



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

**FRECUENCIA Y EVOLUCIÓN DE ASPERGILOSIS INVASIVA EN PACIENTES  
HEMATO-ONCOLÓGICOS DEL INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA CON  
DIAGNÓSTICO DE NEUTROPENIA Y FIEBRE**

**TESIS**  
**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:**  
**MAESTRA EN CIENCIAS MÉDICAS**

**PRESENTA:**

**DEBORAH PALACIOS REYES**

**DRA. EN C. ALEJANDRA AQUINO ANDRADE**

**TUTORA DE ADSCRIPCIÓN**

**Laboratorio de Microbiología Molecular Instituto Nacional de Pediatría**

**MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR**

**DRA. EN C. M. ROSA ARELI MARTINEZ GAMBOA**

**Laboratorio de Microbiología Instituto de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador  
Zubirán**

**DRA. EN C. M. JOCELINA MÉRIDA VIEYRA**

**Laboratorio de Microbiología Molecular Instituto Nacional de Pediatría**

**CIUDAD DE MEXICO**  
**NOVIEMBRE 2023**



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.



DEBORAH PALACIOS REYES

ALUMNA DE MAESTRIA EN CIENCIAS MÉDICAS



DRA. EN C. ALEJANDRA AQUINO ANDRADE  
TUTORA DE TESIS DE MAESTRIA EN CIENCIAS MÉDICAS



DR. SILVESTRE GARCÍA DE LA PUENTE  
RESPONSABLE DE LA ENTIDAD ACADÉMICA

## Indice

- I. [Resumen estructurado](#)
- II. [Pregunta de investigación](#)
- III. [Antecedentes](#)
- IV. [Planteamiento del problema](#)
- V. [Justificación](#)
- VI. [Objetivos](#)
- VII. [Características del estudio](#)
- VIII. [Variables](#)
- IX. [Descripción del estudio](#)
- X. [Tamaño de la muestra](#)
- XI. [Aspectos éticos](#)
- XII. [Material y métodos](#)
- XIII. [Análisis estadístico](#)
- XIV. [Resultados](#)
- XV. [Discusión](#)
- XVI. [Conclusiones](#)
- XVII. [Referencias bibliográficas](#)
- XVIII. [ANEXOS](#)

## I. Resumen estructurado

**Antecedentes:** La aspergilosis invasiva (AI) es la infección fúngica invasiva (IFI) más frecuente en pacientes con neoplasias hematológicas y post trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) de tipo alogénico. Esto condiciona aumento en las complicaciones, días de hospitalización y mortalidad. Los principales factores de riesgo asociados son neutropenia grave prolongada (<500 células/mm<sup>3</sup> por >10 días) y tratamiento esteroideo prolongado. Se ha descrito mayor riesgo en leucemia mieloide aguda (LMA) y en leucemia linfoblástica aguda (LLA) en recaída o durante la inducción. El diagnóstico se basa en el aislamiento de especies de *Aspergillus* spp. en cultivo de sitios estériles y/o la evidencia histopatológica de elementos fúngicos con respuesta inflamatoria asociada así como el uso de biomarcadores como antígeno galactomanano (GM) y la obtención del DNA o RNA fúngico de muestras de sangre o lavado bronquio-alveolar (LBA). El diagnóstico tardío empeora el pronóstico de los pacientes. El tratamiento se basa en el manejo antifúngico y el control del factor predisponente.

**Objetivo:** Describir la frecuencia y evolución de AI en pacientes pediátricos hemato-oncológicos hospitalizados con diagnóstico de neutropenia y fiebre.

**Tipo de estudio:** Observacional, descriptivo, longitudinal y prospectivo

**Material y métodos:** Se incluyeron eventos de neutropenia y fiebre en pacientes hospitalizados sin mejoría de la fiebre y/o neutropenia a las 96 horas del inicio de tratamiento antibiótico (NFP) y/o aquellos que persistían con neutropenia profunda por más de 7 días (NPP). Se solicitó la toma de antígeno GM sérico y en caso necesario estudio de imagen. Se recolectaron los datos epidemiológicos, clínicos, radiológicos, así como la evolución de los pacientes.

**Análisis de datos:** para variables categóricas se obtuvieron frecuencias simples y proporciones, y para las cuantitativas se utilizó la prueba no paramétrica de U de Mann Whitney, utilizando una  $p < 0.05$  como resultado significativo.

**Aspectos éticos:** se solicitó el consentimiento informado al padre, madre o tutor y asentimiento informado en los pacientes >8 años. El protocolo fue aprobado por los comités de investigación del INP con número 2021/041.

**Resultados:** Durante el periodo de estudio se incluyeron 58 pacientes que correspondieron a 70 eventos de neutropenia. Se realizó el diagnóstico de AI en 14 eventos (20%), un evento de AI probada, 11 probables y dos posibles. La patología oncológica más frecuente fue LLA (71.4%) seguida de LMA (21.4%). El 35.7% se encontraba en fase de inducción. El tiempo total de neutropenia fue de 16.5 días (10 – 63) y 42.9% tuvieron tratamiento con esteroide. El 92.9% de los casos de AI fueron de eventos de NFP, el tiempo de fiebre fue de 3.5 días (1 – 8) comparado con 1.5 días para los que no tuvieron AI. La principal forma de presentación fue pulmonar con dos casos de AI diseminada. El 85.7% presentó un patrón radiológico mixto donde destacan las

consolidaciones lobares y segmentarias y nódulos con signo del halo. El tratamiento más utilizado fue voriconazol como monoterapia en 78.5% y se registró una mortalidad del 21.4%.

**Conclusiones:** Este es el primer estudio prospectivo en pacientes con cáncer y AI realizado en nuestro centro y de lo que se tiene conocimiento en población pediátrica mexicana. Se estableció una frecuencia elevada de AI del 20% considerando tanto los diagnósticos probados, probables como también los posibles

## II. Pregunta de Investigación

¿Cuál es la frecuencia y evolución de aspergilosis invasiva en pacientes hemato-oncológicos hospitalizados con diagnóstico de neutropenia y fiebre en el Instituto Nacional de Pediatría, en un período de 12 meses?

## III. Antecedentes

Los avances de la medicina contemporánea han permitido mejorar el tratamiento y pronóstico de pacientes con padecimientos oncológicos, autoinmunes/reumatológicos, inmunodeficiencias congénitas o adquiridas y de aquellos sometidos a trasplantes; sin embargo, esto ha dado lugar a un aumento importante de las infecciones fúngicas invasivas (IFI) [1,2]. Estas infecciones se asocian a mayor tiempo de estancia hospitalaria, complicaciones y aumento en la mortalidad de estos pacientes. Dentro de las infecciones fúngicas oportunistas, la aspergilosis invasiva (AI) es la micosis causada por hongos filamentosos más frecuente en la actualidad y es la IFI más común en los pacientes con neoplasias hematológicas.

Aspectos generales de *Aspergillus* spp.

Se reportan más de 300 especies del género *Aspergillus* que se integran en 18 diferentes complejos o secciones. Las especies de la sección *Aspergillus Fumigati* son las que se asocian hasta en un 80% a infección invasiva, le siguen las especies de la sección *Aspergillus Flavi* (10- 20%), sección *Aspergillus Nigri* (<5%) y sección *Aspergillus Terri* (<5%) [3]. Otras especies de importancia como *Aspergillus nidulans* causan infección principalmente en pacientes con errores innatos de la inmunidad (EII) como enfermedad granulomatosa crónica (EGC)[1]. La infección se adquiere al inhalar las esporas de este hongo que se encuentran de forma ubicua en el medio ambiente. Se describe que por cada metro cúbico se pueden encontrar de uno a 100 conidios de *Aspergillus* spp. En otros ambientes como sitios de construcción se pueden encontrar hasta 10<sup>8</sup> conidios por m<sup>3</sup>. Esta exposición ambiental puede llevar a brotes de aspergilosis en pacientes con inmunocompromiso, se han descrito brotes nosocomiales asociados a construcciones cercanas o dentro de los hospitales. Una vez que las esporas llegan al pulmón, la respuesta del sistema inmunológico es determinante para el desarrollo de un amplio espectro de presentaciones clínicas [3] [4]. Los macrófagos alveolares son la primera línea de defensa contra las conidias o esporas de

*Aspergillus* spp. que llegan a este nivel, tras la germinación de estas conidias, los neutrófilos y monocitos se encargan de detener la formación de nuevas hifas y su invasión a nivel del tejido pulmonar. Si esta defensa es deficiente o falla, se presenta diseminación hematológica con trombosis, infartos hemorrágicos y la invasión de órganos a distancia, esto último llega a ocurrir en un tercio de los casos [3].

#### Epidemiología de la AI

Se reporta una incidencia mundial de AI que supera los 300,000 casos anuales, con una mortalidad asociada que va del 30 al 80%[2]. Mundialmente, se considera como la segunda IFI más frecuente, después de la candidiasis invasiva (CI), con una prevalencia que va del 1 al 15% [5]. En 2015, Corzo-León y col. encontraron que la prevalencia de AI en adultos mexicanos fue del 2.6% al 13.4%, con 8% para los pacientes con neoplasias hematológicas y un 2% para los pacientes post trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) [6]. En cuanto a la población pediátrica, la aspergilosis también es la infección causada por hongos filamentosos más frecuente, algunas series reportan que el 40% de las IFI se atribuyen a *Aspergillus* spp.[1] La información obtenida de un estudio retrospectivo realizado en EE. UU. que incluyó 2000 pacientes pediátricos con neoplasias, enfermedades hematológicas, inmunodeficiencias y post trasplantados; reportó una incidencia de 0.4% con rango de 0.1% a 30% en pacientes inmunocomprometidos [7]. Estudios más recientes enfocados en AI en pacientes con neoplasias hematológicas reportan una incidencia que va del 4.5% al 9.5% [8]. La tasa de letalidad reportada para pacientes pediátricos con cáncer o trasplantados con AI va del 20 al 50% dependiendo del grado de inmunosupresión que tenga el paciente y puede elevarse hasta más del 70% cuando hay invasión al sistema nervioso central (SNC) [1,9]. Se cuenta con poca información sobre la incidencia de AI en población pediátrica mexicana. Un estudio retrospectivo realizado en el Instituto Nacional de Pediatría (INP), a partir de cultivos de *Aspergillus* spp. positivos y/o antígeno galactomanano (GM) positivo obtenidos entre 2012 – 2015, evidenció que cerca de la mitad de los pacientes (44.5%) presentaron un padecimiento hematológico de base, principalmente leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia mielóide aguda (LMA) y anemia aplásica (AA). De estos pacientes, se reportó una mortalidad del 46.3% [10]. Un estudio más reciente realizado en el INP, que consistió en una revisión de los diagnósticos de IFI entre el 2011 al 2017, reportó que de 31 pacientes con IFI, el 58% se diagnosticó con AI y el 60% de los casos tuvo un desenlace fatal[11]. La carga económica que representan estas infecciones también es importante, estudios realizados en EE. UU. han demostrado que el costo económico promedio para AI en pacientes pediátricos llega casi a los USD\$50,000 por episodio (1).

#### Presentación clínica de AI

Las infecciones causadas por *Aspergillus* spp. abarcan un amplio espectro de presentaciones

clínicas dependiendo del estado inmunológico del huésped; desde una respuesta inmune exagerada desencadenando cuadros de hipersensibilidad como es el caso de la aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA) que afecta a pacientes con asma y fibrosis quística, hasta la ausencia de respuesta inmunológica que lleva a la invasión y diseminación a otros órganos [3]. El principal factor de riesgo para la AI es la inmunosupresión; por lo que la población con mayor riesgo son los pacientes con inmunodeficiencias primarias y secundarias (por tratamientos con quimioterapia para neoplasias hematológicas, tumores sólidos, post-TCPH y fallas medulares); pacientes con uso crónico de esteroides, tratamientos inmunomoduladores o anticuerpos monoclonales, y post trasplante de órgano sólido (TOS), pulmón y corazón con mayor frecuencia [1,3,6,8,9,12].

En pacientes con neoplasias hemato-oncológicas, anemia aplásica, síndromes mielodisplásicos y post- TCPH, la neutropenia grave prolongada definida como cuenta absoluta de neutrófilos (CAN)  $<500$  células/mm<sup>3</sup> por más de 10 días es el factor determinante para predecir el desarrollo de AI [8]. En 2017, Fisher y col. publicaron una revisión sistemática para identificar los factores de riesgo en pacientes pediátricos con cáncer y TCPH para desarrollar IFI; encontraron que la duración de la neutropenia fue el factor de riesgo más común en las publicaciones incluidas, con valores estadísticamente significativos cuando sobrepasaba los 10 días con neutropenia. En cuanto al grado de la neutropenia encontraron que una CAN  $<100$  células/mm<sup>3</sup> previo al inicio de la IFI y una cuenta absoluta de monocitos (CAM)  $<100$  células/mm<sup>3</sup> durante el episodio de neutropenia y fiebre se asociaron con mayor riesgo de IFI [13].

Se han establecido criterios para catalogar como alto, bajo y riesgo intermedio para desarrollar AI. En el caso de la población pediátrica los pacientes con LMA, recaída de leucemia (tanto LMA como LLA) y aquellos sometidos a TCPH de tipo alogénico representan al grupo de alto riesgo ya que se ha evidenciado una incidencia de AI mayor al 10%. Los pacientes pediátricos con LLA, la presentación de leucemia más frecuente en pediatría, representan un grupo ambiguo que puede ser considerado de riesgo intermedio-alto dependiendo del esquema de tratamiento antineoplásico utilizado, el uso concomitante de esteroides y la falla medular prolongada. En el grupo de bajo riesgo se encuentran los pacientes con linfomas Hodgkin (LH) y no Hodgkin (LNH), tumores sólidos y post-TCPH autólogos [14].

La presentación más frecuente de la AI es a nivel pulmonar, aspergilosis pulmonar invasiva (API) con riesgo de diseminación a otros sitios, principalmente a sistema nervioso central (SNC) que ocurre hasta en un 15% de los casos [9]. Las manifestaciones clínicas y hallazgos radiológicos de la API son bastante inespecíficos, sobre todo entre más neutropenia presente el paciente; la presencia de fiebre de alto o bajo grado a pesar del manejo con antibióticos puede ser el único dato clínico presente [14]. Otros síntomas descritos en menor frecuencia, principalmente a nivel

respiratorio son: tos seca o productiva, disnea, progresión a neumonía con o sin dolor pleurítico y hemoptisis. Frecuentemente, se describe como un cuadro de neumonía que no responde adecuadamente al manejo antibacteriano [3]. La presencia de cefalea, crisis convulsivas o datos de focalización deben orientar al compromiso del SNC. Debido a lo inespecífico del cuadro clínico es necesario apoyarse en auxiliares de diagnóstico como los estudios de imagen. La radiografía de tórax es un estudio con baja sensibilidad sobre todo en pacientes neutropénicos por lo que las guías de la Organización Europea para la Investigación y Tratamiento del Cáncer y el Grupo para el Estudio de las Micosis (EORTC/MSG, por sus siglas en inglés *European Organization for Research and Treatment of Cancer Mycoses Study Group*) así como las guías de la Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas, la Confederación Europea de Micología Médica y la Sociedad Europea de Enfermedades Respiratorias (ESCMID- ECMM-ERS por sus siglas en inglés, *the European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases and the European Confederation of Medical Mycology European Respiratory Society*) recomiendan el uso de tomografía de alta resolución pulmonar para apoyar el diagnóstico. Esta debe realizarse de forma temprana en pacientes de alto riesgo para API. Los hallazgos comúnmente descritos para API, aunque no son patognomónicos de esta infección, son: la presencia de nódulos (>1cm) rodeados con imágenes atenuadas o en vidrio esmerilado, conocido como signo del halo; consolidaciones subpleurales con bordes en forma de cuña; consolidaciones alveolares, signo de aire creciente y opacidades en vidrio esmerilado [15]. Estos signos se describen para población adulta y pueden no ser evidentes en pacientes pediátricos. El signo del halo, signo de aire creciente, así como cavitaciones suelen presentarse en escolares o adolescentes; sin embargo, la mayoría de las series con pacientes pediátricos describen la presencia de macronódulos (>1cm) como la imagen que se presenta con mayor frecuencia [9,16].

#### Diagnóstico de AI

Los métodos de diagnóstico estándar son la **microscopía directa** de muestras de lavado bronquioalveolar (LBA), cepillado bronquial o aspirados sinusales y el **cultivo**. Este último es considerado el estudio de elección y debe realizarse a partir líquidos estériles obtenidos por medio de procedimientos invasivos. Esto representa dificultades en la población pediátrica por los volúmenes de muestra que se requieren, así como la necesidad de procedimientos invasivos para la toma de las muestras que pueden estar contraindicados por las condiciones clínicas del paciente como estado crítico o trombocitopenia grave. El crecimiento en cultivo ofrece la ventaja de llegar a la identificación de género y especie, así como la posibilidad de realizar pruebas de susceptibilidad antifúngica para un tratamiento dirigido; sin embargo, para cultivos de LBA se reportan sensibilidades que apenas alcanzan el 30%. La microscopía directa representa un método de diagnóstico que puede ofrecer un resultado rápido que permite el inicio de tratamiento oportuno. El análisis de las muestras con resultado de hifas hialinas, macrosifonadas, septadas y con ángulo de

45° permite diferenciar de otras IFI oportunistas como mucormicosis; aunque se requiere del cultivo para determinación de género y especie. La **evidencia histopatológica** en tejidos también se considera un método de elección; con el uso de tinciones como ácido peryódico de Schiff (PAS) o metenamina de plata de Grocott es posible la visualización de elementos fúngicos y la respuesta inflamatoria con angioinvasión característica, más no exclusiva, de la AI; con la desventaja de que no permite la identificación de género y especie [9,12,14].

Otros métodos auxiliares han venido cobrando importancia en las últimas décadas; sin embargo, la evidencia de la utilidad de estos biomarcadores es limitada para la edad pediátrica [12,15]. Estos biomarcadores son: antígeno GM, 1-3  $\beta$ -D glucano, ensayos de flujo lateral y estudios de biología molecular para detección del DNA o RNA de *Aspergillus* spp.

#### Biomarcadores para el diagnóstico de AI

- El **antígeno GM** es un polisacárido de la pared de *Aspergillus* spp. que es liberado durante la germinación de las conidias y la invasión en los tejidos. Se detecta por medio de un ELISA en sándwich que utiliza el anticuerpo monoclonal  $\beta$ -1–5 galactofuranosil EB-A2 de ratón. Este ensayo está validado para ser medido en suero y LBA con un mínimo de 1ng/ml; sin embargo, también puede medirse en líquido cefalorraquídeo (LCR). Se puede detectar de cinco a ocho días antes de las manifestaciones clínicas o radiológicas y su nivel es proporcional a la carga fúngica. Se propone un valor de corte de 0.5 DO para muestras de suero y 1.0 DO para muestras de LBA, sin embargo, se han venido modificando los valores de corte con  $>0.7$  sérico y  $>1.0$  en LBA. Algunos falsos positivos se relacionan al uso de antibióticos como beta-lactámicos, en específico con piperacilina/tazobactam, transfusiones, nutrición parenteral, dietas altas en granos, otras micosis como histoplasmosis, fusariosis o talaromicosis. En cuanto a su uso en pacientes pediátricos se reporta la misma sensibilidad y especificidad en comparación con los adultos; sin embargo, se deben considerar mayor porcentaje de falsos positivos en neonatos y lactantes por la colonización por *Bifidobacterium* (75% de la microbiota de los neonatos y lactantes). El uso de profilaxis antifúngica con actividad para hongos filamentosos (itraconazol, voriconazol o posaconazol) puede dar lugar a falsos negativos. Además, la prueba no está estandarizada en pacientes no neutropénicos. Se reporta sensibilidad en suero del 79% con especificidad del 80 a 86%; en muestras de LBA la sensibilidad sube a 85% y la especificidad llega hasta el 94%[9]. En el 2008, fue aceptado como criterio micológico indirecto por los criterios de EORTC-MSG.

- El 1,3- $\beta$ -D-glucano es un componente de diversas especies de hongos, es un biomarcador panfúngico que puede estar positivo en CI, neumonía causada por *Pneumocystis jirovecii*, histoplasmosis, así como en AI. No se considera de utilidad para el diagnóstico de AI en población pediátrica ya que no se ha establecido el valor de corte en este grupo de edad y se han encontrado

resultados variables en cuanto a sensibilidad y especificidad en esta población. Estudios realizados en neonatos han demostrado que los valores de corte son más elevados que los utilizados en población adulta. Las guías ESCMID-ECMM no recomiendan el uso del 1,3- $\beta$ -D-glucano para el diagnóstico de AI en población pediátrica [9].

■ Reacción en cadena de polimerasa (PCR) para la detección del DNA de *Aspergillus* spp.: a partir del 2006, se ha realizado un esfuerzo importante para la estandarización de ensayos de PCR para detección de *Aspergillus* spp. por medio de la Iniciativa Europea de PCR de *Aspergillus* (por sus siglas en inglés EAPCRI, *European Aspergillus PCR Initiative*)[17]. La EAPCRI recomienda el uso de genes multi-copia para PCR cuantitativa (qPCR). Los blancos genómicos utilizados son 18S, 28S y la región *internal transcribed spacer* (ITS); los mejores resultados se obtienen con el uso de 28S. Se requiere de un protocolo estandarizado para la extracción del DNA, en el caso de muestras de sangre total o suero se recomienda un volumen mínimo de 0.5ml. El uso de plasma puede afectar el desempeño de la PCR por la presencia de fibrinógeno. Para qPCR un umbral de 43 Cq se asocia con sensibilidad 85.6% y especificidad 94.7%. En 2019 se realizó una revisión por la Colaboración Cochrane para evaluar la evidencia del uso de PCR en muestras de sangre para el diagnóstico de AI en pacientes con algún tipo de inmunocompromiso (específicamente inducido por quimioterapia, TCPH o TOS) se obtuvo sensibilidad de 59 a 79.2% y especificidad de 79% a 95.2% [18]. El mejor rendimiento diagnóstico, con sensibilidad y especificidad elevadas se ha visto cuando esta prueba se realiza en población de alto riesgo para AI y sin uso de profilaxis o tratamiento antifúngico con actividad para hongos filamentosos. En la revisión de los criterios de la EORTC/MSG del 2019 se incluye a la PCR de *Aspergillus* spp como criterio micológico para el diagnóstico de AI probable con la presencia de 2 resultados positivos consecutivos en muestras de sangre total/plasma/suero, o >2 positivas en LBA, o 1 positiva en sangre total/suero/plasma acompañado de 1 positiva en LBA [19].

El diagnóstico de AI debe basarse en los criterios establecidos por la EORTC/MSG, de esta forma se podrá clasificar en AI probada, probable o posible. Los criterios de la EORTC/MSG se presentan en la **Tabla 1** [15,19,20].

**Tabla 1.** Criterios propuestos por la EORTC/MSG para el diagnóstico de la AI

Factores del hospedero	Hallazgos clínicos / radiológicos	Criterio micológico
------------------------	--------------------------------------	---------------------

<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Neutropenia &lt;500 neutrófilos/mm<sup>3</sup> por &gt;10 días</li> <li>2. Neoplasia hematológica</li> <li>3. Trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas</li> <li>4. Trasplante de órgano sólido</li> <li>5. Uso de esteroides (0.3mg/kg/día) por &gt;3 semanas en los últimos 60 días</li> <li>6. Inmunodeficiencias primarias</li> <li>7. Tratamiento con inmunomodulador como ciclosporina, anti TNF-<math>\alpha</math>, anticuerpos monoclonales, o análogos nucleósidos en los últimos 90 días</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Enfermedad respiratoria baja (1 de 4 signos en TAC: cavitaciones, nódulos con o sin signo del halo, signo del aire creciente, consolidación lobar o segmentaria o en forma de cuña)</li> <li>2. Traqueoendobronquitis (Ulceración, nódulos, seudomembranas, placas o escaras traqueobronquiales observadas por broncoscopía)</li> <li>3. Infección sinusal (presencia de sinusitis y dolor localizado, ulcera en nariz con o sin escara, extensión ósea)</li> <li>4. Infección en SNC (reforzamiento meninges o lesiones focales en TAC o RM cerebral)</li> </ol>	<p>Método indirecto:</p> <p>Antígeno GM positivo en suero, plasma, LBA o LCR:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 resultado positivo <math>\geq 1</math> DO en suero, plasma o LBA</li> <li>- Suero/plasma <math>\geq 0.7</math> OD + LBA <math>\geq 0.8</math></li> <li>- 1 resultado positivo LCR <math>\geq 1.0</math></li> </ul> <p>PCR de <i>Aspergillus</i> spp</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 2 resultados positivos consecutivos en suero/plasma/sangre total</li> <li>- 2 resultados positivos consecutivos en LBA 1 resultado positivo en suero/plasma/sangre total + 1 resultado positivo en LBA</li> </ul> <p>- Método directo:</p> <p>Observación directa de hifas en LBA, cepillado bronquial, muestras de aspirado sinusal.</p>
---	---	---

		<p><b>Criterios definitivos para AIP</b></p> <p>(Uno de los siguientes)</p> <p>a) Hallazgo histopatológico de material estéril con hifas y respuesta inflamatoria tisular concordante (necrosis, infiltrado inflamatorio o angioinvasión).</p> <p>b) Cultivo de líquido estéril con hifas o cultivo positivo de material obtenido mediante procedimiento invasivo.</p>
--	--	--

TNF- $\alpha$ : factor de necrosis tumoral  $\alpha$ , TAC: tomografía axial computada, SNC: sistema nervioso central, LBA: lavado bronquioalveolar, RM: resonancia magnética, LCR: líquido cefalorraquídeo, DO: densidad óptica, AIP: Aspergilosis invasiva probada

Los criterios de la EORTC/MSG definen AI probada con la evidencia histopatológica y/o cultivo positivo de un sitio estéril. AI probable requiere de los factores de riesgo, los hallazgos clínicos y la presencia de por lo menos un criterio micológico. Finalmente, la AI posible se basa en la presencia sólo de factores de riesgo en el hospedero y criterios clínicos sin evidencia micológica. Estos criterios se implementaron con el objetivo inicial de unificar términos al momento de realizar investigación en IFI (estudios epidemiológicos, validación de pruebas diagnósticas y valorar la efectividad de tratamientos antifúngicos) por lo que no se suelen utilizar para guiar el manejo de los pacientes en la práctica clínica. Estos criterios fueron revisados recientemente en 2019 con actualizaciones, entre otros aspectos, el uso de PCR de *Aspergillus* spp para diagnóstico de AI probable (Ver tabla 1) y sobre el uso de la tomografía de alta resolución pulmonar en la población pediátrica desplazando a la radiografía simple de tórax [19]. En los últimos años, se han planteado abordajes de diagnóstico basados en el uso de biomarcadores o técnicas no invasivas para el diagnóstico de AI en población de alto riesgo (pacientes con neoplasias hematológicas y post TCPH alogénico) tanto adulta como pediátrica. En un metaanálisis realizado por Lehrnbecher T *et al* en 2016 para valorar la utilidad diagnóstica de biomarcadores y PCR tanto para tamizaje como para diagnóstico de IFI en población pediátrica de riesgo se encontró una prevalencia de IFI hasta del 30.8%. Se obtuvo sensibilidad de 89% y especificidad de 85% para el antígeno GM y una sensibilidad del 76% y especificidad del 58% para la PCR. Este estudio no analizó el uso de combinación de biomarcadores en población pediátrica [21].

## Tratamiento de AI

La ESCMID-ECMM publicaron en 2019, las guías de tratamiento específico de AI para población pediátrica incluyendo neonatos. Los principios generales para el manejo de pacientes adultos y pediátricos con AI consisten en el inicio oportuno de tratamiento antifúngico, control del factor predisponente (por ejemplo, tratamiento con factor estimulante de colonias de granulocitos en el caso de neutropenia, suspender o disminuir tratamiento esteroideo), mejorar el estado inmunológico del paciente y manejo quirúrgico en caso de requerirse [9].

Los tratamientos de primera línea para pacientes con AI probada/probable es voriconazol intravenoso, anfotericina B liposomal (ABL) o anfotericina B complejo lipídico (ABCL). Las guías de tratamiento recomiendan al voriconazol sobre la ABL ya que este último no demostró superioridad frente al voriconazol. El voriconazol está autorizado para el tratamiento de AI en pacientes pediátricos >2 años [8]. Se recomienda la medición de niveles terapéuticos de voriconazol debido a que este fármaco presenta múltiples interacciones farmacológicas además de una biodisponibilidad variable en población pediátrica [22]. Los valores terapéuticos establecidos en población pediátrica van de 1 a 5.5 mg/L para pacientes con profilaxis y tratamiento de AI, se deben medir después del tercer día de tratamiento [9]. Como tratamiento de segunda línea están caspofungina, micafungina, itraconazol y posaconazol. Existe poca evidencia sobre el beneficio del uso de terapia combinada con dos o más antifúngicos (triazol o polieno asociado a equinocandina) [8].

La Guía de Práctica Clínica desarrollada por el Panel Internacional de Neutropenia y Fiebre Pediátrica recomienda el inicio de tratamiento empírico en pacientes de alto riesgo con neutropenia y fiebre que persiste por un mínimo de cuatro días después del inicio de tratamiento antibacteriano. En esta guía el tratamiento empírico se recomienda con caspofungina (equinocandina) o ABCL [8].

Se ha propuesto el tratamiento “*pre-emptive*” o preventivo como una alternativa al tratamiento empírico que lleva al sobre uso de tratamientos antifúngicos exponiendo a los pacientes a sus efectos adversos e interacciones medicamentosas. El tratamiento *pre-emptive* se vale del abordaje diagnóstico por medio estudios de imagen (tomografía computarizada) y biomarcadores como antígeno GM, 1,3-β-D-glucano (no recomendado en población pediátrica) y PCR de *Aspergillus* spp. Existen pocos estudios sobre el manejo *pre-emptive* en población pediátrica; sin embargo, estudios comparativos con tratamiento empírico no reportan un aumento en la mortalidad y si una reducción en el uso de antifúngicos, así como de los costos [8,23].

### Profilaxis antifúngica

Se divide en profilaxis primaria y secundaria. La profilaxis primaria se refiere al uso de antifúngicos en pacientes de alto riesgo para AI sin que se cuente con evidencia de infección (clínica y micológica). Esta conducta se había justificado por la falta de técnicas de diagnóstico accesibles y rápidas asociado al mal pronóstico que confiere esta infección en los pacientes de alto riesgo. Los antifúngicos utilizados en profilaxis primaria son: itraconazol, voriconazol, posaconazol, ABL y equinocandinas como caspofungina o micafungina.

La profilaxis secundaria aplica para pacientes con diagnóstico previo de AI que ya culminaron tratamiento y serán sometidos a esquema de quimioterapia altamente aplasante o a TCPH alogénico. Se suele indicar el mismo tratamiento antifúngico previamente utilizado [8].

### Resistencia antifúngica

Algunas especies de *Aspergillus* son intrínsecamente resistentes a ciertos antifúngicos. También se reporta resistencia adquirida principalmente a los azoles. Actualmente, las guías que existen para el manejo de AI no recomiendan realizar pruebas de susceptibilidad antifúngica por la baja prevalencia de resistencia adquirida [8]. Al momento, se estima una resistencia global de *A. fumigatus* a los azoles del 3.2%; sin embargo, se eleva en ciertas regiones, principalmente de Europa [24]. Gonzalez-Lara y colaboradores realizaron un estudio prospectivo para el análisis del gen *cyp51A* de *A. fumigatus*. Se encontró la mutación TR34/L98H en dos aislamientos de *A. fumigatus* y reportaron una prevalencia de mutación en *cyp51A* del 8.3% (2/24 aislamientos) [24].

La AI en pacientes hemato-oncológicos representa una complicación infecciosa frecuente que requiere de métodos invasivos para un diagnóstico certero. Nuevas técnicas de diagnóstico son prometedoras para llegar a la detección del agente con género y especie sin embargo se debe seleccionar adecuadamente a la población de riesgo. El abordaje actual de manejo antifúngico empírico puede incrementar la morbilidad de los pacientes por los efectos adversos, interacciones medicamentosas, retraso de quimioterapia y aumento de los días de estancia hospitalaria.

## IV. Planteamiento del problema

El INP es un centro de referencia para pacientes pediátricos con cáncer por lo que se encarga también del manejo de las complicaciones asociadas a los tratamientos que reciben. Dentro de las complicaciones infecciosas asociadas al uso de quimioterapia, las IFI son una causa importante de morbilidad y mortalidad. Según lo reportado en la literatura, las infecciones por hongos filamentosos como *Aspergillus* spp. han pasado a ser la primera causa de IFI en pacientes con leucemias. Desconocemos cual es la frecuencia de la AI en los pacientes oncológicos de nuestro centro y de igual forma, la información publicada en población pediátrica con cáncer en nuestro país es escasa.

No contamos con un estudio prospectivo que permita analizar las diferencias clínicas y radiológicas entre los pacientes con sospecha de AI y aquellos con diagnóstico probable o probado. Debido a que se reporta que la AI tiene una mortalidad que puede sobrepasar el 50%, es importante conocer si tiene el mismo impacto en los pacientes de nuestro centro y como afecta su pronóstico.

## V. Justificación

Aproximadamente el 40% de los pacientes con diagnóstico de cáncer presentan complicaciones infecciosas asociadas a los eventos de neutropenia. Las IFI son una parte importante de estas complicaciones y en los últimos años la AI ha desplazado a la CI para convertirse en la IFI más frecuente en pacientes con neoplasias hematológicas y aquellos sometidos a TCPH. La literatura reporta una incidencia de AI del 9.5% en series de pacientes pediátricos con leucemias; sin embargo, otros tipos de cáncer también pueden desarrollar AI asociado a quimioterapias altamente aplasiantes. Los datos clínicos de AI son inespecíficos, se debe sospechar en pacientes con neutropenia profunda prolongada y/o fiebre sin mejoría a las 96 horas del inicio de antibióticos. El abordaje prospectivo de pacientes con sospecha de AI permitiría conocer la frecuencia de esta complicación infecciosa, así como los datos clínicos y radiológicos de los pacientes con diagnóstico probable o probado y compararlo con los pacientes en los que se descarte el diagnóstico. Conocer las complicaciones que presentan los pacientes con AI y cómo afecta su pronóstico, permitiría en un futuro a corto plazo, mejorar la accesibilidad de técnicas de diagnóstico, así como nuevos tratamientos antifúngicos. Es importante tener un panorama claro de las IFI en pacientes pediátricos de nuestro centro con el fin de fomentar el desarrollo de nuevos proyectos de investigación donde se incluyan otros grupos de riesgo para estas infecciones.

## VI. Objetivos

### Objetivo general

Describir la frecuencia y evolución de aspergilosis invasiva en pacientes pediátricos hemato-oncológicos hospitalizados con diagnóstico de neutropenia y fiebre.

### Objetivos específicos

- a. Describir las características clínicas y radiológicas de pacientes oncológicos con neutropenia y fiebre y sospecha de AI.
- b. Describir las características clínicas y radiológicas entre los pacientes con diagnóstico

- de AI posible, probable y probada.
- c. Describir las complicaciones de los pacientes con diagnóstico de AI posible, probable y probada.
  - d. Describir la evolución y tratamiento de los pacientes con diagnóstico de AI posible, probable y probada.

## VII. Características del estudio

### Diseño del estudio

Observacional, descriptivo, longitudinal y prospectivo.

### Población del estudio

Población objetivo: Pacientes menores de 18 años con diagnóstico de patología oncológica que cursen con neutropenia febril persistente o neutropenia profunda prolongada.

Población elegible: Pacientes hospitalizados en el Instituto Nacional de Pediatría durante el periodo de estudio, de septiembre del 2021 a septiembre del 2022.

### Criterios de selección

#### Criterios de inclusión:

- i. Pacientes con neutropenia profunda prolongada (NPP) definido como CAN de  $<500/\text{mm}^3$  por más de 7 días (ver anexo 2).
- ii. Pacientes con neutropenia febril persistente (NFP) definida como fiebre  $>38^\circ\text{C}$  que persista más de 96 horas del inicio del esquema antibacteriano y que se encuentren con neutrófilos absolutos  $<500 \text{ cel}/\text{mm}^3$  (ver anexo 2).
- iii. Pacientes cuyos padres o tutores firmen el consentimiento informado y en caso de ser mayor de 8 años que también firmen el asentimiento informado.

#### Criterios de exclusión

- i. Pacientes con tratamiento antifúngico con actividad para hongos filamentosos en los últimos 14 días (itraconazol, voriconazol, posaconazol, caspofungina o anfotericina B) ya sea profiláctico o por infección fúngica previa
- ii. Pacientes con diagnóstico de AI en los últimos 3 meses.

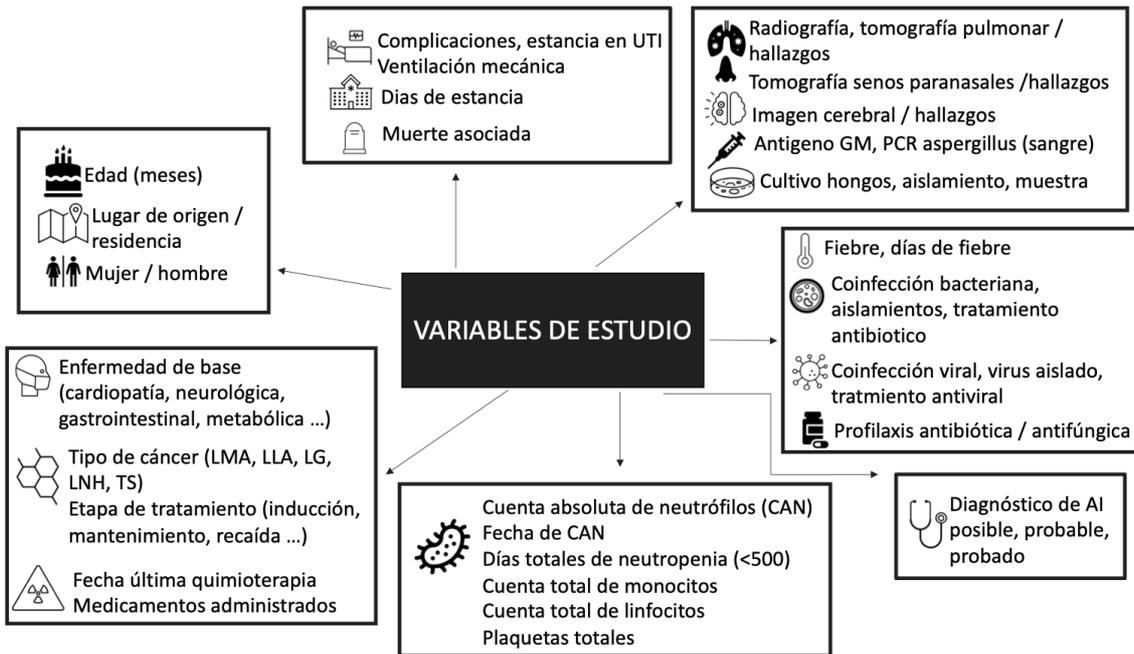
#### Criterios de eliminación

- i. Evento/paciente donde no se cuente con la información clínica por falta de visitas clínicas

para el seguimiento a las 4 y 8 semanas.

- ii. Paciente que retire el consentimiento o asentimiento informado

### VIII. Variables

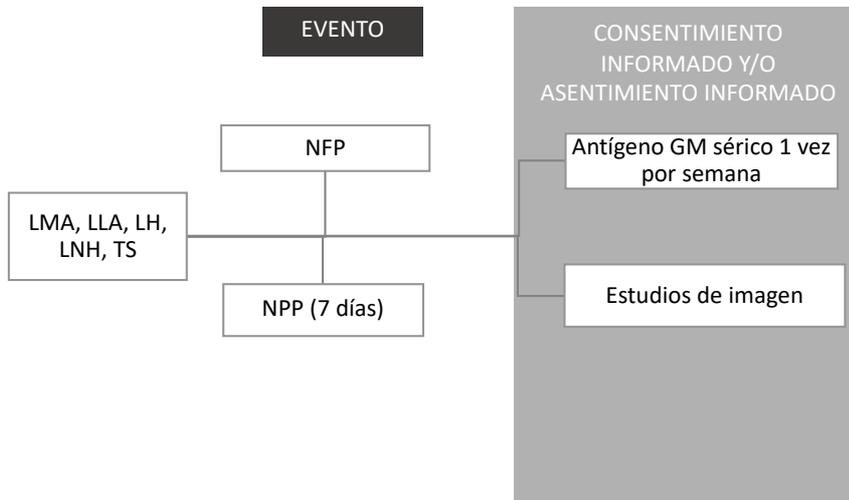


**Figura 1.** Variables del estudio

La descripción de las variables se presenta en el Anexo 1.

## IX. Descripción del estudio

A los pacientes que cumplieron con los criterios de selección, se les invitó a participar en el estudio y se solicitó a sus padres o tutores el consentimiento informado y asentimiento informado a aquellos mayores de 8 años.



LMA: Leucemia Mieloide Aguda, LLA: Leucemia Linfoblástica Aguda, LH: linfoma de Hodgkin, LNH: Linfoma no Hodgkin, NFP: neutropenia febril persistente, NPP: neutropenia profunda prolongada, GM: galactomanano

**Figura 2.** Ruta de selección de pacientes y toma de muestras

El seguimiento de los pacientes con toma de muestra de sangre para detección antígeno GM se continuó hasta la resolución del episodio de NFP y hasta la recuperación de la CAN. En aquellos pacientes con evidencia de infección a nivel pulmonar o sinusal se solicitó la valoración para la toma de cultivo/biopsia y microscopía directa del sitio (LBA por broncoscopía o aspirado de senos paranasales) como parte del cuidado estándar del paciente. Los resultados de estas pruebas de cuidado estándar se obtuvieron del sistema electrónico de resultados de laboratorio del hospital y/o del expediente de cada paciente. Se registró la evolución de los pacientes en el formato de recolección de datos (o base de datos en excel) con énfasis en eventos de fiebre, cuenta de neutrófilos, signos y síntomas clínicos, ingreso a unidad de cuidados intensivos pediátricos (UCIP) o ventilación mecánica (VM), tratamiento antifúngico, entre otros (ver hoja de recolección de datos en anexo 4). El seguimiento de la evolución de todos los pacientes incluidos se continuó a lo largo de 4 semanas y se revaloró su condición a las 8 semanas (en caso de los pacientes que ya habían sido egresados del hospital, el seguimiento se realizó por medio de las visitas subsecuentes a la consulta externa y en lo documentado en el expediente electrónico). Se tomaron los datos epidemiológicos, clínicos y paraclínicos del expediente electrónico. Se clasificó a los pacientes en AI probada, probable o posible según los criterios de la EORCT/MSG (ver anexo 2):

- **Al probada** aquellos con evidencia histopatológica y/o cultivo positivo de un sitio estéril.
- **Al probable** aquellos con factores de riesgo, hallazgos clínicos y presencia de por lo menos un criterio micológico
- **Al posible** aquellos que sólo presentaban factores de riesgo y criterios clínicos sin evidencia micológica indirecta [19].

## X. Tamaño de la muestra

Tomando en cuenta la incidencia reportada de AI oncológicos del 7% (4.5 a 9.5%) y utilizando la fórmula  $n = p * q * (z_{1-\alpha/2})^2 / \text{error}^2$ , con un error del 0.06, se **deberían** incluir 69 eventos de neutropenia febril persistente (NFP) o neutropenia profunda prolongada (NPP).

## XI. Aspectos éticos

El presente protocolo fue evaluado y aprobado por los comités de investigación, ética y bioseguridad del INP. El número de aprobación del protocolo es **041/2021**. La participación del paciente en el estudio involucró **riesgo mínimo**, para fines del protocolo se tomó una muestra de sangre periférica por venopunción, los procedimientos se realizaron bajo el consentimiento informado del padre, madre o tutor y en respeto a las leyes y normas vigentes establecidas en la Ley General de Salud y el Reglamento de la L.G.S. en materia de investigación y acatando los estándares bioéticos internacionales. Se presentó al padre, madre o tutor de cada paciente, la carta de consentimiento informado en donde se explicaba la naturaleza del proyecto, garantizando que la identidad del paciente se mantendría en secreto, que dicho estudio es descriptivo y que se continuaría realizando todos los estudios de diagnóstico propios del cuidado estándar del paciente. En pacientes mayores de 12 años, se aplicó el asentimiento informado para autorizar el análisis de una muestra de sangre periférica.

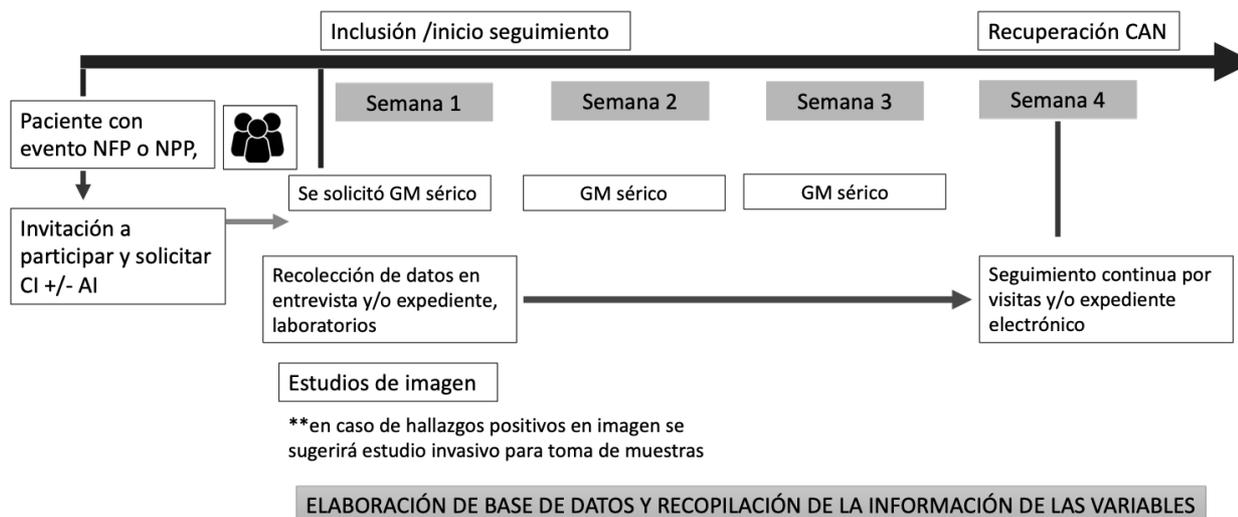
Los investigadores se comprometieron a comunicar a los comités de ética y de investigación, cualquier modificación al protocolo original, debidamente fundamentada; se protegió la integridad de los datos, resguardando la intimidad de los individuos, la confidencialidad de la información del paciente y disminuyendo al mínimo cualquier consecuencia sobre su integridad física, mental y de su personalidad.

Se reportaron con exactitud los datos y resultados encontrados; toda información fue registrada y almacenada de forma que permitiera su verificación e interpretación exactas. A los nombres de los pacientes se les asignó una clave consecutiva, la información registrada se resguardó por el responsable del proyecto durante un plazo mínimo de cinco años en una carpeta destinada exclusivamente para este uso.

Se declaró que ninguno de los investigadores tiene situación de conflicto de interés real, potencial

o evidente, incluyendo interés financiero, personal, familiar o de otro tipo.

## XII. Materiales y métodos



**Figura 3.** Diagrama del proceso de inclusión y seguimiento de los eventos incluidos

La detección de antígeno galactomanano forma parte de los estudios de laboratorio que se realizan como cuidado estándar de los pacientes. Se solicitó al servicio tratante la toma como mínimo de una muestra de suero semanal.

### Recopilación de datos

Los siguientes procedimientos, análisis clínicos y microbiológicos así como estudios de gabinete se realizan por cuidado estándar a los pacientes con sospecha de AI y los resultados serán tomados del expediente electrónico.

**Resultado del cultivo** de las muestras de LBA, aspirado traqueal, LCR, biopsia de tejido.

**Antígeno galactomanano** resultado del ensayo de ELISA en sándwich para detección del galactomanano (polisacárido presente en la pared del hongo) por medio del anticuerpo monoclonal  $\beta$ -1-5 galactofuranosil EB-A2 de ratón, medido en densidad óptica (DO) en muestras de suero, LBA o LCR. Se tomó como resultado positivo en suero igual o mayor a 0.5 DO y en LBA igual o mayor a 1.0 DO.

**Resultados de biometría hemática** se registró la cuenta total de leucocitos y los valores obtenidos del diferencial.

### Valores de proteína C reactiva (pCr)

**Tomografía axial computada de alta resolución pulmonar:** estudio de imagen con el nivel de evidencia más elevado para el diagnóstico de API. Presencia de cavitaciones, nódulos con o sin signo del halo (nódulo con halo con vidrio esmerilado), consolidaciones lobares o segmentarias o

en forma de cuña.

### **XIII. Análisis de datos**

La información obtenida de las variables se resumirá en medidas de tendencia central y de dispersión. Para las variables categóricas frecuencias simples y proporciones. Para las variables cuantitativas se obtendrá media, mediana, desviación estándar, rangos intercuartiles. Se establecerá si las variables cumplen con criterios de normalidad por medio de la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Se realizó análisis bivariado entre los grupos con y sin diagnóstico de aspergilosis. Para las variables categóricas se utilizó Chi cuadrada tomando resultado significativo con  $p < 0.05$ . Para las variables continuas o numéricas, debido a que no se obtuvo una distribución normal, se utilizó la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney. Para el procesamiento de los datos se utilizará el paquete estadístico comercial SPSS v22 de IBM.

### **XIV. RESULTADOS**

Durante el periodo de estudio se incluyeron 58 pacientes que correspondieron a 70 eventos de neutropenia. En la tabla 1 se muestran las características generales de los eventos / pacientes incluidos. De los eventos incluidos se obtuvo una mediana de edad de 9.3 años (1.2 – 17.4 años). Del total de pacientes ( $n=58$ ), 38 (65.5%) fueron hombres y 20 mujeres (34.4%).

El padecimiento oncológico más reportado para los pacientes incluidos ( $n=58$ ) fue LLA con 42 (72.41%), LMA en 10 (17.24%), TS en cuatro (6.9%) y LNH en dos (3.4%). El tratamiento con quimioterapia se administró en 66 (94.2%) eventos, 28 (40%) se encontraban en fase de inducción, 14 en fase de consolidación (20%) y 24 en recaída (34.3%). Se registró una mediana de 14 días (2 – 430) desde la última quimioterapia hasta el momento de la inclusión en el protocolo. El paciente del evento AI-28 con LLA, abandonó el tratamiento oncológico por más de un año, con 430 días desde el último tratamiento de quimioterapia, se incluyó ya que a su re-ingreso se encontraba en recaída con NFP. Además, en 30 eventos (42.9%) se observó el antecedente de recibir tratamiento esteroideo a dosis igual o mayor a 0.3mg/kg/día con una mediana de 12 (4-36) días. Se utilizó tratamiento profiláctico con fluconazol en 49 eventos (70%) y con trimetoprima sulfametoxazol en 50 eventos (71.4%).

La mediana de días de neutropenia previo a la inclusión fue de 10.5 días (1 - 56). La mediana de días totales de neutropenia fue de 22 días (7 – 82). Se utilizó tratamiento con factor estimulante de colonias de granulocitos en 36 eventos (51.4%). Se catalogó como NFP a 37 eventos (52.8%) y como NPP a 33 eventos (47.1%).

Todos los pacientes recibieron tratamiento antibiótico durante la hospitalización, los diagnósticos

infectológicos que se presentaron con mayor frecuencia al ingreso fueron neutropenia febril de alto riesgo en 38 (54.3%) eventos, seguido de colitis neutropénica en 26 (37.1%). En 33 eventos (47.1%) se obtuvo crecimiento bacteriano en cultivos. Los agentes aislados más reportados fueron *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* susceptible y *E. coli* productora de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). En 22 (31.4%) eventos se presentó coinfección viral, principalmente como neumonía 11 eventos (15.7%), con rinovirus/enterovirus y SARS-CoV-2 como agentes más frecuentes, seguido de infecciones exantemáticas con cinco eventos (7.1%), cuatro infecciones de vías respiratorias altas (5.7%), tres eventos de gastroenteritis viral (4.2%) y un sólo evento con infección sistémica por CMV (1.4%).

En 42 eventos (60%) hubo fiebre por más de 96h posterior al inicio de antibióticos, con una mediana de duración de dos días (0 – 16) posterior a la inclusión. En 56 eventos (80%) se registró linfopenia al momento de la inclusión, con mediana de 300 linfocitos/ $\mu$ L (0 - 6,900 linfocitos/ $\mu$ L) y trombocitopenia en 63 (90%) con mediana de 24,500 plaquetas  $\times 10^9/L$  (2,000 – 452,000 plaquetas  $\times 10^9/L$ ). Dentro de los reactantes de fase aguda analizados se obtuvo una mediana de proteína C reactiva de 9 mg/dL (0.3 – 31.4). En 39 eventos se obtuvo medición de procalcitonina con una mediana de 1.22 ng/mL (0.10 – 85.49).

En todos los eventos se hizo por lo menos una medición de antígeno galactomanano sérico con una mediana de 0.150 DO (0.050 DO – 4.000 DO). Sólo en 12 eventos se obtuvo antígeno galactomanano de LBA, con una mediana de 1.50 (0 – 7).

Un total de 26 eventos (37.1%) ameritaron el ingreso a la unidad de terapia intensiva pediátrica (UTIP), con una mediana de 7 días (1 – 33) de estancia y 11 eventos (15.7%) requirieron ventilación mecánica. Las complicaciones encontradas durante la hospitalización fueron sepsis/choque séptico en 18 eventos, insuficiencia respiratoria en nueve y deterioro neurológico en tres. La mediana de días de estancia hospitalaria fue de 28 (5 -125). Se registraron nueve fallecimientos (12.9%) hasta los 60 días de seguimiento.

**Tabla 1. Características generales de la población de estudio**

<b>n = 70<sup>a</sup></b>	
Edad a la inclusión en años	
Mediana (rango)	9.3 (1.2 – 17.4)
<b>n = 58<sup>b</sup></b>	
Género	
Hombre (%)	38 (65.5)
Mujer (%)	20 (34.4)
Enfermedad oncológica (%)	
LLA	42 (72.4)
LMA	10 (17.2)

TS	4 (6.9)
LNH	2 (3.4)
	<b>n = 70<sup>a</sup></b>
Tratamiento con quimioterapia (%)	66 (94.2)
Fase de tratamiento en pacientes con leucemia (%)	
Inducción	28 (40)
Consolidación	14 (20)
Recaída	24 (34.3)
Tratamiento esteroideo (%)	30 (42.9)
Duración del tratamiento esteroideo en días, mediana (rango)	12 (4 – 36)
Profilaxis antifúngica con fluconazol (%)	49 (70)
Profilaxis antifúngica con trimetoprima-sulfametoxazol (%)	50 (71.4)
Diagnóstico infectológico al ingreso de la hospitalización (%)	
Neutropenia y fiebre alto riesgo	38 (54.3)
Colitis neutropénica	26 (37.1)
Infección de piel y tejidos blandos	1 (1.4)
Neumonía	1 (1.4)
Bacteriemia	1 (1.4)
Infección asociada a catéter	1 (1.4)
Absceso perianal	1 (1.4)
Gastroenteritis infecciosa	1 (1.4)
Tiempo de neutropenia antes de la inclusión, en días	
Mediana (rango)	10.5 (1 - 56)
Aislamiento bacteriano en cultivos (%)	33 (47.1)
Coinfección viral (%)	22 (31.4)
Tipo de neutropenia para la inclusión (%)	
Neutropenia profunda prolongada	33 (47.1)
Neutropenia febril persistente	37 (52.8)
Tiempo total de neutropenia en días	
Mediana (rango)	22 (7 – 82)
Diagnóstico de IFI (incluyendo AI) (%)	19 (27.1)
Complicaciones (%)	
Sepsis/ choque séptico	18
Insuficiencia respiratoria	9
Compromiso neurológico	3
Ingreso a UTIP (%)	26 (37.1)
Tiempo estancia UTIP en días	
Mediana (rango)	7 (1 – 33)
Estancia hospitalaria en días	
Mediana (rango)	28 (5 – 125)
Supervivencia a 60 días (%)	61 (87.1)

<sup>a</sup> total de eventos incluidos, <sup>b</sup> total de pacientes incluidos

Del total de eventos incluidos se diagnosticó IFI en 19 eventos (27.1%) y de estos, 14 fueron diagnosticados como **AI resultando en una frecuencia del 20%**. Un evento se clasificó como AI probada (7.1%) basado en diagnóstico histopatológico, once como probable (78.5%) y dos como posible (14.2%) según los criterios de la EORTC-MSG (tabla 2). La patología de base más frecuente entre los casos de AI fue LLA en 10/14, seguido de LMA en 3/14. Dentro la LLA se obtuvo una

frecuencia de AI del 23.8% y para LMA del 30%. En tres eventos se evidenció compromiso extrapulmonar, dos de estos con enfermedad diseminada. En cinco eventos se obtuvo antígeno galactomanano sérico inicial positivo (GM sérico >0.5 DO), agregándose dos eventos más para la segunda semana de medición. En 8 eventos de AI se realizó broncoscopia para toma de LBA, en 6 de estos se obtuvo un antígeno galactomanano de LBA positivo (GM LBA >1.0 DO); en 4 se reportó la presencia de hifas hialinas dicotómicas septadas en el examen directo y el cultivo fue positivo en 4 con *A. fumigatus* como la especie más aislada. Sólo un paciente fue sometido a biopsia intestinal durante estudio de panendoscopia, el estudio histopatológico reportó la presencia de hifas hialinas septadas con angioinvasión.

De los estudios de TAC pulmonar de alta resolución la imagen más reportada fue consolidación lobar o segmentaria, seguido de la presencia de nódulos con signo del halo y nódulos sin halo.

El tratamiento más utilizado fue voriconazol como monoterapia en 11 eventos y 3 con manejo combinado: 2 con voriconazol / caspofungina y uno con voriconazol / anfotericina B liposomal.

Fallecieron 3 pacientes durante el tiempo de seguimiento de 60 días posterior a la inclusión.

**Tabla 2. Características clínicas de los pacientes con AI**

Tabla 2. Características clínicas de los pacientes con AI	
	n = 14 (100%)
Clasificación según criterios EORTC-MSG	
Probada	1 (7.1)
Probable	11 (78.5)
Posible	3 (21.4)
Enfermedad de base	
LLA	10
LMA	3
TS	1
Sitio de afección,	
Pulmonar	14 (100)
Sinusal	3 (21.4)
Tracto digestivo	1 (7.1)
SNC	1 (7.1)
GM sérico inicial positivo (>0.5 DO)	5 (33.4)
GM sérico positivo en 2nda semana (>0.5 DO)	2 (14.2)
GM en LBA positivo (>1.0 DO)	6 (42.8)
Examen directo del LBA positivo	
Hifas hialinas, septadas dicotómicas	4 (28.5)
Cultivo positivo para <i>Aspergillus</i> spp. de LBA	4 (28.5)
Identificación de especies de <i>Aspergillus</i>	
<i>Aspergillus</i> spp	1
<i>Aspergillus fumigatus</i>	2
<i>Aspergillus versicolor</i>	1
Hallazgos de estudios de imagen	
TAC AR pulmonar	
Nódulos	4
Consolidaciones segmentarias / lobares	10

Cavitación	2
Signo del halo	5
Árbol en gemación	2
Otros (derrame, atelectasia, vidrio esmerilado)	3
TAC senos paranasales	
Pan sinusitis	2
Perforación tabique nasal	1
Tratamiento antifúngico	
Monoterapia	11
Terapia combinada	3
Supervivencia a 60 días	11 (78.6)

En la tabla 3 se muestran las características de cada uno de los 14 pacientes diagnosticados con AI (probada, probable y posible).

14	Edad (años) / sexo	Clasificación de AI	Enfermedad de base / fase	Tiempo neutropenia (días)	Sitio afección	IM (DO)	Cultivo	DNA <i>Aspergillus</i>	Histopatología	Imagen	Tratamiento	Desenlace	Super vivencia 60 días
AI	9 ♂	Probada	LLA / inducción	19	Pulmonar, sinusal, tracto gastrointestinal	Sérico 3.19 (1) LBA NR	neg	NR	<b>Biopsia intestinal / hifas septadas hialinas con angioinvasión</b>	Nódulos / consolidación segmentaria / sinusitis	Voriconazol / caspofungina	Resolución AI / profilaxis secundaria	Si
AI	15.8 ♂	Probable	LLA / mantenimiento	11	Pulmonar, sinusal, SNC	Sérico 3.16 (1) LBA 7.3	<b>A. fumigatus</b>	LBA: <b>positivo</b>	NR	Nódulos con signo halo / consolidación segmentaria / sinusitis	Voriconazol / caspofungina	Muerte asociada	No
AI	15.5 ♀	Probable	LLA / recaída	29	Pulmonar	Sérico 0.49 (1) LBA 2.41	<i>Candida kefyr*</i>	LBA: neg	NR	Nódulos con signo del halo / derrame	Voriconazol	Muerte no asociada	No
AI	7.7 ♂	Probable	LMA / inducción	10	Pulmonar	Sérico 0.86 (1) LBA 3.60	neg	LBA: neg	NR	Consolidación lobar / derrame	Voriconazol	Completó tratamiento	Si
AI	13.9 ♀	Probable	LMA / inducción	13	Pulmonar	Sérico 0.14 LBA NR	<b>A. versicolor</b>	LBA: <b>positivo</b>	NR	Nódulos / cavitación	Voriconazol	Resolución AI / profilaxis secundaria	Si
AI	8 ♂	Probable	TS	11	Pulmonar	Sérico 0.82 (2) LBA NR	<b>Aspergillus spp</b>	LBA: <b>positivo</b>	NR	Derrame pleural / atelectasia / árbol en gemación	Voriconazol	Resolución AI / profilaxis secundaria	Si
AI	9.8 ♂	Probable	LLA / recaída	49	Pulmonar, sinusal	Sérico 1.48 (1) LBA NR	neg	Suero: <b>positivo</b>	NR	Consolidación segmentaria / sinusitis	Voriconazol	En tratamiento	Si

AI	5.5 ♂	Probable	LLA / recaída	26	Pulmonar	Sérico 0.57 (2) LBA 1.5	<i>A. fumigatus</i>	LBA: <b>positivo</b>	NR	Consolidación segmentaria / signo del halo	Voriconazol	Resolución AI / profilaxis secundaria	Si
AI	8.2 ♂	Probable	LMA / inducción	16	Pulmonar	Sérico 0.19 (3) LBA 4.0	neg	LBA: <b>positivo</b>	NR	Consolidación segmentaria / árbol en gemación	Voriconazol	Resolución AI / profilaxis secundaria	Si
AI	10.7 ♀	Posible	LLA / mantenimiento	17	Pulmonar	Sérico 0.1 (1) LBA NR	NR	NR	NR	Consolidación segmentaria / vidrio esmerilado	Voriconazol	Resolución AI	Si
AI	6.1 ♀	Probable	LLA / mantenimiento	15	Pulmonar	Sérico 0.162 (1) LBA 0.67	neg	Suero y LBA: <b>positivo</b>	NR	Nódulos con signo halo / cavitación	Voriconazol / AmB liposomal	Resolución AI	Si
AI	17 ♂	Posible	LLA / mantenimiento	13	Pulmonar	Sérico 0.06 (1) LBA 0.24	neg	LBA: neg	NR	Nódulos con signo halo / consolidación segmentaria	Voriconazol	Resolución AI	Si
AI	14.6 ♀	Probable	LLA/ recaída	63	Pulmonar	Sérico 4 (1) LBA NR	neg	neg	NR	Nódulos / consolidación segmentaria	Voriconazol	Resolución AI	Si
AI	13.9 ♂	Probable	LLA / inducción	28	Pulmonar	Sérico 0.13 (1) LBA 1.01	C. <i>parapsilosis</i> *	neg	NR	Nódulos / consolidación segmentaria	Voriconazol	Muerte asociada	No

NR no realizado; Neg: negativo  
\*Microorganismo colonizante

En la tabla 4 se muestran los resultados de los eventos con y sin diagnóstico de AI. De los eventos con AI se obtuvo una mediana de edad de 10.2 a (5.5 – 17), con predominio de pacientes del género masculino (64.3%). La LLA fue el diagnóstico oncológico más frecuente (71.4%), seguido de LMA (21.4%) y un evento con TS específicamente germinoma del SNC.

El 92.9% de los eventos diagnosticados como AI fueron incluidos por diagnóstico de NFP ( $p= 0.001$ ), con duración de fiebre de 3.5 días (1 – 8) comparado con 1.5 días (0 – 16) para los que no tuvieron diagnóstico de AI ( $p= 0.004$ ). El tiempo total de neutropenia fue de 16.5 días (10 – 63); sin embargo, el grupo sin AI tuvo una mediana de 23 días (7 – 82), sin obtener significancia estadística.

**Tabla 4. Factores de riesgo en los eventos con AI y sin AI**

	Sin aspergilosis n= 56	Aspergilosis invasiva n=14	p
<b>Género n (%)</b>			1.00
Hombres	36 (64.3)	9 (64.3)	
Mujeres	20 (35.7)	5 (35.7)	
<b>Edad en años, mediana (rango)</b>	8.7 (1.2 – 17.4)	10.2 (5.5 – 17)	0.37
<b>Padecimiento oncológico de base, n (%)</b>			0.853 <sup>a</sup>
Leucemia linfoblástica aguda (incluye leucemia NK)	39 (69.6)	10 (71.4)	
Leucemia mieloblástica aguda	12 (21.4)	3 (21.4)	
Otros (tumores sólidos, linfoma no Hodgkin, linfoma Hodgkin)	5 (8.9)	1 (7.1)	
<b>Quimioterapia previa a inclusión, n (%)</b>	53 (94.6)	14 (100)	1.00
<b>Fase de tratamiento oncológico, n (%)</b>			0.743 <sup>a</sup>
Inducción	23 (41)	5 (35.7)	
Mantenimiento	10 (17.8)	4 (28.5)	
Recaída	20 (35.7)	4 (28.5)	
Días desde última quimioterapia, mediana (rango)	14 (2 – 430)	14 (9 – 18)	0.85
Tratamiento esteroideo, n (%)	24 (42.9)	6 (42.9)	1.00
Duración de tratamiento esteroideo en días, mediana (rango)	12 (4 – 36)	8.5 (5 – 22)	0.336
Profilaxis con fluconazol, n (%)	42 (75)	7 (50)	0.10*
Neutropenia febril persistente, n (%) <sup>b</sup>	24 (42.9)	13 (92.9)	<b>0.001</b>
<b>Diagnostico infectológico al ingreso</b>			
- Colitis neutropénica	18 (32.1)	8 (57.1)	
- Neutropenia febril alto riesgo	34 (60.7)	4 (28.6)	
- Otros (neumonía, infección piel y tejidos blandos, bacteriemia, entre otros)	4 (7.2)	2 (14.2)	
Tiempo de neutropenia previo al ingreso en días, mediana (rango)	10.5 (1 – 56)	11 (4 – 53)	0.86
Tiempo total de neutropenia en días, mediana (rango)	23 (7 – 82)	16.5 (10 - 63)	0.29

<sup>a</sup>prueba exacta de Fisher, resto de variables categóricas se analizaron con Chi cuadrada. Las variables numéricas no cumplieron normalidad y se analizaron con U de Mann Whitney

<sup>a</sup> Chi cuadrada de tendencia

<sup>b</sup> resto de pacientes se catalogaron como neutropenia profunda y prolongada (NPP)

El grupo con AI cursó tanto con linfopenia y trombocitopenia sin diferencia estadísticamente significativa con el grupo sin AI. Se observó una mediana del valor de proteína C reactiva de 15.4 mg/dL (1.8 – 30.4) comparado con 7.29 mg/dL (0.3- 31.4) para el grupo sin AI ( $p=0.027$ ), mientras que para los 39 eventos donde se midió procalcitonina, la mediana fue de 1.46 ng/mL (0.21 – 18.84) en AI y de 1.16 (0.10 – 85.49) en los que no tuvieron AI ( $p=0.64$ ) (tabla 5).

**Tabla 5. Características clínicas de los eventos con AI y sin AI**

	Sin aspergilosis n= 56	Aspergilosis invasiva n=14	p*
Fiebre >96 h, n (%)	28 (50)	14	<b>0.001</b>
Duración de fiebre en días, mediana (rango)	1.5 (0 – 16)	3.5 (1 - 8)	<b>0.004</b>
Cuenta total de plaquetas $\times 10^9/L$ , mediana (rango)	23,500 (2,000 –452,000)	25,500 (3,000 –52,000)	0.659
Cuenta total de linfocitos/ $\mu L$ , mediana (rango)	300 (0 – 5000)	300 (0 – 6900)	0.706
Valor de proteína C reactiva (mg/dL), mediana (rango)	7.29 (0.3- 31.4)	15.4 (1.8 – 30.4)	<b>0.027</b>
Medición de procalcitonina, n (%)	30 (53.5)	9 (64.2)	
Valor de procalcitonina (ng/mL), mediana (rango)	1.16 (0.10 – 85.49)	1.46 (0.21 – 18.84)	0.641
Antígeno GM sérico inicial (DO), mediana (rango)	0.132 (0.050 – 0.391)	0.246 (0.061 – 4.000)	<b>0.006</b>
Antígeno GM sérico # 2 (DO), mediana (rango)	0.090 (0.069 – 0.229)	0.365 (0.120 – 4.120)	<b>&lt;0.05</b>
Antígeno GM en LBA (DO) <sup>a</sup> , mediana (rango)	0.58 (0 – 1)	2.41 (0 – 7)	0.079
Estudio de TAC AR pulmonar, n (%)	19 (33.9)	14	
Patrón radiológico en TAC pulmonar (%)			<b>0.003<sup>a</sup></b>
NORMAL			
Patrón único	12 (63.2)	0	
Patrón mixto	6 (31.6)	2 (14.3)	
	1 (5.3)	12 (85.7)	

<sup>a</sup> Antígeno GM fue medido en LBA sólo para 12 eventos

\* Para las variables categóricas se realizó prueba exacta de Fisher y las variables numéricas no cumplieron normalidad y se analizaron con U de Mann Whitney

Se realizó el análisis considerando a los eventos donde se obtuvo un aislamiento bacteriano positivo y aquellos con aislamiento negativo (tabla 6). De este análisis se obtuvo significancia estadística para el valor de proteína C reactiva en pacientes sin aislamiento bacteriano y con AI 14.3 (1.8 – 19.5) comparado con aquellos sin aislamiento bacteriano y sin AI 2.31 (0.3 – 31.4), ( $p=0.046$ ).

	Sin aspergilosis n=24	Aspergilosis invasiva n=9	p*
PCR (mg/dL) + aislamiento bacteriano	13.15 (0.3 – 30.7)	16.10 (6.3 – 30.4)	0.146
	Sin aspergilosis n=30	Aspergilosis invasiva n=6	
PCR (mg/dL) sin aislamiento bacteriano	2.31 (0.3 – 31.4)	14.3 (1.8 – 19.5)	<b>0.046</b>

\* U de Mann Whitney

De los 14 eventos con AI, solo 5 tuvieron resultado positivo de antígeno GM en la primer medición. La mediana del primer valor de antígeno GM en suero fue de 0.246 (0.061 – 4.000) para los eventos con AI en comparación con 0.132 (0.050 – 0.391) ( $p=0.006$ ). Sin embargo, para la segunda medición de antígeno GM se agregaron 2 eventos más con resultado positivo, con una mediana de 0.365 (0.120 – 4.120) ( $p<0.05$ ). De los 14 eventos con AI sólo 8 tuvieron medición de antígeno GM en LBA o aspirado traqueal con una mediana de 2.41 (0 – 7) (tabla 5).

	Sin aspergilosis n= 56	Aspergilosis invasiva n=14	p*
Complicaciones, n (%)	13 (23.2)	10 (71.4)	<b>0.001</b>
Ventilación mecánica, n (%)	7 (12.5)	4 (28.6)	0.212
Ingreso a unidad de cuidados intensivos, n (%)	17 (30.4)	9 (64.3)	<b>0.019</b>
Tiempo de estancia en UTIP en días, mediana (rango)	4 (1-27)	13 (4 – 33)	<b>0.026</b>
Tiempo de estancia hospitalaria (días)	28 (5 – 125)	28 (17- 78)	0.321
Supervivencia a 30 días, n (%)	52 (92.9)	11 (78.6)	0.137
Supervivencia a 60 días, n (%)	50 (89.3%)	11 (78.6)	0.370
Muerte, n (%)	4 (7.1)	3 (21.4)	0.137

\*Para las variables categóricas se realizó prueba exacta de Fisher y las variables numéricas no cumplieron normalidad y se analizaron con U de Mann Whitney

El 64.3% de los eventos con AI ameritaron ingreso a UCIP comparado con 30.4% sin AI ( $p=0.019$ ), con un tiempo de estancia de 13 días (4 – 33) mayor con respecto a los eventos sin AI 4 (1-27), ( $p=0.026$ ). El tiempo de estancia tuvo una mediana de 28 días para ambos grupos. La supervivencia a 60 días después de la inclusión fue de 78.6% para el grupo con AI.

Se realizó el análisis del antígeno GM sérico como factor asociado a muerte y

complicaciones, se analizó el primer valor sérico ya que este se midió en todos los eventos incluidos. Se obtuvo una mediana de 0.209 DO (0.060- 4.000) para aquellos con complicaciones (p= 0.005) y de 0.209 DO (0.05- 3.168) para los que fallecieron (p=0.256), (tabla 8).

Tabla 8. Antígeno GM sérico asociado al desenlace			
	Complicaciones n= 23	Sin Complicaciones n= 47	p*
Valor de antígeno galactomanano sérico inicial (DO), mediana (rango)	0.209 (0.060- 4.000)	0.126 (0.050 – 0.490)	0.005
	Muerte n=7	Vivo n= 63	p
Valor de antígeno galactomanano sérico inicial (DO), mediana (rango)	0.209 (0.05- 3.168)	0.140 (0.050 - 4.000)	0.256

\* U de Mann Whitney

De los 19 eventos con IFI, cinco presentaron infección por otros hongos diferentes a *Aspergillus spp*; dos con tricosporiosis invasiva (10.5%), uno con candidiasis invasiva (CI) (5.2%), uno con fusariosis invasiva (FI) (5.2%) y uno más con neumonía por *Pneumocystis jirovecii* (5.2%). Se presentó más de una infección fúngica en dos eventos con AI (14.2%): neumonía por *P. jirovecii* coinfectada con FI y CI, en cada evento, respectivamente. La forma de presentación clínica más frecuente en los eventos diagnosticados como IFI fue la pulmonar con 16 eventos (84.2%), seguido de infección del torrente sanguíneo o fungemia (por *Candida spp.* y *Fusarium spp.*, respectivamente) con dos eventos (10.5%). Se presentó neumonía complicada en dos eventos de IFI (10.5%) e infección diseminada en cuatro (21%).

## XV. DISCUSIÓN

La mayor parte de la información acerca de la frecuencia de AI en población pediátrica se ha obtenido de estudios retrospectivos (7, 29, 30, 31), esto debido a la dificultad que existe para establecer el diagnóstico de AI probable o probada. Nuestro estudio realizó una investigación prospectiva en población considerada de alto riesgo para IFI, en específico AI, con el objetivo de determinar la frecuencia de esta complicación infecciosa. Lehrnbecher y colaboradores realizaron también un estudio prospectivo donde se determinó la incidencia de IFI en diferentes centros pediátricos, incluyendo pacientes con diagnóstico oncológico de novo y/o con TCPH de tipo alogénico. Los pacientes podían ser incluidos en más de un evento, siempre y cuando hubieran recibido esquemas de quimioterapia diferentes (32). Considerando que un mismo paciente puede presentar neutropenia febril en más de una ocasión durante el curso de tratamiento con quimioterapia, nuestro estudio se basó en la

inclusión de eventos de NFP o NPP pudiendo repetirse en un mismo paciente. Otros autores también se han basado en la inclusión de eventos de neutropenia febril; sin embargo, su objetivo principal fue evaluar la efectividad de pruebas diagnósticas para AI (29, 30) a diferencia de este estudio donde se determinó la frecuencia de AI.

El seguimiento prospectivo de los pacientes representa una fortaleza de este estudio ya que se toman en cuenta los aspectos clínicos, pero también herramientas como los estudios de imagen y biomarcadores (antígeno galactomanano y PCR de *Aspergillus* spp.) para establecer el diagnóstico de AI. La búsqueda de forma retrospectiva, que usualmente se basa en la información obtenida del expediente clínico, puede conllevar sesgo debido a que no siempre se especifican las herramientas que se tomaron en cuenta para establecer el diagnóstico de AI.

En el presente trabajo se diagnosticaron 14 pacientes con AI, uno con AI probada; once probables y dos posibles, de acuerdo con los criterios diagnósticos de la EORTC-MSGERC (19, 20) con los que se obtuvo una frecuencia del 20% para pacientes oncológicos de alto riesgo de nuestro centro. En la literatura revisada, el estudio de Lehrnbecher y colaboradores reportó una incidencia del 6.3% de IFI en los niños con cáncer, con 10 probadas y nueve probables, detectando a *Aspergillus* spp. como el agente principal seguido de *Candida* spp. (destaca que no se incluyeron las IFI catalogadas como posibles) (32). En el trabajo retrospectivo multicéntrico de tres años de Olivier-Guggenheim y colaboradores se diagnosticaron 144 (5.2%) pacientes con IFI de los 2,721 incluidos, con 81 IFI probadas (56.3%) y 63 probables (43.7%). Aunque la frecuencia de CI y AI fue similar, 42.4% y 41.7% respectivamente, se destaca que la mayoría de las IFI catalogadas como probables (90%) fueron AI con aislamiento de *A. fumigatus* en muestras de LBA (33). Rubio y colaboradores reportaron una incidencia de AI de 4.5% para los pacientes con neoplasias hemato-oncológicas, con 12 AI probadas y 8 probables (34). Otro estudio también enfocado en incidencia de AI en niños con leucemias en un centro con recursos limitados de la India reportó 9.5% (34/356); 29 infecciones probables y cinco probadas (31). Es notable que la población de estudio, así como el tiempo de seguimiento de los artículos mencionados es significativamente mayor comparado con el nuestro (12 meses). Con excepción de dos trabajos, uno de la India y otro de España que fueron realizados en un solo centro (31, 34), el resto fueron multicéntricos, lo que elevó el número de eventos y/o pacientes incluidos. A diferencia de los estudios mencionados donde se analizó incidencia del total de la población oncológica en el tiempo de estudio señalado, en nuestra investigación se seleccionó a población de mayor riesgo para desarrollar AI debido la presencia de NPP o NFP. Finalmente, la mayoría de los autores consideraron solo las infecciones probadas y probables para establecer la frecuencia o prevalencia de la AI; sin embargo, en nuestro

estudio consideramos también aquellos con diagnóstico de AI posible ya que son pacientes que cumplieron el tratamiento y seguimiento como el resto de los eventos con AI. Considerando todo lo anterior, si bien la frecuencia de AI obtenida en nuestro centro es elevada, es equiparable a lo reportado por otros autores.

En cuanto a la distribución por sexo nuestra investigación reportó un ligero predominio de hombres (60%) en los casos de AI, compatible con lo que han encontrado otros autores (52 – 63%) (29, 32). Sin embargo, Waitter y colaboradores, en una serie multicéntrica con 131 pacientes con infección fúngica por hongos filamentosos (IFIHF) reportaron predominio de mujeres (35). Ningún estudio hasta el momento, incluyendo el nuestro, ha demostrado que el sexo represente aumento en el riesgo para desarrollar AI. Para la edad, la mediana encontrada para AI fue de 10.2 años (5.5-17), que es similar a otros estudios que reportan rangos de entre 5 – 13 años (7, 29, 30, 31, 32, 36). Al comparar pacientes con y sin AI, la edad es un factor importante, como se presentó en el trabajo de Lehrnbecher y colaboradores en el que pacientes con IFIHF eran mayores a aquellos que no la presentaron; mediana de 15.6 años (2.3 – 17.4) versus 5.3 años (0.2 – 17.9, respectivamente con  $p=0.002$ ) (32). Así mismo, Zaoutis y colaboradores demostraron significancia estadística al comparar la edad de los pacientes inmunocomprometidos con diagnóstico de AI (13 años; 8 – 15) y los que no la presentaron (7 años; 3 – 13), ( $p<0.001$ ) (7). Nuestro estudio evidencia una edad mayor entre los pacientes con AI comparado con los que no tuvieron; sin embargo, no se demostró significancia estadística. Es importante destacar que en los últimos años se ha considerado a los pacientes hemato-oncológicos de mayor edad (sin haberse establecido un punto de corte específico), como un grupo con mayor riesgo para desarrollar IFIHF, incluso este factor se ha agregado en guías publicadas en años recientes para el tratamiento y profilaxis de infección fúngica en pacientes oncológicos y sometidos a TCPH (37).

Dentro de los eventos de AI, el padecimiento oncológico más frecuente fue LLA (71.4%), seguido de LMA (21.4%). El reporte más reciente del registro de cáncer en niños y adolescentes (RCNA) de México (2019), señala que las leucemias son el tipo de cáncer más frecuente en pediatría, la LLA representó el 68.6% de los casos y en segundo lugar la LMA con 21.4% (38). Ambos tipos de leucemia son tratados con medicamentos antineoplásicos que llevan a neutropenia cuya duración puede ir de días a semanas, lo cual es el principal factor de riesgo para AI. Otros estudios de IFI y AI como los de Reinwald y colaboradores y Jain y colaboradores también reportan a la LLA como el principal padecimiento oncológico; sin embargo, para el caso de Zaoutis y colaboradores y Delgado Aráneda y colaboradores la LMA fue el más frecuente (7, 29, 30, 31). También se destaca la fase del tratamiento antineoplásico en la que se encontraban los pacientes con leucemia, evidenciando que hubo

más casos de AI de pacientes que se encontraban en fase de inducción (35.7%), similar a lo que reportaron Jain y colaboradores considerando, en ese estudio, la inducción como un factor de riesgo para AI (31). Yeoh y colaboradores reportan en su estudio de prevalencia de IFI específicamente en niños con LMA que hasta el 20.7% se presentó durante la terapia primaria o inducción, similar a lo ocurrido en el nuestro donde el total de los casos de AI y diagnóstico de LMA se encontraban en la fase inducción (36).

Con respecto a otros diagnósticos oncológicos, la literatura reporta dos trabajos, uno retrospectivo y otro prospectivo que incluyen 6 y 32 pacientes con LNH, respectivamente (30, 32). En nuestra serie, de los cuatro eventos incluidos con diagnóstico de TS, se presentó AI en uno correspondiente a paciente con germinoma del SNC. Reinwald y colaboradores reportaron que el 27% de su muestra fueron pacientes con TS que recibieron quimioterapia, siendo los más frecuentes el sarcoma de Ewing y neuroblastoma (30). Dentro de los eventos que incluimos, el número de pacientes con TS fue escaso ya que cursan con neutropenia prolongada en menor frecuencia comparado con las leucemias.

En cuanto al tratamiento esteroideo prolongado, reportado en la literatura como un factor de riesgo para AI, se detectó en 6 de 14 casos de AI con 8 días (5 - 22) de duración. En la revisión sistemática realizada por Fisher y colaboradores se evidenció una asociación entre el uso de esteroides a dosis altas y la presencia de IFI en pacientes post TCPH y lo mismo se observó en pacientes con LMA al analizar la duración del tratamiento esteroideo (13). En el estudio de Wattier y colaboradores, previamente mencionado, se observó que el tratamiento con esteroides fue un factor asociado a mayor falla al tratamiento antifúngico (35). Si bien en nuestro trabajo no fue un factor presente en la mayoría de los pacientes con AI, debe de considerarse al evaluar el riesgo para toda IFI.

En nuestro centro se ha establecido el uso de profilaxis antifúngica en pacientes de alto riesgo como LMA y LLA en inducción o recaída cuando se esperan tiempos prolongados de neutropenia. La literatura sugiere que el uso de fluconazol profiláctico puede asociarse con el aumento de la incidencia de IFIHF, ya que este antifúngico no tiene espectro de acción contra estos hongos. La mitad de los casos de AI detectados en nuestro estudio habían recibido profilaxis con fluconazol comparado con el 75% de los que no tuvieron AI. En el estudio realizado por Yeoh y colaboradores, se vio que casi el 90% de los casos con IFI se presentaron en pacientes que tenían profilaxis; se administró fluconazol aproximadamente en el 78%. No obstante, el 25% de los pacientes que desarrollaron IFIHF habían recibido itraconazol profiláctico, pero no tuvieron una adecuada monitorización de los niveles de este fármaco el cual presenta una farmacocinética muy variable en población pediátrica (36). En el estudio de Cesaro y colaboradores donde se analizó la frecuencia y desenlace de IFI en

pacientes hemato-oncológicos, el 62% había recibido profilaxis antifúngica con fluconazol; 41 de 55 casos desarrollaron AI y 4 por otros hongos filamentosos (39). Con el aumento de la incidencia de IFIHF, muchos autores han replanteado que fluconazol ya no es el antifúngico ideal para profilaxis primaria en los pacientes de mayor riesgo (LMA y LLA en recaída); sin embargo, estas estrategias se van individualizando en cada centro.

La mediana de días de neutropenia previo a la inclusión en AI fue de 10 días (4 - 53) y para el tiempo total de neutropenia fue de 16 días (10- 63), ligeramente menor a lo que se observó para los pacientes sin AI (23 con rango de 7 – 82). Rubio y colaboradores reportaron que el 90% con AI tuvieron tiempos de neutropenia mayor a 10 días en los tres meses previos al diagnóstico (34). Jain y colaboradores también reportaron que el 91% de sus pacientes con AI tuvieron más de 10 días con neutropenia (32). Ambos trabajos se basan en diagnóstico de AI en específico en pacientes de riesgo y aunque no se comenta si este dato tuvo significancia estadística, si estuvo presente en más del 90% de los casos con la enfermedad. Los días totales de neutropenia para los eventos con AI son concordantes a lo que se reporta en la literatura, el estudio de Fisher y colaboradores demostró que la neutropenia por >10 días fue factor de riesgo para IFI en pacientes pediátricos con cáncer y sometidos a TCPH (13).

De los datos clínicos que obtuvieron significancia estadística en el grupo de AI fue la duración de la fiebre posterior a las 96h de neutropenia febril persistente con 3.5 días (1 - 8) comparado con 1.5 días (0-16) en el grupo sin AI. En el estudio realizado en un centro en Tailandia donde se analizaron las características clínicas y factores pronósticos de pacientes con neutropenia febril que desarrollaban IFI, se observó que una duración mayor de fiebre resultó significativa (casi 10 días) cuando hubo diagnóstico de IFI (OR 1.201, 95% CI 1.038–1.389; p=0.014) (40). Los resultados obtenidos en nuestro trabajo apoyan la conducta de iniciar abordaje de IFI ante la persistencia de fiebre en los pacientes neutropénicos.

La presentación clínica fue pulmonar en el total de los pacientes con AI, compatible con lo que se reporta en la mayoría de los estudios de pacientes pediátricos oncológicos con AI (34, 35, 39). En tres pacientes también hubo involucro sinusal (demostrado por imagen) y dos (14.2%) de estos tuvieron diseminación a tracto gastrointestinal y SNC, respectivamente). Wattier y colaboradores reportaron diseminación en el 15% de sus pacientes de IFIHF (35) y Jain y colaboradores en 3 de 34 pacientes (32). El desarrollo de enfermedad diseminada se ha asociado a mayor mortalidad, sobre todo cuando afecta SNC, y algunos autores lo consideran como indicación para el tratamiento con más de un antifúngico.

Dentro de los estudios de laboratorio realizados, cabe destacar que los valores de proteína C reactiva obtenidos para los pacientes con AI resultaron mayores, 15.4 mg/dL (1.8 – 30.4) comparados con los que no tuvieron AI 7.29 mg/dL (0.3- 31.4),  $p=0.027$ . Esto ha sido mencionado por varios autores, sobre todo en estudios realizados en población adulta, donde se ha buscado evaluar la utilidad de biomarcadores como proteína C reactiva y procalcitonina en pacientes inmunocomprometidos con sospecha de IFI (41- 43). Para nuestros resultados se comparó también los valores de proteína C reactiva específicamente para aquellos eventos donde hubo aislamiento bacteriano en hemocultivos y para los que no. Posterior a este análisis obtuvimos significancia estadística al comparar los valores de proteína C reactiva entre grupo con y sin AI que además no tuvieron aislamiento bacteriano (14.3 mg/dL con rango de 1.8 – 19.5,  $p=0.046$ ). Liu y colaboradores realizaron un estudio para validar la utilidad diagnóstica de la proteína C reactiva y procalcitonina (PCT) en población pediátrica con padecimientos hemato-oncológicos con IFI. Al evaluar estos biomarcadores tomados en las primeras 24h del inicio de la fiebre, se observaron valores de proteína C reactiva significativamente elevados en el grupo de IFI comparado con el grupo de infección bacteriana (100.57 [64.00–157.83] versus 40.04 [11.90–74.84] mg/L  $p<0.001$ ), asociado a valores de PCT muy bajos para el grupo con IFI comparado con infección bacteriana (0.45 [0.21–1.06] versus 1.29 [0.42–13.53] g/L, median [IQR],  $p=0.007$ ). Con lo reportado en la literatura y los datos obtenidos en nuestro trabajo, consideramos que es un área de oportunidad para futuros estudios donde se tomen en cuenta estos biomarcadores de infección para diferenciar infección bacteriana de IFI en pacientes inmunocomprometidos con NFP. Sabemos que los resultados que obtuvimos deben tomarse con reserva ya que hasta un 30% de los eventos de neutropenia febril cursan con bacteriemia oculta.

El estudio de tomografía computarizada de alta resolución pulmonar (TCARP) fue realizado en 33 eventos, incluyendo en los 14 eventos donde hubo diagnóstico de AI. De los hallazgos más frecuentes en aquellos con AI están: consolidaciones lobares o segmentarias (10/14), nódulos con signo del halo (5/14) y nódulos sin signo del halo (4/14). A partir de la revisión de las guías del EORTC-MSGERC del 2020 se agregaron nuevos hallazgos en tomografía “no clásicos” como son la presencia de nódulos y consolidaciones, así como hallazgos atípicos (imágenes en vidrio esmerilado y derrame pleural) (19), debido a que el signo del halo, aunque es característico de angioinvasión, solo se observa en uno a dos tercios de los casos. El estudio multicéntrico norteamericano, enfocado en AI en pacientes pediátricos, realizado por Burgos y colaboradores encontró que el signo del halo estuvo presente solo en el 10%, mientras que los nódulos fueron el hallazgo más frecuente, encontrados en el 59% (44). Así mismo, se vio que a menor edad era menos probable encontrar nódulos y

signo del halo. En este estudio también se encontró que un poco más de la mitad de los pacientes tuvieron más de 2 signos radiológicos en la TCARP. Este mismo hallazgo fue evaluado en nuestro trabajo donde la presencia de un patrón mixto (>1 signo radiológico) en la TCARP resultó estadísticamente significativo para AI, 85.7% comparado con 5.3% ( $p=0.003$ ). Como ya lo han mencionado diversos autores de estudios pediátricos, los signos “clásicos” de aspergilosis pulmonar no siempre estarán presentes en pacientes de menor edad; sin embargo, es importante que todo pediatra tratando pacientes con cáncer y alto riesgo para AI sepa identificarlos (16, 32, 44, 45).

Se obtuvo resultado positivo de antígeno GM sérico en la primera determinación en 5/14 pacientes con AI y 2 pacientes más en la 2da semana de medición. En un estudio del 2019, Çağlar y colaboradores observaron que las determinaciones consecutivas del antígeno GM sérico aumentaban el valor predictivo positivo (VPP) de la prueba. Aunque se reconoce la utilidad diagnóstica del antígeno GM en niños comparable con resultados obtenidos en adultos, la sensibilidad y especificidad son variables en específico para pacientes con cáncer y TCPH (21); sin embargo, se reconoce su valor predictivo negativo (VPN) alto que va del 85-100% (37). La mayoría de los autores continúan apoyando su uso para el diagnóstico de AI probable basado en lo que indican las guías EORTC-MSGERC (9, 19, 37, 47); sin embargo, Lehrnbecher y todo el grupo involucrado en las guías de manejo de neutropenia y fiebre de pacientes pediátricos con cáncer y TCPH de la Asociación Americana de Oncología Clínica (ASCO por sus siglas en inglés) se pronunciaron en contra de la realización de antígeno GM para guiar el inicio de la terapia antifúngica empírica. En esta guía se especifica que ante una probabilidad preprueba elevada, es decir, la presencia de imágenes sugestivas en la TCARP si se indica el uso del antígeno GM sérico (48). Tomando en cuenta la frecuencia elevada de AI obtenida en este estudio y que la mitad de los casos tuvieron al menos una medición de GM sérico positivo, además de que se trata de una prueba rápida y poco invasiva para el paciente consideramos importante seguir incluyéndolo en el abordaje del paciente con NFP. No obstante, se debe tener presente la probabilidad preprueba (imágenes sugestivas en TCARP), un tiempo corto en la obtención de resultados y mediciones consecutivas a fin de mejorar el rendimiento de este biomarcador fúngico. Por lo tanto, la monitorización con antígeno GM sérico en pacientes con NPP tiene pobre utilidad.

El antígeno GM tomado de LBA fue positivo en 6/14 pacientes con AI. En la última revisión de las guías EORTC/MSGERC se estableció un punto de corte  $\geq 1.0$  para reducir la probabilidad de falsos positivos debido a la colonización de *Aspergillus* spp. en las muestras respiratorias (19). La mayor utilidad de la prueba de detección del antígeno GM en LBA se obtiene cuando se realiza de forma temprana al inicio de los síntomas; sin embargo, al

requerir un procedimiento invasivo para la obtención de la muestra la experiencia en nuestro centro es que se realiza de forma tardía.

La AI probada requiere de un estudio histopatológico positivo o aislamiento fúngico de biopsia de tejido estéril, llama la atención que, a excepción del estudio de Jain y colaboradores (32), los estudios que se han mencionado a lo largo de la discusión presentan una mayor frecuencia de IFI o AI probadas (10 a 81 casos) comparado con el nuestro (29-31, 33, 34). Esto puede explicarse por el abordaje diagnóstico realizado en nuestro centro que suele diferir o contraindicar el procedimiento invasivo para la toma de cultivos e histopatología, cuando el paciente ya cuenta con una prueba de antígeno GM positivo en suero, hallazgos compatibles en estudio de imagen y condiciones vulnerables que ponen en riesgo la vida como trombocitopenia o inestabilidad hemodinámica. Una publicación de 2015 analizó el rendimiento diagnóstico, así como el impacto en la conducta terapéutica de pacientes pediátricos oncológicos con sospecha de IFI a nivel pulmonar a los que se les realizó toma de LBA y/o biopsia pulmonar. Sólo en el 25% (6/24) de los pacientes con LBA se obtuvo aislamiento micológico, y en el 39% (12/31) de los sometidos a biopsia pulmonar. Como resultado de estos hallazgos, se produjo un cambio en el manejo del paciente solo en 33% de los casos, 2 de 6 LBA y 4 de 12 con biopsia. Los autores concluyen que, en la era del manejo antifúngico empírico, la realización de procedimientos invasivos raramente representa una modificación en el manejo terapéutico (49). Sin embargo, para fines epidemiológicos y del conocimiento del patrón de susceptibilidad antifúngica, es necesaria la obtención de cultivos micológicos. En nuestro estudio se obtuvo cultivo positivo de LBA en 4/14 pacientes y sólo se realizó estudio histopatológico en un paciente por los hallazgos macroscópicos a nivel del tracto gastrointestinal en estudio de panendoscopia.

Las guías de tratamiento para AI en pacientes pediátricos establecen que el voriconazol es el tratamiento de elección (9, 37). El voriconazol se administró como monoterapia en 11/14 eventos de AI; sin embargo, en 2 casos se utilizó terapia combinada debido al involucro de 2 o más sitios, y en otro más por una mala respuesta al tratamiento agregando anfotericina B liposomal. Wattier y colaboradores reportan en su estudio prospectivo que el antifúngico más utilizado fue voriconazol y la terapia combinada fue necesaria en pacientes con antecedente de recibir antifúngicos con actividad contra hongos filamentosos (esto sobre todo en casos de IFI por hongos filamentosos no *Aspergillus* spp.). La combinación más utilizada para AI fue voriconazol con equinocandinas en 32%; sin embargo, también se observó que hubo más efectos adversos en pacientes que usaron la terapia combinada (35). Los pacientes con diagnóstico probable y probado que tuvieron supervivencia a los 60 días de seguimiento continuaron su tratamiento y posteriormente se les administró profilaxis

secundaria con el mismo antifúngico como se indica en las guías (9).

El grupo con AI presentó un mayor porcentaje de ingreso a la UTIP, así como más días de estancia en dicha unidad comparado con el grupo sin AI (64% vs 30%,  $p=0.019$  y mediana de 13 días vs 4 días,  $p=0.026$ ). La necesidad de ingreso a una unidad de cuidados críticos no es una variable comúnmente reportada en la mayoría de los estudios de AI en pediatría. En el presente trabajo, se analizó el ingreso a UTIP durante toda la hospitalización y no necesariamente posterior al diagnóstico de AI. Por otro lado, si se ha observado que aquellos pacientes con AI presentan tiempos de estancia hospitalaria prolongada. Así lo han reportado Jain y colaboradores con una mediana de 17 días y rango de 2 – 44 (32) y Zaoutis y colaboradores con 16 días de estancia y significancia estadística al comparar con pacientes sin AI (16 días; RIQ: 3–38 versus 3 días; RIQ: 2–6;  $p=0.001$ ) (7). En nuestro estudio se obtuvo el mismo tiempo de estancia (28 días) para los dos grupos que puede explicarse porque muchos pacientes que reciben quimioterapia en fases de inducción o recaída permanecen hospitalizados por varias semanas y más aún si se agregan episodios de NF.

Del grupo con AI fallecieron 3 pacientes al final del seguimiento de 60 días después de la inclusión lo que da una mortalidad del 21.4%. El estudio de Burgos y colaboradores realizado entre el 2000 y 2005, reportó una mortalidad del 52% y se encontró que el TCPH alogénico era factor de riesgo para muerte con seis veces más probabilidad de muerte para estos pacientes (44). Estudios más recientes reportan una mortalidad menor, el trabajo de Jain y colaboradores con 14.7%; Yeho y colaboradores 16.7%, y Han y colaboradores 16.2% a las 6 semanas y 27% a las 12 semanas (32, 36, 45). En nuestro centro los tres casos que fallecieron tenían progresión de la enfermedad de base; sin embargo, en uno de ellos la AI se catalogó como enfermedad diseminada, además de la presencia de más de una IFI al final de la evolución. La mortalidad obtenida en nuestro estudio podría considerarse elevada comparada con los estudios antes mencionados que se han publicado del 2015 a la fecha (32, 36, 44). No obstante, es menor a la que se reporta en estudios publicados antes del 2010 (34, 44). El mejoramiento de técnicas de diagnóstico, el reconocimiento de pacientes de alto riesgo, así como la disponibilidad de tratamientos efectivos han sido responsables de una disminución global en las muertes por AI.

Es necesario realizar este tipo de estudios en cada centro donde se manejan pacientes pediátricos con cáncer y que posteriormente pueden ser candidatos a TCPH para conocer la situación epidemiológica de las IFIHF de modo que puedan implementarse estrategias para diagnóstico oportuno, tratamiento y profilaxis antifúngica en los pacientes de mayor

riesgo.

## **XVI. CONCLUSIONES**

Este es el primer estudio prospectivo en pacientes con cáncer y AI realizado en nuestro centro y de lo que se tiene conocimiento en población pediátrica mexicana. Se estableció una frecuencia elevada de AI del 20% considerando tanto los diagnósticos probados, probables como también los posibles. La fiebre prolongada se asoció con la presencia de AI. Las consolidaciones lobares/segmentarias y signo del halo fueron los hallazgos tomográficos más frecuentes en pacientes con AI. Se observó mayor porcentaje de complicaciones que ameritaron ingreso a UTIP en los pacientes con AI. El voriconazol en monoterapia fue el tratamiento de elección para los pacientes con AI. La mortalidad fue del 21.4% superior a otras poblaciones con características similares.

## **XVII. Referencias bibliográficas**

1. Pana ZD, Roilides E, Warris A, Groll AH, Zaoutis T. Epidemiology of Invasive Fungal Disease in Children. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2017;6:S3–11.
2. Bongomin F, Gago S, Oladele RO, Denning DW. Global and multi-national prevalence of fungal diseases—estimate precision. *J Fungi (Basel).* 2017 Oct 18;3(4):57.
3. Latgé J-P, Chamillos G. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis in 2019. *Clin Microbiol Rev.* 2020;33:1–75.
4. Pemán J, Quindós G. Aspectos actuales de las enfermedades invasivas por hongos filamentosos. *Rev Iberoam Micol. Revista Iberoamericana de Micología;* 2014;31:213– 8.
5. Ambasta A, Carson J, Church DL. The use of biomarkers and molecular methods for the earlier diagnosis of invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *Med Mycol.* 2015;53:531–57.
6. Corzo-León DE, Armstrong-James D, Denning DW. Burden of serious fungal infections in Mexico. *Mycoses.* 2015;58:34–44.
7. Zaoutis TE, Heydon K, Chu JH, Walsh TJ, Steinbach WJ. Epidemiology, outcomes, and costs of invasive aspergillosis in immunocompromised children in the United States, 2000. *Pediatrics.* 2006 Apr;117(4):e711-6.
8. Papachristou S, Iosifidis E, Roilides E. Invasive aspergillosis in pediatric leukemia patients: prevention and treatment. *J Fungi (Basel).* 2019 Feb 11;5(1):14.
9. Warris A, Lehrnbecher T, Roilides E, Castagnola E, Brüggemann RJM, Groll AH. ESCMID-ECMM guideline: diagnosis and management of invasive aspergillosis in neonates

and children. *Clin Microbiol Infect*. Elsevier Ltd; 2019;25:1096–113.

10. López, Ramírez JM. Frecuencia de aspergilosis en un hospital pediátrico de tercer nivel en la ciudad de México durante el período del 2012 al 2015.pdf.

11. Angélica L, Dorantes R, Toscano VG, Rafael R, Jurado R, Díaz García L. Enfermedad fúngica invasiva por hongos filamentosos: perfil clínico-epidemiológico y de respuesta farmacológica en un Hospital de tercer nivel en México. 2018;31:152–8.

12. Lass-Flörl C. How to make a fast diagnosis in invasive aspergillosis. *Med Mycol* 2019;57:S155–60.

13. Fisher BT, Robinson PD, Lehrnbecher T, Steinbach WJ, Zaoutis TE, Phillips B, et al. Risk Factors for Invasive Fungal Disease in Pediatric Cancer and Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Systematic Review. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2018;7:191–8.

14. Lehrnbecher T, Hassler A, Groll AH, Bochennek K. Diagnostic approaches for invasive aspergillosis-Specific considerations in the pediatric population. *Front Microbiol*. 2018;9:1–8.

15. Ullmann AJ, Aguado JM, Arican-Akdagli S, Denning DW, Groll AH, Lagrou K, et al. Diagnosis and management of Aspergillus diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline. *Clin Microbiol Infect*. 2018;24:e1–38.

16. Katragkou A, Fisher BT, Groll AH, Roilides E, Walsh TJ. Diagnostic Imaging and Invasive Fungal Diseases in Children. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2017;6:S22–31.

17. Barnes RA, White PL, Morton CO, Rogers TR, Cruciani M, Loeffler J, et al. Diagnosis of aspergillosis by PCR: Clinical considerations and technical tips. *Med Mycol*. 2018;56:S60–72.

18. Cruciani M, Mengoli C, Barnes R, Peter Donnelly J, Loeffler J, Jones BL, et al. Polymerase chain reaction blood tests for the diagnosis of invasive aspergillosis in immunocompromised people. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019 Sep 3;9(9):CD009551.

19. Peter Donnelly J, Chen SC, Kauffman CA, Steinbach WJ, Baddley JW, Verweij PE, et al. Revision and update of the consensus definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Clin Infect Dis*. 2020;71:1367–76.

20. Patterson TF, Thompson GR, Denning DW, Fishman JA, Hadley S, Herbrecht R, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of aspergillosis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2016;63:e1–60.

21. Lehrnbecher T, Robinson PD, Fisher BT, Castagnola E, Groll AH, Steinbach WJ, et al. Galactomannan,  $\beta$ -D-Glucan, and Polymerase Chain Reaction-Based Assays for the Diagnosis of Invasive Fungal Disease in Pediatric Cancer and Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clin Infect Dis*. 2016;63:1340–8.

22. Antachopoulos C, Roilides E. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Antifungal Agents in Neonates and Children. *Curr Fungal Infect Rep. Current Fungal Infection Reports*; 2020;14:317–28.
23. Santolaya ME, Alvarez AM, Acuña M, Avilés CL, Salgado C, Tordecilla J, et al. Efficacy of pre-emptive versus empirical antifungal therapy in children with cancer and high-risk febrile neutropenia: A randomized clinical trial. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73:2860–6.
24. Gonzalez-Lara MF, Roman-Montes CM, Diaz-Lomeli P, Rangel-Cordero A, Valenzuela MO, Ponce-De-Leon A, et al. Azole resistance and cyp51A mutation screening in *Aspergillus fumigatus* in Mexico. *J Antimicrob Chemother.* 2019;74:2047– 50.
25. Kim WB, Park C, Cho SY, Chun HS LD. Development of multiplex real-time PCR for rapid identification and quantitative analysis of *Aspergillus* species. *PLoS One.* 2020;15:e0229561.
26. Organización Mundial de la Salud. Manual De Bioseguridad En El Laboratorio. Organización Mund la Salud [https//apps.who.int/iris/handle/10665/43255](https://apps.who.int/iris/handle/10665/43255) [Internet]. 2005;3. Available from: [https://www.who.int/topics/medical\\_waste/manual\\_bioseguridad\\_laboratorio.pdf?ua=1](https://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf?ua=1)
27. Laboratory biosafety manual, fourth edition. Geneva: World Health Organization; 2020 (Laboratory biosafety manual, fourth edition and associated monographs). Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
28. Loeffler J. et al. (1996) Extraction of fungal DNA from cultures and blood using the QIAamp Tissue Kit\*. *QIAGEN News* 4, 16–1
29. Delgado-Araneda, M., Valenzuela, R., de la Maza, V., Rabello, M., Álvarez, A. M., Contardo, V., et al. (2020). Usefulness of serum galactomannan in initiating and modifying antifungal therapy in children with cancer and persistent high-risk febrile neutropenia. *Mycoses*, 63(8), 802–811
30. Reinwald, M., Konietzka, C. A., Kolve, H., Uhlenbrock, S., Ahlke, E., Hummel, M., et al (2014). Assessment of *Aspergillus*-specific PCR as a screening method for invasive aspergillosis in paediatric cancer patients and allogeneic haematopoietic stem cell recipients with suspected infections. *Mycoses*, 57(9), 537–543
31. Lehrnbecher, T., Schöning, S., Poyer, F., Georg, J., Becker, A., Gordon, K., et al. (2019). Incidence and Outcome of Invasive Fungal Diseases in Children With Hematological Malignancies and/or Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Results of a Prospective Multicenter Study. *Frontiers in microbiology*, 10, 681.
32. Jain, S., & Kapoor, G. (2015). Invasive aspergillosis in children with acute leukemia at a resource-limited oncology center. *Journal of pediatric hematology/oncology*, 37(1), e1–e5.

33. Olivier-Gougenheim, L., Rama, N., Dupont, D., Saultier, P., Leverger, G., AbouChahla, W., et al (2021). Invasive Fungal Infections in Immunocompromised Children: Novel Insight Following a National Study. *The Journal of pediatrics*, 236, 204–210.
34. Rubio, P. M., Sevilla, J., González-Vicent, M., Lassaletta, A., Cuenca-Estrella, M., Díaz, M. A., et. al (2009). Increasing incidence of invasive aspergillosis in pediatric hematology oncology patients over the last decade: a retrospective single centre study. *Journal of pediatric hematology/oncology*, 31(9), 642–646.
35. Wattier, R. L., Dvorak, C. C., Hoffman, J. A., Brozovich, A. A., Bin-Hussain, I., Groll, A. H., et al. (2015). A Prospective, International Cohort Study of Invasive Mold Infections in Children. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, 4(4), 313–322
36. Yeoh, D. K., Moore, A. S., Kotecha, R. S., Bartlett, A. W., Ryan, A. L., Cann, M. P., et. Al (2021). Invasive fungal disease in children with acute myeloid leukaemia: An Australian multicentre 10-year review. *Pediatric blood & cancer*, 68(11), e29275.
37. Groll, A. H., Pana, D., Lanternier, F., Mesini, A., Ammann, R. A., Averbuch, D., et. al. (2021). 8th European Conference on Infections in Leukaemia: 2020 guidelines for the diagnosis, prevention, and treatment of invasive fungal diseases in paediatric patients with cancer or post-haematopoietic cell transplantation. *The Lancet. Oncology*, 22(6), e254–e269.
38. Registro de Cancer en niños y adolescents 2019. Secretaría de Salud Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud Dirección General de Epidemiología [www.gob.mx/salud](http://www.gob.mx/salud)
39. Cesaro, S., Tridello, G., Castagnola, E., Calore, E., Carraro, F., Mariotti, I., et. al (2017). Retrospective study on the incidence and outcome of proven and probable invasive fungal infections in high-risk pediatric onco-hematological patients. *European journal of haematology*, 99(3), 240–248.
40. Monsereenusorn, C., Sricharoen, T., Rujkijyanont, P., Suwanpakdee, D., Photia, A., Lertvivatpong, N., & Traivaree, C. (2021). Clinical Characteristics and Predictive Factors of Invasive Fungal Disease in Pediatric Oncology Patients with Febrile Neutropenia in a Country with Limited Resources. *Pediatric health, medicine and therapeutics*, 12, 335–345.
41. Marková, M., Brodská, H., Malíčková, K., Válková, V., Cetkovský, P., Kolář, M., & Haluzík, M. (2013). Substantially elevated C-reactive protein (CRP), together with low levels of procalcitonin (PCT), contributes to diagnosis of fungal infection in immunocompromised patients. *Supportive care in cancer : official journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*, 21(10), 2733–2742.
42. Stoma, I., Karpov, I., Uss, A., Krivenko, S., Iskrov, I., Milanovich, N., et. al. (2019). Combination of sepsis biomarkers may indicate an invasive fungal infection in haematological patients. *Biomarkers : biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals*, 24(4), 401–406

43. Liu, Y., Zhang, X., Yue, T., Tang, Y., Ke, Z., Li, Y., et al (2022). Combination of C-Reactive Protein and Procalcitonin in Distinguishing Fungal from Bacterial Infections Early in Immunocompromised Children. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(6), 730.
44. Burgos, A., Zaoutis, T. E., Dvorak, C. C., Hoffman, J. A., Knapp, K. M., Nania, J. J., et al. (2008). Pediatric invasive aspergillosis: a multicenter retrospective analysis of 139 contemporary cases. *Pediatrics*, 121(5), e1286–e1294.
45. Han, S. B., Kim, S. K., Bae, E. Y., Lee, J. W., Yoon, J. S., Chung, N. G., et al. (2015). Clinical Features and Prognosis of Invasive Pulmonary Aspergillosis in Korean Children with Hematologic/Oncologic Diseases. *Journal of Korean medical science*, 30(8), 1121–1128.
46. Çağlar, İ., Özkerim, D., Tahta, N., Düzgöl, M., Bayram, N., Demirağ, B., et al (2020). Assessment of Serum Galactomannan Test Results of Pediatric Patients With Hematologic Malignancies According to Consecutive Positivity and Threshold Level in Terms of Invasive Aspergillosis Diagnosis: Cross-Sectional Research in a Tertiary Care Hospital. *Journal of pediatric hematology/oncology*, 42(5), e271–e276.
47. Santolaya, María E., Contardo, Verónica, Torres, Juan P., López-Medina, Eduardo, Rosanova, María T., Álvarez, Ana M., et al. (2021). Manejo de los episodios de neutropenia febril en niños con cáncer. Consenso de la Sociedad Latinoamericana de Infectología Pediátrica 2021. *Revista chilena de infectología*, 38(6), 857-909
48. Lehrnbecher, T., Robinson, P. D., Ammann, R. A., Fisher, B., Patel, P., Phillips, R., et al. (2023). Guideline for the Management of Fever and Neutropenia in Pediatric Patients With Cancer and Hematopoietic Cell Transplantation Recipients: 2023 Update. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 41(9), 1774–1785.
49. Batra, S., Li, B., Underhill, N., Maloney, R., Katz, B. Z., & Hijiya, N. (2015). Clinical utility of bronchoalveolar lavage and respiratory tract biopsies in diagnosis and management of suspected invasive respiratory fungal infections in children. *Pediatric blood & cancer*, 62(9), 1579–1586

**XVIII. Anexos**

## Anexo 1. Variables

<b>Nombre</b>	<b>Definición</b>	<b>Categoría</b>	<b>Unidad de medición</b>
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento de una persona	Cuantitativa continua	Meses
Sexo	Características biológicas, físicas y fisiológicas que definen a los seres humanos como hombre y mujer	Cualitativa nomina dicotómica I	Femenino /masculino
Lugar de origen	Sitio geográfico de nacimiento	Cualitativa nominal politómica	Estado de la República
Lugar de residencia	Sitio geográfico donde habita el paciente	Cualitativa nominal politómica	Estado de la República
Patología hemato-oncológica	Enfermedades neoplásicas que ameritan tratamientos con quimioterapia o enfermedades que afectan a la médula ósea disminuyendo la producción de células normales	Cualitativa nominal politómica	Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA), Leucemia Mieloblástica Aguda (LMA), Linfoma de Hodgkin (LH), Linfoma no Hodgkin (LNH), Tumores sólidos (TS)



Cuenta total de neutrófilos	Número absoluto de neutrófilos	Cuantitativa continua	Células/mm <sup>3</sup>
Neutropenia	Número anormalmente bajo de neutrófilos en sangre periférica <500 células/mm <sup>3</sup> al momento de toma de muestra (sangre) para PCR <i>Aspergillus</i> spp	Cualitativa nominal dicotómica	Ausencia/presencia
Días de neutropenia	Número de días con CAN<500 células/mm <sup>3</sup> al momento de toma de muestra (sangre) para PCR <i>Aspergillus</i> spp y en total	Cuantitativa discreta	Días

Temperatura	Cuantificación del grado o nivel térmico corporal	Cuantitativa continua	°C
Fiebre	Aumento de la temperatura corporal por arriba de 38°C	Cualitativa nominal dicotómica	Ausencia/presencia
Días de fiebre	Número de días con fiebre en total	Cuantitativa discreta	Días
Plaquetas	Número absoluto de plaquetas	Cuantitativa continua	plaquetas/mL
Proteína C reactiva	Proteína plasmática circulante que aumenta sus niveles durante inflamación	Cuantitativa continua	mg/dL
Última quimioterapia	Tratamiento antineoplásico recibido	Cualitativa nominal politómica	ciclofosfamida, daunorrubicina, vincristina, asparginasa, metotrexate, 6-mercaptopurina
Fecha última de quimioterapia	Día/mes/año de inicio de última quimioterapia	Cuantitativa discreta	día/mes/año
Días desde última quimioterapia	Número de días desde inicio de última quimioterapia	Cuantitativa discreta	Días
Tratamiento esteroideo previo	Uso de esteroides a dosis 0.3mg/kg equivalentes de	Cualitativa nominal dicotómica	Si / no



	prednisona en tres semanas previas		
Días de estancia hospitalaria	Duración de la hospitalización	Cuantitativa discreta	Días
Categoría de AI	Según la clasificación de EORTC/MSGERC (ver tabla 1)	Cualitativa nominal politómica	Probada, probable o posible
Antígeno GM	Medición del polisacárido galactomanano por medio de ELISA en sandwich con anticuerpo monoclonal $\beta$ -1-5 galactofuranosil EB-A2 de ratón	Cuantitativa continua	OD
Muestra de Antígeno GM	Tipo de muestra donde se realiza la medición del GM	Cualitativa nominal politómica	Suero, lavado broquio-alveolar (LBA) o líquido cefalorraquídeo (LCR)

PCR de <i>Aspergillus</i> spp	Reaccion en cadena de polimerasa en tiempo real para detección de ITS, 28S	Cualitativa dicotómica	nominal	Si / no
Muestra para PCR de <i>Aspergillus</i> spp	Tipo de muestra donde se realiza la PCR	Cualitativa politómica	nominal	Sangre total / suero / plasma / LBA / biopsia
Agente causal de AI	Especie	Cualitativa politómica	nominal	<i>A. fumigati</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. terreus</i>
Mutaciones en el gen	Cambios respecto a la cepa sensible	Cualitativa politómica	nominal	
Cultivo para <i>Aspergillus</i> spp	Existencia de cultivo en medio para crecimiento de hongos	Cualitativa dicotómica	nominal	Si /no
Radiografía tórax	Hallazgos en radiografía de tórax al momento del abordaje	Cualitativa politómica	nominal	Consolidación, derrame, infiltrado intersticial, cavitación, infiltrado algodonoso
Tomografía tórax	Hallazgos tomográficos a nivel pulmonar	Cualitativa politómica	nominal	Nódulos, consolidaciones segmentales o lobares, nódulos con vidrio esmerilad, cavitación, derrame
Tomografía senos paranasales	Hallazgos tomográficos a nivel de senos paranasales	Cualitativa	nominal	Ocupación de senos paranasales, afección ósea



Imagen cerebral	Hallazgos en estudio de imagen cerebral	Cualitativa politómica	nominal	Abscesos cerebrales, hemorragia, infartos, reforzamiento meníngeo
Ingreso a UCI	Paciente amerito internamiento en la UCI	Cualitativa dicotómica	nominal	Si / No
Días de estancia en UCI	Número de días que el paciente permaneció en UCI	Cuantitativa discreta		Días
Ventilación mecánica	Modo de ventilación invasivo	Cualitativa dicotómica	nominal	Si / No
Días de ventilación mecánica	Duración en días durante los cuales el paciente requiriere ventilación mecánica	Cuantitativa discreta		Días

Coinfección bacteriana	Infección bacteriana concomitante	Cualitativa dicotómica	nominal	SI/ No
Tipo de coinfección bacteriana	Diagnóstico infectológico concomitante	Cualitativa politémica	nominal	Bacteriemia, choque séptico, neumonía, infección asociada a catéter (IAC), infección de vías urinarias (IVU)
Agente causal de coinfección bacteriana	Género y especie de bacteria causante de coinfección	Cualitativa politémica	nominal	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> . <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Enterobacter</i> complejo <i>cloacae</i> , etc.
Tratamiento antimicrobiano	Uso de fármacos con actividad antimicrobiana	Cualitativa dicotómica	nominal	Si / no
Antimicrobiano administrado	Tipo de fármaco con actividad antimicrobiano que se indicó al paciente	Cualitativa politémica	nominal	ceftriaxona, cefepime, ertapenem, meropenem, vacomicina, linezolid, , amikacina, ciprofloxacino, metronidazol, trimetoprim/ sulfametoxazol
Días de tratamiento antimicrobiano	Duración de tratamiento	Cuantitativa discreta		Días



Coinfección viral	Infección viral concomitante	Cualitativa dicotómica	nominal	SI/ No
Tipo de coinfección viral	Diagnóstico infectológico concomitante de origen viral	Cualitativa politómica	nominal	Neumonía viral, infección por citomegalovirus
Agente viral responsable de coinfección	agentes virales	Cualitativa politómica	nominal	Virus sincicial respiratorio, rinovirus, SARS-CoV-2, influenza A Influenza B, CMV.
Tratamiento antiviral	Uso de fármacos con actividad antiviral	Cualitativa dicotómica	nominal	Si / no
Antiviral administrado	Tipo de fármaco con actividad antiviral que se indicó al paciente	Cualitativa politómica	nominal	Oseltamivir, ganciclovir, valganciclovir

Días de antiviral tratamiento	Duración de tratamiento	Cuantitativa discreta	Días
Tratamiento antifúngico	Uso de medicamentos con actividad antifungica	Cualitativa nominal dicotómica	Si / no
Medicamento antifungico utilizado	Tipo de medicamento antifungico	Cualitativa nominal	Voriconazol, itraconazol, posaconazol, anfotericina B liposomal (ABL), anfotericina B complejo lipidico (ABCL), anfotericina B deoxicolato (ABD), caspofungina
Días de antifúngico tratamiento	Duración de tratamiento	Cuantitativa discreta	Días
Duración de AI	Número de dias del cuadro de AI, desde diagnóstico hasta resolucion y fin de tratamiento	Cuantitativa discreta	Días
Muerte asociada a AI	Enfermedad fúngica activa al momento de la muerte del paciente	Cualitativa nominal dicotómica	Si / no
Resolución de AI	Mejoria del estado clinico, radiológico del paciente con diagnóstico de IFI con tratamiento antifungico completo	Cualitativa nominal dicotómica	Si / No

Anexo 2. Definiciones operacionales según la EORTC-MSG (2019)

	<b>Factores del hospedero</b>	<b>Hallazgos clínicos / radiológicos</b>	<b>Criterio micológico indirecto</b>	<b>Criterio micológico definitivo</b>
<b>Aspergilosis invasiva posible</b>	Al menos uno de los siguientes: - Neutropenia <500 neutrófilos/mm <sup>3</sup> por >10 días - Neoplasia hematológica - Trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas - Trasplante de órgano sólido - Uso de esteroides (0.3mg/kg/día) por >3 semanas en los últimos 60 días - Inmunodeficiencias primarias	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Enfermedad respiratoria baja (1 de 4 signos en TAC: cavitaciones, nódulos con o sin signo del halo, signo del aire creciente, consolidación lobar o segmentaria o en forma de cuña)</li> <li>- Traqueoendobronquitis (Ulceración, nódulos, seudomembranas, placas o escaras traqueobronquiales observadas por broncoscopia)</li> <li>- Infección sinusal (presencia de sinusitis)</li> </ul>		

<p>Aspergillo sis invasiva probable</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tratamiento con inmunomoduladores como ciclosporina, anti TNF-<math>\alpha</math>, anticuerpos monoclonales, o análogos nucleósidos en los últimos 90 días</li> </ul>	<p>y dolor localizado, ulcera en nariz con o sin escara, extensión ósea)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Infección en SNC (reforzamiento meninges o lesiones focales en TAC o RM cerebral)</li> </ul>	<p>Al menos uno de los siguientes:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Método directo: observación directa de hifas en LBA, cepillado bronquial, muestras de aspirado sinusal.</li> <li>- Antígeno GM positivo en suero, plasma, LBA o LCR:             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 resultado positivo</li> <li>    <math>\geq 1</math> DO en suero, plasma o LBA</li> <li>- Suero/plasma</li> <li>    <math>\geq 0.7</math> OD + LBA</li> <li>    <math>\geq 0.8</math></li> <li>- 1 resultado positivo LCR <math>\geq 1.0</math></li> </ul> </li> <li>- PCR de <i>Aspergillus</i> spp             <ul style="list-style-type: none"> <li>- <math>\geq 2</math> resultados positivos consecutivos en suero/plasma/sangre total</li> <li>- <math>\geq 2</math> resultados positivos consecutivos en LBA</li> <li>1 resultado positivo en suero/plasma/sangre</li> </ul> </li> </ul>	
---	--	--	---	--

			total + 1 resultado positivo en LBA	
Aspergilosis invasiva probada				Uno de los siguientes: - Hallazgo histopatológico de material estéril con hifas y respuesta inflamatoria tisular concordante (necrosis, infiltrado inflamatorio o angioinvasión). - Cultivo de líquido estéril con hifas o cultivo positivo de material obtenido mediante procedimiento invasivo.

TNF- $\alpha$ : factor de necrosis tumoral  $\alpha$ , TAC: tomografía axial computada, SNC: sistema nervioso central, LBA: lavado bronquioalveolar, RM: resonancia magnética, LCR: líquido cefalorraquídeo, DO: densidad óptica, AIP: Aspergilosis invasiva probada

Aspergilosis invasiva posible	1 criterio de factores del hospedero + 1 criterio de hallazgos clínicos/radiológicos
Aspergilosis invasiva probable	1 criterio de factores del hospedero + 1 criterio de hallazgos clínicos/radiológicos + 1 criterio micológico indirecto
Aspergilosis invasiva probada	1 criterio micológico definitivo

Definiciones adaptadas de Guía SLIPE 2021:

- **Neutropenia profunda prolongada:** CAN  $<500/\text{mm}^3$  por más de 7 días
- **Neutropenia febril persistente:** permanencia de CAN  $<500/\text{mm}^3$  y fiebre  $>96$  hrs (del inicio de anibióticos para manejo de neutropenia febril o antibióticos de amplio espectro)