

Ponencia

Diagnóstico de las micosis invasoras. Detección de antígeno de galactomanano

C. Pazos Pacheco

Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Las micosis invasoras causan una importante morbimortalidad en pacientes inmunodeprimidos. Con el paso del tiempo su incidencia va en aumento debido a circunstancias relacionadas con la mayor esperanza de vida de los enfermos críticos, la aparición de enfermedades que alteran el sistema inmunitario y en especial la epidemia del sida, así como con la intensificación de la terapia con fármacos inmunosupresores y el mayor número de trasplantes de órganos realizados.

En las dos últimas décadas se ha producido un importante cambio epidemiológico que conlleva no sólo un aumento de la incidencia de las infecciones fúngicas invasoras sino también la modificación del agente causal, pasando a ser *Aspergillus* spp., en lugar de *Candida* spp., el patógeno más frecuente.

El género *Aspergillus* está constituido por hongos filamentosos que habitualmente se reproducen de forma asexual por conidios (*Deuteromycetes*), presentando algunas especies también reproducción sexual (*Ascomycetes*). Aunque se han descrito más de 180 especies, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus niger* son causa del 95% de las infecciones en humanos. *Aspergillus terreus* y *Aspergillus nidulans* son agentes de aspergilosis menos frecuentes (1).

Los conidios de *Aspergillus* se hallan en altas concentraciones en el aire, la tierra y sobre todo la materia orgánica en descomposición. Asimismo, *Aspergillus* forma parte de la microbiota normal saprófita de la orofaringe, las fosas nasales, los tegumentos y el tracto gastrointestinal (2). La concentración de conidios parece aumentar cuando existen obras de albañilería o conducciones de aire contaminadas, situaciones que se han asociado con la aparición de brotes de aspergilosis nosocomial (2).

Aspergillus puede causar un amplio espectro de infecciones en el ser humano, que van desde las formas superficiales (otitis externas fúngicas, onicomycosis, queratomycosis, infecciones de heridas y quemaduras) a la aspergilosis profunda invasora (3). La presentación clínica de la aspergilosis invasora es variable, inespecífica y tardía, por lo que es esencial su sospecha en situaciones de riesgo (4, 5). La sospecha clínica siempre debe confirmarse mediante técnicas de imagen y procedimientos microbiológicos e histológicos.

La aspergilosis invasora se suele contraer por inhalación, dando lugar a una infección pulmonar y, menos frecuentemente, de senos y oídos. Es posible la adquisición cutánea (por rotura de barreras debida a catéteres y esparadrappo contaminado), aunque es rara (4). La diseminación a distancia es factible por vía hemática (fungemia) y por continuidad (infiltración vascular y tisular).

Las infecciones pulmonares difusas de la aspergilosis invasora son las más prevalentes, seguidas de las formas pulmonares localizadas (aspergilomas).

Las aspergilosis invasoras de senos, cutáneas primitivas y traqueobronquitis tienen mejor pronóstico (6).

El impacto de la aspergilosis invasora radica en la estimación actual de que hasta un 30% de los casos ni se diagnostican ni se tratan, sino que son un hallazgo necrópsico (7, 8). El grupo de riesgo más numeroso lo constituyen los enfermos hematológicos, con una prevalencia del 61%, seguido de los que reciben trasplante de órganos sólidos (9%), los afectados de sida (8%) y aquellos que presentan neoplasias de órganos sólidos (4%) (9). El pronóstico de la aspergilosis invasora depende de la realización de un diagnóstico temprano que permita instaurar tratamiento antifúngico anticipado.

El diagnóstico microbiológico tradicional de la aspergilosis invasora comienza por el examen directo al microscopio de la muestra con KOH, Gram o calcoflúor, que permite un diagnóstico rápido presuntivo al visualizar filamentos septados con ramificaciones en ángulo agudo. El problema radica en que otros patógenos fúngicos, como *Fusarium* spp. y *Scedosporium* spp., son indistinguibles morfológicamente de *Aspergillus* spp. Se puede conseguir una mayor especificidad mediante técnicas inmunohistoquímicas (10, 11).

El aislamiento de *Aspergillus* por cultivo es un procedimiento lento que presenta una sensibilidad diagnóstica baja (15% a 20%). Si aumentamos la rentabilidad de las muestras utilizando broncoscopias (lavado broncoalveolar, cepillados y aspirados bronquiales, biopsias) la sensibilidad alcanza cifras en torno al 50% (12-15), pero estos procedimientos invasores raramente pueden realizarse debido a la trombocitopenia, la hipoxemia y el mal estado general que presentan muchos de los enfermos.

Dado que *Aspergillus* es un contaminante frecuente, el cultivo tiene una especificidad variable, ya que no permite discriminar entre colonización e invasión ni descartar contaminación (12); por ello, para su correcta valoración requiere la utilización conjunta de la histología (patrón de referencia) para establecer, en pacientes inmunodeprimidos y oncohematológicos, la existencia de infección fúngica invasora probada, atendiendo a los criterios establecidos en consenso por un grupo de expertos de la EORTC-IFICG/NIAID-MSG (16).

¿Cómo podemos diagnosticar mejor la aspergilosis invasora? Nos basaremos en dos puntos: identificando a los pacientes con riesgo elevado y mejorando las pruebas diagnósticas disponibles. Respecto al primer punto es básico estratificar a la población por grupos de riesgo siguiendo los criterios de Prentice (17): se consideran de alto riesgo para aspergilosis invasora la neutropenia (<100 neutrófilos/ mm^3 durante más de tres semanas o <500 neutrófilos/ mm^3 más de cinco semanas), la colonización por *Candida tropicalis* en receptores de trasplantes de médula ósea alogénicos, la existencia de enfermedad del injerto contra el huésped, el uso de corticosteroides (>2 mg/kg más de dos semanas o >1 mg/kg con neutropenia) y las altas dosis administradas de arabinósido de citosina o fludarabina. En cuanto al segundo punto, puesto que los procedimientos microbiológicos tradicionales para establecer el diagnóstico de aspergilosis invasora son tardíos y de poca rentabilidad, se han desarrollado una serie de marcadores de enfermedad invasora por *Aspergillus* spp. que permiten establecer el diagnóstico de forma precoz y así tener la posibilidad de instaurar un tratamiento antifúngico anticipado que disminuya la mortalidad.

Desde hace 20 años se conoce la existencia de antígenos en el suero de enfermos con aspergilosis invasora. Aunque *A. fumigatus* tiene más de cien componentes antigénicos, el galactomanano es de los de mayor utilidad diagnóstica.

El galactomanano es un componente de la pared celular del género *Aspergillus* (2) y es el principal exoantígeno liberado durante la invasión tisular. Las concentraciones de galactomanano son fluctuantes y, aunque no se conoce bien su cinética, se sabe que es depurado por las células de Kupffer. Puede detectarse en el suero, la orina y los líquidos estériles, para lo cual se han desarrollado dos técnicas: la primera (*Pastorex Aspergillus*[®], Sanofi Diagnostics Pasteur, Francia) consiste en la aglutinación con partículas de látex recubiertas de un anticuerpo monoclonal que presenta un límite de detección de 15 ng/ml de galactomanano, por lo que es poco sensible y ya no se utiliza; y la segunda es un ELISA de doble "sandwich" (*Platelia Aspergillus*[®], Biorad, Marnes La Coquette, Francia) que emplea el mismo anticuerpo monoclonal (EB-A2), pero con mejor sensibilidad, y presenta un límite de detección de 0,5-1 ng/ml de galactomanano, por lo que es la técnica inmunoenzimática que se utiliza en la actualidad.

La obtención de sueros debe ser prospectiva y realizarse al menos dos veces por semana. Se considera que la prueba es positiva cuando se obtienen un mínimo de dos determinaciones consecutivas positivas, siendo el punto de corte inicialmente recomendado por el fabricante de 1,5 ng/ml.

La prueba aporta datos de sensibilidad del 89,7% al 90,6% y de especificidad del 94% al 97,1%, con una eficacia global del 83,3% al 96,3% (18-21). La tasa de falsos negativos oscila entre el 8% y el 10% (18-22), causada por factores tales como la encapsulación del proceso infeccioso, el menor grado de angioinvasión en neutropénicos, la existencia de anti-

cuerpos anti-*Aspergillus*, el tratamiento antifúngico previo, etc. La tasa de falsos positivos oscila entre el 8% y el 14% (22-25) y su naturaleza no está del todo aclarada, siendo diversas las causas: población pediátrica, colonización masiva por *Aspergillus* en el tracto digestivo, infecciones por otros patógenos fúngicos (*Paecilomyces variotti*, *Penicillium* spp. y *Candida* spp.) (23), enfermedad del injerto contra el huésped (25), bacteriemia por grampositivos y gramnegativos (23), mucositis grave (coexistencia con ingesta de cereales, leche maternizada), reacciones cruzadas con productos transfusionales, ciclofosfamida, piperacilina-tazobactam (26, 27), etc.

Particularmente esperanzador es poder utilizar el galactomanano como una herramienta diagnóstica no invasora que además de útil sea precoz y se anticipe a los síntomas clínicos, a las imágenes radiológicas y al tratamiento empírico antifúngico (18-20), mostrando una infección cuando no hay evidencia clínica de enfermedad.

La detección de galactomanano en suero permite además realizar un seguimiento del tratamiento antifúngico, ya que el aumento de su valor ($\geq 1,0$ ng/ml) sobre el inicial en la primera semana de tratamiento predice un fallo terapéutico con una sensibilidad del 44%, una especificidad del 87% y un valor predictivo positivo del 94% (28). Por ello, se puede considerar al galactomanano como un marcador que permite establecer el pronóstico de tratamiento de la aspergilosis invasora y puede servir para modificarlo o añadir un segundo fármaco con el objeto de potenciar o mejorar la eficacia del antifúngico inicialmente elegido (28).

En los pacientes neutropénicos adultos, definidos como de alto riesgo para desarrollar aspergilosis invasora, es donde el galactomanano presenta una mayor utilidad diagnóstica; en otro tipo de población (pediátrica, receptores de trasplante de órgano sólido, sida, enfermedad granulomatosa crónica, neoplasias de órgano sólido, grandes quemados, etc.) sería necesario realizar estudios prospectivos bien diseñados para valorar su utilidad, ya que no existe suficiente experiencia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abarca, M.L. *Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial*. Rev Iberoam Micol 2000; 17: S79-S84.
2. Latgé, J.P. *Aspergillus fumigatus and aspergillosis*. Clin Microbiol Rev 1999; 12: 310-350.
3. Borges, M., Liébana, A. *Presentaciones clínicas de la aspergilosis nosocomial*. Rev Iberoam Micol 2000; 17: S85-S89.
4. Denning, D.W. *Invasive aspergillosis*. Clin Infect Dis 1998; 26: 781-805.
5. Paterson, D., Singh, N. *Invasive aspergillosis in transplant recipients*. Medicine 1999; 78: 123-138.
6. Lin, S.J., Schanz, J., Teutsch, S.M. *Aspergillosis case fatality rate: Systematic review of the literature*. Clin Infect Dis 2001; 32: 358-366.
7. Groll, A.H., Shah, P.M., Mentzel, C. y cols. *Trends in the post-mortem epidemiology of invasive fungal infections at a University hospital*. J Infect 1996; 33: 23-32.
8. Vogesen, M., Wanders, A., Haas, A., Ruckdeschel, G. *A four-year review of fatal aspergillosis*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1999; 18: 42-45.
9. Patterson, T.F., Kirkpatrick, W.R., White, M. y cols. *Invasive aspergillosis. Disease spectrum, treatment practices and outcomes*. Medicine 2000; 79: 250-260.
10. Binder, C., Ruchel, R. *Mixed systemic mycosis with fatal outcome in a patient with acute myeloblastic leukaemia*. Mycoses 2000; 43: 59-63.
11. Pontón, J., García, M.E., López Medrano, R. *Diagnóstico basado en métodos independientes de cultivo*. En: Pemán, J., Martín Mazuelos, E., Rubio, M.C. (Eds.). Guía práctica de identificación y diagnóstico en Micología Clínica. Revista Iberoamericana de Micología, Bilbao 2001; 14.1-14.2.
12. Barnes, A.J., Denning, D.W. *Aspergilli – Significance as pathogens*. Rev Med Microbiol 1993; 4: 176-180.
13. Horvarth, J.A., Dummer, S. *The use of respiratory-tract cultures in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis*. Am J Med 1996; 100: 171-178.
14. Mc Whinney, P.H., Kibbler, C.C., Hamon, M.D. y cols. *Progress in the diagnosis and management of aspergillosis in bone marrow transplantation: 13 years' experience*. Clin Infect Dis 1993; 17: 397-404.
15. Yu, V.L., Muder, R.R., Poorsattar, A. *Significance of isolation of Aspergillus from the respiratory tract in diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: Results from a three-year prospective study*. Am J Med 1986; 81: 249-254.
16. Ascioglu, S., de Paw, B., Bennet, J.E. y cols. *Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: An international consensus*. Clin Infect Dis 2002; 34: 7-14.
17. Prentice, H.G., Kibbler, C.C., Prentice, A.G. *Towards a targeted, risk based, antifungal strategy in neutropenic patients*. Br J Haematol 2000; 110: 273-284.
18. Maertens, J., Verhaegen, J., Demuyne, H. et al. *Autopsy-controlled prospective evaluation of serial screening for circulating galactomannan by a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for hematological patients at risk for invasive aspergillosis*. J Clin Microb 1999; 37: 3223-3228.
19. Maertens, J., Verhaegen, J., Lagrou, K. y cols. *Screening for circulating galactomannan as a noninvasive diagnostic tool for invasive aspergillosis in prolonged neutropenic patients and stem cell transplantation recipients: A prospective validation*. Blood 2001; 97: 1604-1610.
20. Sulahian, A., Boutboul, F., Ribaud, P. y cols. *Value of antigen detection using an enzyme immunoassay in the diagnosis and prediction of invasive aspergillosis in two adult and pediatric hematology units during a 4-year prospective study*. Cancer 2001; 91: 311-318.
21. Herbrecht, R., Letscher-Bru, V., Oprea, C. y cols. *Aspergillus galactomannan detection in the diagnosis of invasive aspergillosis in cancer patient*. J Clin Oncol 2002; 20: 1898-1906.

22. Maertens, J., Van Eldere, J., Verhaegen, J. y cols. *Use of circulating galactomannan screening for early diagnosis of invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients.* J Infect Dis 2002; 186: 1297-1306.
23. Siemann, N., Koch-Dorfler, M., Gaude, M. *False positive results in premature infants with the Platelia Aspergillus sandwich enzyme-linked immunosorbent assay.* Mycoses 1998; 41: 373-377.
24. Swanink, C.M., Meis, J.F., Rijs, A.J. y cols. *Specificity of a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for detecting Aspergillus galactomannan.* J Clin Microbiol 1997; 35: 257-260.
25. Hamaki, T., Kami, M., Kanda, Y. y cols. *False-positive results of Aspergillus enzyme-linked immunosorbent assay in a patient with chronic graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation.* Bone Marrow Transplant 2001; 28: 633-634.
26. Viscoli, C., Machetti, M., Cappellano, P. y cols. *False-positive Platelia Aspergillus test in patients receiving piperacillin-tazobactam.* 43rd Interscience on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Chicago, Illinois, USA 2003; Abstr. M-2062b.
27. Sulahian, A., Touratier, S., Leblanc, T. y cols. *False positive Aspergillus antigenemia related to concomitant administration of tazocillin.* 43rd Interscience on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Chicago, Illinois, USA 2003; Abstr. M-2062a.
28. Boutboul, F., Alberti, C., Leblanc, T. y cols. *Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: Increasing antigenemia is associated with progressive disease.* Clin Infect Dis 2002; 34: 939-943.