

Aspergilosis pulmonar invasiva en el paciente crítico no neutropénico. Retos de futuro

P.M. OLAECHEA ASTIGARRAGA^a, F. ÁLVAREZ LERMA^b Y E. ZALDIBAR ENRIQUEZ^a

^aServicio de Medicina Intensiva. Hospital de Galdakao. Vizcaya. España.

^bServicio de Medicina Intensiva. Hospital del Mar. Barcelona. España.

La entrada de *Aspergillus* spp. en el organismo se produce por inhalación de las esporas que se encuentran en el aire, suelo o plantas, por lo que la afectación pulmonar es la principal presentación de la infección por este hongo, que puede adoptar 5 formas clínicas diferentes: aspergilosis broncopulmonar alérgica, aspergiloma, aspergilosis crónica necrotizante, traqueobronquitis invasiva (o aspergilosis bronquial invasiva) y la aspergilosis pulmonar invasiva (API)^{1,2}. Otras presentaciones clínicas como la sinusitis, la afectación cutánea y las formas diseminadas a partir de pulmón que pueden afectar al cerebro, hígado, bazo y tracto gastrointestinal son mucho menos frecuentes.

Entre las distintas formas de presentación de la infección por *Aspergillus* spp., que afectan a pacientes críticos, la API constituye un reto para los médicos intensivistas, tanto por las dificultades en su diagnóstico como por la escasa efectividad de los tratamientos propuestos hasta la actualidad.

Los factores de riesgo de adquisición de una infección por *Aspergillus* spp. se reflejan en la tabla 1 tomada del trabajo de Perfect et al³. De esos factores, el más importante es la profundidad y duración de la neutropenia. En enfermos inmunocompetentes ingresados en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI), los pacientes con mayor riesgo de infectarse por *Aspergillus* spp. son aquellos que han estado en tratamiento con glucocorticoides.

Las manifestaciones clínicas de la API son inicialmente indistinguibles de una bronconeumonía bacteriana, con fiebre, tos y esputo purulento. Se han considerado característicos el dolor pleurítico y la hemoptisis. Cuando la afectación traqueobronquial es muy importante se pueden producir ulceraciones de la mucosa bronquial con obstrucción bronquial y atelectasia. La invasión vascular conlleva la aparición de infartos pulmonares y la diseminación hematogena al resto del organismo.

Aunque se han identificado más de 300 especies de *Aspergillus*, *A. fumigatus* origina más del 80% de las infecciones en seres humanos. Las otras especies causantes de infección son *A. flavus*, *A. niger* y *A. terreus*.

Según un reciente estudio de casos-controles realizado en Bélgica por Vandewoude et al⁴, la aparición de API en pacientes críticos fue un factor independiente de mortalidad. El 76% de los pacientes con API fallecieron, especialmente aquellos en los que la API se acompañaba de insuficiencia respiratoria. En esta serie, algo más de la mitad de los enfermos no tenían factores de riesgo específicos de aspergilosis (neutropenia o inmunosupresión), y sin embargo, la mortalidad fue similar a la de los pacientes con factores de riesgo. El grupo control (emparejados por APACHE y diagnóstico) tuvo una mortalidad del 57%. Por ello, la mortalidad atribuida solamente fue del 19%.

Recientemente se ha analizado el pronóstico de los pacientes neoplásicos ingresados en la UCI con insuficiencia respiratoria⁵. La mortalidad de los pacientes que requirieron ventilación mecánica fue superior al 75%, y la API fue un factor independiente de mortalidad en ese grupo de pacientes (*odds ratio* [OR]: 2,13, intervalo de confianza [IC] 95%: 1,05 a 14,74). En otras series, tanto de pacientes oncohematológicos ingresados en la UCI⁶, como de pacientes con broncopatía crónica y tratamiento con gluco-

Correspondencia: Dr. P. Olaechea.
Unidad de Cuidados Intensivos.
Hospital de Galdakao.
B° de Labeaga, s/n.
48960 Galdakao, España.
Correo electrónico: olaechea@hgda.osakidetza.net

Manuscrito aceptado el 6-X-2006.

corticoides^{7,8} que requirieron ventilación mecánica, la mortalidad fue del 100%, a pesar de un tratamiento antifúngico adecuado, lo que conducía a los autores a cuestionar el beneficio de ingresar en la UCI a pacientes con API que requirieran ventilación mecánica. En una serie más reciente de pacientes no neoplásicos ingresados en la UCI con el diagnóstico de sospecha de API la mortalidad fue del 80%, contabilizando todos los casos, y del 97% en aquellos en los que la API fue segura⁹.

Los datos disponibles en la actualidad respecto a la presencia de API en pacientes críticos, tanto inmunodeprimidos como inmunocompetentes, demuestran una elevada mortalidad cuando se presenta con insuficiencia respiratoria y precisan de ventilación mecánica. Mientras que algunos cuestionan el ingreso de estos pacientes en las UCI ante la mala evolución, otros plantean diversas estrategias para disminuir la mortalidad que contempla tres aspectos diferentes: a) determinar la prevalencia real de API en pacientes no neutropénicos ingresados en las UCI; b) identificar a los pacientes que tienen más riesgo de padecer aspergilosis invasiva, sobre los que aplicar métodos de diagnóstico precoz y c) prescribir los mejores tratamientos antifúngicos que se pueden ofrecer en la actualidad.

EPIDEMIOLOGÍA DE LA ASPERGILOSIS PULMONAR INVASIVA EN PACIENTES CRÍTICOS EN ESPAÑA

Diferentes estudios epidemiológicos españoles demuestran que el aislamiento de *Aspergillus* spp. en muestras clínicas es escaso. En el estudio EPIFUCI se analizaron los aislamientos de hongos existentes en tres días del año 1999^{10,11}. En 14 (0,9%) de 1.562 pacientes se encontraron uno o más aislamientos de *Aspergillus* spp. que fueron clasificados como infección en 5 casos (0,3%) o como colonización en 9 (0,6%). En el estudio EPCAN¹² se diagnosticaron 36 pacientes con colonización o infección por *Aspergillus* spp. de un total de 1.765 que fueron seguidos a partir de su séptimo día de ingreso en la UCI. De ellos 14 (0,8%) se consideraron colonizados y 22 (1,25%) infectados. Finalmente, en el estudio ENVIN^{13,14} el porcentaje de aislamientos en muestras respiratorias en pacientes diagnosticados de neumonía se sitúa alrededor del 0,5%. Por lo tanto, de estos estudios podemos deducir que el número de pacientes diagnosticados de API es bajo, incluso en poblaciones seleccionadas. Esta baja proporción puede ser debida al escaso porcentaje de pacientes neutropénicos, neoplásicos o trasplantados que ingresan en la UCI, pero también a la ausencia de una actitud diagnóstica activa y agresiva cuando existe un alto grado de sospecha.

Paralelamente, los estudios necrópsicos realizados en las últimas décadas han mostrado un incremento en la prevalencia de infecciones fúngicas invasivas del 2,2% entre 1978-1982 hasta el 5,1% en la década de los noventa, atribuido en su mayoría a

la API¹⁵. Otro estudio¹⁶ encuentra una incidencia de API del 2,7% entre las autopsias de pacientes que habían estado ingresados en la UCI.

Un problema importante es diferenciar entre pacientes colonizados o infectados por *Aspergillus* spp. La *European Organization for Research and Treatment of Cancer* (EORTC) y el *Infectious Diseases Mycoses Study Group* (MSG) propusieron, para pacientes neoplásicos, una clasificación de la probabilidad de que un paciente tuviera una infección fúngica¹⁷. La infección probada supone el diagnóstico histopatológico o el cultivo de *Aspergillus* spp. procedente de un lugar estéril, excluyendo muestras respiratorias o de senos paranasales. La infección probable se diagnostica por la existencia de un criterio microbiológico positivo en un paciente con factores de riesgo y un cuadro clínico o radiológico compatible. La infección posible se diagnostica en un paciente de riesgo con criterios microbiológicos o clínico-radiológicos compatibles. Finalmente, se considera colonización cuando se encuentra un aislamiento de *Aspergillus* spp. sin clínica compatible con infección.

Utilizando esta clasificación, pero aplicada a pacientes no neutropénicos ingresados en la UCI, Meersseman et al⁹ realizaron un estudio epidemiológico en una UCI de Bélgica, en el que inciden en la importancia del *Aspergillus* spp. en el paciente no neoplásico. De 1.850 pacientes ingresados durante un período de dos años, 89 (4,8%) pacientes sin enfermedad hematológica tuvieron un aislamiento de *Aspergillus* spp. o fueron diagnosticados por medios histopatológicos o necrópsicos. Para categorizar a los pacientes se utilizó la recomendación de la EORTC/MSG¹⁷ clasificando los pacientes en aspergilosis probada (n = 30), probable (n = 37), posible (n = 2) o colonizados (n = 20). Por lo tanto, el porcentaje de pacientes con API probada o probable en esta serie fue del 3,6%, superior a lo referido en otros estudios en pacientes no neutropénicos ingresados en las UCI tanto en nuestro país como en otros países europeos^{4,11,18}. Es posible que la mayor tasa de API en pacientes críticos ingresados en UCI identificados en este estudio sea debido a la búsqueda activa de *Aspergillus* spp. en muestras respiratorias y al empleo de métodos serológicos para el diagnóstico etiológico en un grupo de pacientes de riesgo, ya que de los 89 pacientes sin neoplasia hematológica, 35 (39 %) eran pacientes con broncopatía crónica, 17 (19%) recibían inmunosupresores, 9 (10%) eran pacientes trasplantados y 6 (7%) tenían estadios avanzados de cirrosis hepática.

DIAGNÓSTICO PRECOZ

La sensibilidad de los actuales métodos de cultivo para el diagnóstico de la infección por *Aspergillus* spp. es baja (alrededor del 30%³). Por ello, es necesario investigar nuevos métodos diagnósticos, no relacionados con el cultivo del hongo, que faciliten el diagnóstico de API. Estos métodos, que se han aplicado preferentemente a pacientes neutropénicos y

TABLA 1. Factores de riesgo de aspergilosis invasora

Neutropenia prolongada (más de 3 semanas) o disfunción neutrófila (enfermedad granulomatosa crónica)
Trasplante (mayor riesgo en médula ósea y pulmón)
Enfermedades hematológicas malignas (sobre todo leucemias)
Tratamiento con glucocorticoides (especialmente a dosis altas y prolongado)
Tratamiento citotóxico
Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)

con neoplasias hematológicas deben ser validados para pacientes no neutropénicos y susceptibles de adquirir una infección fúngica.

Entre los factores de riesgo de padecer API, incluidos en la tabla 1, el mayor riesgo corresponde a pacientes con trasplante alogénico de médula ósea, neutropénicos y con cáncer^{3,19,20}. El riesgo es intermedio para pacientes con trasplante autólogo de médula ósea, malnutrición, tratamiento con glucocorticoides, infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)²¹, trasplantes de órganos sólidos, diabetes, enfermedad pulmonar y cáncer no hematológico³. El riesgo menor corresponde a pacientes con fibrosis quística o enfermedades del tejido conectivo. En el trabajo de Meersseman et al⁹ se añade a esta lista los pacientes con enfermedades sistémicas y cirrosis avanzada (Child C). Finalmente, debemos añadir el riesgo que la contaminación ambiental por *Aspergillus* spp. relacionada con obras en el hospital puede tener en la aparición de la API. Este factor es conocido desde hace muchos años²² y se puede evitar fácilmente mediante los adecuados sistemas de filtración de aire²³ y el sellado de las zonas en construcción.

En los pacientes con bronconeumopatía crónica, tratados con glucocorticoides y que requieren ingreso en la UCI, el riesgo de infección por *Aspergillus* spp. debe tenerse en cuenta tanto en los que han recibido dosis altas y mantenidas^{7,8,24} como en los tratados con dosis bajas y en períodos de corta duración²⁵⁻²⁹. No se dispone de suficiente información para conocer el papel de los glucocorticoides inhalados como factor de riesgo de infecciones fúngicas oportunistas, aunque se han descrito casos de pacientes con API que solamente habían sido tratados con glucocorticoides inhalados³⁰.

La identificación de los pacientes de riesgo de adquirir una API se complica cuando se observa en algunos estudios que alrededor del 25% de los pacientes en los que se aíslan *Aspergillus* spp. no presentan ninguno de los factores de riesgo mencionados anteriormente^{4,9}. En el estudio EPCAN de 36 pacientes en los que se aisló *Aspergillus* spp., 7 (19,4%) no tuvieron, ni antes ni durante el ingreso en la UCI, los factores de riesgo clásicos. De ellos, 4 se clasificaron como API (mortalidad 75%) y 3 como colonización¹². Algunos autores sugieren la posibilidad de que la inmunoparálisis presente en el paciente crítico pueda ser considerada como un factor de riesgo de adquisición de infecciones oportunistas³¹, y por tanto hacer extensible el riesgo de infección por *Aspergillus* spp. a todos aquellos pacientes con fracaso multiorgánico mantenido.

Otro punto de vista que debe considerarse es el microbiológico. El aislamiento tradicional de *Aspergillus* spp. en muestras respiratorias tiene una baja sensibilidad (15–30%)^{3,32} lo que ha hecho que se hayan desarrollado procedimientos alternativos que pretenden detectar la presencia de *Aspergillus* spp. o su interacción con el huésped. Entre las técnicas investigadas en la actualidad en pacientes hematológicos se encuentra la detección de antígenos fúngicos y la detección de secuencias del genoma de *Aspergillus* mediante técnicas de reacción en cadena de polimerasa (PCR) en distintos fluidos como sangre, orina o muestras respiratorias obtenidas a partir de lavado broncoalveolar^{33,34}.

De las determinaciones antigénicas, la detección de galactomanano de *Aspergillus*³⁵ es la más estudiada. Se realiza mediante técnica de ELISA y está comercializada como *Platelia Aspergillus*[®] (Bio-Rad, Marnes la Coquette, Francia). Se ha empleado ampliamente en pacientes hematológicos con riesgo intermedio o alto de padecer API^{36,37}. La sensibilidad del método depende de la cinética de la antigenemia³⁸ y de los niveles de corte elegidos, aunque es fundamental la determinación repetida de muestras (generalmente 2 semanales) y es la tendencia, más que valores aislados, lo que marca tanto la predicción diagnóstica como la evolución^{39,40}. Un problema añadido es la positividad de la prueba en pacientes que están siendo tratados con piperacilina-tazobactam⁴¹. Que conozcamos, no se han realizado estudios prospectivos en pacientes críticos no oncohematológicos, excepto en el referido artículo de Meersseman et al⁹ en el que se encontró positividad de la prueba (al menos dos veces) en el 53% de los pacientes. En aquellos con API probada la positividad fue del 76%, mientras que en los pacientes con API probable la prueba fue positiva solamente en el 42% de los pacientes. Puesto que el valor predictivo depende de la incidencia de la infección, solamente sería útil la determinación sistemática de esta técnica si la incidencia fuera superior al 5%³⁶, cosa que no ocurre en nuestros pacientes. Por tanto, hasta que no seamos capaces de determinar con exactitud qué pacientes no neutropénicos tienen un riesgo más elevado, no debía aplicarse la técnica de detección de galactomanano como herramienta exclusiva de cribaje en la detección de pacientes con API.

Otras técnicas microbiológicas de detección de componentes antigénicos como la determinación de (1-3) beta-D-glucano (comercializado como Glucatell[®]), ha mostrado una alta sensibilidad y especificidad en los estudios realizados hasta ahora en pacientes neu-

tropénicos^{42,43}, pero aún debe ser validado en estudios multicéntricos amplios.

De las técnicas moleculares, probablemente la PCR en tiempo real, que permite cuantificar la carga fúngica, sea la técnica ideal⁴⁴, ya que permitiría monitorizar la efectividad del tratamiento antifúngico. Seguramente en el futuro se deberán buscar combinaciones de técnicas aplicadas a diferentes muestras orgánicas para obtener la mayor seguridad diagnóstica⁴⁵.

Finalmente, como técnicas complementarias al diagnóstico en los pacientes con sospecha de API estarían la realización de una tomografía axial computarizada (TAC) helicoidal buscando los signos del halo y «aire creciente» o «media luna» que se han mostrado útiles en pacientes neutropénicos⁴⁶. Sin embargo, estos datos son de rarísima aparición en el paciente no neutropénico, por lo que su utilidad en pacientes críticos es muy cuestionable.

Como conclusión de este apartado, creemos que sería útil el pensar sobre estos pacientes en términos similares a como se hace con pacientes oncohematológicos^{4,17}, y centrar la atención sobre su estado de inmunosupresión o inmunoparálisis. En los pacientes de larga estancia, malnutridos, con enfermedades crónicas debe buscarse de forma activa la presencia de *Aspergillus* spp. y aplicar las técnicas diagnósticas (microbiológicas, serológicas, PCR) al alcance de cada laboratorio, de modo que se pueda establecer un diagnóstico precoz de infección, incluso anticipado a las manifestaciones clínicas de la infección, lo que permitiría iniciar con rapidez un tratamiento adecuado, único camino para disminuir las elevadas tasas de mortalidad.

TRATAMIENTO DE FUTURO

El tratamiento de primera elección para la API se basa, en estos momentos, en la administración de voriconazol. Herbrecht et al⁴⁷ demostraron la mayor eficacia de este azol frente a la anfotericina B deoxicolato en el tratamiento de pacientes con aspergilosis probada o probable. Fueron tratados de forma aleatorizada con voriconazol 144 pacientes y con anfotericina B otros 133. De todos ellos, el 54,9% no tenían neutropenia, aunque un porcentaje muy alto eran pacientes oncohematológicos. La respuesta clínica fue significativamente mejor en el grupo tratado con voriconazol (52,8 frente a 31,6%). La supervivencia a las 12 semanas de los pacientes que habían recibido anfotericina fue del 57,9% frente al 70,8% de los pacientes tratados con voriconazol ($p = 0,02$). Además, los pacientes tratados con voriconazol tuvieron menos efectos secundarios (sobre todo los relacionados con el deterioro de la función renal) que los tratados con anfotericina, aunque los trastornos visuales fueron frecuentes entre los primeros. En los pacientes no neutropénicos la respuesta clínica fue similar al total de pacientes (54,3 frente a 31,5%). La dosis de voriconazol recomendada es de 6 mg/kg cada 12 horas el primer día, seguido de 4 mg/kg cada 12 horas a partir del segundo día.

Una alternativa es la utilización de anfotericinas (lipídica o liposomal) en dosis de 3-5 mg/kg/día. Los resultados de los estudios realizados con las diferentes formulaciones de anfotericina, y muchas veces referidos a pacientes neutropénicos con fiebre persistente^{48,49}, no tienen por qué ser extrapolables al paciente crítico no neutropénico, por lo que la información extraída de estos estudios debe evaluarse cuidadosamente a la hora de aplicarla a otros pacientes.

Algunos expertos recomiendan⁵⁰ como alternativa (en pacientes con función renal deteriorada en los que no se considere oportuno administrar voriconazol intravenoso) la administración de anfotericina liposomal en dosis elevadas (10 mg/kg/día) basándose en estudios que demuestran una mayor eficacia sin mayor toxicidad. También es posible la utilización de caspofungina (la única equinocandina comercializada en nuestro país hasta el momento) que ha demostrado su utilidad en tratamientos de rescate⁵¹.

Finalmente, existe la posibilidad de combinar varios antifúngicos, tomando como base teórica el distinto mecanismo de acción de las familias de estos antimicrobianos^{52,53}. Recientemente se ha publicado una excelente revisión del tema⁵⁴. Los estudios *in vitro* han proporcionado resultados contradictorios. Desde este punto de vista, frente al *Aspergillus* spp. solamente tendría efecto sinérgico la combinación de terbinafina con azoles. En estudios con animales, en general, no se ha encontrado sinergia. Es difícil evaluar la interacción entre los antifúngicos, pero la combinación de anfotericina o triazoles (voriconazol, posaconazol o ravuconazol) con equinocandinas (caspofungina, micafungina y anidulafungina) ha resultado más eficaz que la monoterapia. También se ha estudiado la combinación de antifúngicos con antibióticos (rifampicina, rifabutina, quinolonas, etc.) o inmunomoduladores (ciclosporina) cuyos resultados no han superado las fases de laboratorio.

Existen pocos estudios sobre la combinación de antifúngicos en pacientes con infección por *Aspergillus* spp. Se ha comunicado un análisis retrospectivo de 45 pacientes con API (34 de ellos probada o probable) tratados con monoterapia o tratamiento combinado⁵⁵. No hubo diferencias en la mortalidad a las 12 semanas, aunque en el grupo de pacientes con API probada o probable y tratamiento combinado la supervivencia fue durante mayor tiempo. Maertens et al⁵⁶ presentaron los resultados de un estudio observacional en el que se sugiere que la caspofungina más voriconazol y en menor grado la caspofungina más itraconazol o caspofungina con cualquier anfotericina puede ser efectiva en la aspergilosis refractaria.

Recientemente se han publicado⁵⁷ los resultados de un estudio en pacientes hematológicos (tratados previamente con anfotericina) de la combinación de voriconazol y caspofungina (16 pacientes) comparándola con pacientes tratados con voriconazol en monoterapia (31 pacientes). La probabilidad de muerte fue inferior en el grupo tratado con terapia combinada ($p = 0,024$). En pacientes trasplantados⁵⁸, se ha comprobado una mayor eficacia de la combi-

nación de caspofungina con voriconazol (n = 40) con respecto a los pacientes tratados con anfotericina liposomal (n = 47) en los pacientes con API, pero solamente en aquellos con fracaso renal o infectados por *A. fumigatus*. Los mismos autores⁵⁹ y todos los expertos en el tema^{54,60-64} coinciden en resaltar la necesidad de iniciar ensayos clínicos aleatorizados que estudien este problema. Por el momento, no hay evidencia científica que sustente la utilización de tratamientos combinados en todos los casos de API; pero sí es válido en aquellos pacientes con mala evolución en los que sea necesario realizar una modificación del tratamiento inicial y esto es probable que ocurra en pacientes con aspergilosis invasiva y necesidad de ventilación mecánica.

Los resultados mostrados hasta ahora con respecto a la combinación de antifúngicos se han realizado en pacientes oncohematológicos, y no se dispone de información suficiente en pacientes críticos no neutropénicos. Debemos creer que es posible reducir la mortalidad de nuestros pacientes con API, pero nos queda un largo camino que recorrer, primero identificando adecuadamente a los pacientes en riesgo, segundo diagnosticando la API lo más precozmente posible y finalmente aplicando el mejor tratamiento, solo o combinado, bien con los antifúngicos actuales o con los que se está investigando. Y ese debe ser el futuro en este campo.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores han declarado no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Soubani AO, Chandrasekar PH. The clinical spectrum of pulmonary aspergillosis. *Chest*. 2002;121:1988-99.
2. Lumbreras C, Gavalda J. Aspergilosis invasora, formas clínicas y tratamiento. *Rev Iberoam Micol*. 2003; 20:79-89.
3. Perfect JR, Cox GM, Lee JY, Kauffman CA, de Repentigny L, Chapman SW, et al. The impact of culture isolation of *Aspergillus* species: a hospital-based survey of aspergillosis. *Clin Infect Dis*. 2001;33:1824-33.
4. Vandewoude KH, Blot SI, Benoit D, Colardyn F, Vogelaers D. Invasive aspergillosis in critically ill patients: attributable mortality and excesses in length of ICU stay and ventilator dependence. *J Hosp Infect*. 2004; 56:269-76.
5. Azoulay E, Thiery G, Chevret S, Moreau D, Darmon M, Bergeron A, et al. The prognosis of acute respiratory failure in critically ill cancer patients. *Medicine (Baltimore)*. 2004; 83:360-70.
6. Janssen JJ, Strack van Schijndel RJ, van der Poest Clement EH, Ossenkuppele GJ, Thijs LG, Huijgens PC. Outcome of ICU treatment in invasive aspergillosis. *Intensive Care Med*. 1996;22: 1315-22.
7. Rello J, Esandi ME, Mariscal D, Gallego M, Domingo C, Valles J. Invasive pulmonary aspergillosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease: report of eight cases and review. *Clin Infect Dis*. 1998;26:1473-5.
8. Bulpa PA, Dive AM, Garrino MG, Delos MA, González MR, Evrard PA, et al. Chronic obstructive pulmonary disease patients with invasive pulmonary aspergillosis: benefits of intensive care? *Intensive Care Med*. 2001;27:59-67.
9. Meersseman W, Vandecasteele SJ, Wilmer A, Verbeken E, Peetermans WE, Van Wijngaerden E. Invasive aspergillosis in

critically ill patients without malignancy. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;170:621-5.

10. Álvarez-Lerma F, Palomar M, León C, Olaechea P, Cerdá E, Bermejo B. Indicaciones de tratamiento antifúngico en pacientes ingresados en servicios de medicina intensiva. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004;22:279-85.

11. Álvarez-Lerma F, Palomar M, León C, Olaechea P, Cerdá E, Bermejo B. Colonización y/o infección por hongos en unidades de cuidados intensivos. Estudio multicéntrico de 1.562 pacientes. *Med Clin (Barc)*. 2003;121:161-6.

12. Garnacho-Montero J, Amaya-Villar R, Ortiz-Leyba C, León C, Álvarez-Lerma F, Nolla-Salas J, et al. Isolation of *Aspergillus* spp. from the respiratory tract in critically ill patients: risk factors, clinical presentation and outcome. *Critical Care*. 2005;9:R191-R199 (DOI 10.1186/cc3488).

13. Álvarez-Lerma F, Palomar M, Olaechea P, de la Cal MA, Insausti J, Bermejo B. Estudio nacional de vigilancia de infección nosocomial en Unidades de Cuidados Intensivos. Informe del año 2000. *Med Intensiva*. 2002;26:39-50.

14. Álvarez-Lerma F, Palomar M, Olaechea P, Insausti J, Bermejo B, Cerdá E y Grupo de estudio de vigilancia de infección nosocomial en UCI. Estudio nacional de vigilancia de infección nosocomial en Unidades de Cuidados Intensivos. Informe del año 2001. *Med Intensiva*. 2003;27:13-23.

15. Groll AH, Shah PM, Mentzel C, Schneider M, Just-Nuebling G, Huebner K. Trends in the postmortem epidemiology of invasive fungal infections at a university hospital. *J Infect*. 1996;33:23-32.

16. Dimopoulos G, Piagnerelli M, Berre J, Eddafali B, Salmon I, Vincent JL. Disseminated aspergillosis in intensive care unit patients: an autopsy study. *J Chemother*. 2003;15:71-5.

17. Ascioğlu S, Rex JH, de Pauw B, Bennett JE, Bille J, Crokaert F, et al. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis*. 2002;34:7-14.

18. Petri MG, König J, Moecke HP, Gramm HJ, Barkow H, Kujath P, et al. Epidemiology of invasive mycosis in ICU patients: a prospective multicenter study in 435 non-neutropenic patients. *Paul-Ehrlich Society for Chemotherapy, Divisions of Mycology and Pneumonia Research. Intensive Care Med*. 1997; 23:317-25.

19. Allam MF, Del Castillo AS, Díaz-Molina C, Navajas RF. Invasive pulmonary aspergillosis: identification of risk factors. *Scand J Infect Dis*. 2002;34:819-22.

20. Cornet M, Fleury L, Maslo C, Bernard JF, Brucker G. Epidemiology of invasive aspergillosis in France: a six-year multicentric survey in the Greater Paris area. *J Hosp Infect*. 2002; 51:288-96.

21. Holding KJ, Dworkin MS, Wan PC, Hanson DL, Klevens RM, Jones JL, et al. Aspergillosis among people infected with human immunodeficiency virus: incidence and survival. *Adult and Adolescent Spectrum of HIV Disease Project. Clin Infect Dis*. 2000;31:1253-7.

22. Lentino JR, Rosenkranz MA, Michaels JA, Kurup VP, Rose HD, Rytel MW. Nosocomial aspergillosis: a retrospective review of airborne disease secondary to road construction and contaminated air conditioners. *Am J Epidemiol*. 1982;116:430-7.

23. Mahieu LM, De Dooy JJ, Van Laer FA, Jansens H, Ieven MM. A prospective study on factors influencing *aspergillus* spore load in the air during renovation works in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infect*. 2000;45:191-7.

24. Garces Jarque JM, Terradas RR, Álvarez-Lerma F, Grau CS, Salvado CM, Torres-Rodríguez JM. Aspergilosis pulmonar. Papel de los corticoides como factor de riesgo asociado en el bronquítico crónico. *Rev Clin Esp*. 2003;203:472-4.

25. Bohollo R, Gil Cano, Ruiz Campos J, Sandar D, Díaz Monrové. Pacientes con EPOC tratados en UCI con ciclos cortos de corticoides. ¿Grupo de riesgo de aspergilosis pulmonar? *Med Intensiva*. 2002;26:178.

26. Conesa D, Rello J, Valles J, Mariscal D, Ferreres JC. Invasive aspergillosis: a life-threatening complication of short-term steroid treatment. *Ann Pharmacother*. 1995;29:1235-7.

27. Palmer LB, Greenberg HE, Schiff MJ. Corticosteroid treatment as a risk factor for invasive aspergillosis in patients with lung disease. *Thorax*. 1991;46:15-20.

28. Pittet D, Huguenin T, Dharan S, Sztajzel-Boissard J, Ducloux G, Thorens JB, et al. Unusual cause of lethal pulmonary aspergillosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996;154(2 Pt 1):541-4.
29. Garro P, Guitart R, Aremngol S, Velasco P, Cuguet J, Xirgu J. Aspergillosis pulmonar invasiva en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica. *Med Intensiva.* 1999;23:S-1:60.
30. Peter E, Bakri F, Ball DM, Cheney RT, Segal BH. Invasive pulmonary filamentous fungal infection in a patient receiving inhaled corticosteroid therapy. *Clin Infect Dis.* 2002;35:e54-6.
31. Hartemink KJ, Paul MA, Spijkstra JJ, Girbes AR, Polderman KH. Immunoparalysis as a cause for invasive aspergillosis? *Intensive Care Med.* 2003;29:2068-71.
32. Denning DW. Early diagnosis of invasive aspergillosis. *Lancet.* 2000;355:423-4.
33. Klontz RR, Mennink-Kersten MA, Verweij PE. Utility of *Aspergillus* antigen detection in specimens other than serum specimens. *Clin Infect Dis.* 2004;39:1467-74.
34. Salonen J, Lehtonen OP, Terasjarvi MR, Nikoskelainen J. *Aspergillus* antigen in serum, urine and bronchoalveolar lavage specimens of neutropenic patients in relation to clinical outcome. *Scand J Infect Dis.* 2000;32:485-90.
35. Stynen D, Goris A, Sarfati J, Latge JP. A new sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay to detect galactofuran in patients with invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol.* 1995;33:497-500.
36. Mennink-Kersten MA, Donnelly JP, Verweij PE. Detection of circulating galactomannan for the diagnosis and management of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis.* 2004;4:349-57.
37. Jarque I, Andreu R, Salavert M, Gómez D, Peman J, Gobernado M, et al. Valor de la detección del antígeno galactomannano de *Aspergillus* en el diagnóstico y seguimiento de la aspergillosis invasora en pacientes hematológicos. *Rev Iberoam Micol.* 2003;20:116-8.
38. Marr KA, Balajee SA, McLaughlin L, Tabouret M, Bentsen C, Walsh TJ. Detection of galactomannan antigenemia by enzyme immunoassay for the diagnosis of invasive aspergillosis: variables that affect performance. *J Infect Dis.* 2004;190:641-9.
39. Moragues MD, Amutio E, García-Ruiz JC, Ponton J. Utilidad de la detección de galactomannano en el diagnóstico y seguimiento de la aspergillosis invasora en pacientes hematológicos. *Rev Iberoam Micol.* 2003;20:103-10.
40. Pazos C, Del Palacio A. Diagnóstico precoz de la aspergillosis invasora en enfermos neutropénicos mediante la detección bisemanal de galactomannano en suero con Platelia® *Aspergillus*. *Rev Iberoam Micol.* 2003;20:99-102.
41. Viscoli C, Machetti M, Cappellano P, Bucci B, Bruzzi P, Van Lint MT, et al. False-positive galactomannan platelia *Aspergillus* test results for patients receiving piperacillin-tazobactam. *Clin Infect Dis.* 2004;38:913-6.
42. Pazos C, Ponton J, Del Palacio A. Contribution of (1->3)-beta-D-glucan chromogenic assay to diagnosis and therapeutic monitoring of invasive aspergillosis in neutropenic adult patients: a comparison with serial screening for circulating galactomannan. *J Clin Microbiol.* 2005;43:299-305.
43. Odabasi Z, Mattiuzzi G, Estey E, Kantarjian H, Saeki F, Ridge RJ, et al. Beta-D-glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: validation, cutoff development, and performance in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Clin Infect Dis.* 2004;39:199-205.
44. Spiess B, Buchheidt D, Baust C, Skladny H, Seifarth W, Zeilfelder U, et al. Development of a LightCycler PCR assay for detection and quantification of *Aspergillus fumigatus* DNA in clinical samples from neutropenic patients. *J Clin Microbiol.* 2003;41:1811-8.
45. Musher B, Fredricks D, Leisenring W, Balajee SA, Smith C, Marr KA. *Aspergillus* galactomannan enzyme immunoassay and quantitative PCR for diagnosis of invasive aspergillosis with bronchoalveolar lavage fluid. *J Clin Microbiol.* 2004;42:5517-22.
46. Caillot D, Casanovas O, Bernard A, Couaillier JF, Durand C, Cuisenier B, et al. Improved management of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients using early thoracic computed tomographic scan and surgery. *J Clin Oncol.* 1997;15:139-47.
47. Herbrecht R, Denning DW, Patterson TF, Bennett JE, Greene RE, Oestmann JW, et al. Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. *N Engl J Med.* 2002;347:408-15.
48. Walsh TJ, Pappas P, Winston DJ, Lazarus HM, Petersen F, Raffalli J, et al. Voriconazole compared with liposomal amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with neutropenia and persistent fever. *N Engl J Med.* 2002;346:225-34. Revisado en: *Med Intensiva.* 2003;27:436-8.
49. Walsh TJ, Tepler H, Donowitz GR, Maertens JA, Baden LR, Dmoszynska A, et al. Caspofungin versus liposomal amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with persistent fever and neutropenia. *N Engl J Med.* 2004;351:1391-402.
50. Gavalda J, Ruiz I. Recomendaciones para el tratamiento de la infección por *Aspergillus* spp. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2003;21:571-8.
51. Maertens J, Raad I, Petrikos G, Boogaerts M, Selleslag D, Petersen FB, et al. Efficacy and safety of caspofungin for treatment of invasive aspergillosis in patients refractory to or intolerant of conventional antifungal therapy. *Clin Infect Dis.* 2004;39:1563-71.
52. Boucher HW, Groll AH, Chiou CC, Walsh TJ. Newer systemic antifungal agents: pharmacokinetics, safety and efficacy. *Drugs.* 2004;64:1997-2020.
53. Groll AH, Kolve H. Antifungal agents: in vitro susceptibility testing, pharmacodynamics, and prospects for combination therapy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2004;23:256-70.
54. Cuenca-Estrella M. Combinations of antifungal agents in therapy-what value are they? *J Antimicrob Chemother.* 2004;54:854-69.
55. Muñoz L, Ruthazer R, Boucher H, Loudin S, Skarf L, Hadley S. Combination antifungals for primary treatment of invasive aspergillosis (IA): do they work? Program and abstracts of the 44th Interscience Conference of Antimicrobial Agents and Chemotherapy; October 30 - November 2, 2004; Washington D.C. Abstract M-1024.
56. Maertens J, Glasmacher A, Herbrecht R, Aoun M, Thiebaut A, Cordonnier C, et al. Multicenter, noncomparative study of Caspofungin combined with other antifungals in adults with invasive aspergillosis refractory or intolerant to prior therapy. Final data. Program and abstracts of the 45th Interscience Conference of Antimicrobial Agents and Chemotherapy; December 16-19, 2005; Washington DC. Abstract M-954.
57. Marr KA, Boeckh M, Carter RA, Kim HW, Corey L. Combination antifungal therapy for invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis.* 2004;39:797-802.
58. Singh N, Limaye AP, Forrest G, Safdar N, Muñoz P, Pursell K, et al. Combination of voriconazole and caspofungin as primary therapy for invasive aspergillosis in solid organ transplant recipients: a prospective, multicenter, observational study. *Transplantation.* 2006;81(3):320-6.
59. Muñoz P, Singh N, Bouza E. Treatment of solid organ transplant patients with invasive fungal infections: should a combination of antifungal drugs be used? *Curr Opin Infect Dis.* 2006;19:365-70.
60. Viscoli C. Combination therapy for invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis.* 2004;39:803-5.
61. Sobel JD. Combination therapy for invasive mycoses: evaluation of past clinical trial designs. *Clin Infect Dis.* 2004;39 Suppl 4:S224-7.
62. Wheat LJ. Combination therapy for aspergillosis: is it needed, and which combination? *J Infect Dis.* 2003;187:1831-3.
63. Johnson MD, MacDougall C, Ostrosky-Zeichner L, Perfect JR, Rex JH. Combination antifungal therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48:693-715.
64. Mukherjee PK, Sheehan DJ, Hitchcock CA, Ghannoum MA. Combination Treatment of Invasive Fungal Infections. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18:163-94.