subyacente, primaria o adquirida cumple con uno o más de las siguientes: Neutropenia: recuento de neutrófilos $<500/ \text{mm}^3$ por más de 10 días. Tratamiento con quimioterapia citotóxica. Tratamiento con corticoesteroides (más de 2 meses $> 1 \text{ mg/kg}$ de prednisona o su equivalente) Infección por el virus de inmunodeficiencia adquirida Inmunodeficiencia primaria	Si No	Cualitativa Nominal
Enfermedad Hemato-oncológica	Trastorno neoplásico en el que afectada la producción de las líneas celulares u órgano sólido y sistema nervioso central.	Leucemia linfoblástica aguda Leucemia mieloide crónica Linfoma No Hodgkin Cualquier tumor de órgano sólido	Sí No	Universal Cualitativa Nominal
Enfermedad del tejido conectivo	Enfermedad autoinmune que se caracteriza por formación de autoanticuerpos y por la expresión clínica de distintas manifestaciones de inflamación mediada por mecanismos inmunes cuya terapia está basada en y tratamiento antiinflamatorio, citotóxicos y esteroides de acuerdo a cada caso.	Lupus Eritematoso Sistémico	Si No	Universal Cualitativa Nominal

Variable	Definición conceptual	Definición Operacional	Unidades de medición o categoría	Tipo de variable / Escala
Paciente con trasplante de células hematopoyéticas	Paciente receptor de precursores hematopoyéticos después de haber sido sometido a quimioterapia citoreductora ablativa por medio de transfusión de células madre las cuales pueden ser de origen autólogo o alogénico.	Trasplante alogénico de células madre	Si No	Universal Cualitativa Nominal
Paciente con trasplante de órgano sólido	Paciente receptor de órgano sólido mediante procedimiento quirúrgico con el propósito de reemplazar su funcionalidad. (por ejemplo: renal, hepático)	Trasplante renal	Si No	Universal Cualitativa Nominal
Aspergilosis invasiva	Es una infección micótica grave causada por el hongo <i>Aspergillus sp.</i> Que afecta fundamentalmente a nivel pulmonar pero que evoluciona rápidamente hacia una infección diseminada fatal si no se recibe el tratamiento adecuado.	Se clasificara en probada, probable y posible de acuerdo a los criterios de la EORTC/MSG (anexo 1)	Probada Posible Probable	Cualitativa Ordinal
Prueba de galactomanano	Prueba de inmunoensayo enzimático con técnica de ELISA sandwich para detección de antígeno galactomanano de <i>Aspergillus sp.</i>	Los resultados obtenidos de la prueba de Platelia se considerarán positivos con un valor de densidades ópticas.	Positivo: mayor a 0.5 DO Negativo: menor o igual 0.5 DO	Cualitativa Nominal
Administración de Beta-lactámicos	Administración de fármacos con actividad contra bacterias gram positivas y gram negativas que actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular mediante inhibición de transpeptidación que incluye a los grupos de: penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos y monobactámicos.	Administración de Piperacilina/tazobactam o amoxicilina/clavulanato en los 15 días previos y hasta el momento de realización de prueba antigénica de galactomanano.	Si No	Cualitativa Nominal
Infección por otros hongos .	Infección documentada por métodos de microbiología por agentes como: <i>Penicillium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Geotrichum</i> e <i>Histoplasma capsulatum</i>	Infección por otros hongos: paciente que se diagnostique mediante pruebas microbiológicas aislamiento de otros agentes micóticos como: <i>Penicillium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Geotrichum</i> e <i>Histoplasma capsulatum</i>	Sí No	Cualitativa Nominal

Muestreo

Se realizó muestreo por conveniencia. Se incluyeron todos los pacientes a los que se les había realizado detección de GM a partir de julio 2012 hasta octubre 2013.

Para los estudios de prueba diagnóstica de fase IV no se establece un tamaño mínimo de muestra, ya que en las fases previas, la sensibilidad y especificidad ya ha sido demostrada. En la fase IV se espera establecer el desempeño de la prueba en la práctica clínica habitual.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de las características demográficas se utilizaron medianas y porcentajes. Se calcularon sensibilidad y especificidad, valores predictivos negativo, positivo e índices de verosimilitud, en todos los pacientes con sospecha de Aspergilosis invasiva y según la categoría de la enfermedad. El estándar de oro se consideró cuando el paciente cumplió con los criterios para el diagnóstico de aspergilosis probada. .

ASPECTOS ÉTICOS

De acuerdo al Reglamento en Materia de Investigación de la Ley General de Salud, el estudio se clasifica como: sin riesgo, debido los datos clínicos y de estudios de laboratorio e imagen fueron tomados de los expedientes clínicos en forma retrospectiva por lo cual no requirió de consentimiento informado. No se identificó a los sujetos, y toda la información fue manejada de forma confidencial.

El estudio fue autorizado por el Comité Local de Ética e Investigación con el número: R-2013-3603-43.

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

Se revisaron los registros de las muestras enviadas a determinación de galactomanano del 01 de julio de 2012 al 31 octubre 2013, obteniéndose el listado de pacientes hospitalizados en dicho periodo, en los cuales se estableció sospecha diagnóstica de AI en el Hospital de Pediatría. El criterio para establecer esta sospecha fue de acuerdo a la evaluación de algún médico infectólogo. Se extrajo la información que contenía datos de: edad, enfermedad de base, tratamiento mediante quimioterapia citotóxica, estudios paraclínicos (biometría hemática, estudios de imagen de alta resolución, cultivos, resultado de prueba de galactomanano y estudio histopatológico según sea el caso), si se encontraban bajo tratamiento antibiótico así como participación de otros agentes micóticos y resultado y número de pruebas de galactomanano. Posteriormente se clasificó en grupos como: Aspergilosis Invasiva: probada, probable y posible de acuerdo a los criterios de la EORTC/MSG y se realizaron los cálculos de sensibilidad y especificidad de la prueba de galactomanano. Se describió el desenlace de los casos respecto a mejoría o mortalidad y el diagnóstico final.

RESULTADOS

Durante el periodo comprendido de Julio de 2012 a octubre de 2013, se solicitó la prueba antigénica de galactomanano (GM) en 31 pacientes con sospecha de Aspergilosis invasiva. Predominó el sexo femenino 51.6% y la mediana de edad fue de 8 años. Dentro de los factores de riesgo encontrados, 96% de los pacientes cumplieron con la condición de fiebre, 87% con neutropenia < 500 cel/mm³, 93.5% habían recibido tratamiento con corticoesteroides por más de 2 semanas en los últimos 6 meses y 27 (87%) recibían algún tipo de terapia citotóxica.

Respecto a la enfermedad subyacente 25 pacientes (80.6%) tenían una enfermedad hemato-oncológica: siete leucemia linfoblástica aguda (22.5%), cuatro leucemia mieloide aguda (12.9%), uno leucemia mielomonocítica juvenil (3.2%), nueve linfoma no Hodgkin (29%), tres histiocitosis de células de langerhans (9.6%) y un paciente con anemia aplásica (3.2%). Dos (6.4%) en condición postrasplante, uno de ellos con trasplante renal y el otro con trasplante de médula ósea. Un paciente con lupus eritematoso sistémico (3.2%) (Cuadro 1). Adicionalmente se incluyeron tres pacientes con enfermedades diversas, de las cuales uno cursó con exacerbación de enfermedad celiaca, otro con canal auriculoventricular y estancia intrahospitalaria prolongada en la unidad de cuidados intensivos por falla cardíaca crónica, y el tercero con síndrome de reactivación después de infección por varicela.

Para los 31 pacientes que se incluyeron en el estudio por sospecha de Aspergilosis invasiva, se enviaron un total de 47 muestras (46 séricas y un lavado broncoalveolar) para la detección de galactomanano, de las cuales 23 fueron positivas en 15 pacientes, 24 negativas en 16 pacientes. De los 15 pacientes con prueba de galactomanano positiva, 12 fueron categorizados con enfermedad probada, probable y posible, de los cuales se obtuvieron 19 pruebas positivas. En tres pacientes, cuatro pruebas fueron positivas de los cuales se descartó enfermedad.

En cuatro pacientes en los cuales se comprobó AI, se obtuvieron 8 pruebas positivas las cuales fueron tomadas de forma seriada, se obtuvo estudio microbiológico positivo en tres pacientes, dos muestras de lavado broncoalveolar, una muestra de líquido pleural y en dos se demostró mediante estudio histopatológico. Todos recibieron tratamiento con voriconazol

en cuanto se obtuvo el resultado positivo de galactomanano, tres fallecieron a pesar de haber recibido el tratamiento.

Dos pacientes fueron clasificados como AI probable, uno de ellos recibió tratamiento con voriconazol, sin embargo se comprobó participación de *Candida parapsilosis* que se aisló en sangre y en una lesión cutánea. En el otro paciente se aisló en hemocultivos *Burkholderia cepacia*, éste no recibió tratamiento antimicótico y se trató de acuerdo al aislamiento. En seis pacientes clasificados como AI posible, se obtuvieron 7 pruebas positivas: en uno de estos casos con antecedente de trasplante renal, se observó imagen radiológica sugestiva de Aspergilosis y se obtuvieron pruebas de galactomanano seriadas positivas decidiéndose el inicio de voriconazol. El paciente no mostró mejoría al séptimo día de tratamiento y se realizó biopsia pulmonar en la cual se identificó *Histoplasma capsulatum* y se descartó AI. Otro paciente tuvo bacteriemia por *Pseudomonas aeruginosa*. El tercero se diagnosticó finalmente con una rinosinusitis crónica con osteomielitis de piso y techo de órbita y se aisló *Klebsiella pneumoniae*. De los tres pacientes restantes, uno tuvo sepsis por *Staphylococcus aureus*, otro rinosinusitis maxilar y el último de ellos bacteriemia por *Enterobacter cloacae* (Cuadros 3, 4, y 5).

En 19 pacientes que no completaron criterios de clasificación para Aspergilosis invasiva, 3 tuvieron resultado falso positivo en 4 muestras (cuadro 6) y 16 tuvieron prueba negativa de galactomanano, ninguno recibió tratamiento con voriconazol. El diagnóstico final en tres pacientes fue neumonía intersticial, cinco con neumonía lobar, tres con evento de fiebre y neutropenia que evolucionó a sepsis grave, dos con sepsis documentada; uno por *Streptococcus viridans* y otro por *Klebsiella pneumoniae* y seis con recaída de la enfermedad, uno con recaída de enfermedad celiaca y otro con síndrome de activación celular postinfección por varicela (cuadro 6 y 7).

Respecto a los resultados por arriba del nivel de corte de galactomanano obtenido en 12 muestras de 7 pacientes que fueron clasificados como Aspergilosis invasiva probada, probable y posible con pruebas positivas se observó que la positividad permanecía en dos muestras seriadas, la mediana en 0.8., en los casos confirmados. En nuestro estudio sólo se realizó toma de muestra seriada a ocho de los 31 pacientes incluidos.

Cuadro 1. Características demográficas de los pacientes

	(n=31)	%	Mediana	Rango
Sexo				
Femenino	16	51.6%		
Masculino	15	48.3%		
Edad			8 años 7 meses	6 m a 14 a 9 m
< 2 años	1	3.2%		
2 a 6 años	8	25.8%		
6 a 12 años	12	38.7%		
12 a 15 años	10	32.2%		
Factores de riesgo				
Fiebre >4 días	30	96%	6 días	4 a 30 días
Neutropenia	27	87%	40 (cel/mm3)	0 a 430 (cel/mm3)
Terapia citotóxica	27	87%		
Esteroides	29	93.5%		
Enfermedad hematológica	25	80.6%		
Trasplante	2	6.4%		
Lupus eritematoso sistémico	1	3.2%		
Otros	3	12.9%		
Administración de betalactámicos	29	93.5%	7 días	3- 21 días
Hallazgos tomográficos y radiológicos				
Nódulos	6	19.3%		
Infiltrado intersticial	5	16.1%		
Consolidación	6	19.3%		
Afección rinosinusal y de órbita	2	6.4%		
Sin evidencia de lesión pulmonar	12	38.7%		

Cuadro 2: Total de pruebas de galactomanano realizadas

	No. De muestras	Porcentaje	Valor de corte	Mediana
Prueba de galactomamano sérica				
Número total realizadas	47	100%	0.5 (IDO, valor de corte)	0.5-3.0 (IDO)
Positivas	23	48.9%		
Negativas	24	51%		

Cuadro 3. Pacientes con prueba de galactomanano positiva con Aspergilosis invasiva probada

Edad	Sexo	Enfermedad de base	Síntomas	Neutrófilos (cel/mm3)	GM (IDO)	Rx/TAC	Cultivo	Histopatología	Tratamiento	Desenlace
2 años 1 mes	F	Canal AV complejo y Falla cardíaca crónica	Fiebre, tos, disnea, taquipnea	14100	0.60, 0.80	TAC Lesiones nodulares e infiltrado intersticial	Lavado broncoalveolar Positivo	No se realizó	Voriconazol	Muerte
8 años 7 meses	M	Linfoma No Hodgkin Estadio IV	Fiebre, oclusión intestinal, taquipnea.	10	0.80 y 1.0	TAC Lesiones nodulares pulmonares y abdominales.	Negativo	Hifas septadas hialinas y ramificadas en tejido intestinal	Voriconazol	Muerte
12 años 4 meses	F	Lupus eritematoso sistémico	Fiebre, tos, disnea, taquipnea.	16	0.8, 1.0.	TAC lesiones nodulares abdominales y renal derecha.	Positivo de colección abdominal	Hifas septadas hialinas y ramificadas de colección abdominal	Voriconazol	Mejoría
14 años 9 meses	M	Anemia de Fanconi con trasplante de células hematopoyéticas	Fiebre, disnea, taquipnea.	0	3.0sérico, 3.0 LBA	TAC Lesión nodular pulmonar basal izquierda e infiltrado intersticial.	Positivo en lavado broncoalveolar	No se realizó	Voriconazol	Muerte

F: Femenino, M: masculino, AV: auriculoventricular, IDO: índice de densidades ópticas, Rx. Radiografía, TAC: tomografía axial computarizada, LBA: Lavado broncoalveolar.

Cuadro 4. Pacientes con prueba de galactomanano positiva con Aspergilosis invasiva probable

Edad	Sexo	Enfermedad de base	Síntomas	Neutrófilos (Cel/mm3)	GM (IDO)	Rx/TAC	Cultivo	Histopatología	Tratamiento	Desenlace
6 años 5 meses	F	Leucemia linfoblástica aguda	Fiebre, tos, disnea, taquipnea	30	0.5, 0.6	TAC Lesiones nodulares e infiltrado intersticial	Sangre y lesión de piel: <i>Candida parapsilosis</i>	No se realizó	Anfotericina B/ Voriconazol	Mejoría. Diagnóstico final: Candidiasis invasiva
4 años 8 meses	M	Leucemia linfoblástica aguda	Fiebre, tos, disnea.	40	0.76, 0.55	TAC Lesiones nodulares bilaterales	Sangre: <i>Burkholderia cepacia</i>	No se realizó	Meropenem	Mejoría Diagnóstico final: Sepsis por <i>B. cepacia</i> con focalización pulmonar.

F: Femenino, M: masculino, IDO: índice de densidades ópticas, Rx. Radiografía, TAC: tomografía axial computarizada.

**Cuadro 5. Pacientes con prueba de galactomanano positiva
con Aspergilosis invasiva posible**

Edad	Sexo	Enfermedad de base	Síntomas	Neutrófilos (cel/mm ³)	GM (IDO)	Rx/TAC	Cultivo	Histopatología	Tratamiento	Desenlace
11 años 8 meses	F	Trasplante renal	Fiebre, disnea, hepatoesplenomegalia	2160	0.6, 1.0	TAC Consolidación apical derecha y lesiones nodulares bilaterales	Tejido pulmonar: <i>Histoplasma capsulatum</i>	Tejido pulmonar con hifas septadas hialinas y ramificadas.	Voriconazol inicial, Anfotericina B e itraconazol.	Diagnóstico final: Histoplasmosis diseminada Mejoría
6 años 5 meses	M	Linfoma No Hodgkin Estadio IV	Fiebre, disnea.	20	0.60	TAC lesiones nodulares bilaterales.	Sangre: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	No se realizó	Meropenem y amikacina	Diagnóstico final: Sepsis por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . Mejoría.
8 años 1 mes	M	Leucemia linfoblástica aguda	Fiebre, tos productiva, rínorrea purulenta	430	0.70	TAC senos paranasales y órbita con invasión de techo y órbita derecha.	Tejido óseo: <i>Klebsiella pneumoniae</i>	No se realizó	Imipenem y ciprofloxacino	Diagnóstico final: Osteomielitis crónica en piso y techo de órbita. Mejoría
14 años 7 meses	M	Leucemia linfoblástica aguda	Fiebre, disnea, lesiones dérmicas	50	0.60	TAC infiltrado intersticial	Sangre: <i>Staphylococcus aureus</i>	No se realizó	Dicloxacilina	Diagnóstico final: Sepsis por <i>Staphylococcus aureus</i> Mejoría
9 años 11 meses	F	Aplasia Medular	Fiebre, tos productiva, epistaxis	20	0.70	TAC engrosamiento de mucosa de ambos senos maxilares y obstrucción del drenaje.	Negativo	Negativo	Imipenem, vancomicina y anfotericina	Diagnóstico final: Rinosinusitis maxilar Mejoría
6 años 9 meses	M	Linfoma No Hodgkin estadio IV	Fiebre, disnea, taquipnea, diarrea	20	0.50	TAC Infiltrado intersticial	Sangre. <i>Enterobacter cloacae</i>	No se realizó	Piperacilina/tazobactam	Sepsis por <i>Enterobacter cloacae</i> Mejoría

F: Femenino, M: masculino, IDO: índice de densidades ópticas, Rx. Radiografía, TAC: tomografía axial computarizada.

**Cuadro 6. Pacientes con prueba de galactomanano positiva
con enfermedad descartada.**

Edad	Sexo	Enfermedad subyacente	Neutrófilos Cel/mm ³	Síntomas	Galactomanano (IDO)	Rx/ TAC	Cultivo	Diagnóstico final	Tratamiento	Desenlace
10 años 1 mes	M	LLA	50	Fiebre, tos, taquipnea, cianosis	0.5, 0.6	Consolidación basal derecha	Negativo	Neumonía derecha	PT/ Vancomicina	Mejoría

12 años	F	LNH	140	Fiebre, tos, disnea	0.6	Infiltrado macronodular predominio derecho	Sangre. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Sepsis grave por <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Meropenem/ Amikacina	Mejoría
3 años 6 meses	F	HL	150	Fiebre prolongada	0.6	Consolidación basal izquierda	Negativo	Neumonía basal izquierda	PT/ Vancomicina	Mejoría

F: Femenino, M: masculino, IDO: índice de densidades ópticas, Rx. Radiografía, TAC: tomografía axial computarizada. P/T: Piperacilina/tazobactam, LLA: Leucemia linfoblástica aguda, LNH: Linfoma No hodgkin. HL: Histiocitosis de células de Langerhans.

Cuadro 7. Características de pacientes con prueba de galactomanano negativa

Edad	Sexo	Enfermedad subyacente	Neutrófilos Cel/ mm3	Sintomas	Rx/ TAC	Cultivo	Diagnóstico final	Tratamiento	Desenlace
6 meses	F	LMMJ	80	Fiebre, tos productiva, taquipnea	Infiltrado intersticial	Negativo	Neumonía intersticial	PT,TMT,SMX,Vancomicina	Mejoría
2 años 4 meses	F	LMM6	316	Fiebre, tos productiva	Infiltrado reticular bilateral y consolidación basal derecha	Negativo	Neumonía derecha	P/T	Mejoría
2 años 2 meses	F	LMM6	50	Fiebre, distensión abdominal	Normal	Negativo	Recaída de la enfermedad	PT, Vancomicina	Mejoría
13 años 10 meses	M	HL	42	Fiebre, tos, taquipnea	Infiltrado intersticial	Negativo	Neumonía intersticial	PT	Mejoría
13 años 3 meses	M	LNH	10	Fiebre prolongada	Normal	Negativo	Recaída de la enfermedad	PT	Mejoría
9 años 9 meses	M	LMA	0	Fiebre, tos productiva, disnea	Consolidación basal derecha	Sangre. <i>Streptococcus viridans</i>	Neumonía derecha por <i>S. viridans</i>	Cefotaxima	Mejoría
9 años 6 meses	M	LMA	90	Fiebre, dolor abdominal	Normal	Negativo	Sepsis grave	PT/ Vancomicina/ Fluconazol	Mejoría
10 años 8 meses	F	LLA L2	0	Fiebre, mucositis	Normal	Negativo	Recaída de la enfermedad	PT	Mejoría
10 años 6 meses	F	LLA L2	50	Fiebre, otorrea derecha	Normal	Negativo	Otitis aguda derecha y recaída de la enfermedad	PT	Mejoría
4 años 2 meses	F	LNH	40	Fiebre, tos, taquipnea	Infiltrado basal derecho	Negativo	Neumonía basal derecha	PT/ Vancomicina	Mejoría
12 años 2 meses	F	LNH	0	Fiebre, disnea	Infiltrado intersticial	Negativo	Neumonía intersticial	Meropenem, Vancomicina, TMT/SMX	Mejoría
13 años 8 meses	M	Enfermedad celiaca	2000	Fiebre prolongada	Normal	Negativo	Reactivación de enfermedad celiaca	Sin antibióticos	Mejoría
5 años 4 meses	M	Síndrome hemofagocítico postvaricela	220	Fiebre prolongada, epistaxis	Normal	Negativo	Síndrome de activación celular resuelto	Aciclovir	Mejoría
10 años 5 meses	F	LNH	136	Fiebre, tos productiva, epistaxis	Normal	Negativo	Sepsis grave	Imipenem / Vancomicina/ Fluconazol	Mejoría
2 años 10 meses	F	HL	200	Fiebre prolongada	Normal	Negativo	Recaída de la enfermedad	PT	Mejoría
6 años 10 meses	F	LNH	110	Fiebre, rinorrea, tos	Normal	Negativo	Recaída de la enfermedad	PT	Mejoría

meses

F: Femenino, M: masculino, IDO: índice de densidades ópticas, Rx. Radiografía, TAC: tomografía axial computarizada. NR: No realizado, P/T: Piperacilina/tazobactam, TMT/SMX: Trimetoprim/ sulfametoxazol., LLA: Leucemia linfoblástica aguda, LNH: Linfoma No hodgkin, LMA: Leucemia mieloblástica aguda, LMM6: Leucemia mieloblástica M6, LMMJ: Leucemia mielomonocítica juvenil, HL: Histiocitosis de células de langerhans

En cuanto al desempeño de la prueba, se realizó el cálculo para todos los pacientes, y se obtuvo una sensibilidad de 83.3%, especificidad de 60%, valor predictivo positivo de 33.3% y negativo de 93.7%, con índice de verosimilitud de 2.08 (cuadro 8).

La prevalencia de enfermedad probada fue de 19.3%, la letalidad en estos cuatro pacientes fue de 75%. A todos se les dio tratamiento con voriconazol. A la paciente con histoplasmosis diseminada (receptora de trasplante renal) se le había iniciado voriconazol al tener el resultado positivo de la prueba, pero debido a progresión de los datos de infección se programó para biopsia pulmonar y se tuvo el reporte de *Histoplasma capsulatum*.

Cuadro 8. Desempeño de la prueba de galactomanano en todos los pacientes (31) con sospecha de Aspergilosis invasiva.

Enfermedad: aspergilosis invasiva				
		Positiva	Negativa	Total
Resultado de prueba de GM >0.5 IDO	Positivo	5	10	15
	Negativo	1	15	16
	Total	6	25	31
IC 95 %				
		Superior	Límite Inferior	
Prevalencia de la enfermedad	19.35%	8.12%	38.06%	
Pacientes correctamente diagnosticados	64.52%	45.38%	80.17%	
Sensibilidad	83.33%	36.48%	99.12%	
Especificidad	60.00%	38.89%	78.19%	
Valor predictivo positivo	33.33%	12.99%	61.31%	
Valor predictivo negativo	93.75%	67.71%	99.67%	
Índice de verosimilitud positivo	2.08	1.14	3.79	
Índice de verosimilitud negativo	0.28	0.05	1.71	

Discusión

Actualmente la Aspergilosis invasiva es una de las causas más importantes de morbilidad en pacientes con inmunocompromiso, la prevalencia reportada va de 8 a 38%, de acuerdo a la serie de casos estudiada, convirtiéndose en una enfermedad común, a menudo mortal en pacientes con neoplasias hematológicas y neutropenia prolongada. Dentro de las formas más comunes tenemos la pulmonar pero también suele afectar al tracto gastrointestinal por inoculación directa o a través de la piel. En nuestro estudio observamos que la sintomatología más frecuentemente encontrada es la fiebre, tos y dificultad respiratoria pero en la mayor proporción no se observaron signos radiológicos específicos. Por tanto, en cualquier paciente con factor de riesgo se consideró ante la presencia de síntomas respiratorios incluso en forma leve. De los estudios realizados concluimos que la tomografía axial computarizada puede ayudarnos a mostrar características focalizadas encontradas especialmente en la enfermedad, así en 19 pacientes que se observó radiografía de sospecha sin signos claros fue necesario el estudio de alta resolución, observándose en la gran mayoría infiltrado pulmonar y signos de consolidación, en tres de ellos presencia de nodulaciones, sin encontrar el signo patognomónico del halo. En ningún paciente encontramos lesiones cavitadas.

Respecto a los factores de riesgo en los casos comprobados todos se encontraban en condición de neutropenia y en general en los 31 pacientes con sospecha de la enfermedad 4 no cumplieron con esta condición sin embargo se decidió incluirlos puesto que cursaron con condición de fiebre y recibían algún tipo de quimioterapia citotóxica.

No encontramos publicaciones en México donde se determine el rendimiento de la prueba Platelia® de *Aspergillus*, sin embargo hay publicaciones desde el año 2006, donde en un metaanálisis se analizaron 27 estudios (26) que fueron realizados entre los años 1996 y 2005, en el cual se incluyeron los casos de acuerdo a los criterios European Organization for Research and Treatment of Cancer/ Mycoses Study Group, la sensibilidad y especificidad reportada en los casos probados de Aspergilosis invasiva fue de 71 y 89%, respectivamente, el valor predictivo negativo fue de 92-98% y predictivo positivo de 25-62%, en este estudio se concluyó que el GM es más útil en

pacientes que tienen malignidad hematológica o que han sido sometidos a trasplante de células hematopoyéticas que los de órgano sólido o no neutropénicos.

La especificidad de GM se puede ver reducida por la posibilidad de falsos positivos habitualmente asociados al uso de betalactámicos especialmente piperacilina/tazobactam, ampicilina/ sulbactam y amoxicilina/ ácido clavulánico, en nuestro tratamiento antimicrobiano empírico para fiebre y neutropenia es a base de piperacilina/ tazobactam; si bien la mayoría de los pacientes lo habían recibido o estaban recibiendo un beta-lactámico en el momento de la toma de la muestra, no se registró el número de horas de suspensión de la piperacilina/tazobactam, por lo que es difícil asegurar que esto influyó en los falsos positivos. En un estudio reciente que incluyó 207 pacientes comparó el uso de piperacilina- tazobactam de tres fabricantes y solo con uno de los fabricantes se encontró un número mayor de falsos positivos (31). También se han presentado resultados falsos positivos en pacientes con mucositis postquimioterapia debido a la presencia de galactomanano en los alimentos lácteos, sin embargo este dato no pudo obtenerse en nuestros pacientes ya que no estaba consignado en el expediente.

Existe una fuerte asociación de reacción cruzada con los anticuerpos monoclonales de EBA- 2 utilizados en la prueba ante la presencia de infección micótica diferente a *Aspergillus sp* como es *Histoplasma capsulatum*, *Alternaria paecilomyces* y *Geotrichum* (32), en nuestro estudio se documentó por medio de cultivo un caso de Histoplasmosis diseminada en el cual dos pruebas séricas de galactomanano fueron positivas con valor de corte 0.6 y 1.0 IDO.

Debido a que la cuantificación de galactomanano como técnica de diagnóstico precoz se considera un método de cribado, es necesaria la determinación seriada en suero de pacientes enfermos con riesgo de infección, la recomendación son 2 muestras semanales ya que esto incrementa la sensibilidad y su valor predictivo negativo y los puntos de corte en una muestra única en la actualidad son por arriba de 0.7 en el índice de densidad óptica y en 2 muestras consecutivas por arriba de 0.5. En nuestro estudio sólo se realizó toma de muestra seriada a 10 de los 31 pacientes incluidos, por lo que debemos tomar importancia a estas consideraciones implementando el uso de pruebas seriadas en los próximos estudios.

Además de lo anterior, está bien demostrado que la sensibilidad de la prueba disminuye de manera considerable en pacientes no neutropénicos por lo que su realización no está recomendada en este tipo de pacientes, tal como sucedió en 4 pacientes de nuestro estudio que no presentaron condición de neutropenia y en los cuales la prueba de galactomano fue negativa, sólo en uno de ellos se obtuvo una muestra positiva de tres, con valor de corte de 0.8.

Es importante subrayar que aunque los datos clínicos y radiológicos son de gran ayuda, el diagnóstico debe ser establecido mediante la combinación de datos histológicos y microbiológicos, dado que ninguno de ellos puede por sí solo asegurar el diagnóstico. En la literatura se reporta que la utilidad del cultivo convencional es un proceso lento con sensibilidad diagnóstica baja (15-20%) (33), en algunos estudios las cifras alcanzan el 50% cuando la muestra proviene de lavado broncoalveolar, sin embargo estos estudios son invasivos y difíciles de realizar en pacientes con Aspergilosis invasiva debido a la condición con alteración hemodinámica, plaquetopenia, hipoxia y mal estado general, todo esto explica la obtención de estudios negativos, y es la razón por la cual en dos de nuestros pacientes comprobados por medio de estudio histopatológico tuvieron cultivo negativo.

Recientes estudios han reportado que la sensibilidad de la detección de galactomano en suero es <50% y que en lavado broncoalveolar puede superar el 90% y ya se ha publicado la utilización de la cuantificación de galactomano en lavado broncoalveolar en enfermos hematológicos con punto de corte de 1.0 superando la sensibilidad el 90% con valor predictivo positivo del 95% (34). En nuestro estudio se obtuvo una prueba positiva con índice de 3.0 en lavado broncoalveolar y una muestra sérica con el mismo índice 3.0 en un paciente con trasplante de células hematopoyéticas en el cual se comprobó Aspergilosis invasiva.

Este último método puede convertirse de gran utilidad diagnóstica y como alternativa ante la sospecha de Aspergilosis invasiva aunque es importante evaluar la técnica del laboratorio y su disponibilidad en este tipo de muestra.

Una de las principales limitaciones del estudio es que la mayoría de los datos se colectaron en forma retrolectiva, y estrictamente seis pacientes no eran candidatos para que se realizara la prueba.

Conclusiones

- La utilidad clínica de la prueba de galactomanano es aceptable en pacientes que cumplen con los criterios clínicos y radiológicos para sospechar aspergilosis invasiva.
- El desempeño puede mejorar si se aplican los criterios clínicos y radiológicos de sospecha de acuerdo a las guías para pacientes en riesgo.
- Otras infecciones micóticas invasivas contribuyen a resultados falsos positivos.

Tabla 1. CRITERIOS PARA DIAGNOSTICO DE ASPERGILOSIS INVASIVA DE ACUERDO AL CONSENSO EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer) y MSG (Mycoses Study Group)

AI PROBADA	<p>Presencia histo/citopatológica de hifas tabicadas procedentes de aspiración con aguja o biopsia con evidencia (microscópica o por imagen) de daño tisular asociado.</p> <p>Cultivo positivo de <i>Aspergillus spp.</i> procedente de una muestra (obtenida por procedimiento estéril) de una localización habitualmente estéril donde existen datos clínicos o radiológicos compatibles (excluyendo orina y mucosas).</p>
AI PROBABLE	<p>Deben cumplirse al menos un criterio de la sección factores del huésped más un criterio microbiológico más un criterio clínico mayor (o dos criterios clínicos menores) compatibles con infección.</p>
AI POSIBLE	<p>Deben cumplirse al menos un criterio de la sección factores del huésped más un criterio microbiológico o un criterio clínico mayor (o dos criterios clínicos menores) compatibles con infección.</p>

Factores del huésped: neutropenia < 500 neutrófilos/mm³ > 10 días, fiebre persistente (> 96 h) refractaria a antibióticos de amplio espectro en pacientes de alto riesgo, temperatura > 38 °C o < 36 °C y alguno de los factores predisponentes: neutropenia (> 10 días) en los 60 días anteriores, uso de inmunosupresores en los 30 últimos días, infección fúngica invasora (probada o probable) durante un episodio neutropénico previo, coexistencia de SIDA sintomático, signos y síntomas de enfermedad injerto contra huésped severa o enfermedad extensa crónica, uso prolongado (>3 semanas) de corticosteroides en los 60 días previos.

Criterios microbiológicos: cultivo positivo para *Aspergillus sp* a partir de esputo o lavado broncoalveolar, o microscopía directa positiva para *Aspergillus sp* de aspirado sinusal, esputo o lavado broncoalveolar. Antígeno de *Aspergillus sp* positivo en muestras de lavado broncoalveolar, líquido cefalorraquídeo o dos o más muestras de

sangre. Citología o microscopía directa positiva para *Aspergillus sp* en muestras habitualmente estériles.

Criterios clínicos:

Infeción de vías respiratorias inferiores:

Criterios mayores: cualquiera de los siguientes hallazgos de la tomografía axial computarizada: signo del halo, signo del aire creciente (o signo de la media luna) o cavitación sin área de consolidación (excluyendo *Mycobacterium*, *Legionella* o *Nocardia sp*).

Criterios menores: Síntomas (tos, dolor torácico, hemoptisis, disnea), roce pleural, nueva infiltración, derrame pleural.

Infeción rinosinusal:

Criterios mayores: evidencia radiológica de invasión (erosión, extensión por contigüidad, destrucción de la base del cráneo)

Criterios menores: Síntomas (rinorrea, congestión), ulceración de la mucosa nasal o epistaxis, tumefacción periorbitaria, dolor maxilar, lesiones necróticas o perforación del paladar duro.

Infeción del sistema nervioso central:

Criterios mayores: Evidencia radiológica (mastoiditis u otros focos parameningeos, empiema extradural, lesión sólida en parénquima cerebral o médula espinal).

Criterios menores: síntomas y signos neurológicos focales (crisis focales, hemiparesia y paresia de nervios craneales), irritación meníngea, anormalidades en la bioquímica del líquido cefalorraquídeo (siempre que los cultivos o hallazgos microscópicos sean negativos para otros patógenos y células malignas).

Infeción fúngica diseminada:

Criterios mayores: Hallazgos intraoculares sugestivos de coriorretinitis o endoftalmitis hematogena.

Criterios menores: Lesiones cutáneas papulares o nodulares sin otra causa.

ANEXO 2

HOJA DE CAPTURA DE DATOS

Protocolo: "DESEMPEÑO DE LA PRUEBA DE GALACTOMANANO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ASPERGILOSIS INVASIVA EN PACIENTES CON INMUNOCOMPROMISO EN EL HOSPITAL DE PEDIATRÍA DE CMN SXXI"

UMAE HOSPITAL DE PEDIATRÍA CMN SXXI

1.-Datos del paciente
a) Iniciales:
b) Afiliación:
c) Edad: _____ años _____ meses

d) Sexo: _____
2.- Fecha de ingreso: _____ Fecha de egreso: _____
3.- Diagnóstico de base: Tumor órgano sólido: SI ____ NO: ____ Cáncer de células hematopoyéticas: SI: ____ NO: ____ Especificar diagnóstico de certeza: _____
Fecha de diagnóstico: _____
4.- ¿Recibe quimioterapia citotóxica?: SI ____ NO: _____
Esquema de quimioterapia que recibe: _____ ¿Recibe Tratamiento con esteroides? SI: ____ NO: ____ Tiempo de tratamiento: ____ Dosis ____ mg/kg/día
Fecha inicio y término de última quimioterapia administrada: _____
5.- Neutropenia: SI ____ NO ____ Recuento de neutrófilos: _____
Tiempo de neutropenia: _____ días
6.- ¿Es receptor de trasplante? SI ____ NO ____ Tipo de trasplante: Tumor de órgano sólido: _____ Trasplante de células hematopoyéticas: _____ Órgano trasplantado: _____ Tipo de trasplante: _____ Fecha de trasplante: _____
7.- En el momento del diagnóstico de sospecha (AI) y toma de prueba (galactomanano)
Anotar: datos clínicos que tuvo el paciente y tiempo de evolución:
Fiebre
Tos
Dolor torácico
Hemoptisis
Disnea
Otros (especificar)
Exploración física: Incluir FR
8.- Tratamiento antimicrobiano que estaba recibiendo
Nombre de antibiótico (o los antibióticos)
Fecha de inicio de tratamiento antibiótico:
-
-
-
-
9.- Estudios de imagenología:
Rx de tórax: Fecha de realización: _____ Hallazgos:
Tomografía de tórax: SI ____ NO: ____ Fecha de realización: _____ Hallazgos:
Resonancia magnética nuclear: SI ____ NO ____ Fecha de realización: _____ Hallazgos:

10.- Resultado de prueba antigénica galactomanano:
Número de pruebas realizadas: _____
Fecha de realización: _____
1) _____ Resultado:Positivo:_____ (IDO) Negativo:_____
2) _____ Resultado:Positivo:_____ (IDO) Negativo:_____
3) _____ Resultado:Positivo:_____ (IDO) Negativo:_____
4) _____ Resultado:Positivo:_____ (IDO) Negativo:_____
5) _____ Resultado:Positivo:_____ (IDO) Negativo:_____
11.- Cultivos de líquidos corporales: SI _____ NO:_____ Fecha. _____
Sitio anatómico analizado: _____
Espuito _____ Aspirado traqueal _____ Lavado broncoalveolar. _____ Líquido de derrame pleural: _____
Resultado de cultivo: _____
12.- Estudios histopatológicos. SI: _____ NO: _____ Fecha. _____
Sitio anatómico analizado: _____
Resultados o hallazgos: _____
13.- Clasificación de la enfermedad:
Enfermedad probada: SI _____ NO: _____
Enfermedad posible: SI _____ NO: _____
Enfermedad probable: SI _____ NO: _____
Enfermedad descartada: SI _____ NO: _____
Fecha de diagnóstico: _____
14- Tratamiento administrado: _____ Tiempo de tratamiento: _____
15.- Desenlace. Mejoría _____
Complicaciones: _____
Muerte: _____
16.- Diagnóstico final: _____

BIBLIOGRAFÍA

1. - Kontoyiannis D., Bodey G. Invasive aspergillosis in 2002: an update. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002;21:161-172.
2. - Upton A., Gugel A., Leisenring W. Reproducibility of low galactomannan enzyme immunoassay index values tested in multiple laboratories. *J Clin Microbiol* 2005;43:4796–4800.
3. - Barnes P., Marr K. Aspergillosis: spectrum of disease, diagnosis and treatment. *Infect Dis Clin North Am* 2006;20:545-561.
- 4.- Perea S., Patterson T. Invasive *Aspergillus* infections in hematologic malignancy patients. *Semin Respir Infect.* 2002;17:99-105.
- 5.- Marr K., Carter R., Crippa F. Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2002; 34(7):909–917.
6. - Upton A., Kirby K., Carpenter P. Invasive aspergillosis following hematopoietic cell transplantation: outcomes and prognostic factors associated with mortality. *Clin Infect Dis* 2007;44:531–540.
- 7.- Quindós G., Eraso E., López L. Enfermedad fúngica invasora: ¿diagnóstico micológico convencional o molecular? *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2012;30:560-71.
8. - Singh N., Paterson D. *Aspergillus* infections in transplant recipients. *Clin Microbiol Rev* 2005;18:44-69.
9. - Hope W., Walsh T., Denning D. Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis. *Lancet* 2005;5:609–622.
- 10.- Herbrecht R., Letscher C., Oprea B. *Aspergillus* galactomannan detection in the diagnosis of invasive aspergillosis in cancer patients. *J Clin Onco* 2002;20:1898–1906.

11. - Ascoglu S., Rex J., Pauw B. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis* 2002;34:7–14.
- 12.- Subira M., Martino R., Rovira M. Clinical applicability of the new EORTC/MSG classification for invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematological malignancies and autopsy confirmed invasive aspergillosis. *Ann Hematol* 2003; 82:80–82.
- 13.- Leeflang M., Debets Y., Visser C. Galactomannan detection for invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008;(4): CD007394.
- 14.- De Paw B., Walhs T., Donnelly J. 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 (EORT/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis* 2008;46:1813-1821.
15. - Caillot D., Mannone L., Cuisenier B. Role of early diagnosis and aggressive surgery in the management of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients. *Clin Microbiol Infect* 2001;7:54–61.
- 16.- Latgé J., Kobayashi H., Debeauvais J. Chemical and immunological characterization of the extracellular galactomannan of *Aspergillus fumigatus*. *Infect Immun*1994; 62:5424–5433.
- 17.- Ascoglu S., Pauw B., Donnelly J. Reliability of clinical research on invasive fungal infections: a systematic review of the literature. *Med Mycol* 2001;39:35–40.
- 18.- Maertens J., Klont R., Masson C. Optimization of the cut off value for the *Aspergillus* double-sandwich enzyme immunoassay. *Clin Infect Dis* 2007;44:1329–1336.
- 19.- Maertens J., Glasmacher A., Selleslag D. Evaluation of serum sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for circulating galactomannan during caspofungin therapy: results from the caspofungin invasive aspergillosis study. *Clin Infect Dis* 2005; 41:9–14.

- 20.- Segal B., Walsh T. Current approaches to diagnosis and treatment of invasive aspergillosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;173:707–717.
21. - Allan E., Jordanides N., McLintock L. Poor performance of galactomannan and mannan sandwich enzyme-linked immunosorbent assays in the diagnosis of invasive fungal infection. *Br J Haematol* 2005;128:578–579
- 22.- Kawazu M., Kanda Y., Nannya Y. Prospective comparison of the diagnostic potential of real-time PCR, double-sandwich enzyme linked immunosorbent assay for galactomannan, and a (1,3) - beta-D- glucan test in weekly screening for invasive aspergillosis in patients with hematological disorders. *J Clin Microbiol* 2004;42: 2733–2741.
23. - Suankratay C., Kanitcharaskul P., Arunyingmongkol K. Galactomannan antigenemia for the diagnosis of invasive aspergillosis in neutropenic patients with hematological disorders. *J Med Assoc Thai* 2006;89:1851–1858.
- 24.- Florent M., Katsahian S., Vekhoff A. Prospective evaluation of a polymerase chain reaction-ELISA targeted to *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus flavus* for the early diagnosis of invasive aspergillosis in patients with hematological malignancies. *J Infect Dis* 2006;193:741–747.
- 25.- Lai C., Hsu H., Lee L. Assessment of Platelia aspergillus enzyme immunoassay for the diagnosis of invasive aspergillosis. *J Microb Immun Infect* 2007;40:148–153.
- 26.- Pfeiffer C., Fine J., Safdar N., et al. Diagnosis of invasive aspergillosis using a galactomannan assay: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2006;42:1417-27.
- 27.- Foy P., Burik J., Weisdorf D. Galactomannan antigen enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of invasive aspergillosis after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007;13(4):440–443.
- 28.- Challier S., Boyer S., Abachin E. Development of a serum-based Taqman real-time PCR assay for diagnosis of invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol* 2004;42: 844–846.

- 29.- Bialek R., Moshous D., Casanova J. Aspergillus antigen and PCR assays in bone marrow transplanted children. *Eur J Med Res* 2002;7:177–180.
- 30.- Hovi L., Saxen H., Saarinen U. Prevention and monitoring of invasive fungal infections in pediatric patients with cancer and hematologic disorders. *Pediatr Blood Cancer* 2007;48:28–34.
- 31.- Gerlinger M., Rousselot P., Rigaudeau S. False positive galactomannan Platelia due to piperacillin-tazobactam. *Med Mal Infect* 2012; 42: 10-4.
- 32.- Wheat L., Hackett E., Durkin M. Histoplasmosis-associated cross-reactivity in the BioRad Platelia Aspergillus enzyme immunoassay. *Clin Vaccine Immunol* 2007;14(5):638–40.
- 33.- Cuenca E. Diagnóstico de laboratorio de la enfermedad fúngica invasora. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30: 257-64.
- 34.- Maertens J., Maertens V., Theunissen K. Bronchoalveolar lavage fluid galactomannan for the diagnosis of invasive pulmonary aspergilosis in patients with hematologic diseases. *Clin Infect Dis*. 2009; 49: 1688-93