



Utilidad clínica de la detección del antígeno galactomanano de aspergillus en inmunosuprimidos

Sergio Besteiro

Bioquímico, Departamento de Análisis Clínicos del Sanatorio Parque y Sanatorio de Niños
Instituto de Investigaciones Microbiológicas y Clínicas
Rosario, Argentina
ralsina@citynet.net.ar

Resumen

Las infecciones por *Aspergillus* se producen, en la mayoría de los casos, después de la inhalación de esporas de *Aspergillus* presentes en el medio. Las formas invasivas representan las infecciones más graves. Los factores que favorecen las aspergilosis invasivas son: las aplasias secundarias a los tratamientos de inducción de las hemopatías malignas y de los cánceres, la corticoterapia, las terapéuticas inmunosupresoras durante los trasplantes e injertos de órganos, en particular de médula ósea y la implantación de material extraño. La eficacia de un tratamiento depende en gran parte de la precocidad de su aplicación, pero el diagnóstico de aspergilosis sigue siendo muy difícil. El aislamiento de *Aspergillus* es poco frecuente y normalmente el diagnóstico se basa en criterios no específicos (síntomas clínicos) o radiológicos. La búsqueda de antígenos aspergiliares solubles en suero, como el galactomanano, se perfila actualmente como el principal método serológico capaz de mejorar el diagnóstico de la infección tanto en precocidad como en especificidad.

Palabras clave: aspergilosis invasiva, galactomanano, inmunocomprometidos

La aspergilosis es una infección micológica oportunista, provocada principalmente por *Aspergillus fumigatus* y en mucha menor medida, por *A. flavus*, *A. niger* y *A. versicolor*. Las esporas se hallan difundidas en el ambiente, en el aire y en los suelos y atacan principalmente a pacientes de riesgo, neutropénicos, oncológicos, etc. Se produce la infección de los senos paranasales, otitis, endoftalmítis, bronquitis, cuadros de alergia, diseminación vascular y pulmonar. También es frecuente la colonización cavitaria pulmonar en tuberculosos tratados (1).

La aspergilosis invasiva constituye una significativa causa de morbilidad y mortalidad en inmunosuprimidos, sobre todo en pacientes hematológicos. Se reporta una incidencia del 5 al 10 % en receptores de trasplante de médula ósea alogénica y del 0,5 al 5 % luego del tratamiento citotóxico en pacientes con hemopatías malignas. La alta mortalidad superior al 80 %, sobre todo en niños, está asociado en parte a la dificultad de realizar el diagnóstico de la infección en estadios

Abstract

Aspergillus infections usually occur following inhalation of *Aspergillus* spores present in the environment. Invasive forms constitute the most serious form of *Aspergillus* infection. Factors predisposing to invasive aspergillosis are: aplasia secondary to induction therapy for haematological malignancies and cancers, corticosteroids, immunosuppressives in organ transplant recipients, particulary bone marrow transplant, and introduction of foreign material. The efficacy of treatment largely depends on early initiation of treatment, but the diagnosis of invasive aspergillosis is very difficult to establish. *Aspergillus* is rarely isolated from cultures and the diagnosis is often based on nonspecific (clinical symptoms) or radiological criteria. Detection of soluble *Aspergillus* antigen in serum, such as galactomannan, now appears to be the main serological method able to improve the early and specific diagnosis of *Aspergillus* infection.

Key Words: invasive aspergillosis, galactomannan, immunocompromised

tempranos (2). Los síntomas generales, como fiebre refractaria al tratamiento antibiótico, dolor torácico, disnea, tos, etc., son variables y no específicos; la presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes fue detectada hasta en un 50 % de los enfermos, ya sea por microscopía o cultivo y además la placa de tórax estándar puede no llegar a detectar lesiones nodulares y las biopsias de punciones pulmonares pueden ser negativas aún con enfermedad confirmada. Por lo tanto, desde hace mucho tiempo se intenta buscar el procedimiento "gold standard" con la más alta confiabilidad y que fundamentalmente evite las maniobras invasivas, ya que están contraindicadas en estos pacientes críticos, con severas condiciones de neutropenia y/o trombocitopenia (3). Una alternativa válida es la puesta a punto de una metodología indirecta de diagnóstico. La detección de anticuerpos no reviste mayor interés, ya que los ciclos de quimioterapia intensiva limitan o hacen inefectiva la respuesta serológica, por lo tanto merece considerable atención focalizar la búsqueda de antígenos circulantes en los

fluidos biológicos del paciente. Uno de estos antígenos es el polisacárido galactomanano (GM), el mayor componente de la pared celular del *Aspergillus*. Un comité europeo que agrupa organizaciones de investigación y tratamiento del cáncer y las infecciones micológicas invasivas ha recomendado esta determinación de la antigenemia, dejando de lado la microscopía y los cultivos (4).

Técnica

El GM es liberado durante una aspergilosis invasiva. 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 (5). La sensibilidad y especificidad general está dentro del 90,5 % y 94,5 %, respectivamente. En la ciudad de Rosario, este test fue implementado durante el año 2007, estando disponible de rutina para los distintos servicios de salud.

Interpretación

Se sugiere realizar la investigación una semana antes del trasplante y luego repetirla cada semana o quincenalmente durante la neutropenia, realizando una curva de evolución. Los resultados se informan a través de un índice de positividad: índice menor a 1 es negativo y mayor a 1,5 es positivo. Los sueros con valores entre 1 y 1,5 se consideran indeterminados, y se sugiere repetirlos con una nueva muestra para eliminar un falso positivo debido a una contaminación posterior a la toma de sangre. Dos tomas sucesivas positivas indican la presencia de GM en el suero, signo de una aspergilosis invasiva. Este resultado constituirá un elemento importante en el diagnóstico pero no deberá ser el único. Cualquier resultado positivo deberá compararse con los datos clínicos, radiológicos y biológicos del paciente antes de establecer un diagnóstico definitivo e instaurar un tratamiento adecuado. Deberá efectuarse un seguimiento de la evolución de la antigenemia. A pesar de la gran sensibilidad de esta prueba, un resultado negativo no puede excluir definitivamente una aspergilosis, debido a la baja concentración del antígeno fúngico durante las primeras etapas de la infección (5).

La aparición de resultados positivos en aspergilosis invasivas es muy variable, yendo desde unos pocos días luego del trasplante de médula, hasta más de un

año (con una media de 70 días), y en el caso de pacientes pediátricos oncohematológicos, el rango es mayor, pero con una media de 35 días. Generalmente la evolución del GM es progresiva, con incremento constante asociado a la aparición de los signos clínicos, y sin fluctuaciones abruptas (2-7).

Limitaciones

Se han encontrado reacciones cruzadas con algunos antígenos polisacáridos de hongos pertenecientes a los géneros *Penicillium*, *Paecilomyces* y *Alternaria*, sin embargo la frecuencia de estas infecciones es muy baja. Se han comunicado reacciones positivas sin signos clínicos, especialmente en niños jóvenes, que aunque se relacionan con circulación real de antígenos de *Aspergillus*, debería evaluarse la posibilidad de falsos positivos. La presencia de galactofuranosa en algunos cereales y postres y la alta concentración de galactomanano que pueden contener algunas fórmulas lácteas, hace necesario tener en cuenta el factor dietético en la interpretación de la evolución de la antigenemia en niños pequeños y más generalmente en todos los pacientes con una alteración de la barrera intestinal (6); por eso en estas poblaciones en particular, los resultados positivos deben ser evaluados más cuidadosamente. También se ha comunicado detección de galactomanano en algunos lotes de preparados parenterales de piperacilina y amoxicilina asociado a ácido clavulánico, por eso deben advertirse los tratamientos con estos antibióticos al interpretar la prueba.

Por último, este test debe ser realizado por profesionales capacitados, extremando los cuidados de asepsia (trabajo bajo campana, con guantes, con material apirógeno, etc.) para evitar que probables esporas de *Aspergillus* esparcidas en el polvo del aire ambiental produzcan falsos positivos debido a la alta sensibilidad de la metodología ELISA.

Conclusiones

Se cuenta con una herramienta efectiva, fácilmente disponible, rápida y sensible para diagnosticar precozmente y hacer el seguimiento de las aspergilosis invasivas, entidad clínica importante a tener en cuenta en poblaciones de riesgo como inmunosuprimidos, transplantados y pacientes oncohematológicos. Con la salvedad de las limitaciones mencionadas, el test del galactomanano en suero ayuda a definir una terapéutica adecuada y optimizar el monitoreo de estos enfermos críticos. Se sugiere que esta determinación sea considerada como una práctica de rutina, sobre todo en las Unidades de Trasplante de médula osea y en los servicios de Oncohematología, realizándola periódicamente durante la neutropenia y/o si existen otros factores de riesgo.



Bibliografía

- 1 Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE. *Enfermedades Infecciosas. Principios y práctica*. 3ªed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1991.
- 2 Maertens J, Van Eldere J, Verhaegen J, Verbeken E, Verschakelen J, Boogaerts M. Use of circulating galactomannan screening for early diagnosis of invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients. *J. Infect. Dis.* 2002;186:1297–1306.
- 3 Herbrecht R, Letscher-Bru C, Oprea B, Lioure B, Waller J, Campos F, et al. Aspergillus galactomannan detection in the diagnosis of invasive aspergillosis in cancer patients. *J. Clin. Oncol.* 2002;20:1898–1906.
- 4 Ascioglu S, Rex JH, De Pauw B, Benett J, Bille J, Crokaert F et al. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and haematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin. Infect. Dis.* 2002;34:7-14.
- 5 Detection of aspergillus galactomannan antigen in serum by enzyme immunoassay. *Insert Platelia Aspergillus 62797 08/2003. BIO RAD. www.biorad.com*
- 6 Gangneux J, Lavarde S, Bretagne C, Gigien C, Gandemer V. Transient Aspergillus antigenaemia think of milk. *Lancet.* 2002;359:1251.
- 7 Sulahian A, Boutboul F, Ribaud P, Leblanc T, Lacroix C, Derouin F. Value of antigen detection using an enzyme immunoassay in the diagnosis and prediction of invasive aspergillosis in two adult and pediatric hematology units during a 4 – year prospective study. *Cancer.* 2001;91:311–318.