



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**AVANCES EN EL DIAGNÓSTICO DE ASPERGILOSIS INVASIVA**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO  
DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

**AUTORA: LISSETTE LIDL ROJAS  
PROFESORA GUÍA: TM Mg. PAULINA ABACA**

**TALCA-CHILE  
Año 2022**

## CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2023



*Agradecimientos:  
A mi familia por ser mi pilar fundamental desde el primer día que entré a la universidad, a mi profesora guía por su constante perseverancia y apoyo en el proceso de este trabajo, y finalmente a mis amigos y compañeros, que sin ellos la universidad no habría sido lo mismo.*

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<i>RESUMEN</i> .....	7
<i>INTRODUCCIÓN</i> .....	8
<i>OBJETIVOS</i> .....	10
1.    OBJETIVO GENERAL.....	10
2.    OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	10
<i>METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN</i> .....	11
<i>MARCO TEÓRICO</i> .....	12
1.    INFECCIONES FÚNGICAS INVASIVAS .....	12
2.    ASPERGILLUS SPP .....	14
3.    ASPERGILOSIS INVASIVA .....	18
3.1 MANIFESTACIONES CLÍNICAS .....	21
3.2 FACTORES DE RIESGO .....	22
3.3 FISIOPATOLOGÍA .....	25
4.    DIAGNÓSTICO DE ASPERGILOSIS INVASIVA.....	28
4.1 SEROLOGÍA .....	31
4.1.1 DETECCIÓN DE GALACTOMANANO (GM).....	32
4.1.2 DETECCIÓN DE (1-3)- $\beta$ -D-GLUCANO (BDG).....	38
4.2 DETECCIÓN DE GLIOTOXINA .....	43
4.2.1 INMUNOCROMATOGRAFÍA (LATERAL FLOW DEVICE).....	45
4.4 BIOLOGÍA MOLECULAR.....	49
4.4.1 ESPECTROMETRÍA DE MASAS MALDITOF .....	49
4.3 IMAGENOLOGÍA .....	54
5.    TRATAMIENTO.....	58
6.    EPIDEMIOLOGÍA.....	63

*CONCLUSIONES* ..... 66

*REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS*..... 67

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación taxonómica de <i>Aspergillus spp</i> .....	15
<b>Tabla 2.</b> Criterios diagnósticos de aspergilosis invasora seleccionados de criterios de enfermedad fúngica invasora según EORTC/MSG.....	20
<b>Tabla 3.</b> Principales factores de riesgo asociados a la aspergilosis invasiva.....	23
<b>Tabla 4.</b> Incidencia de aspergilosis invasiva en distintos grupos de pacientes clasificados de acuerdo a su condición patológica.....	24
<b>Tabla 5.</b> Sensibilidad y especificidad de la detección de glucano en diferentes grupos de pacientes con AI.....	40
<b>Tabla 6.</b> Ventajas y desventajas de la detección de gliotoxina, galactomanano y BDG en el diagnóstico de aspergilosis invasiva.....	42
<b>Tabla 7.</b> LFD comparado con GM-EIA Platelia de Bio-Rad y PCR en tiempo real.....	47
<b>Tabla 8.</b> Comparación del costo y material necesarios para los kit <i>Aspergillus-LFD</i> y GM-EIA.....	48

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Características morfológicas de <i>Aspergillus spp.</i> .....	15
<b>Figura 2.</b> Características morfológicas de <i>Aspergillus spp.</i> al microscopio.....	16
<b>Figura 3.</b> Esquema de mecanismo de transmisión de <i>Aspergillus spp.</i> en individuos inmunocomprometidos.....	26
<b>Figura 4.</b> Medios de cultivo para detección del género <i>Aspergillus spp.</i> .....	29
<b>Figura 5.</b> Métodos de diagnóstico de aspergilosis invasiva en inmunocomprometidos.....	30
<b>Figura 6.</b> Estructura del antígeno galactomanano.....	34
<b>Figura 7.</b> Detección de galactomanano mediante Platelia Aspergilus.....	36
<b>Figura 8.</b> Estructura esquemática de la pared celular de los hongos.....	38
<b>Figura 9.</b> Estructura química de la gliotoxina.....	44
<b>Figura 10.</b> Test LFD para gliotoxina.....	46
<b>Figura 11.</b> Procesamiento de hongos recomendado para los sistemas MALDI Biotyper y VITEX MS.....	51
<b>Figura 12.</b> Radiografía de tórax en individuo con aspergilosis invasiva.....	55
<b>Figura 13.</b> TAC de tórax en paciente con aspergilosis invasiva.....	56
<b>Figura 14.</b> Mecanismo de acción de distintos antifúngicos sobre la pared celular de los hongos.....	60
<b>Figura 15.</b> Algoritmo de evaluación de pacientes en riesgo de aspergilosis invasora con monitorización de galactomanano (GM) e imágenes de TAC de tórax.....	62
<b>Figura 16.</b> Gráfico que muestra el número de episodios anuales para 111 casos probados de aspergilosis y no-aspergilosis.....	65

## RESUMEN

*Aspergillus spp.* es uno de los hongos más abundantes en el mundo, sus especies se caracterizan por vivir a diversas temperaturas y poseen una estructura especial que les permite la formación de conidios o esporas asexuales, las cuales son capaces de mantenerse en el ambiente en forma de bioaerosoles y ser inhaladas por el ser humano a cortas o largas distancias. La inhalación de estos conidios puede llegar a ser perjudicial en el caso de los pacientes inmunocomprometidos, puesto que la llegada de estos a los pulmones y la posterior germinación de las hifas en ellos genera un cuadro patogénico denominado aspergilosis invasiva. Esta enfermedad se encuentra dentro de las infecciones fúngicas invasivas más abundantes en el mundo, luego de la Candidiasis invasiva, y el considerable aumento de pacientes inmunocomprometidos y factores de riesgo ha supuesto un gran problema al momento de realizar un diagnóstico precoz de la enfermedad. Se realizó una revisión bibliográfica actualizada respecto a los principales métodos que se disponen para el diagnóstico de la aspergilosis invasiva en el ser humano; detección de galactomanano, detección de gliotoxina, espectroscopía de masas MALDITOF, entre otras, las cuales han sido imprescindibles al momento poder entregar un tratamiento precoz y oportuno a los pacientes afectados por esta enfermedad.

Palabras clave: *Aspergillus spp.*, aspergilosis invasiva, diagnóstico, inmunocomprometido, galactomanano.

## INTRODUCCIÓN

Con el paso de los años y el avance de la tecnología, se han ido implementando equipos automatizados y diversas técnicas de laboratorio que han permitido diagnosticar los hongos de manera más rápida y eficiente. Entre los principales métodos de determinación de estos microorganismos han destacado los de diagnóstico molecular como espectrometría de masas MALDITOF, además de métodos de histopatología, microscopía y principalmente de serología donde es fundamental la detección de galactomanano y de (1-3)- $\beta$ -D-glucano en aspergilosis invasivas.

Gracias a estos avances los hongos han dejado de estar desprovistos de importancia (sólo eran considerados vegetales inferiores carentes de la propiedad de formar tejidos) y actualmente se encuentran clasificados en un reino especial llamado *Fungi* o *Eumycota*, perteneciente al Dominio *Eukarya*. Esto ha dado cuenta también de la importancia de su participación en las diversas enfermedades infecciosas que existen, puesto que su dispersión mediante pequeñas esporas que circulan en el aire, permite que sean fácilmente inhalados por las personas generando múltiples infecciones.

Hoy en día son utilizados en diversos procesos principalmente asociados a la industria y la alimentación, tales como: fermentación alcohólica, producción del pan y la maduración de quesos y embutidos, además se descubrieron propiedades importantes para la medicina, como lo es la producción de antibióticos tales como la penicilina producida por el hongo *Penicillium chrysogenum*.

Dentro de estas infecciones encontramos las infecciones fúngicas invasivas o comúnmente denominadas IFI, consideradas un conjunto de enfermedades causadas por

hongos que afectan principalmente a los pacientes inmunodeprimidos, la incidencia y prevalencia de estas infecciones y sus altos costos sanitarios asociados especialmente en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI), ha significado en las últimas décadas un gran problema para la salud pública puesto que sus índices de morbilidad y mortalidad han ido en un considerable aumento.

El desarrollo de estas infecciones ha conllevado a la búsqueda de tratamientos antifúngicos que colaboren en el tratamiento y evolución de los pacientes con IFI, se ha hecho necesario realizar intervenciones profilácticas, empíricas y preventivas basada en una identificación de los factores de riesgo que predisponen a los pacientes a presentar estas infecciones.

Los principales hongos causantes de estas micosis invasivas corresponden en su mayor porcentaje a especies del género *Candida* y *Aspergillus*, y en menor cantidad a los mucorales (tales como *Rizhopus*) y *Fusarium*. Es por ello que se presentó información actualizada acerca de los principales mecanismos de patogenicidad que participan en el desarrollo de la aspergilosis invasiva, los factores de riesgo que hacen susceptibles a los pacientes inmunodeprimidos, y principalmente las técnicas de diagnóstico y avances que se disponen hoy en día, con la finalidad de obtener un diagnóstico rápido y certero que permita un tratamiento antifúngico dirigido y oportuno.

## OBJETIVOS

### 1. OBJETIVO GENERAL

- 1.1 Realizar una revisión bibliográfica actualizada respecto a los principales métodos que se disponen para el diagnóstico de la aspergilosis invasiva en el ser humano.

### 2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 2.1 Describir las principales características estructurales y taxonómicas del género *Aspergillus spp.* y sus especies más relevantes.
- 2.2 Revisar los principales mecanismos de patogenicidad causales de la aspergilosis invasiva.
- 2.3 Describir los métodos convencionales y los nuevos avances para el diagnóstico de la aspergilosis invasora.
- 2.4 Recopilar los principales protocolos establecidos para la profilaxis y el tratamiento de la aspergilosis invasiva.
- 2.5 Realizar una revisión de antecedentes epidemiológicos nacionales e internacionales de infecciones invasivas por *Aspergillus spp.*

## METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN

Esta revisión bibliográfica consistió en la investigación de nuevos avances en el diagnóstico de la aspergilosis invasiva tanto en el mundo como a nivel país mediante la búsqueda de diversos artículos científicos. Estos artículos fueron extraídos de la Revista chilena de infectología, Revista Iberoamericana de micología y Asociación de microbiología Argentina (entre otras relevantes), y a través de diversas bases de datos utilizadas como Science, Scielo, Web of Science, Pubmed y de otros sitios de búsqueda como Google académico. La finalidad de utilizar estos medios de investigación fue obtener y recopilar información de calidad acerca del tema para posteriormente poder plasmarla en una revisión bibliográfica. Las palabras clave que fueron utilizadas en esta búsqueda fueron; *Aspergillus spp.*, diagnóstico de hongos, aspergilosis invasiva, diagnóstico de aspergilosis invasiva, detección de galactomanano, inmunocromatografía, detección de gliotoxina, detección de (1-3)- $\beta$ -D-Glucano y espectrometría de masas MALDITOF, las cuales permitieron llegar a publicaciones relacionadas al tema de investigación.

En cuanto a la estructuración de la información obtenida, se subdividió el tema principal con la finalidad de entender los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad, sus manifestaciones clínicas, factores de riesgo y características epidemiológicas, para posteriormente detallar a profundidad las distintas técnicas de diagnóstico de la aspergilosis invasiva en la actualidad.

## MARCO TEÓRICO

### 1. INFECCIONES FÚNGICAS INVASIVAS

Las infecciones fúngicas invasivas (IFIs) son un grupo de enfermedades en aumento progresivo en las dos últimas décadas, fundamentalmente en el ámbito nosocomial (1). Se caracterizan por afectar principalmente a aquellos pacientes que presentan un sistema inmune deprimido, puesto que en la población sana estas infecciones son casi inexistentes debido a que el sistema inmune protege frente al desarrollo de estas infecciones invasivas (2).

El aumento de la incidencia de micosis invasivas en los últimos años está relacionado con el incremento de la población inmunodeprimida, especialmente pacientes neutropénicos con cáncer, y en pacientes que han recibido trasplantes de órgano sólido o de progenitores hematopoyéticos (2), además del avance en los estudios y conocimientos acerca de los hongos y la respuesta inmunitaria del hospedero frente a la agresión, como consecuencia de la aparición de nuevas técnicas de laboratorio que permiten la detección de estos agentes, lo cual se postula como una herramienta imprescindible para optimizar el manejo de estas infecciones. (3)

Su importancia radica, además, en la morbilidad y mortalidad secundarias a estos procesos, especialmente en el caso de los causados por hongos filamentosos. (1). Las IFIs continúan siendo producidas casi de manera universal por *Candida spp.* o *Aspergillus spp* (2). Aquellas causadas por hongos filamentosos ocasionan una elevada morbimortalidad en las personas inmunodeprimidas, así como un consumo elevado de recursos para su prevención, diagnóstico y tratamiento: en los pacientes que padecen una IFI la estancia hospitalaria se alarga y el gasto sanitario se multiplica casi tres veces (3).

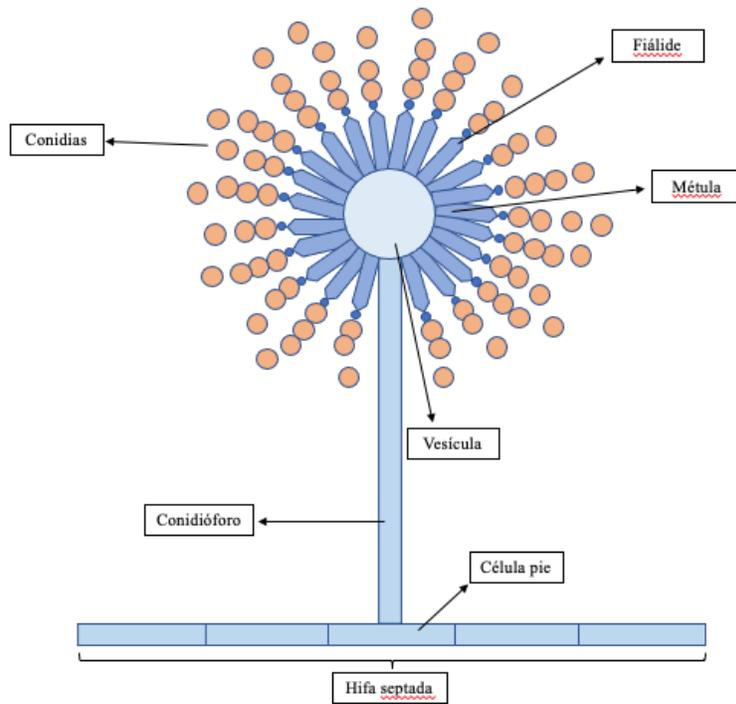
Si bien en los últimos años han existido avances, tanto del punto de vista diagnóstico como terapéutico, se está lejos aún de encontrarse por sobre estos agentes infecciosos a como sucede en el control de las infecciones bacterianas (4). Los estudios basados en evidencia han demostrado nuevos agentes antimicóticos, los cuales están surgiendo como jugadores importantes en la farmacoterapia de las infecciones fúngicas invasivas en pacientes que se encuentran gravemente enfermos y con complicaciones. Sin embargo, los datos sobre pacientes críticamente enfermos son limitados y sólo se han recuperado estudios generales. (5)

No obstante, estas infecciones tienen sus peculiaridades en cada grupo de pacientes inmunodeficientes que deben ser reconocidas y enfocadas convenientemente, de la misma forma en están siendo identificados cada vez con más frecuencia hongos distintos que requieren un conocimiento y enfoque clínico individualizado. (4)

## 2. ASPERGILLUS SPP

*Aspergillus* es un hongo monomórfico descrito inicialmente por Micheli y Link en 1809. Recibió su nombre por la forma de sus cuerpos fructíferos que recuerda el aparato utilizado por los sacerdotes para esparcir el agua bendita (aspergillum) (6). Es un hongo filamentosos hialino, saprófito, se encuentra formado por hifas hialinas septadas y puede tener reproducción sexual (con formación de ascosporas en el interior de ascas) y asexual (con formación de conidios). (7)

Este género se caracteriza por la producción de hifas especializadas, denominadas conidióforos, sobre los que se encuentran las células conidiógenas que originarán las esporas asexuales o conidios. El conidióforo característico de *Aspergillus*, aunque es una estructura unicelular posee tres partes bien diferenciadas: vesícula (extremo apical hinchado), estipe (sección cilíndrica situada debajo de la vesícula) y célula pie (sección final, a veces separada por un septo, que une el conidióforo con el micelio). Sobre la vesícula se disponen las células conidiógenas, denominadas fiálides, y en muchas especies, entre la vesícula y las fiálides se encuentran otras células denominadas métulas. Las cabezas conidiales que sólo presentan fiálides se denominan uniseriadas, y las que presentan fiálides y métulas, biseriadas. (8)



**Figura 1:** Características morfológicas de *Aspergillus* spp.

Fuente: Elaboración propia Lidl, L. (2021)

A lo largo de los años ha ido evolucionado la taxonomía de este género, actualmente se conoce que pertenece a la familia Aspergillaceae, del orden de los Eurotiales, cuya clase corresponde a los Eurotiomycetes y el filo a Ascomycota. (9)

**Tabla 1:** Clasificación taxonómica de *Aspergillus* spp.

Fuente: Elaboración propia Lidl, L. (2021) (20)

<b>Reino</b>	Fungi
<b>Filo</b>	Ascomycota
<b>Clase</b>	Eurotiomycetes
<b>Orden</b>	Eurotiales
<b>Familia</b>	Aspergillaceae
<b>Género</b>	Aspergillus

Las especies de *Aspergillus spp.* se encuentran entre los hongos más abundantes en todo el mundo. No son muy selectivos con respecto a las condiciones de crecimiento abiótico, por ejemplo, pueden crecer en una amplia gama de temperaturas (6-55°C) y con una humedad relativamente baja (10). Estas especies se diferencian en tamaño, tasa de crecimiento, textura (aterciopelada, granular, algodonosa) y color de la colonia: verde-amarillento (*A. flavus*), negro (*A. niger*) y marrón (*A. terreus*). La coloración aparece casi siempre en todas las estructuras aéreas, tanto en el micelio como en las cabezas conidiales. (7)



**Figura 2: Características morfológicas de *Aspergillus spp.* al microscopio.** Teñido con Azul de lactofenol, se observa el conidióforo como una estructura larga, la vesícula y los conidios emergiendo desde la fiálide.

Fuente: Tomada del Laboratorio de microbiología, Universidad de Talca. (2021)

*Aspergillus* es uno de los principales hongos productores de micotoxinas, estas son metabolitos secundarios producidos y secretados por el hongo durante el proceso de degradación de la materia orgánica, como mecanismo de defensa frente a otros microorganismos (7). Además, las especies de *Aspergillus* se alimentan de una gran variedad

de sustratos que incluyen heces de animales y tejidos humanos. No obstante, se encuentran predominantemente en polímeros vegetales complejo y se consideran hongos comunes que deterioran los alimentos. (10)

La transmisión se produce principalmente por medio de las esporas o conidios que se encuentran presentes en el ambiente de trabajo en forma de bioaerosoles y penetran en el organismo por vía respiratoria (7). Las esporas de este género se encuentran entre las estructuras fúngicas dominantes en el aire y se dispersan a distancias cortas y largas. (10)

Además, una amplia variedad de aspergillus son patógenos oportunistas de animales y humanos, no infectan a individuos sanos, pero invaden a individuos con un sistema inmunológico comprometido. (10)

### 3. ASPERGILOSIS INVASIVA

La aspergilosis invasora (AI) es una enfermedad grave que afecta principalmente a pacientes inmunocomprometidos, provocando mortalidad elevada, descrita hasta 90%, dependiendo del órgano afectado, estatus de inmunidad del paciente, momento del diagnóstico y la terapia antifúngica utilizada (11). Si bien existen más de 200 especies de *Aspergillus*, la mayor parte de las infecciones son producidas por *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. terreus* y *A. niger* (11). Estas son responsables particularmente de enfermedad pulmonar, aspergiloma pulmonar no invasivo y aspergilosis broncopulmonar alérgica (10).

Es causada por la inhalación de los conidios del mohó *Aspergillus spp.*, el cual tiene como hábitat el suelo (12). También es posible la transmisión por contaminación de heridas o mucosas y la aparición de efectos tóxicos por ingestión de alimentos contaminados (7). Se presenta en pacientes inmunocomprometidos por distintas causas: cánceres hematológicos, receptores de trasplante de precursores hematopoyéticos (TPH), trasplante de órganos sólidos (TOS), pacientes que reciben corticosteroides por períodos prolongados, pacientes con infección por VIH en etapas avanzadas, usuarios de fármacos inmunosupresores o agentes biológicos; sin embargo, se debe señalar que durante los últimos años también se ha descrito con frecuencia creciente AI en algunos grupos de pacientes críticamente enfermos pero aparentemente inmunocompetentes (11).

La especie que con mayor frecuencia causa aspergilosis es *Aspergillus fumigatus*, comprende aproximadamente el 90% de las infecciones por este género. Otras especies, como *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nidulans* y *Aspergillus terreus* se aíslan cada vez con más frecuencia, dependiendo de factores geográficos, tipo de huésped o prescripción de antifúngicos, incrementando su papel como agentes etiológicos. Paralelamente, existen diferencias, ocasionalmente bien documentadas, en las formas de presentación clínica causadas por estas especies de *Aspergillus*. Como ejemplos, *A. flavus* produce un importante número de infecciones otorrinolaringológicas, con claro tropismo por los senos paranasales,

mientras que *A. nidulans* es un protagonista común en los pacientes diagnosticados de enfermedad granulomatosa crónica y, por tanto, más frecuente en población en edad pediátrica con este tipo de inmunodeficiencia. Aunque *A. terreus* aún sigue siendo una causa infrecuente de aspergilosis, la infección causada por esta especie se asocia con elevadas tasas de mortalidad, en parte debida a su falta de sensibilidad a la anfotericina B. Otros órganos comprometidos en orden de importancia son riñón, corazón, tracto gastrointestinal, hígado y bazo. (13)

Se han adoptado categorías diagnósticas definidas por la Eortc/MSG para la aspergilosis invasiva:

- Aspergilosis probada: requiere documentación histopatológica de invasión tisular por el hongo o un cultivo.
  - Aspergilosis probable: debe cumplir un criterio en cada una de 3 categorías: factores del hospedero, criterio clínico (consistentes con los hallazgos micológicos y relacionada cronológicamente con el episodio), y criterio micológico (incluye pruebas indirectas).
  - Aspergilosis posible: paciente con factores de riesgo para aspergilosis invasora y presentación clínica compatible, sin evidencia microbiológica o histopatológica y cuando se ha descartado otro diagnóstico que explique el cuadro.
  - Colonización: documentación microbiológica de la presencia de *Aspergillus spp* en uno o más órganos en ausencia de signos o síntomas de enfermedad o invasión tisular.
- (14)

**Tabla 2:** Criterios diagnósticos de aspergilosis invasora seleccionados de criterios de enfermedad fúngica invasora según EORTC/MSG.

<b>Factores del hospedero</b>	Neutropenia
	Receptor de TPH
	Corticosteroides por mas de tres semanas
	Uso de inmunosupresores
	Inmunodeficiencia primaria
<b>Criterios clínicos</b>	Compromiso <u>imagenológico</u> pulmonar (al menos uno):
	• Nódulos con o sin halo, creciente aéreo o cavidad
	• <u>Traqueobronquitis</u>
	• <u>Rinosinusitis</u>
	• Infección de sistema nervioso central
<b>Criterios micológicos</b>	Directos: tinciones o cultivos positivos Indirectos: Galactomanano, (1-3)- $\beta$ -D-Glucano
<b>Definición de infección</b>	
• Posible	Factores del hospedero + criterios clínicos
• Probable	Factores del hospedero + criterios clínicos + micológicos
• Probada	Aspergillus en cultivos de cavidad estéril o sangre o estudio histológico que demuestre invasión fúngica

Tomado de Rabagliati, R. 2018. (15)

### 3.1 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Las manifestaciones dependen del sistema inmune y del inóculo del agente fúngico. En los pacientes neutropénicos se puede encontrar una invasión extensa por hifas en el tejido pulmonar, causando aspergilosis invasiva pulmonar (AIP), también ocasiona infarto y trombosis vascular, posterior diseminación extrapulmonar. Clínicamente se caracteriza por persistencia de la fiebre a pesar del manejo antibiótico de amplio espectro, dolor pleurítico y hemoptisis. (12)

En los enfermos con trasplante de órgano sólido (TOS), al igual que sucede con otros inmunodeprimidos, la aspergilosis invasora es la forma más frecuente pudiendo causar bronconeumonía hemorrágica, infección pulmonar con abscesos únicos o múltiples e invasión de las arterias pulmonares con producción de infarto distal o hemorragia. Clínicamente, los pacientes suelen referir tos seca, disnea y dolor pleurítico. (16)

Clínicamente se han descrito tres síndromes: Síndrome de hipersensibilidad (atópica, alveolitis alérgica y aspergilosis broncopulmonar alérgica), Síndrome no invasivo (otomicosis, sinusitis, aspergiloma) y Síndrome invasivo (aspergilosis pulmonar, ocular y endocarditis). En esta última, posterior a la inhalación de los conidios, hay germinación de los mismos, ya que no son destruidos por los macrófagos alveolares, lo anterior da lugar a la producción de hifas con capacidad de invadir la pared de los vasos sanguíneos produciendo trombosis, infarto y necrosis. Se puede desarrollar enfermedad invasora como un proceso neumónico agudo con o sin diseminación; desde los pulmones la enfermedad se puede propagar al aparato gastrointestinal, riñón, hígado, cerebro u otros órganos y producir abscesos y lesiones necróticas. Sin tratamiento oportuno el pronóstico de los pacientes con aspergilosis invasiva es deficiente. (17)

### 3.2 FACTORES DE RIESGO

Indudablemente, el más relevante es la neutropenia; mientras más profunda y prolongada sea, mayor será el riesgo de adquisición de una AI. Entre los otros factores descritos se debe mencionar la inmunosupresión asociada a medicamentos, la condición biológica, la infección por citomegalovirus por su rol inmunomodulador, una función fagocitaria defectuosa y alteraciones en la inmunidad celular (Tabla 3), los cuales son predisponentes para el desarrollo de una aspergilosis invasora (5).

Otro factor que se debe destacar es la exposición medioambiental; existen numerosos reportes que asocian construcciones en hospitales con brotes de AI en pacientes profundamente inmunocomprometidos. Esta situación ocurre por el significativo incremento de dispersión de conidias de *Aspergillus spp.* a través del aire que, debido a su pequeño tamaño, 2 a 3  $\mu\text{m}$ , tienen capacidad de llegar por vía aérea hasta los alveolos pulmonares de los pacientes susceptibles. (11)

**Tabla 3:** Principales factores de riesgo asociados a la aspergilosis invasiva.

Fuente: Elaboración propia propia Lidl, L. (2021)

<b>FACTORES DE RIESGO DE ASPERGILLOSIS INVASORA</b>
Neutropenia (> 500 céls/mm <sup>3</sup> )
Enfermedad de injerto sobre hospedero y terapia inmunosupresora asociada
Trasplante de precursores hematopoyéticos alogénico
Trasplante de órganos sólidos (pulmón, corazón, hígado)
Linfocitopenia CD4+ < 100 céls/mm <sup>3</sup>
Exposición medioambiental
Colonización previa por <i>Aspergillus spp.</i>
Infección por citomegalovirus
Uso de terapias biológicas como anti-TNF y anti-CD52
Falla renal en hemodiálisis
Cirrosis hepática

Los pacientes que ingresan a la unidad de cuidado intensivo (UCI) pueden ser susceptibles a la AI, otros factores de riesgo diferentes al cáncer hematológico como: enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), cirrosis hepática, enfermedades autoinmunes en manejo inmunosupresor y trasplante de órgano sólido en donde la mortalidad ha sido de un 80%. Los pacientes en la UCI pueden sufrir cambios estructurales en la vía aérea y en el aclaramiento mucociliar al estar en ventilación mecánica, lo cual favorece la colonización por *Aspergillus spp.* la cual es factor de mortalidad en esta población. (12)

En los pacientes con EPOC se ha encontrado que el humo del cigarrillo y las infecciones pulmonares frecuentes alteran el movimiento ciliar facilitando la adherencia de las conidias del hongo al epitelio de la vía aérea. Las altas dosis de esteroides inhalados son otro factor de riesgo asociado. La AI en este grupo de pacientes se puede presentar como una neumonía

o una exacerbación de la EPOC que no se resuelve con un manejo antibiótico usual. En la fibrobroncoscopia se observan signos de traqueobronquitis con eritema, ulceración y nódulos en el árbol respiratorio. La mortalidad en este grupo de pacientes puede llegar un 95%. La aspergilosis traqueobronquial se presenta en un 8-10% de los casos y se reconocen 2 formas de presentación: a traqueobronquitis pseudomembranosa (más común en neutropénicos) y la forma ulcerosa, frecuente en receptores de trasplante pulmonar. (12)

**Tabla 4:** Incidencia de aspergilosis invasiva en distintos grupos de pacientes clasificados de acuerdo a su condición patológica.

Diagnóstico de base agrupados por condición patológica	Incidencia reportada
<b>Pacientes hemato-oncológicos</b>	
• Aplasia medular	9,8-11,5%
• Leucemia mieloide aguda	7,1-10,5%
• Leucemia linfática aguda	4,3%
• Otros cánceres hematológicos	0,35-2,4%
• Mieloma múltiple	0,2%
<b>Pacientes receptores de trasplante de precursores hematopoyéticos</b>	
• Alogénico	6,3-12%
• Autólogo	0,3-5,3%
<b>Pacientes receptores de trasplante de órgano sólido</b>	
• Trasplante pulmonar	6%
• Trasplante cardiaco	5,2%
• Trasplante intestinal	2,2%
• Trasplante hepático	2%
• Trasplante de páncreas	1,1-2,9%
• Trasplante renal	0,7%
<b>Pacientes aparentemente inmunocompetentes</b>	
• Pacientes críticos con EPOC	0,36%
• Pacientes críticos	0,2%
<b>Pacientes inmunocomprometidos por otras causas</b>	
• Pacientes con infección por VIH	0,02-0,6%
• Pacientes receptores de anti-FNT	0,01%

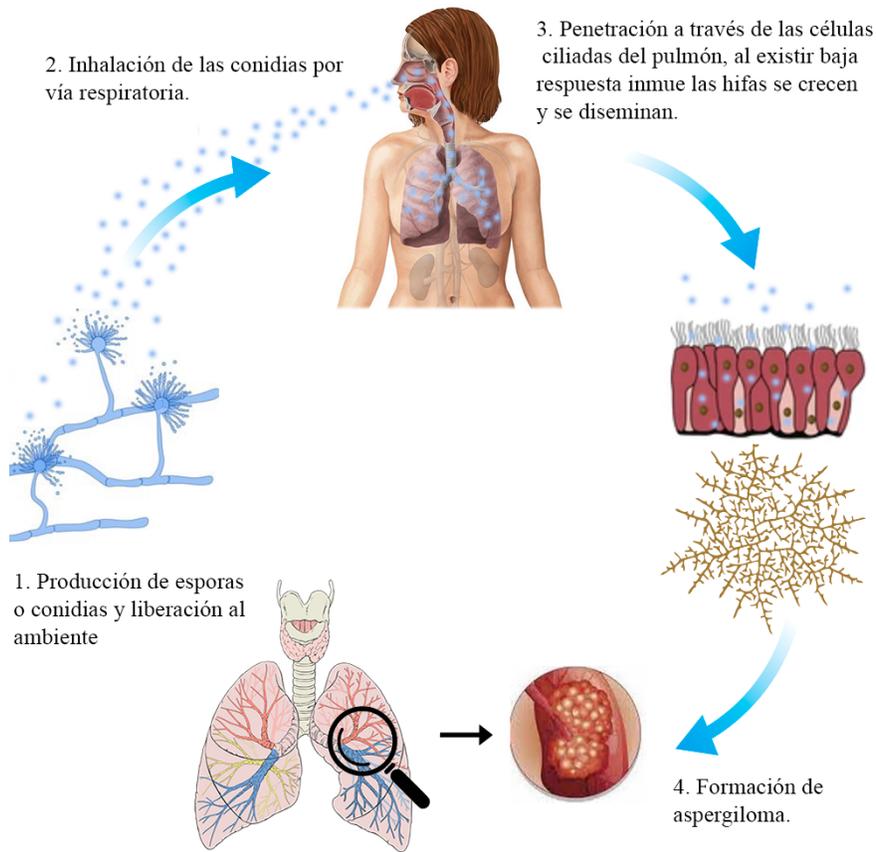
Tomado de Rabagliati, R. 2018. (15)

### 3.3 FISIOPATOLOGÍA

La inhalación de esporas de *Aspergillus spp.* por el ser humano es un hecho frecuente debido a que este es un hongo ubicuo en la naturaleza. En determinados huéspedes, especialmente pacientes inmunodeprimidos, las esporas del hongo consiguen alcanzar el tracto respiratorio inferior y producir una infección invasora. Es por ello que la localización más frecuente de la AI es la pulmonar, aunque existen determinadas situaciones en las cuales la infección por *Aspergillus spp.* puede afectar localizaciones extrapulmonares. (18)

Las vías de entrada de las especies del género *Aspergillus* son el tracto respiratorio, las lesiones cutáneas, las heridas quirúrgicas, la córnea y el oído. Por lo general, la infección se sitúa en la puerta de entrada y puede quedar localizada o diseminarse, bien por contigüidad (p. ej., a la órbita desde los senos paranasales) o bien por invasión vascular produciendo una enfermedad generalizada con afectación de más de un órgano. (19)

Para el desarrollo de la infección a nivel sistémico por *Aspergillus*, los conidios presentes con gran frecuencia en el ambiente, ingresan por medio de la vía respiratoria, esto por medio de la aspiración, provocando una infección en el tracto respiratorio inferior, por medio de la invasión del tejido pulmonar, el cual presenta poca reacción inflamatoria; los conidios se adhieren a la membrana basal pulmonar y germinan hasta formar hifas tabicadas y ramificadas, debido a las alteraciones y/o disminuciones en la respuesta inmune innata (polimorfonucleares). En aquellos pacientes con daño estructural pulmonar, los conidios llegan hasta los alvéolos, donde se da la formación del aspergiloma. Es importante mencionar como la invasión tisular en el paciente, se da a partir de la alteración en el pulmón o los senos paranasales, por la inmunosupresión del huésped y por la invasividad del hongo, llegando a la presentación clínica de una aspergilosis invasiva en diversos órganos tales como piel, sistema nervioso central (SNC), ojos, hígado, riñones, entre otros. (20)



**Figura 3:** Esquema de mecanismo de transmisión de *Aspergillus spp.* en individuos inmunocomprometidos.

Fuente: Elaboración propia Lidl, L. (2021)

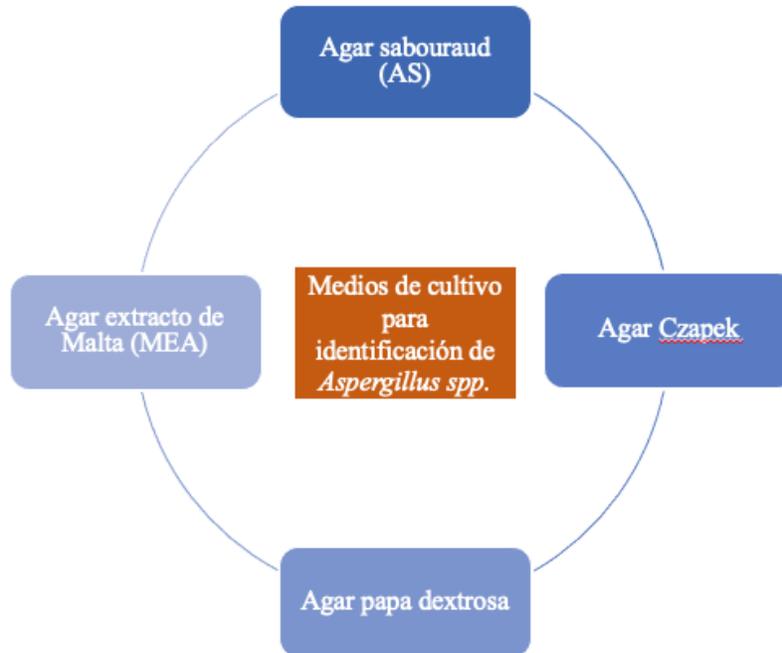
El conidio inhalado es identificado por la inmunidad innata del pulmón que consiste en fagocitos residentes, células epiteliales en la vía aérea y macrófagos alveolares (10). Estos últimos contribuyen a eliminar las conidias y la producción de inflamación secundaria. Las conidias germinan en hifas (son la forma invasiva) y son reconocidas por estas células por los componentes de su pared celular ( $\beta$ -D-glucano). Esto recluta a los neutrófilos y la activación de la inmunidad celular, que se encarga de eliminar las hifas, además de

determinar la extensión de la respuesta inmune, por lo tanto, el riesgo y el tipo de enfermedad es resultado de lo anterior. (10)

#### 4. DIAGNÓSTICO DE ASPERGILOSIS INVASIVA

Para el diagnóstico, se utilizan herramientas clínicas, radiológicas, histológicas y de laboratorio. Dentro de estas últimas se destaca el estudio micológico de distintas muestras clínicas. En ellas, el examen directo en fresco o con una preparación con hidróxido de potasio, en el que se observan hifas hialinas ramificadas y tabicadas; y el cultivo en medios convencionales para hongos, como Sabouraud (Figura 3). (16)

El diagnóstico con microscopia directa y cultivo en agar Sabouraud (AS) tiene una sensibilidad que va desde 11% hasta 80%, dependiendo del tipo de muestra, enfermedad de base y momento del diagnóstico de la infección; sin embargo, no siempre es posible tomar muestras invasoras (lavado broncoalveolar o biopsias) a estos pacientes, debido a las condiciones basales y complicaciones que presentan (21). Sin embargo, el cultivo presenta un alto reporte de resultados falsos negativos, asociados a una baja sensibilidad, causada por el uso de medios con antibióticos, dado que algunas especies de *Aspergillus* se inhiben con la cicloheximida, debido a que estos hongos son contaminantes del ambiente, e incluso de vías respiratorias, piel y conducto auditivo externo (22).



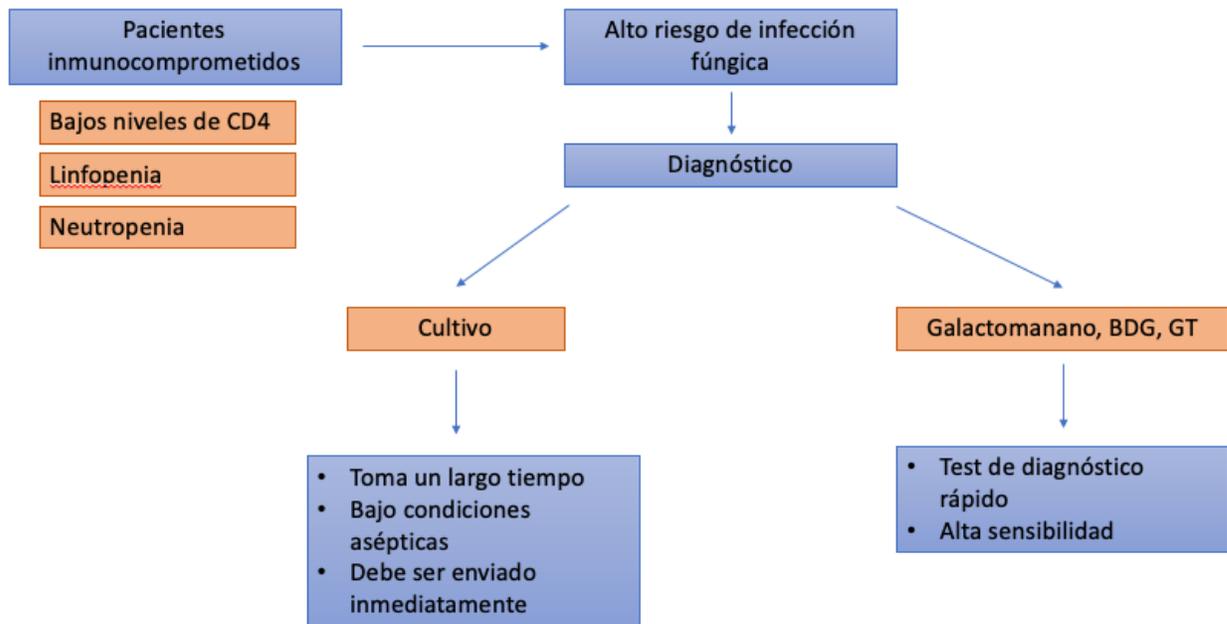
**Figura 4:** Medios de cultivo para detección del género *Aspergillus spp.*

Fuente: Elaboración propia Lidl, L. (2021)

Dentro del diagnóstico no convencional de aspergilosis invasiva se destacan los métodos inmunoenzimáticos tipo ELISA como Galactomanano y las pruebas inmunocromatográficas, algunas fundamentadas en la detección de galactomanano tanto en suero como en lavado broncoalveolar y otras fundamentadas en la búsqueda de antígenos de glicoproteína extracelular, la gliotoxina. El ensayo inmunoenzimático muestra una alta sensibilidad (75 al 94%), respecto al cultivo microbiológico. Sin embargo, se presentan limitaciones en cuanto al tiempo de respuesta y el inicio temprano de la terapia antimicótica, debido a que se requieren grandes cantidades de muestras para ser rentable y su procesamiento en el laboratorio clínico es manejado por lotes una o dos veces por semana. (22)

El diagnóstico de aspergilosis invasiva en clínica se realiza también por medio de la presencia de síntomas respiratorios y nódulos o infiltrados pulmonares observados en las radiografías y tomografías computarizadas, acompañado del apoyo diagnóstico de las

pruebas de laboratorio clínico convencionales y no convencionales. Sin embargo, estas pruebas tienen varias limitaciones en términos de sus características operativas y su tiempo de respuesta, estos aspectos han llevado a un retraso en decisiones de tratamiento inmediatas micóticas junto con un diagnóstico inoportuno, que lleva a un aumento en las tasas de mortalidad anuales. (22)



**Figura 5: Métodos de diagnóstico de aspergilosis invasiva en inmunocomprometidos.** La detección de galactomanano, BDG y GT se postulan como las técnicas más eficientes debido a su alta sensibilidad y rapidez, mientras que el cultivo presenta múltiples desventajas.

Tomado de Susianti, H., 2021. (23)

El diagnóstico de la AI es difícil en la práctica clínica debido a la necesidad de demostrar por histopatología la invasión tisular, a la vez que se descarta colonización o contaminación. La obtención de muestras de tejido requiere procedimientos invasivos que frecuentemente

no pueden realizarse en la población afectada por esta micosis, por ende, en la mayoría de los casos, el diagnóstico depende de la combinación de signos clínicos y radiológicos, así como de estudios micológicos. (14)

#### **4.1 SEROLOGÍA**

Las pruebas de serología se emplean en el diagnóstico de las micosis invasoras más importantes, permitiendo la detección tanto de antígenos antifúngicos como la respuesta de anticuerpos que se produce durante el desarrollo de la micosis. Es de gran utilidad la combinación de técnicas para detectar antígenos y anticuerpos, por ejemplo para el diagnóstico de candidiasis invasora. (24).

El estudio con biomarcadores se ha posicionado como una importante opción no invasora de apoyo diagnóstico y está incluido en los criterios EORTC/MSG. La mayor experiencia publicada es con galactomanano (GM) y en segundo lugar con (1-3)- $\beta$ -d-glucano (BDG). (25)

#### 4.1.1 DETECCIÓN DE GALACTOMANANO (GM)

La elevada mortalidad de la AI puede ser superior al 50%, lo que hace necesario un diagnóstico, lo más rápido posible, ya que el momento de actuación es crítico para la resolución del mismo. La prueba del antígeno galactomanano (AG) complementa las limitaciones microbiológicas en el diagnóstico de estos pacientes. (26)

El galactomanano es un exoantígeno presente en las diversas especies de *Aspergillus*, su liberación al torrente sanguíneo se relaciona con la presencia de una infección tisular en el paciente, así como la proliferación del hongo. De igual forma, se ha descrito al galactomanano como un marcador precoz de angioinvasión fúngica, siendo útil para el inicio de la terapia antifúngica en modo preventivo, incluso en ausencia de manifestaciones clínicas, permitiendo un diagnóstico anticipado de aspergilosis invasiva en un intervalo de 6 a 14 días. (15)

Se han desarrollado a nivel comercial, técnicas de aglutinación de látex, radioinmunoensayo, ELISA – inhibición y ELISA-sandwich, cuyos límites de detección son, respectivamente, 15 ng/ml. , 7 ng/ml., 5 ng/ml y 1 ng/ml.; debido a la altísima sensibilidad del ELISA sándwich, ésta resultó ser la metodología elegida, trabajándose con microplacas sensibilizadas con anticuerpos monoclonales de rata EBA – 2 dirigidos a la fracción (1-5) beta D – galactofuranósido de la cadena del GM. La técnica es relativamente sencilla, sólo requiere un pre tratamiento del suero con EDTA ácido (precipitante), incubación a 100°C y ultracentrifugación 10 minutos a 10.000 RPM; luego se realiza el enzimo inmunoanálisis, demandando un tiempo inferior a las 3 horas para tener el resultado final. La sensibilidad y especificidad general está dentro del 90,5 % y 94,5 %, respectivamente (24). Su detección mediante ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) está validada para pacientes oncohematológicos y pre trasplante de progenitores hematopoyéticos que tengan una alta sospecha clínica de AI. (27)

También puede resultar positivo en infecciones por *Fusarium* spp. y muy raramente en otras IFI como histoplasmosis, blastomicosis y peniciliosis. No está estandarizado su uso aún en otras muestras clínicas como LCR, líquido pleural, u otros. Sin embargo, existe experiencia reportada que ha determinado GM en LCR de pacientes con compromiso cerebral por *Aspergillus* spp. obteniendo sensibilidad de 88,2% y especificidad de 96,3%. (25)

El resultado de GM se expresa como un índice de densidad óptica; un valor en suero  $\geq 0,5$  se considera positivo con sensibilidad hasta 97,4% y especificidad de 90,5% en pacientes neutropénicos y receptores de TPH alogénico. En otros grupos de pacientes como receptores de TOS u otras condiciones, la sensibilidad disminuye, lo que parece estar en relación a la diferente capacidad de angioinvasión fúngica que se produce en estos pacientes respecto a los hematológicos. En relación al uso de GM en LBA la mayoría de los autores coincide que se debe considerar positivo un valor  $\geq 1$ , con sensibilidad de 91,3% y valor predictor positivo y negativo de 76 y 96%, respectivamente; si valores inferiores puedan catalogarse de positivos a favor de infección invasora es materia de discusión. (25)

Como limitación, es un método que pese a ser uniformemente específico en varios estudios, su sensibilidad varía mucho de unos a otros, lo que pone en duda su rentabilidad en la clínica para la detección de la enfermedad; en cambio resulta útil en el seguimiento de un paciente puesto que su concentración en suero se correlaciona con la carga fúngica. El galactomanano requiere unos días de progresión de la enfermedad para dar niveles positivos en suero, y por su propia naturaleza y origen, se puede deducir que en pacientes cuyo sistema inmune no sea capaz de destruir al hongo, los niveles podrían ser falsamente bajos. Otro problema que hallamos para su uso generalizado es que presenta reactividad cruzada en el caso de haber otra infección por hongos filamentosos (*Paecylomices* spp, *Penicillium* spp, *Alternaria* spp, *Cryptococcus* spp) o un tratamiento reciente con betalactámicos (particularmente amoxicilina-clavulánico y piperacilina-tazobactam). Presenta también



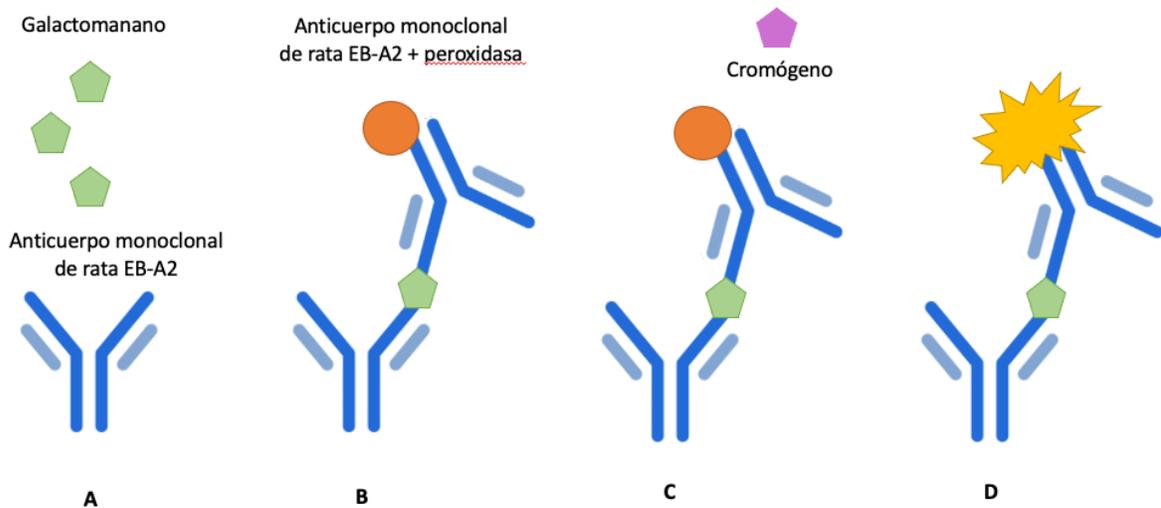
#### **4.1.1.1 PLATELIA ASPERGILUS**

En estos últimos años se ha estudiado el diagnóstico (con independencia del cultivo) de la aspergilosis invasora mediante una técnica tipo ELISA que detecta galactomanano, desarrollada por Bio-Rad (Platelia<sup>®</sup>*Aspergillus*, Marnes la Coquette, Francia) (28). Estos estudios se han llevado a cabo en pacientes neutropénicos y cancerosos, principalmente, con alto riesgo de padecer aspergilosis invasora. (29)

La prueba Platelia es una prueba de Elisa que ha sido desarrollada para la detección de galactomanano (GM), el mayor constituyente de la pared del *Aspergillus*, en muestras de suero y lavado broncoalveolar. Se ha utilizado como criterio para el diagnóstico de la AI probable, según las categorías definidas por el consenso Eortc/MSG y de forma seriada para detectar tempranamente la micosis invasiva, incluso antes de que aparezcan los signos y síntomas o las alteraciones radiológicas (30). Es una prueba que, cuando se utiliza junto con otros procedimientos de diagnóstico como cultivo microbiológico, análisis histológico de muestras de biopsia y evidencia radiográfica puede usarse como ayuda en el diagnóstico de la aspergilosis invasiva. (14)

Es una prueba inmunoenzimática tipo sandwich en microplaca de un paso, utiliza anticuerpos monoclonales de rata EBA-2 dirigidos contra el galactomano del *Aspergillus* y ha sido caracterizado en estudios anteriores. Los anticuerpos monoclonales se utilizan: (1) para recubrir los pocillos de las microplacas y unir el antígeno, y (2) para detectar el antígeno unido a la microplaca sensibilizada (reactivo conjugado: anticuerpos monoclonales ligados a peroxidasa). Las muestras de suero o de líquido LBA se tratan con calor en presencia de ETA para desintegrar los complejos inmunes y precipitar proteínas que posiblemente podrían interferir con la prueba. Las muestras tratadas y los conjugados se añaden a los pocillos recubiertos con anticuerpos monoclonales y se incuban. En presencia del antígeno de galactomano se forma un complejo anticuerpo monoclonal - galactomano - anticuerpo

monoclonal / peroxidasa. Las tiras se lavan para eliminar el material que no se haya unido. A continuación, se añade la Cromógeno solución TMB, que reaccionará con los complejos unidos al pocillo para formar una reacción de color azul. La reacción de la enzima se interrumpe mediante la adición de ácido, que cambia el color azul a amarillo. Se determina la absorbancia (densidad óptica) de las muestras y los controles con un espectrofotómetro calibrado a longitudes de onda de 450 y 620/630 nm. (14)



**Figura 7: Detección de galactomanano mediante Platelia Aspergillus.** Para detectar el antígeno unido a la microplaca sensibilizada (reactivo conjugado: anticuerpos monoclonales ligados a peroxidasa), se forma un complejo de anticuerpo monoclonal-galactomanano-anticuerpo monoclonal peroxidasa. Se agrega solución de cromógeno TMB, que reaccionará con los complejos unidos al pocillo para formar una reacción de color azul. (31)

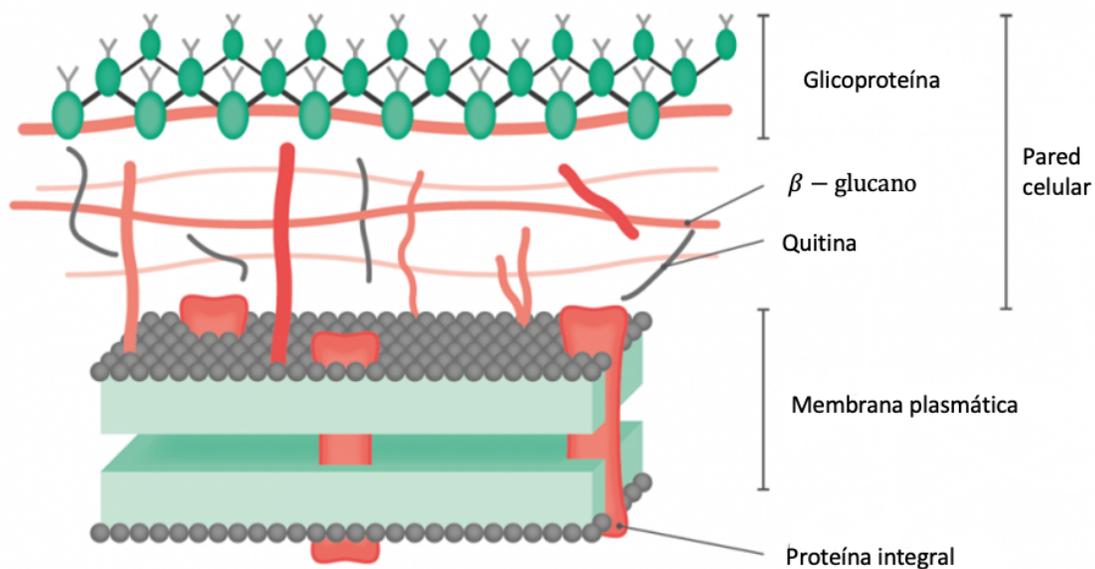
Fuente: Elaboración propia Lidl, L. (2022)

La detección de galactomanano mediante este ELISA tiene, según diversas publicaciones, una alta especificidad y una sensibilidad que oscila entre el 50% y el 90%. Sin embargo, un reciente estudio sugiere que la sensibilidad podría ser menor por la presencia de anticuerpos anti-*Aspergillus*. Por otro lado, existen actualmente diversas opiniones sobre el punto de corte (*cut-off*) óptimo. (29)

La determinación del antígeno de galactomanano en muestras de suero y líquido de lavado broncoalveolar (LBA) se realiza cuando hay sospecha de aspergilosis invasiva sin evidencia de lesión en los órganos en pacientes con factores de riesgo tales como: inmunosupresión severa, trasplante de órganos sólidos, tratamiento prolongado con corticoides, así como una neutropenia febril ( $<500$  neutrófilos/mm<sup>3</sup>). La detección precoz de galactomanano permitiría anticipar el diagnóstico de aspergilosis invasiva en un intervalo de 6 a 14 días, antes incluso que el paciente presente manifestaciones clínicas de la enfermedad, permitiendo el diagnóstico adecuado y el inicio temprano de la terapia antimicótica como factores clave en el tratamiento exitoso de aspergilosis invasiva y la reducción de las tasas de mortalidad. (31)

#### 4.1.2 DETECCIÓN DE (1-3)- $\beta$ -D-GLUCANO (BDG)

(1-3)- $\beta$ -D-glucano es un componente de la pared de casi todas las especies de hongos, excepto los Zygomycetos (mucorales), y en escasa cuantía en *Cryptococcus spp.* Desde dentro hacia afuera, en la pared de las células de los hongos por fuera de la membrana citoplasmática, se encuentra una capa de quitina (polisacárido de B(1-4)-acetilglucosamina), luego capas de B(1-3)-glucano junto con galactomananos (B(1-4)-manano con uniones b(1-6)-galactosa), en el caso de *Aspergillus* y otros hongos. (35)



**Figura 8:** Estructura esquemática de la pared celular de hongos.

Tomado y modificado de Fujifilm, 2017. (19)

Por existir los (1-3)- $\beta$ -D-glucanos, como componente principal en la pared fúngica, se ha visto como un componente principal para detectar las infecciones fúngicas invasivas por varias especies de hongos. (35)

Las pruebas diseñadas para su cuantificación (Fungitell; Glucatell, etc) están basadas en la activación del sistema de la coagulación de algunas especies de crustáceos, como *Limulus polyphemus* o *Tachypleus tridentatus*. En este caso, los BDG interaccionan con el factor G presente en el lisado de los amebocitos, provocando la transformación del coagulígeno en coagulina (coagulación). (35)

La prueba G contiene una cascada de coagulación de cangrejo que es extremadamente sensible y específica para el (1-3)- $\beta$ -D-glucano y un sustrato cromogénico, Boc-Leu-Gly-Arg-p-nitroanilida. El factor G es activado por el (1-3)- $\beta$ -D-glucano, lo que conduce a la activación de la enzima proclotadora. El sustrato cromogénico es escindido por la enzima de coagulación activada; a esto le sigue la liberación de p-nitroanilida (31). Los eventos de activación resultan en la formación de coágulos cuando el coagulígeno es escindido a coagulina por la enzima de coagulación. La introducción de un sustrato péptido cromogénico permite la cuantificación espectrofotométrica de la enzima proclotante activada. (36)

El ensayo Fungitell es altamente sensible, permite detectar rápidamente (1-3)- $\beta$ -D-Glucano el cual es un componente en la pared celular de muchos hongos clínicamente importantes incluyendo *Cándida* y *Aspergillus*. El ensayo permite detectar picogramas de (1-3)- $\beta$ -D-glucanos en suero sirviendo así de ayuda diagnóstica para identificar infecciones fúngicas tempranas. (1-3)- $\beta$ -D-glucano, se encuentra normalmente a bajos niveles en la sangre de pacientes saludables. Valores de (1-3)- $\beta$ -D-glucano en suero por encima de 80 pg/mL, en pacientes en riesgo, se correlacionan con infecciones fúngicas invasivas. Análisis de muestras seriadas, de pacientes en riesgo, han demostrado alta sensibilidad para la detección de la infección fúngica, así como un alto valor predictivo negativo. (37)

La sensibilidad de esta prueba se considera que está entre el 65 y 70%, según que el punto de corte para la cuantificación de (1-3)- $\beta$ -D-glucano sea de 80 y 60 pg/ml. La

especificidad del 92 y 82% para ambos puntos de corte, respectivamente. El valor predictivo positivo sería para ambos puntos de corte del 89 y 83%, y el valor predictivo negativo del 73 y 75%. La ausencia de (1-3)- $\beta$ -D-glucano posee un valor predictivo negativo del 100%. (35)

**Tabla 5:** Sensibilidad y especificidad de la detección de glucano en diferentes grupos de pacientes con AI.

Grupo de pacientes	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Enfermedad hematológica	88	85
Neutropenia, sospecha AI, EICH, esteroides	55	95
Neutropenia (Cut off 120 pg/ml)	88	90

Tomado y modificado de Yang, R., 2014. (38)

El antígeno (1-3)- $\beta$ -D-glucano es muy parecido al galactomanano, con un origen similar, por lo que sirve igualmente como marcador panfúngico de infección. Presenta ventajas respecto al galactomanano puesto que la bibliografía refiere sensibilidades mayores en el primero, con una especificidad muy similar (especificidad 85% - 100%, sensibilidad >60%). Sin embargo, pese a esta ventaja teórica y estar recomendado para todos los grupos de pacientes es menos utilizado, ya que hay menos experiencia con el  $\beta$ -D-glucano que con el antígeno galactomanano, salvo en centros hospitalarios de alto nivel. En su caso, existen falsos negativos en pacientes con un tratamiento reciente con azitromicina o pentamidina. (27)

Dado que *A. fumigatus* libera (1-3)- $\beta$ -D-glucano en los fluidos de cultivo paralelamente al crecimiento del hongo y que la forma invasiva del mismo invade directamente el parénquima pulmonar y la vasculatura, se deduce que tanto el galactomanano como el (1-3)- $\beta$ -D-glucano deberían liberarse también en el torrente sanguíneo. De hecho, se han detectado

concentraciones elevadas de (1-3)- $\beta$ -D-glucano en ratas con aspergilosis inducida experimentalmente, y estaban presentes en tres de los tres pacientes diagnosticados de aspergilosis invasiva. (36)

Cuando se compara con la prueba de antigenemia de GM, la sensibilidad fue del 55% en la prueba de BDG frente al 100% de la EIA de inmunoensayo enzimático de GM. Pocos estudios han informado sobre la prueba BDG en la población pediátrica. Se han establecido varios ensayos de PCR para detectar el ADN de *Aspergillus*, pero se han realizado pocos estudios sobre las herramientas moleculares para el diagnóstico de la AI en niños. (39)

También puede resultar positivo en casos de infección por *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Pneumocystis* entre otros, por lo que no es específico y presenta frecuentemente falsos positivos por lo que su interpretación debe ser cautelosa. También puede medirse en LBA; sin embargo, se dispone de menos experiencia al respecto. (25)

**Tabla 6:** Ventajas y desventajas de las distintas técnicas serológicas utilizadas en el diagnóstico de aspergilosis invasiva.

Técnica	Ventajas	Desventajas
Gliotoxina	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Permite la detección de la enfermedad en un estadio más precoz.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• No permite el diagnóstico en pacientes con neutropenia (solo inmunodeprimidos no neutropénicos).</li> </ul>
Galactomanano	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Marcador de referencia bien documentado para la infección por aspergillus.</li> <li>• Buena especificidad y sensibilidad.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reacción cruzada con la familia <i>Penicillium</i> y otras sustancias que contienen Manano.</li> </ul>
(1-3)-β-D- glucano (BDG)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alta sensibilidad y NPV (valor actual neto).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Biomarcador de hongos general y no específico de <i>Aspergillus</i>, falta de especificidad, laborioso, alto precio.</li> <li>• Detección se realiza por métodos químicos y no inmunológicos.</li> </ul>

Fuente: Elaboración propia propia Lidl, L. (2021)

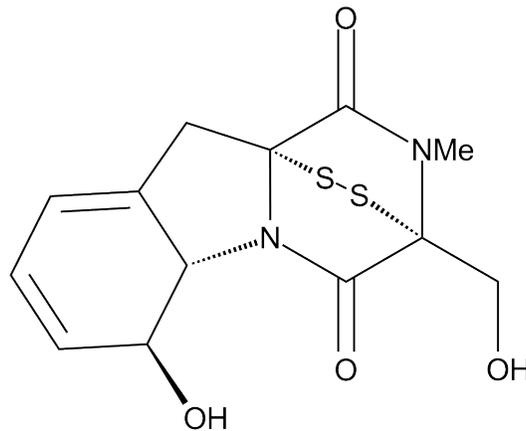
## 4.2 DETECCIÓN DE GLIOTOXINA

La gliotoxina es una micotoxina producida por algunos hongos filamentosos, aislada por primera vez en hongos del género *Gliocadium* y producida por patógenos humanos como *Aspergillus fumigatus*. Como ventaja teórica frente a los antígenos galactomanano y (1-3)- $\beta$ -D-glucano, destaca que se libera al medio conforme crecen las hifas, poco después de la apertura de la espora, lo que facilitaría la detección de la enfermedad en estadios más precoces. Se establece que *A. fumigatus* es con diferencia el mayor productor seguido de *A. terreus*, *A. niger* y por último *A. flavus*, aunque las frecuencias detectadas en cada uno de los estudios difieren. (40)

Estructuralmente es una epipolítiodioxopiperacina (ETP), familia de moléculas cicladas relativamente sencillas con un puente disulfuro interno responsable de sus propiedades reactivas. Se trata de un dipéptido que muestra tres anillos con insaturaciones y dos átomos de nitrógeno intraanulares. Su fórmula química es  $C_{13}H_{14}N_2O_4S_2$ , con un peso molecular de 326.325 g/mol. Su síntesis utiliza como sustrato una serina y una fenilalanina, comenzando mediante una péptido-sintasa no ribosomal (NRPS) que las une (figura 10). (40)

En concreto, GT induce la apoptosis, impide la activación de NF- $\kappa$ B por inhibición del proteasoma e inhibe la angiogénesis, por mencionar sólo algunos de sus efectos sobre las células del huésped. (41)

**Figura 9:** Estructura química de la gliotoxina.



Tomado de Pahl, H., 1996. (28)

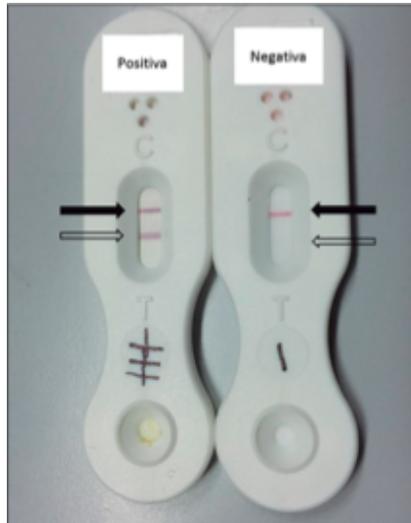
Las características tóxicas e inmunosupresoras de GT hacia las células efectoras inmunitarias del hospedador implican un papel sustancial de este compuesto en la patogenicidad fúngica. En consecuencia, se demostró que el GT se produce durante el proceso de infección y se detectó en los pulmones y en el suero de ratones y también de humanos infectados con *A. fumigatus*. En estudios anteriores se afirmaba que los aislados ambientales de *A. fumigatus* rara vez producen GT, en contraste con los aislados clínicos. Sin embargo, recientemente se ha demostrado que la gran mayoría (>96%) de los aislados ambientales y clínicos son capaces de producir GT. (41)

La gliotoxina es un factor importante que contribuye a la virulencia de *A. fumigatus* en el modelo de ratón (42). Sin embargo, su importancia patobiológica sólo se ha demostrado en ratones no neutropénicos, lo que sugiere que la gliotoxina desempeña un papel importante en la patogénesis de la aspergilosis en pacientes inmunodeprimidos, pero no neutropénicos. (43)

#### 4.2.1 INMUNOCROMATOGRAFÍA (LATERAL FLOW DEVICE)

Durante el año 2008 se describió el desarrollo de una inmunocromatografía específica para la detección de antígenos liberados durante el crecimiento activo de *Aspergillus* conocido como *Aspergillus lateral flow device* (LFD) mediante el uso de un anticuerpo monoclonal Mab JF5 del tipo IgG, específico para una glicoproteína de 40 kDa secretada durante el crecimiento activo de *Aspergillus*. (15)

El test **LFD para *Aspergillus* de OLM Diagnostics** utiliza un anticuerpo monoclonal conjugado con bolitas de nitrocelulosa (NCB) para detectar el antígeno de *Aspergillus* (52). El conjugado de anticuerpos NCB se une específicamente al antígeno de *Aspergillus* en la muestra del paciente para formar un complejo. Este complejo migra a lo largo de la tira hasta que es capturado y concentrado en la zona de test (T) donde se ha unido el mismo anticuerpo. Esto causa que se genere una línea roja en la tira. Si las concentraciones de antígeno están por debajo de los niveles detectables, no aparecerá ninguna línea roja. El conjugado NCB que no se haya capturado continua fluyendo hacia el final de la tira donde se une en la zona de control (C). Si se forma una línea roja en la zona C, esto indica que el test se ha realizado correctamente (32). Este test puede realizarse en muestras de suero o LBA y su lectura se efectúa a los 5 min. (15)



**Figura 10: Test LFD para galactomano.** Lectura de resultado de LFD de dos muestras distintas, se pueden apreciar hasta dos bandas, la banda de control (identificado con flecha sólida negra) y luego una segunda banda (identificado con flecha sin relleno), cualquier intensidad se debe interpretar positiva. En la imagen, a izquierda resultado positivo y a derecha resultado negativo (ausencia de banda). (33)

Tomado de Delama, I., 2018. (33)

De forma global presenta sensibilidad y especificidad del 73,1 % y 50 %, respectivamente, siendo superiores en este último tipo de muestra. Entre las principales ventajas figuran requerir capacitación mínima de personal de laboratorio, el manejo simple mediante el uso de muestras de LBA sin ningún tratamiento previo, la disponibilidad rápida de los resultados y los bajos costos (44). En un estudio en que se evaluaron 529 muestras de sueros, se comunicó que *Aspergillus-LFD* presentó una especificidad de 98%, similar a la RPC (96,6%) y levemente superior a GM-EIA (91,5%). En cuanto a la sensibilidad, *Aspergillus-LFD* presentó un 81,8%; siendo inferior que la RPC (95,5%), pero mejor que GM-EIA (77,3%). (34)

**Tabla 7:** LFD comparado con GM-EIA Platelia de Bio-Rad y PCR en tiempo real.

Ensayo	Sensibilidad	Especificidad	VPN
LFD	81.82% (61.5-92.7)*	84.75% (73.5-91.8)*	92.59% (82.5-97.1)*
PCR	95.45% (78.2-99.2)*	72.88% (60.4-82.6)*	97.73% (88.2-99.6)*
GM-EIA	77.27% (56.6-89.9)*	81.36% (69.6-89.3)*	90.60% (79.8-95.9)*

Tomado de Álvarez, E., 2015. (34)

Las técnicas rápidas y de bajo costo representan una ayuda real en el diagnóstico de EFI. Así, la inmunocromatografía conocida como LFD ha demostrado un buen rendimiento en el diagnóstico de criptococosis, y ahora, en el diagnóstico de AI. En este sentido, al realizar un análisis de los costos aproximados comparando *Aspergillus*-LFD y GM-EIA, el primero aventaja con creces al antiguo inmunoensayo enzimático en cuanto a tiempo de trabajo, equipamiento necesario y costos asociados; siendo éstos de casi un tercio (Tabla 6). Asimismo, *Aspergillus*-LFD es una técnica fácil y rápida, pudiendo ser realizada por personal de laboratorio sin entrenamiento específico. La duración del método es de sólo 20 min, contrastando con los 240 min necesarios para GM-EIA. Otro factor a destacar, es el bajo costo del nuevo LFD, representando casi un tercio del valor de una determinación de GM. Además, requiere una escasa implementación de equipos. Dado lo anteriormente expuesto, *Aspergillus*-LFD se perfila como la prueba de diagnóstico de AI de rutina para cualquier laboratorio de nuestro país, no siendo necesario invertir en entrenamiento de personal, equipos ni tiempo de trabajo. (34)

**Tabla 8:** Comparación del costo y material necesarios para los kit *Aspergillus-LFD* y GM-EIA

	<b>Aspergillus-LFD</b>	<b>GM-EIA</b>
Material requerido	+ (pipeta, centrífuga)	+++ (pipeta, centrífuga, baño maría, lector placas, etc.)
Costo	+ \$15.000 por test <u>aprox.</u>	++ \$25.000 - \$45.000 por test <u>aprox.</u>
Tiempo de trabajo	+ 20 minutos <u>aprox.</u>	+++ 4 horas <u>aprox.</u>

Tomado de Álvarez, E., 2015. (34)

## **4.4 BIOLOGÍA MOLECULAR**

La biología molecular abre una nueva posibilidad para establecer el diagnóstico de la aspergilosis invasora. Sin embargo, las técnicas desarrolladas hasta el momento están poco estandarizadas y son de realización compleja, por lo que actualmente su utilización sigue sin ser habitual en los hospitales terciarios. Aunque todavía se dispone de pocos datos sobre la aplicación de la PCR al diagnóstico de la aspergilosis invasora, debe resaltarse que en una reciente publicación la detección de galactomanano de *Aspergillus* fue más sensible que la PCR en tiempo real para el diagnóstico de la aspergilosis invasora. (29)

### **4.4.1 ESPECTROMETRÍA DE MASAS MALDITOF**

La introducción de la espectrometría de masas (EM) matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight (MALDI-TOF) ha sido, con toda probabilidad, el cambio tecnológico de mayor calado acaecido en la Microbiología Clínica en la última década. En pocos años ha pasado de ser una prometedora novedad, a ser una tecnología totalmente integrada en la actividad clínica diaria y disponible, en nuestro país, en los Servicios de Microbiología de numerosos centros hospitalarios. Para ello ha sido necesario que los espectrómetros de masas sufrieran una importante evolución tecnológica (38). Algunos estudios han demostrado que la técnica de MALDI- TOF MS puede ser utilizada para la identificación rutinaria de mohos clínicamente relevantes. Su implementación en el diagnóstico se ha retrasado debido a las dificultades para estandarizar un método de extracción de proteínas eficiente, así como a las limitaciones en las bases de datos disponibles. (45)

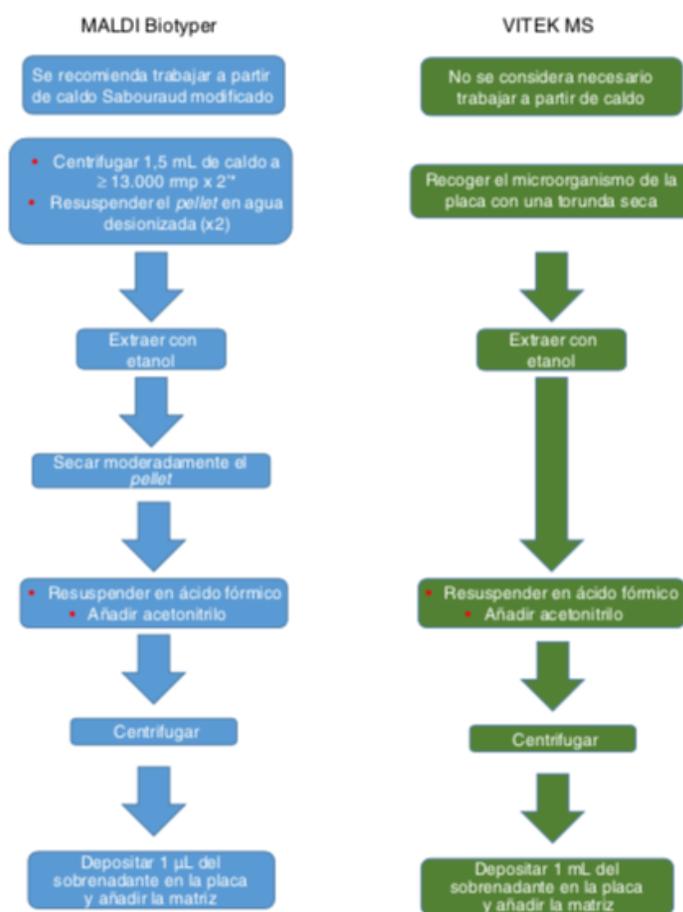
La identificación de los microorganismos por MALDI-TOF MS se basa en que las huellas digitales espectrales varían entre los microorganismos, algunos picos son específicos del género, otros de la especie y otros, a veces, de las subespecies. Aunque la reproducibilidad

de los espectros depende de las condiciones de cultivo de los microorganismos. Una vez generado, el perfil espectral del microorganismo de prueba es comparado automáticamente mediante un programa informático con una base de datos de espectros que es construida a partir de cepas de referencia, permitiendo la identificación del microorganismo. (45)

Un problema que plantean los hongos filamentosos es la existencia de diferencias significativas en los perfiles proteicos obtenidos en función de la antigüedad de los cultivos, e incluso entre diferentes subcultivos de la misma cepa. La solución a esto pasa por la elaboración de bases de datos más amplias y complejas, que incorporen perfiles de un mayor número de cepas y de cultivos de diferente antigüedad. Un estudio realizado en 2011 demuestra que una base de datos bien elaborada y suficientemente compleja es fundamental, y que puede mejorar la identificación de los hongos filamentosos hasta cifras similares a las obtenidas con bacterias y levaduras. Desafortunadamente, la elaboración y la validación de estas bases de datos son complejas y no están al alcance de muchos usuarios, y pocas de las desarrolladas están disponibles. Por ello, y también a efectos de estandarización, es probablemente más adecuado el uso de las bases de datos de los fabricantes, que deben ser convenientemente ampliadas. (35)

Un espectrómetro de masas se compone de tres unidades funcionales, una fuente de ionizante para transferir iones a las moléculas de la muestra en una fase gaseosa, un analizador de masas que separa los iones de acuerdo con su relación masa/carga y un dispositivo de detección para monitorizar los iones separados. (45) Los sistemas comerciales más empleados en la actualidad que usan la tecnología MALDI-TOF MS para identificación de microorganismos son el sistema VITEK<sup>®</sup>MS (bioMérieux, Durham, NC) y el sistema MALDI Biotyper<sup>®</sup> (Bruker Daltonics Inc., Billerica, MA). Un estudio más reciente realizado en 1341 aislamientos clínicos, incluyendo 160 de hongos, demostró una identificación precisa a nivel de especie del 97,17% y 96,79% del VITEK<sup>®</sup>MS y Microflex LT (Bruker Diagnostics Inc.), respectivamente. (45)

MS-VITEK, en su versión 3.0, incluye 32 géneros y 81 especies, y SARAMIS en su versión RUO 4.13, incluye una base de datos más amplia, con 45 géneros y 168 especies. A pesar de todo, un estudio reciente usando la metodología recomendada por Bruker identifica correctamente, a nivel de especie, solo el 72% de los aislados, y un estudio muy reciente con VITEK 3.0 identifica correctamente el 66,8% de 318 aislados, debido sobre todo a carencias de la base de datos. Por tanto hoy por hoy, la identificación de hongos filamentosos mediante EM MALDI-TOF no puede sustituir todavía completamente a la metodología de identificación convencional. (35)



**Figura 11:** Procesamiento de hongos recomendado para los sistemas MALDI Biotyper y VITEK MS.

Tomado de Siller-Ruiz, M., 2017. (35)

La primera base de datos comercial de mohos para el Bruker MALDI Biotyper, la Filamentous Fungi Library 1.0 (Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Alemania), consta de 89 entradas correspondientes a 18 especies diferentes del género *Aspergillus*: 11 especies no criptográficas (*A. candidus*, *A. clavatus*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. glaucus*, *A. nidulans*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. terreus*, *A. ustus* y *A. versicolor*) y siete especies crípticas (*A. amstelodami*, *A. nomius*, *A. oryzae*, *A. parasiticus*, *A. sclerotiorum*, *A. tamarisii* y *A. unguis*). Se trata de una pequeña representación de especies teniendo en cuenta que ya se han descrito más de 300. Algunos autores han intentado utilizar esta base de datos comercial para la identificación de *Aspergillus* spp. pero con resultados insatisfactorios debido al bajo número de especies y cepas introducidas. (46)

La EM MALDI-TOF tiene ventajas evidentes:

- Con independencia de la posibilidad de identificar microorganismos directamente a partir de algunas muestras, que se trata en otro apartado, crecimientos en placa incluso muy escasos o precoces permiten obtener una identificación fiable en un corto periodo de tiempo, ahorrando así, como mínimo, esas 16-18 horas de crecimiento en los sistemas bioquímicos de identificación. (45)
- El análisis del perfil proteico del microorganismo en el espectro de los 2-20 kD, que es donde se sitúan la mayor parte de las proteínas ribosómicas, ofrece para la gran mayoría de las especies bacterianas un perfil específico, que permite diferenciarlas del resto con una fiabilidad similar a la ofrecida por la secuenciación del ARNr 16S. (45)

No todas las muestras son válidas para este tipo de estudio. La muestra ideal es aquella que proceda de un área habitualmente estéril, que pueda albergar altas concentraciones de microorganismo y en la que no haya limitaciones significativas en cuanto al volumen de muestra. Las muestras procedentes de áreas habitualmente colonizadas (piel, heces, aparato

respiratorio alto, etc.) van a generar con toda probabilidad perfiles aberrantes. Una cuestión técnica a tener en cuenta cuando se trabaja directamente sobre muestra es el volumen de muestra disponible, que en casos como orina o hemocultivos no suele ser un problema, pero en otros con líquido cefalorraquídeo sí puede serlo, y que será tanto más importante cuanto menor sea la concentración bacteriana. Además, muestras con alto contenido proteico de origen ajeno al micro-organismo también pueden generar problemas a la hora de su interpretación. (47)

### 4.3 IMAGENOLÓGÍA

Otro de los pilares claves en el diagnóstico es la adecuada interpretación de las imágenes, en particular el uso de tomografía computarizada para AI en pacientes neutropénicos. La imagen de nódulos rodeados de halo que representan la hemorragia secundaria a la angioinvasión característica del hongo sugiere fuertemente el diagnóstico en un paciente con factores de riesgo. En pacientes neutropénicos se ha descrito que las imágenes nodulares aumentan de tamaño, hasta cuatro veces durante los primeros siete días de evolución, transformándose en imágenes cavitadas, descritas como *creciente aéreo*, entre el día 7 y 14 de evolución. Es necesario considerar que los nódulos no son patognomónicos de AI; de hecho, otras infecciones fúngicas, bacterianas o cuadros no infecciosos pueden manifestarse de manera similar. (25)

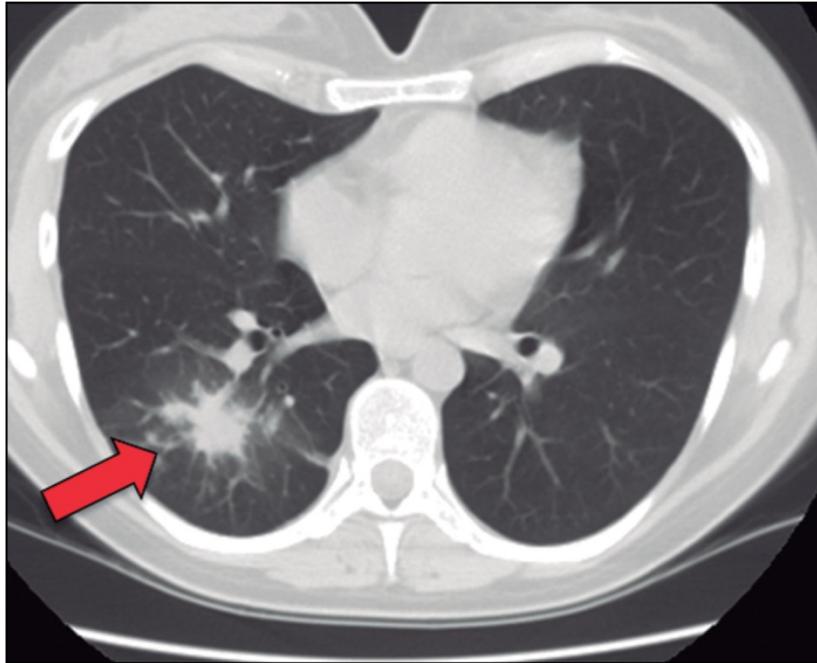
Más recientemente se ha reconocido que existen imágenes que son más precoces que el nódulo con halo y representan el compromiso pulmonar temprano, permitiendo identificar una fase bronquial de AI que puede visualizarse como bronquiectasias, árbol en brote o vidrio esmerilado. En pacientes no neutropénicos, no se deben esperar la clásica imagen de nódulo con signo de halo; de hecho, en un estudio de Taccone y cols., en pacientes críticos o con EPOC, sólo 30% de los casos tenían imágenes tomográficas clásicas de AI. En pacientes neutropénicos se ha sugerido la utilidad de complementar las imágenes con contraste en fase venosa para poder visualizar el componente de infarto pulmonar en el nódulo, lo que permite diferenciar de consolidaciones nodulares de otras etiologías. Otro aporte de las imágenes es el uso de la tomografía con emisión de positrones (Positron Emission Tomography Computed Tomography PET-CT por sus siglas en inglés), con particular utilidad en la determinación de actividad inflamatoria en el foco de AI, que podría ser de utilidad como información adicional para definir plazos de terapia en casos individuales. (25)



**Figura 12: Radiografía de tórax en individuo con aspergilosis invasiva.** Al ingreso se observa cardiomegalia y congestión pulmonar. (44)

Tomado de Pinto, M., 2012. (44)

También se utilizan con frecuencia pruebas de imagen para apoyar el diagnóstico clínico. Se da uso a técnicas que van desde la radiología convencional hasta técnicas más novedosas como la tomografía por emisión de positrones (PET) o la tomografía computarizada de alta resolución. Sin embargo, pese a lo frecuente de su uso no existe ningún hallazgo patognomónico que nos pueda llevar a dar un diagnóstico definitivo solo mediante técnicas de imagen. (27)



**Figura 13: TAC de tórax en paciente con aspergilosis invasiva.** Se muestra nódulo con halo en un paciente con neutropenia profunda y fiebre, altamente sugerente de aspergilosis invasora. (15)

Tomado de Rabagliati, R. 2018. (15)

Al inicio las radiografías pueden ser normales hasta en 10 a 15% de los casos, no hay imágenes específicas, se producen lesiones nodulares tempranas, periféricas, únicas o múltiples, que progresan hacia consolidación difusa bilateral y pueden cavitarse. En las tomografías computarizadas, también se puede presentar el signo del halo (espacio de aire de aproximadamente 2 a 3 mm), que es muy sugestivo de la enfermedad; este halo no es más que una zona de edema y hemorragia. La radiografía de tórax no es específica, pero la tomografía computarizada (TC) puede mostrar lesiones focales características, es por ello que se recomienda realizar una tomografía computarizada (TC) de tórax siempre que haya sospecha clínica de aspergilosis invasiva, independientemente de los resultados de la radiografía de tórax. De igual forma, se sugiere realizar una tomografía computarizada (TC) para evaluar la respuesta de aspergilosis pulmonar invasiva al tratamiento después de un de tórax de seguimiento mínimo de 2 semanas de haber iniciado este. Cuando un nódulo está

cerca de un vaso grande, puede ser necesaria una monitorización más frecuente. La TC de tórax realizada poco después del inicio de la fiebre ayuda a identificar la causa de la fiebre, puede ser informativa antes de que *Aspergillus* GM sea positivo y se ha asociado con una mayor supervivencia en pacientes neutropénicos febriles que han recibido quimioterapia intensiva por una neoplasia maligna hematológica. (34)

## 5. TRATAMIENTO

El aumento de las infecciones nosocomiales fúngicas invasoras en la última década en Europa y EE.UU. hace necesario la existencia de un amplio arsenal antifúngico que permita el tratamiento de estas micosis. Sin embargo, en el momento actual las opciones terapéuticas contra las micosis invasoras son limitadas ya que existen pocas familias de antifúngicos y se han identificado escasas dianas fúngicas de utilidad para el desarrollo de nuevos fármacos antifúngicos. Los antifúngicos más utilizados en clínica (polienos y azoles) actúan sobre el ergosterol de la membrana plasmática de los hongos, ejerciendo un efecto fungicida (polienos) o fungistático (azoles y triazoles). La familia más reciente de fármacos antifúngicos comercializados son las equinocandinas, lipopéptidos que inhiben la formación de (1-3)- $\beta$ -D-glucano, un componente muy importante en el mantenimiento de la estructura de la pared celular fúngica. El primero de los componentes de esta familia que recibió la aprobación de la FDA en 2002 fue la caspofungina, seguido en 2005 por la micafungina y en 2006 por la anidulafungina. (47)

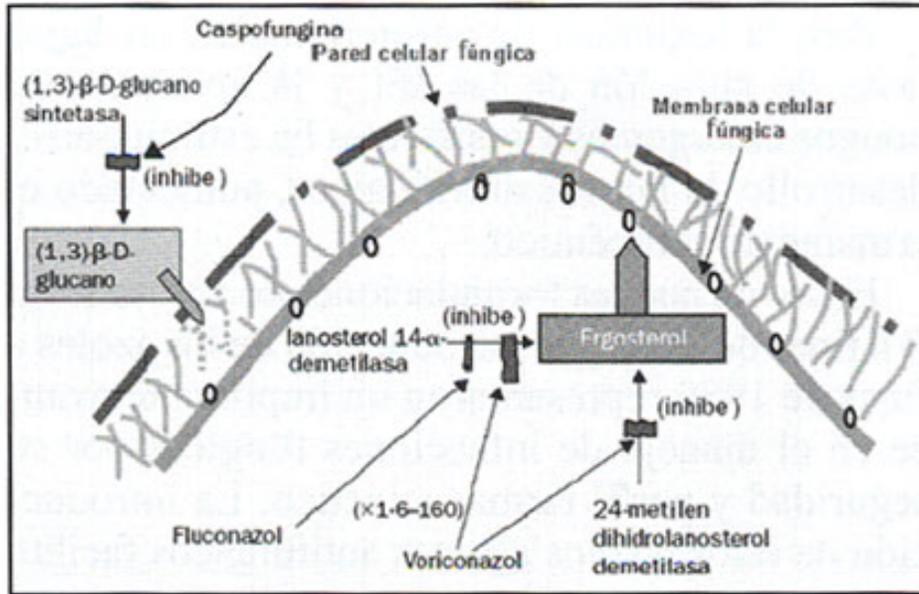
La excelente actividad in vitro que presenta la micafungina frente a la mayoría de las especies de *Aspergillus* de interés médico, y su eficacia y seguridad en modelos animales, hacen pensar que la micafungina será una alternativa en el tratamiento de la aspergilosis invasora, aunque en algunos estudios se ha puesto de manifiesto que puede ser necesaria su combinación con otros antifúngicos para mejorar la tasa de respuesta. (48)

Dentro de los antifúngicos más novedosos está voriconazol, un triazol de espectro extendido que se ha convertido en una herramienta terapéutica imprescindible contra las aspergilosis invasoras y otras micosis por hongos filamentosos. No cabe duda que la piedra angular del tratamiento de la aspergilosis invasora es el voriconazol que ha demostrado prolongar significativamente la supervivencia de los enfermos tratados con este antifúngico. Un hecho distintivo de voriconazol es su eficacia clínica y micológica en el tratamiento de

las aspergilosis causadas por *Aspergillus terreus*, especie emergente y resistente a la anfotericina B (alternativa terapéutica de segunda elección al voriconazol para las aspergilosis invasoras) (46). En el tratamiento de las aspergilosis invasivas es de elección primaria dado que es el único antifúngico que ha demostrado superioridad clínica y mayor supervivencia de los pacientes respecto a su comparador (anfotericina B desoxicolato). (49)

Sin embargo, el voriconazol tiene múltiples interacciones medicamentosas que restringen su uso en pacientes con enfermedad hepática, debido al riesgo de hepatotoxicidad. La insuficiencia renal (tasa de depuración de creatinina estimada <50 mL /min) contraindica la utilización de la forma intravenosa por la acumulación de la ciclodextrina de sodio (vehículo de este azol), que puede acumularse a pesar de la hemodiálisis y causar neurotoxicidad. En estos casos debe emplearse anfotericina liposomal que es efectiva como la anfotericina, pero genera menos efectos secundarios.(50)

El uso del desoxicolato de anfotericina B (AmB), también conocido como anfotericina B convencional y sus derivados lipídicos se recomiendan en etapas de terapia inicial y de rescate de las infecciones por *Aspergillus* cuando no se puede administrar voriconazol. Esto quiere decir, que el desoxicolato de Anfotericina B debe reservarse para su uso en entornos con recursos limitados en los que no se dispone de agentes alternativos o en los que los azoles están contraindicados o no se toleran. Otras especies de *Aspergillus* documentadas también pueden ser resistentes a la anfotericina B, como *A. lentulus*, *A. nidulans*, *A. ustus* y *A. versicolor*. El mecanismo de acción principal de la anfotericina B se debe a la formación de grandes agregados extramembranosos que extraen ergosterol de las bicapas lipídicas, lo que resulta en la muerte celular. Un segundo mecanismo de acción implica el daño oxidativo de la membrana celular. (51)



**Figura 14: Mecanismo de acción de distintos antifúngicos sobre la pared celular de los hongos.**

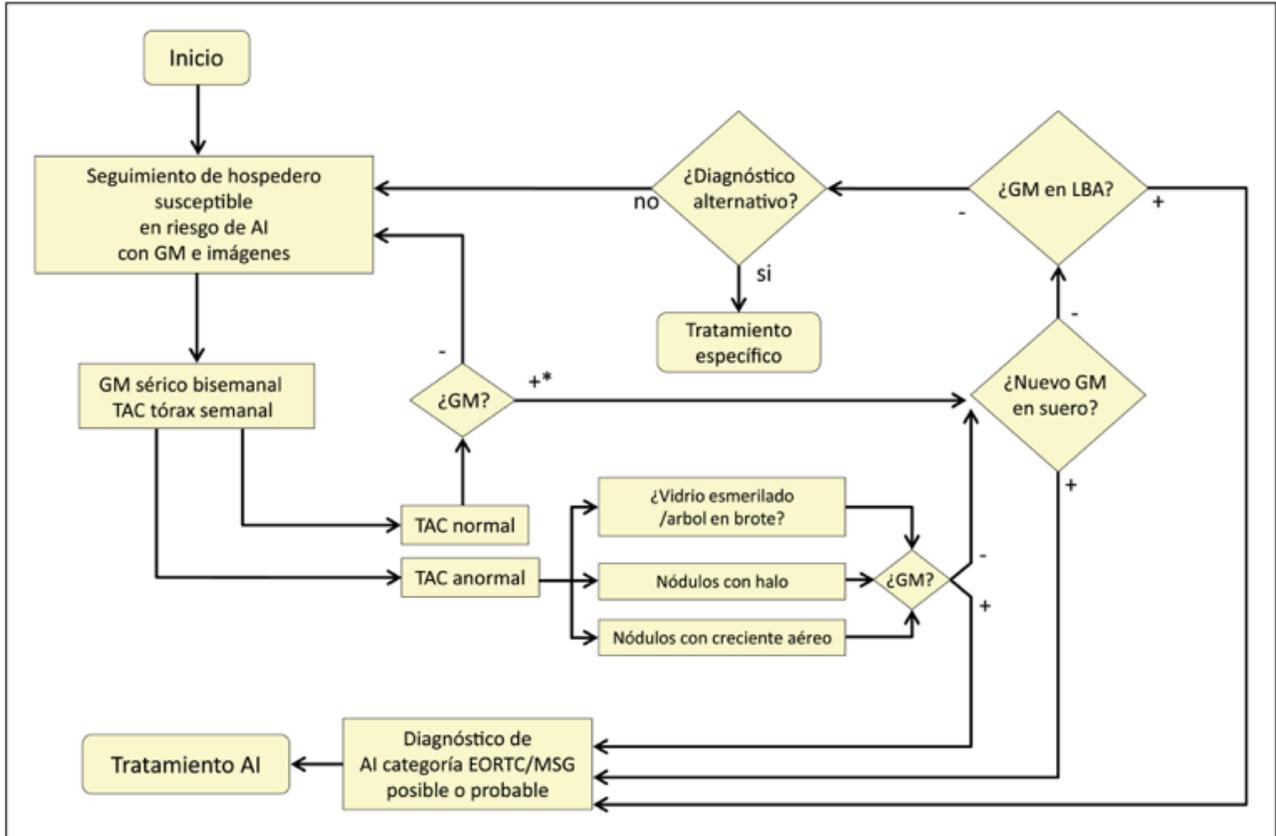
Tomado de Bidart, T. (2004) (52)

En un estudio realizado en el Centro de Referencia de Micología de Manchester en 2008 y 2009 para determinar la susceptibilidad a itraconazol, voriconazol y posaconazol en *A. fumigatus*. De 230 aislamientos, 64 (28%) eran resistentes a los azoles. En 2008 y 2009, el 14% y el 20% de los pacientes tenían cepas resistentes, respectivamente. Durante este período, 62 de 64 (97%) fueron resistentes a itraconazol, 2 de 64 (3%) solo fueron resistentes a voriconazol y el 78% de los casos fueron resistentes a multiazoles. El 43% de los aislamientos no portaban una mutación *cyp51A* (anteriormente el mecanismo de resistencia a los azólicos más común), lo que indica que otros mecanismos deben ser responsables y están aumentando en frecuencia. Finalmente, los resultados obtenidos en este estudio indican una frecuencia creciente y evolución de los mecanismos de resistencia en *A. fumigatus*, tanto en pacientes sin tratamiento previo como en pacientes tratados con azoles. Además, la aparición de mecanismos alternativos de resistencia distintos de las mutaciones de *cyp51A*, los cuales se han relacionado con la inhalación de las esporas de *Aspergillus* que ya son resistentes a triazoles. (51)

## 5.1 PROFILAXIS

**Profilaxis primaria:** existe evidencia a favor del uso de posaconazol para disminuir EFI en pacientes mayores de 13 años con LMA o síndrome mielodisplásico con neutropenia post quimioterapia, así como pacientes con enfermedad de injerto contra hospedero tipo II a IV. Cornely demostró menor frecuencia de AI en pacientes neutropénicos en profilaxis con posaconazol vs fluconazol/itraconazol (1 vs 7%) y menor mortalidad con diferencia estadísticamente significativa. Esta estrategia debe considerarse en pacientes de alto riesgo como neutropenia en LMA y también se debe incluir en los protocolos de manejo de prevención de EFI en trasplante pulmonar. La profilaxis de AI puede ser realizada de preferencia con posaconazol en vista de la mejor evidencia disponible; como alternativas considerar voriconazol y micafungina y, con menor grado de evidencia, se podría utilizar anfotericina inhalada. La decisión de iniciar profilaxis antifúngica debe considerar la frecuencia de AI y los costos asociados. Su incorporación debe incluir un plan de evaluación ante sospecha de EFI y plan de terapia antifúngica para las infecciones fúngicas emergentes que puedan presentarse a pesar del uso de profilaxis junto a una estrategia de vigilancia de desarrollo de resistencia a azoles. (53)

**Profilaxis secundaria:** Corresponde a la indicación de antifúngicos luego de que se ha completado el tratamiento de la EFI, ante el riesgo de reactivación durante la neutropenia post quimioterapia o trasplante. El beneficio esperable fue adecuadamente evidenciado en el trabajo de Cordonier y cols., quienes en un estudio prospectivo de uso de voriconazol hasta por 150 días como profilaxis secundaria en 45 receptores de TPH alogeneico con EFI previa, diagnosticaron tres episodios de EFI durante el seguimiento hasta un año, ninguno de ellos AI. La incorporación de profilaxis secundaria debe tener en cuenta lo señalado en el punto previo en cuanto a enfrentamiento diagnóstico de potenciales casos de EFI emergente, resistencia, costos y toxicidad. (53)



**Figura 15: Algoritmo de evaluación de pacientes en riesgo de aspergilosis invasora con monitorización de galactomanano (GM) e imágenes de TAC de tórax.** Según resultados se avanza en el proceso diagnóstico incluyendo realización de lavado bronco-alveolar (LBA) que descarta o confirma el diagnóstico según categoría EORTC/MSG con lo que se define la conducta terapéutica.

Tomado de Rabagliati, R., 2018. (15)

## 6. EPIDEMIOLOGÍA

La aspergilosis invasora (AI) es una patología con elevada morbimortalidad, especialmente en pacientes inmucomprometidos. Actualmente es la primera causa de micosis por hongos filamentosos y la segunda de infección fúngica invasora, solo superada por *Candida spp.* (11)

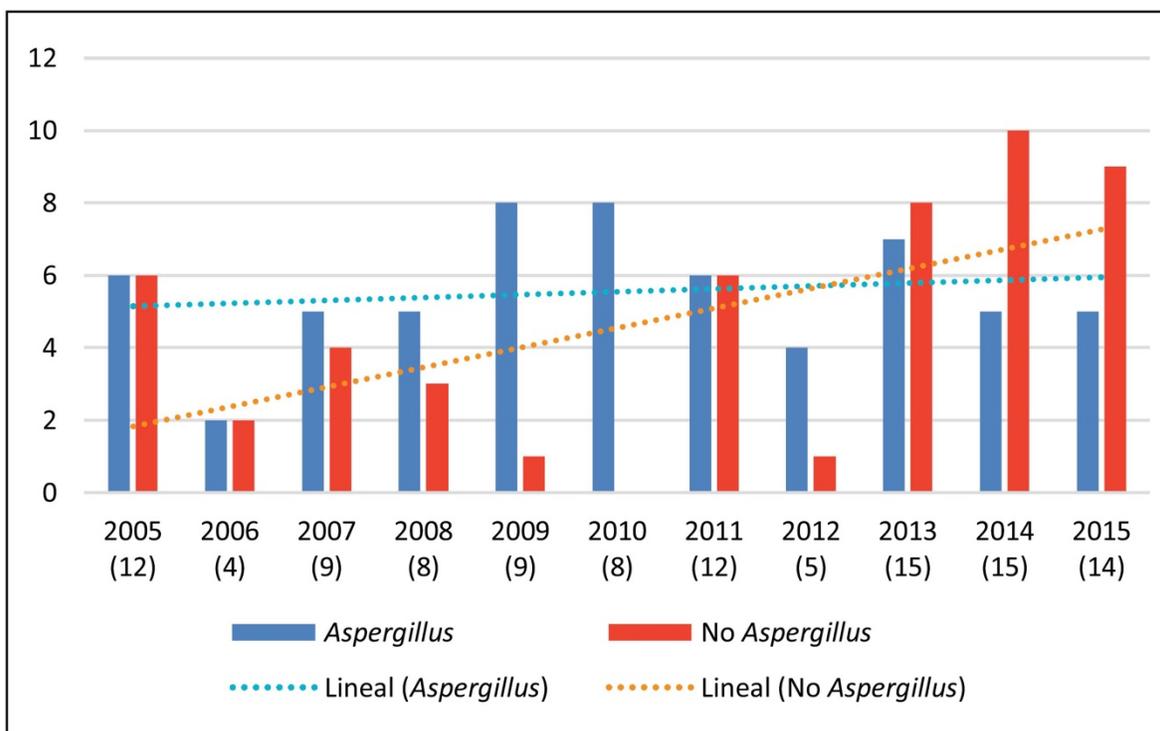
En un reciente estudio poblacional realizado en España (FILPOP), observaron una prevalencia media de 1,6 aislamientos de hongos filamentosos por millón de habitantes. *Aspergillus* representaba el 86,3% de los aislamientos clínicos: *Aspergillus fumigatus* (48,5% de los aislamientos), *Aspergillus flavus* (8,4%), *Aspergillus terreus* (8,1%), *Aspergillus tubingensis* (6,8%) y *Aspergillus niger* (6,5%). El gran porcentaje de otras especies de *Aspergillus* que han sido aisladas puede plantear problemas diagnósticos y terapéuticos al ser más difíciles de identificar y presentar una menor sensibilidad a los fármacos antifúngicos de uso habitual en el tratamiento de estas micosis. (24)

La mayor supervivencia de los pacientes oncohematológicos, gracias a la optimización en el manejo de sus patologías de base, y la aparición de nuevos grupos de riesgo han llevado a un incremento en la incidencia de esta infección fúngica. (20)

También se han descrito brotes de aspergilosis nosocomial en pacientes sometidos a cirugía cardiovascular en quirófanos contaminados con conidios de *Aspergillus*. La exposición ambiental a las conidiosporas favorecida por los sistemas de ventilación o procedentes de obras en los hospitales puede ser causa de brotes nosocomiales. Se ha estimado que la incidencia de la aspergilosis es mayor en pacientes con leucemia mieloide aguda y en receptores de trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, corazón, pulmón e hígado (5-15%) y menor en los receptores de trasplante autógeno, riñón y páncreas

(< 5%). Otros factores de riesgo son la fibrosis quística, las enfermedades pulmonares crónicas, la malnutrición, el tratamiento con corticoides, la infección por el VIH, la diabetes y los tumores sólidos. En estos pacientes, la mortalidad de la aspergilosis invasora es muy elevada (40 al 50%). (30)

La incidencia de Aspergilosis invasora por *Aspergillus spp.* se sitúa aproximadamente en el 0,7% en receptores de trasplante renal, 1,3% en páncreas, 1,7% en hígado, 6,2% cardiaco y 8,4% en el pulmonar. La mortalidad es superior al 75% en los casos de enfermedad pulmonar invasora y se aproxima al 100% en los enfermos con enfermedad diseminada y afectación del sistema nervioso central. (29)



**Figura 16: Gráfico que muestra el número de episodios anuales para 111 casos probados y probables de aspergilosis y no-aspergilosis.** La línea de tendencia muestra que el incremento es mayor para el grupo de filamentosos correspondientes a no-aspergilosis.

Tomado de Valenzuela, P. 2019. (54)

## CONCLUSIONES

Al termino de esta revisión bibliográfica, se permiten expresar las siguientes conclusiones:

- En primer lugar, se describió a *Aspergillus spp.* como uno de los hongos con mayor abundancia en el mundo, se lograron determinar sus principales características taxonómicas y estructurales, junto con el principal mecanismo de transmisión y fisiopatología desencadenada en individuos inmunocomprometidos.
- Se revisó el principal mecanismo de transmisión de este hongo, siendo la inhalación de conidios a través de la vía respiratoria, lo cual produce una serie de eventos fisiopatológicos que desencadenan en una aspergilosis invasiva en el individuo inmunocomprometido.
- Se describieron los diversos métodos empleados actualmente para el diagnóstico de la aspergilosis invasiva. La detección de galactomanano, detección de (1-3)- $\beta$ -D-glucano y espectrometría de masa MALDITOF se postulan como las mejores técnicas de diagnóstico.
- Se recopiló información que estableció que si bien la anfotericina b es una buena opción para el tratamiento y profilaxis de la aspergilosis invasiva, hoy en día el voriconazol se postula como la mejor opción debido a su capacidad de prolongar la vida de los individuos enfermos además de ser útil en el tratamiento de otras micosis invasoras.
- Finalmente, se establece que *Aspergillus spp.* es el segundo hongo causante de aspergilosis invasora (superado por *Candida spp.*) y el primer a nivel de hongos filamentosos en el mundo. Afecta principalmente pacientes inmunocomprometidos y en aquellos que presenten factores de riesgos asociados la mortalidad puede llegar a casi el 50%.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pachón J, Cisneros JM, Collado-Romacho AR, Lomas-Cabezas JM, de León-Naranjo FL, Parra-Ruiz J, et al. Tratamiento de las infecciones fúngicas invasoras. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 2006;24(4):254-263.
2. Álvez F, Figueras C, Roselló E. Infecciones fúngicas invasivas emergentes. *Anales de Pediatría* 2010;73(1):52.e1-52.e6.
3. Garnacho-Montero J, Díaz-Martín A, De Piappón MR-P, García-Cabrera E. Infección fúngica invasiva en los pacientes ingresados en las áreas de críticos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2012;30(6):338-43.
4. García-Ruiz JC, Amutio E, Pontón J. Infección fúngica invasora en pacientes inmunodeficientes. *Rev Iberoam Micol*. 2004;21:55-62.
5. Zaragoza R, Pemán J. Infección fúngica invasora en el paciente crítico: diferentes opciones terapéuticas y una misma estrategia. *Revista Iberoamericana de Micología* 2006;23(2):59-63.
6. Sabillón N, Antúnez HS, Berríos RM. Aspergilosis invasiva: Reporte de un caso y revisión de literatura. *Rev Med Hondur* 2006;74:201-204.
7. Cruz R, Piontelli E. Enfermedad fúngica invasora (EFI) en pacientes de cinco hospitales de la Quinta Región de Valparaíso, Chile. 2004 a 2009. *Rev Chilena Infectol* 2011; 28 (2): 123-9.
8. Abarca ML. Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial. *Rev Iberoam Micol* 2000;17(3):S79-S84.
9. Houbraken J, de Vries RP, Samson RA. Chapter Four - Modern Taxonomy of Biotechnologically Important *Aspergillus* and *Penicillium* Species. *Adv Appl Microbiol* 2014;86:199-249.
10. Krijgheld P, Bleichrodt R, van Veluw GJ, Wang F, Müller WH, Dijksterhuis J, et al. Development in *Aspergillus*. *Stud Mycol* 2013;74:1-29.
11. Rabagliati R. Actualización en el diagnóstico y manejo de aspergilosis invasora en pacientes adultos. *Revista chilena de infectología* 2018;35(5):531-544.

12. Toro-Lezcano MM, Molina Saldarriaga F, Soto AF, Díaz Granados Cuenca L, Guerra Villafañe A. Aspergilosis invasiva en unidad de cuidado intensivo. *Infectio* 2015;19(1):35-39.
13. Montejo M. Infección invasora por *Aspergillus* y otros hongos filamentosos en enfermos con trasplante de órgano sólido. *Rev Iberoam Micol* 2002;19:9-12.
14. Bio-rad. Platelia TM *Aspergillus* Ag. Bio-rad laboratorios. Francia: 2013, octubre.
15. Susianti H, Parmadi L, Firani NK, Setyawan UA, Sartono TR. Diagnostic value of serum human Galactomannan aspergillus antigen and 1, 3-beta-D-glucan in immunocompromised patient suspected fungal infection. *J Clin Lab Anal* 2021;35(6):e23806.
16. Montejo M. Infección invasora por *Aspergillus* y otros hongos filamentosos en enfermos con trasplante de órgano sólido. *Rev Iberoam Micol* 2002;19:9-12.
17. Sabillón N, Antúnez HS, Berríos RM. Aspergilosis invasiva: Reporte de un caso y revisión de literatura. *Rev Med Hondur* 2006;74:201-204.
18. López-Cortés LE, Garcia-Vidal C, Ayats J, Gudiol C, Bodro M, Sánchez-Ortega I, et al. Aspergilosis invasora con afectación extrapulmonar: patogenia, características clínicas y pronóstico. *Revista Iberoamericana de Micología* 2012;29(3):139-143.
19. Fujifilm. (1→3)-β-D-Glucan-Messungen bei invasiven Pilzinfektionen [Internet]. Fujifilm. 2017 [citado el 5 de junio de 2022]. Disponible en: <https://www.wako-chemicals.de/de/beta-glucan-test> Yang R. Serology of fungal infections [Internet]. Slideserve. 2014 [citado el 15 de junio de 2022]. Disponible en: <https://www.slideserve.com/risa-yang/serology-of-fungal-infections>
20. Romero, María de las Mercedes. Enfermedad pulmonar por *aspergillus* spp: distribución de especies y sensibilidad frente a antifungicos. 2014.
21. Cruz R. Guía para el diagnóstico de laboratorio de enfermedad fúngica invasora por hongos filamentosos. *Revista chilena de infectología* 2014;31(2):173-179.
22. Houbraken J, de Vries RP, Samson RA. Chapter Four - Modern Taxonomy of Biotechnologically Important *Aspergillus* and *Penicillium* Species. *Adv Appl Microbiol* 2014;86:199-249.

23. Pahl HL, Krauss B, Schulze-Osthoff K, Decker T, Traenckner EB, Vogt M, et al. The immunosuppressive fungal metabolite gliotoxin specifically inhibits transcription factor NF-kappaB. *J Exp Med* 1996;183(4):1829-1840.
24. Quindós G. Epidemiología de las micosis invasoras: un paisaje en continuo cambio. *Revista Iberoamericana de Micología* 2018;35(4):171-178.
25. Rabagliati R. Actualización en el diagnóstico y manejo de aspergilosis invasora en pacientes adultos. *Revista chilena de infectología* 2018;35(5):531-544.
26. Bedoya, L. Inmunocromatografía y galactomanano como pruebas no convencionales para la búsqueda de aspergilosis invasiva. Una revisión teórica. [Internet]. 2020. [citado: 2022, abril] Disponible en: <http://hdl.handle.net/10554/52099>
27. Baeyens Gracia, María del Carmen. Evaluación de la presencia de genes de producción de GT y sus derivados como marcadores específicos de aspergilosis invasiva. Universidad de Zaragoza 2018-857.
28. Panizzolo L. Aprovechamiento de gomas orientales y otros biomateriales [Internet]. 2019. Disponible en: <http://www.inia.uy/Documentos/Públicos/INIA%20Tacuarembó/2019/Biomateriales/Panizzolo%20y%20Ferreira%201.pdf>
29. Del Palacio A, Cuétara MS, Pontón J. La aspergilosis invasora. *Rev Iberoam Micol* 2003;20:77-78.
30. Zaragoza R, Pemán J. Infección fúngica invasora en el paciente crítico: diferentes opciones terapéuticas y una misma estrategia. *Revista Iberoamericana de Micología* 2006;23(2):59-63.
31. De Microbiología IV. Prueba de cuantificación de (1-3)-β-D-Glucano, como método general de diagnóstico de infecciones fúngicas profundas [Internet]. IVAMI. [citado el 16 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.ivami.com/es/microbiologia-clinica/307-glucano-1-3-d-glucano-deteccion-de-1-3-d-glucano> Cruz LCE. Fungitell (1-3) B - D Glucan [Internet]. Nohemylab. [citado el 22 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.nohemylab.com/examen/951/fungitell----b---d-glucan>
32. Rabagliati R. Actualización en el diagnóstico y manejo de aspergilosis invasora en pacientes adultos. *Revista chilena de infectología* 2018;35(5):531-544.

33. Pinto ME, Banda C, Seas C. Aspergilosis pulmonar secundaria a neutropenia inducida por metimazol: Reporte de un caso. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* 2012;29:255-258.
34. Valenzuela P, Legarraga P, Rabagliati R. Epidemiología de la enfermedad fúngica invasora por hongos filamentosos en el período 2005 a 2015, en un hospital universitario en Santiago, Chile. *Revista chilena de infectología* 2019;36(6):732-741.
35. Vidal-Acuña MR, Ruiz-Pérez de Pipaón M, Torres-Sánchez MJ, Aznar J. Identification of clinical isolates of *Aspergillus*, including cryptic species, by matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). *Medical Mycology* 2018;56(7):838-846.
36. Kelaher A. Two non-invasive diagnostic tools for invasive aspergillosis:(1-3)-beta-d-glucan and the galactomannan assay. *Clinical Laboratory Science* 2006;19(4):222.
37. Siller-Ruiz M, Hernández-Egido S, Sánchez-Juanes F, González-Buitrago JM, Muñoz-Bellido JL. Métodos rápidos de identificación de bacterias y hongos. Espectrometría de masas MALDI-TOF, medios cromogénicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 2017;35(5):303-313.
38. BIDART H T. Rol de voriconazol y caspofungina en terapia antifúngica. *Revista chilena de infectología* 2004;21:13-19.
39. Badiie P, Alborzi A, Karimi M, Pourabbas B, Haddadi P, Mardaneh J, et al. Diagnostic potential of nested PCR, galactomannan EIA, and beta-D-glucan for invasive aspergillosis in pediatric patients. *The Journal of Infection in Developing Countries* 2012;6(04):352-357.
40. Baeyens Gracia, María del Carmen. Evaluación de la presencia de genes de producción de GT y sus derivados como marcadores específicos de aspergilosis invasiva. *Universidad de Zaragoza* 2018-857.
41. Scharf DH, Heinekamp T, Remme N, Hortschansky P, Brakhage AA, Hertweck C. Biosynthesis and function of gliotoxin in *Aspergillus fumigatus*. *Appl Microbiol Biotechnol* 2012;93(2):467-472.
42. Delama I, Legarraga P, González T, García P, Rabagliati R. Evaluación del *Aspergillus* lateral flow device para el diagnóstico de aspergilosis invasora,

- experiencia en un hospital universitario. *Revista chilena de infectología* 2018;35(5):574-579.
43. Kwon-Chung KJ, Sugui JA. What do we know about the role of gliotoxin in the pathobiology of *Aspergillus fumigatus*? *Medical mycology* 2009;47(Supplement\_1):S97-S103.
  44. Panizzolo L. Aprovechamiento de gomas orientales y otros biomateriales [Internet]. 2019. Disponible en: <http://www.inia.uy/Documentos/Públicos/INIA%20Tacuarembó/2019/Biomateriales/Panizzolo%20y%20Ferreira%201.pdf>
  45. Maldonado N, Robledo C, Robledo J. La espectrometría de masas MALDI-TOF en el laboratorio de microbiología clínica. *Infectio* 2018;22(1):35-45.
  46. Quindós G, del Palacio A, Pontón J. Presente y futuro de voriconazol en el tratamiento de las micosis invasoras: el inseparable binomio diagnóstico-tratamiento. *Revista iberoamericana de micología* 2007;24(3):179-180.
  47. Valenzuela P, Legarraga P, Rabagliati R. Epidemiología de la enfermedad fúngica invasora por hongos filamentosos en el período 2005 a 2015, en un hospital universitario en Santiago, Chile. *Revista chilena de infectología* 2019;36(6):732-741.
  48. Fujifilm. (1→3)-β-D-Glucan-Messungen bei invasiven Pilzinfektionen [Internet]. Fujifilm. 2017 [citado el 5 de junio de 2022]. Disponible en: <https://www.wako-chemicals.de/de/beta-glucan-test>
  49. Yang R. Serology of fungal infections [Internet]. Slideserve. 2014 [citado el 15 de junio de 2022]. Disponible en: <https://www.slideserve.com/risa-yang/serology-of-fungal-infections>
  49. del Palacio A, Pontón J, Quindós G. Micafungina, una nueva candina para el tratamiento de las micosis invasoras. *Revista Iberoamericana de Micología* 2009;26(1):1.
  50. Toro-Lezcano MM, Molina Saldarriaga F, Soto AF, Díaz Granados Cuenca L, Guerra Villafañe A. Aspergilosis invasiva en unidad de cuidado intensivo. *Infectio* 2015;19(1):35-39.
  51. Bedoya Vásquez LT. Inmunocromatografía y galactomanano como pruebas no convencionales para la búsqueda de aspergilosis invasiva. Una revisión teórica.

52. Rabagliati R. Actualización en el diagnóstico y manejo de aspergilosis invasora en pacientes adultos. *Revista chilena de infectología* 2018;35(5):531-544.
53. Susianti H, Parmadi L, Firani NK, Setyawan UA, Sartono TR. Diagnostic value of serum human Galactomannan aspergillus antigen and 1, 3-beta-D-glucan in immunocompromised patient suspected fungal infection. *J Clin Lab Anal* 2021;35(6):e23806.
54. Thornton CR. Lateral-flow device for diagnosis of fungal infection. *Current Fungal Infection Reports*. 2013;7(3):244–51.