



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina
División de Estudios de Posgrado
Hospital General de México, O.D.

Empleo de Galactomanano como biomarcador para la determinación de incidencia de Aspergilosis Invasiva en pacientes con trastornos hematológicos de alto riesgo en el Hospital General de México, O.D.

TESIS DE POSGRADO

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN INFECTOLOGÍA

PRESENTA:

DR. EDUARDO MARTÍNEZ HERNÁNDEZ

Tutor de Tesis: Dra. María Luisa Hernández Medel
Profesor titular: Dr. César Rivera Benítez

Ciudad de México, Julio 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

SERVICIO DE INFECTOLOGÍA

TESIS

Empleo de Galactomanano como biomarcador para la determinación de incidencia de Aspergilosis Invasiva en pacientes con trastornos hematológicos de alto riesgo en el Hospital General de México

Dr. Eduardo Martínez Hernández
Residente de Segundo Año
Infectología
Hospital General de México

Dr. César Rivera Benítez
Jefe del Servicio de Infectología
Hospital General de México, O.D.
Titular del Curso Universitario de
Infectología, Hospital General de México

Dra. Ma. Luisa Hernández Medel
Coordinadora de investigación
y Médico Adscrito al Servicio de
Infectología, Hospital General de
México

AGRADECIMIENTOS

A los médicos y pacientes del servicio de Infectología, por complementar mi formación como Médico Internista en esta, mi área de mayor interés.

ÍNDICE

Información general del protocolo	5
Resumen	6
Desarrollo del Proyecto	8
Planteamiento del Problema	17
Objetivo	17
Material y Métodos	17
Análisis estadístico	20
Resultados	20
Discusión	24
Conclusiones	25
Bibliografía	27

TABLAS

Tabla 1 (Características demográficas de la población estudiada)	23
Tabla 2 (Análisis de subgrupos)	23

Empleo de Galactomanano como biomarcador para la determinación de incidencia de
Aspergilosis Invasiva en pacientes con trastornos hematológicos
de alto riesgo en el Hospital General de México

Hospital General de México, O.D., “Dr. Eduardo Liceaga”

Servicio de Infectología

Servicio de Hematología

Financiamiento: Ninguno

Investigadores:

- Dra. María Luisa Hernández Medel
Médico Especialista en Medicina Interna e Infectología
Maestra en Ciencias Médicas
Adscrita al Servicio de Infectología
Coordinadora de Investigación del Servicio de Infectología
RFC: HEML-660515-7P8
E-mail: maluisahdez@yahoo.com.mx
Tel: 55-1473-9463
- Eduardo Martínez Hernández
Médico Residente de segundo año de la especialidad en Infectología, Hospital
General de México, O.D.
Médico Especialista en Medicina Interna
RFC: MAHE-860510-2K1
E-mail: dr.emartinezh@outlook.com
Tel: 55-5504-3226

Jefe del Servicio de Infectología: Dr. César Rivera Benítez

Inicio protocolo: Agosto 2015

Terminación protocolo: Julio 2016



Resumen

Antecedentes. La Aspergilosis Invasiva (AI), es una infección oportunista, subdiagnosticada, que aumenta la morbimortalidad en el paciente inmunocomprometido. Los métodos empleados para el diagnóstico de AI en nuestra institución ofrecen escaso rendimiento diagnóstico por lo que, cuando es posible realizarlo, es de manera tardía.

Objetivo. Realizar tempranamente el diagnóstico de AI en pacientes de alto riesgo mediante un protocolo basado en biomarcadores, apoyado en la determinación sistemática semanal de galactomanano (GM), como complemento al abordaje clínico y radiológico.

Material y Métodos. Se diseñó un estudio observacional de cohorte prospectiva, longitudinal, abierto, incluyendo pacientes mayores de 18 años con diagnóstico de neoplasia hematológica conformando un grupo de alto y bajo riesgo para AI. En este trabajo, reportamos únicamente el de pacientes de alto riesgo. Este fue constituido por pacientes de alto riesgo para AI, es decir, aquellos con diagnóstico de leucemia aguda mieloide (LAM) en tratamiento mieloablativo y síndrome mielodisplásico (SMD). Semanalmente, se determinó el nivel de GM sérico en el periodo comprendido desde el primer al último día de quimioterapia de inducción a la remisión o de neutropenia grave documentada, respectivamente. Se consideró como caso probable a aquel paciente con reporte corroborado de Índice de Galactomanano positivo (IGM > 0.5) en ausencia de factores que condicionasen resultados falsos positivos y realizando el protocolo correspondiente para búsqueda de foco infeccioso, en caso de que este no fuese evidente.

Resultados. Durante el período estudiado, se realizó seguimiento a 40 pacientes. La edad media fue de 42.2 ± 11.7 años. El principal padecimiento de alto riesgo fue LAM (34p, 85%). El tiempo promedio de duración de neutropenia fue de 24 ± 5.2 días. La cuenta absoluta de neutrófilos durante ese período, fue de 210 ± 160 cels./mm³. Todos los pacientes presentaron un episodio de neutropenia febril (100%) durante el seguimiento. Se realizaron en total 154 determinaciones de GM. En 9 pacientes (22.5%) se reportó al menos una determinación de IGM positiva. En todos ellos, se documentó el empleo de piperacilina-tazobactam como condicionante de resultado falso positivo y en ninguno hubo un cuadro compatible con AI. No se documentó ningún caso de AI en este grupo de pacientes, considerado de alto riesgo.

Conclusiones. El empleo de un protocolo basado en biomarcadores, con medición sistemática de GM para detección de AI en todos los pacientes de alto riesgo no está justificado por ser un centro de baja incidencia. El uso de piperacilina-tazobactam, es un importante condicionante de resultados falsos positivos.

Palabras clave. Aspergilosis Invasiva, incidencia, neutropenia, galactomanano, piperacilina-tazobactam.

Abstract

Background. Invasive aspergillosis (IA) is an underdiagnosed opportunistic infection which increases morbidity and mortality in immunocompromised patients. The methods used for the diagnosis of IA at our institution offer little diagnostic performance so when it is possible to do, is belatedly.

Objective. Perform an early diagnosis of IA through a biomarker driven approach, supported by the systematic determination of galactomannan (GM) as an adjunct to clinical and radiological approach.

Material and Method. We designed an open cohort, observational, prospective, longitudinal study including patients over 18 years old diagnosed with hematologic malignancy, considered to be at high or low risk of IA. In this paper, we report only the high-risk patients. This was made up of patients diagnosed with acute myeloid leukemia (AML) in myeloablative chemotherapy and those with myelodysplastic syndrome (MDS). Once weekly, serum GM level was determined in the period from the first to the last day of induction to remission chemotherapy or documented severe neutropenia, respectively. In the absence of factors conditioning a false positive GM Index (GMI > 0.5), after making the corresponding protocol to search for infection source if this was not evident, was to be considered as a probable case.

Results. During the study period, monitoring was performed in 40 patients. The mean age was 42.2 ± 11.7 years. The main high-risk condition was AML (34p, 85%). The average duration of neutropenia was 24 ± 5.2 days. During this period, the absolute neutrophil count was 210 ± 160 cells/mm³. All patients had an episode of febrile neutropenia (100%). A total of 154 GM determinations were performed. Nine patients (22.5%) had at least one GMI positive value. In all patients in whom a positive GMI was detected, the use of piperacillin-tazobactam was documented as a condition of false positive and none of them had a clinical picture compatible with IA. No cases of IA were documented in this group of patients considered to be at high risk for the condition.

Conclusions. The use of a systematic GM measurement protocol in a biomarker driven approach for detecting IA in all patients at high risk is not justified since the incidence in our center is very low. The use of piperacillin-tazobactam, is an important source of false positive results.

Keywords. Invasive aspergillosis, incidence, neutropenia, galactomannan, piperacillin-tazobactam.

Desarrollo del proyecto

Antecedentes:

El término Aspergilosis se refiere a enfermedad debida a alergia o invasión de vías aéreas, cutánea o diseminación extrapulmonar (Aspergilosis Invasiva, AI) de diversas especies del hongo *Aspergillus*, principalmente *A. fumigatus*, *A. flavus* y *A. terreus*⁽¹⁻²⁾.

La infección por *Aspergillus spp.*, se adquiere a través de la inhalación de conidios, sin embargo, el riesgo para presentar la enfermedad es resultado de diversos factores: ambientales, principalmente por exposición a inóculos elevados, condiciones del hospedero y propiedades del microorganismo, los 2 últimos, tienen en común la alteración en el aclaramiento de conidios⁽³⁻⁴⁾. La línea de defensa más importante contra *Aspergillus spp.* está constituida por macrófagos alveolares, estos reaccionan contra componentes de la pared celular del hongo, propiciando inflamación local mediada por reclutamiento de neutrófilos que tienen por objeto limitar la extensión del proceso infeccioso^(1, 5). No es sorprendente por tanto, que un importante factor de riesgo lo constituyan procesos congénitos o adquiridos que alteran la inmunidad celular. Entre los factores asociados al microorganismo, se encuentran toxinas, proteasas y metabolitos secundarios que ejercen múltiples efectos en los mecanismos de defensa del hospedero⁽¹⁻³⁾.

Las formas invasivas de aspergilosis en el hospedero inmunocompetente son infrecuentes. Los principales grupos de riesgo son constituídos por aquellos pacientes con inmunosupresión asociada al tratamiento de neoplasias hematológicas (quimioterapia mieloablativa), trasplante de progenitores hematopoyéticos, trasplante de órgano sólido, inmunodeficiencia celular y otras enfermedades tratadas con



inmunosupresores, principalmente del grupo de biológicos que tienen como blanco la acción del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)⁽¹⁻³⁾.

Cuando *Aspergillus spp.* invade la vía aérea y no hay aclaramiento efectivo, la germinación de los conidios en crecimiento expone en su superficie celular 1,3- β -D-glucano que activa la respuesta inmunitaria por medio de receptores de reconocimiento de patrones (PRR), principalmente TLR (Toll Like Receptor) 2 y 4 en los macrófagos alveolares. Asimismo, hay activación de fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K), proteína cinasa activada por mitógeno p38 (MAPK) y ERK1/2, resultando en liberación de Interleucina (IL) 8⁽⁶⁻⁸⁾. La fagocitosis de los conidios genera una respuesta protectora Th₁ por las células dendríticas mientras que la fagocitosis de hifas genera una respuesta desfavorable Th₂ y liberación de IL-10 guiada por CD4⁽⁹⁻¹⁰⁾. La traducción de estas interacciones hospederopatógeno a nivel tisular es la invasión vascular, que es mediada inicialmente por la unión de la pared fúngica a componentes de la membrana basal, matriz extracelular y otros elementos celulares, lo que tiene como consecuencia infarto y necrosis del tejido involucrado⁽⁵⁾.

La epidemiología es altamente variable. En la serie histórica más grande, que corresponde al centro de cáncer “MD Anderson”, en el período comprendido de 1989 a 2008, 371 IFI se confirmaron por cultivo o histopatología en 1213 autopsias (31%), en los primeros 15 años fue de 0.3 por cada 100 autopsias y en los últimos 5 años, de 0.19 por cada 100 autopsias. Leucemia Mieloblástica Aguda (LAM) y Síndrome Mielodisplásico (SMD) fueron las entidades más asociadas a IFI, representando el 50% de enfermedades subyacentes. La mayoría de pacientes (75%), tenía evidencia de actividad



neoplásica al momento de su muerte. La IFI más frecuente fue aspergilosis, ya sea probable o probada, con 28 de 59 casos en los últimos 5 años⁽³⁾.

Los pacientes con neutropenia son un grupo con riesgo elevado de infecciones bacterianas, fúngicas invasivas (IFI) y virales. Las IFI representan una de las principales causas de muerte en pacientes con neoplasia hematológica, después de la falla a la remisión del cáncer o el rechazo del trasplante de células hematopoyéticas^(2,3). El período de mayor incidencia es después de 2-3 semanas de neutropenia y habitualmente con cuenta de neutrófilos <500 células/mm³. Las manifestaciones clínicas dependen de los sitios afectados cuando hay invasión extensa, sin embargo, el punto de partida por ser el órgano de entrada, son las manifestaciones respiratorias. Cabe destacar, que estas son inespecíficas e indistinguibles de otros procesos infecciosos pulmonares. Los síntomas que se presentan con mayor frecuencia son tos (94.7%), que puede ser productiva o seca, disnea (52.6%), fiebre (21.1%), sibilancias (15.8%) y diaforesis nocturna (5.3%)⁽¹¹⁻¹³⁾. Los pacientes con mayor inmunosupresión presentan menos síntomas y desarrollan rápidamente la infección invasiva progresiva⁽¹¹⁻¹³⁾. Por dichas características clínicas, el diagnóstico debe sustentarse mediante estudios auxiliares, principalmente estudios de imagen, biomarcadores y el laboratorio de micología.

En primera instancia, por la facilidad en su obtención se encuentra la radiografía simple de tórax, en esta habitualmente se aprecian hallazgos inespecíficos, siendo lesiones focales el más frecuente. 57.9% de los pacientes no presentan alteraciones radiográficas, por ello, la Tomografía Computada de Alta Resolución (TCAR), es el estudio de imagen de elección, ya que es el que tiene mejor rendimiento diagnóstico para AI⁽¹⁴⁻¹⁸⁾. Los hallazgos más representativos son nódulos pequeños (<1 cm, 43%) con o sin cavitación,

consolidación (26%) en parches o segmentaria, macronódulos (21%) e infiltrados peribronquiales (9%)⁽¹⁷⁾. En ocasiones, dichas consolidaciones, se aprecian rodeadas por un halo de aspecto en vidrio deslustrado que representa la hemorragia alveolar que acompaña a un foco de necrosis que se denomina “signo del halo”, la incidencia varía de un 100% en el día 0, 25% a los 7 días y 19% en el día 14^(1,16). Tras la progresión clínica, aún bajo tratamiento adecuado, los nódulos pueden cavitarse, con separación entre el parénquima necrótico y el sano circundante, formando una imagen falciforme denominada “signo de la semiluna aérea”, que aparece después de 2-3 semanas, normalmente indicadora de recuperación de neutropenia, considerándose un signo de buen pronóstico^(1,15,18).

El diagnóstico microbiológico en AI representa un reto constante⁽¹⁹⁾, ya que como se ha mencionado, en la mayoría de los casos, la enfermedad es producto del aclaramiento deficiente de conidios, no todos los pacientes cursan con tos productiva, y obtener muestras de líquido de lavado bronquial (BAL) vía fibrobroncoscopía para realizar visión directa y cultivo, o en su defecto, biopsia pulmonar para estudio histopatológico, no están exentas de complicaciones y su rendimiento diagnóstico es cuestionable en el contexto de inmunosupresión marcada⁽²⁰⁾. Un riesgo adicional lo constituye la trombocitopenia que habitualmente presentan los pacientes en riesgo, ya sea per sé por el padecimiento hematológico o consecuencia del tratamiento mieloablativo. Otra limitante, es el tiempo que se requiere para obtener resultado definitivo, que condiciona un importante retraso en el inicio del tratamiento, dando relevancia a otros métodos diagnósticos indirectos, no basados en cultivo, denominados genéricamente biomarcadores^(19,20).



El galactomanano (GM) es un componente de la pared celular de diversos hongos, incluyendo *Aspergillus spp.* Estructuralmente está conformado como heptopolisacárido termoestable que consiste en un centro manano no inmunogénico con unidades de galactofuranosil. GM es el principal biomarcador utilizado en esta enfermedad⁽¹⁹⁻²¹⁾.

Un método estandarizado para la medición de GM, es el inmunoensayo enzimático (ELISA) (Platelia™. BioRad, Marnes-la-Coquette, Fr.). El valor se expresa en índice de densidad óptica (IGM) y el fabricante recomienda un punto de corte para considerarlo positivo en suero, de 0.5 en dos muestras consecutivas, o 0.7 en una sola muestra⁽¹⁹⁾. La determinación de GM en líquido de BAL tiene gran utilidad porque hay importante producción local en el tracto respiratorio, su mejor especificidad es con valor de IGM 1-1.5, aunque el fabricante de la prueba sugiere considerarlo como positivo con IGM > 0.5^(19,20).

La especificidad de esta prueba se encuentra limitada principalmente por resultados falsamente positivos que se pueden observar con mayor frecuencia en infecciones y coinfecciones por otros mohos como *Penicillium spp.*, *Fusarium spp.*, *Alternaria spp.*, *Blastomyces spp.* e *H. capsulatum*, sin embargo, esto no debe considerarse una desventaja, pues puede permitir la detección oportuna de otras entidades clínicas que igualmente requieren diagnóstico y tratamiento tempranos⁽¹⁹⁾. Otra causa de falsa positividad es el tratamiento con algunos beta lactámicos parenterales tales como piperacilina-tazobactam y amoxicilina-clavulanato. Aunque no se sabe con certeza, se ha conceptualizado que esto es causado por la presencia de galactofuranosil en la formulación de los medicamentos que propicia reacción cruzada con el anticuerpo dirigido a este componente que se utiliza en el inmunoensayo enzimático⁽²³⁾. En general,



se reporta como una causa infrecuente de falsos positivos^(19,22-24), aunque esto varía de acuerdo a la preparación genérica de dichos medicamentos utilizada en cada país⁽²²⁻²⁴⁾.

Respecto al rendimiento diagnóstico de GM, se han realizado revisiones sistemáticas⁽²⁵⁻²⁸⁾ y meta-análisis^(25,26,29). En estos, se reporta sensibilidad y especificidad para IGM sérico de 78-79% y 81-86% respectivamente, mientras en líquido de BAL la sensibilidad es de 82-87% con especificidad de 89-97%, utilizando como punto de corte un IGM de 0.5⁽²⁵⁻²⁹⁾. La detección de galactomanano en lavado bronquioalveolar se asocia a mayor exactitud, con sensibilidad y especificidad reportadas en 90% y 94% respectivamente. Asimismo, se reporta un alto valor predictivo negativo (VPN) >95% con un valor de corte de IGM menor a 0.5⁽²⁵⁻²⁹⁾. El uso combinado de GM en suero y en líquido de BAL, con el punto de corte sugerido, incrementa la Sensibilidad de la prueba a 90% a expensas de disminuir la especificidad a 89%^(19,20). El tratamiento antifúngico dirigido contra mohos previo a la obtención de muestras, es la principal causa de resultado falso negativo⁽¹⁹⁻²⁰⁾.

La Organización Europea para la Investigación y Tratamiento de Cáncer / Grupo de Estudio de Micosis (EORTC/MSG), agrupa el diagnóstico de AI en probada, probable y posible⁽³⁰⁾. Diagnóstico posible es aquel en el que se agrupan casos con los factores del hospedero apropiados con evidencia clínica sugerente, pero sin sustento micológico.

Diagnóstico probable se conforma por quienes, además de lo anterior, tienen evidencia microbiológica expresada en biomarcadores fúngicos (galactomanano y/o 1-3 β-D-glucano) y finalmente, el diagnóstico definitivo, es aquel con aislamiento del microorganismo en cultivo o comprobación del mismo en estudio histopatológico⁽³⁰⁾.

Anteriormente, a nivel mundial y aún en centros que carecen de métodos diagnósticos no basados en cultivos, la estrategia empleada con mayor frecuencia ante un paciente

con factores de riesgo, con fiebre persistente y sin causa identificada a pesar de la implementación de una estrategia antimicrobiana considerada adecuada, era el proporcionar tratamiento antifúngico empírico^(31,32), sin embargo, esto no demostró tener efecto benéfico en la sobrevida del paciente, inicialmente atribuidos a la toxicidad de anfotericina B, y se asoció con gastos excesivos derivados del dicho manejo⁽³³⁾. Recientemente, con el advenimiento de nuevos antifúngicos, se ha limitado el perfil de toxicidad farmacológica, empero, el resultado en cuanto a la sobrevida continúa siendo el mismo, lo cual subrayó como incorrecto el proporcionar tratamiento antifúngico con fiebre persistente como único fundamento⁽³¹⁾, a pesar de ello, esta conducta sigue siendo recomendada por algunos grupos⁽³⁴⁻³⁵⁾.

El abordaje basado en manifestaciones clínicas debe ser juicioso e individualizado, que tenga como premisa el proporcionar tratamiento dirigido al reunir una constelación de factores predisponentes, hallazgos clínicos y radiológicos coherente, sustentado en una búsqueda intencionada del agente infeccioso por medio de estudios microbiológicos⁽³¹⁾.

En pacientes que serán sometidos a quimioterapia, recientemente se han comenzado a emplear estrategias preventivas o basadas en biomarcadores que pueden implementarse a modo de vigilancia o monitoreo con objeto de realizar el diagnóstico en fases tempranas sin que existan manifestaciones clínicas. Esta estrategia contempla la medición semanal o bisemanal de GM iniciando al principio del ciclo de inducción a la remisión y terminado tras la resolución de neutropenia grave (< 500 cels./mm³), debiendo implementar un protocolo de búsqueda intencionada de AI en caso de presentarse resultados positivos o deterioro clínico no explicado⁽³¹⁾.



A pesar de establecer el tratamiento dirigido, la mortalidad de AI es elevada⁽³⁶⁻³⁸⁾, sin embargo, las cifras reportadas varían de acuerdo al grupo de riesgo, el fármaco empleado y factores pronósticos adicionales, pero en general, tienden a la disminución en las series más recientes. En el grupo de receptores de trasplante de células hematopoyéticas, la tasa de mortalidad histórica a un año es de 80%⁽³⁶⁾. De 2001 a 2005, la mortalidad global en el mismo grupo de pacientes fue de 58% a las 12 semanas⁽³⁷⁾, siendo tan baja como 29-42% cuando se han excluido a este grupo de riesgo⁽³⁸⁾.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En nuestro centro hospitalario se brinda atención médica a un número importante de pacientes con diagnóstico comprobado de neoplasia hematológica, que reciben quimioterapia y cursan con neutropenia febril en algún momento de su estancia hospitalaria. Teniendo en cuenta que se trata de pacientes de alto riesgo, el uso de terapia antifúngica empírica es común en este contexto y la recuperación del agente etiológico es infrecuente, a pesar de que se realizan estudios micológicos básicos, tales como visión directa y cultivo. En nuestra institución no existen datos epidemiológicos acerca de AI en pacientes de alto riesgo.

En este estudio se propone el empleo de una estrategia de vigilancia basada en biomarcadores, apoyada en la determinación seriada de galactomanano (GM), como complemento a la estrategia tradicional, basada en manifestaciones clínicas y radiológicas, misma que se sustentará también con determinación de GM además de los estudios micológicos básicos.

JUSTIFICACIÓN

Dado que el cuadro clínico de AI es inespecífico, que los estudios micológicos, cuando es posible obtener muestras biológicas, son de bajo rendimiento y que todo ello condiciona un potencial retraso en el diagnóstico y terapéutico. La adición de un biomarcador de alta sensibilidad como GM, ya sea como parte de vigilancia o como complemento al abordaje tradicional, aumentará nuestra capacidad de detección de AI.

HIPÓTESIS

La estrategia propuesta permitirá la detección precoz de AI, consecuentemente, se optimizará el tratamiento dirigido y permitirá establecer la incidencia de esta entidad clínica en nuestra institución.

OBJETIVOS

Primario:

Establecer la incidencia de AI en pacientes con padecimientos hematológicos de alto riesgo.

Secundarios:

Identificar los factores de riesgo específicos para el desarrollo de aspergilosis

Correlación con manifestaciones clínicas y estudios de imagen.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño. Estudio unicéntrico, observacional, de cohorte prospectiva, longitudinal, abierto.

Sitio. Servicio de Hematología, Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”, O.D.

Sujetos. Se incluirán hombres y mujeres mayores de 18 años de cualquier género, que cumplan con los criterios de inclusión.

Criterios de inclusión:

Diagnóstico de leucemia aguda mieloide (LAM) en protocolo de inicio de tratamiento con quimioterapia de inducción a la remisión.

Diagnóstico de síndrome mielodisplásico (SMD) con las siguientes características:

- Neutropenia grave (Neutrófilos absolutos ≤ 500 cels./mm³).
- Neutropenia prolongada (> 7 días).
- Fiebre > 38.3 °C, atribuible a infección y que sea persistente a pesar del tratamiento antimicrobiano dirigido, con adecuada cobertura para el sitio de sospecha y de espectro acorde a la epidemiología local.
- Hallazgos en estudios de imagen sugerentes de aspergilosis.

Criterios de exclusión:

Los pacientes con otros diagnósticos de neoplasia hematológica, tales como leucemia aguda linfoblástica (LAL), mieloma múltiple (MM), anemia aplásica (AA), linfomas de Hodgkin (LH) y no Hodgkin (LNH), se estudiaron como parte del subgrupo de bajo riesgo y no se reportan en este trabajo.

Pacientes que hayan recibido profilaxis con posaconazol o voriconazol. Tratamiento antifúngico con cobertura contra mohos en los 30 días previos al inicio de quimioterapia. Diagnóstico de infección fúngica invasiva en los 30 días previos al inicio de la quimioterapia.

Variables. Demográficas (género, edad, estancia hospitalaria), clínicas (diagnóstico, cuenta de neutrófilos, días de neutropenia, manifestaciones clínicas) y paraclínicas (radiografía de tórax, galactomanano, cultivos).

Periodo. Durante 11 meses, agosto 2015 a julio 2016.

Procedimiento. Captura de información al momento del ingreso al protocolo y seguimiento hasta el término del seguimiento. Recolección y almacenamiento de muestras de sangre: Se recolectarán **3mL** de sangre completa mediante venopunción,

estos se verterán en un tubo sin anticoagulante y se conservarán a temperatura ambiente. En caso de que la muestra requiera ser almacenada hasta el día siguiente, deberá conservarse entre 4 y 8 °C, máximo por 24 horas, en caso de exceder este lapso de tiempo, debe conservarse a -20 °C.

La periodicidad de la toma de muestras, en caso de realizarse en base a vigilancia durante el tratamiento de inducción a la remisión, será de forma semanal, iniciando el primer día de quimioterapia y concluyendo hasta la recuperación de neutropenia grave. En caso de realizarse en base a manifestaciones clínicas como complemento al abordaje tradicional, se recolectará la muestra en el momento de la presentación de sintomatología sugerente. En todos los casos se consideró como positivo un valor de IGM ≥ 0.5 en dos muestras consecutivas o ≥ 0.7 en una sola muestra.

Por las características de los pacientes estudiados, quienes en su mayoría cursan con trombocitopenia, en los casos de trombocitopenia grave (Conteo plaquetario $< 10\ 000$ cels./mm³), no serán sometidos a fibrobroncoscopia para obtención de líquido de BAL ni se considerará la realización de biopsia pulmonar por el riesgo que conlleva cualquiera de estos procedimientos.

Las muestras de sangre obtenidas, se trasladaron en contenedores específicamente destinados para transporte, al laboratorio de Micología del Hospital Infantil de México “Federico Gómez”, donde se procesará para medición de IGM (BioRad Platelia™ *Aspergillus* Ag, Marne La-Coquette, Fr.). El resultado se obtuvo entre 4 y 6 horas posterior al procesamiento de la muestra, siendo reportado por escrito al pie de las hojas de captura de datos por el personal que la procesó.

Ética. Los Comités de Investigación, Ética y Bioseguridad del Hospital estuvieron enterados del protocolo y se realizaron las modificaciones pertinentes al mismo para cumplir los requerimientos establecidos por ambos. La confidencialidad de los pacientes que formaron parte del estudio fue garantizada mediante la adjudicación a cada paciente de un folio constituido por 4 dígitos que correspondieron al consecutivo de las hojas de captura elaboradas previo a la toma de cada muestra. Estas hojas de recolección permanecieron custodiadas por los responsables del estudio.

Análisis estadístico. Estadística descriptiva (frecuencias, proporciones, medias aritméticas, desviaciones estándar).

RESULTADOS

Durante el período de seguimiento, se estudiaron 40 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión. 23 fueron del sexo masculino (69.6%) y 17 del sexo femenino (30.4%). La media de edad fue de 42 ± 11.7 años. 34 pacientes (85%) tenían LAM como padecimiento de base, mientras que el resto (6p, 15%) correspondió a pacientes con SMD. La duración promedio de neutropenia fue de 24 ± 5.2 días y la cuenta absoluta de neutrófilos tuvo como media 210 cels./mm^3 . Todos los pacientes (100%) presentaron al menos un episodio de neutropenia febril durante su seguimiento.

30 pacientes (75%) presentaron al menos un síntoma sugerente de afección respiratoria que orientó la conducta de diagnóstico y tratamiento dirigido hacia dicho aparato. En 9 pacientes (22.5%) no se logró identificar el foco infeccioso.

En todos los pacientes, se realizó semanalmente una serie de hemocultivos y urocultivo como parte del protocolo de rutina en el servicio de Hematología y, como ya se ha

comentado, se añadió a este protocolo una determinación semanal de GM. En total se realizaron 154 determinaciones de GM. De los 40 pacientes que conformaron el total de la muestra, 9 pacientes (22.5%) tuvieron al menos un resultado positivo de IGM.

De acuerdo a características clínicas, reportamos los hallazgos del estudio en 2 subgrupos: sintomáticos y asintomáticos.

Grupo de pacientes sintomáticos.

30 pacientes (75%) presentaron al menos un síntoma sugerente de afección respiratoria. LAM fue el diagnóstico de base en 24 pacientes (80%), mientras que SMD lo fue en 6 (20%). 16 pacientes (53.3%) fueron del sexo masculino y 14 del sexo femenino (46.7%). La duración de neutropenia fue de 24.6 ± 5.5 días, con cuenta de neutrófilos media de 245 cels./mm³.

Los síntomas en cuestión fueron tos, en 17 individuos (56.6%), la cual fue productiva en 6 de ellos (20%), 13 (43.3%) presentaron disnea y 1 (3.3%) dolor pleurítico. Se realizó radiografía simple de tórax a todos los pacientes al inicio del cuadro clínico, el principal hallazgo fue consolidación lobar en 17 (56.6%), seguido de imagen alveolar “de focos múltiples” en 4 (13.3%). En 9 pacientes (30%), la imagen obtenida fue normal.

En los 6 pacientes con tos productiva se obtuvo muestra de esputo, esta se envió a cultivo bacteriológico, micológico y visión directa de hongos, no se obtuvo ningún resultado positivo.

En 7 pacientes de este grupo (23.3%), se obtuvo un resultado de IGM positivo. determinación de GM. En todos ellos, piperacilina-tazobactam fue parte del esquema antimicrobiano durante el tiempo en que se realizó la determinación de GM. Posterior a la conclusión del tratamiento antimicrobiano, la totalidad de pacientes tuvo

recuperación favorable del cuadro clínico en cuestión. En ningún caso se utilizó tratamiento antimicótico. Dado que el comportamiento clínico tras el manejo empleado no fue compatible con AI, se consideró que todos los resultados de IGM, correspondieron a falsos positivos.

Grupo de pacientes asintomáticos.

10 pacientes, todos con diagnóstico de LAM, salvo por la presentación de fiebre, cursaron asintomáticos durante todo el período de neutropenia. La edad promedio fue de 42.6 ± 13 años, 7 (70%) fueron del sexo masculino y 3 (30%), del sexo femenino. La duración de neutropenia fue de 22.1 ± 3.5 días, con cuenta media de 140 cels./mm^3 .

En 2 pacientes de este grupo, se obtuvo un resultado de IGM positivo, ambos se encontraban bajo tratamiento con piperacilina-tazobactam y tuvieron resolución favorable del cuadro de neutropenia febril tras la conclusión del ciclo de tratamiento. En ningún caso se empleó tratamiento antimicótico.

Resultados positivos de IGM.

En 13 pacientes (32.5%) se utilizó piperacilina-tazobactam como parte del esquema antimicrobiano. En 10 (76.9%) de estos 12 individuos, se reportó al menos un resultado positivo de IGM en el período de seguimiento.



Tabla 1. Características demográficas

Variable	Resultado (n= 40) (%)
Edad (años)	42 + 11.7
Sexo	
Masculino	23 (69.6)
Femenino	17 (30.4)
Padecimiento base	
Leucemia aguda mieloide (LAM)	34 (85%)
Síndrome Mielodisplásico (SMD)	6 (15%)
Cuenta media de neutrófilos (cels./mm ³)	210
Duración de neutropenia (días)	24 + 5.2
Pacientes que presentaron neutropenia febril	40 (100)
Pacientes sintomáticos	30 (75)
Determinaciones de galactomanano (GM)	154
Pacientes con al menos una determinación positiva de índice de densidad óptica de galactomanano (IGM)	9 (22.5)

Tabla 2. Análisis de subgrupos

Subgrupos	Resultado (%)
Pacientes sintomáticos	30 (75)
Padecimiento base	
LAM	24 (80)
SMD	6 (20)
Cuenta media de neutrófilos (cels./mm ³)	245
Tos	17 (56.6)
Espujo	6 (20)
Disnea	13 (43.3)
Dolor pleurítico	1 (3.3)
Pacientes con al menos una determinación positiva de IGM	7 (23.3)
Uso concomitante de piperacilina-tazobactam	7 (100)
Pacientes asintomáticos	10 (25)
Padecimiento base	
LAM	10 (100)
Cuenta media de neutrófilos (cels./mm ³)	140
Pacientes con al menos una determinación positiva de IGM	2 (20)
Uso concomitante de piperacilina-tazobactam	2 (100)
Casos probables o comprobados de Aspergilosis Invasiva	0

DISCUSIÓN

La incidencia de IFI en pacientes con neoplasias hematológicas se estima que es en general baja. De acuerdo al reporte que se consulte, la incidencia en estos pacientes se estima entre 1.3% y 31%^(3,40-43), mientras que AI es la más frecuente en todas las series recientes representando del 50% a 73%^(3,40-41) de las IFI y LAM, la entidad subyacente de mayor frecuencia en pacientes tanto con IFI, como con AI 31 a 71%^(3, 40-42). La variación geográfica e interinstitucional es importante, ya que además de las diferencias epidemiológicas, no se dispone de los mismos recursos en todos los centros hospitalarios. Por otra parte, el uso extendido de agentes profilácticos contra levaduras, ha ocasionado un viraje hacia la presentación de infecciones por mohos como las micosis más frecuentes en los grupos de riesgo.

Nuestro estudio tuvo como propósito el establecer una cifra de incidencia mediante la adición de una herramienta diagnóstica previamente inexistente en la institución, altamente sensible y que ha probado su utilidad en mejorar el perfil de detección de AI en diversos trabajos⁽⁴⁰⁻⁴²⁾. En el grupo de pacientes seleccionado, que conforma el de mayor riesgo para presentación de IFI^(3,40-42), no se documentó ningún caso probable o comprobado de AI, por lo que diferencia de otras investigaciones, la incorporación de GM tanto en la estrategia de vigilancia en pacientes asintomáticos y en la búsqueda intencionada guiada por manifestaciones clínicas, no impactó en la orientación diagnóstica hacia una IFI. Esto arroja dos principales observaciones, en primera instancia, que nuestro centro hospitalario, a pesar de que no contamos con agentes profilácticos contra mohos, tiene una muy baja incidencia de AI, ya que este protocolo estuvo respaldado por un biomarcador con la sensibilidad suficiente para una adecuada

detección, sin embargo, como se ha sugerido en algunos trabajos, el complementar la búsqueda intencionada de *Aspergillus spp.* con estudios adicionales como PCR^(19,44) puede incrementar aún más la capacidad de detección de AI y constituir el enfoque óptimo para tal finalidad⁽⁴⁴⁾. Por desgracia, la disponibilidad global de este método aún es distante.

Por último, pero no por ello menos importante, ya que en general se considera como un problema menor, o incluso inexistente en algunos países⁽²²⁻²⁴⁾, destaca el alto porcentaje de resultados falsos positivos cuando se emplea piperacilina-tazobactam dentro del esquema de tratamiento concurrente, el cual es considerado como primera línea de farmacoterapia en pacientes con neutropenia febril de bajo riesgo⁽³⁵⁾, o en aquellos en que se opta una estrategia de escalamiento⁽⁴⁵⁾. En nuestra institución, se cuenta con una formulación genérica, lo cual debe tenerse en cuenta para futuras referencias y la cautelosa interpretación de resultados positivos en este subgrupo de pacientes.

CONCLUSIONES.

El empleo de un protocolo preventivo de abordaje basado en biomarcadores, con medición sistemática de GM para detección de AI en todos los pacientes de alto riesgo no está justificado por ser un centro de baja incidencia. A pesar de no haber detectado ningún caso de AI en el grupo reportado, la adición de GM al protocolo convencional cuando existe sospecha clínica, constituye un arma importante para lograr un diagnóstico fundamentado y establecer estrategias terapéuticas racionales, oportunas y

dirigidas. En nuestra institución, el uso de la formulación genérica de piperacilina-tazobactam, es un importante condicionante de resultados falsos positivos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gregg KS, Kauffman CA. Invasive Aspergillosis: Epidemiology, Clinical Aspects, and Treatment. *Semin Respir Crit Care Med*; 36: 662-672.
2. Walsh T, Anaissie E, Denning D, Herbrecht R, Kontoyiannis D, Marr K, et. al. Treatment of Aspergillosis: Clinical Practice Guidelines of the Infectious Disease Society of America. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 327-60.
3. Lewis R, Cahyame-Zuniga L, Leventakos K, Chamilos G, Ben-Ami R, Tamboli P, et. al. Epidemiology and sites of involvement of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies: a 20-year autopsy study. *Mycoses* 2013; 56(6): 638-45.
4. Kanamori H, Rutala WA, Sickbert-Bennett EE, Weber DJ. Review of fungal outbreaks and infection prevention in healthcare settings during construction and renovation. *Clin Infect Dis* 2015; 61: 433.
5. Chai LYI, Hsu LY. Recent advances in invasive pulmonary aspergillosis. *Curr Opin Pulm Med*. 2011 May;17(3): 160-6.
6. Lass-Flörl C, Roilides E, Löffler J, Wilflingseder D, Romani L. Minireview: host defence in invasive aspergillosis. *Mycoses* 2013;56(4): 403-13.
7. Chotirmall SH, Al-Alawi M, Mirkovic B, Lavelle G, Logan PM, Greene CM, et. al. Aspergillus-associated airway disease, inflammation, and the innate immune response. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 723129.
8. Thakur R, Anand R, Tiwari S, Singh AP, Tiwary BN, Shankar J. Cytokines induce effector T-helper cells during invasive aspergillosis; what we have learned about T-helper cells?. *Front Microbiol* 2015; 11(6): 429.
9. Camargo JF, Husain S. Immune correlates of protection in human invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 2014; 59: 569.
10. Camargo JF, Bhimji A, Kumar D, Kaul R, Pavan R, Schuh A, et. al. Impaired T cell responsiveness to interleukin-6 in hematological patients with invasive aspergillosis. *PLoS One* 2015; 10(4): e01231171.
11. Ohba H, Miwa S, Shirai M, Kanai M, Eifuku T, Suda T, et. al. Clinical characteristics and prognosis of chronic pulmonary aspergillosis. *Respir Med* 2012; 106(5):724-9.
12. Zhang R1, Wang S1, Lu H2, Wang Z3, Xu X4. Misdiagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: a clinical analysis of 26 immunocompetent patients. *Int J Clin Exp Med*. 2014;7(12):5075-82.



13. Cornillet A, Camus C, Nimubona S, Gandemer V, Tattevin P, Belleguic C, et. al. Comparison of epidemiological, clinical, and biological features of invasive aspergillosis in neutropenic and nonneutropenic patients: a 6-year survey. *Clin Infect Dis* 2006; 43(5): 577-84.
14. Horger MI, Hebart H, Einsele H, Lengerke C, Claussen CD, Vonthein R, Pfannenber C. Initial CT manifestations of invasive pulmonary aspergillosis in 45 non-HIV immunocompromised patients: association with patient outcome?. *Eur J Radiol*. 2005 Sep;55(3):437-44.
15. Koren Fernández LI, Alonso Charterina S2, Alcalá-Galiano Rubio A2, Sánchez Nistal MA2. The different manifestations of pulmonary aspergillosis: multidetector computed tomography findings. *Radiologia*. 2014 Nov-Dec;56(6):496-504.
16. Georgiadou SP, Sipsas NV, Marom EM, Kontoviannis DP. The diagnostic value of halo and reversed halo signs for invasive mold infections in compromised hosts. *Clin Infect Dis* 2011; 52: 1144.
17. Caillot D, Casasnovas O, Bernard A, Couaillier JF, Durand C, Cuisenier F, et. al. Improved management of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients using early thoracic computed tomographic scan and surgery. *J Clin Oncol* 1997; 15(1): 139-47.
18. Stanzani M, Battista G, Sassi C, Lewis RE, Tolomelli G, Clissa C, et.al. Computed tomographic angiography for diagnosis of invasive mold diseases in patients with hematological malignancies. *Clin Infect Dis* 2012; 54(5): 610-6.
19. Beirão F, Araujo R. State of the art diagnosis of mold diseases: a practical guide for clinicians. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013; 32(1): 3-9.
20. Mikulska M, Furfaro E, Viscoli C. Non-cultural methods for the diagnosis of invasive fungal disease. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2015; 13(1): 103-117.
21. Desoubeaux G, Bailly É, Chandenier J. Diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: updates and recommendations. *Med Mal Infect*. 2014; 44(3): 89-101.
22. Ko JH, Peck KR, Lee WJ, Lee JY, Cho SY, Ha YE, et. al. Generic piperacillin/tazobactam is not associated with galactomannan false-positivity in adult patients with cancer: a case-control study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2015; 34: 1437-1441.
23. Metan G. The interaction between piperacillin-tazobactam and *Aspergillus* galactomannan antigenemia assay: is the story over?. *Infection* 2013; 41: 293-94.
24. Vergidis P, Razonable R, Wheat J, Estes L, Caliendo A, Baden L, et. al. Reduction in False-Positive *Aspergillus* Serum Galactomannan Enzyme Immunoassay Results

Associated with Use of Piperacillin-Tazobactam in the United States. *J Clin Microbiol* 2014; 52(6): 2199-2201.

25. Zou M, Tang L, Zhao S, Zhao Z, Chen L, Chen P, et. al. Systematic review and meta-analysis of detecting galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosing invasive aspergillosis. *PLoS One* 2012; 7(8):e43347.

26. Guo YL, Chen YQ, Wang K, Qin SM, Wu C, Kong JL. Accuracy of BAL galactomannan in diagnosing invasive aspergillosis: a bivariate metaanalysis and systematic review. *Chest* 2010; 138: 817-24.

27. Avni T, Levy I, Sprecher H, Yahav D, Leibovici L, Paul M. Diagnostic accuracy of PCR alone compared to galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: a systematic review. *J Clin Microbiol* 2012; 50: 3652-8.

28. Leeflang MM, Debets-Ossenkopp YJ, Visser CE, Scholten RJ, Hooft L, Bijlmer HA, et. al. Galactomannan detection for invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *Cochrane Database Syst Rev* 2008; CD007394.

29. Pfeiffer CD, Fine JP, Safdar N. Diagnosis of invasive aspergillosis using a galactomannan assay: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 1417.

30. De Pauw BI, Walsh TJ, et.al.; European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group; National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis*. 2008 Jun 15;46(12):1813-21.

31. Morrissey CO, Gilroy NM, Macesic N, Walker P, Ananda-Rajah M, May M, et. al. Consensus guidelines for the use of empiric and diagnostic-driven antifungal treatment strategies in haematological malignancy, 2014. *Int Med J* 2014; 44: 1298-1311.

32. EORTC International Antimicrobial Therapy Cooperative Group. Empiric antifungal therapy in febrile granulocytopenic patients. *Am J Med* 1989; 86: 668-72.

33. Pizzo PA, Robichaud KJ, Gill F, Witebsky FG. Empiric antibiotic and antifungal therapy for cancer patients with prolonged fever and granulocytopenia. *Am J Med* 1982; 72: 101-11.

34. Girmenia C, Aversa F, Busca A, Candoni A, Cesaro S, Luppi M, et. al. A hematology consensus agreement on antifungal strategies for neutropenic patients with hematological malignancies and stem cell transplant recipients. *Hematol Oncol* 2013; 31: 117-26.

35. Freifield AG, Bow EJ, Sepkowitz KA, Boeckh MJ, Ito JI, Mullen CA, et. al. Clinical Practice Guideline for the use of Antimicrobial Agents in Neutropenic Patients with

Cancer: 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2011; 52: e56-93.

36. Marr KA, Carter RA, Crippa F, Wald A, Corey L. Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 909-17.

37. Baddley JW, Andes DR, Marr KA, Kontoyiannis DP, Alexander BD, Kauffmann CA, et. al. Factors associated with mortality in transplant patients with invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 2008; 47: 1559-67.

38. Herbrecht R, Denning DW, Patterson TF, Bennett JE, Greene RE, Oestmann JW. et. al. Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. *N Engl J Med* 2002; 347: 408-15.

39. Ruiz I, Jarque I. Enfermedad fúngica invasora por hongos filamentosos en pacientes hematológicos. *Rev Iberam Micol* 2014; 31(4): 249-254.

40. Kurosawa M, Yonezumi M, Hashino S, Tanaka J, Nishio M, Kaneda M. Epidemiology and treatment outcome of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies. *Int J Hematol* 2012; 96: 748-757.

41. Hoeningl M, Salzer H, Raggam R, Valentin T, Rohn A, Woelfler A, et. al. Impact of galactomannan testing on the prevalence of invasive aspergillosis with hematological malignancies. *Medical Mycology* 2012; 50: 266-269.

42. Nicolle MC, Bénet T, Thiebaut A, Bienvenu AL, Voirin N, Duclos N, et. al. Invasive Aspergillosis and description of 127 cases enrolled in a single institution prospective survey from 2004-2009. *Haematologica* 2011; 96(11): 1685-90.

43. Hoeningl M, Zollner I, Sill H, Linkesch W, Lass C, Schnedl W, et. al. Epidemiology of invasive fungal infections and rationale for antifungal therapy in patients with haematological malignancies. *Mycoses* 2010; 54: 454-459.

44. Arvanitis M, Anagnostou T, Mylonakis R. Galactomannan and Polymerase Chain Reaction-Based Screening for Invasive Aspergillosis Among High Risk Hematology Patients: A Diagnostic Meta-Analysis. *Clin Infect Dis* 2015; 61(8): 1263-72.

45. Averbuch D, Orasch C, Cordonnier C, Livermore D, Mikulska M, Viscolu C, et. al. European guidelines for empirical antibacterial therapy for febrile neutropenic patients in the era of growing resistance: Summary of the 2011 4th European Conference on Infections in Leukemia. *Haematologica* 2013; 98(12): 1826-35.