

Presencia de *Aspergillus* spp. en áreas de riesgo en pacientes trasplantados en un hospital universitario

María Ximena Cárdenas¹, Jorge Alberto Cortes² y Claudia Marcela Parra¹

¹Grupo de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia; ²Departamento de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia

Resumen

Como consecuencia del aumento de pacientes inmunodeficientes, los casos de aspergilosis han aumentado considerablemente, debido al carácter oportunista de este hongo. Han sido implicadas especies de *Aspergillus* tales como *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus niger* en ambientes y fuentes de agua de instalaciones hospitalarias. Teniendo en cuenta esto, nuestro propósito fue caracterizar zonas de un hospital universitario de referencia en Bogotá, Colombia, que representan riesgo para pacientes receptores de trasplantes. Se tomaron muestras ambientales con el equipo MAS-100 y un volumen de 100 ml de agua en cada área. Todas las muestras fueron tomadas por triplicado y cultivadas en agar glucosado de Sabouraud. En muestras ambientales se encontró un promedio de 2,8 UFC/l de *Aspergillus* correspondientes a *A. flavus*, *A. niger*, *Aspergillus versicolor* y *Aspergillus terreus*. En muestras de agua el promedio fue de 17,1 UFC/l correspondientes a *A. flavus* y *Aspergillus clavatus*. El hecho de que se hayan aislado especies de *Aspergillus* potencialmente patógenas en áreas de manejo de pacientes trasplantados, plantea la necesidad de extremar la vigilancia de los pacientes de alto riesgo. El que no se hayan reportado brotes a pesar de los niveles encontrados, nos hace pensar que la carga fúngica podría ser un factor relevante sumado a otros factores en los pacientes.

Palabras clave

Aspergillus, Prevención y control de la aspergilosis, Trasplante, Hospedador inmunodeficiente

Aspergillus spp. in risk areas of transplant patients in a university hospital

Summary

As a consequence of the increase in the number of immunocompromised patients, cases of aspergilosis, due to the opportunist character of this fungus, have increased considerably. *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, and *Aspergillus niger* have been found in air and water samples of the majority of investigated hospitals. The aim of the present study was to investigate the presence of aspergilli in transplant patients areas at a university hospital in Bogotá, Colombia. Samples of air were collected using the MAS-100 Air Sampler from each of the investigated areas. A sample of 100 ml of water was also recovered from these areas. All samples were taken for triplicate and were cultured in 2% Sabouraud dextrose agar. The average of aspergilli in air samples was 2.8 CFU/l corresponding to *A. flavus*, *A. niger*, *Aspergillus versicolor* and *Aspergillus terreus*. In water samples, the average was 17.1 CFU/l corresponding to *A. flavus* and *Aspergillus clavatus*. Because potentially pathogenic *Aspergillus* species were found in the hospital areas where transplant patients are usually kept, active surveillance and a high clinical suspicion should be considered in those patients. Since *Aspergillus* infections haven't been found so far, a higher fungal load and other host factors might be needed to facilitate the infection.

Key words

Aspergillus, Aspergilosis prevention and control, Transplant, Immunocompromised host

Dirección para correspondencia:

Dra. Claudia Marcela Parra Giraldo
Departamento de Microbiología
Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias
Edificio Carlos Ortiz (52), Carrera 7ª No. 43-82
Bogotá, Colombia
Tel.: +571 3208320 ext. 4106
E-mail: claudia.parra@javeriana.edu.co

Aceptado para publicación el 4 de julio de 2008

El género *Aspergillus* se encuentra ampliamente disseminado en el ambiente, suelo, aire y agua [4]. Su importancia como agente de infecciones oportunistas es mayor, al aumentar la población de pacientes inmunosuprimidos [30]. Se han descrito brotes nosocomiales de la enfermedad, relacionados con trabajos de construcción en áreas del hospital y sus alrededores, o por contaminación de los sistemas de ventilación donde están internados pacientes con neutropenia o receptores de trasplantes [7,9]. Debido a esto, las esporas pueden permanecer en el aire por periodos prolongados y contaminar cualquier superficie en contacto con el aire. Recientemente, el agua y las personas inmunocompetentes han sido descritas como reservorio potencial [4,27]. Aunque varias especies pueden estar implicadas, *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus flavus* son las especies que se asocian a patologías con mayor frecuencia [8,18].

Teniendo en cuenta los anteriores hechos, estudiamos la presencia de *Aspergillus* spp. en varias zonas de un hospital de referencia para trasplantes en Colombia, según el nivel de riesgo que representan para los pacientes receptores de trasplantes que habitualmente son atendidos en los diferentes servicios.

Materiales y métodos

El Hospital Universitario San Ignacio (HUSI) es un hospital de Bogotá, Colombia, que realiza trasplantes de órganos sólidos y trasplantes autólogos de médula ósea. Seleccionamos nueve áreas dentro del HUSI, por donde generalmente circulan o permanecen pacientes receptores de trasplantes tanto de órgano sólido como de médula ósea: Urgencias (URG), piso de Cirugía y Medicina Interna, Radiología (RX), Salas de Cirugía (SC), Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), Unidad de Trasplantes (UT) y Consulta Externa General (CG) y Hematológica (CH). Para establecer el número de muestras en cada área se tuvo en cuenta el tamaño (m²) de cada zona a estudiar.

Muestras ambientales. Las muestras ambientales (n = 28) fueron obtenidas usando el equipo MAS-100 (Merck) [24]. Se tomó un volumen de 500 l correspondiente a 5 min de muestreo, recuperados de habitaciones, baños y corredores de las áreas relacionadas anteriormente.

Muestras de agua. 100 ml de agua (n = 53) fueron recogidos de duchas y lavamanos ubicados dentro de las habitaciones de los pacientes. Se excluyeron cuatro áreas del hospital (URG, RX, CG y CH), ya que en éstas el contacto de los pacientes con las fuentes de agua es limitado. Para la toma de las muestras, se limpió la zona de salida con NaCl al 5%. Se consideró como variable la procedencia del agua (de tubería conectada directamente con la principal, o de una cisterna o un depósito de almacenamiento). Asimismo, cuando se tomaron muestras de grifos mezcladores, se retiraron los filtros protectores contra salpicaduras y demás accesorios, se dejó correr el agua caliente durante 2 min, después el agua fría durante 3 min [5] y se realizó la toma de la muestra, para lo cual se utilizaron tubos Falcon estériles. Estas muestras fueron centrifugadas a 5000 g durante 30 min, descartando, posteriormente, el sobrenadante, y cultivando el sedimento.

Todas las muestras fueron tomadas por triplicado, sembradas en agar glucosado de Sabouraud (Oxoid, Colombia) e incubadas a temperatura ambiente (22-25 °C). Los hongos recuperados fueron identificados usando métodos establecidos [13,21]. Se realizó un recuento de UFC/l durante 10 días y se calculó el promedio de cada muestra. Las colonias con características macro y microscópicas compatibles con estructuras de *Aspergillus* spp. fueron aisladas en agar Czapek Dox (Merck) y se identificaron a nivel de especie.

Control ambiental. Para tener referencia de áreas no hospitalarias, se tomó una muestra ambiental en iguales condiciones que las muestras intrahospitalarias de la cafetería de la Facultad de Ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana.

Análisis estadístico. Los datos obtenidos se incorporaron en una hoja de Excel 2003 (Microsoft, ver. 11). Se utilizaron promedios y medias para la descripción de las variables.

Resultados

Los aislamientos recuperados de las 28 muestras ambientales se muestran en la tabla 1. En estas áreas se recuperaron *A. flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus versicolor* y *Aspergillus terreus*. Los promedios más altos de UFC/l, tanto para aislamientos de *Aspergillus* spp. como

Tabla 1. Especies de *Aspergillus* detectadas en muestras ambientales.

Área	Número de muestras	Promedio de UFC/l de aislamientos micóticos	Promedio de UFC/l de <i>Aspergillus</i> spp. (%)	<i>Aspergillus</i> spp. identificados
Urgencias	1	48,3	2,0 (4,1%)	<i>A. versicolor</i>
Cirugía (4° piso)	1	13,7	3,0 (21,9%)	<i>A. flavus</i> <i>A. niger</i>
Medicina Interna (5° piso)	3	110,5	2,0 (1,8%)	<i>A. flavus</i> <i>A. niger</i>
Radiología	1	22,3	1,33 (5,9%)	<i>A. versicolor</i>
Salas de Cirugía	7	325,0	7,0 (2,1%)	<i>A. flavus</i> <i>A. niger</i> <i>A. terreus</i>
Unidad de Cuidados Intensivos	7	79,0	4,3 (5,4%)	<i>A. flavus</i> <i>A. niger</i>
Unidad de Trasplantes	6	94,3	4,0 (4,2%)	<i>A. flavus</i> <i>A. versicolor</i>
Consulta Externa General	1	46,0	1,0 (2,1%)	<i>A. flavus</i>
Consulta Externa Hematológica	1	40,0	1,0 (2,5%)	<i>A. flavus</i>

Tabla 2. Especies de *Aspergillus* detectadas en muestras de agua.

Área	Número de muestras	Promedio de UFC/l de aislamientos micóticos	Promedio de UFC/l de <i>Aspergillus</i> spp. (%)	Aislamientos de <i>Aspergillus</i> spp. identificados
Cirugía (4º piso)	3	3,6	1,0 (27,7%)	<i>A. flavus</i> <i>A. clavatus</i>
Medicina Interna (5º piso)	9	63,4	3,6 (5,6%)	<i>A. flavus</i> <i>A. clavatus</i>
Salas de Cirugía	9	26,4	1,3 (4,9%)	<i>A. flavus</i> <i>A. clavatus</i>
Unidad de Cuidados Intensivos	23	20,0	1,4 (7,0%)	<i>A. flavus</i> <i>A. clavatus</i>
Unidad de Trasplantes	9	12,3	1,2 (9,7%)	<i>A. flavus</i> <i>A. clavatus</i>

de otras especies de hongos, se encontraron en las salas de cirugía, la única área donde, además, se aisló *A. terreus*.

La tabla 2 muestra los resultados obtenidos en las muestras de agua. En esta ocasión las especies recuperadas pertenecían a *A. flavus* y *Aspergillus clavatus*, las cuales se aislaron con mayor frecuencia en el 5º piso del hospital, correspondiente a Medicina Interna.

A. flavus fue recuperado de siete de las nueve áreas muestreadas, y fue la especie más frecuente en muestras ambientales. Asimismo, en estas muestras se aislaron *A. niger*, *A. versicolor* y *A. terreus* en un porcentaje menor (Figura 1). Con respecto a las muestras de agua, *A. flavus* se recuperó de la totalidad de las áreas junto con *A. clavatus* (Figura 2).

Control ambiental. La muestra tomada como control en la Cafetería de la Facultad de Ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana, dio como resultado un promedio de 45 UFC/l de hongos filamentosos con predominio de *Penicillium* spp. y *Cladosporium* spp., los cuales presentaron un crecimiento mayor y en un menor tiempo

comparados con las especies correspondientes a *Aspergillus* spp., de las cuales se obtuvo un crecimiento de 4 UFC/l en este tipo de muestra.

Durante el período de estudio no se observaron casos de aspergilosis en pacientes hospitalizados.

Discusión

La especie de *Aspergillus* más frecuente tanto en muestras de agua como ambientales fue *A. flavus*, con un porcentaje del 81% y 42% respectivamente. Dicha especie, conjuntamente con *A. fumigatus*, son responsables del 90% de las infecciones en pacientes trasplantados de órgano sólido [8,18], siendo *Aspergillus* uno de los agentes más importantes causantes de infecciones invasoras nosocomiales [1,14]. Llama la atención la ausencia de *A. fumigatus* en los aislamientos ambientales o del agua en nuestro hospital. Ello puede deberse a que se encuentre menos presente y no haya sido detectado por el método de mues-

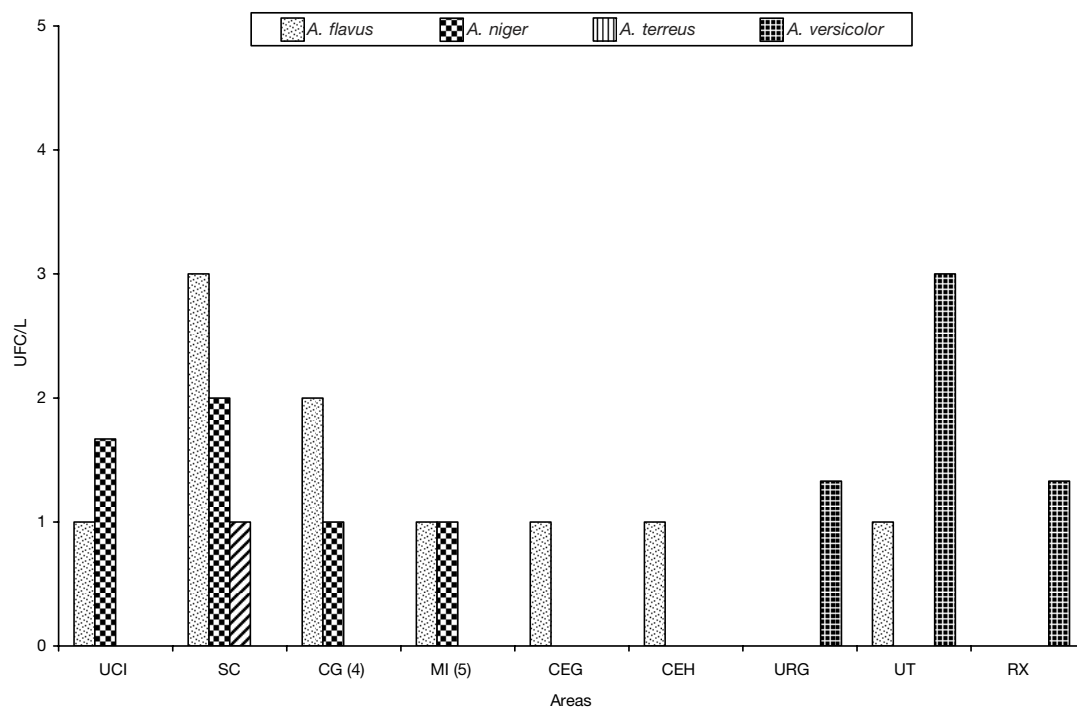


Figura 1. Presencia de *Aspergillus* spp. en muestras ambientales de áreas del HUSI (Unidad de Cuidados Intensivos, UCI; Salas de Cirugía, SC; Cirugía, CG 4º piso; Medicina Interna, MI 5º piso; Consulta Externa General, CEG; Consulta Externa Hematológica, CEH; Urgencias, URG; Unidad de Trasplantes, UT; Radiología, RX).

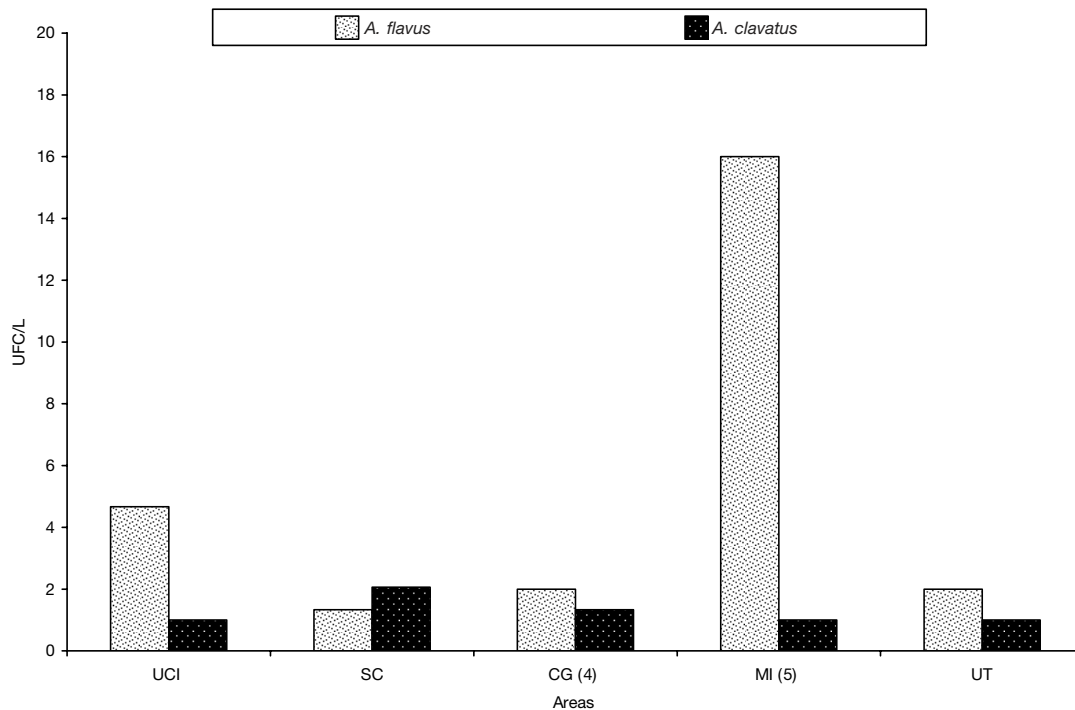


Figura 2. Presencia de *Aspergillus* spp. en muestras de agua del HUSI (Unidad de Cuidados Intensivos, UCI; Salas de Cirugía, SC; Cirugía, CG 4° piso; Medicina Interna, MI 5° piso; Unidad de Trasplantes, UT).

treo o a que, debido a condiciones ambientales, el crecimiento específico de esta especie no se vea favorecido.

Las áreas donde se encontró la mayor cantidad de UFC/L y de especies de *Aspergillus* fueron aquellas donde hay uso frecuente de fuentes de agua, como lavamanos y duchas, lo que permite que los conidios presentes en el agua pasen al aire, además de contaminar aquellas superficies que pueden recibir salpicaduras [2,3,4]. Otros de los agentes encontrados en ambientes cerrados fueron *A. niger*, en un 29%, y *A. terreus* en el 4% de los aislamientos, porcentajes altos con respecto a estudios llevados a cabo en otros hospitales donde estas especies se reportan como poco frecuentes [6,17,25,26].

En Urgencias y Radiología las colonias aisladas correspondieron a *A. versicolor* en su totalidad, lo cual puede estar asociado con enfermedades cutáneas tales como onicomicosis, otomicosis y enfermedades pulmonares en pacientes inmunosuprimidos [19]. Por otra parte, esta misma especie fue aislada, junto con *A. flavus*, en muestras ambientales de la Unidad de Trasplantes, en donde a pesar de contar con filtros HEPA se logró aislar en promedio 94,3 UFC/L. Aunque los valores obtenidos son significativos y suponen un riesgo para los pacientes de alto riesgo allí internados, es importante resaltar que ninguno de ellos presentó aspergilosis, teniendo en cuenta que las concentraciones por encima de 1 UFC/L son suficientes para causar infección [15,16,24,28].

En el muestreo control de la cafetería, la mayoría de los aislamientos correspondieron a *Penicillium* spp. y *Cladosporium* spp. En menor proporción se aisló *Aspergillus* spp. Esto apoya, una vez más, que la dispersión de las esporas juega un papel importante y que en espacios abiertos (como este caso) la carga fúngica es alta comparada con otras áreas del hospital [2,3,10,28].

Del mismo modo, en las muestras de agua, predominó *A. flavus*, seguido por *A. clavatus*, especie que no había sido encontrada en agua [2,3,4], siendo la UCI y las habitaciones del 5° piso del hospital las áreas con una

frecuencia mayor de dichas especies. Esto sugiere que, efectivamente, el agua está involucrada en el proceso de transmisión de conidios [29], que pueden pasar al aire y ser inhalados por los pacientes, produciendo la infección [2,3,4]. Estudios moleculares recientes han permitido demostrar dicha hipótesis [2,3,11,12].

El presente estudio plantea varios interrogantes, como la poca correlación entre las especies halladas en muestras ambientales y muestras de agua, y el porqué los pacientes de alto riesgo que se encuentran en las áreas donde se hallan especies de *Aspergillus* reportadas como patógenas en la literatura [20,22,23], no han adquirido la infección pese a su estado inmunológico. Esto nos lleva a suponer que existen, además de los factores de riesgo ya mencionados, otros factores que predisponen a estos pacientes a adquirir aspergilosis en las instalaciones hospitalarias. Tal vez la carga fúngica no es lo suficientemente alta como para que estas instalaciones se conviertan en focos infecciosos, además del hecho de la ausencia de *A. fumigatus* en las muestras recolectadas. A partir de este estudio, se implementaron en el hospital diferentes medidas de control y vigilancia activa sobre los pacientes en riesgo y sobre las áreas de mayor densidad o en construcción.

Nuestro agradecimiento a Viviana Bravo por su colaboración en la toma y procesamiento de muestras, así como también al Hospital Universitario San Ignacio y a la Facultad de Ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana.

Bibliografía

1. Abarca M. Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial. Rev Iberoam Micol 2000; 17: S79-S84.
2. Anaissie E, Stratton S, Dignani M, Lee C, Mahfouz T, Rex J, Summerbell R, Walsh T. Cleaning patient shower facilities: a novel approach to reducing patient exposure to aerosolized *Aspergillus* species and other opportunistic molds. Clin Infect Dis 2002; 35: E86-E88.
3. Anaissie E, Stratton S, Dignani M, Monson T, Spencer T, Kasai M, Francesconi A, Mahfouz T, Rex J, Summerbell R, Walsh T. Pathogenic *Aspergillus* species recovered from a hospital water system: A 3 year prospective study. Clin Infect Dis 2002; 34: 780-789.
4. Anaissie E, Costa S. Nosocomial aspergillosis is waterborne. Clin Infect Dis 2001; 33: 1546-1548.
5. Clesceri LS, Greenberg AE, Eaton AD (Eds). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th edition. American Public Health Association 1998; 9: 19-41.
6. Baddley J, Pappas P, Smith A, Moser S. Epidemiology of *Aspergillus terreus* at a university hospital. J Clin Microbiol 2003; 41: 5525-5529.
7. Badié P, Kordbacheh P, Alborzi A, Zeini F, Mirhendy H, Mahmoody M. Fungal infections in solid organ recipients. Exp Clin Transplant 2005; 3: 385-389.
8. Bodey G, Vartivarian S. Aspergillosis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1989; 8: 413-437.
9. Borges M, Fiederling A. Presentaciones clínicas de la aspergilosis nosocomial. Rev Iberoam Micol 2000; 17: S85-S89.
10. Bouza E, Pelaez T, Perez-Molina J, Marin M, Alcalá L, Padilla B, Muñoz P, Adán P, Bove B, Bueno MJ, Grande F, Puente D, Rodríguez MP, Rodríguez-Creixems M, Vigil D, Cuevas O. Aspergillus Study Team. Demolition of a hospital building by controlled explosion: the impact on filamentous fungal load in internal and external air. J Hosp Infect 2002; 52: 234-242.
11. Chazalet V, Debeaupuis JP, Sarfati J, Lortholary J, Ribaud P, Shah P, Cornet M, Thien HV, Gluckman E, Brucker G, Latgé JP. Molecular typing of environmental and patient isolates of *Aspergillus fumigatus* from various hospital settings. J Clin Microbiol 1998; 36: 1494-1500.
12. Diaz-Guerra T, Mellado E, Cuenca-Estrella M, Gaztelurrutia L, Villate-Navarro JI, Rodríguez-Tudela J. Genetic similarity among one *Aspergillus flavus* strain isolated from a patient who underwent heart surgery and two environmental strains obtained from the operating room. J Clin Microbiol 2000; 38: 2419-2422.
13. Gené J, Guarro J. Identificación de hongos miceliares. En: Pemán J, Martín-Mazuelos E, Rubio Calvo MC (Eds) Guía práctica de identificación y diagnóstico en micología clínica. Rev Iberoam Micol 2001: 1-18.
14. Girardin H, Sarfati J, Traoré F, Dupouy J, Derouin F, Latgé J. Molecular epidemiology of nosocomial invasive aspergillosis. J Clin Microbiol 1994; 32: 684-690.
15. Hospenthal D, Kwon-Chung K, Bennett J. Concentrations of airborne *Aspergillus* compared to the incidence of invasive aspergillosis: lack of correlation. Med Mycol 1998; 36: 165-168.
16. Leenders A, Belkum A, Behrendt M, Luijendijk A, Verbrugh A. Density and molecular epidemiology of *Aspergillus* in air and relationship to outbreaks of *Aspergillus*. J Clin Microbiol 1999; 37: 1752-1757.
17. Leenders A, Belkum A, Janssen S, Kluytmans MS, Wielenga J, Lowenberg B, Verbrugh H. Molecular epidemiology of apparent outbreak of invasive aspergillosis in a hematology ward. J Clin Microbiol 1996; 34: 345-351.
18. Montejo M. Infección invasora por *Aspergillus* y otros hongos filamentosos en enfermos con trasplantes de órgano sólido. Rev Iberoam Micol 2002; 19: 9-12.
19. Petrova NA, Kliasova GA. Possible sources of aspergilla infection in a hematological hospital. Ter Arkh 2005; 77: 71-77.
20. Reichenberger F, Habicht J, Gratwohl A, Tamm M. Diagnosis and treatment of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients. Eur Respir J 2002; 19: 743-755.
21. Rubio M, Gil J, Ruesca R, Ramírez I, Navarro M. Micosis más frecuentes en nuestro medio. En: Pemán J, Martín-Mazuelos E, Rubio Calvo MC (Eds) Guía práctica de identificación y diagnóstico en micología clínica. Rev Iberoam Micol 2001: 1-15.
22. Ruhnke M, Maschmeyer G. Management of mycosis in patients with hematology disease and cancer- review of the literature. Eur J Med Res 2002; 7: 227-235.
23. Sánchez-Payá J. Prevención de la aspergilosis nosocomial. Rev Iberoam Micol 2000; 17: 100-102.
24. Sanchez-Payá J. Control de bioseguridad ambiental. En: Pemán J, Martín-Mazuelos E, Rubio Calvo MC (Eds) Guía práctica de identificación y diagnóstico en micología clínica. Rev Iberoam Micol 2001: 1-10.
25. Steinbach W. New findings and unique aspects in pediatric aspergillosis. Med Mycol 2005; 43: 261-265.
26. Steinbach W, Benjamín D, Kontoyiannis D, Perfect J, Lutsar I, Marr K, Lionakis M, Torres H, Jafri H, Walsh T. Infections due to *Aspergillus terreus*: A multicenter retrospective analysis of 83 cases. Clin Infect Dis 2004; 39: 192-198.
27. Vandenberg MF, Verweij PE, Voss A. Epidemiology of nosocomial fungal infections: invasive aspergillosis and the environment. Diagn Microbiol Infect Dis 1999; 34: 221-227.
28. Vonberg RP, Gastmeier P. Nosocomial aspergillosis in outbreak settings. J Hosp Infect 2006; 63: 246-254.
29. Warris A, Gaustad P, Meis JF, Voss A, Verweij PE, Abrahamsen TG. Recovery of filamentous fungi from water in a paediatric bone marrow transplantation unit. J Hosp Infect 2001; 47: 143-148.
30. Warris A, Voss A, Verweij PE. Hospital sources of *Aspergillus* species: New routes of transmission? Rev Iberoam Micol 2001; 18: 156-162.