



Detección de ADN de *Aspergillus fumigatus* por RPC en tiempo real.

Detection of circulating *Aspergillus fumigatus* DNA by real-time PCR assay of large serum volumes improves early diagnosis of invasive aspergillosis in high-risk adult patients under hematologic surveillance.

Suarez F, Lortholary O, Buland S, Rubio MT, Ghez D, Mahé V, et al. *J Clin Microbiol* 2008 Nov; 46(11): 3772-7.

La aspergilosis invasora (AI) es una de las infecciones fúngicas más frecuentes en pacientes con malignidades hematológicas. A pesar de la terapia con nuevos antifúngicos, la mortalidad sigue siendo alta (50-70%). El inicio precoz de la terapia mejora la respuesta a tratamiento de los pacientes. La detección de galactomanano (GM) en suero es el único ensayo microbiológico aprobado para el diagnóstico de AI. Esta técnica puede presentar falsos positivos por reacción cruzada con otros hongos, por contaminación del ambiente y también en pacientes con trasplante de precursores hematopoyéticos durante los primeros 100 días post-trasplante, por lo que en estos casos la interpretación del GM debe ser cuidadosa. La detección de ADN circulante de *Aspergillus* sp por reacción de la polimerasa en cadena (RPC) constituye un método potencial para el diagnóstico definitivo de AI. En la mayoría de los estudios, la sensibilidad de este método es baja y esto podría deberse al bajo volumen de suero utilizado para la extracción de ADN (habitualmente 100 a 200 μ L). Utilizando un método de extracción automatizado de ácidos nucleicos, capaz de extraer ADN de 1 mL de suero, los autores intentaron responder a esta hipótesis.

Método: Estudio prospectivo en pacientes adultos con malignidades hematológicas que recibieron trasplantes alogénicos o autólogos o con quimioterapia (QT) intensiva (de inducción, consolidación o salvataje), realizando una búsqueda semanal de ADN de *A. fumigatus*. Compararon los resultados obtenidos con la extracción de mayor volumen con las de volumen convencional. La detección de ADN de *A. fumigatus* se realizó mediante RPC en tiempo real (RPC-TR). **Resultados:** durante un período de 13 meses (febrero 2006 a marzo 2007), 124 pacientes adultos (138 episodios de tratamiento con QT), fueron considerados de alto riesgo para AI, de los cuales 17 desarrollaron AI (1 probada, 14 probables y 2 posibles). Un 43% (404/938) de las muestras fueron analizadas comparativamente (alto y bajo volumen de suero) obteniéndose una sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictor positivo (VPP) y valor predictor negativo (VPN) para alto volumen de suero de 100-96,7-85 y 100% versus 77,5-96,7-81,3 y 95,6% para bajo volumen de suero. De los 17 pacientes con AI, 15 tenían al menos dos detecciones de GM consecutivas positivas (criterio EORT), mientras que todos tuvieron al menos una RPC-TR positiva. Al comparar la RPC-TR con volumen mayor de

suero con la detección de GM, se observó una S, E, VPP y VPN de 100%, 96,7%, 81% y 75% para RPC-TR y 88,2%, 95,8%, 75% y 98,3% para GM. En cuanto al tiempo de positividad, las RPC-TRs con alto volumen de suero, resultaron positivas antes que el GM en cuatro casos y simultáneas en ocho casos. Resultados similares se observaron al comparar alto volumen de suero con bajo, siendo los resultados con bajo volumen más tardíos en seis casos.

Discusión: Un aumento de 10 veces en el volumen de extracción, eleva los VPNs a 100%, utilizando la RPC-TR en pacientes con malignidades hematológicas con alto riesgo. En seis casos la positividad del método con mayor volumen precedió a la de menor volumen. Cuatro casos negativos con volúmenes pequeños fueron positivos con mayor volumen. El uso de un método automatizado de extracción fue más rápido y fácil con menor probabilidad de contaminación, lo que podría explicar el bajo número de falsos positivos obtenidos con esta RPC-TR. El estudio semanal con alto volumen presenta mejor S, E, VPP y VPN que el GM bisemanal. El uso de suero para la RPC-TR sería más apropiado que el estudio de leucocitos. La desventaja de este método es que fue desarrollado para detectar *A. fumigatus* a diferencia de GM que detecta *Aspergillus* sp. Sin embargo, *A. fumigatus* es el agente que más frecuentemente causa aspergilosis en pacientes onco-hematológicos. En pacientes de alto riesgo es difícil diferenciar los falsos positivos de casos verdaderos. Tres casos falsos positivos con RPC-TR, probablemente fueron AI abortadas por un inicio precoz de la terapia.

Conclusión: La RPC-TR utilizando un mayor volumen de suero mejora la detección ADN de *Aspergillus* y agrega un valor clínico a la detección de GM en pacientes con malignidades hematológicas de alto riesgo.

Comentarios: La RPC-TR para *Aspergillus*, constituye una herramienta diagnóstica emergente que, aunque aún no es considerada un criterio mayor de AI, en un futuro no muy lejano podría llegar a serlo. Este artículo me parece muy interesante dado que con el sólo hecho de aumentar el volumen extracción, se pueden obtener mejores resultados.

Cecilia Tapia P.

Programa de Microbiología y Micología, ICBM
Facultad de Medicina Universidad de Chile.