

Galactomanana: biomarcador de Aspergilose invasiva

Galactomannan: biomarker of invasive Aspergillosis

Janaina Cândido Fernandes¹, Milton Camplesi Junior¹, Fábio Silvestre Ataídes^{2*}

1 Universidade Paulista. Instituto de Ciências da Saúde. Rod. BR 153, KM 503, Área 1-5, S/N - Fazenda Botafogo, Cep. 74.845-090, Goiânia - GO
2 Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Escola de Ciências Médicas, Farmacêuticas e Biomédicas. Avenida Universitária, 1440 - Setor Universitário. CEP 74605-010, Goiânia-GO.

Resumo: Galactomanana (GM) é um polissacarídeo presente na parede celular de fungos do gênero *Aspergillus*. Dentro do gênero se destaca a espécie *A. fumigatus*, principal agente etiológico da aspergilose invasiva (AI), infecção fúngica oportunística que está relacionada com altas taxas de morbimortalidade, principalmente em pacientes neutropênicos. A identificação da GM em amostras biológicas nos estágios iniciais é considerada útil para o diagnóstico da infecção. O ensaio mais utilizado para detecção deste antígeno é Elisa imunoensaio, um teste simples, objetivo e específico. O presente estudo teve como objetivo levantar dados da literatura em relação à infecção invasiva causada por fungos do gênero *Aspergillus*, bem como a dosagem do antígeno GM para diagnóstico da doença e os possíveis interferentes no ensaio. A aspergilose invasiva atinge principalmente pulmões, podendo afetar outros órgãos, como fígado, rins e sistema nervoso central. Para diagnóstico da doença, a detecção do GM pelo Elisa imunoensaio permite identificar o antígeno antes do início das manifestações clínicas ou positividade em outros exames, favorecendo um diagnóstico precoce. Entretanto, resultados falso-positivos podem ser observados em pacientes tratados com alguns antibióticos ou reações cruzadas com outros fungos, enquanto falso-negativos podem ocorrer relacionados ao uso de terapia antifúngica ou problemas analíticos. Sendo assim, apesar de apresentar algumas limitações, o uso do biomarcador GM contribui amplamente no diagnóstico da AI em pacientes neutropênicos, especialmente quando associada a outras metodologias diagnósticas, podendo promover um diagnóstico rápido e eficaz, resultando em melhor sobrevida do paciente.

Palavras-chave: Antígeno Galactomanana. Neutropênicos. *Aspergillus*

Abstract: Galactomannan (GM) is a polysaccharide cell-wall component present in fungi of the genus *Aspergillus*. Within the genus, the specie *A. fumigatus* is noteworthy, once it is the main etiological agent of the invasive aspergillosis (AI), an opportunistic fungal infection that is related with considerable morbidity and mortality, especially in neutropenic patients. The identification of GM in biological samples in the initial phases is considered useful for the diagnosis of infection. The most widely used assay for detection of antigen is elisa immunoassay, a simple, objective and specific test. The present study aims review literature dates associated with the invasive infection caused by fungi of the genus *Aspergillus*, as well as the detection of GM antigen for the diagnosis of the disease and the possible interferences in the assay. Invasive aspergillosis affects mainly lungs, but it can spread to other parts of the body, like liver, kidney and central nervous system. For diagnosis of disease, the investigation of GM using elisa immunoassay enables to detect the antigen before the clinical manifestations or other tests positive, furthering an early diagnosis. However, false positive results can be found in patients on treatment with some antibiotics or cross-reactivity with other fungi, while false negatives can occur associated with antifungal therapy or analytical problems. Therefore, although it has some limitations, the use of biomarker GM contributes largely in the diagnosis of AI in neutropenic patients, especially when combined with other diagnostic methods, may promote a rapid and effective diagnosis, resulting in improved patient outcomes.

Keywords: Antigen Galactomannan. Neutropenics. *Aspergillus*.

INTRODUÇÃO

Galactomanana (GM) é um polissacarídeo formado por uma cadeia linear de α -manana e duas cadeias curtas de 1,5- β -galactofuranose que compõe a parede celular de fungos do gênero *Aspergillus*¹. O GM é solúvel em água, sendo encontrado em diversas amostras biológicas como sangue, urina, líquido e lavado broncoalveolar após o início do crescimento das hifas do fungo¹⁻³. As espécies do gênero *Aspergillus* são fungos filamentosos encontrados no solo e matéria orgânica em decomposição e sua reprodução ocorre principalmente de forma assexuada com a formação de conídios, que são propágulos infectantes da espécie⁴.

As manifestações clínicas provocadas pelas espécies do gênero *Aspergillus* são heterogêneas, pois dependem de fatores do hospedeiro como a imunodeficiência, observando lesões acometendo desde tecido cutâneo até órgãos internos, como ocorre na AI⁵. Entre as espécies, *A. fumigatus* é responsável por 90% dos casos de aspergilose invasiva (AI), com altas taxas de morbidade e mortalidade em pacientes transplantados de células tronco hematopoiética (TCTH) com neutropenia prolongada⁶.

A detecção de marcadores circulantes, como GM, que é constituinte da parede celular fúngica, estão incluídos como critério micológico para diagnóstico da doença invasiva^{7,8}. A detecção nos estágios iniciais da doença é considerada útil para o diagnóstico precoce e aumento da sobrevivência do paciente. O limiar de detecção do antígeno depende da metodologia do ensaio, sendo que o mais utilizado é Elisa imunoensaio por ser um teste simples, objetivo e específico que utiliza anticorpo monoclonal capaz de detectar o GM pelo reconhecimento da cadeia lateral 1,5- β -D galactofuranosídeo da molécula^{2,9}.

Dessa forma, esta revisão de literatura objetiva descrever sobre a infecção invasiva causada por fungos do gênero *Aspergillus*, bem como a dosagem do antígeno GM para diagnóstico da doença e os fatores capazes de interferir no ensaio.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa bibliográfica foi realizada nas seguintes bases de dados: PubMed (*Public Medical Literature Analysis and Retrieval System Online*), Scielo

(*Scientific Electronic Library Online*) e Lilacs (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde). Na busca, foram utilizados, os seguintes descritores em Ciências da Saúde (DeCS), de forma isolada ou em combinação: “antígeno galactomanana”, “neutropênicos” e “*Aspergillus*”, e incluídos 53 artigos abordando os principais aspectos do diagnóstico da AI e que apresentavam conteúdos que contribuíram para o cumprimento dos objetivos deste trabalho, nos idiomas português, inglês ou espanhol, publicados no período de 2002 a 2016. Foram excluídos do estudo artigos publicados antes de 2002, artigos publicados em outros idiomas e aqueles em que os conteúdos não estavam relacionados aos objetivos propostos neste trabalho.

REVISÃO DA LITERATURA

1. *Aspergillus* spp

Os fungos do gênero *Aspergillus* são cosmopolitas, encontrados no solo e matéria orgânica em decomposição⁶, crescem como hifas, principalmente pela reprodução assexuada formando conidióforos com cabeça aspergilar por onde são liberados uma grande quantidade de conídios. O gênero engloba mais de cem espécies com diferentes características micro e macroscópicas. Embora *Aspergillus fumigatus* seja a espécie mais patogênica, *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*, *A. nidulans* e *A. ustus*, também são isolados de pacientes com infecção invasiva¹⁰. A evolução das diferentes formas clínicas da aspergilose depende da interação microrganismo-hospedeiro, como virulência da cepa e estado imunológico do hospedeiro, o que pode determinar um prognóstico desfavorável pelo desenvolvimento da forma invasiva da infecção^{11,12}.

A transmissão ocorre pela inalação de conídios liberados pelo fungo no ambiente, que se alojam no pulmão, entram em contato com o epitélio terminal das vias respiratórias e se depositam entre as lacunas do revestimento dos brônquios e alvéolos^{12,13} iniciando uma inflamação acompanhada por liberação de enzimas fúngicas e produção de gliotoxinas^{14,15}, o que resulta em danos nos tecidos e a disseminação do fungo para outros órgãos, como fígado, rins e sistema nervoso central (SNC) através da corrente sanguínea, originando abscessos e lesões necróticas nesses órgãos¹⁶.

2. Aspergilose invasiva (AI)

AI é a segunda micose sistêmica mais comum em todo o mundo, com uma taxa de prevalência de 1-15%. Esta infecção apresenta-se como uma das principais causas de morbidade e mortalidade em pacientes com neoplasias hematológicas, neutropênicos (com contagem de neutrófilos 100-500 cel/mm³)¹⁷ e receptores de transplante de células hematopoéticas¹⁸, além disso, tratamento com imunossuppressores, como corticoterapia, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), câncer de órgãos sólidos e pacientes com Vírus da Imunodeficiência Humana são condições que também estão relacionadas com predisposição para AI¹⁹. Estes fatores determinam uma maior vulnerabilidade para AI em decorrência da imunodeficiência que facilita a evolução do processo infeccioso.

A infecção invasiva por *Aspergillus spp* é caracterizada pela capacidade de invasão vascular pelo fungo, produzindo uma doença generalizada envolvendo mais de um órgão, e conseqüentemente levando a um pior prognóstico da doença. Em dois relatos de caso em pacientes pediátricos, com diagnóstico de leucemia aguda, foi verificada a evolução de AI a nível renal e outro envolvendo simultaneamente pulmões e sistema nervoso central, o que determinou um pior prognóstico clínico e terapêutico quando comparado com o caso com acometimento renal²⁰.

Em um estudo com pacientes transplantados de medula óssea foi verificado altas taxas de letalidade da AI, mesmo com tratamento empírico com antifúngicos sistêmicos, em decorrência do atraso no diagnóstico da infecção a nível pulmonar, e ainda pela sua facilidade de disseminação para outros órgãos. Além disso, entre os principais fatores de risco para o desenvolvimento de AI foi o tratamento com esteróides, em 63% dos casos, e período prolongado de neutropenia, com média de 18,7 dias²¹.

O diagnóstico da AI tem início com a suspeita clínica associado a fatores de risco do hospedeiro e epidemiologia local, uma vez que o fungo está onipresente na natureza^{22,23}. Portanto, a investigação deverá ser iniciada o mais breve possível tanto com métodos diagnósticos convencionais, como cultura, biópsia e exames radiológicos²⁴⁻²⁶.

No entanto exames histopatológicos requerem procedimentos invasivos que geralmente são excluídos

quando se trata de paciente neutropênico, submetidos à quimioterapia e tratamento pós-transplante. A cultura do material biológico apresenta baixo rendimento pela dificuldade de determinar se um resultado positivo está relacionado com infecção fúngica invasiva, colonização ou contaminação^{2,7}. Desta forma, a detecção da GM representa um importante teste diagnóstico em pacientes com suspeita de AI, uma vez que quando monitorada de forma seriada, antecipa o diagnóstico da doença³.

3. Antígeno galactomanana (GM)

O GM é um polissacarídeo termoestável^{6,27}, hidrossolúvel, composto por uma cadeia linear α -manana e cadeias curtas de 1,5- β -galactofuranose componente da camada externa da parede celular de fungos do gênero *Aspergillus*, sendo liberado na corrente sanguínea durante a disseminação no processo infeccioso¹. Apesar que a dosagem de GM é comumente realizado no soro, a utilização de lavado bronco-alveolar (LBA) apresenta alta sensibilidade e especificidade quando comparado com a dosagem no soro²⁸⁻³⁰. Além disso, de acordo com o sítio anatômico pode ser utilizado urina ou líquido, mesmo que o teste apresente baixa sensibilidade^{31,32}.

A detecção de GM pode ser realizada por um ensaio semiquantitativo imunoenzimático do tipo sanduíche, onde são utilizados anticorpos monoclonais^{30,33} que reconhecem o epítipo galactofuranose da molécula de GM³⁴. O limiar de detecção para o teste em amostras de soro é de 1 ng/mL⁻¹, enquanto que a técnica de aglutinação em látex utilizando o mesmo anticorpo apresenta um limiar de detecção de 15 ng/mL⁻¹. Além disso, os resultados do ensaio podem ser obtidos em poucas horas, possibilitando um diagnóstico precoce da doença^{2,9}.

Os anticorpos utilizados no teste reagem com várias espécies de *Aspergillus* como: *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. versicolor* e *A. terreus*, porém também são capazes de reconhecer exoantígenos de outros fungos filamentosos como *Penicillium*, *Trichophyton*, *Cladosporium*, *Alternaria* e *Fusarium*. Por esse motivo, faz-se necessário alguns cuidados na coleta, manipulação e transporte da amostra clínica utilizada, para evitar contaminação por outros fungos filamentosos²⁷.

A detecção do GM em amostras clínicas ocorre de cinco a oito dias antes do início das manifestações

clínicas, das alterações nos exames de imagem ou da positividade dos métodos de cultura³⁵, no entanto, devido à liberação inconstante do antígeno a dosagem deve ser feita pelo menos duas vezes por semana sendo aceito como critério diagnóstico duas amostras consecutivas positivas³⁶.

Apesar que, a dosagem de GM pode determinar critérios diagnósticos da AI é observado uma variação da especificidade e sensibilidade de acordo com a população de estudo, extensão da capacidade de angioinvasão do fungo e número de amostras obtidas de cada paciente^{37,38}. Zhang et al.³⁹ verificaram uma sensibilidade de 91% e especificidade de 81% no diagnóstico de AI em pacientes com DPOC. Da mesma forma, estes índices elevados foram verificados em uma meta-análise de 27 estudos envolvendo pacientes com diferentes características clínicas, com sensibilidade e especificidade de 71% e 89%, respectivamente³⁰. No entanto a dosagem do GM para o diagnóstico de AI em pacientes com Diabetes Mellitus (DM) descontrolada e sem neutropenia apresentou uma baixa sensibilidade com 23% e uma melhor especificidade com 76,1%⁴⁰.

A pesquisa de GM no LBA se comparada ao soro apresenta uma maior sensibilidade, no entanto a associação da pesquisa no soro e LBA aumenta a sensibilidade diagnóstica do teste. Uma meta-análise de 16 estudos avaliando o desempenho do GM em pacientes hematológicos demonstrou uma sensibilidade de 82% e especificidade de 92%, no entanto a associação da dosagem de GM no soro e LBA determinou aumento da sensibilidade e diminuição da especificidade para 90% e 89%, respectivamente. O aumento da sensibilidade quando utilizada amostra de LBA está relacionada com o fato das vias aéreas inferiores serem os locais mais afetados pela infecção por *Aspergillus sp.*, e consequentemente determinar uma maior concentração de GM⁴¹.

Alguns fatores influenciam a dosagem de GM o que pode determinar uma baixa sensibilidade e consequentemente resultados falso positivos ou negativos^{27,42}. A frequência de possíveis resultados falso-positivos usualmente varia entre 8 a 14%¹⁶, sendo determinado principalmente pelo uso de antibióticos da classe beta-lactâmicos, pois estes fármacos são produtos metabólicos do *Penicillium*, fungo que também possui GM na composição molecular da parede celular^{43,44}.

De acordo com Viscoli e colaboradores³⁸ o teste para dosagem de GM apresentou uma alta incidência

de falsos positivos em transplantados de medula óssea com tratamento empírico de piperacilina-tazobactam sendo que o teste produziu resultados positivos em 12 de 15 lotes do antibiótico utilizado. Esta interferência pode ocorrer por um período de até cinco dias após a administração do antibiótico, no entanto de acordo com Mikulskiet al.⁴⁵ o nível de interferência destes antibióticos depende da indústria farmacêutica, pois algumas preparações não determinam estes resultados falsos positivos.

A colonização do intestino de crianças e neonatos por *Bifidobacterium bifidum* pode estar relacionados com resultados falso positivos na dosagem de GM⁴⁶. Segundo Marr et al.⁴⁷ o ácido lipoteicoico, um constituinte da parede celular da *Bifidobacterium bifidum*, existente na microbiota intestinal dos neonatos causa uma reação cruzada com o anticorpo monoclonal EB-A2, devido à estrutura molecular ser semelhante a resíduos das cadeias laterais do galactomanana.

A reatividade cruzada com outros fungos é uma importante causa na determinação de resultados falso positivos na detecção do GM²⁷. De acordo com Tortorano et al.⁴⁸ entre 11 pacientes com doenças hematológicas e neutropênicos com confirmação de fusariose disseminada, a dosagem de GM foi positiva em nove com ausência de crescimento do *Aspergillus* em cultura de espécimes clínicos. Um índice de reação cruzada com *H. capsulatum* utilizando a dosagem de GM foi observado em 23 de 48 amostras clínicas positivas utilizando testes que detectam especificamente antígeno do *H. capsulatum*⁴⁹. Além disso, foi verificada reação cruzada de *Blastomyces dermatitidis*, *Nigrospora oryzae*, *Paecilomyces lilacinus*, *Penicillium chrysogenum* e *Trichothecium roseum* entre 53 testes utilizando a dosagem de GM⁵⁰.

A taxa de resultados falso-negativos no teste de ELISA para detecção de GM oscila entre 8 e 10%⁵¹. Tănase et al.³⁴ relataram que o fator que desencadeia resultados falso negativos na dosagem do GM está relacionado ao uso de profilaxias antifúngicas. Quando o paciente faz uso de algum tipo de terapia antifúngica, há um atraso na liberação GM e por consequência um atraso na detecção no sangue, além do que a concentração no soro apresenta-se reduzida, determinando uma menor sensibilidade e especificidade do teste. Além disso, outros fatores são capazes de desencadear resultados falsamente negativos como a frequência

inadequada da realização de testes, pequeno volume de amostras coletadas e conservação da amostra acima do tempo recomendado.

No entanto, mesmo apresentando várias limitações, a dosagem do GM é amplamente utilizada no diagnóstico da AI, principalmente quando associada a outros métodos diagnósticos⁵² como detecção de (1 3) β -D- glucano (BGD) e métodos moleculares como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), o que pode determinar uma melhor validade diagnóstica em relação ao seu desempenho individual²⁷ com um diagnóstico preciso de 95,2% dos casos de AI⁵³.

CONSIDERAÇÕES

Embora a utilização da dosagem de GM seja de grande utilidade para o diagnóstico precoce, emprego

e monitoramento da terapia antifúngica no tratamento da AI, a importância da agregação de dados clínicos radiológicos e microbiológicos não pode ser desconsiderada, uma vez que desempenham papel fundamental na detecção e avaliação evolutiva da doença.

Além disso, a dosagem do GM auxilia no monitoramento da terapia antifúngica, pois a resposta terapêutica é diretamente proporcional a diminuição da concentração de GM. Uma maior sobrevida dos pacientes é observada quando os níveis de GM diminuem durante a terapia. Por outro lado, níveis de GM em constante aumento constituem casos com mau prognóstico, que pode ser determinado pelo diagnóstico tardio e terapia antifúngica estabelecida depois de estado avançado da doença.

REFERÊNCIAS

1. KLONT, RR., MENNINK-KERSTEN, MAS. & VERWEIJ, P.E. 2004. Utility of aspergillus antigen detection in specimens other than serum specimens. *Journal Oxford* 39:1467–1474.
2. AQUINO, V., GOLDANI, L. & PASQUALOTO, A. 2007. Update on the contribution of galactomannan for the diagnosis of invasive aspergillosis. *Journal Mycopathologia*. 163:191–202.
3. SING, N. & PATERSON, D. 2005. Aspergillus infections in transplant recipients. *Clinical Microbiology Reviews* 18:44–69.
4. PALACIO, DA., CUÉTARA, M. & PONTÓN, J. 2003. El diagnóstico de laboratorio de la aspergilosis invasora. *Revista Iberoamericana de Micología* 20:90–98.
5. KOSMIDIS, C. & DENNING, D.W. 2015. The clinical spectrum of pulmonary aspergillosis. *Thorax - BMJ Journals* 1:270–277.
6. HOPE, W., WALSH, T. & DENNING D. 2005. The invasive and saprophytic syndromes due to *Aspergillus* spp. *Journal of Medical and Veterinary Mycology* 1:207–238.
7. PAUW, B. DE., WALSH, T., DONNELLY, J. & STEVENS, A. 2008. 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 (EORT/MSG) Consensus Group. *Clinical Infectious Diseases Journal* 46:1813–1821.
8. ASCIOGLU, S., REX, J., PAUW, H., BENNETT, J., BILLE, J. & CROKAERT, F. 2002. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clinical Infectious Diseases Journal* 34:7–14.
9. PASQUALOTO, A.C. & DENNING, D. 2005. Diagnosis of invasive fungal infections – current limitations of classical and new diagnostic methods. *European Oncology Review* 1–11.
10. ALANGADEM, J. 2011. Nosocomial fungal infections: epidemiology, infection control, and prevention. *Clinical Infectious Diseases Journal* 25:201–225.
11. KRADIN, R. & MARK, E. 2008. The pathology of pulmonary disorders due to *Aspergillus* spp. *Archives of Pathology e Laboratory Medicine* 132:606–614.
12. PARK, S. & MEHRAD, B. 2009. Innate immunity to *Aspergillus* species. *Clinical Microbiology Reviews*

- 22:535–551.
13. DEGENAIS, T. & KELLER, N. 2009. Pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* in invasive aspergilosis. *Clinical Microbiology Reviews* 22:447-465.
 14. KAPPAHL, C., MICHALKA, A., LASS-FLORL, C., FISCHER, G., HAASE, G., RUPPERT, T., GEGINAT, G. & HOF, H. 2008. Gliotoxin production by clinical and environmental *Aspergillus fumigatus* strains. *International Journal of Medicine* 14:78–84.
 15. ABAD, A., MOLINA, J.F., BIKANDI, J., RAMIREZ, A., MARGARETO, J., SENDINO, J., HERMANDO, F., POTÓN, J., GARAIZAR, J. & REMENTARIA, A. 2010. Wath makes *Aspergillus fumigatus* a successful pathogen? genes and molecules involved in invasive aspergilosis. *Revista Iberoamericana de Micologia* 27:155–182.
 16. BARNES P, MARR K. 2006. Aspergillosis: spectrun of disease diagnosis, and Treatment. *Journal Infectious Disease Clinics of North America* 20:545–561.
 17. MONTAGNA, M.T., LOVERO, G., CORETTI, C., MARTINELLI, D., DELIA, M., GIGLIO, O., CAIRA, M., PUNTILLO, F., VENDITTI, M., SAMBRI, V., BERNARDO, F. DI., BARBUI, A., CASCIO, G LO., CONCIA, E., MIKULSKA, M., VISCOLI, C., MAXIMOVA, N., CANDONI, A., OLIVERI, S., LOMBARDI, G., PITZURRA, L., SANGUINETTI, M., MASCIARI, R., SANTANTONIO, T., ANDREONI, S., BARCHIESI, F., PECILE, P., FARINA, C., VIALE, P., SPECCHIA, G. & CAGGIANO, G. PAGANO, L. 2014. SIMIFF study : Italian fungal registry of mold infections in hematological and non-hematological patients. *Journal Springer*. 1:141–151.
 18. HOENIGL, M., ZOLLNER-SCHWETZ, I., SILL, H., LINKESCH, W. & LASS-FLOEL, C. 2011. Epidemiology of invasive fungal infections and rationale for antifungal therapy in patients with haematological malignancies. *Journal Mycoses* 54:454–459.
 19. THOMPSON, J., HUYSCKE, M., GREENFIELD, R., KURDGELASHVILI, G. & GENTRY, C. 2011. Case-control study of station prevention of mould infections. *Journal Mycoses*. 481–485.
 20. MUDA, Z., IBRAHIM, H., ABDULRAHMAN, E.J., MENON, B.S., ZAHARI Z, ZALEHA A.M. & TALIB, A. 2008. Invasive aspergillosis in paediatric oncology patients. *Medical Journal of Malasya* 63:415–416.
 21. MAERTENS, J., ELDERE, J. VAN., VERHAEGEN, J., VERBEKEN, E., VERSCHAKELLEN, J. & BOOGAERTS, M. 2002. Use of circulating galactomannan screening for early diagnosis of invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients. *Clinical Infectious Diseases Journal* 186:1297–1306.
 22. NEOFYTUS, D., HORN, D., ANAISSIE, E., STEINBACH, W., OLYAEI, A., FISHMAN J, PFAILER, M., CHANG, C., WEBSTER, K. & MARR, K. 2013. Epidemiology, outcome, and mortality predictors of invasive mold infections among transplant recipients: a 10- year, single-center experience. *Journal Transplant Infectious Disease* 15:233–242.
 23. HAIDUVEN, D. Nosocomial aspergillosis and building construction. 2009. *Medical Mycology Journal* 1:10–16.
 24. ALEXANDER, B. & PFALLER, M. 2006. Contemporary tools for the diagnosis and management of invasive mycoses. *Journal Clinical Infectious Diseases* 43:15–27.
 25. HSU, J., RUOSS, S., BOWER, N., LIN, M., HOLODNIY, M. & STEVENS, D. 2011. Diagnosing invasive fungal disease in critical ill patients. *Critical Reviews in Microbiology* 37:277–312.
 26. OSTROSKY-ZEICHNER, L. 2012. Invasive Mycoses: Diagnostic Challenges. *American Journal of Medicine* 125:14–24.
 27. GAVRONSKI, S., BOTELHO, T.K.R. & CORDOVA, C.M.M. 2016 . Diagnóstico laboratorial de aspergilose invasiva:avaliação de métodos moleculares e detecção de antígenos. *Revista Brasileira de Análises Clínicas* 48: 96–109.
 28. AUBRY, A., PORCHER, R., BOTTERO, J., TOURATIER, S., LEBLANC, T. & BRETHON, B. 2006. Occurrence an kinetics of false-positive aspergillus galactomannan test results following treatment with beta-lactam antibiotics in patients with hematological. *Clinical Microbiology Reviews* 44:389–94.
 29. PERFECT, J. 2013. Review fungal diagnosis: How do we do it and can we do better? *Current Medical Re-*

- search and Opinion Journal 29:3–11.
30. PFEIFFER, C., FINE, J. & SAFDAR, N. 2006. Diagnosis of invasive aspergillosis using a galactomannan assay: a meta-analysis. *Journal Clinical Infectious Diseases* 42:1417–1427.
 31. AMBASTA, A., CARSON, J. & CHURCH, D.L. 2015. The use of biomarkers and molecular methods for the earlier diagnosis of invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *Journal Medical Mycology* 53:531–557.
 32. WHEAT, J. 2005. Galactomannan antigenemia detection for diagnosis of invasive aspergillosis. *Clinical Microbiology Newsletter* 27:51–57.
 33. OLAYA, V., CADAVID, C.M., ARANGO, K., ZULUAGA, A., DURANGO, G.E., URIBE, J.D. 2010. Caracterización de los pacientes con sospecha de aspergilosis invasiva estudiados con prueba platelia aspergillus® characterization of patients with suspected invasive aspergillosis studied by Platelia test. *Revista de Medicina Universidade Pontificia Bolivariana* 29:109–118.
 34. TĂNASE, A., COLIPĂ, A., MĂRCULESCU, A., BERTEANU, C., STREINU, A.C. & STOICA, M. 2012. Using the galactomannan antigen assay in the diagnosis of aspergillosis after hematopoietic stem cell transplantation. *Romanian Journal of Morphology and Embryology* 53:379–382.
 35. MAERTENS, J., MAERTENS, V., THEUNISSEN, K., MEERSSEMAN, W., MEERSSEMAN, P., MEERS, S., VERBEKEN, E., VERHOEF, G., ELDERE, J. V. & LAGROU, K. 2009. Bronchoalveolar lavage fluid galactomannan for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematologic diseases. *Journal Clinical Infectious Diseases* 49:1688–1693.
 36. XAVIER, M.O., OLIVEIRA, F.D.M. & SEVERO, L.C. 2009 Diagnóstico laboratorial das micoses pulmonares. *Jornal Brasileiro de Pneumologia* 35:907–919.
 37. TORELLI, R., SANGUINETTI, M. & MOODY, A. 2011. Diagnosis of invasive aspergillosis by a commercial real-time PCR assay for *Aspergillus* DNA in bronchoalveolar lavage fluid samples from high-risk patients compared to a galactomannan enzyme immunoassay. *Journal of Clinical Microbiology* 49:4273–4278.
 38. VISCOLI, C., MACHETTI, M. & CAPPELLANO, P. 2004. False-positive galactomannan platelia *Aspergillus* test results for patients receiving piperacillin-tazobactam. *Journal Clinical Infectious Diseases* 38:913–916.
 39. ZHANG, X., CHEN, G. & LIN, Q. 2013. Bronchoalveolar lavage fluid galactomannan detection for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in chronic obstructive pulmonary disease. *Journal Medical Mycology* 51:688–695.
 40. KU, N., HAN, S. & CHOI, J. 2012. Diagnostic value of the serum galactomannan assay for invasive aspergillosis: it is less useful in non-haematological patients. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 44:600–604.
 41. HENG, S., MORRISSEY, O., CHEN, S., THURSKY, K., MANSER, R., NATION, R., KONG, D.C. & SLAVIN, M. 2015. Utility of bronchoalveolar lavage fluid galactomannan alone or in combination with PCR for the diagnosis of invasive aspergillosis in adult hematology patients: A systematic review and meta-analysis. *Critical Reviews in Microbiology*. 41:124–134.
 42. SWOBODA-KOPEĆ, E., GOŁAŚ, M., PISKORSKA, K., DAŃKOWSKA, M., NIECWIETAJEW, I., PAĆZEK, L. & SIKORA, M. 2015. *Aspergillus* galactomannan detection in comparison to a real-time PCR assay in serum samples from a high-risk group of patients. *Central European Journal of Immunology* 40:454–460.
 43. BOONSARNGSUK, V., NIYOMPATTAMA, A. & TEOSIRIMONGKOL, C. 2010. False-positive serum and bronchoalveolar lavage *Aspergillus* galactomannan assays caused by different antibiotics. *Scandinavian journal of infectious diseases* 42:461–468.
 44. CUENCA-ESTRELLA, M., BASSETTI, M. & LASS-FLORL, C. 2011. Detection and investigation of invasive aspergillosis mould disease. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 66:45–53.
 45. MIKULSKA, M., FURFARO, E. & BONO, V. DEL. 2012. Piperacillin/tazobactam (Tazocin) seems to be no longer responsible for false-positive results of the galactomannan assay. *Journal of Antimicrobial Chemother-*

- apy 67:1746–1748.
46. MENNINK-KERSTEN, MASH., RUEGEBRINK, D., KLONT, R.R., WARRIS, A., GAVANI, F., CAMP, H. J. M. O. D. & VERWEIJ, P.E. 2005. Bifidobacterial lipoglycan as a new cause for false-positive Platelia *Aspergillus* enzyme-linked immunosorbent assay reactivity. *Journal of Clinical Microbiology* 43:3925–3931.
 47. MARR, KA., BALAJEE, S.A. & MCLAUGHLIN, L. 2004. Detection of galactomannan antigenemia by enzyme immunoassay for the diagnosis of invasive aspergillosis: variables that affect performance. *Journal Clinical Infectious Diseases* 190:641–649.
 48. TORTORANO, A., ESPOSTO, M. & PRIGITANO, A. 2012. Cross-reactivity of *Fusarium* spp. in the *Aspergillus* galactomannan enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal Clinical Infectious Diseases* 50:1051–1053.
 49. WHEAT, L., HACKETT, E. & DURKIN, M. 2007. Histoplasmosis-associated cross-reactivity in the BioRad platelia *Aspergillus* enzyme immunoassay. *Clinical and Vaccine Immunology* 14:638–640.
 50. CUMMINGS, J., JAMISON, G. & BOUDREAUX, J. 2007. Cross-reactivity of non-*Aspergillus* fungal species in the *Aspergillus* galactomannan enzyme immunoassay. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 59:113–115.
 51. XAVIER, M., PASQUALOTTO, A., AQUINO, V., SUKIENNIK, T. & SEVERO, L. 2009. Galactomannan detection from piperacillin-tazobactam brands available in the Brazilian market. *Brazilian Journal of Infectious Diseases* 13:353–355.
 52. ROGERS, T., MORTON, C. & SPRINGER, J. 2013. Combined real-time PCR and galactomannan surveillance improves diagnosis of invasive aspergillosis in high risk patients with haematological malignancies. *British Journal of Haematology* 161:517–524.
 53. CUENCA, M.E., MEIJE, Y., DIAZ, C.P., GOMEZ, A.L., BUITRAGO, M. & BERNA, L.M. 2009. Value of serial quantification of fungal DNA by a real-time PCR based technique for early diagnosis of invasive aspergillosis in patients with febrile neutropenia. *Journal of Clinical Microbiology* 47:379–384.