



Universidad Nacional
Federico Villarreal

Vicerrectorado de
INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

**FRECUENCIA DE LA DETECCIÓN DEL ANTÍGENO
GALACTOMANANO DE *Aspergillus* sp. EN SUERO DE PACIENTES
NEUTROPÉNICOS EN UN HOSPITAL ONCOLÓGICO DE LIMA**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN MICROBIOLOGÍA

AUTORA

Alvarez Sandoval, Karen Lizbeth

ASESOR

Rojas León, Roberto Eugenio

JURADOS

Guerrero Barrantes, César Enrique

Lagos Castillo, Moraima Angélica

Rojas Hernández, Bertha Aide

Lima – Perú

2020

Título

**FRECUENCIA DE LA DETECCIÓN DEL ANTÍGENO GALACTOMANANO
DE *Aspergillus* sp. EN SUERO DE PACIENTES NEUTROPÉNICOS EN UN
HOSPITAL ONCOLÓGICO DE LIMA**

Licenciada

Álvarez Sandoval, Karen Lizbeth

Asesor

Rojas León, Roberto Eugenio

DEDICATORIA

A Dios, mi creador.

A mi madre en el cielo,

a mi padre y querida familia.

A mi hija Arelys y esposo Evert por
su comprensión, cariño y aliento constante.

AGRADECIMIENTOS

Al Mg. Roberto Eugenio Rojas León, asesor de la presente tesis, por su tiempo, su gran apoyo y orientación brindada para la elaboración de la presente tesis.

A mi institución, el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas, por las facilidades brindadas.

A la Dra. Claudia Villoslado Espinoza, médico responsable del Laboratorio de Microbiología - INEN, por el apoyo brindado para la realización de la presente tesis.

A los colegas Tecnólogos Médicos de la institución, por sus sugerencias y palabras de aliento hacia mi persona.

ÍNDICE

DEDICATORIA	2
AGRADECIMIENTOS	3
ÍNDICE.....	4
RESUMEN	7
ABSTRACT.....	8
I. INTRODUCCIÓN.....	9
1.1 Descripción y formulación del problema.....	10
1.1.1 Formulación del problema	11
1.2 Antecedentes	11
1.3 Objetivos	16
1.3.1 Objetivo general.....	16
1.3.2 Objetivos Específicos.	17
1.4. Justificación	17
II. MARCO TEÓRICO.....	18
2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación	18
2.1.1 <i>Aspergillus</i> sp. : Generalidades.....	18
2.1.1.1 Morfología.	18
2.1.1.2 Características microscópicas.	19
2.1.1.3 Aspergilosis y patogenicidad.	20
2.1.1.4 Vías de Infección.	20
2.1.1.5 Factores de riesgo.	21
2.1.1.6 Manifestaciones clínicas.	21
2.1.1.7 Pronóstico.	22
2.1.1.8 Epidemiología.....	22

2.1.1.9 Diagnóstico.	22
2.1.2 Neutropenia. Generalidades	26
2.1.2.1 Los leucocitos polimorfonucleares	26
2.1.2.2 Valores referenciales de leucocitos.....	27
2.1.2.3 Los Neutrófilos	27
2.1.3 Relación de neutropenia y aspergilosis invasiva	32
2.1.4 Definición de términos básicos	32
III. MÉTODO	34
3.1 Tipo de investigación.....	34
3.2 Ámbito temporal y espacial	34
3.2.1 Ámbito temporal	34
3.2.2 Ámbito espacial	34
3.3 Variables	34
3.3.1. Antígeno galactomanano de <i>Aspergillus</i> sp.....	34
3.3.2. Pacientes neutropénicos	35
3.3.3 Operacionalización de la variable.....	35
3.4 Población y muestra.....	35
3.4.1 Población (N).....	36
3.4.2 Muestra (n).....	36
4.2.3 Criterios de inclusión y de exclusión.....	37
3.5 Instrumentos.....	37
3.6 Procedimientos.....	38
3.7 Análisis de datos	38
3.8 Aspectos éticos	39
IV. RESULTADOS	40

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	50
VI. CONCLUSIONES	51
VII. RECOMENDACIONES	53
VIII. REFERENCIAS	54
IX. ANEXOS	59

RESUMEN

Las infecciones provocadas por *Aspergillus* se producen, después inhalar esporas presentes en el medio ambiente.

El objetivo fue determinar la frecuencia del rastreo sérico positivo del antígeno galactomanano de *Aspergillus* sp. en pacientes neutropénicos en un nosocomio oncológico de Lima. El presente trabajo fue de tipo descriptivo, estudio no experimental, transversal y de corte retrospectivo. El muestreo fue dirigido o tipo no probabilístico. Se trabajó con 1185 resultados positivos, y se les realizaron tabulaciones y gráficos en el software estadístico SPSS.

Conclusión: Tras la ejecución de la tabulación de resultados positivos al escrutinio del antígeno galactomanano de pacientes de los años 2016-2017, sobresalen los resultados indeterminados con 526 (44.39%). Predominó la neutropenia severa con 520 resultados positivos, y representa el 43.9%. Se conoció que los más susceptibles a este marcador son los pacientes con neutropenia severa especialmente aquellos con neoplasias de tipo hematológico maligno.

El departamento de Lima ocupa el primer lugar con 576 casos de un total de 1185, (48.6 %), seguido por Ancash con 79 casos (6.66%) y Lambayeque con 68 casos (5.73%).

Discusión: Los pacientes con neutropenia severa y con neoplasias hematológicas malignas son más susceptibles a infecciones, por lo tanto esta prueba es provechosa para el diagnóstico precoz de fungemia. Una limitación del presente estudio fue que los resultados positivos a galactomanano en suero, no se pudieron comparar con otras pruebas de diagnóstico (cultivos microbiológicos y estudios histopatológicos).

Palabras claves: suero, galactomanano, neutropenia, ELISA.

ABSTRACT

Infections caused by *Aspergillus* occur, then inhale spores present in the environment.

The objective was to determine the frequency of the positive serum screening of the galactomannan antigen of *Aspergillus* sp. in neutropenic patients in a cancer hospital in Lima.

The present work was descriptive, non-experimental, cross-sectional and retrospective. Sampling was directed or non-probabilistic type. We worked with 1185 positive results, and tabulations and graphs were performed in the SPSS statistical software.

Conclusion: After the execution of the tabulation of positive results to the screening of the galactomannan antigen of patients from 2016-2017, the indeterminate results stand out with 526 (44.39%). Severe neutropenia predominated with 520 positive results, and represents 43.9%. It was known that the most susceptible to this marker are patients with severe neutropenia, especially those with malignant hematologic malignancies.

The department of Lima occupies the first place with 576 cases out of a total of 1185, (48.6%), followed by Ancash with 79 cases (6.66%) and Lambayeque with 68 cases (5.73%).

Discussion: Patients with severe neutropenia and malignant hematologic malignancies are more susceptible to infections, therefore this test is helpful for the early diagnosis of blood fungi. A limitation of the present study was that the positive results to serum galactomannan could not be compared with other diagnostic tests (microbiological cultures and histopathological studies).

Keywords: serum, galactomannan, neutropenia, ELISA.

I. INTRODUCCIÓN

En estos últimos años, los casos nuevos de infecciones fúngicas de tipo invasor han aumentado de forma notable. Las infecciones aspergilares invasivas presentan un incremento constante de su incidencia entre los pacientes con enfermedades hemato-oncológicas.

Después de las infecciones causadas por *Cándida*, los casos de aspergilosis, se han convertido en la micosis oportunista en pacientes inmunodeprimidos, entre ellos muchos pacientes neutropénicos. La aspergilosis invasiva es una enfermedad peligrosa que provoca mortalidad elevada, y ésta depende del órgano afectado, estado de inmunidad de los pacientes, momento del diagnóstico y la farmacoterapia antifúngica utilizada.

El polisacárido galactomanano de *Aspergillus* sp. que es liberado durante una aspergilosis invasiva, es el mayor elemento que ocupa la pared celular del *Aspergillus*, permite detectar precozmente la antigenemia fúngica.

La motivación del presente trabajo de investigación, se debió a que la literatura consultada señala que un diagnóstico precoz evitaría desenlaces fatales de los pacientes.

Por ende, el screening serológico para detectar esta antigenemia es de mucha utilidad en el Laboratorio de Microbiología de INEN, pues servirá para el monitoreo oportuno de pacientes con inmunidad comprometida.

La presente tesis contiene información de la frecuencia hallada de esta infección, y a qué tipo de neoplasias está relacionada, y de qué zonas del país provienen los pacientes, es decir identificar quienes podrían ser portadores de esta fungemia.

El objetivo de la presente tesis fue determinar la frecuencia de detección sérica del antígeno galactomanano del hongo *Aspergillus* sp. hallados en pacientes neutropénicos realizado en un nosocomio de pacientes oncológicos en Lima, Perú.

La metodología de esta tesis fue un estudio descriptivo de corte transversal.

1.1 Descripción y formulación del problema

Las infecciones ocasionadas por *Aspergillus* ocurren, en mayoría de los casos, después de inhalar esporas de *Aspergillus* ubicadas en el medio. Sin embargo las formas invasivas son las infecciones más graves. Los factores que favorecen las aspergilosis invasivas o invasoras se encuentran: 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. El éxito del tratamiento depende en gran medida de la anticipación de su aplicación, pero la diagnosis de aspergilosis sigue siendo muy complejo. El aislamiento e identificación de *Aspergillus* es poco común y habitualmente el diagnóstico se basa en criterios o radiológicos y/o no específicos (síntomas clínicos).

La pesquisa de antígenos aspergiliares solubles presentes en el suero, como el galactomanano, se perfila hoy en día como el destacado método serológico e idóneo que mejora la diagnosis de esta infección tanto en precocidad como en especificidad así como también el indicado para el seguimiento de esta fungemia invasiva.

Actualmente, el Laboratorio de Microbiología de INEN cuenta con una herramienta efectiva, fácilmente disponible, rápida y sensible para diagnosticar de manera precoz y hacer el monitoreo de las aspergilosis invasivas, infección importante a tener en cuenta en poblaciones de riesgo como pacientes inmunosuprimidos, trasplantados y neoplasias hematológicas. Se cuenta con una prueba efectiva, rápida y sensible, fácilmente disponible, para diagnosis precoz y monitoreo de las aspergilosis invasivas. El test de galactomanano por ELISA en suero apoya a definir una terapia

adecuada y optimiza el seguimiento de estos enfermos. Nos referimos una técnica de ELISA tipo sándwich.

1.1.1 Formulación del problema

1.1.1.1 Problema general.

- a) ¿Cuál es la frecuencia de la detección sérica positiva del antígeno galactomanano de *Aspergillus* sp. hallado en pacientes neutropénicos en un hospital oncológico de Lima?

1.1.1.2 Problemas específicos.

- a) ¿Cuál es la frecuencia de los tipos de neutropenia hallados en pacientes atendidos con detección sérica positiva del antígeno galactomanano *Aspergillus* sp. en un hospital oncológico de Lima?
- b) ¿Cuál es la frecuencia de la detección sérica positiva del antígeno galactomanano de *Aspergillus* sp. hallados en pacientes de acuerdo al servicio de atención en un hospital oncológico de Lima?
- c) ¿Cuál es la frecuencia de la detección sérica positiva del antígeno galactomanano de *Aspergillus* sp. hallados en pacientes con neoplasias hematológicas y neoplasias sólidas en un hospital oncológico de Lima?
- d) ¿Cuáles son las características sociodemográficas de los pacientes con detección positiva del antígeno galactomanano de *Aspergillus* sp. en un hospital oncológico de Lima?

1.2 Antecedentes

Panichella y col. (2016) presentaron en Argentina el estudio denominado “Infecciones micóticas en pacientes hemato-oncológicos pediátricos”. Cuyo objetivo fue analizar las características epidemiológicas, clínicas y de evolución de infección

fúngica invasora (IFI) en pacientes hematooncológicos. Su estudio fue de tipo cohorte observacional retrospectivo y prospectivo. En esa investigación se incluyó pacientes desde 1 mes a 18 años de edad con enfermedad hemato-oncológica del Hospital Juan P. Garrahan en el período enero de 2010 a abril de 2014 con diagnóstico de I.F.I. según EORTC. Sus resultados durante el período de estudio se incluyeron 124 pacientes con I.F.I. La incidencia fue de 2,65 casos por 100 episodios febriles. Las patologías o entidades de base fueron leucemias agudas en 66,1% (n=82) y trasplante de médula ósea en un 27,4%. Los momentos de mayor peligro de aparición de I.F.I. fueron las etapas de i) inducción (21,8%), ii) recaída (16,9%) y iii) re-inducción (12,9%). En general las I.F.I. (n= 110; 88,7%) ocurrieron en durante la neutropenia febril. La información microbiológica evidenció ventaja de *Aspergillus spp.*, especies de *Candida no albicans* y poca prevalencia de mucorales. Se evidenció co-infección en 80 pacientes (es decir 64,5%). Conclusiones: La incidencia de IFI documentada en nuestro estudio fue de 2,65 casos /100 episodios de fiebre, las leucemias agudas fueron las entidades clínicas de base más frecuentemente asociadas y la mayoría de las IFI se asoció a neutropenia febril. *Aspergillus spp.* fue el germen más frecuentemente aislado.

Contreras y col. (2016) presentaron en Chile, el caso “Aspergilosis invasora de pulmón a paciente con leucemia mielocítica aguda con quimioterapia”. Se reportó un suceso clínico de un varón de 65 años, que ingresó al hospital con cuadro aproximado de 10 días de proceso, con clínica sospechosa y sospecha de laboratorio de un síndrome mielo-proliferativo. Evaluado por el hematólogo, se comprobó Leucemia Mieloide Aguda - M5. Se le inició quimioterapia de inducción. El paciente progresó con pancitopenia, sobresaliendo la neutropenia severa hasta $200 /\text{mm}^3$, febril y sin centro precisado. Le administraron antimicrobianos de espectro ampliado por unos 10 días con respuesta favorable. Después de cinco días de finalizar su tratamiento con antibióticos,

inició otra vez con fiebre, incremento de parámetros inflamatorios, neutropenia severa y clínica de foco respiratorio. Se le hizo Tomografía Computada (TC) de tórax y detección de galactomanano (GM) sérico, ambas pruebas compatibles con aspergilosis pulmonar, y se inició medicación con voriconazol. El paciente en mención evolucionó con óptima respuesta clínica y respuesta de laboratorio, y con mejoría de imágenes del TC de tórax y negativización de galactomanano. Al mes cedió la pancitopenia. Se le dio de alta en buenas condiciones generales, con la indicación de regresar a hospitalizar para quimioterapia de consolidación. En conclusión, la aplicación de GM en suero seriado y una estrategia agresiva de TC de tórax temprana en pacientes con neutropenia pueden permitir a los médicos diagnosticar API precozmente, previa a la presentación del signo del halo. Los latentes beneficios y el valor de un enfoque de esta clase deben ser evaluados por estudios posteriores.

Rey y col. (2016) presentaron en Colombia: “Infección fúngica invasora en inmunosuprimidos atendidos en un nosocomio de tercer nivel”. El objetivo fue explicar las cualidades demográficas y cualidades clínicas de pacientes con inmunosupresión con tratamiento antifúngico por conjetura de contaminación fúngicas invasoras en un sanatorio de tercer nivel. El estudio fue de tipo descriptivo, transversal, donde se incluyeron pacientes que tuvieron tratamiento antifúngico durante los años 2012 -2013, por presunción de afecciones fúngicas invasoras (histoplasmosis, criptococosis, mucormicosis y aspergilosis) y con inmunosupresión. Se analizaron a 81 pacientes, con sexo masculino (66,5%) y 44 años, como edad promedio. El diagnóstico base más habitual fue neoplasia hemato-linfoide seguido de infección por VIH. La aspergilosis angioinvasora (52%) así como la criptococosis (28%) fueron las sospechas clínicas más comunes. En el 43% y 85% de los pacientes hubo hallazgos anómalos en radiografía y en tomografía axial computarizada de tórax, respectivamente. En quienes hay sospecha

de aspergilosis, el 23% presentó test de galactomanano positivo, en aquellos que presentan sospecha de criptococosis pulmonar, un 75% fue positivo para este antígeno capsular. Se pudo conocer que el 22% de los pacientes fenecieron y el 17% requirieron estar en UCI y tener soporte hemodinámico. Como conclusión, es sustancial presumir de forma temprana las fungemias invasoras, así como tener un algoritmo de diagnóstico e instaurar la terapia antifúngica de manera precoz para amenguar los finales fatales. El inconveniente en la corroboración microbiológica de las infecciones fúngicas invasoras sigue siendo un problema, semejante a lo mencionado en la literatura mundial.

Martínez y col. (2016) en México presentaron el estudio “Neumonía nosocomial (NN) de enfermos con neoplasias hematológicas (NH)”. El objetivo fue conocer la prevalencia y su desarrollo de la NN en un grupo de los pacientes leucémicos. Fue un estudio tipo retrospectivo, aplicado a pacientes con neoplasia hematológica y neumonía nosocomial de enero del 2011 hasta diciembre del 2012. En los resultados se identificaron 105 casos de NN, el 48% fueron leucemias (n=51) y 43 % fueron linfomas (n=45); El 48% (n=50) en alguna recaída o alguna progresión. El 60% presentó neutropenia severa. El signo más común fue fiebre en 73 (70%). El 100% tuvo infiltrados por tomografía, en 45 (43%) insinuante de fungemia. Siete (7%) tuvieron micosis pulmonar invasora probada, posible fueron 9 (9%) y probable fueron 45 (43%). Fueron tomados 99 cultivos; de ellos 30 (67%) de esos hemocultivos resultaron positivos, y de ellos 31 (71%) de cultivos de expectoración. Un 60% de bacterias gramnegativas y el 50% de las grampositivas resultaron multirresistentes. La bacteria principal aislada fue *Escherichia coli*, 19 (30%). En tercer lugar estuvo *Aspergillus spp* como agente etiológico y alcanzó la mayor mortandad. La mortandad asignada fue de 50%, y del 73% en pacientes con ventilación asistida (VM) (p = 0.001). Una conclusión fue que se vio una alta mortandad en pacientes con NH y NN. Por consiguiente se

requiere ampliar la conjetura clínica de NN en pacientes que son tratados con quimioterapia mielotóxica, disponer un planteo de diagnóstico microbiológico estereotipado, así como TC (tomografía computarizada) de tórax e incluir otras técnicas diagnósticas.

Ramírez (2015) en Ecuador sustentó la tesis “Neutropenia febril en enfermos que presentan Leucemia linfoblástica intensa: causas de riesgo de empeoramiento infeccioso. En Servicio de Pediatría - Hospital Nacional Oncológico Dr. Juan Tanca Marengo de Guayaquil: 2013 a 2015”. El objetivo fue caracterizar las causas de riesgo asociados a mayores tasas de complicaciones infecciosas en enfermos con Leucemia Linfocítica intensa con datos de Neutropenia febril (NF) mediante la revisión de expedientes clínicos. Se notó que en los 150 pacientes analizados, 135 tuvieron empeoramiento infeccioso. Entre el empeoramiento infeccioso de la NF se pudo ver que la más común fue la neumonía, escoltado de shock séptico, celulitis, mucositis, colitis neutropénica, infecciones de conducto urinario y gastroenteritis. Las causas de riesgo ligados hallados fueron: en edad menor de 4 años, existencia de síndrome de reacción inflamatoria sistémica, tiempo posterior a quimioterapia mayor a 6 días, tiempo precoz con fiebre menor a 4 días, neutropenia (grave) $<100 \text{ cel/mm}^3$ y permanencia de neutropenia mayor de 5 días. La conclusión destaca que es muy importante el aprendizaje y reconocimiento de las causas de riesgo más ligadas a aumento de complicaciones infecciosas en enfermos pediátricos con Leucemia Linfoblástica Aguda con referencia de neutropenia tipo febril, ya que ayudarían a ampliar las medidas preventivas y dar un manejo precoz ante un cuadro latente de fatalidad.

Reséndiz (2010) sustentó en México la tesis “Eficacia de la detección del galactomanano por ELISA para diagnóstico de aspergilosis invasora en pacientes con

neutropenia en el Hospital Mexicano Infantil Federico Gómez”. Cuyo objetivo era valorar el ensayo diagnóstico. Se incluyeron a pacientes ingresados en el HIMFG desde diciembre - 2006 a diciembre - 2007, que presentaron signos sugestivos de aspergilosis; se ameritó la toma de análisis histopatológico, test directo y/o el cultivo microbiológico, los cuales se clasificaron como probados, probables, posibles, así como descartados. Se consideró como *gold standar* la identificación de *Aspergillus* el análisis histopatológico, test directo y/o el cultivo. Se consideraron en la investigación 39 pacientes, de ellos se clasificaron 11 probados, 2 como probables, 20 como posibles y 6 como descartados. Los especímenes histológicos con presencia de *Aspergillus* fueron: pulmonar en 13 ocasiones; rinosinusal 2 ocasiones, cutáneas 3 ocasiones y del sistema nervioso central 1 ocasión. Los diagnósticos base resultaron: i) leucemia linfoblástica intensa (aguda) (15), ii) leucemia mieloblástica intensa (aguda) (15), iii) anemia aplásica (2), iv) LES (5), v) absceso cerebral (1) y vi) fallo hepático agudo (1). Se aislaron especie de *Aspergillus* y resultaron *Aspergillus flavus* (5) y *Aspergillus fumigatus* (4). Al detectarse el antígeno galactomanano fueron positivas en 17 pacientes y en 22 negativas. Se computó en tablas de contingencia de 2 x 2 una sensibilidad de 92%, una especificidad de 83%, con un valor predictivo positivo de 91% y un valor predictivo negativo de 83%. Y los resultados fueron: a) Los resultados logrados fueron confiables para su uso en la población del HIMFG. b) Las pruebas diagnósticas son seguras. c) La neutropenia no fue un factor determinante para padecer aspergilosis. d) El valor umbral del test fue de 1.5 en pacientes probados.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general.

- a) Determinar la frecuencia de la detección sérica positiva del antígeno galactomanano de *Aspergillus* sp. hallados en pacientes neutropénicos en un hospital oncológico de

Lima.

1.3.2 Objetivos Específicos.

- a) Determinar la frecuencia de los tipos de neutropenia hallados en pacientes atendidos con detección sérica positiva del antígeno galactomanano de *Aspergillus* sp. en un hospital oncológico de Lima.
- b) Determinar la frecuencia de la detección sérica positiva del antígeno galactomanano de *Aspergillus* sp. hallados en pacientes de acuerdo al servicio de atención en un hospital oncológico de Lima.
- c) Determinar la frecuencia de la detección sérica positiva del antígeno galactomanano de *Aspergillus* sp. hallados en pacientes con neoplasias hematológicas y neoplasias sólidas en un hospital oncológico de Lima.
- d) Determinar las características sociodemográficas de los pacientes con detección positiva del antígeno galactomanano de *Aspergillus* sp. en un hospital oncológico de Lima.

1.4. Justificación

El presente estudio de investigación, se considera relevante y de gran utilidad para el servicio de Microbiología del INEN, ya que por medio de su estudio se pudo saber varios datos epidemiológicos mediante graficas estadísticas. El objetivo fue entender la frecuencia de la detección sérica del antígeno galactomanano de *Aspergillus* sp. , esto enfocado para el diagnóstico precoz y el seguimiento evolutivo de la aspergilosis invasora en pacientes neutropénicos de nuestro centro hospitalario.

La antigenemia de galactomanano de los pacientes se determinó mediante la prueba comercial de la marca comercial *Platelia®Aspergillus* (ELISA tipo sandwich) mediante un estudios realizado en un pasado (retrospectivo).

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1 *Aspergillus* sp. : Generalidades

El género *Aspergillus* fue explicado por vez primera en el año 1729, por Micheli, quien constató que la cabeza conidial de este hongo era semejante a un “aspergillum” (utensilio utilizado para esparcir agua bendita), y fue Virchow que en 1856 plantea su relación con el ser humano (Ruíz, 2018, p. 2).

Koneman (2008) dijo que “las especies de *Aspergillus* están extensamente distribuidas en la naturaleza; se encuentran en el suelo, en la vegetación en descomposición y en gran diversidad de materia viviente” (p.1121).

Se conocen aproximadamente 900 especies de *Aspergillus*, que Fennell y Rapper clasificaron en 18 grupos, de ellos solo 12 se correlacionan con la enfermedad humana: *Aspergillus fumigatus* (85 %), *A. flavus* (5-10 %), *A. terreus* (2-3 %), *A. niger* (2-3 %), *A. nidulans*, *A. versicolor*, *A. clavatus*, *A. glaucus*, *A. cervinus*, *A. flavipes*, *A. candidus* y *A. ustus* (Ruíz, 2018, p. 2).

2.1.1.1 Morfología.

Murray (2002), mencionó que: “Estos microorganismos se identifican en cultivo por sus características morfológicas, el patrón de desarrollo de los conidióforos y el color de los

conidios formados” (p.656).

Koneman (2008) dijo que:

Al producirse las colonias de *Aspergillus* puede sospecharse, si se contempla en el cultivo una proliferación rápida (dentro de 3-5 días) que presenta un margen externo distintivo, una zona blanca de crecimiento nuevo. Las colonias nuevas pueden presentar una consistencia algodonosa, cuando maduran adquieren una consistencia azucarada o granular a medida que se producen los conidios (p.1123).

2.1.1.2 Características microscópicas.

Koneman (2008), argumenta que:

Se caracterizan por la producción de hifas tabicadas hialinas, uniformes de 4-6 μm de diámetro, paredes paralelas. La ramificación dicotómica en ángulo de 45° , tan característica del micelio invasor vista en los cortes de tejidos, suele observarse con menos frecuencia en las preparaciones diminutas (microscópicas) en fresco hechas de placas de cultivo. Un fragmento especializado de su hifa, conocido como célula basal o célula pie, sirve como base del origen de su conidióforo. Estos conidióforos finalizan en una ampolla dilatada, a partir de cuya superficie se origina una o dos columnas de fiálides, que dan como resultado a cadenas de conidios pigmentados (p.1123) (Fig.1).

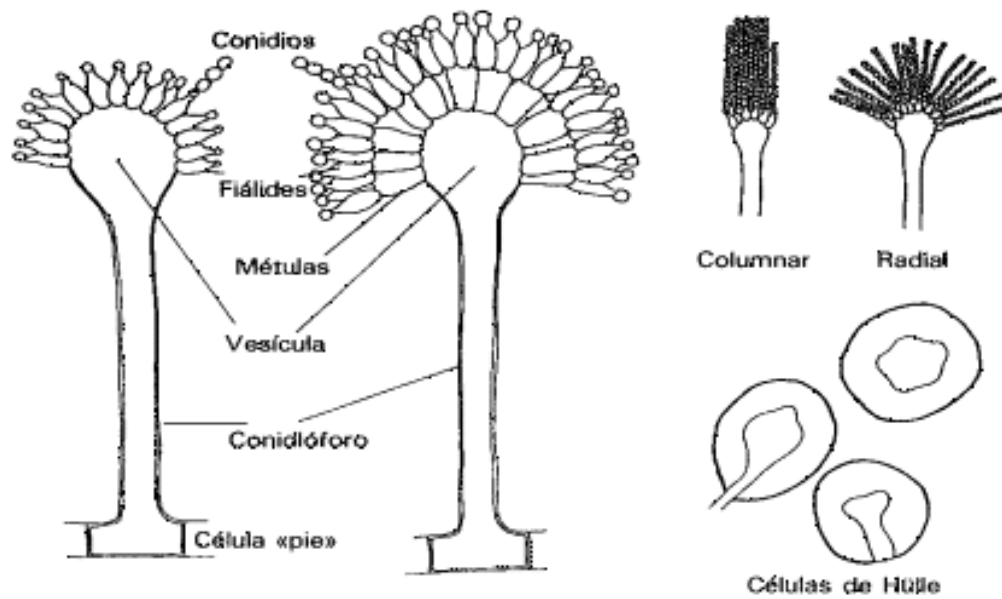


Figura 1: Características morfológicas de las principales especies de *Aspergillus sp.*

2.1.1.3 Aspergilosis y patogenicidad.

La aspergilosis denota una infección fúngica y oportunista (Besteiro, 2007, p. 205).

Al referirnos a aspergilosis nos referimos a todas aquellas infecciones fúngicas producidas por las diferentes especies del género *Aspergillus*, y es *Aspergillus fumigatus* la más usual, causando infecciones, algunas veces invasivas, que constituyen un desafío terapéutico (Chanzá, 2014, p. 43).

2.1.1.4 Vías de Infección.

Las vías de ingreso de las especies de *Aspergillus* son: las heridas quirúrgicas, las lesiones de piel, el oído y la córnea. En síntesis, esta afección ocurre en el lugar de entrada (fosas nasales, mucosa ocular, mucosa oral, tracto auditivo, etc.) y localizarse y diseminarse ya sea por proximidad y/o por penetración vascular produciendo enfermedad diseminada con compromiso de algún órgano (Arias, 2010, p.170).

2.1.1.5 Factores de riesgo.

Las aspergilosis invasoras causada por hongos *Aspergillus* afecta principalmente a pacientes que tienen leucemia aguda mieloide y a pacientes que se les hizo trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas (TPH-Alo), sin embargo también puede producirse en distintas neoplasias hematológicas. Pese a los avances en la prevención y la terapia contra la aspergilosis invasora, la incidencia y la mortalidad continúan siendo numerosas, inclusive en pacientes que no presenten componentes de riesgo (Solano, 2018, p.198).

Indudablemente, lo más relevante para esta afección es la neutropenia; mientras más profunda y prolongada sea, mayor serán los riesgos de adquisición de una aspergilosis invasiva (Rabagliati, 2018, p. 532).

Figueras y col. (2011), sostienen la vez que los principales factores de riesgo son:

- a) La neutropenia grave (< 500 neutrófilos/mm³) y prolongada (> 10 días),
- b) La disfunción cualitativa severa de neutrófilos (granulomatosis crónica),
- c) La carencia de inmunidad celular en pacientes que necesitan tratamientos inmunosupresores e intensos (corticoides, anti-TNF, inmunoglobulinas antilinfocíticas, alemtuzumab, fludarabina, entre otros) (p. 139).

2.1.1.6 Manifestaciones clínicas.

Los estados clínicos que el *Aspergillus* saprofito (spp.) produce en los pulmones son: “propagación y aspergilosis pulmonar crónica en sus diversas formas. En la forma alérgica de aspergilosis se encuentra: la aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA) y Asma peligrosa con sensibilización no ABPA” (López, 2015, p.38).

Besteiro (2007) refiere que:

Los signos son: fiebre contraria al tratamiento con antibióticos, dolor a nivel torácico, tos, disnea, etc., que pueden ser variables y ser no específicos; en algunos

casos hay presencia de bacterias ácido-alcohol resistentes (50 % de los enfermos), ya sea por microscopía o cultivo microbiológico y además la placa radiográfica de tórax estándar puede no detectar las lesiones nodulares y la biopsia (punción) de pulmón puede ser negativas incluso con enfermedad comprobada (p.205).

2.1.1.7 Pronóstico.

Hayden (2008), menciona que:

La predicción de esta infección progresa considerablemente con la diagnosis prematura y terapia oportuna con nuevos antifúngicos, por eso es de suma importancia contar con métodos de detección rápidos y confiables de aspergilosis invasiva. Los procedimientos de diagnóstico tradicionales como cultivo microbiológico e histopatología, requieren procedimientos invasores (biopsia de tejido) lo que muchas oportunidades dilatan el diagnóstico y son de provecho limitado en momentos precoces de la infección (483).

2.1.1.8 Epidemiología

La infección micótica invasora por hongos filamentosos es una causa reiterada de morbilidad y mortalidad en pacientes inmunodeprimidos. Estas infecciones son más habituales en pacientes hemato-oncológicos que presentan neutropenia, especialmente aquellos que padecen leucemia mielocítica aguda; pero, existen otros conjuntos de pacientes de riesgo sometidos a trasplante de órganos sólidos o de células precursoras hematopoyéticas, SIDA, enfermedad injerto contra hospedero, enfermedad granulomatosa, etc. a los que también se les pueden diagnosticar (Cruz, 2014, p. 173).

2.1.1.9 Diagnóstico.

La diagnosis de la aspergilosis invasora debe basarse en la sospecha clínica inicial y debe comprobarse mediante el examen directo de la muestra clínica, cultivo

microbiológico y rastreo sérico de antígeno galactomanano (Arias, 2010, p. 169).

Fortún (2012) manifestó que:

El diagnóstico de aspergilosis invasiva es engorroso debido a la posibilidad de invasión y contaminación y también al bajo valor predictivo del cultivo microbiano de muestras respiratorias, principalmente de esputo. El Grupo de Estudios Americanos para la Miosis (MSG) y la Organización Europea para la Investigación y Tratamiento del Cáncer (EORTC) presentaron unas sugerencias diagnósticas para infección fúngica invasiva, que fueron recientemente examinadas.

Estas sugerencias establecen tres apreciaciones para diagnóstico, y son:

- i. infección probada,
- ii. infección probable, o
- iii. infección posible (p.204).

Según Figueras y col. (2011), describen estos puntos acerca de la infección fúngica invasora (IFI), de esta manera:

- IFI probada: histocitopatología positiva con hifas o esporas a partir de biopsia punción espirativa con aguja, con demostración de lesión hística relacionado o con cultivo microbiológico positivo de alguna zona estéril con clínica o radiología coincidente con infección.
- IFI probable: la sumatoria de, al menos, una valoración relativa al huésped más una valoración micológica más una valoración clínica.
- IFI posible: cuando existen factores del paciente y evidencia clínica de IFI sin valoración micológica positiva existe, al menos, una valoración relativa al huésped más una valoración microbiológica o una valoración clínica mayor o dos menores (p. 140).

López (2015) manifestó que:

El rastreo de galactomanano (GM) es, unido con la Tomografía Computarizada (TC) los exámenes no basadas en cultivo microbiológico que más aportan al diagnóstico de aspergilosis invasora. Su aplicación ha demostrado su suma utilidad en la monitorización de pacientes onco-hematológicos (p.39).

2.1.1.9.1 Diagnóstico microbiológico convencional.

El diagnóstico con microscopia directa y cultivo microbiológico en el agar Sabouraud tiene una sensibilidad desde 11% a 80%, obedeciendo del tipo de muestra, enfermedad base y coyuntura del diagnóstico de la infección; pero, no siempre se pueden tomar muestras invasoras (lavado broncoalveolar o biopsias) a estos pacientes, debido a las condiciones basales y complejidades que presentan (Cruz, 2014, p.173)

Los métodos de diagnóstico convencionales como histopatología y cultivo microbiológico, necesitan métodos invasivos (biopsia de tejido) lo que siempre atrasa el diagnóstico y son de provecho limitado en etapas tempranas de la infección (Hayden, 2008, p.483).

2.1.1.9.2 Diagnóstico inmunológico.

El estudio con bio-marcadores se ha posicionado como una importante opción no invasora de apoyo diagnóstico y está incluido en los criterios EORTC/MSG41, 42. Las mayores experiencias publicadas son con galactomanano (GM) y en segundo lugar con 1,3→ β-d-glucano (BDG) (Rabagliati, 2018, p. 534).

a) (1-3)-beta-D glucanos

El (1-3)-β-D-glucano es un componente que forma parte de la pared celular de *Aspergillus* y otros hongos como *Candida* y *Pneumocystis carinii* que podría ser hallado empleando pruebas comercializadas (Rabagliati, 2018, p. 534).

Es un método de rastreo pan fúngico que, en ocasiones en aspergilosis, ha

advertido cifras de sensibilidad por encima del 60%. Hay incertidumbre sobre su uso como técnica de diagnóstico precoz en pacientes neutropénicos (Cuenca, 2012, p.261).

Su limitación principal es su incapacidad para distinguir entre cuadros de tan diferente manejo como una fusariosis y una candidiasis (Figuera, 2011, p.136).

b) El antígeno galactomanano

El galactomanano es forma parte de la pared fúngica; en la medida que se van desarrollando las hifas se van liberando y nos da la posibilidad de medirlo en sangre del paciente, favoreciendo el diagnóstico de infección invasora por *Aspergillus spp.* (Rabagliati, 2018, p. 534).

Arias (2010) sostiene que:

El rastreo del antígeno galactomanano mediante inmunoensayo es positiva en las primeras fases de la infección, pudiendo detectar de 2 a 3 semanas antes que la aglutinación en la prueba de látex y antes de la aparición de signos y/o síntomas de infección fúngica lo que la hace en una herramienta valiosa para la instauración de una terapia precoz (p.170).

Chanzá (2014) argumenta que:

Muchos autores confluyen en que un resultado $AG \geq 0,5$ en dos sueros consecutivos incrementa la especificidad y un valor predictivo positivo del test. Si se realiza solo una determinación serológica un índice de $AG \geq 0,7$ podría ser considerado como resultado positivo. Si la muestra procesada es lavado broncoalveolar el punto de corte para positividad del índice fluctúa según autores de 0,5 a 1 (p. 44).

La sensibilidad del procedimiento depende varios factores, pero en la población de riesgo (onco-hematológicos neutropénicos) es mayor al 90% (Figueiras, 2011, p.136).

El rastreo de galactomanano muestran falsos positivos en numerosas circunstancias: ingesta de piperacilina - tazobactam, reactividad cruzada con algunas

gérmenes, consumo de determinados alimentos o aumento de infiltración intestinal , consumo de amoxicilina - ácido clavulánico (Biorad, s.f., p.50).

El escrutinio de galactomanano pudiera exhibir resultados falsos positivos ante diversos eventos, como por ejemplo : uso de amoxicilina - ácido clavulánico, reacción cruzada con ciertas bacterias, ingesta de piperacilina - tazobactam, uso de ciertos alimentos o incremento de la absorción intestinal (Biorad, s.f., p.50).

En el laboratorio de Microbiología de INEN, de acuerdo a los resultados, el valor umbral (o valor de corte) para dicho ensayo se consideran los valores mayores o igual a 0.5 como un resultado positivo. En nuestra rutina de trabajo se considera los valores (ratio) negativos y positivos según el inserto del fabricante, de la siguiente forma:

- i) Resultados negativos: valores menores de 0.5
- ii) Resultados indeterminados: valores de 0.5 a 0.8
- iii) Resultados positivos bajos: valores de 0.8 a 1.4
- iv) Resultados positivos: valores de 1.5 a 2.9
- v) Resultados positivos altos: valores de 3.0 a más.

2.1.2 Neutropenia. Generalidades

Se le denomina neutropenia al descenso del recuento total de neutrófilos circulantes (Torrent, 2006, p. 31).

2.1.2.1 Los leucocitos polimorfonucleares

Los leucocitos son las células sanguíneas responsables de reconocer y depurar cualquier agente desconocido del organismo; son, por tanto, un componente fundamental en la lid contra la infección y la evolución de la reacción inflamatoria (Moraleda, 2017, p. 205).

2.1.2.2 Valores referenciales de leucocitos

En la fórmula leucocitaria se habla de neutrofilia, eosinofilia, linfocitosis, basofilia, y monocitosis, cuando se comprueba un incremento absoluto o relativo de cada linaje celular. Y hablamos de neutropenia, linfocitopenia, monocitopenia, eosinopenia, cuando ocurre una disminución” (Guerci, 1985, p.100). Lo observamos en la Tabla 1.

Tabla1. Valores referencial de leucocitos y su recuento diferencial.

Valores normales de leucocitos	
Adultos	4 – 11 x 10 ⁹ /L
Recién nacidos	10 – 24 x 10 ⁹ /L
Niños de 1 año	6 – 18 x 10 ⁹ /L
Niños de 4 a 7 años	5 – 15 x 10 ⁹ /L
Niños de 8 a 12 años	4,5 - 13,5 x 10 ⁹ /L
Recuento diferencial en adultos	
Neutrófilos	2 - 7,5 x 10 ⁹ /L
Linfocitos	1,5 – 4 x 10 ⁹ /L
Monocitos	0,2 – 0,8 x 10 ⁹ /L
Eosinófilos	0,04 – 0,4 x 10 ⁹ /L
Basófilos	0,01 – 0,1 x 10 ⁹ /L

Fuente: Moraleda (2017).

2.1.2.3 Los Neutrófilos

Los neutrófilos derivan de la célula pluripotencial de la médula ósea, después de un desarrollo progresivo de proliferación, por el cual las células mudan de mieloblastos a promielocitos y en mielocitos (Moraleda, 2017, p. 205).

Radillo (2005) manifestó que: “Los neutrófilos son los leucocitos circulantes más comunes (65% del total circulante con una concentración de 2.0 a 7.0 x 10⁹/L)” (p. 512).

Aunque RINCS (s.f.) dice que: “el adulto saludable tiene como promedio entre

1500 - 7000 neutrófilos / mm³ (1.5 - 7.0 x 10⁹/L). En los niños menores a 6 años la cantidad de neutrófilos puede ser más bajo (p.5).

2.1.2.3.1 Recuento y distribución de los neutrófilos.

Moraleda (2017) dijo que “durante la infancia se producen variaciones importantes en los valores referenciales de los diferentes linajes de leucocitos. En el recién nacido, predominan los neutrófilos. Los linfocitos se incrementan rápidamente durante su etapa neonatal (primeros 30 días de vida), en conclusión, éstos son los leucocitos predominantes en los niños pequeños, y pueden alcanzar a representar, en circunstancias normales, entre el 60 ó 70% del total” (p. 31).

Torrent (2006), afirma también que:

El número total de neutrófilos del organismo se encuentra distribuido en 4 compartimientos: Medular, Circulante, Marginal, y Tisular.

De este total, el 50% se aloja en el compartimiento medular y una pequeña porción, en el circulante (p. 31).

2.1.2.3.2 Función de los neutrófilos.

Son los neutrófilos, el primer obstáculo defensivo que combaten a las bacterias y hongos oportunistas. La neutropenia, por tanto, implica un incremento del riesgo de padecer infecciones bacterianas repetitivas que, en los enfermos con neutropenia severa (< 500 neutrófilos/ μ l), pueden ser funestas (Guerci, 1985, p.100).

Moraleda (2017), dice que “la función normal de los granulocitos neutrófilos puede dividirse en 04 fases: adhesión, quimiotaxis, fagocitosis y bacteriólisis”.

a) **Adhesión:** La migración de los neutrófilos desde la sangre a los tejidos es una fase activa en el que interviene un complejo dispositivo de moléculas de adhesión situadas en la membrana de los leucocitos, que se activan secuencialmente y que

tienen sus receptores específicos situados en el endotelio vascular. Este mecanismo les permite voltear y anexarse con progresiva firmeza a la superficie endotelial mediante selectinas, integrinas y otras moléculas y sus receptores para posteriormente atravesar la valla endotelial (Moraleda, 2017, p.210).

b) **Quimiotaxis:** Es el mecanismo por el cual los neutrófilos viajan desde la sangre periférica en la dirección precisa del foco de infección o inflamación, donde se acumulan tras pasar entre células endoteliales de la microcirculación (Moraleda, 2017, p.210).

c) **Fagocitosis:** En esta fase se produce el reconocimiento e ingestión de la bacteria o material extraño. Este reconocimiento se favorece en gran medida cuando el microorganismo se encuentra recubierto (opsonizado) por moléculas de IgG y complemento (C3b), ya que el neutrófilo posee receptores específicos de membrana para las mismas. Acto seguido, la membrana se invagina y simultáneamente emite pseudópodos, y engloba la partícula en una vacuola fagocítica o fagosoma (Moraleda, 2017, p.210).

d) **Bacteriolisis:** La formación de la vacuola fagocítica atrae a los gránulos primarios y secundarios, que se unen a la misma y liberan en ella su contenido (degranulación). La muerte microbiana depende, por una parte, de la acción lítica de las diferentes enzimas granulares (proteínas catiónicas, defensinas, lisozimas), pero el mecanismo más importante lo constituye la generación de metabolitos del oxígeno, de gran poder microbicida (Moraleda, 2017, p.210).

2.1.2.3.3 Disminución de una subpoblación de leucocitos

Los defectos de la función de los neutrófilos pueden ser hereditarios o adquiridos, resultando en un incremento en el peligro de las infecciones (Radillo, 2005, p.100).

Las disminuciones del número de leucocitos más significativas son las que afectan individual o simultáneamente los polimorfonucleares neutrófilos (neutropenia o los linfocitos (linfopenia). Entre las causas de neutropenia destacan como más importantes, los agranulocitos y la aplasia medular. En esta última, además de la neutropenia, se observará la simultánea disminución de todas la series hematopoyéticas (pancitopenia). En la agranulocitosis se observa la reducción selectiva de los polimorfonucleares neutrófilos y un aumento relativo en el número de linfocitos (Vives, 2014, p. 60).

2.1.2.3.4 Neutropenia Generalidades.

La neutropenia puede ocurrir por razones diferentes. Los enfermos con neoplasias malignas pueden estar neutropénicos causada por la quimioterapia que reciben. A veces la neutropenia acontece posterior a un contagio viral. Hay personas que llegan a nacer con neutropenia, y hay otros casos en las que no se llega a determinar la causa (RINCS, s.f., p.5).

En la población adulta, la neutropenia se define al conteo total de neutrófilos menores a $1,5 \times 10^9/l$ en la sangre periférica. En los niños con menos de 12 meses, se considera como límite, cuando es inferior de $1 \times 10^9/l$. La consecuencia fisiopatológica de la neutropenia es el acrecentamiento del riesgo de infecciones (Moraleda, 2017, p.216).

La tradicional triada en enfermos neutropénicos encierra: dolor pleurítico, hemoptisis e hipertermia (López, 2015, p.38).

2.1.2.3.5 Clasificación de la neutropenia.

La rigidez de la neutropenia usualmente depende del Recuento Absoluto de neutrófilos (RAN) que se detalla a continuación:

- a) Neutropenia Leve: cuando el RAN es menor a 1500 por mm^3 (1.5 por $10^9/\text{L}$), pero mayor a 1000 por mm^3 (1.0 por $10^9/\text{L}$).
- b) Neutropenia Moderada: cuando el RAN se ubica entre 500 y 1000 por mm^3 ($0.5 - 1,0$ por $10^9/\text{L}$)
- c) Neutropenia grave: aquí el RAN es inferior a 500 por mm^3 (< 0.5 por $10^9/\text{L}$) (Moraleda, 2017, p. 216).

Algunas etnias (africanos, judíos, yemeníes, etc.) presentan recuentos de neutrófilos alrededor de 1 por $10^9/\text{l}$ de forma crónica, que son considerados normales y que no se vinculan con patología (neutropenia étnica benigna) (Moraleda, 2017, p.216).

Las neutropenias suelen ser de origen central, periférico o mixto, y las primeras, a su vez, congénitas y adquiridas. El peligro de infección es especialmente grave por debajo de $0,5 \times 10^9/\text{l}$ y cuando la duración de la neutropenia supera los 7 días. Son habituales las infecciones por microorganismos de la propia flora endógena de piel, boca, orofaringe y tracto gastrointestinal (Moraleda, 2017, p.216).

En pacientes pediátricos la causa más usual de neutropenia son las infecciones, entretanto que en pacientes adultos, además de ésta, lo es el consumo de fármacos (Moraleda, 2017, p.216).

2.1.2.3.6 Causas de las neutropenias.

Las de origen adquirido son más usuales que las congénitas y pueden presentarse de forma aguda o crónica. La diagnosis de neutropenia crónica se reserva para los casos de neutropenia mantenida durante más de 3 a 6 meses, según distintos autores (Torrent, 2006, p.31).

Para Vives (2014), las causas son las siguientes:

- a) Ingesta de algunos medicamentos.
- b) Enfermedades reumáticas y autoinmunes.
- c) Infecciones.
- d) Neutropenia crónica idiopática.
- e) Neutropenia con linfocitosis T.
- f) Enfermedades hematológicas.
- g) Tratamiento con citostáticos (p.177).

Los enfermos de cáncer tienen neutropenia por causa del tratamiento de quimioterapia a las que son sometidos. Hay ocasiones en que la neutropenias ocurre posterior a unas infecciones virales. Hay personas que nacen neutropénicos, y en otras no se logra a saber el origen (RINCS, s.f., p.5).

2.1.3 Relación de neutropenia y aspergilosis invasiva

Para Rabagliati (2018), la frecuencia no es igual todos los grupos estudiados:

La mayor incidencia se presenta en aquellos pacientes que presentan cáncer hematológico; entre éstos, perjudica frecuentemente a enfermos diagnosticados con leucemias mieloides agudas (LMA) que con las otras leucemias agudas o leucemias crónicas y menos frecuente con mielomas múltiples (MM) y linfomas (p. 37).

2.1.4 Definición de términos básicos

Aspergillus.- Hongo filamentoso, saprófito, ubicuo en el ambiente y se encuentra comúnmente en materiales de desecho (Rezendiz, 2010, p.4).

Aspergilosis invasora.- Es una afección causada por *Aspergillus* sp. en paciente inmunocomprometido, especialmente neutropénico, esta enfermedad adopta una forma invasiva y diseminada (López, 2014, p.38).

Antigenemia.- Presencia de determinados antígenos en el torrente sanguíneo.

Antígeno de galactomanano.- Es el antígeno presente en la pared de *Aspergillus* spp. , *Paecilomyces* spp. , *Penicillium* spp. , y en menor medida, de otras variedades de hongos. Es de gran interés para el diagnóstico de la aspergilosis ya que es liberado en la circulación sanguínea (Figueras, 2011, p.134).

ELISA (Inmunoensayo por ligado a enzimas).- Es una técnica que utiliza un antígeno/anticuerpo inmovilizado en una superficie para capturar y separar un anticuerpo/antígeno específico de otros anticuerpos/antígenos expuestos en suero (Murray, 2002, p.489).

Frecuencia.- Se refiere al número de ocasiones en que aparece, se realiza o sucede una cosa durante un espacio o un período determinados.

Neutropenia.- Es la reducción del conteo total de neutrófilos circulantes (Torrent, 2006, p.31).

Pacientes neutropénicos.- Son aquellos que presentan una mayor susceptibilidad para presentar infecciones microbianas, principalmente a partir de la flora endógena (Torrent, 2002, p.31).

III. MÉTODO

3.1 Tipo de investigación

El trabajo realizado fue de tipo descriptivo, transversal y de corte retrospectivo.

Decimos que fue de transversal, pues los datos para su investigación se obtienen en un momento establecido.

La intención de estudio consistió en pormenorizar las variables y examinar su interrelación y coincidencia en una ocasión determinado (Hernández, 2010, p.176).

El diseño para este estudio fue no experimental, puesto que no se manipularon las variables.

3.2 Ámbito temporal y espacial

3.2.1 Ámbito temporal

Esta propuesta investigativa se realizó entre los meses de julio del año 2019 y setiembre del año 2019.

3.2.2 Ámbito espacial

Esta investigación se desarrolló en las instalaciones del Laboratorio de Microbiología, que forma parte del Equipo Funcional de Patología Clínica, del Departamento Patología - INEN, distrito de Surquillo, región Lima, país Perú.

3.3 Variables

3.3.1. Antígeno galactomanano de *Aspergillus* sp.

Este antígeno forma parte de la pared celular de *Paecilomyces* spp. , *Aspergillus* spp. , y *Penicillium* spp. , y, en otra diversidad de hongos. Guarda interés en la diagnosis

de la aspergilosis ya que este antígeno se libera al torrente sanguíneo (Figueiras, 2011, p.136).

3.3.2. Pacientes neutropénicos

Son pacientes que presentan una mayor susceptibilidad para presentar infecciones bacterianas, principalmente de la flora endógena. La susceptibilidad a infecciones en el enfermo neutropénico está vinculado con distintos factores: gravedad y duración de la neutropenia, estado de la reserva medular de neutrófilos, naturaleza de la modificación primaria y presencia asociada de monocitosis (Torrent, 2002, p.33).

3.3.3 Operacionalización de la variable

Fue de la siguiente manera, como se observa en la Tabla 2.

Tabla 2: Operacionalización de las variables

Variable	Concepto	Indicador	Escala/categoría
Antígeno galactomanano de <i>Aspergillus</i> sp.	Antígeno que forma parte de la pared celular de <i>Paecilomyces</i> spp , <i>Aspergillus</i> spp., y <i>Penicillium</i> spp., y, en otra diversidad de hongos.	ELISA Tipo sándwich	- Negativo : menor a 0.5 - Indeterminado: 0.5 a 0.8 - Positivo bajo: 0.8 a 1.4 - Positivo : 1.5 a 2.9 - Positivo alto : 3.0 a más
Pacientes neutropénicos	Son pacientes que presentan una mayor susceptibilidad para presentar infecciones bacterianas, principalmente de la flora endógena.	Recuento absoluto de neutrófilos (RAN)	- Neutropenia leve: de 1.0 a $1.5 \times 10^9 / L$ -Neutropenia moderada: 0.5 a $1.0 \times 10^9 / L$ -Neutropenia severa: menor a $0.5 \times 10^9 / L$

3.4 Población y muestra

3.4.1 Población (N)

La población de estudio la conformaron todos los resultados de pacientes oncológicos a los cuales se les realizó el test de ELISA para detección de antígeno de galactomanano que fueron ingresadas al Laboratorio de Microbiología del INEN del periodo Enero 2016 - Diciembre 2017, el cual fueron de 13 792 resultados, los mismos que se les habían realizado el hemograma completo.

3.4.2 Muestra (n)

En esta investigación, nuestro muestreo fue dirigido o también denominado no probabilístico.

Hernández (2010) dice, que el muestreo dirigido o también llamado no probabilístico es un pequeño grupo de la población en la que la elección de los componentes no depende de una probabilidad salvo de la esencia del estudio (p.176).

Existieron razones de que nuestro tipo de muestra fue de tipo no probabilístico, pues se emplearon todos los resultados positivos, que fueron 1185 resultados, o sea, el 8,59% de nuestra población de estudio.

Aquí la técnica no fue mecánica ni utilizó fórmulas de probabilidad, solo dependió del juicio de toma de una decisión del investigador y, desde luego, las muestras elegidas cumplen otras reglas del estudio (Hernández, 2010, p.176).

El muestreo de resultados serológicos trabajados provino de las siguientes áreas de la institución hospitalaria (INEN):

- Cirugía Menor
- Infectología
- Cirugía de mamas y tejidos blandos
- Medicina Oncológica
- Neumología

- Patología (Externo)
- Patología Clínica (Laboratorio)
- Pediatría
- Procedimientos especiales
- Trasplante Médula Ósea en adultos
- Trasplante Médula Ósea en pediatría
- Unidad de Cuidados Intensivos - UCI
- Unidad de Cuidados Intermedios - UCIN

4.2.3 Criterios de inclusión y de exclusión

En la presente investigación se tomó en cuenta los siguientes criterios:

- Se incluyeron resultados de paciente con resultado positivo e indeterminado a galactomanano y con hemogramas que presente recuentos absolutos de los neutrófilos (RAN) menores a $1.5 \times 10^9/L$.
- Se excluyeron todos los resultados de pacientes con hemogramas que presenten recuentos absolutos de neutrófilos (RAN) superiores a $1.5 \times 10^9/L$.

Los resultados positivos a la prueba de EIA serán cotejados con la historia clínica para discernir algún resultado falso positivo, ya que existen antibióticos que podrían producir reacción cruzada.

3.5 Instrumentos

Para la recolección de datos se elaboró una tabla *ad hoc*, (con autorización y solicitada al INEN) donde se alimentó de los siguientes componentes:

a) Registro de procedimientos ELISA para muestras sanguíneas del Laboratorio de Microbiología de INEN para detección sérica de antígeno galactomanano con resultados positivos.

b) Programa de base de datos hospitalario para cotejar el recuento de neutrófilos.

En dicha tabla *ad hoc*, se consignó:

- Fecha de tamizaje
- Código de la muestra
- Edad
- Sexo
- Lugar de procedencia
- Servicio de procedencia
- Diagnóstico
- Resultado de la prueba
- Recuento absoluto de neutrófilos
- Interpretación

3.6 Procedimientos

Antes del inicio de esta investigación se solicitó una autorización formal a la institución hospitalaria.

Luego, se realizó el análisis de tipo descriptivo para determinar la frecuencia relativa del escrutinio del antígeno galactomanano de *Aspergillus* sp. en suero de pacientes trasplantados, pacientes con neoplasias sólidas y con neoplasias hematológicas, relacionando con el recuento absoluto de neutrófilos , así como realizar una descripción de las características demográficas de nuestros pacientes. Estos datos provinieron de resultados de prueba de ELISA tipo sándwich *Platelia®Aspergillus*.

3.7 Análisis de datos

Para nuestro estudio de estadística de tipo descriptivo, se realizaron procesos básicos de: codificación, tabulación y construcción de tablas y gráficos.

La indagación de la data se realizó apoyándonos con paquetes estadísticos vigentes.

La técnica utilizada para el contraste estadístico se efectuó con el analizador estadístico *SPSS*® (versión 24.0; Chicago, Illinois, EEUU).

3.8 Aspectos éticos

En el presente estudio se respetaron las normas éticas y guardó en anonimato la filiación de los pacientes.

IV. RESULTADOS

En el Laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas se procesaron 13 792 sueros para detección de antígeno de galactomanano provenientes de pacientes atendidos durante los años 2016 y 2017.

De los resultados obtenidos se tomaron en cuenta solamente los resultados indeterminados y positivos (valores cuyo ratio salieron mayores o iguales a 0.5).

Todos los sueros de los pacientes fueron procesados con prueba de ELISA *Platelia® Aspergillus*.

Los datos fueron obtenidos mediante un estudio retrospectivo.

Para el presente trabajo se tomaron 1185 resultados positivos (así como también los indeterminados) y fueron considerados en nuestro estudio (8.6 % del total de 13 792 determinaciones).

Tabla 3. Detección sérica positiva del antígeno galactomanano de *Aspergillus sp.* hallados en suero de pacientes 2016-2017.

Nivel	Frecuencia	%
Indeterminado	526	44.39%
Positivo bajo	421	35.53%
Positivo	153	12.91%
Positivo alto	85	7.17%
Total	1185	100.00%

Como se aprecia en la Tabla 3, de los 1185 resultados positivos, predominan los resultados indeterminados con 526 (44.39%), con lo se puede interpretar como sueros de pacientes que podrían estar con reacción cruzada al test, sin embargo éstas se repitieron para despejar alguna duda.

El segundo lugar lo ocupan los resultados Positivos bajos con 421 (35.53%), en tercer lugar los resultados Positivos con 153 (12.91%) y el cuarto lugar los resultados positivos altos con 85 (7.17%).

De acuerdo a los tipos de neutropenia de los pacientes positivos al antígeno galactomanano atendidos se obtuvo la siguiente frecuencia (Tabla 4):

Numero de neutrófilos	Frecuencia	Porcentaje
Neutrofilia	68	5.7%
Neutrófilos con recuento aceptable	320	27.0%
Neutropenia leve	65	5.5%
Neutropenia moderada	75	6.3%
Neutropenia severa	520	43.9%
Análisis clínico externo	137	11.6%
Total	1185	100.0%

Tabla 4. :

Frecuencia de acuerdo a los tipos de neutropenia de los pacientes atendidos durante 2016 – 2017.

De acuerdo a la Tabla 4, de acuerdo al tipo de neutropenia, se observa que la neutropenia severa es la que predomina con 520 casos y que representa el 43.9%, seguida por neutropenia moderada con 75 atenciones (6.3%), y le sigue anemia leve

con 65 atenciones (5.5%). Hay que advertir que dentro del 1185 sueros a antígeno de galactomanano positivo, existían pacientes con neutrofilia (68; 5.7%), pacientes con recuento de neutrófilos con recuento aceptable (320; 27%) y un número de sueros a los que únicamente se les realizó el escrutinio de manera particular (análisis clínico externo) (137; 11.6%).

Al cruzar estadísticamente los Niveles de Galactomanano y los tipos de neutropenia se confeccionó la siguiente tabla:

Tabla 5: Niveles de galactomanano vs. los tipos de neutropenia de sueros positivos a galactomanano 2016 – 2017.

Nro Neutrófilos		Nivel de galactomanano				Total
		Indeterminado	Positivo bajo	Positivo	Positivo alto	
Neutrofilia	n	29	26	13	0	68
	%	42.6%	38.2%	19.1%	0.0%	100.0%
Neutrófilos normales	n	143	116	35	26	320
	%	44.7%	36.3%	10.9%	8.1%	100.0%
Neutropenia leve	n	29	25	8	3	65
	%	44.6%	38.5%	12.3%	4.6%	100.0%
Neutropenia moderada	n	48	17	7	3	75
	%	64.0%	22.7%	9.3%	4.0%	100.0%
Neutropenia severa	n	218	187	76	39	520
	%	41.9%	36.0%	14.6%	7.5%	100.0%
A. Clínico Ext	n	59	50	14	14	137
	%	43.1%	36.5%	10.2%	10.2%	100.0%
Total	n	526	421	153	85	1185
	%	44.4%	35.5%	12.9%	7.2%	100.0%

En la Tabla 5, se observa que los resultados con neutropenia severa (520 casos), son los que predominan; y son los de resultado indeterminado que encabezan la lista con 218 resultados (41.9%), segundo lugar positivo bajo con 187 casos (36%), le siguen

positivo con 76 casos (14.6%) y positivo alto con 39 (7.5%).

Les siguen la neutropenia moderada y neutropenia leve.

También se determinó la detección sérica del antígeno galactomanano de *Aspergillus* sp. en pacientes por servicio de atención:

Tabla 6: Frecuencia de la detección sérica del antígeno galactomanano de *Aspergillus* sp. en pacientes por servicio de atención 2016-2017.

Servicio de atención hospitalaria		Antígeno galactomanano				Total
		Indeterminado	Positivo bajo	Positivo	Positivo alto	
CIRUGIA MENOR	n	47	67	33	20	167
	%	28.1%	40.1%	19.8%	12.0%	100.0%
INFECTOLOGIA	n	24	11	1	2	38
	%	63.2%	28.9%	2.6%	5.3%	100.0%
MAMAS Y TEJIDOS BLANDOS	n	1	0	0	0	1
	%	100.0%	0.0%	0.0%	0.0%	100.0%
MEDICINA ONCOLÓGICA	n	333	245	75	41	694
	%	48.0%	35.3%	10.8%	5.9%	100.0%
NEUMOLOGIA	n	11	8	0	2	21
	%	52.4%	38.1%	0.0%	9.5%	100.0%
PATOLOGIA	n	0	1	0	1	2
	%	0.0%	50.0%	0.0%	50.0%	100.0%
PATOLOGIA CLINICA (LABORATORIO)	n	22	23	9	7	61
	%	36.1%	37.7%	14.8%	11.5%	100.0%
PEDIATRIA	n	65	48	31	11	155
	%	41.9%	31.0%	20.0%	7.1%	100.0%
PROCEDIMIENTOS ESPECIALES	n	2	0	1	0	3
	%	66.7%	0.0%	33.3%	0.0%	100.0%
TAMO_MED_TRANSPLANTE MED.OSEA	n	0	1	0	0	1
	%	0.0%	100.0%	0.0%	0.0%	100.0%
TAMO_PED_TRANSPLANTE MED.OSEA	n	17	13	2	1	33
	%	51.5%	39.4%	6.1%	3.0%	100.0%

UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS	n	4	4	0	0	8
	%	50.0%	50.0%	0.0%	0.0%	100.0%
UNIDAD DE CUIDADOS INTERMEDIOS	n	0	0	1	0	1
	%	0.0%	0.0%	100.0%	0.0%	100.0%
Total	n	526	421	153	85	1185
	%	44.4%	35.5%	12.9%	7.2%	100.0%

De acuerdo a la Tabla 6, vemos que la frecuencia de la rastreo sérico del antígeno galactomanano de *Aspergillus* sp. en pacientes por servicio de atención 2016-2017, sobresalen los pacientes del Servicio de Medicina Oncológica, donde a la mayoría de pacientes se les practicó la quimioterapia. Los medicamentos que se emplearon fueron los denominados antineoplásicos (quimioterápicos), y sus efectos secundarios pudieron acarrear un descenso de los leucocitos, provocando una inmunodepresión al enfermo, incrementando los peligros contraer alguna infección.

De acuerdo al tipo de neoplasia, es decir si son neoplasias de órganos sólidas o neoplasias hematológicas, en relación a los resultados positivos en la detección de galactomanano fue como se observa en la siguiente tabla:

Tabla 7: Tabla cruzada de acuerdo a Tipo de neoplasia y Nivel de galactomanano

Tipo de neoplasia		Nivel de galactomanano				Total
		Indeterminado	Positivo bajo	Positivo	Positivo alto	
Neoplasia hematológica	n	438	337	119	63	957
	%	45.8%	35.2%	12.4%	6.6%	100.0%
Neoplasia sólida	n	54	42	17	6	119
	%	45.4%	35.3%	14.3%	5.0%	100.0%
Neoplasia benigna	n	0	2	0	0	2
	%	0.0%	100.0%	0.0%	0.0%	100.0%
Por definir	n	34	40	17	16	107
	%	31.8%	37.4%	15.9%	15.0%	100.0%
Total	n	526	421	153	85	1185
	%	44.4%	35.5%	12.9%	7.2%	100.0%

De acuerdo a la Tabla 7, la frecuencia de la detección sérica del antígeno

galactomanano de *Aspergillus sp.* de acuerdo de tipo de neoplasia, son los pacientes con neoplasias hematológicas (leucemias) los que predominan con 957 determinaciones positivas de un total de 1185, que equivale a 80.7%; las neoplasias hematológicas presenta resultados indeterminados sobresalen con 438 determinaciones (45.8 %), seguido por resultados positivos bajos con 337 (35.2%), resultados positivo con 119 (12.4%) y resultados positivos altos con 63 casos (6.6%).

Con respecto a las neoplasias de órganos sólidos está conformado por 119 determinaciones, que representa 10.04% de un total de 1185 determinaciones.

Con respecto a las neoplasias benignas está conformado por 2 determinaciones, que representa 0.16 % de un total de 1185 determinaciones.

Con respecto a las patologías por definir está conformado por 107 determinaciones, que representa 9.02% de un total de 1185 determinaciones.

Como se observó en la tabla anterior, que son las neoplasias hematológicas las que predomina con 80.7 % de las 1185 resultados positivos, se procedió a determinar el número de casos tomando en cuenta al número de pacientes (614 pacientes), resultando 425 pacientes (69.2%) con enfermedades onco-hematológicas, como se detalla en la siguiente tabla:

Tabla 8: Determinación de tipos de enfermedades onco-hematológicas en un hospital oncológico, durante 2016 - 2017.

Tipo de Leucemia	n	%
Leucemia Linfoide Aguda	116	27.3
Leucemia Mieloide Aguda	90	21.2
Mieloma Múltiple	29	6.8
Leucemia de Células T adulta	25	5.9
Leucemia No Hodgkin	21	4.9
Enfermedad Hodgkin	20	4.7
Leucemia Monocítica Aguda	17	4.0
Leucemia Promielocítica Aguda	14	3.3

Leucemias Agudas, otras	9	2.1
Otras hemopatías	84	19.8
Total	425	100.0

En la Tabla 8, se observa el predominio de las leucemias agudas. Observamos que 116 pacientes presentan Leucemia Linfocítica Aguda (27.3 %) y 90 pacientes presentan Leucemia Mieloide Aguda (21.2 %). Ambas encabezan la lista de leucemias en el presente estudio. Se observa también predominio de otras leucemias agudas.

Se realizó la estadística descriptiva de las características sociodemográficas, de acuerdo al sexo de los pacientes:

Tabla 9: Detección del antígeno galactomanano de *Aspergillus* sp. en un hospital oncológico de Lima por de acuerdo al Sexo, durante 2016 - 2017.

Nivel de galactomanano		Sexo		Total
		Masculino	Femenino	
Indeterminado	n	294	232	526
	%	55.9%	44.1%	100.0%
Positivo bajo	n	226	195	421
	%	53.7%	46.3%	100.0%
Positivo	n	74	79	153
	%	48.4%	51.6%	100.0%
Positivo alto	n	43	42	85
	%	50.6%	49.4%	100.0%
Total	n	637	548	1185
	%	53.8%	46.2%	100.0%

Se observa en la tabla 9, de un total de 1185 resultados positivos, 637 determinaciones corresponde sexo masculino (53.75%) y 548 determinaciones corresponde sexo femenino (46.25%). Hubo cierto predominio del sexo masculino. Y en las determinaciones de acuerdo al nivel de la detección de galactomanano, las

cantidades son cercanas entre ambos sexos, como se aprecia en la figura (Fig.3).

Se realizó la estadística descriptiva de las características sociodemográficas, de acuerdo a la edad de los pacientes.

Tabla 10: Tabla de características sociodemográficas, de acuerdo a la edad de los pacientes.

Nivel de galactomanano	N	Mín.	Máx.	Media	Mediana
Indeterminado	526	0,00	83,00	30,69	27,00
Positivo bajo	421	0,00	77,00	30,38	27,00
Positivo	153	0,00	79,00	31,53	31,00
Positivo alto	85	1,00	82,00	31,61	33,00
Total	1185	0,00	83,00	30,75	28,00

Se observa que los pacientes atendidos tienen edades entre: menores a 1 años de vida y el otro extremo pacientes que bordean los 80 años aproximadamente, y como edad promedio bordean los 30 años, como se aprecia en la Tabla 10.

Tabla 11: Tabla de características sociodemográficas, de acuerdo a los rangos de edad de los pacientes.

Edad Rangos	Mujeres	%	Varones	%	Total	%
0 a 10	44	44	56	56	100	100
11 a 20	49	43.4	64	56.6	113	100
21 a 40	61	37.9	100	62.1	161	100
41 a 60	87	50.9	84	49.1	171	100
61 a 80	31	47.0	35	53.0	66	100
81 a más	2	66.7	1	33.3	3	100
Total	274		340		614	

En la Tabla 11, vemos que fueron 614 pacientes en el estudio, los mismos que obtuvieron de manera global 1185 resultados positivos. Vemos que los pacientes que oscilan entre las edades de 41 a 60 años, predomina con 171 pacientes, y ligeramente predominan los mujeres (50.9%). Los pacientes de rango de 21 a 40 años, cuenta con

161 pacientes, y aquí predominan los varones (62.1 %). La población infantil, los rangos de 0 a 10 años, y fueron 100 pacientes, donde predominan los varones (56 %).

De acuerdo a las características sociodemográficas, se confeccionó una tabla según la procedencia de los pacientes, de acuerdo al departamento o región del Perú.

Tabla 12: Tabla de características sociodemográficas, de acuerdo a la procedencia por departamento o región de los pacientes

Departamento	Nivel de galactomanano				Total	
	Indeterminado	Positivo bajo	Positivo	Positivo alto		
AMAZONAS	n	4	4	1	1	10
	%	40.0%	40.0%	10.0%	10.0%	100.0%
ANCASH	n	31	23	18	7	79
	%	39.2%	29.1%	22.8%	8.9%	100.0%
APURIMAC	n	3	8	1	1	13
	%	23.1%	61.5%	7.7%	7.7%	100.0%
AREQUIPA	n	1	4	1	2	8
	%	12.5%	50.0%	12.5%	25.0%	100.0%
AYACUCHO	n	7	8	1	0	16
	%	43.8%	50.0%	6.3%	0.0%	100.0%
CAJAMARCA	n	28	18	10	2	58
	%	48.3%	31.0%	17.2%	3.4%	100.0%
CALLAO	n	16	8	5	2	31
	%	51.6%	25.8%	16.1%	6.5%	100.0%
CUSCO	n	12	9	2	2	25
	%	48.0%	36.0%	8.0%	8.0%	100.0%
HUANCAVELICA	n	2	2	0	0	4
	%	50.0%	50.0%	0.0%	0.0%	100.0%
HUANUCO	n	8	4	6	0	18
	%	44.4%	22.2%	33.3%	0.0%	100.0%

ICA	n	26	14	6	5	51
	%	51.0%	27.5%	11.8%	9.8%	100.0%
JUNIN	n	23	17	2	3	45
	%	51.1%	37.8%	4.4%	6.7%	100.0%
LA LIBERTAD	n	23	18	0	1	42
	%	54.8%	42.9%	0.0%	2.4%	100.0%
LAMBAYEQUE	n	32	21	13	2	68
	%	47.1%	30.9%	19.1%	2.9%	100.0%
LIMA	n	243	212	65	56	576
	%	42.2%	36.8%	11.3%	9.7%	100.0%
LORETO	n	14	12	6	0	32
	%	43.8%	37.5%	18.8%	0.0%	100.0%
MADRE DE DIOS	n	0	1	2	0	3
	%	0.0%	33.3%	66.7%	0.0%	100.0%
MOQUEGUA	n	3	0	0	0	3
	%	100.0%	0.0%	0.0%	0.0%	100.0%
PASCO	n	3	1	1	0	5
	%	60.0%	20.0%	20.0%	0.0%	100.0%
PIURA	n	20	14	2	1	37
	%	54.1%	37.8%	5.4%	2.7%	100.0%
PUNO	n	6	1	3	0	10
	%	60.0%	10.0%	30.0%	0.0%	100.0%
SAN MARTIN	n	7	6	2	0	15
	%	46.7%	40.0%	13.3%	0.0%	100.0%
TACNA	n	5	2	3	0	10
	%	50.0%	20.0%	30.0%	0.0%	100.0%
TUMBES	n	5	3	2	0	10
	%	50.0%	30.0%	20.0%	0.0%	100.0%
UCAYALI	n	4	11	1	0	16
	%	25.0%	68.8%	6.3%	0.0%	100.0%
Total	n	526	421	153	85	1185
	%	44.4%	35.5%	12.9%	7.2%	100.0%

En la tabla 12, observamos que el departamento de Lima ocupa el primer lugar con 576 casos de un total de 1185, que representa el 48.6 %, seguido por Ancash 79 casos (6.66%) y Lambayeque 68 casos (5.73%), como las principales regiones.

Esto se deduce por el centralismo en nuestro país, por lo que Lima, y regiones costeras tienen mejor acceso para llegar a la capital.

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La presentación clínica de la aspergilosis invasiva es variable, inespecífica, y tardía es esencial sospecharla en situaciones de riesgo, tal sospecha deberá de confirmarse con exámenes de imagen y procedimientos microbiológicos.

La presente investigación nos ha ayudado a conocer la frecuencia del antígeno galactomanano de *Aspergillus* sp. presente en suero sanguíneo, y se evidenció que los más susceptibles a este marcador son pacientes con neutropenia severa especialmente aquellos pacientes con enfermedades onco-hematológicas (neoplasias malignas).

En semejanza a los estudios de Panichella (Argentina), en 2016, concluyó que las enfermedades de base correspondieron a leucemias agudas en 66,1% y de médula ósea en 27,4%. En el nuestro también predominaron las leucemias agudas (linfoides y mieloides) en un 80% de los resultados, como enfermedades de base.

Una limitación del presente estudio fue que los resultados positivos a antígeno galactomanano en suero, no se pudieron comparar con otras pruebas de diagnóstico como cultivos microbiológicos y estudios histopatológicos.

Otra limitación al presente estudio, es que esta prueba es muy sensible a contaminación, pues se necesita una cabina de flujo laminar, y si tuviéramos una se necesita un mantenimiento especializado y de manera regular. Además usa filtros HEPA, que son muy costosos.

VI. CONCLUSIONES

En conclusión, puede decirse que:

- a) Tras la ejecución de la tabulación de resultados positivos al escrutinio del antígeno galactomanano de pacientes de los años 2016-2017, sobresalen los resultados indeterminados con 526 (44.39%). El segundo lugar lo ocupan los Positivos bajos con 421 (35.53%), en tercer lugar los Positivos con 153 (12.91%) y el cuarto lugar pos positivos altos con 85 (7.17%).
- b) La frecuencia determinada de neutropenia fue el tipo de neutropenia severa que predominó con 520 casos, y representó el 43.9%, seguida por neutropenia moderada con 75 casos (6.3%), y le sigue anemia leve con 65 casos (5.5%).
- c) En los pacientes del Servicio de Medicina Oncológica (donde a todos se les practica la quimioterapia y radioterapia), son los medicamentos quimioterápicos, cuyos efectos secundarios conllevan a un descenso de los neutrófilos, y lo dejan vulnerables a infecciones.
- d) Los pacientes con neoplasias hematológicas (leucemias) son los que predominan con 957 determinaciones positivas de un total de 1185, que equivale a 80.7%; las neoplasias hematológicas presenta resultados indeterminados sobresalen con 438 determinaciones (45.8 %), seguido por resultados positivos bajos con 337 (35.2%), resultados positivo con 119 (12.4%) y resultados positivos altos con 63 casos (6.6%). Sobresalieron los resultados positivos a leucemias linfoide aguda y leucemia mieloide aguda, las que encabezan la lista.
- e) Sociodemográficamente, se concluyó que hay predominio del sexo masculino (53.75%). Las edades oscilan entre menores a 1 años y pacientes que bordean los 80

años, y la edad promedio bordea los 30 años. Los pacientes cuyas edades oscilan entre 41 a 60 representan el 27.9 %, y los pacientes cuyas edades oscilan entre 21 a 40 representan el 26.2 % de un total de 614 pacientes. Y de estos 614 pacientes, 425 presentaron leucemias (69.2). El departamento de Lima ocupó el primer lugar de atenciones con 576 resultados (48.6 %), seguido por Ancash 79 resultados (6.66%) y Lambayeque 68 resultados (5.73%).

VII. RECOMENDACIONES

Al concluir la tesis, se consideró sugerir las siguientes recomendaciones:

a) Se debe mejorar la comunicación entre el laboratorio de microbiología (que brinda el servicio) y las áreas usuarias (consultorios y servicios hospitalarios), sin esperar a que un paciente inmunodeprimido (con neutropenia severa) llegue a tener aspergilosis pulmonar invasiva.

b) Se debe tener mayor vigilancia en la toma de muestra sanguínea, pues al no existir un protocolo validado de requisitos y una ficha clínica de la muestra, estos a veces son rechazados y en su defecto a veces son procesados, por la urgencia de la parte usuaria. Aquí, lamentablemente, se encuentra el grueso de resultados indeterminados (dudosos o reacción cruzada).

c) Se recomienda que a pacientes que se le han practicado quimioterapia y radioterapia, y tiene neutropenia latente se les debe realizar el test de manera obligatoria, de manera seriada, para monitorearlos y detectar de manera precoz esta infección.

d) Se debería tener mucho cuidado con infecciones latentes en pacientes con neoplasias hematológicas. Tomar en cuenta las barreras físicas de protección, ya que de acuerdo a este estudio es el grupo más vulnerable (visita familiar y personal sanitario).

e) Se sugiere que en los nosocomios del Perú, también cuenten con este tipo de ensayo, es decir se debe descentralizar este test, pues se evidencia que la aspergilosis pulmonar invasiva es letal en pacientes inmunodeprimidos, y su detección precoz ayudaría enormemente a evitar complicaciones.

VIII. REFERENCIAS

- Arias, L., Garza, E., Velásquez, G., Martínez, C. y Ruiz, G. (2010). La identificación del antígeno circulante de galactomanano de *Aspergillus* como factor pronóstico en pacientes con enfermedades hematológicas. *Revista Hematológica* 2010, *11*(4), 169-172. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/hematologia/re-2010/re104b.pdf>
- Besteiro S. (2007). Utilidad clínica de la detección del antígeno galactomanano de *Aspergillus* en inmunosuprimidos. *Anuario Fundación Dr. Villavicencio*, (15): 205-207. Disponible en: <http://www.villavicencio.org.ar/pdf07/205.pdf>
- BioRad (s.f.). *Platelia™ Aspergillus EIA Platelia*. Disponible en : http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/.../62796_881045_ES.pdf
- Contreras, V., García, M. y Rojas, B. (2016). Aspergilosis invasora pulmonar en paciente con Leucemia Mieloide aguda en quimioterapia. *Micología Médica*, *31*(1): 36- 41. Disponible en: <http://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-868809>
- Chanzá, M., Fraile, M., Gimeno, C. y Ocete, M. (2014). Evaluación del antígeno galactomanano y la PCR en tiempo real de *Aspergillus* para el diagnóstico de aspergilosis invasiva. *Revista Especializada en Quimioterapia* 2014, *27*(1), 43-45. Disponible en: <http://seq.es/wp-content/uploads/2009/12/chanza.pdf>
- Cruz, R. (2014). Guía para el diagnóstico de laboratorio de enfermedad fúngica invasora por hongos filamentosos, *Revista Chilena de Infectología* 2014; *31* (2), 173-179. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v31n2/art08.pdf>

- Cuenca, M. (2012). Diagnóstico de laboratorio de la enfermedad fúngica invasora. *Revista de Enfermedades Infecciosas – Microbiología Clínica*, 30(5): 257–264. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-pdf-S0213005X1200064X>
- Figueras, C., Díaz, C., Navarro, M., Roselló, E. y Álvez, F. (2011). Invasión fúngica invasiva (IFI): actualización. Asociación Española de Pediatría Protocolos diagnóstico-terapéuticos de la AEP: Infectología pediátrica. (135-147). Madrid, España. Disponible en: <https://www.aeped.es/documentos/protocolos-infectologia-en-revision>.
- Fortún, J., Meije, J., Fresco, G. y Moreno, M. (2012). Aspergilosis. Formas clínicas y tratamiento. *Revista de Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica*, 30(4), 201-208. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-aspergilosis-formas-clinicas-tratamiento-S0213005X12000316>
- Guerci, A. 1985. Laboratorio: Métodos de análisis y su interpretación .3a ed. Buenos Aires: Editorial “El Ateneo”.
- Hayden, R., Pounds, S., Knapp, K., Petraitiene, R., Schaufele, R., Sein, T. y Walsh, T. (2008). Galactomanano y aspergilosis invasora en niños. *Revista Chilena de Infectología* 2008, 25 (6), 483-485. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182008000600013
- Hernández, R., Fernández, C., Baptista y M. (2010). Metodología de la investigación. 5a ed. México D.F.: Mc Graw-Hill / Interamericana Editores, S.A.
- Koneman E. (2008). Diagnóstico Microbiológico: Texto y Atlas. 6a ed. México: Panamericana.

- López, A. y Andía, C. (2015). Aspergilosis pulmonar invasiva en paciente neutropénico. *Gaceta Médica Boliviana*, 38 (1) ,38-42. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1012-29662015000100010
- Martínez, L., Vilar, D., Cornejo, P. y Volkow, P. (2016). Neumonía nosocomial (NN) en pacientes con neoplasias hematológicas (NH). *Gaceta Médica Mexicana*, 152, 465-72. Disponible en: <https://medes.com/publication/115131>
- Moraleda, J. (2017). *Hematología 4ª ed.* Madrid: Luzán 5, S.A.
- Murray, P., Rosenthal, G., Kobayashi, G. y Pfaller, M. (2002.). *Microbiología Médica*. 6ª ed. Brasil: Elsevier
- Panichella, M., Epelbaum, C., Rosanova, T., Gómez, S., Kijko, I., Aravena, M., Costanzo, P., Santos, P. y Bologna, R. (2016). Infecciones fúngicas en pacientes hematológicos pediátricos. *Medicina Infantil*, 23 (1), 18-23. Disponible en: <http://www.medicinainfantil.org.ar>
- Rabagliati, R. (2018). Actualización en el diagnóstico y manejo de aspergilosis invasora en pacientes adultos. *Revista Chilena de Infectología*, 35 (5) ,531-544. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S071610182018000500531&lng=pt&nrm=iso&tlng=es
- Radillo, A. (2015) *Medicina Transfusional*. 2ª ed. México: Prado.
- Ramírez E. (2015) Neutropenia febril en pacientes con leucemia linfoblástica aguda: factores de riesgo de complicaciones Infecciosas. Departamento de Pediatría del Instituto Oncológico Nacional Dr. Juan Tanca Marengo- Guayaquil. 2013-2015. (Tesis de Grado). Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/34156/1/CD%201374-%20RAMIREZ%20JARAMILLO%20ERIKA%20ONEIDA.pdf>

- Resendiz, J. (2010). *Utilidad de la detección de galactomananos por ensayo inmunoenzimático para el diagnóstico de aspergilosis invasiva en pacientes neutropénicos ingresados en el Hospital Infantil de México Federico Gómez*. (Tesis de Maestría). Disponible en:
<http://tesis.ipn.mx/jspui/handle/123456789/9883>
- Rey, D., Bernal, L., Yomary, M., Parra, C., Garzón, J., Valderrama, S. y Cañas, A. (2016). Infección fúngica invasiva en pacientes inmunosuprimidos atendidos en un hospital de tercer nivel. *Revista Colombiana de Neumología*, 28 (1) ,10-16 Disponible en: <https://revistas.asoneumocito.org/index.php/rcneumologia/article/view/159>
- RINCS – Registro Internacional de Neutropenia Crónica Severa (2000). Manual para el paciente y su familia. Disponible en:
https://www.fcarreras.org/neutropenia_596137.pdf
- Rojas W. (2017). *Inmunología*. 18a ed. Medellín- Colombia: Corporación para investigaciones biológicas.
- Ruíz, I., Jenki, D., Castro, I., Rodríguez, O. y Méndez, L. (2018) Aspergilosis pulmonar. *Revista Médica Electrónica*, 40(4). Disponible en:
<http://www.revmedicaelectronica.sld.cu/index.php/rme/article/view/2599/3847>
- Solano, C. y Vásquez, L. (2018). Aspergilosis invasora en el paciente con enfermedad oncohematológica. *Revista Iberoamericana de Micología*, 35(4):198-205. Disponible en: <Pc01/Downloads/S1130140618300627.pdf>
- Torrent, M., Badell, I. y López E. (2006). Neutropenias. *Anales de Pediatría Continuada*, 4 (1) ,31-40. Disponible en: <http://www.apcontinuada.com/es-pdf-80000165>.

Vives, J. y Aguilar, J. (2014) Manual de técnicas de laboratorio de hematología 4a ed. Barcelona: Masson.

IX.ANEXOS

Anexo A. MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
<p>Problema general. ¿Cuál es la frecuencia de la detección sérica positiva del antígeno galactomanano de <i>Aspergillus sp.</i> hallados en pacientes neutropénicos en un hospital oncológico de Lima?</p> <p>Problemas específicos.</p> <p>a. ¿Cuál es la frecuencia de la detección sérica positiva del antígeno galactomanano de <i>Aspergillus sp.</i> hallados en pacientes atendidos en un hospital oncológico de Lima?</p> <p>b. ¿Cuál es la frecuencia de la detección sérica positiva del antígeno galactomanano de <i>Aspergillus sp.</i> hallados en pacientes de acuerdo al servicio de atención en un hospital oncológico de Lima?</p> <p>c. ¿Cuál es la frecuencia de la detección sérica positiva del antígeno galactomanano de <i>Aspergillus sp.</i> hallados en pacientes con neoplasias hematológicas y neoplasias sólidas en un hospital oncológico de Lima?</p> <p>d. ¿Cuáles son las características sociodemográficas de los pacientes con detección positiva del antígeno galactomanano de <i>Aspergillus sp.</i> en un hospital oncológico de Lima?</p>	<p>Objetivo general Determinar la frecuencia de la detección sérica positiva del antígeno galactomanano de <i>Aspergillus sp.</i> hallados en pacientes neutropénicos en un hospital oncológico de Lima.</p> <p>Objetivos específicos</p> <p>a. Determinar es la frecuencia de la detección sérica positiva del antígeno galactomanano de <i>Aspergillus sp.</i> hallados en pacientes atendidos en un hospital oncológico de Lima.</p> <p>b. Determinar la frecuencia de la detección sérica positiva del antígeno galactomanano de <i>Aspergillus sp.</i> hallados en pacientes de acuerdo al servicio de atención en un hospital oncológico de Lima.</p> <p>c. Determinar la frecuencia de la detección sérica positiva del antígeno galactomanano de <i>Aspergillus sp.</i> hallados en pacientes con neoplasias hematológicas y neoplasias sólidas en un hospital oncológico de Lima.</p> <p>d. Determinar las características sociodemográficas de los pacientes con detección positiva del antígeno galactomanano de <i>Aspergillus sp.</i> en un hospital oncológico de Lima.</p>	No Aplica	<p>Variable 1: Antígeno galactomanano de <i>Aspergillus sp.</i></p> <p>Variable 2: Pacientes neutropénicos</p>	<p>- Enfoque: cuantitativo - Tipo de investigación: descriptiva - Diseño de investigación: No Experimental, de corte transversal</p> <p>- Población: 13 792 resultados Enero 2016 - Diciembre 2017. - Muestra: 1185 resultados, es decir, el 8.59% de toda la población. Muestreo fue no probabilístico o también llamado dirigido. - Instrumento: Para la recolección de datos se elaboró una tabla <i>ad hoc</i>.</p>

C. Registro para test Galactomanano de *Aspergillus* (rutina).



INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES NEOPLÁSICAS



VARIOS

CÓDIGO INTERNO : _____ MUESTRA : _____

CAMA : _____ DPTO : _____

EDAD : _____

RESULTADOS : _____

OBS : _____

RESPONSABLE : _____

CÓDIGO INTERNO : _____ MUESTRA : _____

CAMA : _____ DPTO : _____

EDAD : _____

RESULTADOS : _____

OBS : _____

RESPONSABLE : _____

CÓDIGO INTERNO : _____ MUESTRA : _____

CAMA : _____ DPTO : _____

EDAD : _____

RESULTADOS : _____

OBS : _____

RESPONSABLE : _____

CÓDIGO INTERNO : _____ MUESTRA : _____

CAMA : _____ DPTO : _____

EDAD : _____

RESULTADOS : _____

OBS : _____

RESPONSABLE : _____

D. Inserto Platelìa TM *Aspergillus* Ag. Biorad (carátula).

PLATELIA™ ASPERGILLUS AG

1 plate - ▽ 96

REF 62794

- (BG) • Држув или човек може да помилува от представител на Bio-Rad. Задавайте детално изпитвателите на лизоната, откъдето е била отаконкрета (L3).
- (CZ) • Ostatní požadované jazyky jsou k dispozici u vašeho místního prodejce Bio-Rad. Podívejte si také u příslušného lékaře uvedeného na obalu (L3).
- (DE) • Andere Sprachen sind auf Anfrage von Ihrer Bio-Rad-Vertretung vor Ort erhältlich. Es ist zwingend die auf der Schüchdel gehaltene Version der Packungsanleihe zu verwenden (L3).
- (DK) • Hvis der ønskes andre sprog, kan de fås hos den lokale Bio-Rad-repræsentant. Indsættelse af omgrænset på lasset, skal altid anvendes (L3).
- (EE) • Teistele keeltes juhendi saate soovil korral korralikult Bio-Rad esindajalt. Kõikusihtlik on kasutada korralikult pakitud pakendi infolehte versiooni (L3).
- (EN) • Other requested languages can be obtained from your local Bio-Rad agent. Imparting the appropriate language version mentioned on the box (L3).
- (ES) • Puede solicitar otros idiomas a su agente local Bio-Rad. Ulises obligatoriamente el paquete adjunto, versión indicada en la caja (L3).
- (FI) • Muita kieltä on saatavilla omalla Bio-Rad -suostajalta. Kaikkien kieltojen käyttöä suositellaan huolellisesti pakattuna materiaalina (L3).
- (FR) • Pour obtenir d'autres langues, contactez votre agent Bio-Rad. Utilisez obligatoirement la version de la notice mentionnée sur la boîte (L3).
- (GR) • Για άλλα ομιλούμενα γλώσσες παρακαλούμε να επικοινωνήσετε με τον τοπικό σας αντιπρόσωπο Bio-Rad. Χρησιμοποιήστε αναγκαστικά τον τυπωμένο οδηγό που συζητάμεται στο κουτί (L3).
- (HR) • Ostali traženi jezici mogu se dobiti od lokalnog Bio-Rad agenta. Potrebno je koristiti onu verziju uputstva za upotrebu koja je navedena na kutiji (L3).
- (HU) • Egyéb nyelveken a helyi Bio-Rad képviselőktől szerezhető be. A csomagon szereplő verziószámú leírókötetből kell kitévesztévély használni (L3).
- (IT) • È possibile avere i Manuali di Istruzioni in altre lingue richiedendoli al collaboratore Bio-Rad di zona. Utilizzare tassativamente il manuale (L3) illustrato della versione citata sulla confezione (L3).
- (LT) • Informaciją galima gauti galima gauti iš vietinio Bio-Rad biūro. Patikima (L3) pakuotėje pateiktose versijose, nurodytą ein dažniau (L3).
- (NL) • Andere gewenste talen kunnen worden aangevraagd bij uw lokale Bio-Rad vertegenwoordiger. Het gebruik van de oorspronkelijke versie van de bijlathet (L3) is verplicht.
- (NO) • Andre ettertrakte språk kan fås fra den lokale Bio-Rad representant. Om nødvendig bruk pakningsveiledning som følger med (L3).
- (PL) • Informacje w innych językach można uzyskać u miejscowego przedstawiciela firmy Bio-Rad. Należy bezwzględnie zaopiniować się z uboką, dołączoną do produktu wskazaną na opakowaniu (L3).
- (PT) • É possível obter outros idiomas solicitados junto à sua agência Bio-Rad local. Consulte obrigatoriamente a versão do folheto informativo referida na embalagem (L3).
- (RO) • Alte limbi solicitate pot fi obtinute de la agentul dumneavoastră local Bio-Rad. Este imperativ să utilizați versiunea prospectului menționată pe cutia (L3).
- (SE) • Andra språk kan fås av din lokala Bio-Rad-återförsäljare. Använd alltid den version av bipackningsdlen som anges på förpackningen (L3).
- (SI) • Druge želene jezike lahko dobite pri katerikoli zastopniku Bio-Rad. Obvezno uporabite različico navodil za uporabo, navedeno na škatli (L3).
- (SK) • Další jazyky si můžete vyžádat u svého místního zastupce Bio-Rad. Bezpodmínečně používejte verzi z původního listku uvedenou na štětě (L3).



2013/10
881115

Distributed in the U.S. by:
Bio-Rad Laboratories
6565 185th Avenue NE
Redmond, WA 98052

Bio-Rad
3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette France
Tel. : +33 (0) 1 47 95 60 00
Fax: +33 (0) 1 47 41 91 33
www.bio-rad.com

For Customer Orders and Technical Service Call: 1-800-2-BIO-RAD (1-800-224-6723)



E. Formato de resultados de lecturas de placas Análisis de Galactomanano –Antígeno de *Aspergillus*



FORMATO DE RESULTADOS DE LECTURA DE PLACAS DE GALACTOMANANO
-V.01

RESULTADOS DE LECTURA DE PLACAS DE GALACTOMANANO

1. OBJETO:

Estandarizar el formato de registro de resultados de Lectura de placas de Galactomanano.

2. ALCANCE:

El presente documento se emplea para el registro de resultados de Lectura de placas de Galactomanano del Área de Trabajo Microbiología del Equipo Funcional de Patología Clínica del INEN. El mismo que está asociado al Registro de Resultados de Galactomanano DI PC-MI REG 11.

3. RESPONSABILIDAD:

- Encargado del Área de Trabajo Microbiología: Revisión.
- Coordinador de Equipo Funcional: Aprobación y Supervisión.
- Grupo de Trabajo Sistema de Gestión de la Calidad del Área de Trabajo Gestión de la Calidad: Elaboración.
- Grupo de Trabajo "Galactomanano" del Área de Trabajo Microbiología

4. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS:

- Ver Manual de Terminología del SGC (DI PC-PC MAN 03)
- Documento Interno Controlado: Documento en formato electrónico declarado en el Sistema Electrónico Documentario del Sistema de Gestión de la Calidad (SGC) con alcance de certificación del Equipo Funcional Patología Clínica (EFPC). Todo documento en formato papel esta fuera del control del SGC y el responsable del procedimiento (Directores de Oficina, Coordinador del EFPC, Y Encargado de Área de Trabajo) deben controlar su uso apropiado para dar conformidad al requisito 7.5, (Información documentada), de la Norma Internacional ISO 9001:2015.

5. FORMATO:

Formato en soporte:

- Registro electrónico (Ver Anexo 1)

Vía de Distribución:

- Solicitado al grupo de trabajo calidad de Microbiología.

Ubicación:

- Sector Área de Galactomanano.

DI PC-MI FOR 29

Fecha de Caducidad:
20/11/2021

Página 1 de 3





FORMATO DE RESULTADOS DE LECTURA DE PLACAS DE GALACTOMANANO
- V.01

6. ANEXOS:

ANEXO N° 1: FORMATO DE RESULTADOS DE LECTURA DE PLACAS DE GALACTOMANANO

BIO-RAD LABORATORIES PR2100

TEST NO. 99 W/L MODE DUAL DATE
TEST NAME ADASPERGIL TEST FILTER 450nm TIME
PLATE 002 REF. FILTER 620nm OPERATOR

QUALITY CONTROL

0.3 <= CO <= 0.8

VALID(CO) >= 1

NC/CO < 0.40

PC/CO > 1.50

RATIO EQUATION SAMPLE/CO
+EQN 0.50
0.500
-EQN 0.45
0.450

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

FUENTE: Elaboración propia.



ANEXO N° 2: LISTA DE DISTRIBUCIÓN

SOPORTE INFORMÁTICO:

- 1. Sistema documentario del Sistema de Gestión de la Calidad

SOPORTE PAPEL

- 1. Área de Gestión de la Calidad – Original



F. Procedimiento Normalizado de Análisis de Galactomanano –Antígeno de *Aspergillus*

INEN.



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO DEL ANALISIS GALACTOMANANO-ANTIGENO DE ASPERGILLUS
-V.01

PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO DEL ANALISIS GALACTOMANANO-ANTIGENO DE ASPERGILLUS

1. OBJETO:

Normalizar el procedimiento para la detección del Antígeno Galactomanano de *Aspergillus* en muestras de suero pediátrico y de adultos y en muestras de Líquido de Lavado Bronco alveolar.

2. ALCANCE:

El presente documento se emplea para realizar la detección del Antígeno Galactomanano de *Aspergillus* en muestras de suero pediátrico y de adultos y en muestras de Líquido de Lavado Bronco alveolar (Código de Tarifario: 250432), en el Área de Trabajo Laboratorio de Microbiología del Equipo Funcional de Patología Clínica del INEN.

3. RESPONSABILIDAD:

- Encargado del Área de Trabajo Laboratorio Microbiología: SUPERVISAR EL PROCESO DE ANALISIS DE LABORATORIO MICROBIOLOGIA.
- Personal del Área de Trabajo Laboratorio Microbiología programado en el grupo de Trabajo de Virus Respiratorio: REALIZAR EL ANALISIS DE LABORATORIO EN MUESTRA BIOLÓGICA.

4. DEFINICION DE TÉRMINOS:

- Ver Manual de Terminología del SGC (DI PC-PC MAN 03)

Documento Interno Controlado: Documento en formato electrónico declarado en el Sistema Electrónico Documentario del Sistema de Gestión de la Calidad (SGC) con alcance de certificación del Equipo Funcional Patología Clínica (EFPC). Todo documento en formato papel esta fuera del control del SGC y el responsable del procedimiento (Directores de Oficina, Coordinador del EFPC. Y Encargado de Área de Trabajo) deben controlar su uso apropiado para dar conformidad al requisito 7.5, (Información documentada), de la Norma Internacional ISO 9001:2015.

5. LINEAMIENTOS:

Análisis de muestras con acceso continuo.

6. SIGNIFICANCIA CLÍNICA:

Los hongos filamentosos, han ido incrementando su prevalencia. Concretamente, las especies del género *Aspergillus* son en la actualidad la principal causa de enfermedad fúngica invasora.¹



[Handwritten signature]



DI PC-MI PNT 30

Fecha de Caducidad:
20/11/2021

Página 1 de 10





PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO DEL ANALISIS GALACTOMANANO-ANTIGENO DE ASPERGILLUS
-V.01

Las infecciones por *Aspergillus* son infecciones oportunistas provocada por *Aspergillus fumigatus* principalmente, y en menor cantidad *Aspergillus niger*, *flavus*. La infección se produce por inhalación de esporas de *Aspergillus* presentes en el medio ambiente. La formas invasivas son las más graves. Los pacientes en riesgo son aquellos que presentan problemas de inmunidad: pacientes neutropénicos y oncológicos. La aspergilosis invasiva constituye una causa de mortalidad y morbilidad en inmunosuprimidos, sobretodo en pacientes hematológicos, otros factores que favorecen la aspergilosis invasiva son las aplasias secundarias a tratamientos inmunosupresores, para trasplante de órganos, tratamientos oncológicos y las corticoterapias. La eficacia del tratamientos para esta enfermedad depende en gran medida de la precocidad de su implementación. Aunque el diagnóstico es todavía difícil existen pruebas de detección de antígenos que ayudan a un diagnóstico temprano y oportuno.²

7. PRINCIPIO DE LA PRUEBA ANALÍTICA:

Platelia™ *Aspergillus* EIA es una determinación inmunoenzimática en sándwich en microplacas de un solo paso que detecta galactomanano en suero humano. En el método se utilizan anticuerpos monoclonales EBA-2 de rata, que se dirigen contra el galactomanano de *Aspergillus* y se han identificado en estudios previos. Se usan anticuerpos monoclonales para recubrir los pocillos de la microplaca y unirse al antígeno y para detectar el antígeno unido a la microplaca sensibilizada (reactivo conjugado: anticuerpos monoclonales ligados a peroxidasa). Las muestras de suero se tratan con calor en presencia de EDTA para disociar los complejos inmunes y precipitar las proteínas de suero que podrían interferir con la prueba. Las muestras de suero tratadas y el conjugado se añaden a los pocillos recubiertos con anticuerpos monoclonales y se incuban. Se formará un complejo anticuerpo monoclonal-galactomanano-anticuerpo monoclonal/peroxidasa en presencia del antígeno galactomanano.

Se lavan las tiras para eliminar el material que no haya reaccionado. A continuación, se añade la solución del sustrato, que reaccionará con los complejos ligados al pocillo para dar una reacción de color azul. La adición de ácido detiene la reacción enzimática y cambia el color azul por amarillo. La absorbancia (densidad óptica) de las muestras y controles se determina con un espectrofotómetro configurado con una longitud de onda de 450 y 620 nm.

8. SEGURIDAD Y CONSIDERACIONES MEDIOAMBIENTALES:

Se cumplirán las Normas de Bioseguridad 7.2.3 BSL 2: MAXIMA, Ver MANUAL DE BIOSEGURIDAD (DI PC-PC MAN 02).

9. REACTIVOS Y OTROS PRODUCTOS:

REACTIVOS:

Almacenar el estuche a 2-8°C y dejarlos estabilizar a temperatura ambiente (18-25°C) antes de su uso. Todos los reactivos, excepto los controles, deben devolverse a temperatura de refrigeración de 2-8°C inmediatamente después de su uso. Después de su reconstitución, el control negativo, el control del valor umbral y el control positivo

DI PC-MI PNT 30

Fecha de Caducidad:
20/11/2021

Página 2 de 10

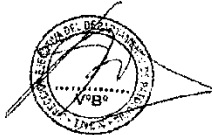




PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO DEL ANALISIS GALACTOMANANO-ANTIGENO DE ASPERGILLUS
-V.01

se deben congelar a -20°C . Las tiras o placas no usadas se deben reintroducir en sus bolsas, que se cerrarán. No retirar el secante. Las tiras deben utilizarse en las 5 semanas siguientes la apertura y resellado de la bolsa. Tras la dilución, la solución de lavado se puede conservar durante 14 días a $2-8^{\circ}\text{C}$. Todos los demás reactivos son estables hasta su fecha de caducidad después de su apertura. Los reactivos se suministran en cantidad suficiente para realizar 96 pruebas

Componente	Contenido	Cantidad
R1 Microwell Strip Plate	Microplaca : - 96 pocillos (12 tiras de 8 pocillos cada una) recubiertos con anticuerpos monoclonales antigalactomanano	1 placa / 12 x 8 pocillos
R2 Concentrated Washing Solution	Solución lavada concentrada (10x): - Tampón Tris NaCl - Tween® 20 al 1% - Timersol al 0,01%	1 x 100 mL
R3 Negative Control Serum	Suero de control negativo: - Suero humano negativo para galactomanano, liofilizado - Negativo para anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-VHC	3 x ca* 1 mL
R4 Cut-off Control Serum	Suero de control del valor umbral: - Suero humano liofilizado que contiene galactomanano - Negativo para anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-VHC	3 x ca* 1 mL
R5 Positive Control Serum	Suero de control positivo: - Suero humano liofilizado que contiene galactomanano - Negativo para anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-VHC	3 x ca* 1 mL
R6 Conjugate	Conjugado (listo para usar): - Anticuerpo monoclonal de antigalactomanano marcado con peroxidasa - Conservante: timersol al 0,01%	1 x 6 mL
R7 Serum Treatment Solution	Solución para tratamiento del suero (lista para usar): - Solución ácida de EDTA	1 x 10,5 mL
R8 TMB Substrate Buffer	Tampón de sustrato de TMB (listo para usar): - Solución de ácido cítrico y acetato ácido - Peróxido de hidrógeno al 0,006% - Dimetilsulfóxido (DMSO) al 4%	1 x 60 mL
R9 Chromogen: TMB Solution	Solución de cromógeno de TMB (concentrada): - Solución de dimetilsulfóxido (DMSO) al 90% que contiene tetrametilbenzidina (TMB) al 0,5% ²	1 x 1 mL
R10 Stopping Solution	Solución de parada (lista para usar): - Ácido sulfúrico (H_2SO_4) 1,5 N	1 x 12 mL
Plata sealers	Hojas adhesivas para microplacas	1 x 8 hojas



10. EQUIPAMIENTO:

- Lector de Elisa
- Incubadora
- Lavador de Elisa





PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO DEL ANALISIS GALACTOMANANO-ANTIGENO DE ASPERGILLUS
- V.01

- Sistema Informático de laboratorio (LIS): LABCORE

11. MUESTRA:

11.1 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

- Ver DI PC-PC MAN 05

11.2 SISTEMA BIOLÓGICO

- Suero

- Lavado alveolar

11.3 RECIPIENTE

- Tubo con gel separador

- Frasco con medio de transporte

11.4 CONSERVACION Y MANEJO

Suero:

Centrifugado de muestra (suero) a 3500 rpm por 10 minutos.

Las muestras no deben estar contaminadas con esporas micóticas o con bacterias. Transportar y almacenar las muestras de suero en tubos sellados no expuestos al aire. Las muestras no abiertas se pueden almacenar a 2-8°C hasta 5 días antes del estudio. Después de la primera apertura, las muestras se pueden conservar a 2-8°C durante un máximo de 48 horas antes del estudio. Para un almacenamiento más prolongado, conservar el suero a -70°C. Las muestras de suero pueden someterse a un máximo de 4 ciclos de congelación/descongelación.

Las muestras descongeladas deben mezclarse meticulosamente antes de la prueba. Los resultados no se afectan en muestras que contienen 20 mg/L de bilirrubina, muestras lipémicas que contengan el equivalente a 2 g/L de trioleína (triglicérido) o muestras hemolizadas que contengan 165 mg/L de hemoglobina. No existen interferencias relacionadas con el exceso de albúmina.

Líquido de Lavado Bronco alveolar:

Las muestras de líquido LBA deben estar extensas de contaminación por hongos, esporas y/o bacterias. Conserve y transporte las muestras en tubos sellados, no expuestos al aire. Una vez abiertas por vez primera, las muestras pueden conservarse a 2 - 8 °C durante 24 horas. Para almacenamientos más prolongados, conserve las muestras de LBA congeladas (-20°C o menos) hasta 5 meses. Las muestras de LBA resisten un máximo de 4 ciclos de congelación/descongelación. Las muestras previamente congeladas deben mezclarse bien después de la descongelación y antes de la prueba.

Controles:

Una vez abiertos los frascos de los controle negativo, control positivo y control de valor de corte, estos deben ser alícuotados en microtubos estériles en una cantidad que evite la pérdida de líquido al momento de ser congelados. Alícuotar en cada microtubo estéril 350 ul de cada uno.



DI PC-MI PNT 30

Fecha de Caducidad:
20/11/2021

Página 4 de 10



12 MODO OPERATIVO:

Procedimiento:

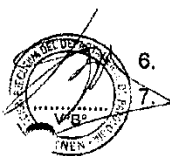
Observaciones sobre el procedimiento

Para validar los resultados de la prueba se deben analizar en cada tanda un control negativo, un control positivo y los controles del valor umbral. En todo momento trabajar en la cabina de flujo laminar, para evitar la contaminación con el aire del ambiente y trabajar en una zona de bajo tránsito.

Tratamiento de los sueros

Todos los sueros de control: negativo (R3), del valor umbral (R4) y positivo (R5) deben procesarse al mismo tiempo que las muestras en estudio:

1. Pipetear 300 μ L de cada muestra de suero/líquido LBA y cada control en tubos de polipropileno de 1,5 mL.
2. Añadir 100 μ L de solución de tratamiento del suero (R7) a cada tubo.
3. Mezclar bien los tubos agitando energicamente o usando el vortex. Cerrar bien el tubo para impedir que se abra durante el calentamiento.
4. Opción de bloque térmico: Calentar los tubos durante 6 minutos en un bloque de calor a 120°C. Los tubos se deben introducir en el bloque sólo cuando se alcance la temperatura prescrita, ya que es necesario el cumplimiento estricto con la temperatura y el tiempo de espera prescritos y el uso del material recomendado son esenciales para el éxito del análisis.
5. Extraer con cuidado los tubos calientes del bloque de calor e introducirlos en una centrifuga. Centrifugar los tubos a 10.000 x g durante 20 minutos en el programa N° 05 de la centrifuga refrigerada. Si se notara turbidez en el sobrenadante volver a centrifugar.
6. El sobrenadante se usa para la detección del antígeno galactomanano.



Estudiar los sobrenadantes con el siguiente procedimiento. Después de su preparación, el sobrenadante se puede extraer y almacenar a 2-8°C hasta 48 horas antes del estudio. Si los resultados indican que se debe repetir el análisis, se debe tratar otra alícuota de suero para su estudio.

Procedimiento de EIA

Cumplir estrictamente con el protocolo propuesto. Cumplir con las Buenas Prácticas de Laboratorio.

1. Estabilizar los reactivos a temperatura ambiente (18-25°C) al menos durante 15 minutos antes de su uso.
2. Preparar la solución de lavado, la solución de sustrato-cromógeno y los controles negativo, positivo y del punto de corte.
3. Preparar un diagrama para identificar los sueros y controles en estudio en cada microplaca. Usar un pocillo para el suero de control negativo: CN (R3), dos pocillos para el suero de control del valor umbral: CO1 / CO2 (R4) y otro para el suero de



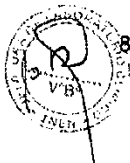


PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO DEL ANALISIS GALACTOMANANO-ANTIGENO DE ASPERGILLUS - V.01

control positivo: CP (R5). La disposición de los controles y muestras es la siguiente:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CP	M5	...									
B	CO1	M6	...									
C	CO2	M7	...									
D	CP	M8	...									
E	M1	M9	...									
F	M2	M10	...									
G	M3	M11	...									
H	M4	M12	...									

4. Extraer el soporte de la placa y las tiras de micropocillos (R1) de la bolsa de placas. Las tirillas no usadas deberán volver a la bolsa, con el secante, y se sellará inmediatamente.
5. Mezclar el contenido del frasco de conjugado (R6) invirtiéndolo antes de su uso. Añadir 50 µL de conjugado (R6) a cada pocillo, sin formar burbujas. A continuación, añadir 50 µL del sobrenadante tratado del suero a cada pocillo, como se ha indicado anteriormente; no cargar si se nota impureza en el sobrenadante. No añadir las muestras de suero a los pocillos antes que el conjugado. Homogenizar suavemente la placa sobre una superficie plana.
6. Cubrir la placa con su sellador, u otros medios que impidan la evaporación, y comprobar que toda la superficie está cubierta y hermética al agua.
7. Incubar la microplaca en un incubador seco de microplacas durante 90 ± 5 minutos a 37°C (± 1°C).
8. Retirar el sellador de la placa. Se procede al lavado de la placa y programar en el modo Aspergillus, esta programación contiene las 5 lavadas usando como mínimo 370 µL de la solución de lavado. Previamente se puede hacer un cebado con una tira usada para evitar o detectar alguna falla en el lavado. Después del último lavado, invertir la placa y golpear suavemente sobre papel secante para garantizar que se elimina todo el líquido.
9. Añadir rápidamente 200 µL de la solución de sustrato-cromógeno (R8 + R9) a cada pocillo, evitando la exposición a la luz brillante.
10. Incubar la microplaca en la oscuridad a temperatura ambiente (18 a 25°C) durante 30 ± 5 minutos. Durante este paso de incubación, no utilizar película adhesiva.





PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO DEL ANALISIS GALACTOMANANO-ANTIGENO DE ASPERGILLUS
-V.01

11. Agregar 100 µl de la solución de parada (R10) a cada pocillo en el mismo orden en que se agregó la solución de sustrato. Mezclar bien. Se notará un cambio de color de azul a amarillo.
12. Secar bien la base de la placa.
13. Leer la densidad óptica de cada pocillo a 450 nm (filtro de referencia de 620 nm). Las microplacas deberán leerse en los 30 minutos posteriores a la adición de la solución de parada. Programar la maquina lectora de ELISA.

Cálculo y reporte de resultados

Control del valor umbral: La densidad óptica de cada suero de control del valor umbral debe ser $\geq 0,300$ y $\leq 0,800$

Control positivo: El índice del suero de control positivo debe ser mayor de 2,00

$$I = \frac{DO \text{ Control positivo (R5)}}{\text{Media de la DO del control del valor umbral}} > 2,00$$

Control negativo: El índice del suero de control negativo debe ser menor de 0,40.

$$I = \frac{DO \text{ Control negativo (R3)}}{\text{Media de la DO del control del valor umbral}} < 0,40$$

Si alguno de los controles no cumple los criterios de validez expuestos anteriormente, los resultados de la prueba no se considerarán válidos y los resultados del paciente no podrán comunicarse. El operario puede decidir repetir el análisis después de revisar el procedimiento, o puede solicitar la ayuda del fabricante. Si se repite el análisis, se deberá usar una nueva alícuota de la misma muestra.



Interpretación de Resultados:

La presencia o ausencia del antígeno Galactomanano en la muestra en estudio se determina calculando un índice para cada muestra de pacientes. El índice (I) es la DO de la muestra dividida por la DO media de los pocillos que contienen el suero de control del valor umbral.



Cálculo de la densidad óptica media del control del valor umbral:

Sumar las densidades ópticas de los dos pocillos que contienen el suero de control del valor umbral (R4) y dividir por 2.

Cálculo de un índice (I) de cada suero en estudio:

Calcular la relación siguiente de cada suero en estudio:



$$I = \frac{DO \text{ de la muestra}}{\text{Media de la DO del control del valor umbral}}$$





PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO DEL ANÁLISIS GALACTOMANANO-ANTÍGENO DE ASPERGILLUS
-V.01

Los sueros con un índice $< 0,50$ se consideran negativos para el antígeno galactomanano.

Nota: Un resultado negativo indica que el resultado del paciente está por debajo del nivel detectable del análisis.

Nota: Los resultados negativos no descartan el diagnóstico de aspergilosis invasiva. Se recomienda repetir el estudio si el resultado es negativo, pero se sospecha que hay enfermedad.

Los sueros con un índice $\geq 0,50$ se consideran positivos para el antígeno galactomanano.

Para todos los pacientes positivos, se recomienda repetir la prueba con una nueva alícuota de la misma muestra, así como la toma de una nueva muestra del paciente para la realización de pruebas de seguimiento.

Nota: Un valor de absorbancia inferior a 0,000 puede indicar un error de procedimiento o instrumento que deberá ser evaluado. Ese resultado no es válido y deberá analizarse de nuevo la muestra.

Se recomienda la realización regular (dos veces por semana) de pruebas de detección a pacientes de alto riesgo para aumentar la sensibilidad de la prueba y obtener reacciones positivas lo antes posible.

Nota: La prueba Platelia™ Aspergillus EIA está pensada para ser usada como ayuda en el diagnóstico de la aspergilosis invasiva. Los resultados positivos obtenidos con Platelia™ AspergillusEIA deberían tomarse en cuenta junto con otros procedimientos diagnósticos, tales como cultivo microbiológico, análisis histológico de muestras obtenidas mediante biopsia y pruebas radiográficas



13 PROCESAMIENTO DE RESULTADOS:

Los hallazgos obtenidos son registrados en los registros correspondientes, luego ingresados al LIS LabCore, donde se realiza la validación de datos que son inmediatamente transmitidos al sistema informático hospitalario SISINEN.



14 CONTROL DE LA CALIDAD ANALÍTICA:

- Ver Procedimiento de Gestión de Calidad Analítica.
- Ver Procedimiento de Mantenimiento de Equipos.
- El Instructivo "Validación del Proceso de Prestación del Servicio" (DI PC-AC INS 02) determina las actividades para su implementación y mantenimiento.



15 VALIDACIÓN DE RESULTADOS:

- Para la validación de resultados previamente debe haber conformidad con los Controles de Calidad diario.





PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO DEL ANALISIS GALACTOMANANO-ANTIGENO DE ASPERGILLUS
- V.01

- La validación de resultados se realiza en el sistema LABCORE, verificando que la información haya sido enviada (liberados, transmitidos, migrados) al sistema informático hospitalario SISINEN.
- Para los pacientes que no tienen resultados previos, la validación está en función del Control de Calidad.
- Para los pacientes que tienen resultados previos, la validación se realiza en función a sus resultados históricos.
- En los casos de obtención de resultados discordantes, se indagará lo referente a la muestra con el área de procedencia (toma de muestra, hospitalización, emergencia, etc), para la validación de los resultados.
- Los resultados son validados en coordinación con el Médico Patólogo Clínico responsable del área.

16 RESULTADOS ANALÍTICOS

16.4 RANGO DE VALORES A INFORMAR:

Sub análisis 1: ANTÍGENO GALACTOMANANO DE ASPERGILLUS

- NEGATIVO, POSITIVO

Sub análisis 2: OBSERVACION, ANTÍGENO GALACTOMANANO DE ASPERGILLUS

- Describir hallazgos particulares de la prueba realizada.
- Indicar de requerimiento de nueva muestra

16.2. RANGOS DE ALARMA:

Sub análisis 1: ANTÍGENO GALACTOMANANO DE ASPERGILLUS

- NO APLICA

Sub análisis 2: OBSERVACION, ANTÍGENO GALACTOMANANO DE ASPERGILLUS

- Describir hallazgos particulares de la prueba realizada.
- Indicar de requerimiento de nueva muestra.

16.3. INTERVALOS DE REFERENCIA:

Sub análisis 1: ANTÍGENO GALACTOMANANO DE ASPERGILLUS

- NEGATIVO

Sub análisis 2: OBSERVACION, ANTÍGENO GALACTOMANANO DE ASPERGILLUS

- Describir hallazgos particulares de la prueba realizada.
- Indicar de requerimiento de nueva muestra.





PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO DEL ANALISIS GALACTOMANANO-ANTIGENO DE ASPERGILLUS
- V.01

17 CONTROL DE REGISTROS:

CÓDIGO DE IDENTIFICACIÓN	NOMBRE DEL REGISTRO	LUGAR DE ALMACENAMIENTO (TIEMPO) USO / TEMPORAL	RESPONSABLE DE PROTECCIÓN	TIEMPO DE ARCHIVO
DI PC-MI REG 11	Registro de resultados de Galactomanano	Sector Micología revistero (2 meses) / Jefatura Microbiología armario 22784 (10 meses)	Encargado del área de trabajo laboratorio de Microbiología	1 año
DI PC-PC REG 01	Sistema informático de laboratorio sinen	Base de Datos INEN (Permanente) / No Aplica	Jefe Oficina Informática INEN	Permanente
DI PC-PC REG 02	Sistema informático de laboratorio labcore	Base de Datos INEN (Permanente) / No Aplica	Jefe Oficina Informática INEN	Permanente

18 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

- Leeflang M., et al 2008. Determinación de galactomanano para la aspergilosis invasiva en pacientes inmunocomprometidos (Revisión Cochrane traducida). En: La Biblioteca Cochrane Plus, 2008 Número 4.
- Besteiro S. Anuario Fundación Dr. Villavicencio Año 2007 N° XV. Utilidad Clínica de la Detección de Antígeno Galactomanano de Aspergillus en inmunosuprimidos.

19 ANEXOS:

ANEXO N°1: LISTA DE DISTRIBUCIÓN

SOPORTE INFORMÁTICO:

- Sistema documentario del Sistema de Gestión de la Calidad

SOPORTE PAPEL

- Área de Gestión de la Calidad – Original

ANEXO N° 2: CONTROL DE CAMBIOS Y MEJORAS

CONTROL DE CAMBIOS Y MEJORAS				
REVISIÓN NÚMERO	PÁGINA	DESCRIPCIÓN DE LA MODIFICACIÓN Y MEJORA	FECHA DE LA MODIFICACIÓN	AUTORIZA MODIFICACIÓN
01	1-10	Se modifica secuencia de versión por cambio de nuestro SGC a ISO 9001:2015. Se toma como versión base DI PC-MI PNT 36 V03 del SGC ISO 9001:2008.	21/11/2017	M.C. Daniel Aguilar Rivera

