



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Máster

“PARAMETROS DE DETECCION PRECOZ DE INFECCION FUNGICA POR *ASPERGILLUS* EN EL PACIENTE HEMATOLOGICO”

Autora: Sofía Martín-Consuegra Ramos

Director: Beatriz de Rueda Ciller

Director: Antonio Rezusta López

Colaborador: Matxalen Vidal García

Máster Universitario de Iniciación a la Investigación en Medicina

Curso 2017-2018

“And this I believe: that the free, exploring mind of the individual human is the most valuable thing in the world. And this I would fight for: the freedom of the mind to take any direction it wishes, undirected.”

- John Steinbeck, East of Eden

ÍNDICE

ABREVIATURAS	v
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
2.1. GENERALIDADES	3
2.2. CARACTERÍSTICAS DE LA INFECCIÓN FÚNGICA INVASIVA POR <i>ASPERGILLUS</i>	4
2.3. FACTORES DE RIESGO DE IFI EN EL PACIENTE HEMATOLÓGICO	5
2.4. DIAGNÓSTICO DE IFI POR <i>ASPERGILLUS</i>	8
2.5. PROFILAXIS DE IFI POR <i>ASPERGILLUS</i> EN EL PACIENTE HEMATOLÓGICO	12
2.6. TRATAMIENTO ANTIFÚNGICO DE IFI EN EL PACIENTE HEMATOLÓGICO	14
3. OBJETIVOS.....	16
4. MATERIALES Y MÉTODOS	17
4.1. DISEÑO DEL ESTUDIO	17
4.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO	17
4.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	17
4.2.2. CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA Y MUESTREO	18
4.3. VARIABLES.....	18
4.4. RECOGIDA DE DATOS.....	21
4.5. ANÁLISIS DE DATOS.....	22
4.6. ASPECTOS ÉTICOS.....	23
5. RESULTADOS	24
5.1. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA MUESTRA	24
5.2. INCIDENCIA Y CLASIFICACIÓN DE IFI POR <i>ASPERGILLUS</i> EN FUNCIÓN DE LA PATOLOGÍA HEMATOLÓGICA DE BASE.....	25
5.3. INCIDENCIA DE IFI POR <i>ASPERGILLUS</i> EN FUNCIÓN DE LA PROFILAXIS ANTIFÚNGICA RECIBIDA	26
5.4. MARCADORES DIAGNÓSTICOS DE IFI.....	27
6. DISCUSIÓN	29
6.1. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA MUESTRA	29
6.2. INCIDENCIA Y CLASIFICACIÓN DE IFI POR <i>ASPERGILLUS</i> EN FUNCIÓN DE LA PATOLOGÍA HEMATOLÓGICA DE BASE.....	30
6.3. INCIDENCIA DE IFI POR <i>ASPERGILLUS</i> EN FUNCIÓN DE LA PROFILAXIS ANTIFÚNGICA RECIBIDA	31
6.4. MARCADORES DIAGNÓSTICOS DE IFI.....	32
7. CONCLUSIONES	35
8. BIBLIOGRAFÍA	36

ABREVIATURAS

AGA: Antígeno de galactomanano

API: Aspergilosis pulmonar invasiva

Alo-TPH: Trasplante de progenitores hematopoyéticos alogénico

bmGT: Bismetilgliotoxina

CMV: Citomegalovirus

ECIL: European Conference on Infections in Leukaemia

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group

EICR: Enfermedad injerto contra receptor

EORTC: European Organization for Research and Treatment of Cancer

GM: Galactomanano

IDSA: Infectious Diseases Society of America

IFI: Infección fúngica invasiva

HUMS: Hospital Universitario Miguel Servet

LA: Leucemia aguda

LAM: Leucemia aguda mieloide

LAL: Leucemia aguda linfoide

LBA: Lavado broncoalveolar

LCR: Líquido cefalorraquídeo

LLC: Leucemia linfática crónica

LMC: Leucemia mieloide crónica

TASPE: Trasplante autólogo con células de sangre periférica

TC: Tomografía computerizada

TPH: Trasplante de progenitores hematopoyéticos

VPN: Valor predictivo negativo

VPP: Valor predictivo positivo

WHO: World Health Organization

1. RESUMEN

1.1. INTRODUCCIÓN

La infección fúngica invasiva por *Aspergillus* es una de las principales micosis invasivas en el paciente hematológico y una importante causa de morbimortalidad. Es más frecuente en pacientes con LAM, TPH alogénico, EICR activa o neutropenia prolongada. Supone un reto diagnóstico, siendo preciso el empleo de múltiples técnicas microbiológicas y radiológicas. Los avances en los últimos años en la detección del paciente hematológico de alto riesgo de desarrollo de IFI y en la instauración de profilaxis y tratamiento antifúngico precoz en estos pacientes, ha reducido considerablemente la mortalidad secundaria a esta infección.

1.2. OBJETIVOS

Analizar la incidencia de IFI por *Aspergillus* en función de la patología hematológica de base y clasificar la infección fúngica en posible, probable y probada. Describir la incidencia de IFI por *Aspergillus* en función de la profilaxis antifúngica recibida. Determinar en los casos de IFI probable y probada si el antígeno de galactomanano (AGA) resultó positivo en suero y/o LBA y si la determinación de bmGT es un marcador precoz de IFI.

1.3. MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio observacional, descriptivo, analítico y por cohortes históricas de una muestra de 29 pacientes con 57 episodios de sospecha de IFI por *Aspergillus* hospitalizados en el servicio de Hematología y Hemoterapia del HUMS entre enero de 2017 y junio de 2018. Los datos han sido extraídos de la historia clínica de cada paciente y de la base de datos Intranet. La información se ha recogido en Microsoft Excel y se ha analizado mediante el programa estadístico SPSS versión 22.0.

1.4. RESULTADOS

Población de estudio de 29 pacientes, con un ratio de hombres respecto a mujeres de 1,41:1; una mediana de 55 años y una incidencia de IFI en el 0,82% de pacientes ingresados en Hematología y Hemoterapia. Estos pacientes han presentado 57 episodios de sospecha de IFI de los que 18 casos han sido diagnóstico de IFI, 12 casos de IFI posible y 6 de IFI probable. De los casos de IFI probable, el 66,6% han sido en pacientes con LAM y el 33,3% han presentado infección concomitante por gripe B y *Pneumocystis jirovecii*. De los 29 pacientes,

el 84,2% han recibido profilaxis antifúngica, siendo el posaconazol el fármaco más empleado, en un 50% de los pacientes en profilaxis. La relación de IFI probable con auscultación pulmonar patológica, determinación de AGA en suero y de bmGT ha sido estadísticamente significativa con $p < 0.01$.

1.5. CONCLUSIONES

La mayoría de pacientes con diagnóstico de IFI probable tenían LAM como enfermedad de base y neutropenia prolongada, con menor incidencia de infección concomitante por otro microorganismo y de mortalidad por la micosis. Hemos observado una relación entre auscultación pulmonar patológica y diagnóstico de IFI probable. El desarrollo de IFI en nuestros pacientes no ha estado determinado por el tipo de profilaxis antifúngica recibida. El uso combinado de los marcadores microbiológicos de IFI por *Aspergillus* podría ayudar al diagnóstico de aquellos casos en los que AGA en suero no ha sido capaz de demostrar la infección.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. GENERALIDADES

Los hongos son microorganismos eucariotas ubicuos que se caracterizan por desarrollar infecciones oportunistas. La mayoría de hongos patógenos en el ser humano pertenecen a la división Ascomycota, tanto hongos filamentosos como levaduriformes (Guarro, 2012). Ante estados de inmunosupresión, estos microorganismos pueden producir formas más graves de micosis, dando lugar a una infección fúngica invasiva (IFI). Las enfermedades hematológicas son entidades que se encuentran asociadas generalmente a estados de inmunosupresión, por tanto, dentro de las complicaciones infecciosas que pueden presentar se recoge la IFI. Existen diferentes géneros de hongos causantes de infección fúngica invasiva en el paciente oncohematológico, siendo *Aspergillus*, *Candida*, *Pneumocystis jirovecii* y *Cryptococcus neoformans* los patógenos más aislados. Aunque es difícil establecer claramente la incidencia de micosis invasiva en pacientes con enfermedades oncohematológicas, la incidencia de IFI probada o probable oscila entre un 4-22% dentro de los pacientes con factores de riesgo alto de desarrollar complicaciones infecciosas, siendo la mayoría de los casos producidos por el género *Aspergillus* (Ruiz-Camps et al. 2014). En la *Tabla 1* se recoge la incidencia de infección fúngica invasiva en las patologías oncohematológicas con mayor riesgo de desarrollar estas complicaciones.

Tabla 1. Incidencia de IFI en el paciente oncohematológico (Colombo et al. 2017)

PATOLOGÍA ONCOHEMATOLÓGICA	INCIDENCIA
Leucemia aguda mieloide (LAM)	11-18%
Leucemia aguda linfoide (LAL)	10%
Trasplante de progenitores hematopoyéticos alogénico (Alo-TPH)	5-10%
Trasplante autólogo con células de sangre periférica (TASPE)	<2%
Leucemia linfática crónica (LLC) con tratamiento quimioterápico intensivo	10%

En este estudio abordaremos la infección fúngica invasiva producida por el género *Aspergillus*, una de las principales IFI en el paciente hematológico y una causa infraestimada de neumonía en el paciente inmunodeprimido (Colombo et al. 2017). En estudios de

incidencia de IFI por *Aspergillus* spp. en pacientes afectados de leucemia aguda (LA), se han determinado un 6,4% de casos de infección probada o probable en leucemia aguda mieloide (LAM) y un 3,8% de casos en leucemia aguda linfocítica (LAL) (Koehler et al. 2017). Las micosis invasivas incrementan la morbimortalidad de los pacientes hematológicos y producen elevados costes socio-sanitarios, por lo que es primordial un abordaje diagnóstico y terapéutico temprano que reduzca la mortalidad asociada a estas infecciones. Se observa un aumento del riesgo de fallecimiento de los pacientes con enfermedad hematológica en el primer mes tras el diagnóstico de IFI por *Aspergillus* spp. (Van de Peppel et al. 2017).

La infección producida por este microorganismo supone un reto diagnóstico para los profesionales sanitarios, que deben valerse conjuntamente de pruebas clínicas, microbiológicas y radiológicas para detectar de manera precoz la IFI por *Aspergillus* spp. e instaurar tratamiento antifúngico dirigido. Los avances en los últimos años en la detección del paciente hematológico de alto riesgo de desarrollo de IFI y en la instauración de profilaxis antifúngica en estos pacientes, ha reducido considerablemente la mortalidad secundaria a estas micosis (Dragonetti et al. 2017).

2.2. CARACTERÍSTICAS DE LA INFECCIÓN FÚNGICA INVASIVA POR *ASPERGILLUS*

El hongo del género *Aspergillus* es un hongo filamentoso y saprofito, que pertenece al orden Eurotiales y que incluye más de 250 especies, siendo 20 de ellas especies patógenas en el ser humano (Guarro, 2012). Las especies que producen más frecuentemente infección oportunista en los humanos son: *A. fumigati*, principal grupo causante de infección fúngica siendo responsable de hasta un 85% de los casos de infección; *A. flavi*, causante del 5-10% de casos; *A. niger* (2-3%), *A. terreii* (2-3%); y con mucha menor frecuencia *A. versicolor*, *A. ustii*, *A. nidulans*, *A. glaucus*, *A. clavati*, *A. cervinus*, *A. candidi*, *A. flavipes*.

Aspergillus spp. es un hongo de distribución universal y presenta hifas hialinas septadas. Las esporas o conidias de este hongo se encuentran frecuentemente en el suelo, en el polvo de construcciones o remodelaciones de edificios y en hospitales (Kanj et al. 2018). Los seres humanos inhalan diariamente las conidias, sin embargo, estas son erradicadas por los neutrófilos y los macrófagos alveolares en los organismos inmunocompetentes (Curbelo et al. 2015).

La forma más grave de IFI por *Aspergillus* spp. es la aspergilosis pulmonar invasiva (API), que antiguamente presentaba una mortalidad cercana al 50%. Se caracteriza por una proliferación masiva e invasión tanto tisular como vascular por hifas (Curbelo et al. 2015). La patogenia de esta micosis se puede subclasificar en dos formas. Una forma con predominio de invasión tisular del árbol bronquial, y otra con predominio de invasión vascular de las arterias pulmonares de pequeño y mediano tamaño; produciendo fenómenos de isquemia y diseminación (Kanj et al. 2018).

La expresión clínica de esta micosis invasiva cursa generalmente con un cuadro respiratorio inespecífico que presenta una evolución tórpida, a pesar de tratamiento antibiótico de amplio espectro. Los síntomas que pueden presentar van desde la fiebre, síntoma muy frecuente, con o sin foco infeccioso claro; hasta disnea, tos, expectoración, hemoptisis o dolor pleurítico (Chabi et al. 2015).

2.3. FACTORES DE RIESGO DE IFI EN EL PACIENTE HEMATOLÓGICO

Se considera que los pacientes oncohematológicos presentan alto riesgo para desarrollar IFI cuando se asocian determinados factores de riesgo. El principal factor de riesgo es la neutropenia prolongada y severa. Como severa, entenderemos aquella neutropenia que presenta valores por debajo de 500 neutrófilos y, consideramos una neutropenia prolongada, cuando se establece durante diez o más días. Se ha objetivado una relación directamente proporcional de riesgo de IFI por *Aspergillus* en aquellos pacientes que presentan neutropenia con las características referidas (Ruiz-Camps et al. 2014).

A parte de la neutropenia, existen otros factores de riesgo, que pueden clasificarse en aquellos asociados a las características personales del paciente, a las características propias de la enfermedad oncohematológico o a la morbilidad asociada al trasplante de progenitores hematopoyéticos, a las características secundarias a un estado de inmunosupresión, a factores medioambientales o a las características propias de cada especie de *Aspergillus* spp. Dentro de la *Tabla 2* se recogen los factores de riesgo con alta evidencia de causalidad de IFI. Además de estos factores, en diferentes estudios se recogen otros factores de riesgo con menor

evidencia. La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), los polimorfismos de un único nucleótido o la hipoalbuminemia serían otros factores de riesgo asociados al paciente con baja evidencia (White et al. 2018). La enfermedad oncohematológica en estados avanzados, el trasplante de progenitores hematopoyéticos alogénico, así como la leucemia aguda, tanto mielóide como linfóide, y los síndromes mielodisplásicos (SMD) de alto riesgo presentan un riesgo de IFI aumentado frente a otras patologías. La quimioterapia de inducción o rescate incrementa el riesgo de complicaciones infecciosas frente a la quimioterapia de consolidación o intensificación (Ruiz-Camps et al. 2014). La presencia de infecciones concomitantes también puede incrementar el riesgo de infección fúngica en estos pacientes. Existe una correlación entre la infección por citomegalovirus (CMV) (Yong et al. 2017), por virus respiratorios o la presencia de IFI previas, con un aumento del riesgo de desarrollar IFI; Aunque la presencia previa de IFI aumenta el riesgo de nuevos casos de IFI, no contraindica el empleo de esquemas de tratamiento quimioterápico intensivo ni el trasplante de progenitores hematopoyético (TPH) (Maziarz et al. 2017). El factor medioambiental más determinante es la presencia de altas concentraciones de conidias en el aire ambiental, siendo más frecuente en zonas de construcción o remodelación de edificios. Las habitaciones con filtros *High Efficiency Particulate Air* (HEPA) suponen un factor protector al disminuir la concentración de conidias en el ambiente. Las diferentes especies del género *Aspergillus* influyen en la agresividad de la micosis, en la presencia de resistencias a determinados antifúngicos y, por tanto, en la respuesta al tratamiento de la enfermedad (Vazquez et al. 2017).

Los pacientes que presentan los factores de riesgo anteriormente referidos son los que se beneficiarán de aplicar profilaxis antifúngica y los que deberán ser monitorizados ante situaciones que aumenten el riesgo de desarrollar una micosis invasiva.

Tabla 2. Factores de riesgo de IFI en el paciente oncohematológico (Colombo et al. 2017)

FACTORES ASOCIADOS A INFECCION FUNGICA INVASIVA	
Factores personales	
-	Edad
-	Escala ECOG ≥ 2
-	Diabetes mellitus e hiperglucemia
Factores relacionados con la enfermedad	
-	Leucemia aguda en tratamiento de inducción, reinducción o rescate
-	Citogenética o perfil genético mutacional desfavorable
-	Alo-TPH: <ul style="list-style-type: none"> • Factores peri-trasplante: trasplante haploidéntico, donante no emparentado, sangre de cordón • Factores pre-trasplante. IFI previa al trasplante, enfermedad mínima residual (EMR) positiva • Factores post-trasplante: enfermedad injerto contra huésped (EICR), infección por CMV, infecciones por virus respiratorios, sobrecarga férrica
Factores relacionados con inmunosupresión (por la enfermedad o farmacológica)	
-	Neutropenia prolongada (más de 10-14 días)
-	Tratamiento con corticoides
-	Linfopenia (especialmente de linfocitos T)
-	Monocitopenia
-	Tratamiento con citarabina
-	Esofagitis de alto grado (escala de WHO > 2)
Factores medioambientales	
-	Proximidad a áreas de construcción o remodelación
-	Estancia en habitaciones sin filtros HEPA
-	Estancia en habitaciones sin flujo laminar
-	Ambiente seco y altas temperaturas
-	Tabaco

2.4. DIAGNÓSTICO DE IFI POR *ASPERGILLUS*

En los últimos años se han desarrollado múltiples nuevas técnicas diagnósticas con el objetivo de detectar la presencia de IFI de manera precoz y, de este modo, iniciar el tratamiento de esta enfermedad infecciosa lo antes posible para reducir la morbimortalidad asociada.

Las técnicas microbiológicas y las técnicas de imagen son los principales criterios empleados, junto con la clínica acompañante, para el diagnóstico de las micosis invasivas.

2.4.1. TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS

Dentro de las técnicas microbiológicas disponibles para el diagnóstico de infección por hongo *Aspergillus* spp. se emplean tests directos, en los que se aísla el patógeno causante de la infección en un líquido o material biológico estéril; o bien tests indirectos que detectan moléculas de la pared celular de hongos patógenos presentes en el suero u otros líquidos biológicos del paciente. A continuación se detallan las características de las pruebas microbiológicas empleadas en el diagnóstico de IFI por *Aspergillus* spp.

Los tests directos empleados son:

- Microscopia directa: El examen directo de las muestras es una técnica que puede proporcionar información muy útil de forma rápida con la identificación de hifas hialinas septadas. Permite observar la morfología y la pigmentación fúngica en el microscopio óptico. En caso de disponer de un microscopio de fluorescencia, se puede añadir un compuesto fluorescente que facilite la visualización de estructuras fúngicas. El calcoflúor es un fluorocromo con alta sensibilidad para la detección de hongos filamentosos, aunque no es específico para *Aspergillus* spp (Ullmann et al. 2018).
- Cultivo: Es una de las técnicas de elección, dado que permite la identificación del hongo patógeno y la posibilidad de realizar estudios de sensibilidad antifúngica. Mediante la identificación del color y la morfología de las colonias se puede inferir la presencia de *Aspergillus* spp., pero para una identificación definitiva es preciso observar la morfología de las conidias y la morfogénesis del hongo (Moura et al. 2018). Para la identificación de la especie de *Aspergillus* es preciso emplear técnicas

de secuenciación (Risslegger et al. 2017). Se recomienda el cultivo de muestras de esputo y de lavado broncoalveolar (LBA). El LBA aumenta la probabilidad de detectar el hongo patógeno, mediante métodos directos e indirectos; y permite también detectar otros posibles agentes patógenos bacterianos, víricos o parásitos (Patterson et al. 2016).

Dentro de los tests indirectos encontramos principalmente la determinación de antígenos circulantes de *Aspergillus* spp. en muestras de suero, LBA o LCR. Es una técnica ampliamente empleada para la detección precoz de patógenos invasores y para la monitorización de la respuesta al tratamiento antifúngico. Los tests más empleados son:

- Determinación de antígeno de galactomanano (AGA): En el diagnóstico de la IFI por *Aspergillus* se emplea la determinación de AGA, un polisacárido presente en la pared celular de *Aspergillus* spp, *Fusarium* spp, *Penicillium* spp e *Histoplasma capsulatum*; que es liberado al torrente sanguíneo por el hongo en crecimiento. Se considera como resultado positivo la presencia de un índice de galactomanano superior o igual a 0,5 ng/mL en el paciente hematológico sin profilaxis antifúngica (Ullmann et al. 2018). Para confirmar estos resultados, es preciso dos determinaciones positivas en valores en torno a 0,5 ng/mL y la European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL) recomiendan considerar la prueba positiva tras una única determinación en valores superiores a 0,7 ng/mL. Se puede detectar este polisacárido en muestras de suero, del lavado broncoalveolar, de líquido pleural, de orina y de líquido cefalorraquídeo (Eigl et al. 2017). La detección de AGA en LBA presenta mayor sensibilidad que la detección en suero (Colombo et al. 2017). Las guías recomiendan la determinación de GM de manera bisemanal en aquellos pacientes con alto riesgo para desarrollar IFI, dado que puede positivizarse 48 horas antes de la aparición de signos clínicos o radiológicos (Desoubeaux et al. 2014). No se recomienda su uso de manera rutinaria en muestras de suero en aquellos pacientes que se encuentren con profilaxis o tratamiento antifúngico, aunque sí se recomienda su determinación en muestras broncoalveolares en estos casos (Patterson et al. 2016). Se ha observado la aparición de falsos positivos en pacientes que han recibido tratamiento concomitante con antibióticos β -lactámicos semisintéticos como piperacilina y amoxicilina (Demiraslan et al. 2016), colonización por *Bifidobacterium*, presencia de histoplasmosis, blastomycosis o penicilinosis (Curbelo et al. 2015).

- Determinación de β -D-glucano: Es una molécula no antigénica presente en la pared celular de la mayoría de hongos patógenos, que se libera en los líquidos biológicos ante una infección fúngica (Ullmann et al. 2018). Su positividad indica la presencia de IFI, pero son precisas otras pruebas diagnósticas complementarias para poder filiar el hongo causante. Debido a su precio y complejidad, no se emplea en la mayoría de centros sanitarios como prueba de rutina.
- Determinación de bismetilgliotoxina (bmGT): La gliotoxina (GT) es una toxina producida por diferentes hongos patógenos en el ser humano que actúa como factor de virulencia durante el crecimiento de hifas. El hongo filamentoso que genera mayor producción de esta toxina es el *Aspergillus fumigatus*, principal hongo oportunista causante de IFI, siendo menos frecuente la IFI por los otros hongos productores de la toxina. Su principal ventaja es la ausencia de producción de esta toxina en las micosis invasivas por *Candida* spp., permitiendo un diagnóstico diferencial con respecto a la infección fúngica por hongo filamentoso. Dado que la gliotoxina es una molécula que presenta alta reactividad por la presencia en su composición de un puente disulfuro, para la aproximación diagnóstica de IFI se emplea la bismetilgliotoxina (bmGT), una molécula derivada de la metilación del puente disulfuro de la gliotoxina, que presenta mayor estabilidad (Vidal-Garcia et al. 2016). La bmGT y la GT se separan mediante técnicas de cromatografía, para posteriormente ser visualizadas en placas. La bmGT se ha aislado en el suero de pacientes de alto riesgo de IFI en mayor proporción que la GT. La bmGT podría ser un indicador precoz de IFI, sin embargo, actualmente existen pocos estudios que permitan avalar su uso en la práctica clínica.
- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): La PCR de *Aspergillus* spp. en suero se suele emplear como screening junto con el AGA, sin embargo la PCR en LBA es empleada para el diagnóstico de la micosis invasiva (Buchheidt et al. 2017). Esta técnica diagnóstica presenta mayor sensibilidad y especificidad que el resto de técnicas empleadas de manera rutinaria, pero su uso aún no se encuentra estandarizado.

2.4.2. TÉCNICAS DE IMAGEN

La principal técnica de imagen empleada es la tomografía computerizada (TC). Sus hallazgos son determinantes en la práctica clínica a la hora de iniciar el tratamiento antifúngico ante la sospecha de IFI. Se pueden presentar diferentes patrones de imagen sugestivos de infección fúngica oportunista. Los patrones que se observan con más frecuencia ante una IFI por *Aspergillus* son opacidades en “vidrio deslustrado”, el signo del halo, la presencia de broncograma aéreo, lesiones macronodulares y micronodulares o las cavitaciones con aire central (Colombo et al. 2017). Algunos autores han detectado el signo del halo en un 40-70% de casos de aspergilosis pulmonar invasiva, especialmente en la primera semana del desarrollo de la infección, lo cual permitió reducir el tiempo desde el comienzo de la IFI hasta la instauración de tratamiento. También se ha observado en algunos estudios que la progresión de las imágenes radiológicas tras la instauración de tratamiento podría ser un factor pronóstico de mortalidad temprana (Desoubeaux et al. 2014). La radiografía de tórax no es útil ante la sospecha de micosis invasiva ya que en muchas ocasiones puede ser normal.

2.4.3. CLASIFICACIÓN SEGÚN LA EORTC

La European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) ha realizado una clasificación diagnóstica de aspergilosis pulmonar invasiva en función de los resultados obtenidos en las pruebas diagnósticas anteriormente referidas. En función de estos resultados, se puede confirmar la presencia de IFI con una determinada probabilidad. Esta clasificación se encuentra recogida en la *Tabla 3*.

Tabla 3. Clasificación diagnóstica de IFI según la EORTC (De Pauw et al. 2008)

Infección fúngica invasiva posible
Presencia de factores de riesgo asociados al paciente para desarrollo de IFI y de evidencia clínica de infección fúngica, en ausencia de evidencia microbiológica de infección
Infección fúngica invasiva probable
Criterios radiológicos
<ul style="list-style-type: none">- Presencia de al menos 1 de los siguientes patrones radiológicos en la TC:<ul style="list-style-type: none">o Consolidaciones pulmonares con o sin signo del haloo Patrón en “vidrio deslustrado”o Lesiones cavitadas
Criterios microbiológicos (aislamiento del hongo en alguno de los siguientes tests)
<ul style="list-style-type: none">- Tests directo:<ul style="list-style-type: none">o Microscopía directao Cultivo- Tests indirecto:<ul style="list-style-type: none">o Antígeno de galactomanano detectado en suero o lavado broncoalveolaro β-D-glucano detectado en suero
Presencia de factores de riesgo asociados al paciente para desarrollo de IFI y de evidencia clínica de infección fúngica
Infección fúngica invasiva probada
Demostración microbiológica de presencia de hongo filamentosos en una muestra de tejido celular estéril mediante histología, citología o examen microscópico directo
Crecimiento de hongo filamentosos en un cultivo de una muestra estéril, acompañado de signos clínicos o radiológicos sugestivos de IFI
Presencia de criterios radiológicos o microbiológicos

2.5. PROFILAXIS DE IFI POR *ASPERGILLUS* EN EL PACIENTE HEMATOLÓGICO

La profilaxis antifúngica está indicada en aquellos pacientes con alto riesgo de desarrollar una IFI (Tabla 4). El mayor periodo de riesgo de IFI en los pacientes oncohematológicos con factores de riesgo, y, por tanto, momento en el que estaría indicado administrar la profilaxis antifúngica, es cuando existe una situación de neutropenia prolongada o cuando el paciente se encuentra bajo tratamiento inmunosupresor, como sería el caso de los pacientes con TPH,

especialmente en el primer año postrasplante o cuando desarrollan EICH. En los pacientes afectados de LAM o SMD en tratamiento intensivo también estaría indicado llevar a cabo profilaxis para hongo filamentoso (Curbelo et al. 2015).

Tabla 4. Principales indicaciones de profilaxis antifúngica (Curbelo et al. 2015)

LAM o SMD en tratamiento intensivo
Alo-TPH con previsible neutropenia durante más de 2 semanas
EICR grave que requiera altas dosis de corticoides

Los principales antifúngicos empleados en el paciente oncohematológico son los azoles y las equinocandinas.

Dentro de los azoles, se utilizan principalmente posaconazol, fluconazol y voriconazol. El fluconazol, fármaco de elección en la profilaxis de IFI por *Candida* spp. y más estudiado en profilaxis debido a su buen perfil de tolerancia, no presenta actividad frente al género *Aspergillus* spp. (Cámara et al. 2009). El uso de itraconazol ha disminuido en los últimos años debido a la toxicidad hepática que puede producir, su mala absorción oral y mala tolerancia digestiva. No se recomienda la profilaxis con azoles cuando existe alteración de la función hepática. Estos fármacos pueden interactuar con otros tratamiento que induzcan el citocromo CYP3A4 o que prolonguen el intervalo QT del electrocardiograma.

La principal equinocandina empleada como profilaxis antifúngica es la micafungina, debido a su actividad frente a los géneros *Aspergillus* spp. y *Candida* spp. Esta equinocandina presenta menor toxicidad y menor interacción con fármacos inmunosupresores que los fármacos azoles.

Los fármacos antifúngicos recomendados en la profilaxis de IFI por *Aspergillus* spp. son el posaconazol, el voriconazol y la micafungina. El posaconazol es el antifúngico que presenta una mayor evidencia y una recomendación más fuerte para su uso profiláctico según las guías clínicas de la IDSA, especialmente en el paciente con TPH que desarrolla EICH (Patterson et al. 2016), por tanto, se ha establecido como el fármaco de elección. Existe menor experiencia de uso en ensayos clínicos de voriconazol. La micafungina es la única equinocandina que presenta indicación en ficha técnica para su uso profiláctico en el paciente con TPH, aunque

presenta como principal limitación para su empleo que su administración puede ser únicamente parenteral (Cámara et al. 2009).

2.6. TRATAMIENTO ANTIFÚNGICO DE IFI EN EL PACIENTE HEMATOLÓGICO

A pesar de las recomendaciones de la EORTC para el diagnóstico de API, en la práctica clínica en muchos pacientes con sospecha de IFI se lleva a cabo una estrategia de tratamiento empírico precoz. Dado que la confirmación de infección probable o probada podría suponer una demora en la instauración del pronóstico y, con ello, el empeoramiento del pronóstico del paciente. En estas situaciones, se instaura tratamiento antifúngico empírico ante fiebre persistente refractaria a tratamiento antibiótico de amplio espectro. El tratamiento antifúngico dirigido para infección invasiva por *Aspergillus* spp. se instaura tras presentar valores positivos de la determinación de AGA en suero o tras objetivarse infiltrados pulmonares sugestivos de infección fúngica en la TC (Ullmann et al. 2018).

Las guías clínicas de abordaje diagnóstico y terapéutico de la IFI recomiendan con alta evidencia el tratamiento con voriconazol como primera línea terapéutica. Otras alternativas con moderada evidencia serían el tratamiento con anfotericina B liposomal o isavuconazol (Patterson et al. 2016). También se acepta el tratamiento combinado de un fármaco triazol con una equinocandina (micafungina o caspofungina), especialmente en regiones con tasas altas de resistencia antifúngica (Colombo et al. 2017). En primera línea, no se recomienda el tratamiento con equinocandina en monoterapia. Finalmente, en pacientes que presenten hemorragia, invasión del pericardio o de un gran vaso hiliar, o bien presenten progresión radiológica de la enfermedad a pesar de tratamiento antifúngico dirigido; podría estar indicada la resección quirúrgica de la lesión pulmonar (Cámara et al. 2009).

En función de la profilaxis antifúngica recibida, se emplean las siguientes estrategias terapéuticas (Ruiz-Camps et al. 2014):

- En pacientes sin profilaxis antifúngica, está indicado iniciar voriconazol.
- En pacientes con profilaxis con triazoles, está indicada la anfotericina B liposomal.
- En pacientes con micafungina o fluconazol, están indicados la anfotericina B liposomal o el voriconazol.

Respecto a la duración del tratamiento antifúngico, las guías clínicas europeas recomiendan que la duración de este tratamiento debe establecerse en función de la respuesta clínica y de la recuperación inmune del paciente, pudiendo comprenderse entre 3 y más de 50 semanas, debido a la escasa evidencia que apoye una duración determinada (Ullmann et al. 2018). Sin embargo, las guías clínicas americanas recomiendan una duración mínima del tratamiento de 6 a 12 semanas, en función de la respuesta clínica a la micosis invasiva (Patterson et al. 2016).

3. OBJETIVOS

Objetivo principal:

- Analizar la incidencia de infección fúngica invasiva (IFI) por el hongo *Aspergillus* en función de la patología hematológica de base.

Objetivos secundarios:

- Clasificar la infección fúngica en posible, probable y probada.
- Describir la incidencia de IFI por *Aspergillus* en función de la profilaxis antifúngica recibida.
- Determinar en los casos de infección fúngica probable y probada si el antígeno de galactomanano (AGA) resultó positivo en suero, lavado broncoalveolar o suero y lavado broncoalveolar.
- Determinar qué pacientes con bismetilgliotixina positiva y AGA negativo, acabaron desarrollando una IFI, pudiendo ver así si este marcador es realmente un marcador precoz de IFI.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

El presente trabajo consiste en un estudio observacional, descriptivo, analítico y por cohortes históricas.

4.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Pacientes ingresados en la planta de hospitalización de Hematología y Hemoterapia del Hospital Universitario Miguel Servet (HUMS) con sospecha de infección fúngica o pacientes con indicación de monitorización de antígeno de galactomanano de *Aspergillus* en suero desde enero de 2017 hasta junio de 2018.

4.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Criterios de inclusión.

- Paciente ingresado en la planta de hospitalización de Hematología y Hemoterapia con criterios de determinación seriada de AGA, los cuáles vendrán determinados por la patología hematológica y/o tratamiento recibido.
- Paciente con sospecha de infección fúngica por hongo filamentoso del género *Aspergillus*, cumpliendo criterios de infección posible, probable o probada.
- Periodo de tiempo comprendido entre enero de 2017 y junio de 2018.

Criterios de exclusión.

- Paciente hospitalizado en el servicio de Hematología y Hemoterapia que desarrolle infección fúngica por un hongo diferente al género *Aspergillus*.
- Paciente que rechaza firmar el consentimiento informado.

4.2.2. CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA Y MUESTREO

Marco muestral: Pacientes hospitalizados con criterios para determinación seriada de AGA, que hayan firmado un consentimiento informado para ser incluidos en el estudio y que cumplan con los criterios de inclusión y ninguno de exclusión.

Tipo de Muestreo: Muestreo no probabilístico de casos consecutivos.

Unidad de Información: Paciente hospitalizado con criterios de determinación seriada de AGA. Paciente con sospecha de infección fúngica por hongo filamentoso del género *Aspergillus*.

Tamaño de la muestra: No se ha realizado un cálculo de tamaño muestral, incluyendo, por tanto, a todos aquellos pacientes que cumplen los criterios de inclusión y exclusión dentro del periodo de tiempo del estudio.

4.3. VARIABLES

Tabla 5. Variables empleadas para el presente estudio

Variable	Definición Operacional	Indicadores	Tipo	Escala de medición	Categorías
Variables demográficas					
Número de identificación	Número de orden asignado a todos los datos pertenecientes a un mismo paciente	-	Cuantitativa discreta	De razón	-
Número del episodio	Número de orden asignado a cada episodio de un mismo paciente que requirió la medición de AGA	-	Cuantitativa discreta	De razón	-
Número de historia clínica (NHC)	Número de registro médico perteneciente a cada paciente	-	Cuantitativa discreta	De razón	-
Edad	Edad del paciente durante el episodio de hospitalización	-	Cuantitativa	De razón	-
Sexo	Sexo biológico al que pertenece el paciente	-	Cualitativa	Nominal	Hombre
					Mujer
Neutropenia grave	Recuento absoluto de neutrófilos $<1 \times 10^9 /L$	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No
					Sí
Corticoterapia	Tratamiento basado en el empleo de corticoides	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No
					Sí

Inmunosupresión	Inhibición de uno o más componentes del sistema inmunitario secundario a una enfermedad de base o a un tratamiento farmacológico	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No Sí
Inmunodeficiencia primaria	Estado patológico del organismo, caracterizado por una disminución de la respuesta inmune	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No Sí
Alo-TPH	Trasplante de progenitores hematopoyéticos de un donante sano	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No Sí
TASPE	Trasplante de progenitores hematopoyéticos del propio paciente	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No Sí
EICH	Desarrollo de enfermedad injerto contra huésped en pacientes con trasplante de progenitores hematopoyéticos	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No Sí
LAM	Grupo de enfermedades caracterizadas por una proliferación clonal de células precursoras mieloides	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No Sí
LAL	Grupo de enfermedades caracterizadas por una proliferación clonal de células precursoras linfoides	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No Sí
LMC	Enfermedad dentro del grupo de enfermedades mieloproliferativas clonales caracterizada por una proliferación granulocítica	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No Sí
LLC	Enfermedad caracterizada por una proliferación clonal de linfocitos B inmunocompetentes	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No Sí
Mieloma múltiple (MM)	Gammapatía monoclonal caracterizada por una segregación de un componente monoclonal en orina y/o suero por células plasmáticas que infiltran la médula ósea	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No Sí
LH	Neoplasia	-	Cualitativa	Nominal	No

	linfoproliferativa caracterizada por la invasión de los ganglios linfáticos			dicotómica	Sí
LNH	Grupo heterogéneo de neoplasias linfoproliferativas caracterizadas por una proliferación celular en un determinado estadio madurativo	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No
					Sí
SMD	Grupo heterogéneo de enfermedades clonales de las células hematopoyéticas pluripotentes	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No
					Sí
Aplasia medular	Enfermedad caracterizada por una insuficiencia medular cuantitativa adquirida que afecta a todas las series hematopoyéticas	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No
					Sí
Tipo de fiebre	Clasificación de la clínica de fiebre según su duración y la presencia de neutropenia	-	Cualitativa	Nominal	No
					Fiebre aislada
					Neutropenia febril
					Fiebre persistente
Profilaxis antifúngica	Tratamiento profiláctico antifúngico en los últimos 30 días	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No
					Sí
IFI	Desarrollo de infección fúngica invasiva durante el periodo de seguimiento	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No
					Sí
Tipo de IFI	Criterios clasificatorios de IFI en posible, probable y probada	-	Cualitativa	Ordinal	Posible
					Probable
					Probada
Mortalidad en las primeras seis semanas	Fallecimiento del paciente dentro de las seis semanas siguientes al inicio del cuadro infeccioso	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No
					Sí
Motivo de fallecimiento	Patología desencadenante del fallecimiento del paciente	-			Debido a la IFI
					Debido a otra causa
Infección concomitante	Presencia en el momento del registro de infección documentada por determinados microorganismos	-	Cualitativa	Nominal	No
					Sí
Variables diagnósticas					
Número de laboratorio	Número perteneciente a cada muestra microbiológica de cada paciente	-	Cuantitativa discreta	De razón	-
AGA en suero	Detección de AGA	-	Cualitativa	Nominal	No

	en el suero del paciente			dicotómica	Si
AGA en lavado broncoalveolar (LBA)	Detección de AGA en el LBA del paciente	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No Si
Bismetilgliotoxina	Toxina producida por hongos patógenos y factor de virulencia en el crecimiento de hifas	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No Si
TC patológica	Presencia de patrones radiológicos sugestivos de infección en la TC torácica	-	Cualitativa	Nominal	No Si
Variables clínicas					
Fiebre	Presencia de una temperatura corporal medida mediante aparatos electrónicos >37,8°C	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No Si
Auscultación pulmonar patológica	A la exploración física del paciente, presencia de signos patológicos sugestivos de infección en la auscultación pulmonar	-	Cualitativa	Nominal	No Si
Síntomas respiratorios	Presencia de síntomas respiratorios referidos por el paciente sugestivos de patología infecciosa	-	Cualitativa	Nominal dicotómica	No Si
Variables terapéuticas					
Tipo de profilaxis antifúngica	Fármaco antifúngico que se ha suministrado al paciente como tratamiento profiláctico de IFI	-	Cualitativa	Nominal	Posaconazol Fluconazol Voriconazol Micafungina

4.4. RECOGIDA DE DATOS

El Servicio de Hematología y Hemoterapia del HUMS de Zaragoza atiende a un Área Sanitaria de 386.709 habitantes, correspondiente a la zona sur-oriental de la provincia de Zaragoza y parte de la ciudad de Zaragoza, siendo también centro de referencia en determinadas patologías para toda la comunidad de Aragón y algunas de las comunidades limítrofes.

La recolección de datos para el presente estudio se ha realizado revisando la historia clínica de Hematología y Hemoterapia de los archivos del HUMS y las pruebas diagnósticas

volcadas en la plataforma online Intranet del portal sanitario informático del hospital, para cada uno de los pacientes incluidos en el estudio.

Las variables que han precisado instrumentos de medida para su recogida, así como el instrumento empleado, se recogen a continuación:

- Dentro del grupo de variables demográficas y terapéuticas, no ha sido preciso utilizar ningún instrumento de medida específico, al tratarse en su gran mayoría de variables cualitativas descriptivas.
- En el grupo de variables diagnósticas, las variables microbiológicas se han tomado mediante determinación de antígenos circulantes de galactomanano en suero y LBA; y determinación de bismetilgliotoxina en suero. Para la variable diagnóstica por prueba de imagen se han recogido los resultados del informe de la tomografía computerizada.
- Para las variables clínicas, ha sido necesario emplear un termómetro para establecer la presencia de fiebre y un fonendoscopio para esclarecer si la auscultación pulmonar era patológica.

4.5. ANÁLISIS DE DATOS

La información recogida ha sido ingresada por los investigadores en una base de datos de Microsoft Excel diseñada para el estudio.

El análisis descriptivo de todos los datos se ha realizado empleando el programa estadístico SPSS versión 22.0. Se han descrito las variables usando medidas de frecuencia y tablas de distribución de frecuencias, expresando los resultados en términos absolutos y porcentuales. Se ha analizado la correlación entre las variables cualitativas empleando Chi-cuadrado o el test exacto de Fisher, según ha sido preciso. Se han establecido como estadísticamente significativos todos los valores $p < 0.05$. Se han calculado los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo.

4.6. ASPECTOS ÉTICOS

Este estudio se encuentra incluido dentro de los proyectos de investigación biomédica “Colección de suero de pacientes en riesgo de infección fúngica invasiva” y “Monitorización de los niveles plasmáticos de drogas antifúngicas para el tratamiento de Infecciones Fúngicas Invasoras. Efecto sobre el biomarcador de diagnóstico bismetiltiogliotoxina” con C.P. – C.I. PI15/0203 aprobados por el CEIC Aragón a 29 de Julio de 2015.

Todos los pacientes han firmado un consentimiento informado previo a ser incluidos en el estudio.

Los datos identificativos son codificados y custodiados en el centro de manera que en la base de datos final no será posible la identificación individual de cada paciente. Se garantizará la confidencialidad acerca de cualquier información así como el tratamiento de los datos de carácter personal de los sujetos participantes en el estudio se ajustará a la Ley de Protección de Datos de Carácter Personal (15/1999).

5. RESULTADOS

5.1. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA MUESTRA

La muestra del presente trabajo está formada por 57 episodios de sospecha de IFI por *Aspergillus*, correspondientes a 29 pacientes incluidos en el estudio. Durante el periodo de tiempo del estudio, han ingresado 729 pacientes en el servicio de Hematología y Hemoterapia. Se ha presentado una incidencia de 0,82 casos de IFI por cada 100 pacientes ingresados.

Dentro de estos 29 pacientes, un 58,6% de la muestra son hombres y un 41,4% son mujeres. Las edades comprendidas de la muestra son de un mínimo de 17 años hasta un máximo de 75 años, presentando una media de $53 \pm 16,3$ años y una mediana de 55 años.

Se han estudiado cuatro factores de riesgo de desarrollo de IFI asociados al paciente. El factor de riesgo más frecuente es la neutropenia, estando presente en un 63,2% de los casos. La inmunosupresión secundaria a otra causa y la corticoterapia se encuentran en un 22,8% y un 8,8% de la muestra, respectivamente. El último factor estudiado es la inmunodeficiencia primaria, sin encontrarse presente en ninguno de los casos de la muestra.

Tabla 6. Frecuencia de patología hematológica

La frecuencia de la patología hematológica en nuestra muestra se refleja en la *Tabla 6*. Dentro de los 57 episodios de sospecha de IFI, 23 de ellos corresponden a pacientes con diagnóstico de LAM (14 (60,8%) de ellos han sido catalogadas como LAM secundaria a SMD). Once (19,3%) de los episodios iniciales de sospecha de IFI presentan simultáneamente un TPH alogénico, ocho (14%) presentan un TASPE y únicamente en 5 (8,8%) episodios se ha desarrollado EICR.

Patología hematológica	Frecuencia
LAM	40,2%
LAL	22,8%
LMC	1,8%
LLC	3,5%
MM	8,8%
LH	12,3%
LNH	5,3%
SMD	3,5%
APLASIA	1,8%

Un 66,7% de los episodios estudiados han cursado con neutropenia febril, seguido de un 21,1% de casos de fiebre persistente, un 7% de casos sin fiebre y un 5,3% de casos con fiebre aislada. No se ha encontrado significación estadística entre presentar un determinado tipo de fiebre y el desarrollo de IFI.

Dentro de los 59 episodios de sospecha de IFI, en 14 (24,6%) de ellos se ha presentado infección concomitante por un microorganismo diferente a *Aspergillus* spp. Se ha identificado infección por CMV en 9 (64,3%) episodios, infección por gripe A o B en 3 (21,4%), e infección por *Pneumocystis jirovecii* en 2 (14,3%).

La mortalidad en las primeras seis semanas desde el inicio de la hospitalización ha sucedido en 6 de los 29 pacientes, lo que corresponde a un 20,7% de la muestra. De los pacientes con diagnóstico de IFI probable, únicamente ha fallecido 1 (16,7%) de ellos debido a la IFI.

5.2. INCIDENCIA Y CLASIFICACIÓN DE IFI POR *ASPERGILLUS* EN FUNCIÓN DE LA PATOLOGÍA HEMATOLÓGICA DE BASE

De los 29 pacientes, se han recogido 18 casos de IFI por *Aspergillus* dentro de los 57 episodios estudiados, lo que corresponde a un 31,6% de casos de la muestra. En nuestra muestra, 6 (10,5%) casos han presentado criterios de IFI probable. Los 12 (21,1%) casos restantes se han clasificado como IFI posible, al presentar factores de riesgo de IFI y criterios clínicos, sin evidencia microbiológica. No se ha recogido en la muestra ningún caso de IFI probada, al no aislarse crecimiento de hongo filamentoso en cultivos ni demostración microbiológica en tejido celular estéril. Siguiendo las guías de la EORTC para la clasificación diagnóstica de IFI por *Aspergillus*, se han analizado todos los casos que cumplen criterios de IFI probable o probada en este estudio. Los casos con criterios de IFI posible no han sido considerados como IFI en este estudio, debido a la escasa evidencia y la laxitud de los criterios diagnósticos incluidos en esta categoría.

Se ha estudiado la patología hematológica de base en los pacientes con diagnóstico de IFI probable por *Aspergillus*. La enfermedad oncohematológica más frecuente en los episodios de IFI de nuestra muestra ha sido la LAM, presente en 4 (66,6%) casos. Ninguno de los pacientes con LAM e IFI habían recibido TPH. En uno de los casos se ha documentado infección concomitante por *Pneumocystis jirovecii*. Un episodio de IFI, un 16,7%, se ha producido en un paciente con LAL sin TPH. El último caso de IFI (16,7%) ha sido en un paciente con LLC con un estado de inmunosupresión muy prolongado e infección concomitante por gripe B. No se ha obtenido significación estadística en la correlación entre la enfermedad oncohematológica de base y el desarrollo de IFI.

Todos los pacientes con diagnóstico de IFI probable han presentado neutropenia febril.

Se ha analizado la presencia de síntomas respiratorios y auscultación pulmonar patológica en los pacientes incluidos en el estudio.

Durante el periodo de hospitalización de estos 29 pacientes, se ha recogido diariamente la clínica sugestiva de infección en la que fuese preciso descartar IFI. En total, se han obtenido 221 episodios clínicos de presencia de clínica sugestiva de infección. En 31 (14,0%) episodios clínicos, los pacientes han presentado síntomas respiratorios, sin embargo, únicamente en 6 (3%) episodios clínicos estos síntomas corresponden a pacientes con diagnóstico de IFI probable. No se ha obtenido significación estadística en la correlación entre síntomas respiratorios y desarrollo de IFI.

Del total de 221 episodios clínicos, se han recogido 60 (27,1%) casos con auscultación pulmonar patológica, de los cuales, 22 episodios clínicos los han presentado los 6 pacientes en los que se ha diagnosticado IFI probable. Se ha obtenido significación estadística, $p < 0.01$, para esta última variable clínica.

Dentro de los casos de IFI probable, dos (33,3%) de ellos, han presentado infección concomitante por otro microorganismo, en uno de ellos, la infección concomitante ha sido debida a gripe B, mientras que, en el otro caso, ha sido debida a *Pneumocystis jirovecii*.

5.3. INCIDENCIA DE IFI POR *ASPERGILLUS* EN FUNCIÓN DE LA PROFILAXIS ANTIFÚNGICA RECIBIDA

En la mayoría de episodios de sospecha de IFI, un 84,2%, correspondiente a 48, se ha administrado profilaxis antifúngica. Dentro de los 48 episodios en los que los pacientes han recibido profilaxis, en cinco (10,4%) casos se ha desarrollado posteriormente IFI probable. 9 de los 57 episodios no han llevado profilaxis y sólo en un (11,1%) caso se ha presentado IFI probable. No se ha encontrado significación estadística que relacione la toma de profilaxis antifúngica con el desarrollo de IFI.

Analizando la relación entre el fármaco empleado para la profilaxis antifúngica y la presencia de IFI, hemos observado que el fármaco más empleado ha sido posaconazol, en 24 (50%) episodios. Posteriormente, se han empleado en orden de frecuencia fluconazol en 12 (25%) de los episodios, micafungina en 10 (20,8%) episodios y voriconazol en dos (4,2%).

De los 6 pacientes que han presentado IFI probable, cuatro (66,6%) pacientes se encontraban en tratamiento profiláctico con posaconazol y 1 (16,7%) estaba recibiendo profilaxis con fluconazol y otro (16,7%) no estaba en tratamiento profiláctico. No se ha observado significación estadística de los datos, siendo $p > 0,05$.

5.4. MARCADORES DIAGNÓSTICOS DE IFI

Se han recogido 379 muestras de AGA en suero durante los 57 episodios de sospecha de IFI. La determinación de AGA en suero ha resultado positiva en 16 (4,2%) muestras. 12 de estas muestras corresponden a pacientes con diagnóstico de IFI probable. Las 4 muestras restantes con resultado positivo han correspondido a falsos positivos, ya que no se ha establecido diagnóstico de IFI. Dentro de las 379 muestras de AGA en suero iniciales, 363 (95,8%) muestras han presentado resultado negativo. Se ha obtenido significación estadística en la correlación entre resultado positivo de AGA en suero y la presencia de IFI, con una $p < 0.01$.

En nuestra muestra se han incluido 11 determinaciones de AGA en LBA, de las cuales únicamente dos (18,2%) han resultado positivas y correspondientes a dos pacientes con IFI probable. Uno de estos pacientes ha presentado valores positivos de AGA en suero y AGA en LBA de manera simultánea. Mientras que el otro paciente ha presentado AGA en suero negativo y AGA en LBA positivo, permitiendo este último marcador el diagnóstico microbiológico de IFI en este paciente. De las 9 (81,8%) muestras con resultado negativo, en 5 se ha descartado IFI por *Aspergillus*, mientras que en las otras 4, se ha confirmado la presencia de IFI probable a través de otras pruebas diagnósticas. Ante el pequeño tamaño muestral de AGA en LBA, no se ha podido determinar que este marcador diagnóstico presente significación estadística.

De las 173 determinaciones de bmGT recogidas en nuestra muestra, se han obtenido 32 (18,5%) valores positivos, de los cuales, 25 corresponden a 4 de los pacientes con diagnóstico de IFI probable. El resto, 7 muestras, se han considerado falsos positivos, al no confirmarse la IFI mediante criterios EORTC. En los otros dos pacientes con diagnóstico de IFI probable no

se han recogido muestras de bmGT. Este parámetro diagnóstico también ha presentado significación estadística, con $p < 0.01$, como marcador de IFI.

Se han estudiado las muestras que cumplen la condición de bmGT con resultado positivo y AGA en suero con resultado negativo, obteniendo 22, de los cuales en 15 (68,2%) de ellas se ha diagnosticado IFI probable en 2 pacientes mediante técnicas de imagen. Las otras 7 (31,8%) muestras corresponden a 2 pacientes sin diagnóstico de IFI.

Se han realizado 27 TC para determinar la presencia de IFI, en 14 de los 29 pacientes con sospecha de IFI. Se han observado patrones radiológicos patológicos en 13 (48,1%) pruebas de imagen, confirmándose IFI probable en 10 de ellas, correspondientes a los 6 pacientes con diagnóstico de IFI probable. Se han recogido 3 falsos positivos para IFI por *Aspergillus* en 2 pacientes, en los que se ha confirmado infección por CMV mediante otras técnicas microbiológicas. Se ha obtenido significación estadística entre los hallazgos patológicos en la TC y el desarrollo de IFI.

Por último, se ha analizado la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) de los marcadores diagnósticos con significación estadística. Los resultados obtenidos se recogen en la *Tabla 7*.

Tabla 7. Exactitud diagnóstica de AGA en suero, bmGT y TC

	AGA en suero	bmGT	TC
Sensibilidad	18%	55%	90%
Especificidad	99%	95%	81%
VPP	75%	78%	77%
VPN	85%	86%	93%

6. DISCUSIÓN

6.1. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA MUESTRA

En nuestra muestra se ha presentado un ratio de incidencia en hombres respecto a mujeres de 1,41:1. Este ratio de incidencia en función del sexo es ligeramente superior al de otros estudios, en los cuales se obtuvo un ratio de 1,32:1 (Yong et al. 2017). La media de edad difiere entre diferentes estudios, presentando medias de edad de $56,6 \pm 10,2$ años (Zhao et al. 2018), similar a nuestro estudio, y medianas de 58 años y 44 años (Magira et al. 2018; Yong et al. 2017). A pesar de las diferencias, podemos establecer que los pacientes incluidos en estudios de estas características presentan un rango de edad similar (Kaya et al. 2017).

La presencia de neutropenia prolongada es el principal factor de riesgo en nuestra muestra, en un 63,2% de los casos. Este hallazgo concuerda con los datos encontrados en la literatura (Kaya et al. 2017), por lo que consideramos que es esencial tener en cuenta este factor para el abordaje de los pacientes oncohematológicos con alto riesgo de desarrollar IFI. No hemos encontrado, en la literatura existente, una evidencia similar respecto al resto de factores de riesgo.

La LAM es la enfermedad hematológica más frecuente en los pacientes en riesgo de IFI, representando un mínimo de un 40-50% de los casos en las series observadas, seguida de la LAL (Chen et al. 2018; Kaya et al. 2017; Magira et al. 2018; Yong et al. 2017). En nuestro estudio, a pesar del tamaño muestral reducido, hemos observado la misma tendencia. Estos resultados nos permiten afirmar la importancia de un manejo preventivo de la IFI en los pacientes afectos de LA.

La mortalidad en las primeras seis semanas debida a IFI por *Aspergillus* en nuestra muestra ha sido de un 11,1%, correspondiente a un caso de los pacientes con diagnóstico de IFI probable, frente a un 5,9% de casos en la literatura (Chen et al. 2018). Sin embargo, consideramos que este valor podría estar sobreestimado en nuestra muestra debido al pequeño tamaño muestral de pacientes afectos de IFI en nuestro estudio.

6.2. INCIDENCIA Y CLASIFICACIÓN DE IFI POR *ASPERGILLUS* EN FUNCIÓN DE LA PATOLOGÍA HEMATOLÓGICA DE BASE

En nuestro estudio, hemos obtenido una incidencia de IFI similar a un estudio previo realizado por participantes de nuestro proyecto de investigación biomédica (Vidal-García et al. 2016), que presenta criterios de inclusión y exclusión parecidos. Con respecto a otros estudios en otras poblaciones (Chen et al. 2018) se han encontrado mayores diferencias, lo cual puede ser debido a un mayor tamaño muestral de pacientes, las características propias de la población estudiada y los criterios de inclusión y exclusión tenidos en cuenta en este estudio. En la *Tabla 8* se recoge una comparativa entre los diferentes estudios.

Tabla 8. Incidencia de IFI según los criterios de la EORTC (%)

Clasificación de IFI	Muestra del estudio	Vidal-García et al. 2016	Chen et al. 2018
Posible	21,1	12,7	50,8
Probable	10,5	6,3	31,8
Probada	0	1,2	17,4

Los datos de incidencia de IFI en función de la patología hematológica de base en nuestra muestra y en diferentes estudios se recogen en la *Tabla 9*. A pesar de no haber presentado significación estadística, podemos observar que nuestra muestra presenta una tendencia similar a la literatura, siendo la LAM y la LAL, las enfermedades oncohematológicas con mayor incidencia de IFI. Con estos resultados, sugieren la tendencia que en nuestra población los pacientes afectos de LA presentan mayor riesgo de desarrollar IFI, por lo que tiene especial importancia llevar a cabo un manejo preventivo de la IFI en los pacientes con LA. La incidencia de IFI presenta importante variabilidad en el resto de enfermedades hematológicas entre los estudios existentes, sin permitírnos observar una tendencia clara de IFI en estos casos, lo cual puede ser debido a los factores de riesgo presentes de manera particular en cada caso de enfermedad y que serán los determinantes del desarrollo de IFI.

Tabla 9. Incidencia de IFI según la enfermedad oncohematológica (%)

Enfermedad hematológica	Muestra del estudio	Chen et al. 2018	Magira et al. 2018	Yong et al. 2017
LAM	66,6	62,7	52	36,8
LAL	16,7	13,3	4	13,2
LMC	0	1,3	0	13,2
LLC	16,7	1,3	19	7,9
Linfoma	0	12,0	15	13,2
MM	0	2,7	11	2,6
SMD	0	6,7		10,5

No hemos hallado datos en la literatura sobre la clínica presentada en los casos de IFI que nos permita comparar nuestros resultados con la bibliografía existente. Del análisis realizado sobre la presencia de clínica sugestiva de IFI, queremos destacar la significación estadística ($p < 0.01$) presentada en la correlación entre presencia de auscultación pulmonar patológica y diagnóstico de IFI probable, debido a su interés en la práctica clínica para sospechar IFI y llevar a cabo un abordaje diagnóstico precoz. Sin embargo, serían necesarios estudios posteriores que confirmasen la significación de esta variable como marcador de IFI.

La incidencia de infección concomitante por otro microorganismo ha sido considerablemente menor en nuestro estudio, presentándose en un 33,3% de los episodios de IFI probable, correspondiente a un caso de gripe B y un caso de infección por *Pneumocystis jirovecii*. A diferencia de lo recogido en la literatura, en nuestro estudio no hemos encontrado infección concomitante por CMV o infección bacteriana (Kaya et al. 2017).

6.3. INCIDENCIA DE IFI POR *ASPERGILLUS* EN FUNCIÓN DE LA PROFILAXIS ANTIFÚNGICA RECIBIDA

Hemos analizado las características de los nueve pacientes de nuestra muestra que no han recibido profilaxis antifúngica, para comprobar si cumplían indicación de inicio de profilaxis antifúngica. En los 8 casos en los que no se ha desarrollado posteriormente IFI, ninguno de los pacientes ha presentado neutropenia prolongada durante más de dos semanas, EICR activa en pacientes con alo-TPH o se ha encontrado bajo tratamiento de inducción o rescate para LAM; siendo estas las principales indicaciones para instaurar profilaxis antifúngica (Cámara

et al. 2009). El único caso que no ha recibido profilaxis antifúngica y que, posteriormente, ha presentado IFI probable ha sido un paciente con diagnóstico de LLC, enfermedad hematológica sin indicación de profilaxis para hongo filamentoso, pero con presencia de neutropenia prolongada superior a dos semanas, sin superar un periodo de 6 meses (Vazquez et al. 2017).

Dentro de los pacientes que han presentado IFI probable a pesar de recibir profilaxis antifúngica, hemos revisado los 4 pacientes que habían recibido profilaxis con posaconazol. En 3 de ellos la enfermedad hematológica de base ha sido LAM secundaria a SMD con neutropenia prolongada asociada. El otro caso ha sido en una paciente con LAM de reciente diagnóstico en tratamiento de inducción y con neutropenia prolongada. El posaconazol es el antifúngico de elección para profilaxis en pacientes con diagnóstico de LAM o SMD (Patterson et al. 2016), por lo que consideramos que el desarrollo de IFI probable en estos pacientes ha sido secundario a los factores de riesgo y la enfermedad hematológica de base, y no debido al tipo de profilaxis recibida. El otro paciente afecto de IFI probable presentaba LAL como enfermedad hematológica de base con neutropenia prolongada asociada y estaba recibiendo profilaxis con fluconazol. A pesar de ser el fluconazol la profilaxis clásica de elección en LAL, en las últimas revisiones de las guías clínicas, en estos pacientes se recomienda realizar profilaxis con micafungina para cubrir la IFI por *Aspergillus* (Vazquez et al. 2017), por lo que en este paciente consideramos que no se ha empleado una adecuada estrategia de profilaxis antifúngica.

6.4. MARCADORES DIAGNÓSTICOS DE IFI

Según las guías clínicas de la IDSA, no se recomienda la determinación de AGA en suero en aquellos pacientes que estén recibiendo profilaxis o tratamiento antifúngico, debido a la alta tasa de falsos negativos presentes en estos casos (Patterson et al. 2016; Kim et al. 2017). Estas recomendaciones podrían justificar la presencia de algunas determinaciones con falsos negativos en pacientes que han tenido alta sospecha de IFI. Así mismo, puede justificar la sensibilidad obtenida para AGA en suero, de un 18%, considerablemente inferior a estudios de referencia en los que se recogen valores de sensibilidad de 30,8% (Vidal-García et al. 2016) o de 71% (Curbelo et al. 2015). Los investigadores consideramos que las 4 muestras con resultado de falso positivo pueden ser debidas al extendido uso de piperacilina-

tazobactam en los pacientes oncohematológicos con neutropenia febril (Demiraslan et al. 2017).

Tras analizar los resultados de las determinaciones de AGA en LBA, hemos observado que en todos las muestras en las que se han obtenido resultados negativos, se ha instaurado tratamiento antifúngico varios días antes de la realización del LBA, bien debido a que la situación clínica del paciente no ha permitido realizar el LBA en el momento de la sospecha diagnóstica de IFI, o bien, debido a la disponibilidad de esta técnica diagnóstica en nuestro centro. A pesar del pequeño tamaño muestral de AGA en LBA de nuestro estudio, los resultados obtenidos concuerdan con la bibliografía existente, en la cual se ha comprobado que la instauración previa de tratamiento antifúngico disminuye la sensibilidad de las pruebas diagnósticas microbiológicas (Heldt et al. 2018). Sin embargo, con los resultados obtenidos en nuestra muestra, no podemos afirmar que la determinación de AGA en LBA presente mayor sensibilidad que AGA en suero, a diferencia de lo hallado en la literatura (Gupta et al. 2017).

En concordancia con lo anteriormente comentado, queremos destacar que el único caso de nuestra muestra en el cual se han obtenido resultados positivos tanto en AGA en suero como en AGA en LBA, corresponde a un paciente que no había recibido profilaxis ni tratamiento antifúngico previo a la realización de estas determinaciones.

La sensibilidad de la determinación de bmGT en nuestras muestras es muy similar a los resultados obtenidos en el estudio previamente realizado en nuestro proyecto de investigación, con un valor del 55% frente al 61,5% del estudio previo de referencia (Vidal-Garcia et al. 2016).

Tanto la determinación de AGA en suero como la determinación de bmGT presentan una alta especificidad en nuestro estudio, un 99% y un 95%, respectivamente. Estos valores son ligeramente superiores al estudio de referencia, en el cual el AGA en suero presenta una especificidad del 94,2% y la bmGT una especificidad del 93% (Vidal-Garcia et al. 2016).

El tamaño muestral de los casos de nuestro estudio que han presentado la determinación de AGA negativa y la determinación de bmGT positiva en una misma muestra, no nos permite afirmar que la determinación de bmGT sea un marcador precoz de IFI. Sin embargo, si la bmGT fuera un marcador microbiológico de IFI según los criterios de la EORTC, nos habría

permitido realizar un diagnóstico más precoz de IFI probable en dos pacientes más, por lo que tampoco podemos rechazar la posibilidad de que este marcador permita un diagnóstico precoz de IFI. Serían necesarios posteriores estudios con mayor tamaño muestral que permitan confirmar estos resultados.

Para finalizar, ante un abordaje cada vez más precoz de la IFI por *Aspergillus* con una instauración más temprana de la profilaxis y el tratamiento antifúngico, queremos destacar la importancia del uso combinado de las diferentes técnicas diagnósticas frente a un uso aislado y comparativo de las mismas. Dado que, el uso combinado de los marcadores diagnósticos incrementa su sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de IFI por *Aspergillus* (Buchheidt et al. 2017).

7. CONCLUSIONES

- Nuestra población de estudio presenta características similares a lo encontrado en la literatura. La patología hematológica con más incidencia de IFI por *Aspergillus* ha sido la leucemia aguda mieloide y el principal factor de riesgo ha sido la neutropenia prolongada.
- Los pacientes con diagnóstico de IFI han presentado menos incidencia de infección concomitante por otro microorganismo que en los estudios de referencia, y únicamente un paciente afecto de IFI ha fallecido a causa de la micosis.
- De los 29 pacientes de nuestro estudio, hemos recogido 18 episodios de IFI. Según la clasificación de la EORTC, 12 casos han cumplido criterios de IFI posible, 6 casos de IFI probable y ningún caso de IFI probada. Se ha observado una relación entre la auscultación pulmonar patológica y los casos de IFI probable.
- Un 84,2% de los pacientes han recibido profilaxis antifúngica, siendo el posaconazol el antifúngico más empleado. A pesar de ser el antifúngico con mejor perfil de profilaxis para IFI, todas las IFI de brecha se han presentado en pacientes que presentaban características de alto riesgo de desarrollo de IFI y que se encontraban con esta profilaxis.
- Los marcadores diagnósticos microbiológicos de IFI presentan baja sensibilidad pero alta especificidad para el screening de IFI por *Aspergillus*, especialmente en los pacientes que han recibido profilaxis o tratamiento antifúngico. El uso combinado de estos marcadores podría ayudar al diagnóstico de aquellos casos en los que AGA en suero no ha sido capaz de demostrar la infección.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Alsaman J, Zaid T, Makhloq M, Madan M, Mohamed Z, Alarayedh A, et al. A retrospective study of the epidemiology and clinical manifestation of invasive aspergillosis in a major tertiary care hospital in Bahrain. *J Infect Public Health*. 2017 Jan;10(1):49–58.
2. Buchheidt D, Reinwald M, Hoenigl M, Hofmann W-K, Spiess B, Boch T. The evolving landscape of new diagnostic tests for invasive aspergillosis in hematology patients: strengths and weaknesses. *Curr Opin Infect Dis*. 2017 Dec;30(6):539–44.
3. Busca A, Tortorano AM, Pagano L. Reviewing the importance and evolution of fungal infections and potential antifungal resistance in haematological patients. *J Glob Antimicrob Resist*. 2015 Dec;3(4):237–41.
4. Chabi ML, Goracci A, Roche N, Paugam A, Lupo A, Revel MP. Pulmonary aspergillosis. *Diagn Interv Imaging*. 2015 May;96(5):435–42.
5. Chen C-Y, Sheng W-H, Tien F-M, Lee P-C, Huang S-Y, Tang J-L, et al. Clinical characteristics and treatment outcomes of pulmonary invasive fungal infection among adult patients with hematological malignancy in a medical centre in Taiwan, 2008-2013. *J Microbiol Immunol Infect*. 2018 Jan;
6. Colombo AL, de Almeida Junior JN, Slavin MA, Chen SC-A, Sorrell TC. Candida and invasive mould diseases in non-neutropenic critically ill patients and patients with haematological cancer. *Lancet Infect Dis*. 2017 Nov;17(11):e344–56.
7. Curbelo J, Galvan JM, Aspa J. Updates on Aspergillus, Pneumocystis and other opportunistic pulmonary mycoses. *Arch Bronconeumol*. 2015 Dec;51(12):647–53.
8. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis*. 2008 Jun;46(12):1813–21.
9. Demiraslan H, Atalay MA, Eren E, Demir K, Kaynar L, Koc AN, et al. Assessing the risk of false positive serum galactomannan among patients receiving piperacillin/tazobactam for febrile neutropenia. *Med Mycol*. 2017 Jul;55(5):535–40.
10. Desoubieux G, Bailly E, Chandenier J. Diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: updates and recommendations. *Med Mal Infect*. 2014 Mar;44(3):89–101.
11. Dragonetti G, Criscuolo M, Fianchi L, Pagano L. Invasive aspergillosis in acute myeloid leukemia: Are we making progress in reducing mortality? *Med Mycol*. 2017 Jan;55(1):82–6.

12. Eigl S, Hoenigl M, Spiess B, Heldt S, Prattes J, Neumeister P, et al. Galactomannan testing and *Aspergillus* PCR in same-day bronchoalveolar lavage and blood samples for diagnosis of invasive aspergillosis. *Med Mycol*. 2017 Jul;55(5):528–34.
13. Guarro J. [Taxonomy and biology of fungi causing human infection]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012 Jan;30(1):33–9.
14. Gupta A, Capoor MR, Shende T, Sharma B, Mohindra R, Suri JC, et al. Comparative evaluation of galactomannan test with bronchoalveolar lavage and serum for the diagnosis of invasive aspergillosis in patients with hematological malignancies. *J Lab Physicians*. 2017;9(4):234–8.
15. Heldt S, Prattes J, Eigl S, Spiess B, Flick H, Rabensteiner J, et al. Diagnosis of Invasive Aspergillosis in Hematological Malignancy Patients: Performance of Cytokines, Asp LFD, and *Aspergillus* PCR in Same Day Blood and Bronchoalveolar Lavage Samples. *J Infect*. 2018 May;
16. Heng SC, Morrissey O, Chen SC-A, Thursky K, Manser RL, Nation RL, et al. Utility of bronchoalveolar lavage fluid galactomannan alone or in combination with PCR for the diagnosis of invasive aspergillosis in adult hematology patients: a systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Microbiol*. 2015 Feb;41(1):124–34.
17. Kanj A, Abdallah N, Soubani AO. The spectrum of pulmonary aspergillosis. *Respir Med*. 2018 Aug;141:121–31.
18. Kato H, Fujita H, Akiyama N, Kimura S-I, Hiramoto N, Hosono N, et al. Infectious complications in adults undergoing intensive chemotherapy for acute myeloid leukemia in 2001-2005 using the Japan Adult Leukemia Study Group AML201 protocols. *Support care cancer Off J Multinatl Assoc Support Care Cancer*. 2018 Jun;
19. Kaya S, Gencalioglu E, Sonmez M, Koksall I. The importance of risk factors for the prediction of patients with invasive pulmonary aspergillosis. *Rev Assoc Med Bras*. 2017 Sep;63(9):764–70.
20. Kim R, Koh Y, Shin D-Y, Choe PG, Kim NJ, Yoon S-S, et al. The limited role of serum galactomannan assay in screening for invasive pulmonary aspergillosis in allogeneic stem cell transplantation recipients on micafungin prophylaxis: a retrospective study. *Blood Res*. 2017 Dec;52(4):300–6.
21. Koehler P, Hamprecht A, Bader O, Bekeredjian-Ding I, Buchheidt D, Doelken G, et al. Epidemiology of invasive aspergillosis and azole resistance in patients with acute leukaemia: the SEPIA Study. *Int J Antimicrob Agents*. 2017 Feb;49(2):218–23.
22. Magira EE, Jiang Y, Economides M, Tarrand J, Kontoyiannis DP. Mixed mold pulmonary infections in hematological cancer patients in a tertiary care cancer center. *Mycoses*. 2018 Jul;
23. Maziarz RT, Brazauskas R, Chen M, McLeod AA, Martino R, Wingard JR, et al. Pre-existing invasive fungal infection is not a contraindication for allogeneic HSCT for

patients with hematologic malignancies: a CIBMTR study. *Bone Marrow Transplant*. 2017 Feb;52(2):270–8.

24. Mensa J, De La Camara R, Carreras E, Cuenca Estrella M, Garcia Rodriguez JA, Gobernado M, et al. [Treatment of fungal infections in patients with hematologic neoplasia]. *Med Clin (Barc)*. 2009 Apr;132(13):507–21.
25. Moura S, Cerqueira L, Almeida A. Invasive pulmonary aspergillosis: current diagnostic methodologies and a new molecular approach. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018 May;
26. Neofytos D, Railkar R, Mullane KM, Fredricks DN, Granwehr B, Marr KA, et al. Correlation between Circulating Fungal Biomarkers and Clinical Outcome in Invasive Aspergillosis. *PLoS One*. 2015;10(6):e0129022.
27. Patterson TF, Thompson GR 3rd, Denning DW, Fishman JA, Hadley S, Herbrecht R, et al. Executive Summary: Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2016 Aug;63(4):433–42.
28. Risslegger B, Zoran T, Lackner M, Aigner M, Sanchez-Reus F, Rezusta A, et al. A prospective international *Aspergillus terreus* survey: an EFISG, ISHAM and ECMM joint study. *Clin Microbiol Infect*. 2017 Oct;23(10):776.e1-776.e5.
29. Ruiz-Camps I, Jarque I. [Invasive mould disease in haematological patients]. *Rev Iberoam Micol*. 2014;31(4):249–54.
30. Sun K-S, Tsai C-F, Chen SC-C, Chen Y-Y, Huang W-C. Galactomannan Testing and the Incidence of Invasive Pulmonary Aspergillosis: A 10-Year Nationwide Population-Based Study in Taiwan. *PLoS One*. 2016;11(2):e0149964.
31. Talento AF, Dunne K, Murphy N, O’Connell B, Chan G, Joyce EA, et al. Post-influenzal triazole-resistant aspergillosis following allogeneic stem cell transplantation. *Mycoses*. 2018 Mar;
32. Tormo M, Perez-Martinez A, Calabuig M, Hernandez-Boluda JC, Amat P, Navarro D, et al. Primary prophylaxis of invasive fungal infections with posaconazole or itraconazole in patients with acute myeloid leukaemia or high-risk myelodysplastic syndromes undergoing intensive cytotoxic chemotherapy: A real-world comparison. *Mycoses*. 2018 Mar;61(3):206–12.
33. Ullmann AJ, Aguado JM, Arikan-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 May;24 Suppl 1:e1–38.
34. van de Peppel RJ, von dem Borne PA, le Cessie S, de Boer MGJ. A new time-dependent approach for assessment of the impact of invasive aspergillosis shows effect on short- but not on long-term survival of patients with AML or high-risk MDS. *Bone Marrow Transplant*. 2017 Jun;52(6):883–8.

35. Vazquez Lopez L, Villaescusa de la Rosa T, de la Camara R, Espigado I, Grau Cerrato S, Jurado M, et al. [Consensus opinion on antifungal prophylaxis in haematologic patients: Results of the PROMIC project]. *Rev Esp Quimioter*. 2017 Jun;30(3):213–23.
36. Vazquez L, Salavert M, Gayoso J, Lizasoain M, Ruiz Camps I, Di Benedetto N. Delphi-based study and analysis of key risk factors for invasive fungal infection in haematological patients. *Rev Esp Quimioter*. 2017 Apr;30(2):103–17.
37. Vidal-Garcia M, Domingo MP, De Rueda B, Roc L, Delgado MP, Revillo MJ, et al. Clinical validity of bis(methylthio)gliotoxin for the diagnosis of invasive aspergillosis. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2016 Mar;100(5):2327–34.
38. White PL, Parr C, Barnes RA. Predicting Invasive Aspergillosis in Hematology Patients by Combining Clinical and Genetic Risk Factors with Early Diagnostic Biomarkers. *J Clin Microbiol*. 2018 Jan;56(1).
39. Yong MK, Ananda-Rajah M, Cameron PU, Morrissey CO, Spencer A, Ritchie D, et al. Cytomegalovirus Reactivation Is Associated with Increased Risk of Late-Onset Invasive Fungal Disease after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Multicenter Study in the Current Era of Viral Load Monitoring. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2017 Nov;23(11):1961–7.
40. Zhao Y, Nagasaki Y, Paderu P, Sugrue MW, Leather HL, Wingard JR, et al. Applying host disease status biomarkers to therapeutic response monitoring in invasive aspergillosis patients. *Med Mycol*. 2018 Jan;

