

## Micosis pulmonares en pacientes de la Quinta Región. Período 2007-2010

RODRIGO CRUZ CH.<sup>1,3</sup>, PEGGY VIEILLE O.<sup>1,2,a</sup>, DANIELA FUENTES H.<sup>1,4</sup>,  
ELLIETE PONCE E.<sup>b</sup>, EDUARDO PIONTELLI L.<sup>1</sup>

### Frequency of pulmonary mycoses determined by analyzing lung secretion samples

**Background:** The frequency of pulmonary mycoses has increased in the past few years specially in immunocompromised patients. **Aim:** To determine the frequency of invasive fungal diseases by analyzing lung secretion samples. **Material and Methods:** Samples of bronchoalveolar lavage (BAL) tracheal aspiration (TA) and induced sputum (IS) were obtained from patients of five hospitals in the Valparaíso Region for the diagnosis of invasive or non-invasive fungal disease, and pneumocystis (PCP), in the period 2007-2010. Clinical data of patients was obtained reviewing medical records or interviewing attending physicians. The diagnosis considered the clinical condition of the patient (immunocompromised or prior lung damage), computed tomography imaging, direct microscopy and cultures. European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group (EORTC/MSG) criteria was used for the diagnosis of invasive fungal diseases. **Results:** Ninety respiratory samples were received and 39 fungal infections were diagnosed. Eleven were probably invasive, seven were non-invasive and 21 were PCP. All patients with probable invasive disease had neutropenia. Most patients with non-invasive infections had bronchiectasis. *Aspergillus fumigatus* was the main causing agent in both invasive and non-invasive fungal diseases. Patients with PCP were mostly adults with AIDS and children with leukemia. The total mortality rate of patients with invasive fungal disease was of 73%. No deaths were recorded among patients with non-invasive disease. Among patients with PCP, three of 11 HIV and six of 10 non HIV subjects died. **Conclusions:** *Aspergillus fumigatus* predominates both in invasive and non-invasive pulmonary mycoses. The former has a high mortality. PCP occurred mainly in adult patients with HIV-AIDS.

(Rev Med Chile 2012; 140: 595-601).

**Key words:** *Aspergillus fumigatus*; Lung diseases, fungal; Pneumonia, pneumocystics.

Las micosis pulmonares pueden ser tanto invasoras como no invasoras, en pacientes inmunocomprometidos o con factores de riesgos específicos<sup>1,2</sup>. Las especies involucradas en este tipo de infecciones comprenden un amplio grupo pertenecientes entre otros a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Scedosporium* y taxas pertenecientes a los Mucormycotina, sin embargo, *Aspergillus fumigatus* corresponde a la especie de mayor frecuencia en los aislamientos<sup>3,4</sup>.

En los últimos años hemos asistido a un incremento de las aspergilosis invasoras, debido al aumento de los trasplantes, tratamientos inmunodepresores, citotóxicos y pacientes con SIDA<sup>5,6</sup>, además de una mayor sospecha y mejores herramientas diagnósticas<sup>7,8</sup>.

Las formas de presentación clínica no invasoras están constituidas por la colonización traqueobronquial, la aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA) y el aspergiloma o bola fúngica.

<sup>1</sup>Micología y Microbiología  
Universidad de Valparaíso,  
Chile.

<sup>2</sup>Anatomía Patológica  
Universidad de Valparaíso,  
Chile.

<sup>3</sup>Infectología Hospital  
Carlos Van Buren,  
Valparaíso, Chile.

<sup>4</sup>Infectología y Pediatría  
Hospital Carlos Van Buren,  
Valparaíso, Chile.

<sup>a</sup>Tecnólogo Médico.

<sup>b</sup>Alumna Medicina.  
Universidad de Valparaíso,  
Chile.

Trabajo financiado con  
fondos propios del  
Laboratorio de Micología  
de la Universidad de  
Valparaíso.

Recibido el 4 de julio de  
2011, aceptado el 26 de  
diciembre de 2011.

Correspondencia a:  
Dr. Rodrigo Cruz Choappa.  
Hontaneda 2653 oficina  
321.  
Cátedra de Micología.  
Escuela de Medicina.  
Universidad de Valparaíso.  
Fono (32) 2507370.  
E-mail: rrcruzchoappa@  
gmail.com

La colonización traqueal, de bronquios dilatados o de cavidades en pacientes con daño pulmonar crónico, sin invasión del parénquima pulmonar, suele ser subdiagnosticada<sup>9-11</sup>.

*Pneumocystis jirovecii*, agente causal de pneumocistosis pulmonar (PCP), es un importante patógeno pulmonar oportunista en pacientes VIH en etapa SIDA, principalmente en aquellos con recuento de CD4 < 200 células/mm<sup>3</sup><sup>12-14</sup>, sin embargo, ha aumentado su diagnóstico en pacientes no VIH, como aquellos que reciben tratamientos inmunosupresores por tumores malignos, trasplantes de progenitores hematopoyéticos, de órganos sólidos y enfermedades autoinmunes<sup>14,15</sup>. Debido a que *P. jirovecii* no crece *in vitro*, el diagnóstico de PCP se basa en tinciones histológicas, métodos inmunofluorescentes, biología molecular (PCR) o citometría de flujo en muestras de lavado broncoalveolar (LBA), aspirado traqueal (AT), esputo inducido (EI) o biopsia pulmonar<sup>15-17</sup>.

El objetivo de este trabajo fue conocer las especies involucradas en la enfermedad fúngica pulmonar invasora y no invasora, diagnosticadas con cultivo en pacientes adultos y niños, con y sin inmunocompromiso, de la región de Valparaíso, además de datos clínicos y factores de riesgos conocidos para estas infecciones. También se describen los casos de PCP diagnosticados durante este período.

## Materiales y Métodos

El presente trabajo es de tipo descriptivo prospectivo. Durante el período 2007-2010 se recibieron muestras obtenidas por LBA, AT y EI para diagnóstico de enfermedad fúngica pulmonar invasora y no invasora y de PCP, en pacientes hospitalizados en los servicios de Medicina o en unidades de pacientes críticos (UPC) de 5 hospitales de la región de Valparaíso (H. Carlos Van Buren y H. Eduardo Pereira de Valparaíso, H. San Camilo de San Felipe, H. Naval y Gustavo Fricke de Viña del Mar). Todos contaron con autorización vía consentimiento informado para toma de muestra en cada hospital. Los datos fueron obtenidos de las fichas clínicas de los pacientes e información aportada por los médicos tratantes. El diagnóstico de enfermedad invasora probable se realizó según criterios EORTC/MSG<sup>18</sup>, el de enfermedad no invasora cuando el paciente no cumplía con cri-

terios de huésped (inmunodepresión), tomografía axial computada (TAC) pulmonar sin imágenes de invasión y cultivos respiratorios repetidamente (al menos 2) positivos para *Aspergillus* sp. En el caso de PCP, el diagnóstico se realizó en pacientes con inmunodepresión asociada, TAC pulmonar con imágenes sugerentes (vidrio esmerilado difuso bilateral) y tinción Gomori-Grocott con *cluster* de *Pneumocystis jirovecii*.

En los casos identificados se completó una ficha que incluyó antecedentes demográficos, enfermedad de base y resultados micológicos. La identificación de cada especie se realizó en la Cátedra de Micología de la Universidad de Valparaíso, para lo cual se utilizó la morfología en medios de cultivos especiales (agar PDA, Czapek, CYA y MEA), pruebas fisiológicas y tinción de Gomori-Grocott para el caso de PCP. En el análisis estadístico se usó el programa Microsoft Excel 2003, los resultados de las variables nominales se expresaron en porcentajes y de las numéricas en promedio.

## Resultados

Durante el período estudiado se recibieron 90 muestras respiratorias, 30 por sospecha de enfermedad fúngica invasora, 10 por sospecha de enfermedad no invasora y 50 muestras para diagnóstico de PCP.

En total se identificaron 39 infecciones fúngicas, 11 episodios de enfermedad pulmonar invasora probable (según criterios EORTC/MSG), 7 de enfermedad no invasora y 21 casos de PCP. Cuatro de estos casos ya fueron presentados en un trabajo previo de enfermedad invasora<sup>8</sup>.

De los pacientes con enfermedad pulmonar invasora probable, todos tenían neutropenia secundaria a enfermedad de base como factor de riesgo conocido, en cambio en infección no invasora fue el daño pulmonar previo por bronquiectasias el principal factor de riesgo conocido (Tabla 1). Los casos de PCP se presentaron principalmente en adultos con VIH (todos con recuento de CD4 menor de 200 cels/mm<sup>3</sup>) y en niños con leucemia (Tabla 2).

El promedio de edad de los pacientes con enfermedad fúngica invasora y no invasora fue de 36,34 años (2 años-67 años). En los casos de PCP fue de 28 años (2 meses-45 años). En los tres tipos de infecciones hubo predominio de los hombres. (Tabla 1 y 2).

**Tabla 1. Características generales de los pacientes con enfermedad pulmonar invasora y no invasora (excluido casos de pneumocistosis)**

<b>Edad promedio</b>	36,34 años
<b>Sexo</b>	<b>n (%)</b>
Masculino	11 (61,11%)
Femenino	7 (38,88%)
<b>Comorbilidad en pacientes con enfermedad pulmonar invasora</b>	
Leucemia	6
VIH-SIDA	2
Cáncer de órgano sólido	2
Trasplante hepático	1
<b>Comorbilidad en pacientes con enfermedad pulmonar no invasora</b>	
Bronquiectasias	4
Fibrosis	2
EPOC avanzada	1

**Tabla 2. Características generales de los pacientes con neumonía por *Pneumocystis jirovecii***

<b>Edad promedio</b>	28 años
<b>Sexo</b>	<b>n (%)</b>
Masculino	14 (66,66%)
Femenino	7 (33,33%)
<b>Comorbilidad de los pacientes adultos</b>	
VIH	11
Us Terapia metotrexato + prednisona	3
Terapia biológica	1
Fibrosis pulmonar	1
<b>Comorbilidad de los pacientes niños</b>	
LMA	3
Fibrosis quística	1
Prematuro	1
Total casos	21

De los casos con enfermedad fúngica invasora probables, 7 fueron tratados con anfotericina B deoxicolato, 2 con voriconazol, un caso recibió secuencialmente anfotericina y voriconazol, y otro anfotericina, voriconazol e itraconazol. Los casos de enfermedad no invasora fueron tratados con itraconazol y los de PCP con cotrimoxazol asociado a corticoides ev.

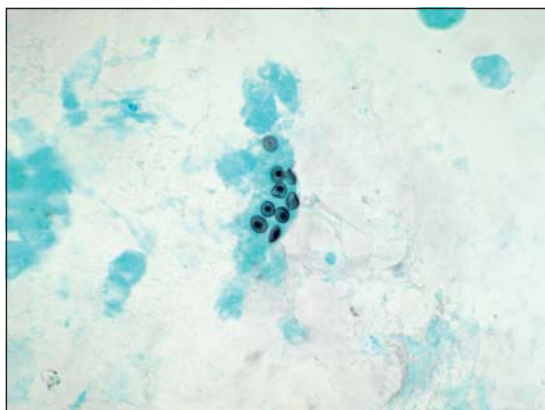
La mortalidad global en enfermedad pulmonar invasora fue de 72,72%, en cambio en enfermedad no invasora no hubo fallecidos. En pneumocistosis, la mortalidad en pacientes VIH fue de 3/11 (27,27%), en cambio en pacientes no VIH fue de 6/10 (60%).

De los 39 episodios identificados de enfermedad fúngica pulmonar, 17 (43,58%) correspondieron a hongos filamentosos, 1 (2,56%) a levaduras y 21 (53,84%) a *Pneumocystis jirovecii* (Figura 1). En los casos de enfermedad invasora, 7 muestras para el diagnóstico se obtuvieron por LBA y 4 AT, mientras que para las no invasoras 5 se obtuvieron por EI y 2 LBA. En el caso de pneumocistosis, 15 muestras fueron por LBA, 3 por AT y 3 por EI.

De los casos de enfermedad fúngica pulmonar invasora por hongos filamentosos, 7/10 (70%) especies correspondieron a *A. fumigatus* (Tabla 3 y Figura 2). Hubo 1 caso por *Cryptococcus neoformans* que se aisló a partir de AT en una niña VIH (+) de 4 años de edad. En enfermedad no invasora, 4/7 (57,14%) de las especies correspondieron a *A. fumigatus* (Tabla 3).

**Tabla 3. Especies aisladas en enfermedad pulmonar invasora y no invasora**

<b>Especies aisladas en enfermedad invasora probable</b>	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	7
<i>Aspergillus nidulans</i>	1
<i>Aspergillus niger</i>	1
<i>Aspergillus flavus</i>	1
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1
<b>Especies aisladas en enfermedad pulmonar no invasora</b>	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	4
<i>Aspergillus niger</i>	2
<i>Aspergillus flavus</i>	1
Total	18



**Figura 1.** Tinción de Gomori-Grocott de LBA. Se visualiza cluster de quistes de *Pneumocystis jirovecii*. 100X.



**Figura 2.** Tinción de azul de algodón de cultivo de *Aspergillus fumigatus* en un paciente con aspergilosis invasora. 100X.



**Figura 3.** Microscopia directa con KOH 20%. Se observan hifas septadas hialinas en ángulo agudo. 100X.

## Discusión

Los casos de enfermedad fúngica pulmonar invasora, no invasora y de PCP diagnosticados de nuestra serie, se caracterizaron por su heterogeneidad, tanto por los grupos etáreos, como por las múltiples patologías de base y factores de riesgo presentados.

Se incorporaron al estudio los casos de PCP, ya que estudios multicéntricos como el TRANSNET<sup>19</sup> y otros trabajos y revisiones utilizan este criterio en sus análisis. Esto se debe a que tanto los pacientes trasplantados, neutropénicos o con otros factores de riesgos pueden cursar con PCP al igual que los pacientes con VIH-SIDA<sup>20-22</sup>.

Los resultados de nuestro estudio coinciden con la experiencia nacional e internacional en enfermedad fúngica invasora, tanto en adultos como en niños, siendo los pacientes con leucemia mieloide aguda los que presentan el mayor número de episodios de estas infecciones, sin embargo, la descripción de series de pacientes con otros factores de riesgo, se encuentra bien documentada<sup>8,19-24</sup>. Se debe destacar que en Chile, varios de los trabajos de micosis invasoras por hongos filamentosos (entre ellas las pulmonares), son reportes de casos<sup>25,29</sup>, por lo que series con mayor número de pacientes son un aporte a la epidemiología nacional y latinoamericana.

En el diagnóstico de aspergilosis pulmonar, morfológicamente las diferentes especies patógenas de *Aspergillus* producen hifas tabicadas hialinas de 2 a 5  $\mu\text{m}$  de diámetro que van ramificándose en ángulo dicotómico agudo, las cuales se pueden visualizar en la microscopia directa con KOH 20% de las distintas muestras respiratorias con una sensibilidad aproximada de 50% en pacientes inmunodeprimidos<sup>30</sup> (Figura 3). La presencia de otras estructuras fúngicas como conidióforos, vesículas, fialides o conidios, se observan muy raramente en las muestras y pueden ser vistas tan sólo en algunas lesiones cavitadas que comunican directamente con el árbol traqueobronquial, por ejemplo, secuelas de TBC<sup>31,32</sup>. En nuestro trabajo el 81,1%(9/11) de las micosis invasoras (excluidas pneumocistosis) presentaron elementos fúngicos en la microscopia directa, lo que es alto, probablemente por la sospecha tardía de la infección. En el caso de las infecciones no invasoras, el 57,14%(4/7) de las visualizaciones directas resultaron positivas.

El cultivo en agar Sabouraud y en medios



especiales de las muestras respiratorias permite identificar la especie (exceptuando *Pneumocystis*) en la mayoría de los casos, con una sensibilidad entre 11 y 80%, dependiendo de la enfermedad de base y momento del diagnóstico de la infección<sup>30</sup>. En nuestra serie predominó *A. fumigatus*, al igual que la mayoría de los trabajos publicados<sup>2,7,8,18</sup>.

Para el caso de PCP, la presencia de los quistes de *Pneumocystis jirovecii* característicamente agrupados (*clusters*) es diagnóstica<sup>15,33-35</sup>. En publicaciones relacionadas a la detección de *Pneumocystis jirovecii*, la tinción de Gomori-Grocott ha demostrado una sensibilidad mayor al 70% y especificidad cercana a 100%<sup>15</sup>. Otras tinciones histológicas, como azul de toluidina y Giemsa (ambas colorean por una reacción metacromática), muestran una menor sensibilidad y especificidad comparándola a la impregnación argéntica<sup>15,33</sup>.

En los casos de enfermedad fúngica invasora de nuestra serie, los cultivos a partir de LBA predominaron, por lo que los diagnósticos se debieron de catalogar de probables, según los criterios de EORTC/MSG<sup>18</sup>. No se utilizaron marcadores serológicos como galactomanano en el diagnóstico de estas infecciones, examen que en la actualidad es una herramienta útil y precoz para aspergilosis, con una sensibilidad de 93%, especificidad 95%, valor predictivo positivo de 93% y negativo de 95%, permitiendo realizar un tratamiento anticipado y con esto disminuir la mortalidad de estos pacientes<sup>36-38</sup>. La mortalidad global a 30 días en enfermedad invasora fue más elevada de lo que reportan los últimos trabajos, lo que puede deberse al retraso en el diagnóstico, comorbilidad que presentaron los pacientes y a que el principal tratamiento utilizado fue anfotericina B deoxicolato, la cual ha demostrado tener menor efectividad y mayores efectos adversos que medicamentos como el voriconazol<sup>39,40</sup>. Lass-Flörl<sup>41</sup> describe en Europa una mortalidad de aspergilosis invasora de 38% en paciente con leucemia aguda. En Chile, Rabagliati et al<sup>23</sup> reportaron 33% de mortalidad en los casos de aspergilosis en pacientes oncohematológicos y receptores de trasplante de precursores hematopoyéticos.

En pneumocistosis los pacientes adultos con VIH-SIDA fueron los que predominaron, sin embargo, hubo casos en otros grupos de pacientes donde la mortalidad fue mayor, datos que coinciden con lo publicado en otros trabajos donde la mortalidad supera el 60% en pacientes no VIH<sup>42-44</sup>.

Sin duda, nuestra serie refleja una realidad parcial de lo que sucede con las micosis pulmonares en nuestra región, debido a que se incluyeron sólo los casos diagnosticados con cultivos y tinciones, sin embargo, es llamativo que de 90 muestras, 39 (43,33%) fueron positivas, lo que refleja probablemente una sospecha y un diagnóstico tardío. Esto podría estar contribuyendo a la alta mortalidad en enfermedad invasora y en PCP.

**Agradecimientos:** Agradecemos a los doctores Manuel Barros, Mirtha Reyes y Gonzalo Wilson del Hospital Carlos van Buren, Álvaro Carrizo, Jaime Leyton y Hugo Valenzuela del Hospital Dr. Eduardo Pereira R., Manuel de la Prida y Marcela González del Hospital Gustavo Fricke y Elizabeth Barthel e Isabel Briceño del Hospital Naval Almirante Nef, por el envío de muestras y por sus generosos aportes.

## Referencias

1. Pitt JI. The current role of *Aspergillus* and *Penicillium* in human and animal health. *J Med Vet Mycol* 1994; 32 (1): 17-32.
2. Asciglu S, Rex JH, De Pauw B, Bennett J E, Bille J, Crokaert F, et al. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: An International Consensus. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 7-14.
3. Latge JP. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 310-5.
4. Jarque I, Sanz M. Las infecciones fúngicas invasoras en el paciente oncohematológico. En: Pontón J, Quindós G, Editores, *Micosis invasoras en los pacientes oncohematológicos. Guía de bolsillo*. Sociedad Española de Micología 2009; p. 3-12.
5. García-Ruiz JC, Amutio E, Ponton J. Infección fúngica invasora en pacientes inmunodeficientes. *Rev Iberoam Micol* 2004; 21: 55-62.
6. Enoch DA, Ludlam HA and Brown NM. Invasive fungal infections: a review of epidemiology and management options. *J Med Microbiol* 2006; 55: 809-18.
7. Maertens J, Verhaegen J, Lagrou K, Van Eldere J, Boogaerts M. Screening for circulating galactomannan as a noninvasive diagnostic tool for invasive aspergillosis in prolonged neutropenic patients and stem cell transplantation recipients: a prospective validation. *Blood* 2001; 97: 1604-10.
8. Cruz R, Piontelli E. Enfermedad fúngica invasora (EFI) en pacientes de cinco hospitales de la quinta región de

- Valparaíso, Chile. 2004 a 2009. Rev Chil Infect 2011; 28 (2): 123-9.
9. Carrasco E, Sepúlveda R, Rojas L, Mendéz P, Vicherat L, Otero M. Perfil clínico inmunológico de la aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA). Enf Resp Cir Tórax 1998; 4: 76-82.
  10. Carrasco E. ABPA complicaciones poco usuales de la afección. Rev Chil Enf Respir 2004; 20: 30-6.
  11. Maggiolo J, Rubilar L, González R, Girardi G, Vildósola C, Mendoza C. Aspergilosis broncopulmonar alérgica en niños con enfermedad pulmonar crónica y fibrosis quística. Rev Chil Pediatr 2006; 77 (2): 161-8.
  12. Walzer P. Minireviews. Immunological features of *Pneumocystis carinii* infection in humans. Clin Diagn Lab Immunol 1999; 6 (2): 149-55.
  13. Catherinot E, Lanternier F, Bougnoux M, Lecuit M, Couderc L, Lortholary O. *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia. Infect Dis Clin North Am 2010; 24 (1): 107-38.
  14. Calderón E, Gutiérrez-Rivero S, Durand-Joly I, Dei-Cas E. *Pneumocystis* infection in humans: diagnosis and treatment. Expert Rev Anti Infect Ther 2010; 8 (6): 683-701.
  15. Bava A, Moreno D, Bellegarde E. Comparación de 3 técnicas para el diagnóstico de la neumocistosis pulmonar en pacientes con SIDA. Rev Argent Microbiol 2005; 37: 150-2.
  16. Casanova L, Cedillo R, Garduño G, Muñoz O. Comparación de dos técnicas en la detección de *Pneumocystis carinii*. Rev Invest Clin 1996; 48 (6): 443-7.
  17. Barbosa J, Bragada C, Costa de Oliveira S, Ricardo E, Rodrigues A, Pina-Vaz, C. A new method for the detection of *Pneumocystis jirovecii* using flow cytometry. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2010; 29: 1147-52.
  18. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly P, Stevens A, Edwards E, Calandra T, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. Clin Infect Dis 2008; 46: 1813-21.
  19. Kontoyannis D, Marr K, Park B, Alexander B, Anaissie E, Walsh T, et al. Prospective Surveillance for Invasive Fungal Infections in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients, 2001-2006: Overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database. Clin Infect Dis 2010; 50: 1091-100.
  20. Mesa J, Rivas P, Cuervo S, Mejía M. Diagnóstico histopatológico de micosis invasivas en el paciente inmunocomprometido del Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá. Rev Colomb Cancerol 2006; 10 (3): 207-11.
  21. Fica A. Infecciones en el paciente con trasplante de órganos sólidos. Rev Hosp Clin Univ Chile 2007; 18: 346-62.
  22. Lasso M. Diagnóstico y tratamiento de infecciones oportunistas en el paciente adulto con infección por VIH/SIDA. Rev Chil Infect 2011; 28 (5): 440-60.
  23. Rabagliati R, Fuentes G, Guzmán AM, Orellana E, Oporto J, Aedo I, et al. Enfermedad fúngica invasora en pacientes hemato-oncológicos y receptores de trasplante de precursores hematopoyéticos bajo la perspectiva de los criterios diagnósticos EORTC/MSG. Rev Chil Infect 2009; 26 (3): 212-9.
  24. Retamal C, Díaz C, Salamanca L, Ferrada L, Álvarez de Oro R. Aspergilosis pulmonar en Chile. Enfoque inmunológico. Bol Micol 1984; 2 (1): 11-6.
  25. Zambrano A, Biere A, Isamitt D. Aspergilosis necrotizante crónica en un paciente con secuelas de tuberculosis pulmonar. Rev Chil Enf Respir 2007; 23: 43-8.
  26. Groll AH, Shah PM, Mentzel C, Schneider M, Just-Nuebling G, Huebner K. Trends in the postmortem epidemiology of invasive fungal infections at a University Hospital. J Infect 1996; 33 (1): 23-32.
  27. Patterson T, Kirkpatrick R, White M, Hiemenz J, Wingard J, Dupont B, et al. Invasive aspergillosis. Disease spectrum, treatment practices, and outcomes. Medicine (Baltimore) 2000; 79: 250-60.
  28. Cornely O, Maertens J, Winston D, Perfect J, Ullmann A, Walsh T, et al. Posaconazole vs Fluconazole or Itraconazole Prophylaxis in patients with neutropenia. N Engl J Med 2007; 356: 348-59.
  29. Cruz R, Barthel E, Piontelli E, Fernández G. Reportes clínicos: infección rinosinusal probada por *Aspergillus flavus* y probable infección pulmonar por *Emericella nidulans* en pacientes inmunodeprimidos. Bol Micol Vol 2005; 20: 109-15.
  30. Pemán J. ¿Qué se puede esperar del diagnóstico micológico clásico de la aspergilosis invasora?. *Aspergilosis invasora. Guía de bolsillo*. Editor: José Pontón 2003; 47-50.
  31. Del Palacio A, Cuétara M, Pontón J. La aspergilosis invasora. Rev Iberoam Micol 2003; 20: 77-8.
  32. Oxilia H, Oxilia R, Morales L, Falco F. Aspergilosis: una patología a considerar. Rev Argent Radiol 2008; 72 (1): 55-60.
  33. Procop G, Haddad S, Quinn M, Wilson M, Henshaw N, Reller L, et al. Detection of *Pneumocystis jirovecii* in respiratory specimens by tour staining methods. J Clin Microbiol 2004; 3333-5.
  34. Walter P. Minireviews. Immunological features of *Pneumocystis carinii* infection in humans. Clin Diagn Lab Immunol 1999; 6 (2): 149-55.
  35. Raab S, Cheville J, Bottles K, Cohen M. Utility of Gomori methenamine silver stains in bronchoalveolar lavage specimens. Mod Pathol 1994; 7 (5): 599-604.

36. Pinel C, Fricker-Hidalgo H, Lebeau B, Garban F, Hamidfar R, Ambroise-Thomas P, et al. Detection of circulating *Aspergillus fumigatus* Galactomannan: Value and Limits of the Platelia Test for Diagnosing Invasive Aspergillosis. *J Clin Microbiol* 2003; 41 (5): 2184-6.
37. Ansorg R, van der Boom R, Rath PM. Detection of *Aspergillus* galactomannan antigen in foods and antibiotics. *Mycoses* 1997; 40: 353-7.
38. Maertens J, Verhaegen J, Demuyneck H, Brock P, Verhoef G, Vandenberghe P, et al. Autopsy-Controlled Prospective Evaluation of Serial Screening for Circulating Galactomannan by a Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Hematological Patients at Risk for Invasive Aspergillosis. *J Clin Microbiol* 1999; 37(10): 3223-8.
39. Walsh TJ, Anaissie EJ, Denning DW, Herbrecht R, Kontoyiannis DP, Marr KA, et al. Treatment of Aspergillosis: Clinical Practice Guidelines of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 327-60.
40. Lass-Flörl C. The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. *Mycoses* 2009; 52 (3): 197-205.
41. Taverner J, Maymó J, Carbonell J. Profilaxis anti-*Pneumocystis jiroveci* en pacientes reumáticos tratados con glucocorticoides. *Semin Fund Esp Reumatol* 2009; 10 (2): 53-5.
42. Ward MM, Donald F. *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with connective tissue diseases. The role of hospital experience in diagnosis and mortality. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 780-9.
43. Charles T, Limper A. *Pneumocystis Pneumonia*. *N Engl J Med* 2004; 350: 2487-98.