

VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

Facultat de Medicina i Odontologia

Departament de Medicina

Programa de Medicina

Enero 2022, Valencia



**Incidencia y factores pronósticos para el desarrollo de
infección fúngica invasiva en pacientes hematológicos de
alto riesgo**

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Rebeca Rodríguez Veiga

Dirigida por:

Cat. Miguel A. Sanz Alonso

Prof. Pau Montesinos Fernández

MIGUEL A. SANZ ALONSO, Catedrático de Medicina y Profesor honorario del Departamento de Medicina de la Universidad de Valencia

PAU MONTESINOS FERNÁNDEZ, Profesor asociado del Departamento de Medicina de la Universidad de Valencia

CERTIFICAN:

Que la tesis doctoral titulada: “INCIDENCIA Y FACTORES PRONÓSTICOS PARA EL DESARROLLO DE INFECCIÓN FÚNGICA INVASIVA EN PACIENTES HEMATOLÓGICOS DE ALTO RIESGO”, ha sido realizada bajo mi dirección por Rebeca Rodríguez Veiga, Licenciada en Medicina y Cirugía, y reúne a mi juicio condiciones suficientes para su presentación y defensa ante el tribunal correspondiente para optar al grado de Doctor.

Fdo.: Cat. Miguel A. Sanz Alonso

Fdo.: Prof. Pau Montesinos Fernández

Valencia, 18 enero de 2022

AGRADECIMIENTOS

A los directores de esta tesis doctoral, el Cat. Miguel A. Sanz y el Prof. Pau Montesinos, por su apoyo y disponibilidad para que este trabajo de tesis haya podido finalizarse. Su forma de trabajo, siempre en equipo, con respeto entre compañeros, basada en el esfuerzo y la búsqueda incansable por mejorar el presente inspiran mi trabajo a diario.

A todos los que forman o han formado parte del Servicio de Hematología del Hospital La Fe y a todos los pacientes, que nos animan a seguir mejorando cada día, gracias por contribuir a convertirme en la hematóloga que soy.

A Pau, David, Blanca, Isabel, Evelyn y Laura por su amistad, trabajar con vosotros es un regalo. Pau y David, merecen una mención especial, porque sin su presión, paciencia y cariño para que finalice los proyectos que tengo a medias, esta tesis y muchos otros de mis proyectos no habrían salido a la luz. Gracias a vosotros sigo aprendiendo cada día.

A Antonio Torres por sus consejos y ayuda en las publicaciones de esta tesis.

A mi madre y mi hermano por su amor y apoyo constante, y que, junto con toda mi familia, me enseñaron a ser la persona que soy hoy. A Yinela y Eva, por su amistad incondicional. A mi abuelo que siempre quiso que presentase mi tesis doctoral, por fin ha llegado ese día.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	5
1 INTRODUCCIÓN	15
1.1 GENERALIDADES	17
1.2 EPIDEMIOLOGÍA Y FACTORES DE RIESGO PARA EL DESARROLLO DE IFI	17
1.3 DIAGNÓSTICO DE IFI	19
1.4 PROFILAXIS Y TRATAMIENTO DE LA IFI	21
1.5 FÁRMACOS ANTIFÚNGICOS	22
1.5.1 Equinocandinas	22
1.5.2 Azoles	23
1.5.3 Polienos	25
1.6 ENFERMEDAD HEMATOLÓGICA Y RIESGO DE IFI	26
1.7 JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	27
2 HIPÓTESIS	29
3 OBJETIVOS.....	33
4 MATERIAL Y MÉTODOS	37
4.1 DISEÑO DE LOS ESTUDIOS	39
4.2 PACIENTES.....	39
4.2.1 Criterios de elegibilidad en los estudios	39
4.3 RECOGIDA Y REGISTRO DE DATOS.....	40
4.4 MONITORIZACIÓN Y DIAGNÓSTICO DE LA IFI	41
4.4.1 Monitorización.....	41
4.4.2 Diagnóstico	41
4.5 PROFILAXIS DE LA IFI	42
4.5.1 Receptores de alo-TPH	42
4.5.2 Pacientes con LMA.....	43
4.6 TRATAMIENTO DE LA IFI	44
4.6.1 Evaluación de la respuesta al tratamiento antifúngico	44
4.7 TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS	44
4.8 MODELO DE PREDICCIÓN MULTIVARIABLE PARA EVALUAR EL DESARROLLO DE IFI EN RECEPTORES DE ALO-TPH TRAS EN INJERTO.....	46
4.9 LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA.....	46
4.10 OTRAS DEFINICIONES.....	48
4.10.1 IFI de brecha	48
4.10.2 Toxicidad limitante	49
4.11 RECOGIDA Y REGISTRO DE DATOS.....	49
4.12 CONFIDENCIALIDAD.....	49

4.13 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	49
5 RESULTADOS	51
5.1 ARTÍCULO 1	53
5.2 ARTÍCULO 2.....	57
5.3 ARTÍCULO 3.....	62
6 DISCUSION	65
7 CONCLUSIONES	73
8 ANEXOS.....	77
8.1 ANEXO 1	79
8.1.1 Manuscrito original.....	80
8.1.2 Manuscrito en castellano.....	88
8.2 ANEXO 2	114
8.2.1 Manuscrito original.....	115
8.2.2 Manuscrito en castellano.....	125
8.3 ANEXO 3	148
8.3.1 Manuscrito original.....	149
8.3.2 Manuscrito en castellano.....	157
9 BIBLIOGRAFÍA	177

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

AGA	Antígeno galactomanano <i>Aspergillus</i>
Alo-TPH	Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos
ATG	Globulina antitimocítica
BU	Busulfan
CIR	Incidencia Acumulada de Recaída (<i>Cumulative Incidence of Relapse</i>)
CMV	Citomegalovirus
Cy	Ciclofosfamida
ECOG	<i>Eastern Cooperative Oncology Group</i>
EICH	Enfermedad injerto contra huésped
FAB	<i>French-American-British</i>
FLU	Fludarabina
GOT o AST	Aspartato aminotransferasa
GPT o ALT	Alanino aminotransferasa
HLA	Antígeno leucocitario humano (<i>Human leukocyte antigen</i>)
IA	Incidencia acumulada
IFI	Infección fúngica invasiva
IV	Vía intravenosa
LMA	Leucemia Mieloblástica Aguda
LLA	Leucemia Linfoblástica Aguda
LCR	Líquido cefalorraquídeo
MEL	Melfalan
OMS	Organización mundial de la salud
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa (<i>Polymerase chain reaction</i>)
RC	Remisión Completa
RCi	Remisión Completa con recuperación incompleta
RP	Remisión Parcial
SG	Supervivencia Global
SLE	Supervivencia Libre de Enfermedad
SNC	Sistema Nervioso Central
TAC	Tomografía axial computarizada

TBI	Irradiación corporal total (<i>Total body irradiation</i>)
TLD	Toxicidad limitante de dosis
TPH	Trasplante de progenitores hematopoyéticos
TT	Tiotepa
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Generalidades

La mayoría de los hongos ambientales no causan enfermedad en las personas inmunocompetentes, con excepción de algunos grupos como los dermatofitos, que en general causan cuadros clínicos leves. Sin embargo, los pacientes inmunodeprimidos se encuentran en riesgo de padecer infecciones por algunos de esos hongos ambientales con los que conviven, produciendo en ocasiones cuadros clínicos graves, como las infecciones fúngicas invasivas (IFI). Los pacientes con enfermedades hematológicas que presentan un déficit inmune, como neutropenia y/o alteración de la inmunidad celular, son especialmente susceptibles a la infección por organismos oportunistas, como los hongos. Siendo, por ello, la IFI una causa cada vez más frecuente de morbilidad y mortalidad en pacientes con enfermedades hematológicas malignas en tratamiento con quimioterapia intensiva y los receptores de un trasplante alogénico de progenitores hematopoyético (alo-TPH). Los hongos que más frecuentemente causan IFI en estos pacientes son *Aspergillus*, *Cándida* y, en menor medida, *Mucor*, aunque la incidencia de este último se está incrementando en las últimas décadas (Neofytos *et al*, 2009; Kontoyiannis *et al*, 2010). También debemos considerar otros hongos emergentes con capacidad patógena, como *Fusarium* y *Scedosporium*, entre otros.

1.2 Epidemiología y factores de riesgo para el desarrollo de IFI

Existe gran variabilidad geográfica en la distribución de las especies y en la sensibilidad a los antifúngicos, lo que hace que conocer la epidemiología local sea importante para el manejo adecuado de este tipo de infecciones.

Cándida es un microorganismo comensal presente en el tubo digestivo y ocasionalmente en la piel, que causa normalmente infecciones endógenas cuya puerta de entrada más habitual es la gastrointestinal. La presentación clínica más frecuente es la candidemia y seguida de las infecciones del tracto urinario. Se han descrito más de cien especies distintas de *Cándida*, pero alrededor del 95% de las infecciones están causadas por *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. krusei* (Horn *et al*, 2009). Sin embargo, la distribución de especies no es homogénea. Por ejemplo, en la Comunidad Valenciana la especie más prevalente fue *C. parapsilosis* (Pemán *et al*, 2012). Los factores de riesgo que se han asociado a su desarrollo son

múltiples, pero los más reconocidos son: el estado de inmunosupresión, la quimioterapia intensiva o la radioterapia, el uso de corticoesteroides, la presencia de un catéter central, recibir nutrición parental y el uso de antibióticos de amplio espectro (Nucci & Colombo, 2002; Uzun *et al*, 2001; Almirante *et al*, 2005; Donhuijsen *et al*, 2008; Dimopoulos *et al*, 2008).

La candidiasis invasiva fue la IFI más prevalente hace 40 años. Sin embargo, cuando se inició el uso de fluconazol en profilaxis, se produjo un importante descenso de estas micosis. La incidencia de la infección por *Cándida* en los pocos estudios realizados en pacientes hematológicos es variable por la heterogeneidad de estos (profilaxis antifúngica, líneas de tratamiento, alo-TPH o no, etc) (Wirk & Wingard, 2009). Se ha reportado que, en ausencia de profilaxis, entre el 8% y el 24% de los pacientes hematológicos de alto riesgo podrían desarrollar candidiasis invasiva (Rotstein *et al*, 1999; Menichetti *et al*, 1999; Penack *et al*, 2006). La candidiasis invasiva en estos pacientes puede asociar una mortalidad del 30-40% (Almirante *et al*, 2005; Hajjeh *et al*, 2004).

Aspergillus es un hongo filamentoso ambiental (compuesto de cadenas de células, llamadas hifas). Su puerta de entrada más común es la aérea, y el órgano que más frecuentemente afecta es el pulmón. Aunque puede producir otros cuadros clínicos como la sinusitis, infecciones cutáneas o del sistema nervioso central. La aspergilosis invasiva se caracteriza por su capacidad para la angioinvasión y posible diseminación a través de los vasos sanguíneos. La especie más comúnmente identificada es *Aspergillus fumigatus*, que supone alrededor del 90% de las aspergilosis con identificación microbiológica. Otras especies menos frecuentemente identificadas son *A. flavus*, *A. niger*, *A. nidulans* y *A. terreus* (Pemán & Salavert, 2013). Los factores de riesgo para su desarrollo son: recibir más un ciclo de quimioterapia intensiva, antecedente de una IFI, sobrecarga de hierro y tratamientos que afecten a la inmunidad de las células T. Dentro de este último grupo está el tratamiento prolongado con corticoesteroides, anticuerpos monoclonales como alentuzumab, timoglobulina, análogos de purinas como la fludarabina y las complicaciones del TPH, como reactivación de citomegalovirus y enfermedad injerto contra huésped. (Pauw *et al*, 2008; Cornely *et al*, 2007b; Lortholary *et al*, 2011; Kontoyiannis *et al*, 2007; Zhang *et al*, 2010)

En la actualidad la aspergilosis invasiva es la IFI más prevalente en los pacientes hematológicos de alto riesgo (Neofytos *et al*, 2009), causando entre un 5% y un 10% de las infecciones en pacientes con LMA, con una mortalidad asociada del 20 al 40%. El riesgo es mayor durante la inducción a la remisión en LMA refractaria o en recaída y

menor durante las consolidaciones (Wirk & Wingard, 2009; Nicolle *et al*, 2011; L. *et al*, 2007).

Se han realizado múltiples estudios sobre el desarrollo de IFI en pacientes inmunocomprometidos: sida, trasplante de órgano sólido, pacientes en terapia inmunosupresora, prematuros, tras cirugía extensa, etc. Sin embargo, pocos estudios analizan específicamente los factores de riesgo para el desarrollo de IFI en pacientes hematológicos. Un factor de riesgo común para el desarrollo de IFI y que ha sido ratificado en la mayoría de los estudios es la neutropenia (Bow *et al*, 2002). Su profundidad y duración se incluyen en la mayoría de algoritmos para la toma de decisión sobre la profilaxis antifúngica. Además, otros factores que dependen del huésped pueden incrementar la susceptibilidad a este tipo de infecciones, como la malnutrición, la hiperglucemia y las disfunciones orgánicas (sobretudo renal y hepática). Adicionalmente, la carga ambiental elevada de hongos incrementa el riesgo de IFI; así la proximidad a áreas de construcción, donde la concentración de conidias en el aire es alta, incrementa significativamente el riesgo de aspergilosis en pacientes susceptibles (Kanamori *et al*, 2015).

1.3 Diagnóstico de IFI

El diagnóstico de una IFI es dificultoso y con frecuencia se realiza tardíamente, lo que contribuye a empeorar el pronóstico. Así lo ilustra, un estudio realizado de 1989 a 2003 que recoge datos de 1017 autopsias de pacientes con neoplasias hematológicas en los que se observa un 31 % de IFI; de las cuales el 75% no había sido diagnosticadas en vida (Chamilos *et al*, 2006). Las consecuencias de un diagnóstico tardío han conducido a diseñar diferentes estrategias tanto de prevención como de tratamiento precoz.

En el año 2002, un consenso de la Organización Europea para la Investigación y el Tratamiento del Cáncer/Grupo Cooperativo de Infecciones Fúngicas Invasivas (EORTC) y el Grupo de Estudio del Instituto Nacional de Alergias y Enfermedades Infecciosas (MSG) publicaron unas definiciones estandarizadas de la IFI (Ascioglu *et al*, 2002). La finalidad de esta comunicación no fue mejorar el diagnóstico clínico de la IFI, si no facilitar la comunicación entre investigadores, homogeneizando los criterios diagnósticos que hasta entonces se usaban. Se definían tres categorías de IFI: probada, probable y posible. La IFI probada requería la detección de un hongo mediante análisis histológico o cultivo. Las otras dos categorías se definieron usando

tres factores, a saber, un huésped susceptible, la presencia de signos y síntomas clínicos consistentes con una IFI y, la evidencia micológica. Este último abarca el cultivo, el análisis microscópico y las pruebas indirectas como la detección de antígenos. Estas definiciones se revisaron en 2008, con el fin de introducir los avances en el diagnóstico y modificar la definición de IFI posible, que excluye la evidencia micológica (Pauw *et al*, 2008). Estas definiciones, que han ayudado en la realización de estudios y a facilitar la comunicación entre investigadores, sin embargo, no reflejan la realidad clínica de esta enfermedad. Así, aunque un paciente no cumpla criterios para ninguna de las categorías definidas anteriormente no se puede concluir que no exista IFI, solo que no hay pruebas suficientes que respalden el diagnóstico. Además, no siempre es posible la demostración histopatológica, bien por el elevado riesgo de complicaciones con algunas técnicas diagnósticas o por la dificultad para acceder al lugar de la infección. En general, la sospecha de IFI es suficiente motivo para iniciar tratamiento antifúngico en pacientes de alto riesgo. Aunque esto no excluye que se deban realizar las pruebas pertinentes para apoyar o descartar el diagnóstico y tratar de identificar el hongo.

Las técnicas diagnósticas no invasivas, especialmente los métodos indirectos son los preferidos para la identificación del hongo en la práctica clínica por su seguridad (Shannon *et al*, 2010). El antígeno de galactomanano (AGA), es un componente importante de la pared celular del *Aspergillus*. Su detección en suero y lavado broncoalveolar, por encima de un determinado punto de corte apoya el diagnóstico de una micosis por este patógeno. La sensibilidad de esta técnica disminuye cuando se usan fármacos antifúngicos y puede haber falsos positivos; como los descritos con el uso concomitante de piperacilina-tazobactam (Walsh *et al*, 2004), o con la administración de inmunoglobulinas (Ramsay *et al*, 2016). Hay que aclarar no obstante que las pruebas más recientes muestran menos falsos positivos (Vergidis *et al*, 2014). La detección del AGA en el lavado broncoalveolar tiene una mayor sensibilidad que el cultivo del hongo (Maertens *et al*, 2009; De Heer *et al*, 2019) y se usa rutinariamente cuando se sospecha IFI pulmonar. El análisis de beta-D-glucano, que es un componente de la pared celular de muchos hongos, se usa también para apoyar el diagnóstico de IFI. No es específico para el *Aspergillus* y por tanto su positividad puede corresponder a cualquier hongo, como la *Cándida* (Sulahian *et al*, 2014; Odabasi *et al*, 2004). Se comparó el rendimiento del AGA con la prueba de beta-D-glucano, y se vio una mayor especificidad del AGA, pero una menor sensibilidad (Sulahian *et al*, 2014). En todo caso, el método diagnóstico más apropiado debe individualizarse, evaluando el riesgo de complicaciones y el beneficio esperable en

cada paciente. Una dificultad añadida al diagnóstico de una IFI es la que se da cuando aparece a pesar de que el paciente esté recibiendo profilaxis farmacológica adecuada, que es la denominada IFI de brecha. En estos casos es más importante si cabe el diagnóstico microbiológico y, si es posible, disponer de pruebas de sensibilidad a los distintos antifúngicos disponibles.

1.4 Profilaxis y tratamiento de la IFI

La profilaxis primaria en pacientes de alto riesgo se recomienda cuando la incidencia de IFI supera el 5-10% (Cornely *et al*, 2007b; Lee *et al*, 2018). Un metaanálisis realizado en 2007, que recogía los resultados de pacientes con cáncer tratados con quimioterapia o sometidos a alo-TPH, concluía que la profilaxis antifúngica reduce la incidencia de IFI y la mortalidad asociada, aunque sin cambios en la supervivencia global (Robenshtok *et al*, 2007). En 2012, otro metaanálisis comparó la profilaxis con cobertura contra hongos filamentosos frente a fluconazol en pacientes con neoplasias hematológicas. La incidencia de IFI y la mortalidad asociada se redujo con la profilaxis con actividad frente a hongo filamentosos, aunque con más efectos secundarios y más interrupciones (Ethier *et al*, 2012). La profilaxis secundaria se recomienda en pacientes de alto riesgo que deban continuar con quimioterapia intensiva. El antifúngico seleccionado debe tener cobertura frente al hongo que causó la primo infección (Freifeld *et al*, 2011). La duración de la profilaxis sigue sin estar claramente definida y, es todavía objeto de debate. Habitualmente se aconseja mantenerla hasta que se recupera la neutropenia; sin embargo, se consideraría adecuado prolongarla si persisten otros factores de riesgo, como la toma de inmunosupresores. La aparición de infecciones de brecha y el aumento de las resistencias a los antifúngicos son la contrapartida al beneficio de la profilaxis. Así, en algunos estudios se ha visto resistencia a fluconazol de la *C. glabrata* tras haber recibido profilaxis con este antifúngico (Wingard *et al*, 1993). También se observó mayor incidencia de infecciones por *Mucor* en pacientes que recibieron voriconazol (Marty *et al*, 2004). Por otro lado, la profilaxis incrementa el riesgo de efectos secundarios e interacciones medicamentosas, además de añadir costes (Agrawal *et al*, 2011).

La profilaxis se puede combinar con otras estrategias, cómo el tratamiento empírico, es decir, iniciando tratamiento antifúngico en pacientes con fiebre neutropénica si no hay respuesta a una antibioterapia de amplio espectro. Existen alternativas a la profilaxis, como el tratamiento anticipado, definido como la vigilancia

estrecha realizando sistemáticamente pruebas cómo puede ser el AGA y/o pruebas de imagen, como el TAC, iniciando tratamiento ante el mínimo indicio de IFI. Finalmente, el tratamiento dirigido, es decir aquel que se instaura con la evidencia de IFI. Esta opción conlleva con frecuencia un retraso del inicio del tratamiento y por tanto mayor morbi-mortalidad (Pechlivanoglou *et al*, 2011). Las guías recomiendan seleccionar el tratamiento individualmente usando un único antifúngico, idealmente dirigido por pruebas de sensibilidad a los antifúngicos, teniendo en cuenta también posibles efectos tóxicos, la gravedad de la IFI y grado de inmunosupresión. Algunos ensayos han explorado la terapia combinada, sin que resultase ser claramente superior a la monoterapia (Marr *et al*, 2015; Aliff *et al*, 2003; Caillot *et al*, 2007). La duración del tratamiento se debe adaptar a la gravedad de la infección, el curso clínico y el estado inmunitario del paciente. La media está entre las 6 y las 12 semanas. El empeoramiento radiológico en las primeras semanas es frecuente y no es sinónimo de deterioro real en ausencia de otros datos clínicos. Si esto último ocurriese, se valorará modificar el tratamiento antifúngico y la cirugía si existe una lesión accesible, especialmente si es una lesión única. En la IFI de brecha se recomienda usar fármacos de otra familia a la usada en el momento del diagnóstico, y realizar un esfuerzo por identificar el hongo unas pruebas de sensibilidad a los antifúngicos (Cornely *et al*, 2019).

1.5 Fármacos antifúngicos

1.5.1 Equinocandinas

Su mecanismo de acción reside en desestabilizar la pared fúngica. Carecen de resistencia cruzada con azoles o polienos. Son muy eficaces frente a *Cándida*, y son el tratamiento de elección en candidemia o candidiasis invasiva. Poseen actividad fungistática frente a *Aspergillus* y *Pneumocystis jiroveci*, pero no tienen actividad frente a *Mucor*, *Fusarium*. y *Scedosporium* (Denning, 2003). Poseen un buen perfil de seguridad, con escasos efectos secundarios y pocas interacciones medicamentosas, y no requieren ajuste en caso de insuficiencia renal. Su administración es únicamente por vía intravenosa.

1.5.1.1 Caspofungina

La caspofungina es el fármaco de elección en las candidiasis invasivas resistentes a fluconazol. Tiene indicación en el tratamiento empírico de la fiebre neutropénica, con una eficacia comparable a la anfotericina B pero con menos efectos

adversos. También puede usarse para el tratamiento de infecciones por *Aspergillus*, con una tasa de respuesta de alrededor del 40% (Pappas *et al*, 2015; Zaoutis *et al*, 2009). Sin embargo, su eficacia es menor en comparación con los azoles o la anfotericina B, con más riesgo de IFI de brecha (Phai Pang *et al*, 2012).

1.5.1.2 Anidulafungina

Esta indicada en el tratamiento de la candidiasis invasiva, aunque existen pocos datos de eficacia en pacientes neutropénicos, pues la mayoría de los estudios se realizaron en unidades de cuidados intensivos (Reboli *et al*, 2007). Esta equinocandina no requiere ajuste en caso de insuficiencia hepática y no se han descrito interacciones medicamentosas (Denning, 2003).

1.5.1.3 Micafungina

La micafungina está aprobada para el tratamiento de la candidiasis invasiva y es la única equinocandina aprobada para la profilaxis de candidiasis en TPH (Park *et al*, 2016; Kuse *et al*, 2007). Existen pocos datos sobre su eficacia en aspergilosis invasiva y en general no se recomienda su uso en esta indicación.

1.5.2 Azoles

Actúan inhibiendo la enzima 14 α -esteroldemetilasa, que impide la unión de ergosterol; alterando la estructura y función de la pared celular fúngica. Los imidazoles muestran una buena actividad frente a levaduras y dermatofitos pero, al ser más tóxicos que los triazoles, su uso actual se limita a la vía tópica y por tanto no se usan para el tratamiento de la IFI. Los triazoles se usan para el tratamiento y la profilaxis de las IFIs. El fluconazol e itraconazol fueron los primeros disponibles, posteriormente se comercializó el voriconazol, el posaconazol y recientemente el isavuconazol. Tienen un amplio espectro de actividad, con mejor tolerancia que otros fármacos con cobertura similar. Se metabolizan a través del citocromo p450, lo que da lugar a múltiples interacciones medicamentosas. Se aconseja monitorizar niveles cuando la eficacia no es la esperada o si se administra conjuntamente a otros fármacos que utilicen la misma vía metabólica. La vía de administración puede ser oral o intravenosa. Todas estas características los convierten en fármacos ampliamente utilizados.

1.5.2.1 Fluconazol

El fluconazol tiene actividad frente a levaduras, aunque *C. krusei* tiene resistencia intrínseca. Se recomienda como tratamiento de primera línea en candidemia y candidiasis diseminada. No se han descrito efectos secundarios graves, pudiendo causar molestias gastrointestinales leves en algunas ocasiones.

1.5.2.2 Itraconazol

El itraconazol tiene un espectro más amplio que el fluconazol, con actividad frente a *Aspergillus* y otros hongos filamentosos. Presenta una absorción irregular por el tracto digestivo y el perfil farmacocinético es peor que el de fluconazol. Por este motivo, apenas se usa para el tratamiento de la IFI, y sólo en algunos países se mantiene su uso para profilaxis. Los efectos secundarios más frecuentes son molestias gastrointestinales y elevación de enzimas hepáticas.

1.5.2.3 Voriconazol

El voriconazol es fungicida frente a hongos filamentosos y fungistático frente a levaduras. Presenta actividad frente *Scedosporium* y *Fusarium* pero no frente a mucorales. Tiene recomendación A1 para el tratamiento de la aspergilosis según las últimas guías de la ESCMID (Ullmann *et al*, 2018) y ECIL-6 (Tissot *et al*, 2017). Aunque tiene actividad frente a *Cándida*, sólo se recomienda en caso de infección concomitante por hongos filamentosos (Pappas *et al*, 2015). No tiene indicación en el tratamiento de la neutropenia febril ni como profilaxis, aunque algunos centros lo emplean por su actividad contra *Aspergillus* y su relativa baja toxicidad, similar a otros azoles. Existen trabajos que evalúan el papel del voriconazol como profilaxis primaria en el contexto del alo-TPH, y no se encontraron diferencias significativas en cuanto a supervivencia global ni en la incidencia de IFI cuando se comparó con fluconazol (9% vs. 17%, $p=0.09$) (Wingard *et al*, 2010), ni con itraconazol (1.3% vs. 2.1%, $p>0.05$) (Marks *et al*, 2011). Los efectos secundarios más frecuentes son molestias gástricas, alteraciones visuales y elevación de enzimas hepáticas moderada y transitoria; excepcionalmente se ha descrito fotosensibilidad y alteraciones del ritmo cardiaco (Herbrecht *et al*, 2002; Walsh *et al*, 2002).

1.5.2.4 Posaconazol

El posaconazol está indicado en el tratamiento de primera línea en la candidiasis grave o como tratamiento de rescate en aspergilosis, fusariosis y

coccidiomicosis. También está indicado en profilaxis antifúngica, grado de recomendación AI según la guía ECIL 6 (Tissot *et al*, 2017) y AII según la ESCMID (Ullmann *et al*, 2018). La profilaxis con posaconazol en solución oral en el pacientes sometidos a alo-TPH con enfermedad injerto contra huésped en tratamiento se asocia con una menor incidencia de aspergilosis (2,3 vs. 7%) y menor mortalidad por IFI, en comparación con la profilaxis con fluconazol (Ullmann *et al*, 2007). Los efectos secundarios son similares a los otros azoles, los más frecuentes son molestias gastrointestinales, erupciones cutáneas, alteraciones del ritmo cardiaco y elevación moderada de enzimas hepáticas (Ullmann *et al*, 2007; Cornely *et al*, 2007b).

1.5.2.5 Isavuconazol

Este triazol ha demostrado no inferioridad frente a voriconazol en el tratamiento de primera línea de IFI causada por hongos filamentosos (Maertens *et al*, 2016). Comparte con el voriconazol la recomendación para el tratamiento de la aspergilosis invasiva (Ullmann *et al*, 2018; Tissot *et al*, 2017). No está indicado en profilaxis. En comparación con voriconazol presenta menor tasa de toxicidad hepatobiliar, fotosensibilidad y alteraciones visuales. Acorta el intervalo QT, a diferencia del resto de azoles que lo prolongan, y presenta comparativamente menos interacciones farmacológicas.

1.5.3 Polienos

Los polienos poseen el mayor espectro de actividad entre todos los antifúngicos, aunque con una elevada toxicidad. Tienen escasa biodisponibilidad digestiva y son poco solubles en agua, lo que dificulta la obtención formulaciones intravenosas y no existe ninguna presentación oral. Solo hay dos fármacos disponibles la anfotericina B y la nistatina, esta última se usa por vía tópica para micosis cutáneas y, sólo la anfotericina B es útil en el tratamiento de la IFI.

1.5.3.1 Anfotericina B

Es el antifúngico fungicida con mayor espectro de acción, incluyendo casi todas las especies de hongos filamentosos. Se han descrito algunas resistencias, como *Scedosporium*, algunas cepas de *Aspergillus terreus* y *Fusarium* (Cuenca-Estrella *et al*, 2006). No tiene indicación en profilaxis y se considera una alternativa a voriconazol en el tratamiento de la aspergilosis, con un grado de recomendación BI según la guía ECIL-6 (Tissot *et al*, 2017). La incidencia de infección de brecha con este antifúngico es baja (Cornely *et al*, 2007a; Ellis, 2002). La limitación para su uso viene dada por los efectos secundarios, principalmente la nefrotoxicidad y, en menor medida, por las

reacciones infusionales. Las formulaciones lipídicas han permitido su uso en dosis terapéutica con una toxicidad aceptable. El ensayo clínico AmBiLoad concluyó que la dosis de 3 mg/kg obtiene un porcentaje de respuesta similar, alrededor del 50%, que dosis más elevadas con menor toxicidad. Aun así, describe un 14% de nefrotoxicidad, 19% de hipocalcemia y 18% de alteraciones hepáticas (Cornely *et al*, 2007a).

1.6 Enfermedad hematológica y riesgo de IFI

El estado de la inmunidad celular y, en particular, la intensidad y la duración de la neutropenia determinan el riesgo de desarrollo de IFI (Pagano *et al*, 2010; Caira *et al*, 2015). Si consideramos de manera conjunta los diversos factores de riesgo para el desarrollo de una IFI en pacientes hematológicos, podemos dividirlos en tres categorías (Barberán *et al*, 2011; Fortún *et al*, 2011):

a) Alto riesgo:

- Neutropenia de menos de $100/\text{mm}^3$ con una duración de más de 14 días
- Inmunodeficiencia celular secundaria a tratamiento como quimioterapia, corticoides, alemtuzumab, u otro inmunosupresor por enfermedad intercurrente como EICH o infección por CMV
- LMA o síndrome mielodisplásico (SMD) en tratamiento de inducción o quimioterapia de rescate. Leucemia linfoblástica aguda (LLA) sólo en tratamiento de rescate
- Alo-TPH, mayor riesgo si es de sangre de cordón umbilical o con disparidad HLA

b) Riesgo intermedio:

- Neutropenia que dura entre 7 y 14 días
- LLA en tratamiento de primera línea, LMA o SMD en tratamiento de consolidación
- Alo-TPH de donante HLA idéntico sin EICH

c) Bajo riesgo

- Neutropenia que dura menos de 7 días
- TPH autólogo
- Otros diagnósticos hematológicos diferentes de LMA, LLA y SMD

La clínica de una IFI en los pacientes hematológicos suele ser de muy poca entidad y difícil de localizar. La mayoría de las veces, el único síntoma es la fiebre, que no responde a antibioterapia de amplio espectro; en otros casos se trata de un cuadro muy inespecífico o sólo un deterioro del estado general (Sickles, 1975; Pagano *et al*, 2011). Se recomienda mantener una alta sospecha de IFI en estos pacientes, haciendo un examen físico minucioso y obteniendo hemocultivos para bacterias y hongos. Debe valorarse individualmente hacer cultivo de esputo, de lesiones cutáneas, de orina o de catéter central, así como pruebas complementarias como la radiografía simple y/o de TAC de tórax (Heussel *et al*, 1997) (Richardson & Kokki, 1998). El lavado broncoalveolar o cepillado bronquial puede apoyar el diagnóstico si el foco es pulmonar. La biopsia pulmonar tiene un alto riesgo de complicaciones, pero debe realizarse cuando la evolución del paciente es mala pese a todos los esfuerzos terapéuticos y el riesgo beneficio es favorable (Pagano *et al*, 1997). Estas dificultades, han llevado a recomendar la profilaxis antifúngica en pacientes hematológicos de alto riesgo, junto a tratamiento empírico (Maertens *et al*, 2011; Fortún *et al*, 2011; Freifeld *et al*, 2011).

1.7 Justificación del proyecto

La presente tesis doctoral recoge los resultados de tres estudios publicados en revistas de alto impacto especializadas en hematología y trasplante hematopoyético. Los estudios comparten un nexo común, el análisis de las infecciones fúngicas invasivas en dos grupos de pacientes con muy alto riesgo de desarrollar estas infecciones graves y en los que se usan diferentes estrategias de profilaxis antifúngica, como son los receptores de un alo-TPH y los pacientes con LMA sometidos a quimioterapia intensiva. Estos estudios prestan especialmente atención al impacto de la profilaxis antifúngica administrada (eficacia, toxicidad, desarrollo de IFI de brecha), a la epidemiología de la IFI en nuestro entorno, a la incidencia y evolución de esta complicación, analizando también los factores de riesgo que permitan una mejor adaptación, si es necesario, de las estrategias profilácticas y terapéuticas disponibles.

El primer estudio evalúa la incidencia y factores de riesgo para el desarrollo de IFI en receptores de alo-TPH tras en injerto. En este estudio también se evalúa la eficacia de la profilaxis antifúngica usada en el periodo de 2001 a 2013, en la que todos los pacientes debían recibir un azol (fluconazol o itraconazol/voriconazol), lo que permitió construir un modelo de predicción mediante análisis multivariable para evaluar el riesgo individual de IFI. Se concluyó que el algoritmo de decisión basado en este modelo predictivo podría ser útil para implementar estrategias adaptadas al riesgo.

El segundo estudio se centró en la validación del modelo de predicción multivariable al que nos referimos en el primer trabajo. Para ello, se utilizaron los mismos criterios de inclusión y exclusión que en el estudio anterior y se evaluaron 465 receptores de alo-TPH usando una cohorte externa o de validación. Se concluye validando un modelo de predicción no antes propuesto para este grupo de pacientes.

El tercer estudio analizó la IFI en 285 pacientes con LMA en tratamiento de primera línea con quimioterapia intensiva. Se estudió la incidencia y los factores de riesgo de IFI, además del impacto de la profilaxis antifúngica, utilizando tres cohortes históricas (fluconazol oral 2004–2005, itraconazol intravenoso 2006–2012 y voriconazol 2013–2015). Se concluyó que la IFI es una complicación frecuente en esta población y que la profilaxis con voriconazol se asocia a menor riesgo de IFI con una toxicidad aceptable.

2 HIPÓTESIS

La IFI continúa siendo una complicación grave en pacientes hematológicos de alto riesgo. La aparición de nuevos fármacos antifúngicos ha permitido desarrollar estrategias de prevención más eficaces y ajustadas al riesgo, que han modificado el tratamiento de la IFI, lo que ha mejorado en parte los resultados terapéuticos de estos pacientes. Sin embargo, la IFI sigue siendo un problema frecuente y relativamente poco estudiado en pacientes hematológicos de alto riesgo, que se asocia a una elevada morbilidad y mortalidad. El conocimiento de la incidencia, los factores de riesgo y las causas de la muerte de la IFI en los pacientes hematológicos de alto riesgo en nuestro entorno podría ayudar a identificar a aquellos con una especial predisposición al desarrollo de estas infecciones. Conocer la eficacia de las estrategias de profilaxis y tratamiento de la IFI en nuestro entorno podría ayudar a implementar cambios para reducir la morbilidad y mortalidad.

3 OBJETIVOS

El objetivo de esta tesis por compendio de publicaciones fue realizar un estudio epidemiológico de la IFI en nuestro entorno y, recoger la práctica clínica habitual en la profilaxis y el tratamiento de la IFI. Se describen a continuación los objetivos concretos de cada uno de dichos trabajos:

El objetivo principal del primer estudio fue evaluar la IA al año de IFI, analizando los factores de riesgo para el desarrollo de una IFI (probable y probada) en pacientes sometidos a un aloTPH. Los objetivos secundarios fueron descripción del tipo de IFI (según aislamiento microbiológico, lugar de la infección y criterios EORTC) e, incidencia de IFI a los 6 y 12 meses. Otros objetivos fueron la toxicidad limitante de dosis (TLD) y la aparición de IFI de brecha en la profilaxis con voriconazol, itraconazol o fluconazol.

El objetivo primario del segundo estudio fue validar el modelo de predicción obtenido previamente mediante análisis multivariable, evaluando la IA al año de IFI en una cohorte externa o de validación. Los objetivos secundarios fueron descripción del tipo de IFI (según aislamientos microbiológicos, lugar de la infección y criterios de EORTC), así como evaluar la incidencia de IFI según el tipo de profilaxis primaria (comparando la dosis completa de voriconazol frente a dosis reducida).

El objetivo principal del tercer estudio fue evaluar la incidencia cruda de IFI (posible, probable y probada) en cada ciclo de quimioterapia intensiva en pacientes con LMA. Los objetivos secundarios fueron el tipo de IFI (según aislamientos microbiológicos, lugar de la infección y criterios de EORTC) y la TLD durante la profilaxis con voriconazol, itraconazol o fluconazol. Otros objetivos fueron: (1) mortalidad en cada ciclo de quimioterapia, (2) mortalidad por IFI, (3) tasa de remisión completa (RC + RCi), (4) uso de tratamiento antifúngico, y (5) duración de la hospitalización. La incidencia de IFI, así como la evolución clínica, se analizó según el tipo de profilaxis y el tipo de quimioterapia administrados durante cada episodio.

4 MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 Diseño de los estudios

Los aspectos metodológicos son similares en los tres estudios que componen esta tesis doctoral. Se exponen a continuación en modo de resumen. Los registros clínicos de todos los pacientes fueron revisados individualmente, evaluando su elegibilidad y recogiendo los datos necesarios con el fin de capturar la práctica clínica habitual. Son estudios retrospectivos que recogen la práctica clínica habitual, el periodo de inclusión fue 2001 a 2016. El primer y el tercer estudio son unicéntricos, sólo incluyen pacientes del Hospital Universitari i Politècnic La Fe de Valencia, pero el segundo estudio, que requería una cohorte de validación, incluye también pacientes del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba.

Estos estudios fueron aprobados por el comité ético del Hospital Universitari i Politècnic La Fe de Valencia y se obtuvo consentimiento informado por escrito según se establece en la declaración de Helsinki.

4.2 Pacientes

Los pacientes fueron incluidos de forma consecutiva y sin selección. Los criterios de elección son afines en los tres estudios, siendo la principal diferencia la población seleccionada. Los dos primeros estudios incluyeron receptores de un alo-TPH en el periodo post-injerto y el tercero incluyó pacientes con diagnóstico de LMA en tratamiento con quimioterapia intensiva de primera línea.

4.2.1 Criterios de elegibilidad en los estudios

Los receptores de alo-TPH post-injerto eran elegibles si cumplían estos criterios de inclusión:

- Injerto mieloide estable con recuperación de neutrófilos. Definido como más de tres días con recuento de neutrófilos superior a $0,5 \times 10^9/L$ y quimerismo completo
- Haber sobrevivido más de 40 días después de alo-TPH y haber sido dado de alta (tratamiento ambulatorio) siendo elegible para recibir profilaxis antimicótica oral

- No tener historia previa de IFI, ni antes de realizar el alo-TPH ni durante el período pre-injerto (es decir, todos los pacientes dados de alta tras el alo-TPH con profilaxis secundaria o terapia antifúngica no fueron elegibles)
- Tiempo de seguimiento mínimo de 180 días
- Para la cohorte de validación se excluyeron todos los pacientes que hubiesen participado en el primer estudio (cohorte de entrenamiento)

El tercer estudio incluyó pacientes que cumpliesen todos los criterios siguientes:

- LMA de nuevo diagnóstico, excluyendo la leucemia promielocítica aguda
- Edad inferior o igual a 65 años
- Tratamiento de primera línea con quimioterapia intensiva (ver regímenes de tratamiento a continuación)

4.3 Recogida y registro de datos

Los datos fueron recogidos retrospectivamente en formularios creados para tal fin. Cada uno de esos datos fue analizado con el fin de determinar su relación con el desarrollo de la IFI.

El primer y segundo estudio recogía 21 características. Incluyendo datos demográficos y características del alo-TPH: edad, sexo, enfermedad de base, estadio de la enfermedad, TPH previo autólogo o alogénico, grado de discordancia HLA, tipo de donante, fuente de los progenitores hematopoyéticos, manipulación de los progenitores hematopoyéticos (depleción T parcial o total), régimen de acondicionamiento, profilaxis del EICH agudo, tipo de profilaxis antifúngica tras el alo-TPH, incompatibilidad ABO, sexo del donante, estatus CMV de donante y receptor, infección CMV, duración de la neutropenia antes del injerto y dosis de corticoides administrada durante el primer año post alo-TPH. Además se recogieron datos relativos a la IFI: AGA, TAC y otras pruebas de imagen, antifúngicos administrados, tratamiento inmunosupresor durante la infección y aislamientos microbiológicos.

El tercer estudio incluyó 14 características del paciente o de la LMA: edad, sexo, ECOG al diagnóstico, recuento leucocitario y de plaquetas, hemoglobina, glucosa, creatinina, urea, ácido úrico, albumina, transaminasas (GOT y GPT), bilirrubina, fosfatasa alcalina, presencia de enfermedad extramedular, subtipo FAB, LMA *de novo* o secundaria, riesgo citogenético según la clasificación MRC (Grimwade

et al, 2010), régimen de quimioterapia (fármacos y dosis), fase del tratamiento: inducción o consolidación, respuesta a la quimioterapia, duración de los ingresos, causa de la muerte, tipo de profilaxis antifúngica primaria y duración de la neutropenia. Además de recoger las características de las IFIs: AGA, TAC y otras pruebas de imagen, antifúngicos administrados y aislamientos microbiológicos.

4.4 Monitorización y diagnóstico de la IFI

4.4.1 Monitorización

La guía terapéutica vigente, y que se mantuvo así durante el periodo de inclusión de los tres estudios, recomendaba realizar pruebas de monitorización seriadas con AGA cada 7-15 días en los pacientes de alto riesgo (se excluían los receptores de alo-TPH de hermano idéntico sin tratamiento para EICH). Además se recomendaba realizar una tomografía computarizada en caso de sospecha de IFI, especialmente en persistencia febril a pesar de antibioterapia de amplio espectro (5 o más días de fiebre). Ambas pruebas, TAC y AGA, estuvieron disponibles en todo momento. Los pacientes fueron evaluados por hematólogos con amplia experiencia y se mantuvo una alta sospecha de IFI para este tipo de pacientes. No se realizaron pruebas de sensibilidad a los antifúngicos (técnica no disponible).

4.4.2 Diagnóstico

El diagnóstico y la clasificación de IFI se realizó de acuerdo con las definiciones revisadas de la EORTC/MSG de 2008 (Pauw *et al*, 2008). Se resumen a continuación los principales criterios requeridos en cada categoría según dicha clasificación:

- a) IFI probada: se pide la identificación por cultivo o visión directa al microscopio de un hongo filamentoso o una levadura en un tejido estéril o en sangre. Se excluye el lavado broncoalveolar, la orina y cavidad sinusal. También incluye la identificación de antígeno de *Cryptococcus* en líquido cefalorraquídeo (LCR).
- b) IFI probable: requiere la presencia de signos clínicos combinado con hallazgos microbiológicos en un huésped predispuesto (todos los pacientes de los tres estudios cumplen el criterio de huésped con predisposición a IFI):
 - Criterios clínicos (al menos 1):
 - Tracto respiratorio inferior: identificación de lesiones densas y bien circunscritas con o sin signo de halo o signo de media luna o una cavidad

- Traqueobronquitis: identificación de una úlcera, nódulo, pseudomembrana, placa o escara
 - Sinusitis: presencia de dolor agudo localizado (incluido el dolor que se irradia al ojo) o úlcera nasal con escara negra o destrucción ósea
 - Infección del SNC: identificación de lesiones focales o afectación meníngea vista en resonancia magnética
 - Candidiasis diseminada: tras haber padecido una candidemia en las dos semanas previas aparición progresiva de abscesos pequeños (lesiones de ojo de buey) en hígado o bazo y/o exudados retinianos en el examen oftalmológico
- Criterios micológicos (al menos 1):
 - Prueba directa (citología, microscopía directa o cultivo)
 - Identificación de hifas en esputo, lavado broncoalveolar, cepillado bronquial o aspirado de un seno
 - Pruebas indirectas: detección de AGA u otros constituyentes de la pared celular fúngica en plasma, suero, lavado broncoalveolar o LCR
- c) IFI posible: se describe como la presencia de signos clínicos (descritos en la categoría anterior) en un huésped predispuesto en ausencia identificación micológica (Pauw *et al*, 2008).

La fecha de inicio de la IFI se definió como el primer día en que se obtuvieron los aislamientos microbiológicos en una IFI probada, o en resto de los casos, el primer día en el que se identificaron los criterios clínicos. En el diagnóstico post mortem, la fecha de inicio fue el de la muerte.

4.5 Profilaxis de la IFI

4.5.1 Receptores de alo-TPH

La guía terapéutica vigente para pacientes ambulatorios con un alo-TPH recomendaba:

- En receptores alo-TPH de hermano HLA idéntico que recibían menos de 20 mg/día de prednisona o dosis equivalente de corticoesteroide, no

se recomendaba profilaxis antifúngica. A criterio del especialista que atendía al paciente se permitía el uso de fluconazol 100-400 mg/día

- En los receptores de alo-TPH que recibían al menos 20 mg/día de prednisona o dosis equivalente de corticoide, se recomendaba profilaxis con un triazol oral
- En los receptores de alo-TPH de un donante no relacionado o no idéntico se recomendaba profilaxis con triazol oral desde el injerto o alta hospitalaria hasta el día +100 (más o menos 15 días), con independencia de la dosis de corticoide administrada en ese periodo

La profilaxis oral con triazol consistió en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe en cápsulas de itraconazol (200-400 mg/día) del año 2001 al 2004 y voriconazol en dosis bajas (200 mg/día hasta el año 2009 o 100 mg/dos veces al día desde el año 2010). La dosis baja de voriconazol en profilaxis fue seleccionada en un intento de prevenir la toxicidad y limitar las interacciones medicamentosas, que se estimaban altas con este fármaco en los primeros meses tras un alo-TPH. En el Hospital Universitario Reina Sofía (cohorte de validación del segundo estudio) se administró la dosis completa de voriconazol 200 mg/12h.

La duración de la profilaxis fue hasta la retirada de los corticosteroides o su reducción por debajo de 20 mg/día. Con excepción de los receptores de alo-TPH de donante no emparentado o no idéntico sin corticoterapia que mantenían la profilaxis hasta el día +100.

4.5.2 Pacientes con LMA

Las recomendaciones para la profilaxis antifúngica de estos pacientes cambiaron durante el periodo de estudio (tres cohortes históricas). Desde enero de 2004 hasta diciembre de 2005, se recomendaba fluconazol por vía oral (100 mg/día); desde enero de 2006 a diciembre de 2012, se recomendaba itraconazol intravenoso (200 mg/día); y desde enero de 2013 a diciembre de 2015, se recomendaba voriconazol oral (200 mg/dos veces al día). Esta última recomendación obedecía a un desabastecimiento repetido de itraconazol intravenoso. No se monitorizó la concentración plasmática de voriconazol ni de itraconazol

La profilaxis antifúngica se iniciaba el primer día de la administración de quimioterapia y finalizaba con la recuperación mieloide (recuento de neutrófilos en sangre periférica superior a $0,5 \times 10^9/L$). La profilaxis también finalizaba al iniciar tratamiento de una IFI (documentada o con alta sospecha) o cuando aparecía una

toxicidad limitante y significativa según el criterio de hematólogo que atendía al paciente.

4.6 Tratamiento de la IFI

Las guías terapéuticas locales recomendaban iniciar de forma empírica caspofungina (dosis de carga 70 mg/día seguida de 50 mg/día) o anfotericina B liposomal (3 mg/kg una vez al día) ante la sospecha de IFI o en caso de fiebre neutropénica sin respuesta a antibioterapia de amplio espectro (5-7 días). En caso de IFI probada o probable grave, se valoraba la combinación de dos agentes antifúngicos. La terapia combinada consistía en anfotericina B liposomal o una equinocandina combinada con voriconazol 4 mg/kg I.V. dos veces al día (dosis de carga de 6 mg/kg). En los pacientes con neutropenia, a excepción de aquellos con enfermedad activa, se recomendaba la administración de G-CSF para mantener recuentos de neutrófilos por encima de $1,2 \times 10^9/L$.

4.6.1 Evaluación de la respuesta al tratamiento antifúngico

Se monitorizó la evolución de la IFI en todos los pacientes, usando pruebas radiológicas (generalmente TAC) y estudios microbiológicos, especialmente AGA si estaba indicado. La respuesta al tratamiento se evaluó al finalizar el tratamiento con antifúngicos. Se definieron tres tipos de respuesta:

- Resolución: mejoría clínica con recuperación radiológica y ausencia de aislamientos microbiológicos o la disminución progresiva de marcadores (por ejemplo, AGA)
- Fracaso terapéutico: fallecimiento por consecuencias directas de la IFI
- Respuesta no evaluable: persistencia de signos o síntomas de IFI en el momento del fallecimiento, que se produce por una causa ajena a la IFI.

4.7 Trasplante de progenitores hematopoyéticos

La elección del tipo de TPH, la fuente de progenitores, el tipo de acondicionamiento y la profilaxis de EICH se hizo individualmente en las reuniones semanales del comité de TPH de los centros participantes. Se tuvo en cuenta la disponibilidad del donante, la enfermedad de base, el estadio de la enfermedad, el peso de receptor y del donante, la urgencia del procedimiento y la preferencia del

donante. En general, se priorizaba el donante familiar HLA idéntico en ausencia de contraindicaciones. En caso de no disponer de un familiar HLA idéntico, se seleccionó otro tipo de TPH según la urgencia del procedimiento. El acondicionamiento de intensidad reducida se prefería cuando la mortalidad relacionada con el trasplante prevista era elevada. En la mayoría de los casos se trataba de pacientes mayores de 55 años o que hubiesen recibido un TPH autólogo o alogénico con anterioridad.

Los regímenes de acondicionamiento mieloablativos utilizados fueron los siguientes:

- Los receptores de un alo-TPH de hermano idéntico recibieron ciclofosfamida (CY) más irradiación corporal total (TBI) o busulfan (BU) más fludarabina (FLU); Algunos pacientes trasplantados antes de 2004 recibieron melphalan más TBI.
- Los receptores de un alo-TPH de donante no relacionado idéntico recibieron BU más FLU más tiotepa (TT) y linfoglobulina o timoglobulina (ATG), o CY más TBI más ATG o linfoglobulina.
- Los receptores de un trasplante haploidéntico recibieron BU más FLU y CY.
- Los receptores de un trasplante de sangre de cordón umbilical recibieron BU, FLU, TT y ATG.

Los regímenes de acondicionamiento de intensidad reducida consistieron en dosis más bajas de BU más FLU ± TT o FLU más melphalan (MEL); desde 2007, los receptores de un trasplante de sangre de cordón umbilical podían recibir un acondicionamiento reducido con dosis más bajas de BU, FLU, TT y ATG.

El fallo de injerto primario se definió cuando tras la administración de los progenitores, no se alcanza, durante al menos tres días, recuentos de neutrófilos de más de $0,5 \times 10^9/L$, ni de plaquetas por encima de $20 \times 10^9/L$ y/o hemoglobina mayor a 8 g/dl, sin soporte transfusional. El fallo de injerto secundario se definió como la pérdida de al menos dos líneas celulares tras haber obtenido un injerto estable. La EICH aguda y crónica se clasificó de acuerdo con los criterios publicados en previamente (Przepiorka *et al*, 1995; Shulman *et al*, 1980).

4.8 Modelo de predicción multivariable para evaluar el desarrollo de IFI en receptores de alo-TPH tras en injerto

El modelo de predicción multivariable para evaluar el riesgo de IFI tras el injerto esta publicado en el primer trabajo que compone esta tesis doctoral (anexo 1). En resumen, se seleccionaron cinco variables con capacidad independientes para predecir el riesgo de IFI. Tres de esas variables son evaluables desde el primer día del alo-TPH: edad mayor a 40 años, presencia de un trasplante previo (autólogo o alogénico) y duración de la neutropenia hasta alcanzar el injerto mieloide superior a 15 días; y dos variables son evaluables tras el alo-TPH en diferentes ocasiones (lo que podría modificar el riesgo durante el seguimiento): presencia de EICH crónico extenso y la reactivación de CMV antes del día 180 post-trasplante. Se le asignó un punto a cada variable que estuviese presente. Se considera bajo riesgo para el desarrollo de IFI cuando el paciente suma 0 ó 1 punto, riesgo intermedio si suma 2 y alto riesgo si más de 2.

4.9 Leucemia mieloblástica aguda

Se siguieron las recomendaciones terapéuticas de los protocolos PETHEMA vigentes en ese momento: LMA PETHEMA 99, a partir de marzo de 1999 (figura 1) y LMA PETHEMA 2010 (vigente a partir de abril 2011 figura 2). La respuesta al tratamiento intensivo se evaluó al finalizar la inducción (1 o 2 ciclos). Se siguieron los criterios de Cheson (Cheson *et al*, 2003).

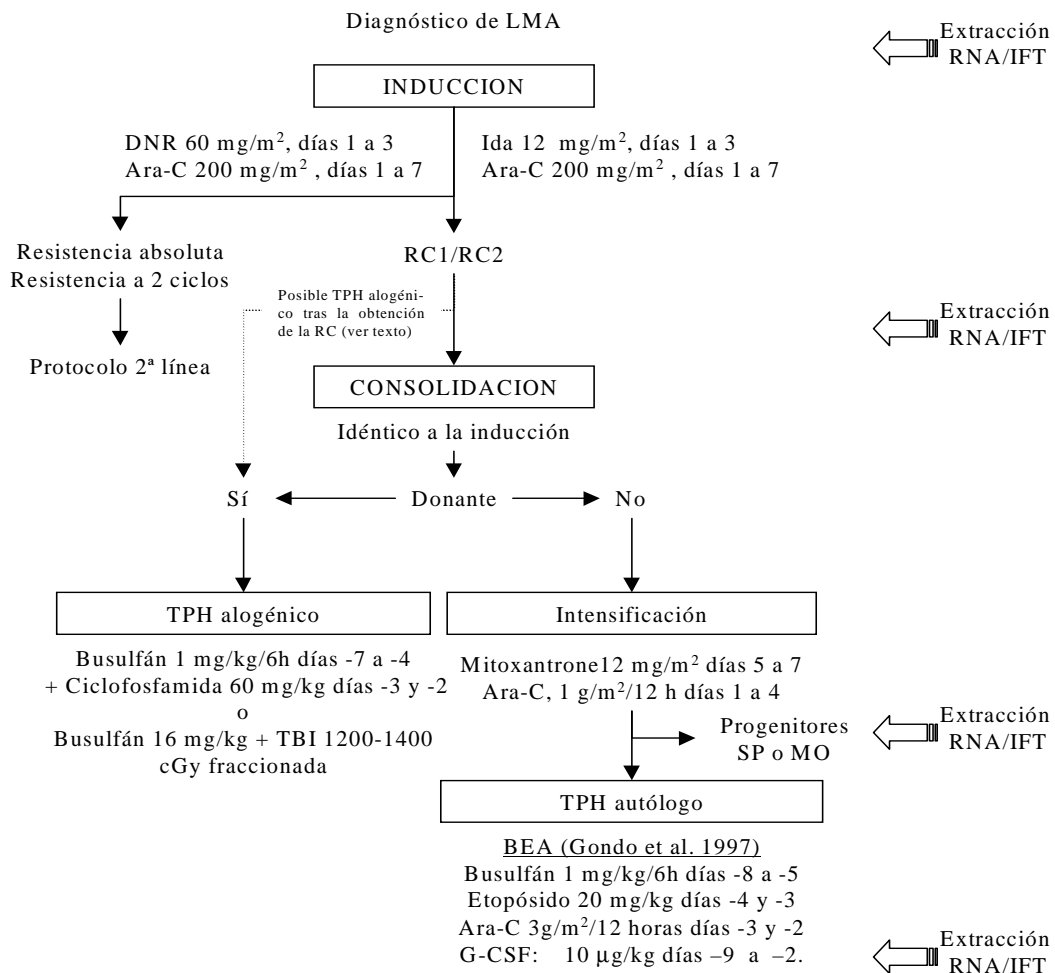
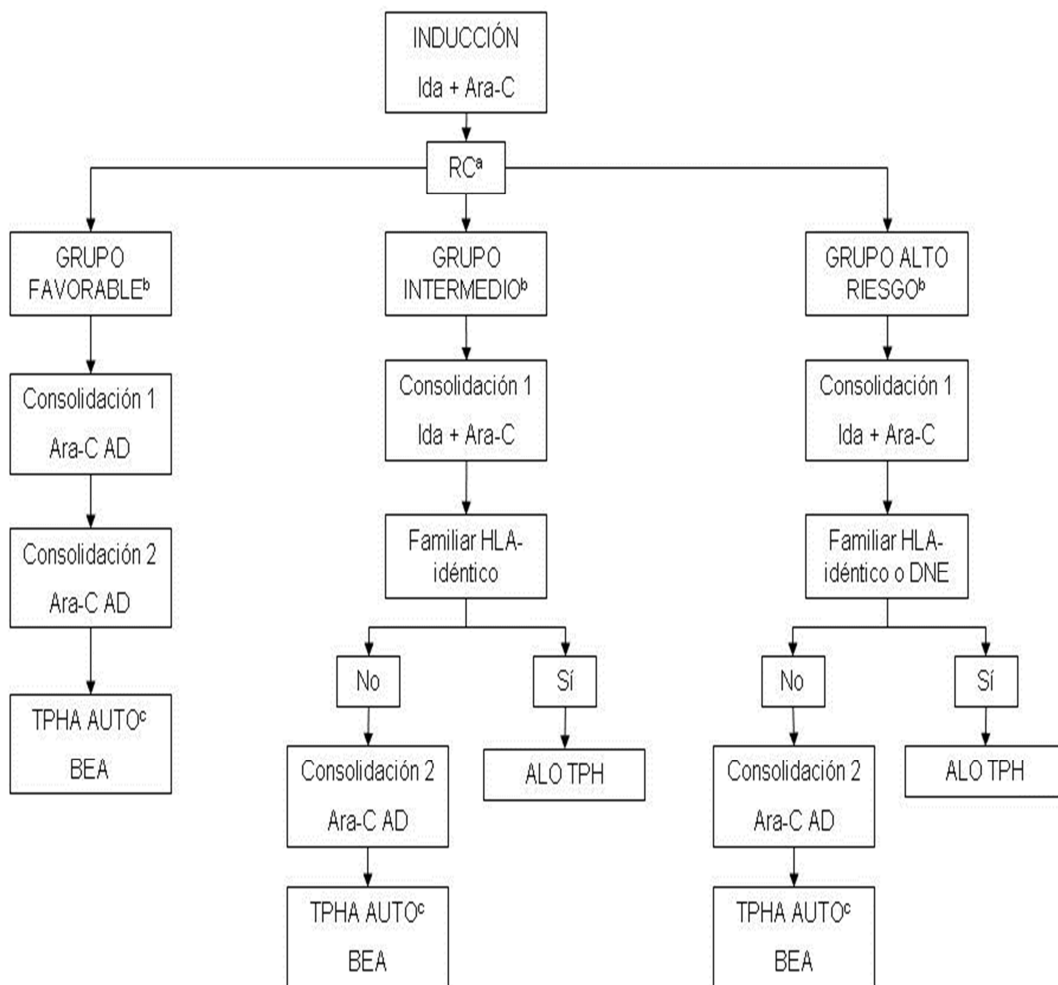


Figura 1. Imagen extraída del protocolo PETHEMA LMA99 que muestra el esquema terapéutico que recibieron los pacientes diagnosticados de LMA desde marzo de 1999 a marzo de 2011.



ª Los pacientes que no alcancen RC con el primer ciclo pero que muestren algún tipo de respuesta y no presenten refractariedad absoluta podrán recibir un segundo ciclo de inducción idéntico al primero.

ª Consultar los grupos de riesgo en el texto.

ª En los pacientes en los que no se haya podido recolectar progenitores hematopoyéticos se administrará un ciclo de quimioterapia adicional con Ara-C AD si el estado clínico lo permite.

Figura 2. Imagen extraída del protocolo PETHEMA LMA2010 que muestra el esquema terapéutico que recibieron los pacientes diagnosticados de LMA durante el desde abril de 2011 hasta la actualidad

4.10 Otras definiciones

4.10.1 IFI de brecha

Una IFI se consideró una infección de brecha si se diagnosticaba tras haber recibido al menos 4 días de profilaxis antifúngica primaria. En el caso de profilaxis con

fluconazol sólo se consideró infección de brecha si el hongo implicado era sensible al fluconazol; por tanto se excluyeron las infecciones por hongos filamentosos.

4.10.2 Toxicidad limitante

La toxicidad limitante se definió como el ajuste de dosis o la retirada del antifúngico por toxicidad relacionada con ese fármaco. Se graduó siguiendo la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y se registró usando el mayor grado de toxicidad alcanzado.

4.11 Recogida y registro de datos

Los datos fueron recogidos y registrados a través de formularios específicos, diseñados con el fin de almacenar las variables anteriormente descritas. Tras recogida de la información, los datos fueron evaluados con un sistema de gestión de bases de datos de Microsoft Access (Microsoft Office®). A través de este sistema de gestión se realizaron múltiples consultas SQL para controlar la calidad de los datos introducidos y se solventaron todas las incoherencias. Esta base de datos (Microsoft Access®) fue usada directamente por el software estadístico para obtener los resultados que se muestran.

4.12 Confidencialidad

La información recogida es confidencial y fue tratada como tal. Por ello, no se han recogido datos que pudieran identificar al paciente. Todo ello en el correcto cumplimiento de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal.

4.13 Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo en los diferentes estudios usando frecuencias, medias y medianas, con sus correspondientes desviaciones e intervalos. Para el análisis de las diferencias en la distribución de variables cualitativas entre los diferentes grupos de pacientes, se usó la prueba de chi-cuadrado, aplicando la corrección de Yates cuando fue necesario (si la frecuencia esperada en alguna de las casillas de la tabla de contingencia era inferior a 5). Para variables que presentaban

una distribución normal, se usó la prueba de t de Student y, para variables que no seguían una distribución normal, la prueba U de Mann-Whitney.

Los análisis de tiempo hasta el evento no ajustados se calcularon a partir de la fecha de alo-TPH o la fecha del diagnóstico de la LMA. La probabilidad del desarrollo de una IFI o de mortalidad no relacionada con la recaída se estimó mediante el método de incidencia acumulada (para probabilidad marginal); teniendo en cuenta los riesgos competitivos, y se comparó mediante la prueba de Gray (Fine & Gray, 1999). En el análisis de la incidencia acumulada de IFI, la muerte, el fallo de injerto secundario y la recaída fueron variables competitivas del fracaso.

El número de eventos/episodios analizado o incidencia cruda de IFI se diferenció en global, por el tipo de quimioterapia recibida o la profilaxis administrada. Las diferencias en la incidencia bruta de IFI fueron estadísticamente significativas si el tipo I error alfa era $<5\%$ ($P < 0.05$).

El análisis multivariante usó todas las variables que mostraban una significación estadística o una posible asociación (valor de $p < .01$). Se incluyeron también aquellas que habían sido consideradas importantes en estudios previamente publicados. Se aplicaron modelos de riesgo proporcional, Cox (Cox, 1972) para la SG y para la SLE, así como Fine and Gray (Fine & Gray, 1999) para la CIR. Las variables que conservaron la diferencia significativa tras el análisis multivariante ($p < 0.05$) se usaron para la construcción de un modelo de predicción multivariable para evaluar el riesgo de IFI.

Se usaron las guías TRIPOD para la validación de estudios, verificando la lista de tareas en la cohorte de validación. El "Brier score" se calculó usando el paquete estadístico R (Steyerberg *et al*, 2010; Moons *et al*, 2015). Todos los valores de P informados fueron bilaterales. El análisis estadístico fue realizado con el *software* estadístico R (R Core Team, Vienna, Austria, [http:// www.R-project.org/](http://www.R-project.org/)).

5 RESULTADOS

5.1 Artículo 1

P Montesinos, R Rodríguez-Veiga, B Boluda, D Martínez-Cuadrón, I Cano, A Lancharro, J Sanz, MJ Arilla, F López-Chuliá, I Navarro, I Lorenzo, M Salavert, J Pemán, P Calvillo, J Martínez, N Carpio, I Jarque, GF Sanz and MA Sanz. Incidence and risk factors of post-engraftment invasive fungal disease in adult allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients receiving oral azoles prophylaxis. *Bone Marrow Transplantation* (2015) 50, 1465–1472

Consúltese la sección 9.1.1 para ver el manuscrito original y la sección 9.1.2 para el manuscrito en castellano

RESUMEN

Pocos estudios analizan la epidemiología y los factores de riesgo para el desarrollo de IFI en receptores de un alo-TPH tras el injerto. Este estudio retrospectivo unicéntrico incluyó 404 receptores de alo-TPH adultos, sin antecedente de IFI previa, con injerto mieloide y que sobrevivieron al menos 40 días tras la infusión de progenitores. Las recomendaciones de profilaxis antifúngica de la guía clínica local establecían que los pacientes con ≥ 20 mg/día de prednisona debían recibir itraconazol o voriconazol en dosis bajas. El objetivo principal del estudio fue analizar la incidencia acumulada (IA) de IFI probable o probada siguiendo la clasificación del Grupo de Estudio de la Organización Europea para la Investigación y el Tratamiento del Cáncer y las Micosis (EORTC/MSG). Otro objetivo fue desarrollar un modelo de predicción multivariable para averiguar el riesgo de IFI tras en injerto mieloide usando variables independientes del análisis multivariable. La IA a 1 año de IFI fue del 11%. La mortalidad sin recaída fue del 40% en el grupo de pacientes que desarrollaron IFI frente al 16% en los que no tuvieron IFI. En el 17% de los casos se suspendió la profilaxis asignada. Los factores de riesgo independiente fueron: edad mayor a 40 años, portador de TPH previo (allogénico o autólogo), neutropenia antes del injerto de más de 15 días, EICH crónica extensa y reactivación de CMV. Los pacientes fueron estratificados en tres grupos según el número de variables independientes que estuviesen presentes. Se clasificaron como bajo riesgo (ningún o un factor, IA 0.7%), riesgo intermedio (dos factores, IA 9.9%) y riesgo alto (3 o más factores, IA 24.7%) ($p < 0.0001$). La profilaxis antifúngica asignada en ese momento no logró prevenir el desarrollo de IFI en el 11% de los pacientes.

En conclusión, el presente modelo de predicción multivariable para evaluar el riesgo de IFI podría ser útil para implementar estrategias de profilaxis antifúngica adaptadas al riesgo tras del injerto. Este modelo de predicción debe ser validado en una cohorte externa antes de ser usado en la práctica clínica.

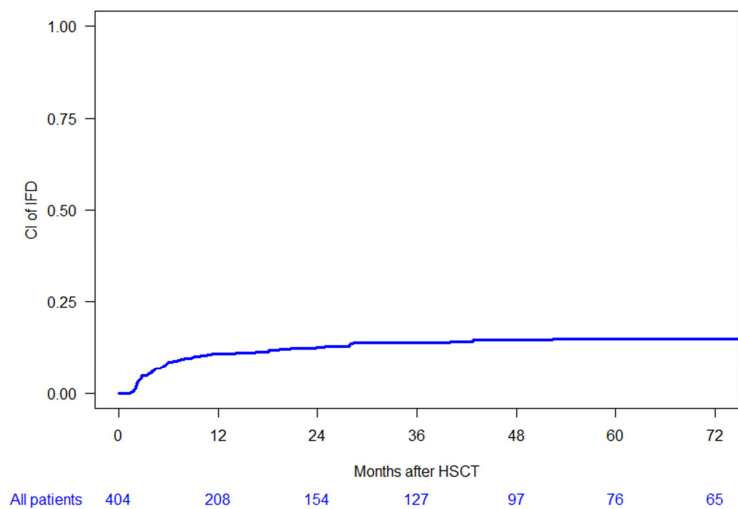
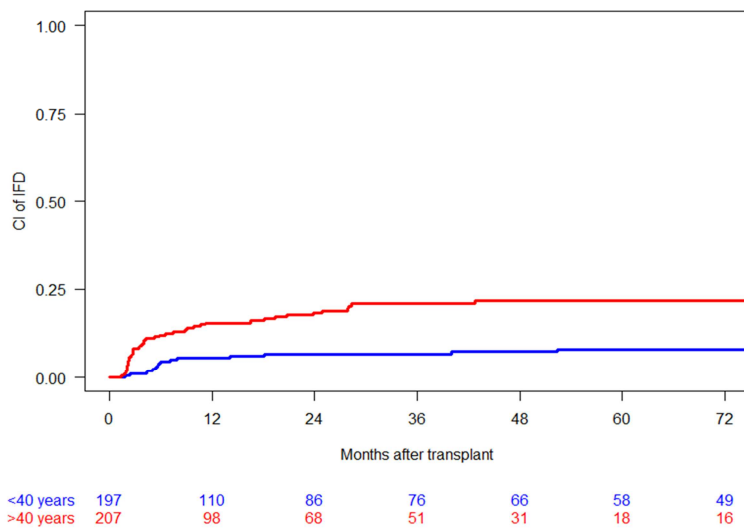
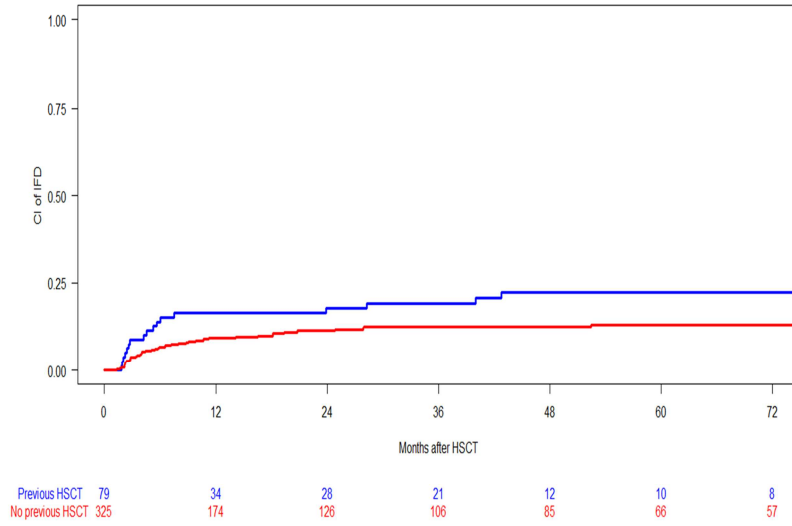


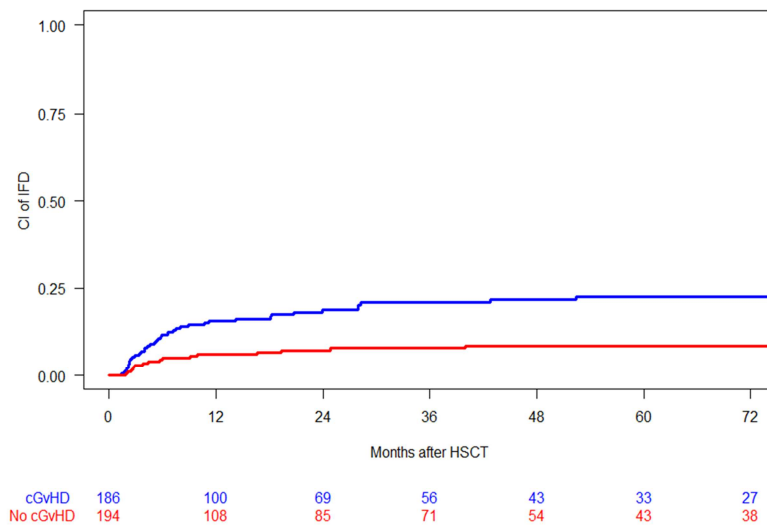
Figura 1. Incidencia acumulada de IFI según el tiempo post alo-TPH medido en meses



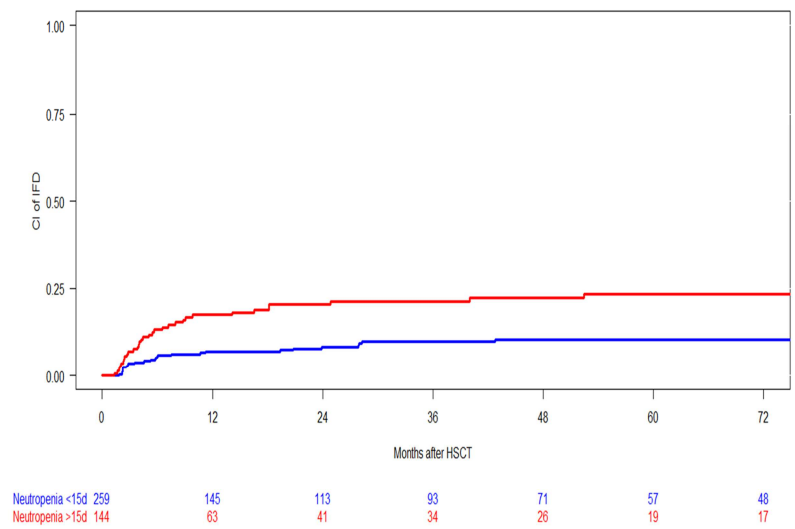
2a)



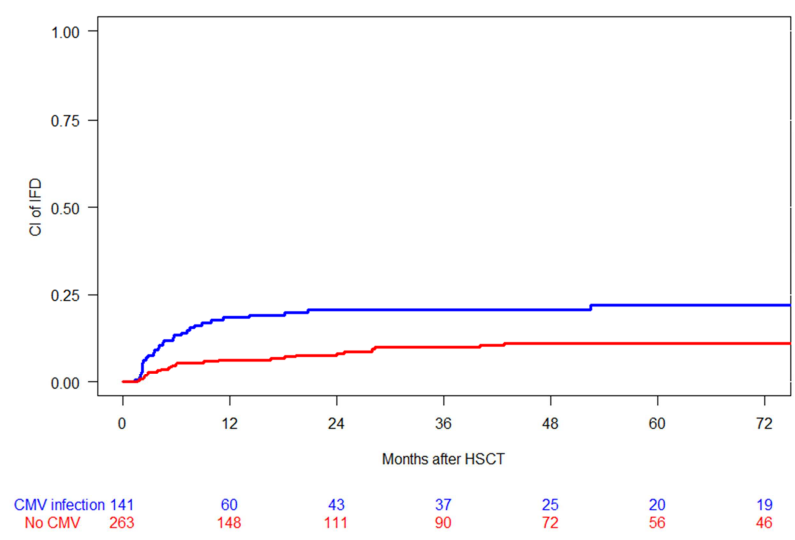
2b)



2c)



2d)



2e)

Figura 2. Incidencia acumulada (IA) de IFI tras el injerto según los diferentes factores de riesgo independientes. (a) IA según la edad (mayor o menor a 40 años) en el momento del alo-TPH. (b) IA con o sin TPH previo (allogénico o autólogo). (c) IC en pacientes que desarrollaron o no EICH crónica extensa. (d) IA según la duración de la neutropenia antes del injerto (más o menos de 15 días). (e) IA en pacientes que desarrollaron o no reactivación de CMV dentro de los 180 primeros días tras el alo-TPH

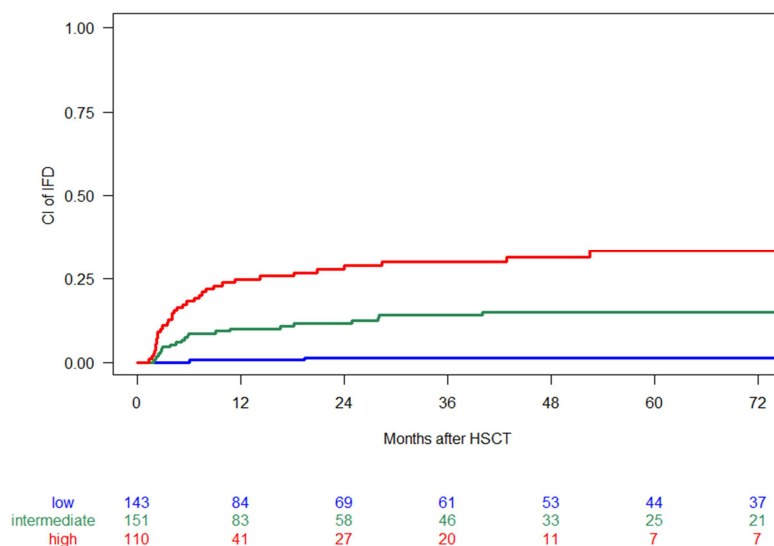


Figura 3. Incidencia acumulada de IFI según el número de factores de riesgo independientes. Azul, bajo riesgo: 0-1 factor. Verde, riesgo intermedio: 2 factores. Rojo, alto riesgo: 3 o más factores.

5.2 Artículo 2

Rebeca Rodríguez-Veiga, Pau Montesinos, Estefanía García, Blanca Boluda, Rafael Rojas, Josefina Serrano, David Martínez-Cuadrón, Carmen Martín, Jaime Sanz, Salvador Tabares, José L. Piñana, Ignacio Lorenzo, Juan Montoro, Miguel Salavert, Javier Pemán, Isidro Jarque, Pilar Solves, Guillermo F. Sanz, Antonio Torres, Miguel A. Sanz. Validation of a multivariable prediction model for post- engraftment invasive fungal disease in 465 adult allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Mycoses*. 2019 May;62(5):418-427.

Consúltese la sección 9.2.1 para ver el manuscrito original y la sección 9.2.2 para el manuscrito en castellano

RESUMEN

El modelo de predicción multivariable para averiguar el riesgo de IFI tras el injerto mieloide se obtuvo gracias a un estudio anterior que incluyó 404 receptores de alo-TPH (cohorte de entrenamiento) y seleccionó 5 variables con valor predictivo. El objetivo de este estudio es validar dicho modelo de predicción en una cohorte externa

(cohorte de validación), analizando la incidencia acumulada de IFI en el primer año post alo-TPH. Se incluyó además la incidencia y el tipo de IFI según la profilaxis recibida. Un total de 465 receptores de alo-TPH adultos cumplieron los criterios de elegibilidad; es decir no tenían antecedente de IFI previa, tenían injerto mieloide y habían sobrevivido al menos 40 días tras la infusión de progenitores. La edad media fue de 45 años (rango 14-69 años). Usando el modelo de predicción multivariable para el riesgo de IFI, los pacientes fueron clasificados en bajo riesgo, 139 pacientes, riesgo intermedio, 162 pacientes y alto riesgo, 164 pacientes. La cohorte de validación tenía más pacientes de alto riesgo de IFI frente a la cohorte de entrenamiento (35% vs. 27%, $p= 0.03$). La incidencia acumulada de IFI probable o probada al año en la cohorte de validación fue del 8% frente al 11% en la cohorte de entrenamiento ($p=0.006$). Hubo diferencias en la profilaxis con voriconazol, más pacientes de la cohorte de entrenamiento recibieron voriconazol 100 mg/12 h (esta fue la única dosis de voriconazol en esta cohorte) (65% vs. 27%). En la cohorte de validación un 38% de los pacientes recibió profilaxis con voriconazol 200mg/12h. El modelo de predicción multivariable para evaluar el riesgo de IFI tras el injerto pudo ser validado. Siendo la IA de los pacientes de bajo riesgo del 3%, 6% riesgo intermedio y 14% alto riesgo ($p<0.001$). La profilaxis de voriconazol 200mg/12h redujo la IA de IFI en pacientes clasificados como riesgo bajo e intermedio.

En conclusión, hasta donde nosotros sabemos ha sido el primer modelo de predicción multivariable para evaluar el riesgo de IFI tras el injerto que ha sido validado en una cohorte externa

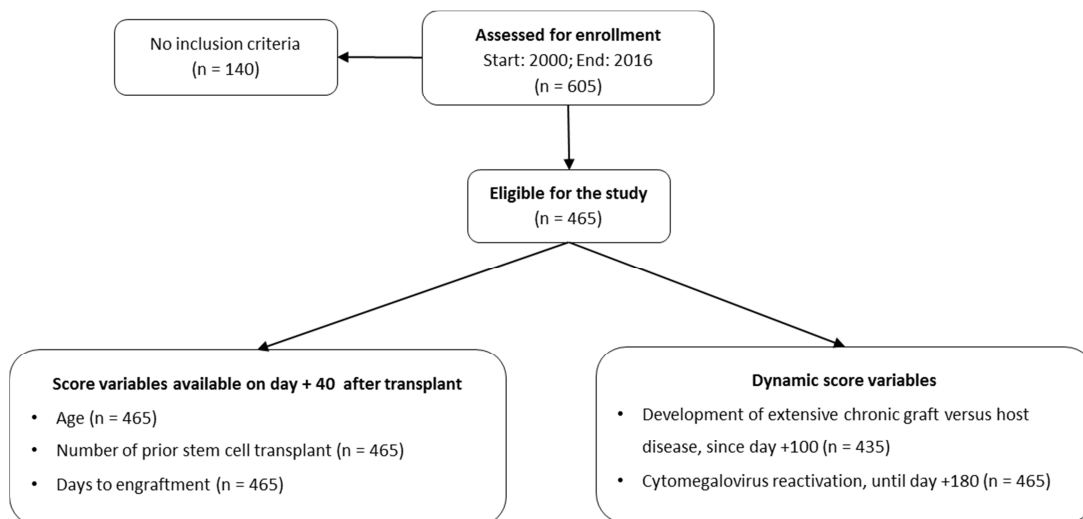


Figura 1. Diagrama CONSORT (*Consolidated Standards of Reporting Trials*) para la cohorte de validación.

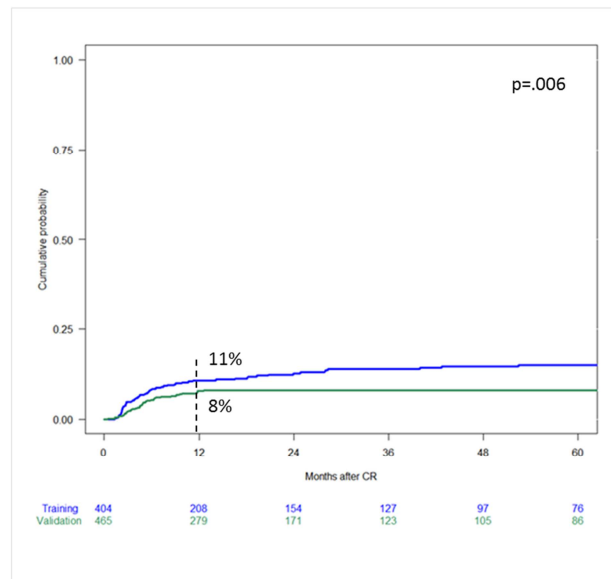


Figura 2. Comparativa de la incidencia acumulada (IA) de IFI en la cohorte de entrenamiento (azul) frente a la cohorte de validación (verde). La línea discontinua señala la IA de IFI al año.

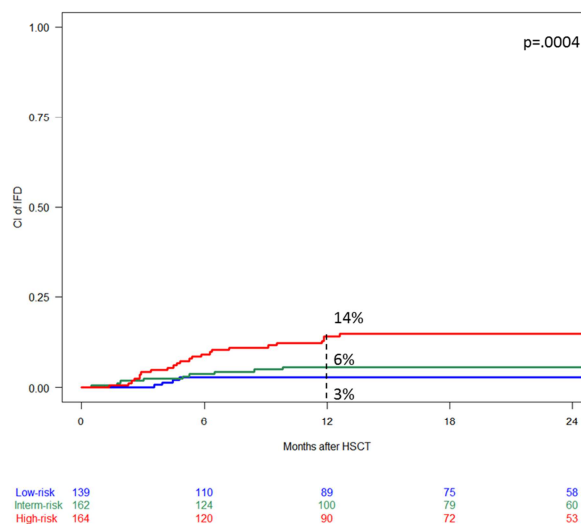
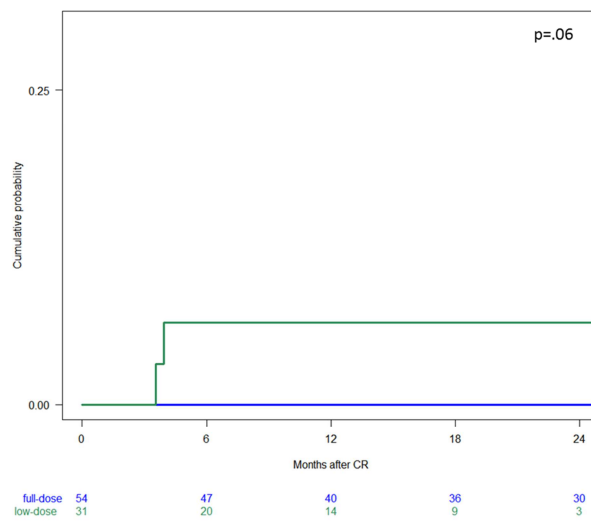
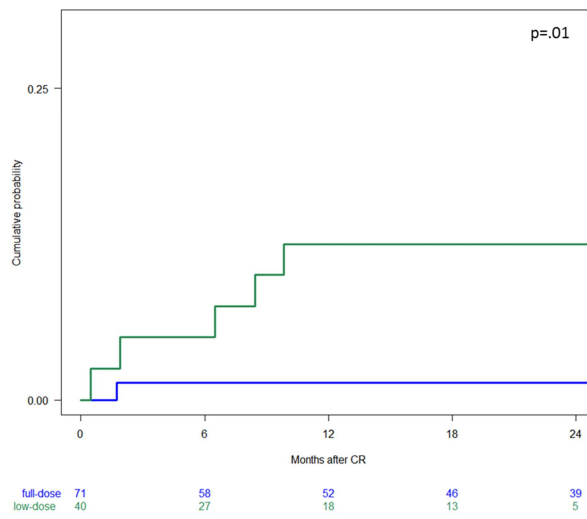


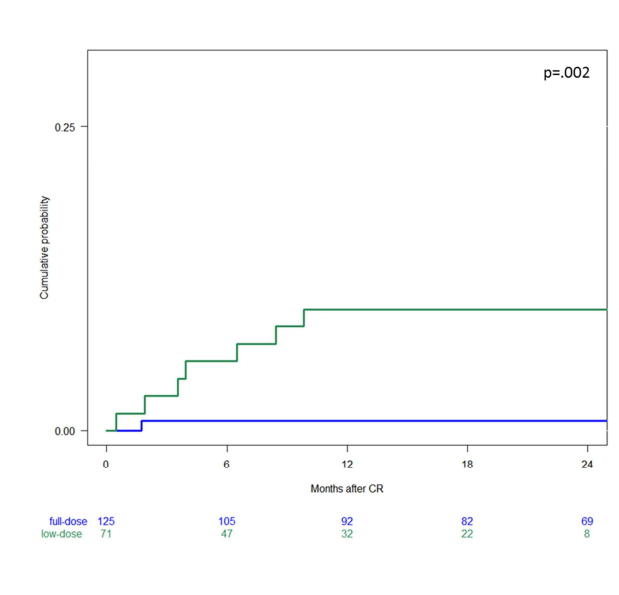
Figura 3. Incidencia acumulada (IA) de IFI según el número de factores de riesgo independientes. Azul, bajo riesgo: 0-1 factores. Verde, riesgo intermedio: 2 factores. Rojo, alto riesgo: 3 o más factores. La línea discontinua señala la IA de IFI al año.



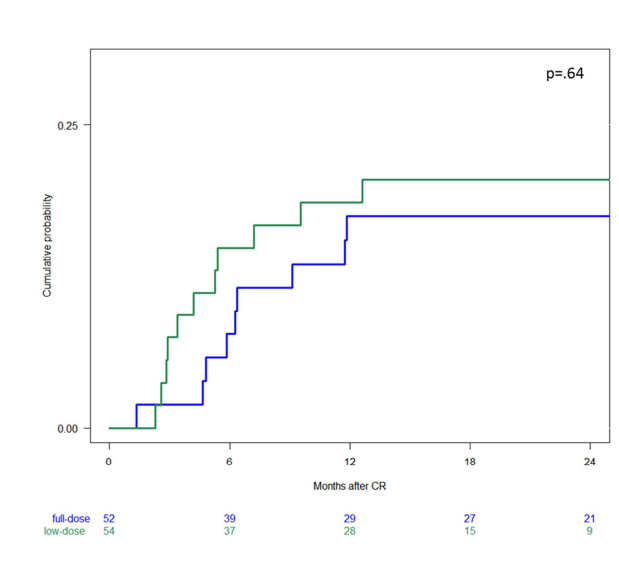
4a)



4b)



4c)



4e)

Figura 4. Incidencia acumulada de IFI tras el injerto según la dosis profiláctica de voriconazol: dosis baja 100 mg/12 h (verde), dosis completa 200 mg/12h (azul). (a) bajo riesgo. (b) riesgo intermedio. (c) riesgo bajo e intermedio juntos. (d) alto riesgo

5.3 Artículo 3

Rebeca Rodríguez-Veiga, Pau Montesinos, Blanca Boluda, Ignacio Lorenzo, David Martínez-Cuadrón, Miguel Salavert, Javier Pemán, Pilar Calvillo, Isabel Cano, Evelyn Acuña, Ana Villalba, José Luis Piñana, Jaime Sanz, Pilar Solves, Leonor Senent, Ana Vicente, Amparo Sempere, José Cervera, Eva Barragán, Isidro Jarque, Antonio Torres, Miguel A. Sanz y Guillermo F. Sanz. Incidence and outcome of invasive fungal disease after front-line intensive chemotherapy in patients with acute myeloid leukemia: impact of antifungal prophylaxis. *Annals of Hematology* (2019) 98:2081–2088

Consúltese la sección 9.3.1 para ver el manuscrito original y la sección 9.3.2 para el manuscrito en castellano

RESUMEN

El impacto de las diferentes estrategias de profilaxis antifúngica en pacientes con LMA de nuevo diagnóstico tratada con quimioterapia intensiva es desconocido. Existen pocos estudios que analicen la incidencia y las consecuencias de la IFI en estos pacientes. El objetivo principal de este estudio unicéntrico fue analizar, con ayuda de la clasificación EORTC/MSG de 2008, la incidencia de la IFI en pacientes con LMA de Novo tratados con quimioterapia intensiva. Se incluyó además la incidencia y el tipo de IFI según la profilaxis recibida, comparando tres cohortes históricas: fluconazol oral de 2004 a 2005, itraconazol intravenoso de 2006 a 2012 y voriconazol de 2013 a 2015. Fueron elegibles 285 pacientes que recibieron 589 ciclos de quimioterapia intensiva (47% inducciones y 53% consolidaciones). La mediana de edad fue de 51 años (rango 17-65 años). La incidencia de IFI fue del 10% (56 episodios), con la siguiente distribución: 29 episodios de IFI posible (52%), 17 episodios de IFI probable (30%) y 10 episodios de IFI probada (18%). La incidencia de IFI fue significativamente menor durante la administración de citarabina a altas dosis en comparación con los ciclos en los que se administraban antraciclinas (2% vs 11%, $p=0.001$). La incidencia de IFI durante la profilaxis con voriconazol fue significativamente menor que la encontrada con las otras profilaxis, itraconazol o fluconazol (6% vs. 11% vs. 15%, $p=0.007$). Los pacientes en profilaxis con voriconazol tuvieron una menor duración de la hospitalización y recibieron con menos frecuencia tratamiento empírico o dirigido para la IFI. En el multivariante se hallaron dos factores protectores independientes: la profilaxis con voriconazol y los ciclos con citarabina a altas dosis.

En conclusión, la IFI es una complicación frecuente en pacientes con LMA que reciben tratamiento de primera línea con quimioterapia intensiva. La profilaxis antifúngica con voriconazol es factible y se asocia con un menor riesgo de IFI si se compara con la profilaxis antifúngica con itraconazol intravenoso o fluconazol oral

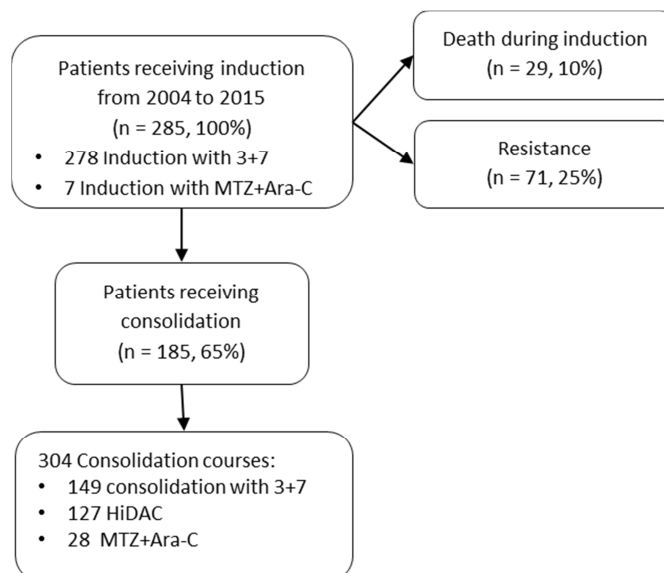


Figura 1. Diagrama CONSORT (*Consolidated Standards of Reporting Trials*) de este estudio.

Tabla 1. Incidencia de IFI y evolución según el tipo de profilaxis antifúngica recibida.

Profilaxis antifúngica	N (%)	Muertes en inducción N (%)	P	IFI totales N (%)	P	IFI probada/ probable N (%)	P
Fluconazol	72 (13)	7 (10)	0.28	11 (15)	0.007*	7 (10)	0.19*
Itraconazol	233 (40)	22 (9)		26 (11)	0.03**	11 (5)	0.26**
Voriconazol	264 (45)	17 (6)		15 (6)		8 (3)	
Otras	20 (3)	2 (11)		2 (11)		1 (5)	

Profilaxis antifúngica	Días de hospitalización por ciclo, media (rango)	P	Antifúngico IV N (%)	P
Fluconazol	34.5 (20-88)	<0.001*	41 (57)	0.008*
Itraconazol	35.0 (9-117)		143 (61)	
Voriconazol	31.6 (17-102)		126 (48)	
Otras profilaxis	36.4 (24-91)		7 (37)	

Tabla 2. Incidencia de IFI y evolución según el tipo de quimioterapia administrada.

Tipo de quimioterapia	N (%)	Muertes [@] N (%)	P	Episodios de IFI N (%)	P	Episodios de IFI [#] N (%)	P
IDA+ARA-C, 3+7 (IND)	278 (47)	31 (11)		34 (12)		17 (6)	
MTZ + ARA-C (IND)	7 (1)	1 (14)		1 (14)		1 (14)	
IDA + ARA-C, 3+7 (CON)	149 (25)	11 (7)		15 (10)		8 (5)	
MTZ + ARA-C (CON)	28 (5)	3 (11)		3 (11)		1 (4)	
HD-ARA-C (CON)	127 (22)	2 (2)		2 (2)		0 (0)	
Antraciclinas (IND y CON)	462 (78)	46 (10)	0.001*	53 (11)	<0.001*	27 (5)	0.002*

* Comparación entre la cohort de itraconazol y fluconazole frente a la de voriconazol** Comparación entre la cohort de itraconazol frente a la de voriconazol. # Episodios de IFI probada y probable. @ Muertes durante la inducción.

Abreviaturas: IFI: infección fúngica invasiva; IND: inducción; CON: consolidación; IDA: idarrubicina; ARA-C: citarabina; HD; altas dosis; MTZ: mirtazapina.

Tipo de quimioterapia	N (%)	Hospitalización/ciclo, días. media (rango)	P	Antifúngico intravenoso N (%)	P
IDA + ARA-C, 3+7 (IND)	278 (47)	34.1 (16-94)		207 (75)	
MTZ + ARA-C (IND)	7 (1)	30.9 (24-36)		3 (43)	
IDA + ARA-C, 3+7 (CON)	149 (25)	35.2 (18-117)		73 (49)	
MTZ + ARA-C (CON)	28 (5)	32.1 (9-53)		12 (43)	
HD-ARA-C (CON)	127 (22)	24.0 (16-54)		22 (18)	
Antraciclinas (IND y CON)	462 (78)	34.3 (9-117)	<0.001*	295 (64)	<0.001*

* Comparación entre la cohort de itraconazol y fluconazole frente a la de voriconazol** Comparación entre la cohort de itraconazol frente a la de voriconazol.

Abreviaturas: IFI: infección fúngica invasiva; IND: inducción; CON: consolidación; IDA: idarrubicina; ARA-C: citarabina; HD; altas dosis; MTZ: mirtazapina.

6 DISCUSSION

El compendio de estudios de esta tesis doctoral demuestra que la IFI sigue siendo una complicación frecuente en pacientes hematológicos de alto riesgo en nuestro entorno. El primer grupo estudiado fueron los receptores de alo-TPH tras el injerto mieloide, con una IA de IFI al año del 11% y del 8%. La identificación de cinco variables independientes de riesgo de IFI se usó para la construcción de un modelo de predicción de riesgo de IFI en receptores de un alo-TPH tras el injerto. Este modelo se ha convertido en el primero validado en una cohorte externa de estas características. El segundo grupo estudiado fueron los pacientes con LMA tratados con quimioterapia intensiva de primera línea, con una IA de IFI al año del 10%. Esta serie ha sido la más grande estudiada en pacientes con LMA y tratamiento de quimioterapia intensiva, permitiendo confirmar el alto impacto de la IFI en estos pacientes, que asociaron mayor estancia hospitalaria, mayor necesidad de terapia antifúngica empírica y mayor mortalidad.

Los resultados sobre la incidencia de IFI reportados en este trabajo son difícilmente comparables con estudios previos. Fundamentalmente porque existen pocos trabajos que hayan analizado sólo a pacientes hematológicos de alto riesgo (Neofytos *et al*, 2009; Garcia-Vidal *et al*, 2008; Pagano *et al*, 2006; Tormo *et al*, 2018), ya que la mayoría de los estudios incluyen una población muy heterogénea (Horn *et al*, 2009; Rotstein *et al*, 1999; Robenshtok *et al*, 2007). Este trabajo incluyó sólo dos grupos homogéneos en sendos estudios: receptores de un alo-TPH (Rodríguez-Veiga *et al*, 2019b; Montesinos *et al*, 2015) y pacientes con LMA sometidos a quimioterapia intensiva (Rodríguez-Veiga *et al*, 2019a). En ese primer grupo, la IA de IFI al primer año fue del 11% en el trabajo y 8% en el segundo. Esta diferencia podría explicarse porque el primer grupo incluía más pacientes de mayor riesgo (más trasplantes de sangre de cordón umbilical y más pacientes con EICH crónico). El segundo grupo estudiado fueron pacientes con LMA en quimioterapia intensiva que mostró una incidencia cruda era del 10% (5% si consideramos sólo las IFI probadas y probables). La mayor diferencia entre las cohortes históricas fue durante la profilaxis con voriconazol en la que la incidencia bajó al 6% frente al 15% cuando se usó fluconazol. El fluconazol carece de actividad frente a hongos filamentosos, lo que parece explicar este importante cambio (Cornely *et al*, 2007b). En general existen pocos estudios que analicen la IFI en pacientes con neoplasias hematológicas, aunque se acepta que son un grupo de alto riesgo (Maertens *et al*, 2011; Tissot *et al*, 2017). La incidencia reportada previamente ha sido en general más baja cuando se administraron profilaxis con cobertura contra *Aspergillus*. En 2011 se informó de una incidencia del 1,3% de IFI probada en 40 pacientes con LMA o 76 ciclos de quimioterapia durante la profilaxis

con posaconazol (Egerer & Geist, 2011). La incidencia de IFI probable o probada en 159 pacientes con LMA comparando la profilaxis con posaconazol frente a polienos tópicos, fue del 3,9% frente al 19,5% (Vehreschild *et al*, 2010). Otros estudios que incluyeron más pacientes han sido mucho más heterogéneos en sus criterios de inclusión. Un ensayo clínico aleatorizado que comparaba la profilaxis con posaconazol frente a fluconazol o itraconazol en 602 pacientes con LMA o síndrome mielodisplásico con neutropenia post-quimioterapia, informó de una incidencia del 2% frente al 8 % de IFI probable o probada (Cornely *et al*, 2007b). Se analizó una serie de 174 pacientes con LMA o síndrome mielodisplásico sometidos a quimioterapia intensiva (293 ciclos), comparando la profilaxis con posaconazol frente itraconazol, con tasas de IFI probable o probada de 1,7% vs. 5,3% respectivamente (Tormo *et al*, 2018). Estos dos estudios se diferencian de nuestro estudio en los criterios de elegibilidad y también en que las cifras reportadas sólo incluyen IFI probada o probable.

En cuanto al tipo y la localización de las infecciones, en los tres estudios, el pulmón fue el órgano más frecuentemente afectado y el patógeno aislado con más frecuencia fue *Aspergillus*. Lo que está en relación con lo publicado en otros estudios (Neofytos *et al*, 2009; Robin *et al*, 2019; Neofytos *et al*, 2013; Lien *et al*, 2018; Tormo *et al*, 2018). La incidencia de IFI de brecha, que pudo ser evaluada sólo en el primer estudio, fue relativamente alta: 8% de los pacientes que recibieron fluconazol, 9% itraconazol y 10% de los que recibieron voriconazol a dosis bajas. Existen pocos artículos que reporten la tasa de IFI de brecha en pacientes hematológicos de alto riesgo, pero la mayoría reportan incidencias del 2 al 15% (Winston *et al*, 2011; Cornely *et al*, 2008; Tormo *et al*, 2018). En nuestro estudio, se reportó un número elevado de IFIs al finalizar la profilaxis: fluconazol (8%), itraconazol (5%) y voriconazol en dosis bajas (6%). Este dato junto al 4% de pacientes que desarrollaron IFI tras el primer año y un 2% lo hicieron entre el segundo y el quinto año post-trasplante. Aunque la incidencia a largo plazo no se suele reportar, en unos pocos estudios con un seguimiento máximo de 2 años informan de una incidencia global de entre el 7 y el 10% (Marr *et al*, 2002; Garcia-Vidal *et al*, 2008; Mikulska *et al*, 2009; Thursky *et al*, 2004). Hasta donde sabemos, existen diferentes recomendaciones sobre la duración de la profilaxis antifúngica, pero no estudios bien diseñados que lo aborden específicamente. Tanto en la cohorte de entrenamiento como en la de validación, muchos pacientes interrumpieron la profilaxis en los primeros 6 meses a pesar de que algunos factores de riesgo persistían (EICH crónico extenso, uso de corticosteroides y/o reactivación del CMV). Con los datos aportados en nuestro estudio, parece claro que al menos un pequeño grupo de pacientes se beneficiaría de una profilaxis

extendida. Creemos que usando el modelo predictivo se podría extender la profilaxis al menos en pacientes que continúen puntuando como alto riesgo, incluso más allá del primer año o segundo año. No se monitorizaron los niveles de los diferentes antifúngicos y, por tanto, no se pudo establecer su relación con el fracaso de algunas profilaxis.

Otro hallazgo importante de este estudio fue que, mientras la profilaxis con voriconazol 200 mg/12h resultó eficaz en la prevención de IFI tras el alo-TPH en la mayoría de los casos, la profilaxis con itraconazol o con voriconazol 100 mg/12h resultó poco eficaz y se asoció con una incidencia alta de IFI. La toxicidad de los tres regímenes de profilaxis fue baja. Estos datos han hecho revisar y modificar las pautas de profilaxis antifúngica en nuestro centro.

Otro de los pilares de este estudio ha sido el análisis de los factores predictivos de IFI. El conocimiento de los factores asociados a la IFI en pacientes hematológicos podría ayudar a diseñar estrategias de prevención adaptadas al riesgo individual. Hasta ahora en la mayoría de las publicaciones que analizan los factores de riesgo de IFI, lo hicieron sobre grupos heterogéneos incluyendo trasplantes de órgano sólido, pacientes con tumores sólidos, con VIH, etc. Ello hace que los factores de riesgo encontrados no hayan podido confirmarse en pacientes hematológicos (Berdal *et al*, 2014; Richardson & Kokki, 1998; Neofytos *et al*, 2009; Uzun *et al*, 2001; Dimopoulos *et al*, 2008). En el presente estudio, en cambio, se analizaron dos grupos muy homogéneos: receptores de un alo-TPH y pacientes con LMA que reciben quimioterapia intensiva. El factor de riesgo de IFI reportado con más frecuencia y con independencia de la población estudiada ha sido la duración y la profundidad de la neutropenia (Bow *et al*, 2002). En nuestros estudios, la duración de la neutropenia de más de 15 días fue un factor independiente de riesgo de IFI tras el alo-TPH. Sin embargo, en los pacientes con LMA no se pudo demostrar una relación entre la duración de la neutropenia y el desarrollo de IFI. Una explicación podría ser que la gran mayoría tenían una neutropenia grado 4 muy prolongada (>21 días) y por tanto no se pudieron encontrar diferencias significativas ni en la duración ni en la profundidad. Los otros factores de riesgo independientes encontrados: edad, TPH previo, EICH crónico y reactivación CMV, habían sido descritos con anterioridad (García-Vidal *et al*, 2008; Marr *et al*, 2002; Zhang *et al*, 2010; Mikulska *et al*, 2009). Otros factores que en el análisis univariante se asociaron a riesgo de IFI no fueron confirmados en el multivariable. Entre ellos el uso de corticosteroides, la EICH aguda, la discordancia HLA, la fuente de progenitores diferente a sangre periférica o un acondicionamiento con ATG. Este último factor se relacionaba con otros estudios que

informaron de la depleción de células T *ex vivo* usando alemtuzumab como factor de riesgo de IFI (Blennow *et al*, 2010). En nuestro trabajo no pudimos evaluar otros factores de riesgo previamente reportados como la sobrecarga férrica o el recuento linfocitario.

La identificación de los cinco factores de riesgo independientes se usó para construir el modelo de predicción multivariable. Este pudo ser validado en una cohorte externa o cohorte de validación con importantes diferencias con la cohorte inicial o de entrenamiento. La cohorte de validación incluyó pacientes con más reactivación del CMV antes del día 180, más receptores mayores de 40 años y un mayor periodo de neutropenia pre-injerto; y por tanto, más pacientes fueron clasificados como alto riesgo de IFI post-injerto. La validación del modelo, pese a estas diferencias, refuerza su valor discriminatorio en el riesgo de IFI. La precisión para separar pacientes de riesgo bajo e intermedio (incidencia de IFI del 3% frente al 6% a los 12 meses) fue menor en comparación con la cohorte de entrenamiento (1% frente al 10% a los 12 meses). En el alto riesgo de IFI, el valor discriminatorio fue mayor, aunque la incidencia en la cohorte de validación para alto riesgo fue menor que en la de entrenamiento (14% vs 24%). Esta diferencia parece explicarse, al menos en parte, por las diferencias en la profilaxis antifúngica. Aunque el 65% de los pacientes de ambos grupos recibieron profilaxis con voriconazol por vía oral, en la serie de validación el 38% recibió la dosis completa (200 mg/12 h) y el 27% a dosis baja (100 mg/12 h), mientras que en la cohorte de entrenamiento la única dosis para profilaxis con voriconazol fue 100 mg/12h. Este modelo de predicción multivariable tiene dos variables tiempo-dependientes: EICH crónico extenso y la reactivación CMV antes del día +180. Estos factores podrían no estar presentes en una primera evaluación post-trasplante y por tanto la capacidad de discriminación podría ser menor en ese momento. Por eso, creemos que este modelo debería implementarse con una evaluación dinámica, ajustando la profilaxis siempre que el paciente cambie de grupo de riesgo. En el grupo de alto riesgo, la profilaxis de voriconazol a dosis de 200 mg/12h se mostró incapaz de prevenir la mayoría de los episodios de IFI. El desarrollo de nuevos fármacos orales con un perfil de seguridad favorable y más eficaces en la prevención de los pacientes de alto riesgo son necesarios para optimizar la prevención de esta complicación.

En nuestro estudio sobre pacientes con LMA sometidos a quimioterapia intensiva se encontraron dos factores protectores independientes. Uno de ellos fue la quimioterapia sin antraciclinas; es decir los ciclos con citarabina a altas dosis tenían menos riesgo de IFI. Este factor no había sido identificado hasta ahora. Especulamos que las antraciclinas, al producir un mayor daño en la barrera mucosa (Atallah *et al*,

2007), podrían facilitar la entrada de los hongos. El otro factor protector fue la profilaxis con voriconazol 200 mg/12h. Otros estudios han mostrado de manera similar una reducción de la incidencia de IFI al usar un triazol de segunda generación (posaconazol o voriconazol) (Lee *et al*, 2018; Vehreschild *et al*, 2010; Marks *et al*, 2011). En este estudio, no se pudo analizar la exposición ambiental a diferentes microorganismos ni la carga de esporas que fueron señalados como factores de riesgo en estudios previos (Garcia-Vidal *et al*, 2014).

Aunque las autopsias siguen siendo de gran valor para el conocimiento de la epidemiología y el diagnóstico de la IFI. Su práctica ha disminuido en todo el mundo, principalmente por la falta de normativa, el gasto, las preferencias de familiares y la actitud de los médicos. En nuestros estudios tampoco se realizaron necropsias de forma sistemática. Un estudio bastante amplió reportó que hasta el 75% de las IFIs eran diagnosticadas post-mortem (Chamilos *et al*, 2006). En otros estudios mencionan una prevalencia de IFI en autopsias de entre el 9 y el 30%, con un diagnóstico ante-mortem de sólo el 25-50% (Donhuijsen *et al*, 2008; Sinkó *et al*, 2008; Alsharif *et al*, 2009). Las dificultades en el diagnóstico temprano se vieron reflejadas en un estudio que mostró que en el 45% de los casos diagnosticados post-mortem, el AGA había sido negativo en repetidas ocasiones (Lewis *et al*, 2013).

El diseño de los tres estudios que componen este trabajo de tesis doctoral fue retrospectivo analizando la práctica clínica habitual en un periodo prolongado 2001 a 2016. Aunque las conclusiones que se pueden extraer de este tipo de estudios no son tan sólidas como las de estudios prospectivos, se ha tenido especial cuidado el diseño y el análisis de los datos para minimizar sesgos. Las pruebas diagnósticas y los criterios para identificar una IFI fueron consistentes a lo largo de todo el periodo de estudio. La inclusión de los pacientes fue consecutiva y no de una población seleccionada. Los criterios de elegibilidad trataban de representar la práctica clínica habitual, para que los resultados fuesen aplicables. En total se detectaron un 10% de desviaciones con respecto a la profilaxis antifúngica, hecho común en la práctica clínica habitual y que se refleja en este tipo de estudios. En general, es recomendable continuar revisando periódicamente la incidencia de IFI en nuestros pacientes, así como analizar cada cierto tiempo la adecuación de la profilaxis y tratamientos antifúngicos para buscar posibles mejoras de las estrategias.

Este compendio de estudios son un ejemplo de como la revisión periódica de la incidencia de IFI y de las estrategias antifúngicas establecidas en cada centro: 1) resulta fundamental para verificar la adecuación o no dichas estrategias y puede ayudar a diseñar nuevas estrategias en caso necesario; 2) permite un conocimiento de

la incidencia y de las complicaciones de la IFI en la actualidad; y 3) identifica a factores de riesgo independientes que permiten desarrollar estrategias adaptadas al riesgo de IFI en el futuro, cómo el modelo de predicción multi-variable para evaluar el riesgo de IFI tras el injerto mieloide validado externamente.

7 CONCLUSIONES

1. La incidencia de IFI en pacientes hematológicos de alto riesgo en nuestro entorno continúa siendo elevada. Entre el 8 y el 11% de los receptores de alo-TPH desarrollaron una IFI y hasta el 10% en pacientes con LMA en tratamiento intensivo.
2. El pulmón fue el órgano más frecuentemente afectado y los hongos aislados con más frecuencia fueron del género *Aspergillus*.
3. Se identificaron cinco variables con valor pronóstico independiente en pacientes sometidos a alo-TPH tras el injerto: edad mayor a 40 años, TPH previo, neutropenia antes del injerto de más de 15 días, reactivación de CMV antes del día 180 y EICH crónico extenso. Estas variables sirvieron para construir un modelo de predicción multivariable que fue validado y logra segregar a los pacientes en riesgo bajo, intermedio o alto de desarrollar IFI.
4. La profilaxis con itraconazol y voriconazol a dosis bajas (100 mg/12h) resultó ineficaz para prevenir episodios de IFI en receptores de alo-TPH. La profilaxis con voriconazol a dosis plenas (200 mg/12h) redujo el riesgo de IFI tras el injerto mieloide en los pacientes de riesgo bajo o intermedio, pero no tuvo un impacto en los pacientes de alto riesgo. El voriconazol a dosis plenas (200 mg/12h) mostró una toxicidad similar al voriconazol a dosis bajas.
5. La profilaxis con voriconazol a dosis plena (200 mg/12h) en pacientes con LMA tratados con quimioterapia intensiva de primera línea demostró reducir la incidencia de IFI, el tiempo de hospitalización y el uso de terapia antifúngica empírica, cuando se comparó con la profilaxis con fluconazol o itraconazol. Otro factor protector de IFI encontrado en el análisis multivariante fue recibir un ciclo de quimioterapia sin antraciclinas (citarabina a altas dosis).
6. La revisión periódica de la incidencia de IFI, sus factores pronósticos, y el impacto de las profilaxis antifúngica utilizadas en cada centro resulta fundamental para optimizar las estrategias profilácticas, diagnósticas, y terapéuticas.

8 ANEXOS

8.1 Anexo 1

Referencia bibliográfica

Montesinos P, Rodríguez-Veiga R, Boluda B, Martínez-Cuadrón D, Cano I, Lancharro A, et al. Incidence and risk factors of post-engraftment invasive fungal disease in adult allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients receiving oral azoles prophylaxis. *Bone Marrow Transplant*. 2015;50(11):1465–72.

8.1.1 *Manuscrito original*

Bone Marrow Transplantation (2015) 50, 1465–1472
 © 2015 Macmillan Publishers Limited All rights reserved 0268-3369/15
www.nature.com/bmt



ORIGINAL ARTICLE

Incidence and risk factors of post-engraftment invasive fungal disease in adult allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients receiving oral azoles prophylaxis

P Montesinos¹, R Rodríguez-Veiga¹, B Boluda¹, D Martínez-Cuadrón¹, I Cano¹, A Lancharro¹, J Sanz¹, MJ Arilla¹, F López-Chuliá¹, I Navarro¹, I Lorenzo¹, M Salavert², J Pemán³, P Calvillo⁴, J Martínez¹, N Carpio¹, I Jarque¹, GF Sanz¹ and MA Sanz^{1,5}

Studies that analyze the epidemiology and risk factors for invasive fungal disease (IFD) after engraftment in alloSCT are few in number. This single-center retrospective study included 404 alloSCT adult recipients surviving > 40 days who engrafted and were discharged without prior IFD. All patients who received ≥ 20 mg/day of prednisone were assigned to primary oral prophylaxis (itraconazole or low-dose voriconazole). The primary end point was the cumulative incidence (CI) of probable/proven IFD using the European Organization for Research and Treatment of Cancer and Mycoses Study Group (EORTC/MSG) criteria. The independent prognostic factors after multivariate analyses were used to construct a post-engraftment IFD risk score. The 1-year CI of IFD was 11%. The non-relapse mortality was 40% in those developing IFD and 16% in those who did not. The intent-to-treat analysis showed that 17% of patients abandoned the assigned prophylaxis. Age > 40 years, ≥ 1 previous SCT, pre-engraftment neutropenia > 15 days, extensive chronic GVHD and CMV reactivation were independent risk factors. The post-engraftment IFD score stratified patients into low risk (0–1 factor, CI 0.7%), intermediate risk (2 factors, CI 9.9%) and high risk (3–5 factors, CI 24.7%) ($P < 0.0001$). The antifungal prophylaxis strategy failed to prevent post-engraftment IFD in 11% of alloSCT. Our risk score could be useful to implement risk-adapted strategies using antifungal prophylaxis after engraftment.

Bone Marrow Transplantation (2015) 50, 1465–1472; doi:10.1038/bmt.2015.181; published online 17 August 2015

INTRODUCTION

Invasive fungal disease (IFD), and particularly invasive aspergillosis, is a challenging cause of morbidity and mortality in patients undergoing alloSCT.^{1,2} Many studies, mainly from single-institution retrospective series, have analyzed the incidence and risk factors of these infections after alloSCT,^{1,3–5} reporting a variable incidence ranging from 1 to 20%.^{6,7} It is well established that severe neutropenia induced by conditioning regimens is associated with an increased risk of developing IFD after alloSCT, and it is generally accepted that antifungal prophylaxis should be administered in the pre-engraftment period. However, despite the knowledge of several post-engraftment risk factors associated with late IFD (for example, corticosteroid therapy and GVHD), considered as a guide for risk-adapted antifungal prophylaxis, the usefulness of such prophylaxis beyond the alloSCT engraftment is still controversial.^{8–10} There are a few studies specifically analyzing the epidemiology and risk factors for IFD after engraftment in alloSCT adult recipients^{3–5,11} and the potential impact of antifungal prophylaxis in this setting.

This study aims (1) to retrospectively analyze the incidence, outcome and risk factors of IFD after myeloid engraftment in a large series of consecutive adult patients submitted to alloSCT in a single institution, (2) to assess the impact of primary antifungal prophylaxis with oral drugs (itraconazole and low-dose voriconazole) on occurrence of post-engraftment IFD and (3) to construct a scoring system that could be useful to

improve risk-adapted prophylaxis strategies with antifungal agents for patients discharged after engraftment.

MATERIALS AND METHODS

Study design and patient selection

From January 2001 to March 2013, 615 consecutive unselected patients with hematological malignancies underwent an alloSCT in the adult Transplant Unit of the Hospital Universitari i Politècnic La Fe. The clinical records of all patients were reviewed to assess their eligibility for this retrospective study. Patients were eligible if they fulfilled all the following criteria: (1) stable myeloid engraftment with neutrophil recovery, defined as more than 3 days with an absolute neutrophil count of above $0.5 \times 10^9/L$ with full-donor chimerism; (2) patients who survived more than 40 days after alloSCT and were discharged from hospital (outpatient management) and able to receive oral antifungal prophylaxis protocol; and (3) patients without previous suspicion or diagnosis of IFD during the pre-transplant or early post-transplant period (that is, all patients discharged with secondary antifungal prophylaxis or antifungal therapy were not eligible). All patients who were alive at the time of our study provided informed consent according to institutional guidelines. This retrospective study was approved by the Research Ethics Board of the institution according to the Declaration of Helsinki (study number 2013/0036).

Source of progenitors, preparative regimens and GVHD prophylaxis

Patients included in the study were transplanted from a sibling or unrelated donor (cord blood (UCBT), bone marrow or peripheral blood)

¹Department of Hematology, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, València, Spain; ²Department of Infectious Diseases, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, València, Spain; ³Department of Microbiology, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, València, Spain; ⁴Department of Radiology, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, València, Spain and ⁵Departament de Medicina, Universitat de València, Valencia, Spain. Correspondence: Dr P Montesinos, Hematology Department, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Avenida Fernando Abril Martorell 106, CP, Valencia 46026, Spain.
 E-mail: montesinos_pau@gva.es

Received 4 May 2015; revised 1 July 2015; accepted 3 July 2015; published online 17 August 2015



according to donor availability and alloSCT timing. Donor–recipient matching was based on HLA typing. Early disease stage at alloSCT was defined as chronic myeloid leukemia in the chronic phase, acute leukemia in the first or second CR, myelodysplastic syndrome untreated or in CR and lymphoma in CR. Preparative regimens comprised myeloablative conditioning (MAC) or reduced intensity conditioning (RIC) modalities. The conventional preparative regimen consisted of BU plus CY until 2007, and thereafter oral or i.v. BU plus fludarabine (FLU). Patients receiving an alloSCT from an unrelated donor were given additional thiotepa (TT) and lymphoglobulin or thymoglobulin (ATG). Patients older than 55 years or with an expected high mortality using MAC regimens (for example, previous HSCT or severe co-morbidities) were selected for RIC regimen with lower doses of BU plus FLU or FLU plus melphalan. From 2007, some patients received UCBT using RIC with BUFLUTT and ATG.

Acute GVHD prophylaxis comprised cyclosporine plus methotrexate in adult siblings and unrelated identical donors alloSCT matched-related donors, except in some cases with positive CD34+ cell selection in which cyclosporine plus prednisone was used. UCBT prophylaxis consisted of cyclosporine plus prednisone or cyclosporine plus mycophenolate. Acute GVHD and chronic GVHD were graded according to criteria published elsewhere.^{12,13} CMV monitoring and prophylaxis was performed according to previously reported protocols.¹⁴

Risk stratification, monitoring and diagnosis of IFD

After myeloid engraftment and hospital discharge, monitoring tests using serial *Aspergillus* galactomannan antigen (AGA) were performed every 7–15 days in patients who were receiving ≥ 20 mg/day of prednisone (or other corticosteroid equivalent dosage). Serial AGA was performed every 7–15 days from discharge until day +100 after all unrelated alloSCT patients. For recipients of HLA-id sibling donor with < 20 mg/day of prednisone intake, AGA monitoring was not mandatory. A computer tomography scan was available for the entire study period.

Diagnosis and classification of IFD was performed according to the European Organization for Research and Treatment of Cancer and Mycoses Study Group (EORTC/MSG) revised definitions of 2008.¹⁵

When fungal specimens were isolated, susceptibility testing was not performed to identify resistance to antifungal agents.

Prophylactic management and treatment of IFD after myeloid engraftment

After myeloid engraftment and hospital discharge, according to the institutional strategy of IFD prophylaxis, recipients of an HLA-id sibling donors with < 20 mg/day of prednisone intake (or other corticosteroid equivalent dosage) did not receive any type of prophylaxis against molds (itraconazole 100–400 mg/day was allowed). All patients who were receiving ≥ 20 mg/day of prednisone (or other corticosteroid equivalent dosage) were assigned to a primary prophylaxis using an oral triazole (itraconazole or voriconazole). In addition, recipients of cells from an unrelated donor were assigned to a primary prophylaxis using an oral triazole from engraftment/discharge until day +100, irrespectively of the concomitant dose of prednisone. The oral triazole prophylaxis consisted of itraconazole capsules (200–400 mg/daily) from 2001 to 2004, or low-dose voriconazole (200 mg/daily until 2009 or 100 mg/twice a day from 2010). The dose of voriconazole for prophylaxis was selected in an attempt to prevent toxicity and interactions. Neither voriconazole nor itraconazole plasma concentration monitoring was performed. Oral prophylaxis was stopped when the corticosteroid dose was decreased below 20 mg/day. Oral prophylaxis was also withdrawn when limiting toxicity at the physician's discretion appeared or when antifungal treatment was indicated due to suspicion of or documented IFD.

Patients with previous documented IFD during the neutropenic period before engraftment were discharged with secondary prophylaxis or long-term antifungal therapy and therefore were excluded from the study.

Once IFD was suspected, antifungal therapy was started using monotherapy, with caspofungin (50 mg once a day) or liposomal amphotericin (3 mg/kg once a day). When diagnosis of probable or proven IFD was made, the combination of two antifungal agents (usually containing voriconazole 4 mg/kg i.v. twice a day) was instituted at physician discretion. The clinical course of IFD was monitored using the standard clinical, radiological and microbiological tests, when available.

In all patients, G-CSF was given to maintain neutrophil counts above $1.2 \times 10^9/L$.

Data collection and prognostic factors

Data were prospectively and retrospectively collected and registered in a specific form. Twenty-one patient and transplant characteristics were examined to establish their relationship with the occurrence of IFD. Demographic data and transplant characteristics included age, sex, underlying disease, disease stage, prior autologous or allogeneic HSCT, degree of HLA mismatch, type of donor, source of stem cells, stem-cell manipulation (T-cell total or partial depletion), conditioning regimen, acute GVHD prophylaxis, type of antifungal primary prophylaxis after engraftment, ABO incompatibility, donor sex, patient and donor CMV status, development of acute or chronic GVHD, CMV infection, pre-engraftment neutropenia duration and dose of corticosteroids during the first year after alloSCT. Clinical records, serial serum AGA, computerized tomography scans and other imaging tests, antifungal and immunosuppressive therapies, as well as microbiological isolates, were also reviewed.

Study definitions and end points

The primary end point of the study was to assess the 1-year cumulative incidence (CI) of and risk factors for development of post-engraftment IFD (probable and proven) in patients submitted to alloSCT.

Secondary end points were type of IFD (according to microbiological isolates, site of infection and EORTC criteria) and incidence of IFD at 6 and 12 months. Furthermore, the dose-limiting toxicities (DLTs) of voriconazole, itraconazole or fluconazole prophylaxis (defined as dose adjustment or withdrawal due to related toxicity) and the occurrence of breakthrough IFD (defined as development of probable/proven IFD during primary prophylaxis administration) were also assessed.

Response of IFD therapy was evaluated at the end of antifungal treatment. Resolved IFD was defined as clinical improvement and radiological recovery along with the absence of positive microbiologic results or progressive decline in mycological surrogate biomarkers. Treatment failure was defined as death due to direct consequences of the IFD. Patients still presenting signs or symptoms of IFD when dying by another cause were considered not evaluable.

The non-relapse mortality (NRM) rate after alloSCT was also assessed (all deaths occurring before relapse). All patients were followed until death or until the end of the observation period on October 2014.

Statistical methods

Analysis was based on an intent-to-treat principle. The Chi-square test was used to analyze differences in the distribution of variables between patient subsets. Unadjusted time-to-event analyses were calculated from the date of alloSCT. The probabilities of IFD and NRM were estimated by the CI method (for marginal probability) in order to take competing risks into account, and were compared by the Gray test.¹⁶ In the analysis of CI of IFD, death, secondary graft failure and relapse were considered as a competing cause of failure. The characteristics selected for inclusion in the multivariate analysis were those for which there was some indication of a significant association in the univariate analysis ($P < 0.1$). Multivariate analysis was performed using the Fine and Gray model for CI.¹⁷ The significant remaining variables ($P < 0.05$) in the multivariate analysis were used to construct a scoring system to classify the patients into groups according to their risk of IFD. The patient follow-up information was updated in October 2013, and the median follow-up in survivors was 22 months (range, 2–154 months). All *P*-values reported are two-sided. Computations were performed using the R software package (version 2.12.2), available on <https://cran.r-project.org/bin/windows/base/old/2.12.2>.

RESULTS

Patients and transplant characteristics

Over the period of the study a total of 615 unselected consecutive adult patients underwent an alloSCT. In all, 25 patients (4%) had primary graft failure, 29 (5%) died before day +40, 45 (7%) survived more than 40 days but died before discharge and 112 (21%) were discharged after alloSCT with ambulatory antifungal therapy or secondary antifungal prophylaxis due to suspicion or diagnosis of IFD before SCT or during the first SCT hospitalization. The remaining 404 patients (66%) who fulfilled the eligibility criteria were included in the analysis. Table 1 shows the main

Table 1. Main patient and transplant characteristics according to the occurrence of probable/proven IFD

Characteristic	Total number of patients	IFD		P-value ^a
	n	n (%)	n (%)	
Overall	404	57 (14)	347 (86)	
Sex				
Male	232 (57)	35 (61)	197 (57)	0.61
Female	172 (43)	22 (39)	150 (43)	
Age, years				
≤ 40	197 (49)	15 (26)	182 (52)	0.0004
> 40	207 (51)	42 (74)	165 (48)	
Underlying disease				
ALL	91 (23)	12 (21)	79 (23)	0.79
AML/MDS	192 (48)	25 (44)	167 (48)	
NHL/HL	55 (14)	10 (18)	45 (13)	
Other	66 (16)	10 (18)	56 (16)	
Disease stage				
Early	263 (65)	36 (63)	227 (65)	0.61
Advanced	118 (29)	19 (33)	99 (29)	
Other	23 (6)	2 (4)	21 (6)	
Donor/receptor CMV serology				
Positive/positive or Negative/negative	216 (54)	28 (49)	188 (55)	0.50
Negative/positive or Positive/negative	183 (46)	29 (51)	154 (45)	
Source of SCT				
Bone marrow	10 (2)	2 (4)	8 (2)	0.02
Cord blood	144 (36)	29 (51)	115 (33)	
Peripheral blood	250 (62)	26 (46)	224 (65)	
Previous SCT				
None	325 (80)	40 (70)	285 (82)	0.05
One or more	79 (20)	17 (30)	62 (18)	
Type of transplant				
HLA identical sibling	232 (57)	23 (40)	209 (60)	0.008
Other	172 (43)	34 (60)	138 (40)	
HLA mismatch				
None	256 (63)	28 (49)	228 (66)	0.02
≥ 1	148 (37)	29 (51)	119 (34)	
Modality of conditioning regimen				
MAC	269 (67)	37 (65)	232 (67)	0.89
RIC	135 (33)	20 (35)	115 (33)	
FLU containing regimen				
Yes	302 (75)	44 (77)	258 (74)	0.77
No	102 (25)	13 (23)	89 (26)	
ATG containing regimen				
Yes	178 (44)	34 (60)	144 (41)	0.1
No	226 (56)	23 (40)	203 (58)	
αGvHD prophylaxis				
Cya-methotrexate	215 (53)	26 (46)	189 (54)	0.66
Cya-prednisone	142 (35)	23 (16)	119 (34)	
Cya-mycophenolate	40 (10)	7 (12)	33 (10)	
Other	7 (3)	1 (2)	6 (2)	
Type of primary prophylaxis				
No/fluconazole	41 (10)	2 (4)	39 (11)	0.18
Itraconazole	102 (25)	14 (25)	88 (25)	
Voriconazole	261 (65)	41 (72)	220 (63)	

Abbreviations: ATG = lymphoglobulin or thymoglobulin; IFD = invasive fungal disease; MDS = myelodysplastic syndrome; NHL = non-Hodgkin lymphoma; HL = Hodgkin lymphoma; MAC = myeloablative conditioning; RIC = reduced intensity conditioning; FLU = fludarabine. ^aChi-square comparison.

eligible patient and transplant characteristics. Briefly, 232 patients (57%) were male, and the median recipient age was 41 years (range, 14–66 years). The most frequent underlying diseases were AML (43%), ALL (23%) and chronic lymphoproliferative syndromes (14%). In 65% of patients, alloSCT was performed at an early stage of the disease. Previous HSCT was reported in 84 (21%) patients (63 autologous and 21 allogeneic). The majority of patients received alloSCT from HLA identical sibling donor 232 (57%), while 144 (36%) patients underwent a UCBT. Two hundred and sixty-nine (67%) patients received MAC, and the remaining 135 (33%) were RIC alloSCT. The conditioning regimen contained FLU in 302 (75%) patients and ATG in 177 (44%) patients.

Primary antifungal prophylaxis

The distribution of patients according to the primary antifungal prophylaxis after discharge is as follows: no prophylaxis or fluconazole 41 patients (10%), itraconazole 102 patients (25%) and voriconazole 261 patients (65%). Eighteen patients that needed an oral triazole received fluconazole, while thirty-four patients received voriconazole or itraconazole instead of fluconazole (overall, 52 (13%) of deviations according to the institutional guidelines).

Incidence, classification and outcome of post-engraftment IFD

The overall CI of IFD at 6, 12, 24 and 60 months was 8, 11, 13 and 15%, respectively (Figure 1). A total of 57 IFD episodes were documented (47 probable and 10 proven), with lungs as the most frequent site of infection, and *Aspergillus* spp. as the most frequent isolate (Table 2). The short-term outcomes of IFD episodes were resolved in 53% of patients, 16% of deaths due to IFD and 30% of deaths due to other cause but with active IFD. The pathogens directly causing death by IFD were *Aspergillus* spp. (4 patients), *A. fumigatus* (3), *A. flavus* (1) and *Cryptococcus* spp. (1). The NRM at 6 and 12 months among patients who developed IFD was 12 and 40%, respectively, while patients without IFD had 9 and 16%, respectively ($P < 0.0001$).

Efficacy of primary prophylaxis for IFD

The 1-year CI of IFD was 5% in the no prophylaxis/fluconazole group, 14% in the itraconazole group and 16% in the low-dose voriconazole group. The 1-year CI of IFD in unrelated donor recipients receiving ≥ 20 mg/day of prednisone was 19% under itraconazole prophylaxis and 16% under low-dose voriconazole. The 1-year CI of IFD in HLA-id sibling donor recipients receiving ≥ 20 mg/day of prednisone was 5% under itraconazole prophylaxis and 10% under low-dose voriconazole.

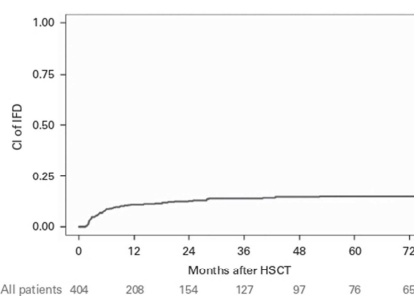


Figure 1. Cumulative incidence of post-engraftment IFD after alloSCT in the entire cohort.



Type of IFD	N (%)
Proven	10 (18)
Probable	47 (82)
<i>Site of infection</i>	
Lungs	44 (77)
Bloodstream	2 (4)
Rhin sinus	3 (5)
Central nervous system	2 (4)
Skin	2 (4)
Disseminated	3 (5)
<i>Fungal pathogen</i>	
<i>Aspergillus</i> spp.	50 (88)
<i>A. fumigatus</i>	8
<i>A. flavus</i>	4
<i>A. terreus</i>	6
<i>A. niger</i>	4
<i>A. versicolor</i>	1
<i>Aspergillus</i> spp. (Galactomannan +)	27
<i>Candida</i> spp.	2 (4)
<i>C. parapsilosis</i>	1
<i>C. krusei</i>	1
Other	5 (9)
<i>Rhizopus oryzae</i>	2
<i>Mucor</i> spp. (Not specified)	1
<i>Acremonium curvularum</i>	1
<i>Cryptococcus</i> spp.	1
<i>Response to therapy</i>	
Resolved	30 (53)
Death due to IFD	9 (16)
Death due to other cause with active IFD	17 (30)

Abbreviation: IFD = invasive fungal disease.

Breakthrough IFD developed in 1 out of 13 patients receiving fluconazole (8%), in 9 out of 102 patients under itraconazole prophylaxis (9%) and in 25 out of 261 patients under low-dose voriconazole (10%). IFD occurred after chemoprophylaxis termination in 1 patient who received fluconazole (8%), in 5 who received itraconazole (5%) and in 16 who received low-dose voriconazole (6%).

Toxicity of risk-adapted primary prophylaxis for IFD

Overall, 68 (17%) of patients presented DLT or discontinued primary prophylaxis by any cause. DLT occurred in 28 patients (11%) under voriconazole prophylaxis, 2 patients (2%) under itraconazole prophylaxis and no patients (0%) under fluconazole ($P=0.003$). The DLT consisted of hypertransaminasemia in 26 patients (10%), visual hallucinations in 2 patients (1%) from the voriconazole group and gastrointestinal in 2 patients under itraconazole (2%).

In addition, 19 (7%) patients from the voriconazole group discontinued prophylaxis due to concomitant hepatic GVHD. A further 19 patients (5%) discontinued primary prophylaxis because of unconfirmed suspicion of IFD (5 (38%), 7 (7%) and 7 (3%) in the fluconazole, itraconazole and voriconazole group, respectively).

The 1-year CI of IFD among patients discontinuing prophylaxis by any cause was 15, and 10% among patients who did not discontinue ($P=0.41$). The 1-year CI of IFD among patients discontinuing due to toxicity was 10, and 22% among patients discontinuing due to concomitant hepatic GVHD.

Prognostic factors for post-engraftment IFD

The univariate analyses showed that the following factors were associated with an increased CI of IFD: age >40 years, bone

marrow and cord blood SCT, ≥ 1 previous SCT, non HLA-identical sibling SCT, ≥ 1 HLA-mismatch, ATG-containing regimens, > 15 days of pre-engraftment neutropenia, grade 2–4 aGVHD, extensive cGVHD, dose of corticosteroids > 30 mg/day during the first year, and CMV reactivation until day +180 (Table 3). The following variables remained as independent risk factors in the multivariate analyses: age >40 years (HR, 3.47; $P < 0.0001$), ≥ 1 previous SCT (HR, 2.56; $P=0.004$), >15 days of pre-engraftment neutropenia (HR, 2.28; $P=0.02$), extensive cGVHD (HR, 2.35; $P=0.02$) and CMV reactivation until day +180 (HR, 2.20; $P=0.009$) (Figure 2).

We assigned 1 point to each independent risk factor to build the post-engraftment IFD score system. Patients were grouped into the following categories: low risk (0–1 points), 143 patients (35%); intermediate risk (2 points), 151 patients (37%); and high risk (3–5 points), 110 patients (27%). The CI of IFD at 12 months for low-, intermediate- and high-risk patients was 0.7% (95% CI 0–2.1%), 9.9% (95% CI 5.2–14.7%) and 24.7% (95% CI 16.6–32.7%), respectively ($P < 0.0001$) (Figure 3).

DISCUSSION

This single institution retrospective study conducted in a large cohort of adult alloSCT recipients shows that in spite of using primary prophylaxis with oral azoles at discharge, the 1-year CI of post-engraftment IFD was high (11%). As expected, the clinical outcome of patients who developed late IFD was dismal (40% of NRM at 1 year). The multivariate analyses showed that factors other than the type of alloSCT and dosage of corticosteroids were independently associated with the risk of post-engraftment IFD. We built a simple prognostic score using five variables, which could be useful to improve our risk-adapted prophylactic strategies in the future.

This large series of 615 patients undergoing alloSCT at a single institution is one of the few studies to specifically analyze the incidence and risk factors of IFD after engraftment. Distinct from other studies, which analyzed the late IFD (that is, occurring beyond day +40), we have analyzed the CI of IFD in patients alive after day +40, with stable engraftment, with no antecedents of IFD, and discharged from their first alloSCT hospitalization. We did so considering that this was the target population for an outpatient primary prophylaxis against IFD, and thus, the best alloSCT subset to identify the risk factors to implement risk-adapted strategies using ambulatory regimens. In fact, the first observation is that only 404 (66%) patients were eligible for the study, as many of them had early fatal events during first hospitalization or were discharged with antifungal therapy or secondary prophylaxis. Of note, our series comprised 36% of UCBT, 21% of patients had prior SCT and almost 50% developed extensive cGVHD. For these reasons, our overall 1-year CI of 11% cannot be compared with other studies reporting late or very-late IFD incidence after alloSCT (ranging from 7 to 10%).^{3–5,11} Concerning the type and timing of IFD, we found that, as in previous studies, *Aspergillus* spp. was the most frequent isolate and the lungs were the most common site,¹⁸ and that the CI of IFD increased during the first year with a gradual decline of episodes until 5 years after SCT.

There are several limitations to this study: (1) patients who received a diagnosis of possible IFD (3%, data not shown) were included in the non-IFD group, but some of these may have had IFD, (2) necropsy studies were not systematically performed, leading to a probable underestimation of the CI of proven IFD, (3) although our retrospective analysis was limited to a historical period in which diagnosis procedures, as well as prophylactic and therapeutic management of IFD were homogeneous, we could not analyze changes of environmental exposure to the organisms, which may have had a role in the risk of IFD,¹⁹ and (4) our intent-to-treat analysis in a real-life population including all

Table 3. Risk factors for IFD development: univariate and multivariate analyses

Characteristic	Total number of patients		IFD events		6 months CI of IFD	12 months CI of IFD	P-value univariate analyses	Multivariate analysis	P-value multivariate analyses
	n	n (%)	n (%)	%	%	%		Hazard ratio (95% CI)	
Overall	404		57	8		11			
Age, years									
≤40	197		15 (8)	4		6	0.0001	3.47 (1.86–6.51)	< 0.0001
>40	207		42 (20)	12		16			
Source of SCT									
Other	154		31 (20)	11		15	0.008		0.6
Peripheral blood	250		26 (10)	6		8			
Previous SCT									
0	325		40 (12)	7		9	0.048	2.56 (1.34–4.89)	0.004
≥1	79		17 (22)	14		16			
Type of transplant									
HLA-identical sibling	232		23 (10)	6		7	0.005		0.5
Other	172		34 (20)	12		15			
HLA mismatch									
0	256		28 (11)	7		9	0.02		0.7
≥1	148		29 (20)	11		14			
ATG containing regimen									
Yes	177		33 (19)	11		14	0.0003		0.9
No	227		24 (11)	6		8			
Days of pre-engraftment neutropenia									
≤15	259		25 (10)	5		7	0.0004	2.28 (1.14–4.57)	0.02
>15	144		32 (22)	13		17			
Acute GvHD									
Grade 0–1	248		27 (11)	6		6	0.01		0.3
Grade 2–4	156		30 (19)	12		17			
Extensive cGVHD ^a									
No	194		16 (8)	5		6	0.0003	2.35 (1.21–4.56)	0.02
Yes	186		39 (21)	12		16			
Corticosteroids during the first year									
≤30 mg/day	68		4 (6)	4		4	0.03		0.9
>30 mg/day	336		53 (16)	9		12			
CMV reactivation until day 180									
No	263		30 (11)	5		6	0.002	2.22 (1.22–4.04)	0.009
Yes	141		27 (19)	13		18			
Type of prophylaxis									
No/fluconazole	41		2 (5)	2		2	0.17		
Itraconazole	102		14 (14)	7		10			
Voriconazole	261		41 (16)	10		12			

Abbreviations: ATG=lymphoglobulin or thymoglobulin; FLU=fludarabine; HL=Hodgkin lymphoma; IFD=invasive fungal disease; MDS=myelodysplastic syndrome; NHL=non-Hodgkin lymphoma. ^acGVHD assessed only in evaluable patients (alive after +100 days).

kinds of alloSCT recipients, is not an optimal design for a randomized clinical trial. Protocol deviations were not excluded (as much as 13%), reflecting routine clinical practice, but it limited our conclusions regarding the impact of antifungal prophylaxis.

In spite of using oral itraconazole capsules (in the first cohort) or low-dose voriconazole (in the second cohort) as primary prophylaxis for patients receiving maximum dosage of corticosteroids equal or greater than 20 mg/day, the CI of post-engraftment IFD was high, and was not affected by the type of prophylactic azole. Of note, our CI of IFD was higher than in

other studies using full-dose voriconazole,^{10,20} posaconazole⁷ or once-weekly high dose liposomal amphotericin B²¹ for similar patients. It should be noted, however, that oral itraconazole capsules have low bioavailability,²² and low-dose voriconazole may not reach the therapeutic serum levels.²³ Our data support the view that both regimens should not be considered as optimal prophylaxes in this setting. The low-dose voriconazole regimen was instituted to avoid interactions and hepatic toxicity, but the percentage of patients developing hypertransaminasemia was similar than in other studies using full dosage of voriconazole.⁶



1470

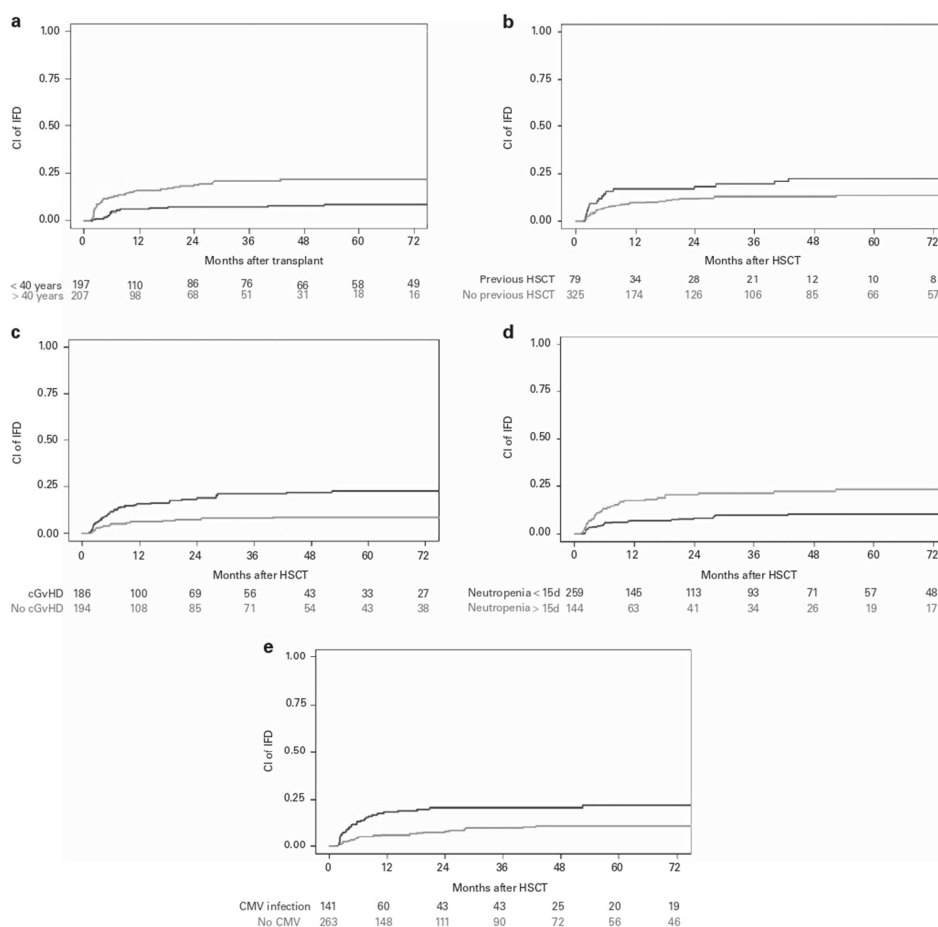


Figure 2. Cumulative incidence of post-engraftment IFD after AlloSCT according to the selected independent risk factors. (a) CI according to the age at alloSCT. (b) CI according to the number of prior AlloSCT. (c) CI in patients developing or not extensive chronic GVHD. (d) CI according to pre-engraftment neutropenia duration. (e) CI in patients developing or not CMV reactivation in the first 180 days after AlloSCT.

The question is whether systemic chemoprophylaxis using full-dose oral triazoles could be safe and efficacious for high-risk patients, who frequently have hepatic GVHD, critical drug–drug interactions or insufficient gastrointestinal absorption? Regarding oral voriconazole and posaconazole that may produce liver toxicity and drug interactions, we believe that successful chemoprophylaxis is feasible in the majority of patients given that the transplant physician: (1) distinguishes between drug hepatotoxicity and hepatic GVHD, as well as reinstitute chemoprophylaxis when GVHD caused the liver injury; (2) monitors plasma levels and adjust dosage of drugs interacting with triazoles (for example, cyclosporine); and (3) monitors triazole plasma levels, especially when posaconazole is used. On the other hand, we found that the 1-year CI of post-engraftment IFD in recipients

of HLA-*id* sibling donor with < 20 mg/day of prednisone, who did not receive prophylaxis against molds, was also considerable (5%). We may hypothesize that effective prophylaxis could be valuable also for this subset of patients.²⁴

Concerning the univariate analysis of prognostic factors, our findings were consistent with other studies showing that corticosteroid dosage, aGVHD, cGVHD and CMV infection could increase the risk of post-engraftment or late IFD.^{1,5} In addition, we found that post-engraftment IFD was associated with several risk factors that have been previously related with early or overall IFD, such as older age, delayed neutrophil engraftment, previous SCT, HLA mismatch and non PBSCT.^{3,4} Our data suggest that ATG-containing regimens could increase the risk of IFD, which is in line with other studies reporting *ex vivo* T-cell depletion using

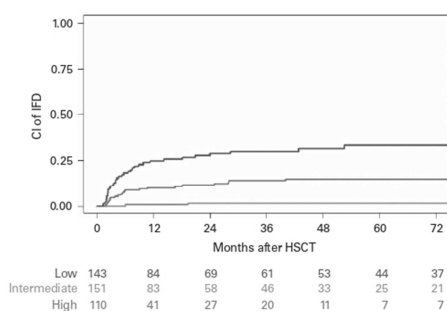


Figure 3. Cumulative incidence of post-engraftment IFD after alloSCT according to the prognostic score system.

alemtuzumab as a risk factor for IFD.²⁵ Unfortunately, we did not evaluate other potential risk factors such as iron overload and lymphocyte counts in the PB. Another limitation is that, due to the low number of events, we could not analyze the specific risk of developing non-*Aspergillus* IFD episodes.

We built a score system to predict the risk of post-engraftment IFD, using the five independent risk factors selected in the multivariate analyses. To our knowledge, no specific risk prediction scores for late or post-engraftment IFD have been reported. Our simple prognostic score model classified alloSCT recipients into three groups of roughly one-third in each. Interestingly, the low-risk group showed only 0.7% CI of IFD, while in the high-risk group it was 24.7%, allowing for improved risk-adapted prophylaxis (for example, no antifungal prophylaxis in the low-risk group, and full-dose aggressive prophylaxis in the high-risk setting). It should be noted that the score system is composed of three variables that are available at patient discharge, while CMV reactivation and development of extensive cGVHD could require time to occur. This particularity raises the question on how to implement the score in real time. As some patients would be upgraded on their risk score through the follow-up, they could require more aggressive prophylaxis based on this dynamic assessment. Nevertheless, the post-engraftment IFD score should be validated in an external cohort before its routine clinical use. It should be highlighted that the scoring system cannot be used without taking into account the environmental factors of each institution (for example, high concentrations of dust loaded with fungal spores), as they are probably *per se* independent risk factors for the development of mold IFD.

In summary, in spite of a risk-adapted antifungal prophylaxis after alloSCT, the 1-year CI of post-engraftment IFD was high (11%). Our intent-to-treat analysis showed that oral prophylaxis using itraconazole capsules or low-dose voriconazole failed to prevent episodes of IFD. After identifying five independent risk factors, we developed a risk prediction score for post-engraftment IFD, which could be useful to improve our risk-adapted prophylactic strategies in the future.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Paula Petruskevicius, Carlos Pastorini, David Pellicer and Shirley Weiss for data collection and management. This study was in part supported by grant

2012/023 from the Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. This paper was supported by an independent medical grant provided by Pfizer, Inc.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

PM, RR-V and MAS conceived the study, analyzed and interpreted the data; PM and RR-V wrote the paper and performed the statistical analyses; BB, DM-C, IC, AL, JS, MJA, FL-C, IN, IL, MS, JP, JM, NC, U and GFS reviewed the manuscript and contributed to the final draft.

REFERENCES

- Zhang P, Jiang EL, Yang DL, Yan ZS, Huang Y, Wei JL *et al*. Risk factors and prognosis of invasive fungal infections in allogeneic stem cell transplantation recipients: a single-institution experience. *Transpl Infect Dis* 2010; **12**: 316–321.
- Kontoyannis DP, Marr KA, Park BJ, Alexander BD, Anaissie EJ, Walsh TJ *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**: 1091–1100.
- Marr KA, Carter RA, Boeckh M, Martin P, Corey L. Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: changes in epidemiology and risk factors. *Blood* 2002; **100**: 4358–4366.
- García-Vidal C, Upton A, Kirby KA, Marr KA. Epidemiology of invasive mold infections in allogeneic stem cell transplant recipients: biological risk factors for infection according to time after transplantation. *Clin Infect Dis* 2008; **47**: 1041–1050.
- Mikulska M, Raiola AM, Bruno B, Furfaro E, Van Lint MT, Bregante S *et al*. Risk factors for invasive aspergillosis and related mortality in recipients of allogeneic SCT from alternative donors: an analysis of 306 patients. *Bone Marrow Transplant* 2009; **44**: 361–370.
- Marks DI, Pagliuca A, Kibbler CC, Glasmacher A, Heussel CP, Kantecki M *et al*. IMPROVIT Study Group. Voriconazole versus itraconazole for antifungal prophylaxis following allogeneic haematopoietic stem-cell transplantation. *Br J Haematol* 2011; **155**: 318–327.
- Ullmann AJ, Lipton JH, Vesole DH, Chandrasekar P, Langston A, Tarantolo SR *et al*. Posaconazole or fluconazole for prophylaxis in severe graft-versus-host disease. *N Engl J Med* 2007; **356**: 335–347.
- Winston DJ, Maziarz RT, Chandrasekar PH, Lazarus HM, Goldman M, Blumer JL *et al*. Intravenous and oral itraconazole versus intravenous and oral fluconazole for long-term antifungal prophylaxis in allogeneic hematopoietic stem-cell transplant recipients. A multicenter, randomized trial. *Ann Intern Med* 2003; **138**: 705–713.
- Wingard JR, Carter SL, Walsh TJ, Kurtzberg J, Small TN, Baden LR *et al*. Randomized, double-blind trial of fluconazole versus voriconazole for prevention of invasive fungal infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2010; **116**: 5111–5118.
- Martin T, Sharma M, Damon L, Kaplan L, Guglielmo BJ, Working M *et al*. Voriconazole is safe and effective as prophylaxis for early and late fungal infections following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis* 2010; **12**: 45–50.
- Thursky K, Byrnes G, Grigg A, Szer J, Slavin M. Risk factors for post-engraftment invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2004; **34**: 115–121.
- Przeplorka D, Weisdorf D, Martin P, Klingemann HG, Beatty P, Hovs J *et al*. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant* 1995; **15**: 825–828.
- Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL, McDonald GB, Striker GE, Sale GE *et al*. Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients. *Am J Med* 1980; **69**: 204–217.
- Montesinos P, Sanz J, Cantero S, Lorenzo I, Martín G, Saavedra S *et al*. Incidence, risk factors, and outcome of cytomegalovirus infection and disease in patients receiving prophylaxis with oral valganciclovir or intravenous ganciclovir after umbilical cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; **15**: 730–740.
- De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T *et al*. European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group; National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. 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**: 1813–1821.



- 16 Gray RJ. A class of K-sample test for comparing the cumulative incidence of a competing risk. *Ann Stat* 1988; **16**: 1141–1154.
- 17 Fine J, Gray R. A proportional hazards model for the subdistribution of a competing risk. *J Am Stat Assoc* 1999; **94**: 496–509.
- 18 Neofytos D, Horn D, Anaissie E, Steinbach W, Olyaei A, Fishman J *et al*. Epidemiology and outcome of invasive fungal infection in adult hematopoietic stem cell transplant recipients: analysis of Multicenter Prospective Antifungal Therapy (PATH) Alliance registry. *Clin Infect Dis* 2009; **48**: 265–273.
- 19 Garcia-Vidal C, Royo-Cebrecos C, Peghin M, Moreno A, Ruiz-Camps I, Cervera C *et al*. Environmental variables associated with an increased risk of invasive aspergillosis. *Clin Microbiol Infect* 2014; **20**: 0939–0945.
- 20 Siwek GT, Pfaller MA, Polgreen PM, Cobb S, Hoth P, Magalhães-Silverman M *et al*. Incidence of invasive aspergillosis among allogeneic hematopoietic stem cell transplant patients receiving voriconazole prophylaxis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006; **55**: 209–212.
- 21 El Cheikh J, Castagna L, Wang L, Esterni B, Faucher C, Furst S *et al*. Once-weekly liposomal amphotericin B for prophylaxis of invasive fungal infection after graft-versus-host disease in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a comparative retrospective single-center study. *Hematol Oncol Stem Cell Ther* 2010; **3**: 167–173.
- 22 Boogaerts MA, Verhoef GE, Zachee P, Demuyneck H, Verbist L, De Beule K. Antifungal prophylaxis with itraconazole in prolonged neutropenia: correlation with plasma levels. *Mycoses* 1989; **32**: 103–108.
- 23 Howard A, Hoffman J, Sheth A. Clinical application of voriconazole concentrations in the treatment of invasive aspergillosis. *Ann Pharmacother* 2008; **42**: 1859–1864.
- 24 Hol JA, Wolfs TF, Bierings MB, Lindemans CA, Versluis AB, Wildt de A *et al*. Predictors of invasive fungal infection in pediatric allogeneic hematopoietic SCT recipients. *Bone Marrow Transplant* 2014; **49**: 95–101.
- 25 Blennow O, Remberger M, Klingspor L, Omazic B, Fransson K, Ljungman P *et al*. Randomized PCR-based therapy and risk factors for invasive fungal infection following reduced-intensity conditioning and hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2010; **45**: 1710–1718.

8.1.2 *Manuscrito en castellano*

TÍTULO

Incidencia y factores de riesgo de la infección fúngica invasiva post-injerto en receptores adultos de trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos en profilaxis oral con azoles

RESUMEN

Existen pocos estudios en contexto del alo-TPH, que analicen la epidemiología y los factores de riesgo de la IFI después del injerto. En este estudio retrospectivo realizado en un único centro se incluyeron 404 adultos receptores de alo-TPH adultos que fueron dados de alta sin IFI previa y que sobrevivieron al menos 40 días tras la infusión de progenitores. Según la guía clínica local vigente en el momento del estudio, los pacientes que tomaban ≥ 20 mg/día de prednisona eran incluidos en el grupo de profilaxis oral primaria (itraconazol o voriconazol en dosis bajas). El objetivo primario fue la IA de IFI probable o probada clasificada según los criterios del Grupo de Estudio de la Organización Europea para la Investigación y el Tratamiento del Cáncer y las Micosis (EORTC/MSG). Los factores pronósticos independientes encontrados en el análisis multivariable se usaron para construir un modelo de predicción para evaluar el riesgo de IFI tras en injerto mieloide. La IA a 1 año de IFI fue del 11%. La mortalidad sin recaída fue del 40% en el grupo de pacientes que desarrollaron IFI y del 16% en aquellos que no lo hicieron. Según el análisis por intención de tratar el 17% de los pacientes abandonaron la profilaxis asignada. Fueron factores de riesgo independiente la edad mayor a 40 años, la existencia de un TPH previo (alogénico o autólogo), la neutropenia antes del injerto de más de 15 días, la EICH crónica extensa y la reactivación de CMV. Se estratificó a los pacientes según el número de factores independientes presentes, en bajo riesgo (ningún o un factor, IA 0.7%), riesgo intermedio (dos factores, IA 9.9%) y riesgo alto (3 o más factores, IA 24.7%) ($p < 0.0001$). La estrategia de profilaxis antifúngica establecida en el momento del estudio no logró prevenir el desarrollo de IFI en el 11% de los pacientes. Nuestro modelo de predicción multivariable para evaluar el riesgo de IFI podría ser útil para implementar estrategias de profilaxis antifúngica adaptadas al riesgo después del injerto.

INTRODUCCIÓN

La infección fúngica invasiva (IFI) es un reto y una causa de morbilidad y mortalidad en pacientes sometidos a trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (aloTPH) (1,2). Muchos estudios, realizados sobre todo en series retrospectivas de una única institución, han analizado la incidencia y los factores de riesgo de IFI tras el aloTPH, (1,3–5) reportando una incidencia que varía entre el 1% y el 20% (6,7). Está bien establecido que la neutropenia grave inducida por los regímenes de acondicionamiento se asocia con un mayor riesgo de IFI en el aloTPH, y se acepta generalmente que debe administrarse profilaxis antifúngica en el período previo al injerto. Sin embargo, a pesar de que se conocen diversos factores de riesgo para la IFI tardía tras el injerto (por ejemplo, tratamiento con corticosteroides y EICH), que se suponen en las guías de profilaxis antifúngica adaptada al riesgo, la utilidad de dicha profilaxis más allá del injerto del aloTPH sigue siendo controvertida (8–10). Hay algunos estudios que analizan específicamente la epidemiología y los factores de riesgo de la IFI tras el injerto en adultos receptores de un aloTPH (3–5,11) e investigan también el impacto potencial de la profilaxis antifúngica en este contexto.

Este estudio tiene como objetivos 1) analizar retrospectivamente la incidencia, el resultado terapéutico y los factores de riesgo de la IFI post-injerto mieloide en una gran serie de pacientes adultos sometidos a aloTPH consecutivamente en una sola institución, 2) evaluar el impacto de la profilaxis antifúngica primaria con fármacos orales (itraconazol y voriconazol en dosis bajas) en el desarrollo de la IFI post-injerto y 3) construir un modelo predictivo multivariable que pueda ser útil para mejorar la profilaxis antifúngica adaptada al riesgo en pacientes que hayan recibido el alta después del injerto.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio y selección de pacientes

Desde enero de 2001 hasta marzo de 2013, un total de 615 pacientes consecutivos no seleccionados con neoplasias hematológicas se sometieron a un aloTPH en la Unidad de Trasplante para adultos del Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Las historias clínicas de todos los pacientes fueron revisadas con el fin de evaluar los criterios de elegibilidad para este estudio retrospectivo. Los pacientes eran elegibles si cumplían todos los criterios siguientes: 1) injerto mieloide estable con recuperación de neutrófilos, definido como más de 3 días con un recuento absoluto de neutrófilos superior a $0,5 \times 10^9/L$ junto a quimerismo completo del donante; 2) los pacientes debían sobrevivir más de 40 días tras el aloTPH y recibir el alta hospitalaria

(tratamiento ambulatorio) y recibir profilaxis antifúngica por vía oral; c) pacientes sin sospecha o diagnóstico de IFI en el periodo pre trasplante o el período temprano post-trasplante (es decir, todos los pacientes dados de alta con profilaxis antimicótica secundaria o terapia antimicótica no eran elegibles). Todos los pacientes que estaban vivos en el momento de inicio del estudio dieron su consentimiento informado de acuerdo con las pautas institucionales. Este estudio retrospectivo fue aprobado por la Comisión de Ética para la Investigación de la institución de acuerdo con la Declaración de Helsinki (número de estudio 2013/0036).

Fuente de progenitores, regímenes de acondicionamiento y profilaxis de EICH

Los pacientes incluidos fueron trasplantados de un hermano o un donante no relacionado (sangre del cordón umbilical [UCBT] o médula ósea o sangre periférica) según la disponibilidad del donante y la urgencia del procedimiento. La correspondencia donante-receptor se basó en el tipaje del antígeno leucocitario humano (HLA). Se definió como fase temprana de la enfermedad al aloTPH, la leucemia mieloide crónica en la fase crónica, leucemias agudas en la primera o segunda RC, síndrome mielodisplásico no tratado o en RC y linfoma en RC. Los regímenes de acondicionamiento podían ser mieloablativos (MAC) o de intensidad reducida (RIC).

El régimen de acondicionamiento convencional se realizaba hasta 2007 con BU y CY, y posteriormente con BU oral o I.V. con fludarabina (FLU). Los pacientes que eran trasplantados de un donante no emparentado recibían también tiotepa (TT) y linfoglobulina o timoglobulina (ATG). Los pacientes mayores de 55 años o con mortalidad relacionada con el acondicionamiento mieloablativo previsiblemente alta (por ejemplo, un TPH previo o comorbilidades importantes) recibieron un régimen menos intenso (RIC) con dosis más bajas de BU y FLU o FLU y melphalan. A partir de 2007 algunos pacientes recibieron un UCBT usando un esquema RIC con BUFLUTT y ATG. La profilaxis de la enfermedad de injerto contra huésped aguda (EICH) consistió en ciclosporina más metotrexato en aloTPH de hermanos HLA idénticos o en donantes no emparentados idénticos, a excepción de aquellos pacientes que recibieron progenitores con selección CD34 + positiva que recibieron ciclosporina y prednisona. La profilaxis en el UCBT consistió en ciclosporina con prednisona o ciclosporina con micofenolato. La EICH aguda y crónica fue clasificada según los criterios publicados previamente (12,13). La monitorización y la profilaxis del CMV se realizó de acuerdo con protocolos previamente publicados (14).

Estratificación del riesgo, monitorización y diagnóstico de la IFI

Tras el injerto mieloide y el alta hospitalaria, se recomendaba la monitorización del antígeno de galactomanano de *aspergillus* (AGA) cada 7 o 15 días en pacientes que recibiesen al menos 20mg/día de prednisona (u otra dosis equivalente de corticosteroides). El AGA se realizó de forma seriada cada 7 o 15 días desde el alta hasta el día +100 en pacientes con un aloTPH de donante no emparentado. En los receptores de un aloTPH de hermanos HLA idéntico o que recibían menos de 20mg/día de prednisona, la monitorización seriada de AGA no era obligatorio. La tomografía computarizada (TC) estuvo disponible durante todo el período de estudio. El diagnóstico y la clasificación de la IFI se realizó de acuerdo con las definiciones revisadas de 2008 de la Organización Europea para la Investigación y el Tratamiento del Cáncer y Micosis (EORTC/MSG) (15). No se realizaron pruebas de sensibilidad con el fin de identificar la resistencia a los antifúngicos.

Profilaxis y tratamiento de la IFI después del injerto mieloide

Tras del injerto mieloide y el alta hospitalaria, de acuerdo con las recomendaciones establecidas por la institución para la profilaxis de la IFI, los receptores de aloTPH de hermano HLA idéntico que recibían menos de 20mg/día de prednisona (u otra dosis equivalente de corticosteroides) no recibieron profilaxis contra hongos filamentosos (se permitía el uso de fluconazol 100-400 mg / día). Los pacientes que estaban recibiendo \geq 20mg/día de prednisona (u otra dosis equivalente de corticosteroides) recibían profilaxis primaria usando un triazol oral (itraconazol o voriconazol). Además, todos los receptores de un aloTPH de donante no emparentado recibían profilaxis primaria con un triazol oral desde el injerto/alta hasta el día +100, independientemente de la dosis concomitante de prednisona. La profilaxis oral con triazol consistía, de 2001 a 2004, en itraconazol en cápsulas (200-400 mg/día), o voriconazol en dosis bajas (200 mg/día hasta 2009 o 100 mg/dos veces al día desde 2010). La dosis baja de voriconazol se eligió en un intento de prevenir la toxicidad y las interacciones de este fármaco. No se recomendaba la monitorización de los niveles plasmáticos de voriconazol ni de itraconazol. La profilaxis oral se suspendía al disminuir la dosis de corticosteroides por debajo de 20 mg/día. También se retiraba a discreción del médico en caso de toxicidad limitante o al iniciarse el tratamiento antifúngico ante la sospecha o la documentación de una IFI.

Los pacientes con IFI documentada durante la neutropenia antes del injerto y que fueron dados de alta con profilaxis secundaria o tratamiento antifúngico a largo plazo fueron excluidos del estudio.

Una vez que se sospechaba la IFI, se inició tratamiento antifúngico en monoterapia, caspofungina (50 mg una vez al día) o anfotericina liposomal (3 mg / kg una vez al día). Cuando se realizaba un diagnóstico posible o probable de IFI, se iniciaba a discreción del médico la combinación de dos agentes antifúngicos (que contenían normalmente voriconazol 4mg/kg I.V. dos veces al día). Se monitorizó el curso clínico de la IFI siguiendo la evolución clínica y usando las pruebas radiológicas y microbiológicas estándar según su disponibilidad.

Se recomendaba la administración de G-CSF en todos los pacientes para mantener recuentos de neutrófilos por encima de $1.2 \times 10^9/L$.

Recogida de datos

Los datos se recogieron y registraron de manera prospectiva en formularios específicos diseñados para tal fin. Se revisaron veintiuna características de los pacientes y del trasplante para establecer su relación con el desarrollo de IFI. Entre los datos demográficos y las características del trasplante se incluyeron: edad, sexo, enfermedad subyacente, estadio de la enfermedad, TPH previo autólogo o alogénico, grado de disparidad HLA, tipo de donante, fuente de los progenitores, manipulación de los progenitores (depleción total o parcial de células T), régimen de acondicionamiento, profilaxis de EICH aguda, tipo de profilaxis antifúngica primaria post-injerto, incompatibilidad ABO, sexo del donante, estatus CMV del paciente y donante, presencia de EICH aguda o crónica, infección por CMV, duración de neutropenia antes del injerto y dosis de corticosteroides durante el primer año tras el aloTPH. Se revisaron también las historias clínicas para evaluar el AGA seriado en suero, las tomografías computarizadas y otras pruebas de imagen, tratamientos antifúngicos e inmunosupresores, así como los aislamientos microbiológicos.

Definiciones y objetivos del estudio

El objetivo primario de este estudio fue evaluar la incidencia acumulada (IA) al 1 año y analizar los factores de riesgo para el desarrollo de IFI post-injerto (probable y probada) en pacientes sometidos a aloTPH.

Los objetivos finales secundarios fueron describir el tipo de IFI (según los aislamientos microbiológicos, lugar de la infección y los criterios EORTC) y evaluar la incidencia de IFI a los 6 y 12 meses. Además, se analizaron la toxicidad limitante de dosis (TLD) de la profilaxis con voriconazol, itraconazol o fluconazol (definida como ajuste de dosis o retirada del fármaco debido a una toxicidad relacionada) y la aparición de IFI de brecha (definida como el desarrollo de una IFI probable/probada durante la profilaxis primaria).

La respuesta al tratamiento antifúngico se evaluó al final del tratamiento antifúngico. Se definió como IFI resuelta la mejoría clínica junto a la resolución de las alteraciones radiológicas en ausencia de resultados microbiológicos positivos o la disminución progresiva de los biomarcadores micológicos con respecto al momento del diagnóstico. El fracaso terapéutico se definió como la muerte debido a las consecuencias directas del IFI. Aquellos pacientes con signos o síntomas de IFI en el momento de la muerte, siempre que esta no se produjese por la propia IFI, se consideraron no evaluables.

Se evaluó también la mortalidad libre de recaída (NRM) tras el aloTPH (todas las muertes que ocurrieron antes de la recaída). El seguimiento de los pacientes se realizó hasta el fallecimiento o hasta completar el periodo de observación en octubre de 2014.

Metodología estadística

El análisis se realizó con el principio de intención de tratar “intention to treat analysis”. Para el análisis de las diferencias en la distribución de variables entre subconjuntos de pacientes se usó el análisis “Chi-square”. Los análisis tiempo hasta el evento no ajustado se calcularon a partir de la fecha de aloTPH. La probabilidad de IFI y NRM se calculó mediante el método de IA (para probabilidad marginal) con la finalidad de tener en cuenta los riesgos competitivos y se comparó mediante la prueba de Gray (16). En el análisis de IA de IFI se consideraron como causa competitiva del fracaso: la muerte, el fallo de injerto secundario y la recaída. Las características seleccionadas para su inclusión en el análisis multivariante fueron aquellas en las que se vio una asociación significativa en el análisis univariante ($P < 0.1$). El análisis multivariante se realizó usando el modelo de Fine y Gray para IA (17). Las variables significativas ($P < 0.05$) resultantes del análisis multivariante se usaron para construir un modelo predictivo multivariable que permitiese clasificar a los pacientes en diferentes grupos según su riesgo de IFI. El seguimiento de los pacientes se actualizó en octubre de 2013, siendo la mediana de seguimiento de los supervivientes de 22 meses (rango, 2-154 meses). Todos los valores de P informados son bilaterales. Los cálculos estadísticos se realizaron usando el paquete de software R (versión 2.12.2), disponible en <https://cran.r-project.org/bin/windows/base/old/2.12.2>.

RESULTADOS

Características de los pacientes y del trasplante

Un total de 615 pacientes adultos recibieron un aloTPH y fueron registrados de forma consecutiva y no seleccionada durante el periodo de inclusión del estudio. De ellos, 25 pacientes (4%) tuvieron un fallo primario del injerto, 29 (5%) fallecieron antes del día +40, 45 (7%) pacientes sobrevivieron más de 40 días pero fallecieron antes del alta y 112 (21%) recibieron el alta tras el aloTPH con tratamiento antifúngico o profilaxis antifúngica secundaria debido a una sospecha o un diagnóstico de IFI antes del aloTPH o durante la hospitalización en la que realizó el aloTPH. Los 404 pacientes restantes (66%) que cumplían todos los criterios de elegibilidad y fueron incluidos en el análisis. La Tabla 1 muestra las principales características de los pacientes elegibles y del trasplante. En resumen, 232 (57%) pacientes eran hombres y la mediana de edad de los receptores fue de 41 años (rango, 14-66 años). La patología subyacente más frecuente fue la leucemia mieloblástica aguda (LMA) (43%), seguido de la leucemia linfoblástica aguda (LLA) (23%) y los síndromes linfoproliferativos crónicos (14%). En el 65% de los pacientes el aloTPH se realizó en una fase temprana de la enfermedad. Se había realizado un TPH previo en 84 (21%) pacientes (63 autólogos y 21 alogénicos). La mayoría de los receptores recibió un aloTPH de donante hermano HLA idéntico, 232 (57%), mientras que 144 (36%) se recibieron un UCBT. Doscientos sesenta y nueve (67%) pacientes recibieron un régimen de acondicionamiento mieloablativo, y el resto, 135 (33%), recibió RIC. El régimen de acondicionamiento contenía FLU en 302 (75%) pacientes y ATG en 177 (44%) pacientes.

Tabla 1. Características principales de los pacientes y del trasplante según la presencia o no de IFI probada/probable.

Características	Número de pacientes	IFI	No IFI	P *
Total, (%)	404 (100)	57 (14)	347 (86)	
Sexo, (%)				
Varón	232 (57)	35 (61)	197 (57)	0.61
Mujer	172 (43)	22 (39)	150 (43)	
Edad, años				
≤ 40	197 (49)	15 (26)	182 (52)	0.0004
> 40	207 (51)	42 (74)	165 (48)	
Enfermedad basal, (%)				
LLA	91 (23)	12 (21)	79 (23)	0.79
LMA/SMD	192 (48)	25 (44)	167 (48)	
LH/LNH	55 (14)	10 (18)	45 (13)	
Otros	66 (16)	10 (18)	56 (16)	
Estadio de la enfermedad, (%)				
Temprano	263 (65)	36 (63)	227 (65)	0.61
Avanzado	118 (29)	19 (33)	99 (29)	
Otro	23 (6)	2 (4)	21 (6)	
Serología CMV donante/receptor, (%)				
Positivo/positivo o Negativo/negativo	216 (54)	28 (49)	188 (55)	0.50
Negativo/positivo o Positivo/negativo	183 (46)	29 (51)	154 (45)	
Fuente de los progenitores, (%)				
Médula ósea	10 (2)	2 (4)	8 (2)	0.02
Cordón umbilical	144 (36)	29 (51)	115 (33)	
Sangre periférica	250 (62)	26 (46)	224 (65)	
TPH previo, (%)				
Ninguno	325 (80)	40 (70)	285 (82)	0.05
Uno o más	79 (20)	17 (30)	62 (18)	
Tipo de trasplante, (%)				
Hermano HLA idéntico	232 (57)	23 (40)	209 (60)	0.008
Otro	172 (43)	34 (60)	138 (40)	
Disparidad HLA, (%)				
Ninguna	256 (63)	28 (49)	228 (66)	0.02
≥1	148 (37)	29 (51)	119 (34)	
Régimen de acondicionamiento, (%)				
Mieloablativo	269 (67)	37 (65)	232 (67)	0.89
Intensidad reducida	135 (33)	20 (35)	115 (33)	

Características	Número de pacientes	IFI	No IFI	P *
Acondicionamiento con FLU, (%)				
Sí	302 (75)	44 (77)	258 (74)	0.77
No	102 (25)	13 (23)	89 (26)	
Acondicionamiento con ATG, (%)				
Sí	178 (44)	34 (60)	144 (41)	0.1
No	226 (56)	23 (40)	203 (58)	
Profilaxis EICHa, (%)				
Cya-metotrexato	215 (53)	26 (46)	189 (54)	0.66
Cya-prednisona	142 (35)	23 (16)	119 (34)	
Cya-mycofenolato	40 (10)	7 (12)	33 (10)	
Otros	7 (3)	1 (2)	6 (2)	
Tipo de profilaxis primaria, (%)				
No/fluconazol	41 (10)	2 (4)	39 (11)	0.18
Itraconazol	102 (25)	14 (25)	88 (25)	
Voriconazol	261 (65)	41 (72)	220 (63)	

*Chi square

Abreviaturas: IFI: Infección fúngica invasiva; LLA: leucemia linfoblástica aguda; LMA: leucemia mieloblástica aguda; SMD: Síndrome mielodisplásico; LNH: Linfoma no Hodgkin; LH: linfoma Hodgkin; CMV: citomegalovirus; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos; FLU: fludarabina; ATG: linfoglobulina o timoglobulina; Cya: ciclosporine; EICH: enfermedad injerto contra huésped

Profilaxis antifúngica primaria

La profilaxis antifúngica primaria tras el alta se distribuyó de la siguiente forma: fluconazol o no profilaxis en 41 pacientes (10%), itraconazol en 102 pacientes (25%) y voriconazol en 261 pacientes (65%). Dieciocho pacientes que debían recibir un triazol oral según las guías institucionales vigentes recibieron, en su lugar fluconazol y treinta y cuatro pacientes recibieron voriconazol o itraconazol en lugar de fluconazol (en total hubo 52 (13%) desviaciones en la profilaxis según las recomendaciones institucionales).

Incidencia, clasificación y resultado terapéutico de la IFI post-injerto

La IA global de IFI a los 6, 12, 24 y 60 meses fue del 8, 11, 13 y 15%, respectivamente (Figura 1). Un total 57 episodios de IFI fueron diagnosticados (47 probables y 10 probados), siendo el pulmón el órgano más frecuentemente afectado y el *Aspergillus* spp. el aislamiento más frecuente (Tabla 2). El 53% de los episodios de

IFI se resolvieron, un 16% de pacientes fallecieron a causa de la IFI y un 30% fallecieron por otras causas sin IFI activa. Los patógenos implicados en el fallecimiento directo de los pacientes fueron *Aspergillus* spp. (4 pacientes), *A. fumigatus* (3), *A. flavus* (1) y *Criptococcus* spp. (1) La NRM a los 6 y 12 meses en los pacientes que desarrollaron IFI fue de 12 y 40% respectivamente, mientras que los pacientes que no desarrollaron IFI tuvieron una NRM de 9 y 16%, respectivamente ($P < 0.0001$).

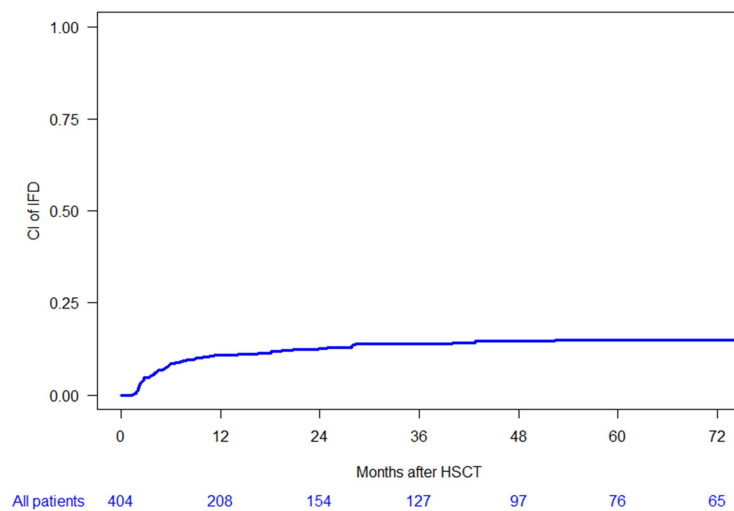


Figura 1. Incidencia acumulada de IFI según el tiempo post alo-TPH medido en meses.

Tabla 2. Características y evolución de los episodios de IFI

Tipo de IFI	N (%)
Probada	10 (18)
Probable	47 (82)
Lugar de la infección	
Pulmón	44 (77)
Torrente sanguíneo	2 (4)
Rino-sinusal	3 (5)
Sistema nervioso central	2 (4)
Piel	2 (4)
Diseminado	3 (5)
Patógeno fúngico	
<i>Aspergillus</i>	50 (88)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	8 (14)
<i>Aspergillus flavus</i>	4 (7)
<i>Aspergillus terreus</i>	6 (11)
<i>Aspergillus niger</i>	4 (7)
<i>Aspergillus versicolor</i>	1 (2)
<i>Aspergillus</i> spp. (AGA)	27(47)
<i>Cándida</i>	2 (4)
<i>Cándida parapsilosis</i>	1 (2)
<i>Cándida krusei</i>	1 (2)
Otro	5 (9)
<i>Rhizopus Oryzae</i>	2 (4)
<i>Mucor</i> spp (No especificado)	1 (2)
<i>Acremonium curvularum</i>	1 (2)
<i>Criptococcus</i> spp	1 (2)
Respuesta al tratamiento	
Resuelto	30 (53)
Muerte a causa de la IFI	9 (16)
Muerte por otra causa con IFI activa	17 (30)

Abreviatura: IFI: infección fúngica invasiva; AGA: antígeno galactomanano

Eficacia de la profilaxis primaria en el desarrollo de IFI

La IA al año de IFI fue del 5% en el grupo de fluconazol/no profilaxis, 14% en el grupo de itraconazol y 16% en el grupo de voriconazol a dosis baja. La IA al año de IFI en receptores de un aloTPH de donante no emparentado que recibían al menos 20 mg/día de prednisona fue de 19% en el grupo de profilaxis con itraconazol y del 16% en el del de voriconazol a dosis bajas. La IA al año de IFI en receptores de aloTPH de hermano HLA que recibían al menos 20 mg/día de prednisona fue de 5% con profilaxis con itraconazol y del 10% con voriconazol a dosis bajas.

La IFI de brecha se diagnosticó en uno de los 13 pacientes que recibieron fluconazol (8%), en 9 de los 102 pacientes en profilaxis con itraconazol (9%) y en 25 de los 261 pacientes que recibían dosis bajas de voriconazol (10%). La IFI se diagnosticó tras la finalización de la profilaxis en un paciente que recibió fluconazol (8%), en 5 que recibieron itraconazol (5%) y en 16 que recibieron voriconazol a dosis bajas (6%).

Toxicidad de la profilaxis primaria de IFI adaptada al riesgo

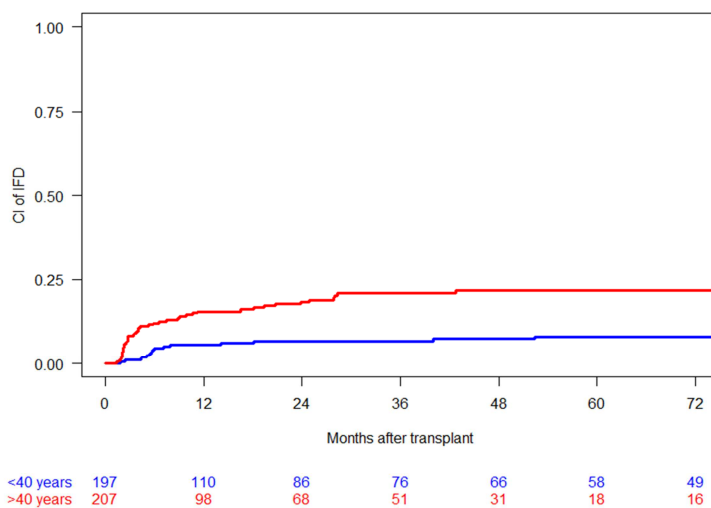
En total, 68 (17%) de los pacientes presentaron TLD o discontinuaron la profilaxis primaria por otros motivos. La TLD ocurrió en 28 pacientes (11%) mientras recibían profilaxis con voriconazol, 2 pacientes (2%) en profilaxis con itraconazol y en ningún paciente (0%) con fluconazol ($P= 0.003$). La TLD consistió en el grupo de profilaxis con voriconazol en hipertransaminasemia en 26 pacientes (10%) y alucinaciones visuales en 2 pacientes (1%), en el grupo de itraconazol en toxicidad gastrointestinal en 2 pacientes (2%).

Además, 19 (7%) pacientes del grupo de voriconazol suspendieron su profilaxis debido a la presencia de EICH hepática concomitante. Otros 19 pacientes (5%) interrumpieron la profilaxis primaria debido a una sospecha que no fue confirmada de IFI (5 (38%), 7 (7%) y 7 (3%), en los grupos de fluconazol, itraconazol y voriconazol respectivamente).

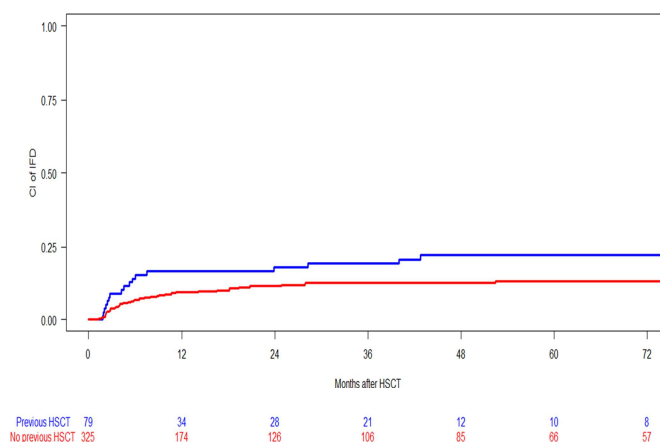
La IA al año de IFI entre los pacientes que interrumpieron la profilaxis por cualquier motivo fue de 15, y de 10% en los pacientes que no la interrumpieron ($P = 0,41$). La IA al año de IFI entre los pacientes que interrumpieron la profilaxis por toxicidad fue de 10%, y del 22% entre los que la interrumpieron debido EICH hepática concomitante.

Factores pronósticos para el desarrollo de IFI post-injerto

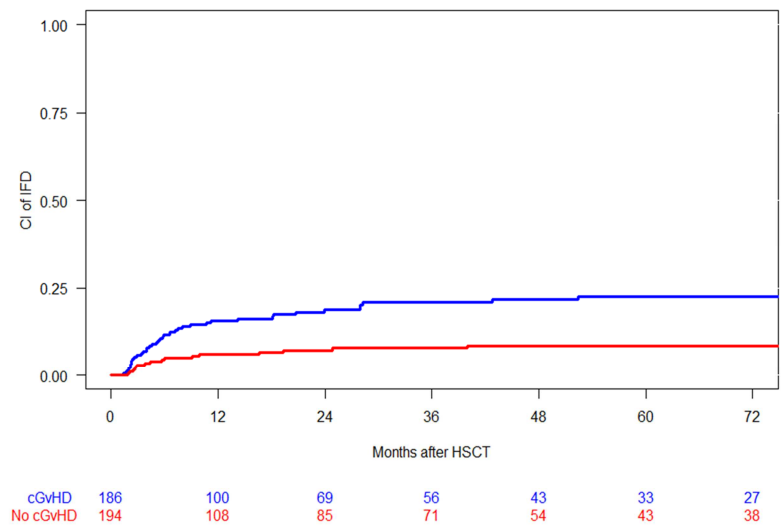
El análisis univariante mostro que los siguientes factores se asociaban a una mayor IA del IFI: edad > 40 años, TPH de médula ósea o cordón umbilical, ≥ 1 TPH previo, TPH de un donante diferente a un hermano HLA idéntico, ≥ 1 disparidad HLA, regímenes de acondicionamiento con ATG, >15 días de neutropenia antes del injerto, EICH aguda grado 2-4, EICH crónica extensa, dosis de corticosteroides > 30 mg/día durante el primer año y la reactivación del CMV hasta el día +180 (Tabla 3). En el análisis multivariable las siguientes variables se mantuvieron como factores de riesgo independientes: edad > 40 años (HR, 3.47; P<0.0001), ≥ 1 TPH previo (HR, 2.56; P = 0.004), > 15 días de neutropenia antes del injerto (HR, 2.28; P = 0.02), EICH crónica extensa (HR, 2.35; P = 0.02) y la reactivación del CMV hasta el día +180 (HR, 2.20; P = 0.009) (Figura 2).



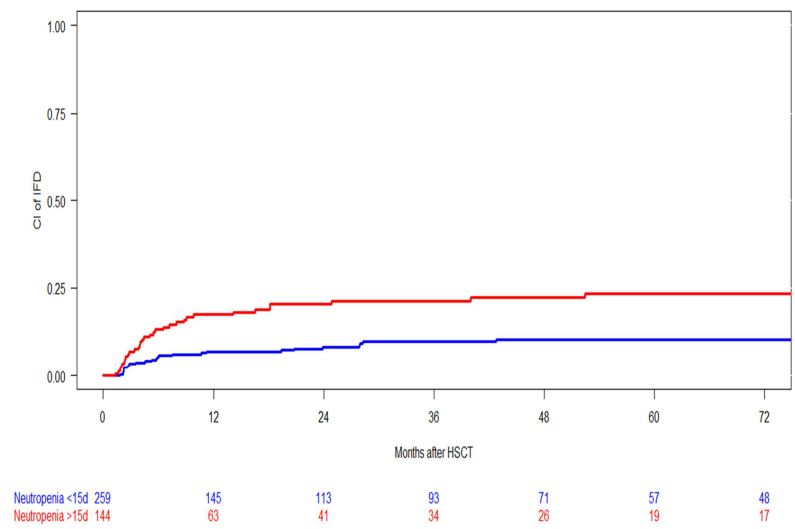
2a)



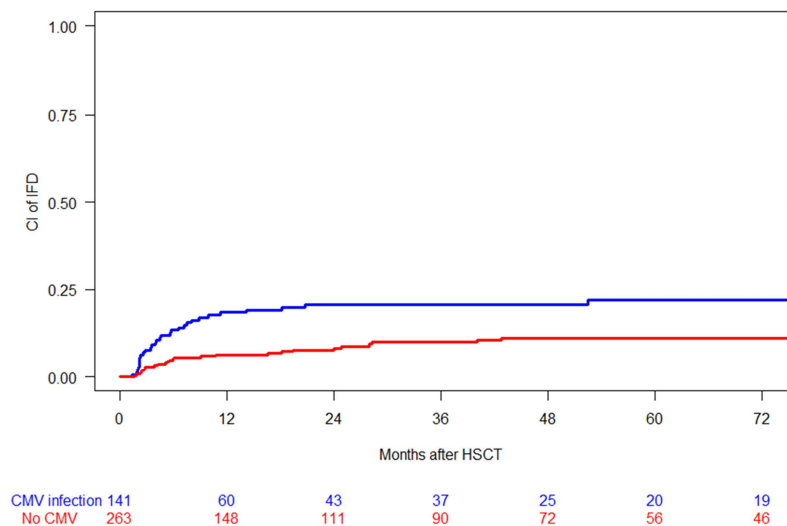
2b)



2c)



2d)



2e)

Figura 2. Incidencia acumulada (IA) de IFI tras el injerto según los diferentes factores de riesgo independientes. (a) IA según la edad (mayor o menor a 40 años) en el momento del alo-TPH. (b) IA con o sin TPH previo (alogénico o autólogo). (c) IA en pacientes que desarrollaron o no EICH crónica extensa. (d) IA según la duración de la neutropenia antes del injerto (más o menos de 15 días). (e) IA en pacientes que desarrollaron o no reactivación de CMV dentro de los 180 primeros días tras el alo-TPH

Tabla 3. Factores de riesgo para el desarrollo de la IFI: análisis univariante y multivariante.

Características	Total (n)	IFI n (%)	6 meses (%)	12 meses (%)	P*	Análisis multivariable Hazard ratio (95% IC)	P**
Total	404	57	8	11			
Edad, años							
≤ 40	197	15 (8)	4	6	0.0001	3.47 (1.86-6.51)	< 0.0001
> 40	207	42 (20)	12	16			
Fuente de progenitores							
Otros	154	31 (20)	11	15	0.008		0.6
Sangre periférica	250	26 (10)	6	8			
TPH previo							
0	325	40 (12)	7	9	0.048	2.56 (1.34-4.89)	0.004
≥1	79	17 (22)	14	16			
Tipo de trasplante							
Hermano HLA idéntico	232	23 (10)	6	7	0.005		0.5
Otro	172	34 (20)	12	15			
Disparidad HLA							
0	256	28 (11)	7	9	0.02		0.7
≥1	148	29 (20)	11	14			
Acondionamiento con ATG							

Características	Total (n)	IFI n (%)	6 meses (%)	12 meses (%)	P*	Análisis multivariable Hazard ratio (95% IC)	P**
Sí	177	33 (19)	11	14	0.0003		0.9
No	227	24 (11)	6	8			
Neutropenia pre-injerto							
≤15	259	25 (10)	5	7	0.0004	2.28 (1.14-4.57)	0.02
>15	144	32 (22)	13	17			
EICH agudo							
Grado 0-1	248	27 (11)	6	6	0.01		0.3
Grado 2-4	156	30 (19)	12	17			
EICHc extenso*							
No	194	16 (8)	5	6	0.0003	2.35 (1.21-4.56)	0.02
Yes	186	39 (21)	12	16			
Corticoides							
≤30 mg/día	68	4 (6)	4	4	0.03		0.9
>30 mg/día	336	53 (16)	9	12			
Reactivación CMV							
No	263	30 (11)	5	6	0.002	2.22 (1.22-4.04)	0.009
Sí	141	27 (19)	13	18			
Tipo de profilaxis							

Características	Total (n)	IFI n (%)	6 meses (%)	12 meses (%)	P*	Análisis multivariable Hazard ratio (95% IC)	P**
No/fluconazol	41	2 (5)	2	2	0.17		
Itraconazol	102	14 (14)	7	10			
Voriconazol	261	41 (16)	10	12			

**Análisis univariante, ** análisis multivariante. Abreviaturas: IFI: Infección fúngica invasiva; LLA: leucemia linfoblástica aguda; LMA: leucemia mieloblástica aguda; SMD: Síndrome mielodisplásico; LNH: Linfoma no Hodgkin; LH: linfoma Hodgkin; CMV: citomegalovirus; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos; FLU: fludarabina; ATG: linfoglobulina o timoglobulina; EICH: enfermedad injerto contra huésped *EICHc analizado sólo en pacientes evaluables (supervivientes día +100)

Se asignó un punto a cada factor de riesgo independiente con el fin de construir un modelo de predicción multivariable para la IFI post-injerto. Los pacientes fueron agrupados en las siguientes categorías: bajo riesgo (0-1 puntos), 143 pacientes (35%); riesgo intermedio (2 puntos), 151 pacientes (37%); y alto riesgo (3-5 puntos), 110 pacientes (27%). La IA de IFI a los 12 meses para pacientes de riesgo bajo, intermedio y alto fue del 0,7% (IA del 95%: 0–2,1%), 9,9% (IA del 95%: 5,2–14,7%) y 24,7% (IA del 95%: 16,6 –32,7%), respectivamente ($P < 0.0001$) (Figura 3).

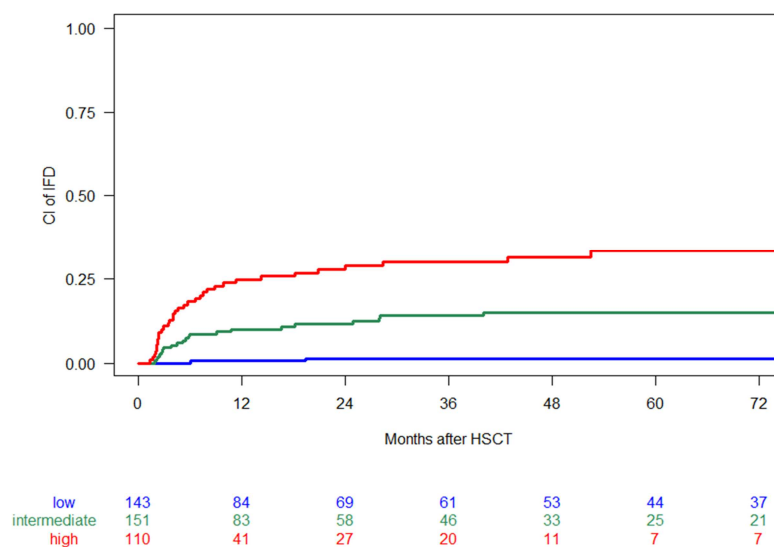


Figura 3. Incidencia acumulada de IFI según el número de factores de riesgo independientes. Azul, bajo riesgo: 0-1 factor. Verde, riesgo intermedio: 2 factores. Rojo, alto riesgo: 3 o más factores.

DISCUSIÓN

Este estudio retrospectivo realizado en una sola institución que incluyó una gran cohorte de receptores adultos de aloTPH muestra que, a pesar de recibir profilaxis primaria oral al alta con azoles, la IA al año del IFI post-injerto fue elevada (11%). De forma esperada, el resultado clínico de los pacientes que desarrollaron IFI tardía fue sombrío (40% de NRM al año). El análisis multivariante mostro que factores ajenos al tipo de aloTPH y a la dosis de corticosteroides se asociaban independientemente con el riesgo de IFI post-injerto. Se construyó un modelo multivariante con capacidad pronostica y simple usando cinco variables, este modelo podría ser útil para mejorar las estrategias actuales de profilaxis adaptadas al riesgo.

Esta gran cohorte de 615 pacientes que recibieron un aloTPH en una sola institución es uno de los pocos estudios que analiza específicamente la incidencia y los factores de riesgo de la IFI post-injerto. A diferencia de otros estudios, que analizan la IFI tardía (es decir, aquella que ocurre más allá del día +40), aquí hemos analizado la IA de IFI en los pacientes que sobreviven después del día +40, tienen injerto estable, no presentan antecedentes de IFI, y son dados de alta de su primer ingreso para la realización del aloTPH. Esto se realizó para seleccionar a la población que recibiría profilaxis primaria ambulatoria para la IFI y, por lo tanto, el mejor subgrupo de pacientes con aloTPH para identificar los factores de riesgo que permita implementar estrategias adaptadas al riesgo usando regímenes de profilaxis ambulatorios. De hecho, el primer resultado fue que solo 404 (66%) pacientes eran elegibles para el estudio, puesto que muchos de ellos presentaban complicaciones tempranas fatales durante la primera hospitalización o eran dados de alta con tratamiento antifúngico o con profilaxis secundaria. Es destacable que nuestra serie incluía un 36% de UCBT, un 21% de pacientes con TPH previo y que casi el 50% desarrolló EICH crónica extensa. Por estas razones, nuestra IA global al año del 11% no es comparable con la de otros estudios que reportan una incidencia de IFI tardía o muy tardía tras el aloTPH (del 7 al 10%) (3–5,11). En cuanto al tipo y el lugar de las IFIs, al igual que en estudios previos, el aislamiento más frecuente fue *Aspergillus* spp. y el órgano más frecuentemente afectado el pulmón (18) y que la IA de IFI aumentaba durante el primer año con una disminución gradual de los episodios durante los siguientes 5 años tras el aloTPH.

Se pueden señalar varias limitaciones para este estudio: 1) los pacientes que recibieron un diagnóstico de IFI posible (3%, datos no mostrados) fueron incluidos en el grupo de pacientes sin IFI, pero de hecho algunos de ellos podrían haber padecido una IFI, 2) no se realizaron sistemáticamente necropsias durante este estudio, lo que podría conducir a una probable infraestimación de la IA de IFI probada, 3) a pesar de que este análisis retrospectivo se realizó escogiendo un período histórico en el que los procedimientos diagnósticos, así como la profilaxis y el tratamiento de la IFI fueron homogéneos, no pudimos analizar las diferencias en la exposición ambiental a los hongos, y esto podría haber tenido un papel en el riesgo de IFI (19), y 4) se realizó un análisis por intención de tratar “intent-to-treat” sobre una población de la vida real, incluyendo todo tipo de receptores de aloTPH, y este no es un diseño óptimo para un ensayo clínico aleatorizado. Las desviaciones en el protocolo (hasta un 13%) no fueron excluidas, lo que es un fiel reflejo de la práctica clínica habitual, pero limita la capacidad de extraer conclusiones con respecto al impacto de la profilaxis antifúngica.

A pesar de la profilaxis primaria con itraconazol en cápsulas orales (en la primera cohorte) o con dosis bajas de voriconazol (en la segunda cohorte) en los pacientes que reciben corticosteroides en dosis igual o superior a 20 mg/día, la IA de IFI post-injerto fue elevada, y no se modificó a pesar del tipo de azol usado en profilaxis. Es destacable que nuestra IA de IFI fue comparativamente superior a la de otros estudios que emplearon voriconazol a dosis completa (10,20), posaconazol (7) o dosis altas de anfotericina B liposomal semanal (21) para profilaxis en pacientes similares. Sin embargo, debemos tener en cuenta que las cápsulas de itraconazol oral tienen una baja biodisponibilidad (22), y que la dosis baja de voriconazol podría no alcanzar niveles terapéuticos (23). Estos datos respaldan la opinión de que estos regímenes no deben considerarse como una profilaxis óptima en este contexto. La dosis baja de voriconazol fue seleccionada en un intento de limitar las interacciones y la toxicidad hepática de este fármaco, pero el porcentaje de pacientes que presentaron hipertransaminasemia fue similar al de otros estudios que usaron la dosis completa de voriconazol.

Una cuestión que queda por resolver es si la quimioprofilaxis sistémica con triazoles orales a dosis completa podría ser segura y eficaz en pacientes de alto riesgo, que frecuentemente presentan EICH hepático, interacciones medicamentosas críticas o una absorción gastrointestinal insuficiente. Creemos que la profilaxis con voriconazol y con posaconazol oral, que pueden producir toxicidad hepática e interacciones farmacológicas, podría realizarse de una forma exitosa en la mayoría de los pacientes, dado que el médico que se decida al trasplante: 1) distingue entre hepatotoxicidad por fármacos y la EICH hepática, y podría reiniciar la profilaxis cuando la EICH sea la causante de la lesión hepática; 2) puede monitorizar los niveles plasmáticos y ajustar la dosis de los fármacos que interactúan con los triazoles (por ejemplo, ciclosporina); y 3) puede monitorizar los niveles plasmáticos de los triazoles, especialmente cuando se usa posaconazol. Por otro lado, La IA al año de IFI post-injerto en receptores de un aloTPH de hermano HLA idéntico que recibían menos de 20mg/día de prednisona, que no recibían profilaxis contra hongos filamentosos, fue bastante elevada (5%). Se puede conjeturar que una profilaxis efectiva tendría un importante valor en este subgrupo de pacientes.

Con respecto al análisis univariante de los factores pronósticos, nuestros resultados fueron consistentes con los de otros estudios que mostraron que la dosis de corticosteroides, la EICH aguda y crónica, y el CMV podría aumentar el riesgo de IFI post-injerto o IFI tardía (1,5). Además, se halló que la IFI post-injerto se asociaba con varios factores de riesgo que se habían relacionado anteriormente con el desarrollo de

IFI temprana o global, como la edad avanzada, el prendimiento de neutrófilos tardío, un TPH previo, disparidad HLA y fuente de progenitores diferente a la sangre periférica (3,4). Estos datos sugieren que los regímenes de acondicionamiento que contienen ATG podrían asociarse a un aumento del riesgo de IFI, lo que está en línea con otros estudios que informaban de que la depleción de células T ex vivo con alemtuzumab suponía un factor de riesgo de IFI (25). Lamentablemente, no pudimos evaluar otros factores de riesgo potenciales, como la sobrecarga de hierro y el recuento linfocitario en sangre periférica. Otra limitación sería que debido al bajo número de eventos, no fue posible analizar específicamente el riesgo de desarrollar episodios de IFI por microorganismos diferentes del *Aspergillus*.

Se creó un modelo multivariable para predecir el riesgo de la IFI post-injerto, usando los cinco factores de riesgo independientes encontrados en el análisis multivariante. Hasta donde nosotros sabemos, no existen modelos multivariable con capacidad de predecir específicamente el riesgo de IFI tardía o post-injerto. Nuestro modelo multivariable predictivo y simple clasificó a los receptores de aloTPH en tres grupos de un tercio cada uno aproximadamente. Curiosamente, el grupo de bajo riesgo solo mostró una IA de IF de 0,7%, mientras que en el grupo de alto riesgo tuvo una IA del 24,7%, lo que permitiría diseñar una profilaxis adaptada al riesgo mejor (por ejemplo, no administrar profilaxis antifúngica en el grupo de bajo riesgo, y realizar una profilaxis agresiva y con dosis completas en el grupo de alto riesgo). Se debe destacar que el modelo multivariable de prevención usa tres variables que están disponibles al alta del paciente, mientras que la reactivación del CMV y el desarrollo del EICH crónico extenso sucederían más tarde. Esta peculiaridad nos lleva a la cuestión de cómo se debe implementar el modelo multivariable predictivo en tiempo real. Durante el seguimiento algunos pacientes aumentarían su puntuación y se incrementaría el riesgo de IFI, por tanto podrían requerir una profilaxis más agresiva que antes si nos basamos en esta puntuación dinámica. Sin embargo, este modelo multivariable de predicción de IFI post-injerto debe ser validado en una cohorte externa antes de usarse rutinariamente. Además, este modelo multivariable predictivo no podría usarse sin tener en cuenta los diferentes factores ambientales particulares de cada institución (por ejemplo, la elevada la carga ambiental de esporas), puesto que probablemente estos son factores de riesgo independientes per se para el desarrollo de la IFI por hongos filamentosos.

Resumiendo, a pesar de usar una profilaxis antifúngica adaptada al riesgo tras el aloTPH, la IA al año de IFI post-injerto fue elevada (11%). Nuestro análisis por intención de tratar demostró que la profilaxis oral con itraconazol en cápsulas o con

voriconazol a dosis bajas no fue eficaz para prevenir los episodios de IFI. Tras identificar cinco factores de riesgo independientes, se construyó un modelo multivariable para predecir el riesgo de IFI post-injerto. Este modelo podría ser útil para mejorar la estrategia de profilaxis adaptada al riesgo actual en el futuro.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de intereses.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Paula Petruskevicius, Carlos Pastorini, David Pellicer y Shirley Weiss por la recogida y gestión de los datos. Este estudio fue apoyado en parte por una beca 2012/023 del Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Se recibió una subvención médica independiente proporcionada por Pfizer, Inc. Para la elaboración de este manuscrito.

AUTORÍA

PM, RR-V y MAS concibieron el estudio, analizaron e interpretaron los datos; PM y RR-V escribieron el manuscrito y realizaron los análisis estadísticos; BB, DM-C, IC, AL, JS, MJA, FL-C, IN, IL, MS, JP, JM, NC, IJ y GFS revisaron el manuscrito y contribuyeron al borrador final.

BIBLIOGRAFÍA

1 Zhang P, Jiang EL, Yang DL, Yan ZS, Huang Y, Wei JL et al. Risk factors and prognosis of invasive fungal infections in allogeneic stem cell transplantation recipients: a single-institution experience. *Transpl Infect Dis* 2010; 12: 316-321.

2 Kontoyiannis DP, Marr KA, Park BJ, Alexander BD, Anaissie EJ, Walsh TJ 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: 1091–1100.

3 Marr KA, Carter RA, Boeckh M, Martin P, Corey L. Invasive aspergilosis in allogeneic stem cell transplant recipients: changes in epidemiology and risk factors. *Blood* 2002; 100: 4358-4366.

4 Garcia-Vidal C, Upton A, Kirby KA, Marr KA. Epidemiology of invasive mold infections in allogeneic stem cell transplant recipients: biological risk factors for infection according to time after transplantation. *Clin Infect Dis* 2008; 47: 1041–1050.

5 Mikulska M, Raiola AM, Bruno B, Furfaro E, Van Lint MT, Bregante S et al. Risk factors for invasive aspergillosis and related mortality in recipients of allogeneic SCT from alternative donors: an analysis of 306 patients. *Bone Marrow Transplant* 2009; 44: 361-370.

6 Marks DI, Pagliuca A, Kibbler CC, Glasmacher A, Heussel CP, Kantecki M et al. IMPROVIT Study Group. Voriconazole versus itraconazole for antifungal prophylaxis following allogeneic haematopoietic stem-cell transplantation. *Br J Haematol* 2011; 155: 318 –327.

7 Ullmann AJ, Lipton JH, Vesole DH, Chandrasekar P, Langston A, Tarantolo SR et al. Posaconazole or fluconazole for prophylaxis in severe graft-versus-host disease. *N Engl J Med* 2007; 356: 335 –347.

8 Winston DJ, Maziarz RT, Chandrasekar PH, Lazarus HM, Goldman M, Blumer JL et al. Intravenous and oral itraconazole versus intravenous and oral fluconazole for long-term antifungal prophylaxis in allogeneic hematopoietic stem-cell transplant recipients. A multicenter, randomized trial. *Ann Intern Med* 2003; 138: 705–713.

9 Wingard JR, Carter SL, Walsh TJ, Kurtzberg J, Small TN, Baden LR et al. Randomized, double-blind trial of fluconazole versus voriconazole for prevention of invasive fungal infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2010; 116: 5111-5118.

10 Martin T, Sharma M, Damon L, Kaplan L, Guglielmo BJ, Working M et al. Voriconazole is safe and effective as prophylaxis for early and late fungal infections following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis* 2010; 12: 45 –50.

11 Thursday K, Byrnes G, Grigg A, Szer J, Slavin M. Risk factors for invasive post-graft aspergillosis in allogeneic stem cell transplantation. *Bone marrow transplant* 2004; 34: 115-121.

12 Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, Klingemann HG, Beatty P, Hows J et al. 1994 Consensus Conference on the Acute Rating of GVHD. *Bone marrow transplant* 1995; 15: 825-828.

13 Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL, McDonald GB, Striker GE, Sale GE et al. Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathological study of 20 Seattle patients. *Am J Med* 1980; 69: 204–217.

14 Montesinos P, Sanz J, Cantero S, Lorenzo I, Martín G, Saavedra S et al. Incidence, risk factors, and outcome of cytomegalovirus infection and disease in patients receiving prophylaxis with oral valganciclovir or intravenous ganciclovir after umbilical cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;

15: 730–740. 15 De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T et al. Cooperative Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer / Invasive Fungal Infections; National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycosis Study Group (EORTC / MSG) Consensus Group. Revised definitions of invasive fungal diseases from the Cooperative Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer / Invasive Fungal Infections and the Consensus Group of the Study Group of the National Institute of Allergy and Infectious Diseases (EORTC / MSG). *Clin Infect Dis* 2008; 46: 1813-1821.

16 Gray RJ. A class of K-sample test for comparing the cumulative incidence of a competing risk. *Ann Stat* 1988; 16: 1141–1154.

17 Fine J, Gray R. A proportional hazards model for the subdistribution of a competing risk. *J Am Stat Assoc* 1999; 94: 496–509.

18 Neofytos D, Horn D, Anaissie E, Steinbach W, Olyaei A, Fishman J et al. Epidemiology and outcome of invasive fungal infection in adult hematopoietic stem cell transplant recipients: analysis of Multicenter Prospective Antifungal Therapy (PATH) Alliance registry. *Clin Infect Dis* 2009; 48: 265–273.

19 Garcia-Vidal C, Royo-Cebrecos C, Peghin M, Moreno A, Ruiz-Camps I, Cervera C et al. Environmental variables associated with an increased risk of invasive aspergilosis. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20: 0939–0945.

20 Siwek GT, Pfaller MA, Polgreen PM, Cobb S, Hoth P, Magalheas-Silverman M et al. Incidence of invasive aspergilosis among allogeneic hematopoietic stem cell transplant patients receiving voriconazole prophylaxis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006; 55: 209–212.

21 El Cheikh J, Castagna L, Wang L, Esterni B, Faucher C, Furst S et al. Once-weekly liposomal amphotericin B for prophylaxis of invasive fungal infection after graft-versus-host disease in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a

comparative retrospective single-center study. *Hematol Oncol Stem Cell Ther* 2010; 3: 167–173.

22 Boogaerts MA, Verhoef GE, Zachee P, Demuyneck H, Verbist L, De Beule K. Antifungal prophylaxis with itraconazole in prolonged neutropenia: correlation with plasma levels. *Mycoses* 1989; 32: 103–108.

23 Howard A, Hoffman J, Sheth A. Clinical application of voriconazole concentrations in the treatment of invasive aspergilosis. *Ann Pharmacother* 2008; 42: 1859–1864.

24 Hol JA, Wolfs TF, Bierings MB, Lindemans CA, Versluys AB, Wildt de A et al. Predictors of invasive fungal infection in pediatric allogeneic hematopoietic SCT recipients. *Bone Marrow Transplant* 2014; 49: 95–101.

25 Blennow O, Remberger M, Klingspor L, Omazic B, Fransson K, Ljungman P et al. Randomized PCR-based therapy and risk factors for invasive fungal infection following reduced-intensity conditioning and hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2010; 45: 1710–1718.

8.2 Anexo 2

Referencia bibliográfica


Rodríguez-Veiga R, Montesinos P, García E, Boluda B, Rojas R, Serrano J, et al. Validation of a multivariable prediction model for post-engraftment invasive fungal disease in 465 adult allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Mycoses*. 2019;62(5):418–27.

8.2.1 *Manuscrito original*


Received: 5 July 2018 | Revised: 28 December 2018 | Accepted: 4 January 2019

DOI: 10.1111/myc.12891

ORIGINAL ARTICLE

WILEY  mycoses
Journal of the European Society for Medical Mycology

Validation of a multivariable prediction model for post-engraftment invasive fungal disease in 465 adult allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients

Rebeca Rodríguez-Veiga¹ | Pau Montesinos^{1,2}  | Estefanía García³ | Blanca Boluda¹ | Rafael Rojas³ | Josefina Serrano³ | David Martínez-Cuadrón^{1,2} | Carmen Martín³ | Jaime Sanz^{1,2} | Salvador Tabares³ | José L. Piñana¹ | Ignacio Lorenzo¹ | Juan Montoro¹ | Miguel Salavert⁴ | Javier Pemán⁵ | Isidro Jarque^{1,2} | Pilar Solves^{1,2} | Guillermo F. Sanz^{1,2} | Antonio Torres^{1,6} | Miguel A. Sanz^{1,2}

¹Department of Hematology, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, València, Spain

²CIBERONC, Instituto Carlos III, Madrid, Spain

³Department of Hematology, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba, Spain

⁴Department of Infectious Diseases, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, València, Spain

⁵Department of Microbiology, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, València, Spain

⁶Asociación Medicina e Investigación (A.M.I.), Córdoba, Spain

Correspondence

Pau Montesinos, Hematology Department, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, València, Spain.
Email: montesinos_pau@gva.es

Funding information

Asociación Medicina e Investigación (A.M.I.); Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Grant/Award Number: 2012/023

Summary

Background: Recently, we reported a simple prognostic score for post-engraftment invasive fungal disease (IFD) obtained in 404 adult allogeneic hematopoietic stem cell transplant (alloSCT) (training cohort).

Objectives: We aim to validate this score in an external cohort assessing the 1-year cumulative incidence (CI) of post-engraftment IFD. Additionally, we analyse the type of IFD and incidence of IFD according to type of prophylaxis.

Patients/methods: We included 465 consecutive adult recipients surviving >40 days who engrafted and were discharged without prior IFD (median age 45 years, range, 14–69).

Results: Patients classified as low-risk, 139; intermediate-risk, 162; and high-risk, 164 (35% vs 27% in the training cohort, $P = 0.03$). The CI of probable/proven IFD in the validation cohort was 8% vs 11% in the training cohort ($P = 0.006$). The only voriconazole prophylaxis used in the training cohort was 100 mg/12 h, 65% vs 27% in the validation cohort, but 38% received 200 mg/12 h. Thus, the validation cohort showed a lower CI of IFD ($P = 0.009$). The post-engraftment IFD score was validated, showing a CI of IFD for low-, intermediate- and high-risk of 3%, 6% and 14%, respectively ($P < 0.001$).

Conclusion: To our knowledge, this is the first prognostic index to predict the occurrence of post-engraftment IFD after alloSCT that has been validated in an external cohort.

KEYWORDS

allogeneic stem cell transplant, invasive fungal disease, score validation

Rodríguez-Veiga and Montesinos contributed equally to the manuscript.

Mycoses. 2019;1–10.

wileyonlinelibrary.com/journal/myc

© 2019 Blackwell Verlag GmbH | 1

1 | INTRODUCTION

Invasive fungal disease (IFD) is a challenging cause of morbidity and mortality in patients undergoing allogeneic stem cell transplantation (alloSCT).^{1,2} Several studies, mostly from single-institution retrospective series, have analysed the incidence and risk factors of IFD after alloSCT,¹⁻⁸ reporting an incidence ranging from 1% to 20%.¹⁻¹⁰ There are few studies analysing the epidemiology and risk factors for IFD after engraftment in alloSCT adult recipients^{3-6,9} and, as far as we know, there are no validated predicting models for the occurrence of IFD in this setting.

Recently, we developed a simple prognostic score for post-engraftment IFD in 404 adult alloSCT recipients using 5 pre- and post-transplant variables, which could be useful to improve prophylactic strategies in the future.¹¹ Our prognostic score model classified alloSCT recipients into three groups of roughly one-third each one. The low-risk group showed 0.7% cumulative incidence (CI) of IFD, while in the intermediate- and high-risk groups it was 9.9% and 24.7%, respectively. Nevertheless, this post-engraftment IFD score should be validated in an external cohort.

This study aims (a) to validate the post-engraftment IFD score in an external cohort of adult patients submitted to alloSCT and (b) to assess the impact of primary antifungal prophylaxis on the predictive accuracy of the post-engraftment IFD score.

2 | MATERIAL AND METHODS

2.1 | Study design and patient selection

The clinical records of unselected consecutive adult patients with haematological malignancies who underwent an alloSCT from 2003 to 2016 at the Hospital Universitario Reina Sofía (Córdoba, Spain) and who underwent an alloSCT from 2014 to 2016 at the Hospital Universitario y Politécnico La Fe (Valencia, Spain) were reviewed to assess their eligibility for this retrospective study. Patients were eligible if they satisfied all the following criteria: (a) stable myeloid engraftment with neutrophil recovery (more than 3 days with an absolute neutrophil count (ANC) above $0.5 \times 10^9/L$ with full-donor chimerism); (b) patients had to survive more than 40 days after alloSCT being discharged from hospital (outpatient management) and be able to receive oral antifungal prophylaxis protocol; (c) patients without previous suspicion or diagnosis of IFD during the pre-transplant or early post-transplant period (ie, all patients discharged with secondary antifungal prophylaxis or antifungal therapy were not eligible); (d) minimum follow-up of 180 days and (e) patients not included in the previous study to develop the post-engraftment IFD score, as has been published elsewhere (those patients, included from 2001 to 2013 at the Hospital Universitario y Politécnico La Fe, are herein considered as a training cohort).¹¹

All patients provided informed consent according to institutional guidelines. This retrospective study was approved by the Research Ethics Board of the institution according to the Declaration of Helsinki (study number 2013/0036).

2.2 | Source of progenitors, preparative regimens and GVHD prophylaxis

During all the study period, patients were transplanted from a sibling (identical or haploidentical) or an unrelated donor (cord blood [UCBT] or bone marrow or peripheral blood) according to the donor availability and timing. Donor-recipient matching was based on human leucocyte antigen (HLA) typing. MAC regimens for patients receiving a matched-sibling donor alloSCT consisted of cyclophosphamide (CY) plus total body irradiation (TBI) or busulfan (BU) plus fludarabine (FLU); in addition, before 2004, some patients received melphalan plus TBI. Patients receiving an alloSCT from unrelated donor received BU plus FLU plus thiotepa (TT) and lymphoglobulin or thymoglobulin (ATG), or CY plus TBI plus ATG. Preparative regimen for patients receiving a haploidentical transplantation consisted of BU plus FLU plus CY. Reduced intensity regimen with lower doses of BU plus FLU \pm TT or FLU plus melphalan (MEL) was recommended in patients older than 55 years or with anticipated high transplant-related mortality. From 2007, some patients received UCBT using RIC with BUFLUTT and ATG.

Acute graft-versus-host disease (GVHD) prophylaxis involved cyclosporine plus methotrexate in adult sibling and unrelated identical donor alloSCT matched-related donors, with the exception of positive CD34+ selection in which cyclosporine plus prednisone was used. From 2012, some patients from the Hospital Universitario Reina Sofía received prophylaxis with tacrolimus plus sirolimus. UCBT prophylaxis comprised cyclosporine plus prednisone or cyclosporine plus mycophenolate. In haploidentical SCT, prophylaxis consisted of post-transplant CY along with tacrolimus and mycophenolate. Acute and chronic GVHD were graded according to criteria published elsewhere.^{12,13}

Universal prophylaxis of CMV reactivation and disease after engraftment consisted of intravenous ganciclovir or oral valganciclovir for all CMV-seropositive patients of the Hospital Universitario y Politécnico La Fe,¹⁴ and oral acyclovir for the remaining patients, as well as for all the Hospital Reina Sofía patients. Once CMV PCR or pp65 Ag was positive, pre-emptive first-line therapy was started with intravenous ganciclovir 5 mg/kg twice daily or oral valganciclovir 900 mg twice daily (dose adjusted according to glomerular filtrate rate).

2.3 | Diagnosis and management of IFD after myeloid engraftment

According to the institutional policies, unrelated/mismatched alloSCT patients and sibling HLA-identical patients with aGVHD requiring systemic steroids received primary oral anti-mould prophylaxis from engraftment/discharge until day +100 (± 15 days). The prophylaxis consisted of low-dose voriconazole in patients from the Hospital Universitario y Politécnico La Fe (100 mg/12 h or 200 mg/24 h) and full-dose voriconazole (200 mg/12 h) in patients from the Hospital Universitario Reina Sofía. Sibling HLA-identical recipients without

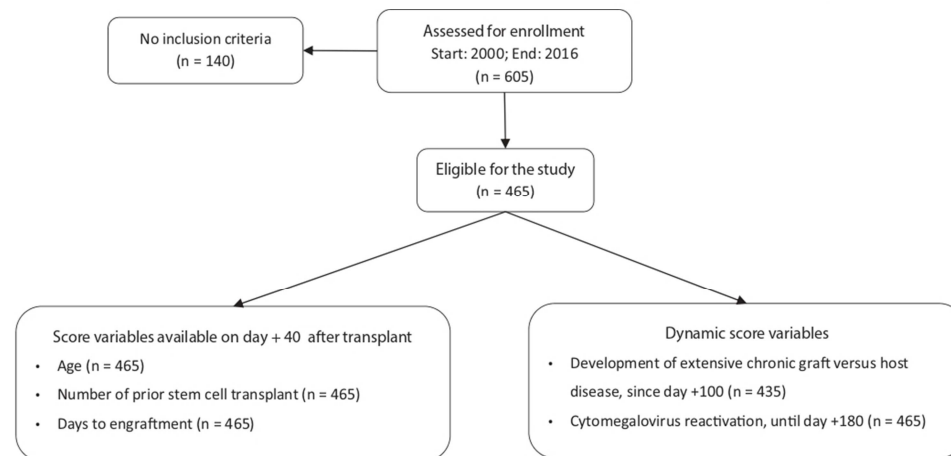


FIGURE 1 Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT) diagram for the validation cohort

systemic steroids at discharge received oral fluconazole 100-400 mg/d until day +100 (± 15 days). Voriconazole prophylaxis was recommended for patients developing cGVHD requiring oral prednisone at a dose greater than 20 mg/d. Such prophylaxis was maintained until the prednisone dose was tapered below 15-20 mg/d. Oral prophylaxis was also withdrawn at the physician's discretion when a limiting toxicity appeared or when antifungal treatment was initiated due to suspicion of or documented IFD.

During the study period, monitoring tests using serial *Aspergillus* galactomannan antigen (AGA) were performed every 7-15 days until day +100. AGA was systematically performed from end 2001 onwards, in both institutions, with consistent intensity across the study period. Computed tomography scan was available all over the study period and was performed upon suspicion of IFD.

Diagnosis and classification of IFD was performed according to the European Organization for Research and Treatment of Cancer and Mycoses Study Group (EORTC/MSG) revised definitions of 2008.¹⁶

Once IFD was suspected, antifungal therapy was instituted at physician discretion. The clinical course of IFD was monitored using the standard clinical, radiological and microbiological tests, when available.

2.4 | Data collection

Data collection method has been described previously.¹¹

2.5 | Study definitions and endpoints

The primary endpoint of the study was to assess the 1-year CI of post-engraftment IFD (probable and proven) according to the previously developed score system in adult patients submitted to alloSCT.¹¹ Briefly, this paper showed a score system to predict the risk of post-engraftment IFD, using risk factors selected in the multivariate

analyses. The five prognostic variables included three static variables (present since engraftment): age (cut-off >40 years), number of previous SCT (cut-off ≥ 1) and duration of the pre-engraftment neutropenia (cut-off >15 days) and two dynamic variables: development of extensive cGVHD from day +100 (yes or no) and CMV reactivation until day +180 (yes or no). We assigned one point to each independent risk factor in order to build the post-engraftment IFD score system. The score model classified alloSCT recipients into three groups of roughly one-third each one (high 3-5 point, intermediate 2 points and low risk 0-1 point of IFD development).¹¹ We followed the TRIPOD guidelines/checklist for validation studies.¹⁵

Secondary endpoints were type of IFD (according to microbiological isolates, site of infection and EORTC criteria) and incidence of IFD according to type of primary prophylaxis (ie, full-dose oral voriconazole vs other).

2.6 | Statistical methods

Analysis was made on an intent-to-treat principle. Chi-square test was used to analyse differences in the distribution of variables between patient subsets. Unadjusted time-to-event analyses were calculated from the date of alloSCT. To validate the post-engraftment IFD score, patients of the validation cohort were classified in risk categories according to the scoring system. The probability of IFD was estimated by the CI method (for marginal probability) in order to take competing risks into account and was compared by the Gray test.¹⁷ In the analysis of CI of IFD, death, secondary graft-failure and relapse were considered as a competing cause of failure. All patients were followed until death or last follow-up. The patient follow-up information was updated in February 2017, and the median follow-up in survivors was 30 months (range, 7-180 months). The Brier score was calculated using a R software package (R Core Team, Vienna, Austria, <http://>

TABLE 1 Main patient and transplant characteristics in the training and validation cohorts

Characteristic	Training cohort n (%)	Validation cohort n (%)	P value*
Overall	404	465	
Sex			
Male	232 (57)	281 (60)	0.41
Female	172 (43)	184 (40)	
Age, (y)			
≤40	197 (49)	193 (42)	0.03
>40	207 (51)	272 (58)	
Underlying disease			
ALL	91 (23)	100 (22)	0.68
AML/MDS	192 (48)	212 (46)	
NHL/HD	55 (14)	77 (17)	
Other	66 (16)	76 (16)	
Disease stage			
Early	263 (65)	339 (73)	0.16
Advanced	118 (29)	123 (26)	
Other	23 (6)	3 (1)	
Source of SCT			
Bone marrow	10 (2)	136 (29)	<0.001
Cord blood	144 (36)	81 (17)	
Peripheral blood	250 (62)	248 (53)	
Previous SCT			
None	325 (80)	372 (80)	0.94
Autologous SCT	63 (16)	63 (13)	
Allogeneic SCT	21 (5)	30 (7)	
Type of transplant			
HLA-identical sibling	232 (57)	276 (59)	<0.001
Cord blood	144 (36)	81 (17)	
Unrelated adult	25 (6)	84 (18)	
Haploidentical sibling	3 (1)	24 (5)	
Modality of conditioning regimen			
MAC	269 (67)	277 (60)	0.04
RIC	135 (33)	188 (40)	
TBI containing regimen			
Yes	0 (0)	149 (32)	<0.001
No	404 (100)	316 (68)	
FLU containing regimen			
Yes	302 (75)	306 (66)	0.005
No	102 (25)	159 (34)	
ATG containing regimen			
Yes	178 (44)	152 (33)	<0.001
No	226 (56)	313 (67)	

(Continues)

TABLE 1 (Continued)

Characteristic	Training cohort n (%)	Validation cohort n (%)	P value*
aGVHD prophylaxis			
Cya-methotrexate	215 (53)	229 (49)	<0.001
Cya-prednisone	142 (35)	66 (14)	
Cya-mycophenolate	40 (10)	101 (22)	
Tacrolimus-sirolimus	0 (0)	39 (8)	
Post-transplant cyclophosphamide	0 (0)	15 (3)	
Other	7 (3)	15 (3)	
Type of primary prophylaxis			
No/fluconazole	41 (10)	149 (32)	<0.001
Itraconazole	102 (25)	0 (0)	
Low-dose voriconazole	261 (65)	125 (27)	
Full-dose Voriconazole	0 (0)	177 (38)	
Other anti-mould agents	0 (0)	14 (3)	
Days of pre-engraftment neutropenia			
≤15	259 (64)	219 (47)	<0.001
>15	144 (36)	246 (53)	
Extensive cGVHD^a			
No	194 (51)	278 (63)	<0.001
Yes	186 (49)	157 (36)	
CMV reactivation until day +180			
No	263 (65)	261 (56)	0.009
Yes	141 (35)	204 (44)	
Post-engraftment IFD score			
0-1 (low risk)	143 (35)	139 (30)	0.033
2 (intermediate risk)	151 (37)	162 (35)	
3-5 (high risk)	110 (27)	164 (35)	

ALL, acute lymphoblastic leukaemia; AML, acute myeloid leukaemia; ATG, lymphoglobulin or thymoglobulin; CMV, cytomegalovirus; Cya, cyclosporine; FLU, fludarabine; GVHD, graft-versus-host disease; HL, Hodgkin lymphoma; IFD, invasive fungal disease; MAC, myeloablative conditioning; MDS, myelodysplastic syndrome; NHL, non-Hodgkin lymphoma; RIC, reduced intensity conditioning; SCT, stem cell transplantation.

^acGVHD assessed only in evaluable patients (alive after +100 days).

*Chi-square comparison.

www.R-project.org/).¹⁸ All patients included in the validation cohort had a complete data set including at least all the independent risk factors used to build the predictive model. All *P* values reported are two-sided. Computations were performed using the R-2.14.0 software package.

3 | RESULTS

3.1 | Patients and transplant characteristics

Four hundred and sixty-five patients transplanted from January 2003 to June 2016 were eligible for the study (validation cohort), 278 from the Hospital Universitario Reina Sofía (2003-2016) and 187 from the Hospital Universitario y Politécnico La

Fe (2014-2016) (Figure 1). Table 1 shows the main patient and transplant characteristics of the validation cohort. Briefly, 281 patients (60%) were male, and the median recipient age was 45 years (range, 14-69 years). The most frequent underlying diseases were acute myeloid leukaemia (AML) (46%) and acute lymphoblastic leukaemia (ALL) (22%). In 73% of patients, alloSCT was performed at an early disease stage. Previous HSCT was reported in 93 (20%) patients. The majority of patients received alloSCT from HLA-identical sibling donor 276 (59). Two hundred and seventy-seven (60%) patients received MAC, and the remaining 188 (40%) were RIC alloSCT. Primary antifungal prophylaxis was full-dose voriconazole in 177 (38%) patients, low-dose voriconazole in 125 (27%), no anti-mould prophylaxis in 149 (32%) and other anti-mould prophylaxis in 14 (3%).

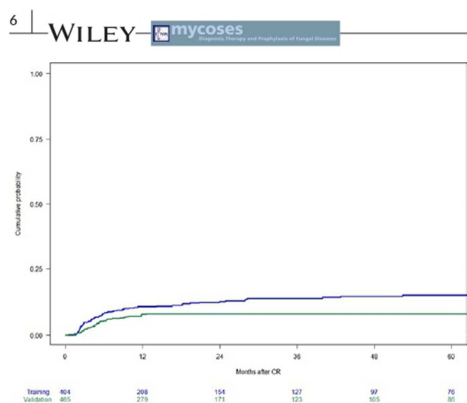


FIGURE 2 Cumulative incidence of post-engraftment invasive fungal disease (IFD) after AlloSCT in the validation and the training cohorts

The distribution of patients according to the post-engraftment IFD score was as follows: low-risk (0-1 points), 139 patients (30%); intermediate-risk (2 points), 162 patients (35%); and high-risk (3-5 points), 164 patients (35%).

Table 1 also shows the statistically significant differences between the training and the validation cohort. In summary, the validation cohort was composed of older patients ($P < 0.03$), more unrelated BM and less CB donor SCT ($P < 0.001$), more TBI and less ATG containing regimens ($P < 0.001$), more patients with long-lasting pre-engraftment neutropenia (>15 days) ($P < 0.001$), more CMV reactivation until day+180 ($P = 0.009$) and less extensive cGVHD ($P < 0.001$). Patients

TABLE 2 Characteristics of IFD episodes in the validation cohort

Type of IFD	N (%)
Proven	9 (21)
Probable	33 (79)
Site of infection	
Lungs	38 (90)
Bloodstream	1 (2)
Rhinosinusal	3 (7)
Fungal pathogen	
<i>Aspergillus</i> spp.	38 (90)
<i>Candida parapsilosis</i>	1 (2)
<i>Mucor</i> spp.	3 (7)

IFD, invasive fungal disease.

of the validation cohort were more frequently classified as high-risk (3-5 score points) ($P = 0.03$).

3.2 | Incidence and classification of post-engraftment IFD

The median time to diagnosis of IFD was 132 days. The overall CI of IFD at 6 and 12 months was 5% and 8%, respectively, significantly lower than in the training cohort (8% and 11%, respectively, $P = 0.006$) (Figure 2). A total of 42 IFD episodes were documented (33 probable and nine proven), with lungs as most frequent site of infection, and *Aspergillus* spp. as the most frequent isolate (Table 2).

TABLE 3 Cumulative incidence (CI) of post-engraftment IFD in the validation cohort according to the score system variables

Characteristic	Six months CI of post-engraftment IFD (95% CI)	Twelve months CI of post-engraftment IFD (95% CI)	P value
Overall	8 (4-8)	8 (6-11)	
Age (y)			
≤40	4 (2-8)	6 (3-10)	0.24
>40	6 (4-10)	9 (6-13)	
Previous SCT			
None	5 (3-8)	7 (5-10)	0.12
One or more	6 (3-13)	11 (6-18)	
Days of pre-engraftment neutropenia			
≤15	4 (2-7)	5 (2-8)	0.01
>15	7 (4-11)	11 (7-15)	
Extensive cGVHD			
No	5 (3-8)	6 (3-9)	0.01
Yes	5 (3-10)	12 (7-17)	
CMV reactivation until day + 180			
No	4 (2-7)	6 (3-9)	0.05
Yes	7 (4-11)	10 (6-15)	

cGVHD: chronic graft-versus-host disease; CMV: cytomegalovirus; IFD: Invasive fungal disease; SCT: stem cell transplantation.

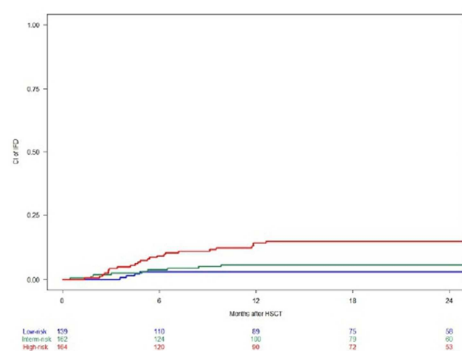


FIGURE 3 Cumulative incidence of post-engraftment invasive fungal disease (IFD) after AlloSCT in the validation cohort according to the risk-score categories

3.3 | Validation of the post-engraftment IFD score

All patients of the validation cohort had the five variables of the scoring system available. The univariate analysis showed that the following score system variables retained the prognostic significance to predict the occurrence of post-engraftment IFD: >15 days of pre-engraftment neutropenia, development of extensive cGVHD and CMV reactivation until day +180, while age >40 and previous SCT were not statistically single predictors (Table 3).

TABLE 4 Cumulative incidence (CI) of post-engraftment IFD depending on the score index and the dose of oral voriconazole

Characteristic	Total number of patients (n)	Six months CI of IFD (%)	Twelve months CI of IFD (%)	P value
Overall	465	5	8	
Post-engraftment IFD risk				
Low	139	3	3	0.0004
Intermediate	162	4	6	
High	164	9	14	
Dose of voriconazole/risk				
Voriconazole full-dose/low	54	0	0	0.06
Voriconazole low-dose/low	31	6	6	
Voriconazole full-dose/intermediate	71	1	1	0.01
Voriconazole low-dose/intermediate	40	5	13	
Voriconazole full-dose/high	52	8	17	0.64
Voriconazole low-dose/high	54	15	19	

IFD: Invasive fungal disease.

Using the IFD score system, the CI of IFD at 6 and 12 months for low-, intermediate-, and high-risk patients was 3% and 3%, 4% and 6%, and 9% and 14%, respectively ($P = 0.0004$) (Figure 3 and Table 4).

The Brier score was 0.07518 (Confidence interval: 0.04959-0.1061).

3.4 | Impact of prophylactic voriconazole dose on the post-engraftment IFD

Among 302 patients (65%) that received oral voriconazole at discharge, 125 (27%) received low-dose schedule and 177 (38%) full dose. The univariate analyses showed that patients receiving full-dose schedule had less CI of IFD at 6 and 12 months compared with the low-dose schedule cohort (3% and 6% vs 10% and 14%, $P = 0.009$). Table 4 shows the CI of IFD according to the risk category and the voriconazole schedule. The impact of a full-dose prophylactic schedule was observed among the low- and intermediate-risk categories ($P = 0.06$ and $P = 0.01$, respectively; $P = 0.002$ if considered together), but not among the high-risk patients ($P = 0.64$) (Figure 4).

4 | DISCUSSION

This study validates in a large external cohort a previously developed score system to predict the risk of post-engraftment probable/proven IFD in adult patients allografted for haematological malignancies.¹¹ Despite the differences in the characteristics and antifungal prophylaxis

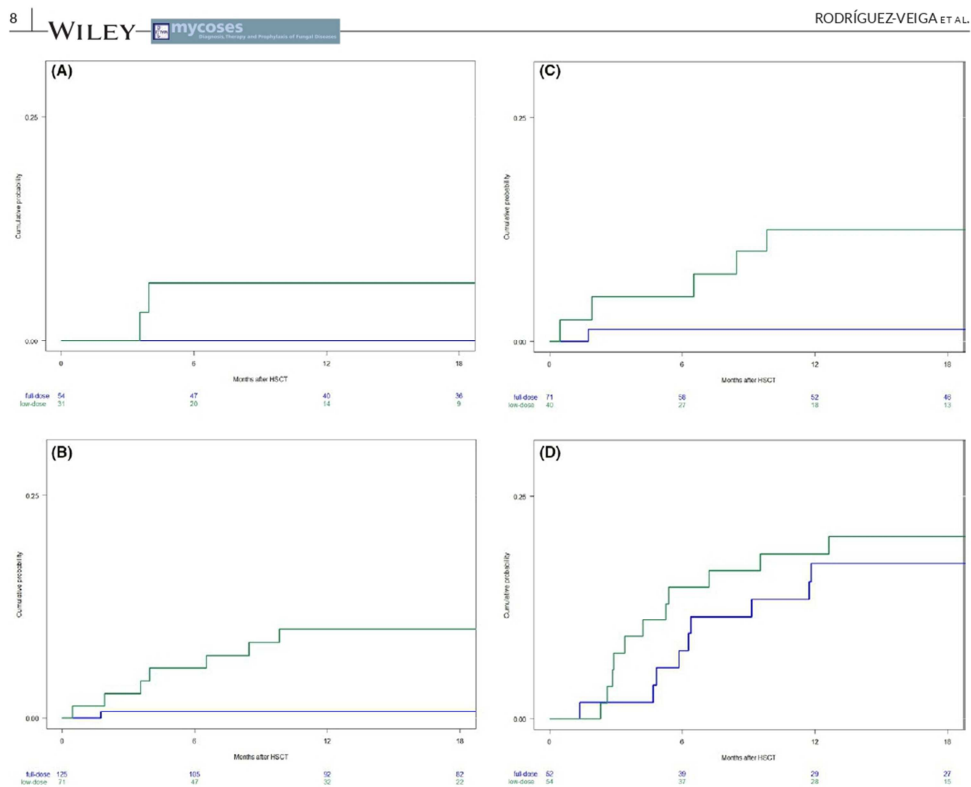


FIGURE 4 Cumulative incidence of post-engraftment invasive fungal disease (IFD) according to prophylactic voriconazole dose among (A) low-risk patients, (B) intermediate-risk patients, (C) low- and intermediate-risk together, and (D) high-risk patients

between the validation cohort and the training cohort, the score index was capable to discriminate patients according to their observed CI of IFD at 1 year (low- 3%, intermediate- 6% and high-risk 14%, $P < 0.0001$). In addition, our data suggest that the use of a prophylactic full-dose voriconazole schedule could reduce the CI of IFD, as compared with a low-dose, especially in low- and intermediate-risk patients.

Although several groups have identified risk factors for development of post-engraftment IFD,¹⁻⁶ and some of them have built risk score systems,⁹ to our knowledge, none of them have validated in an external cohort a predictive model for this complication. As a limitation of our study, the training and the validation historical cohorts spanning a large period were both retrospectively analysed, thus making it difficult to draw reliable conclusions for the contemporary period. In addition, both cohorts showed great heterogeneity in many critical transplant and patient's characteristics potentially influencing in the risk of post-engraftment IFD (eg, graft source, patient's age, conditioning regimen, GVHD prophylaxis and incidence, CMV prophylaxis and incidence, and time to engraftment). In fact, the herein analysed validation

cohort showed more frequency of CMV reactivation at day +180, more patients aged >40 years old and more time to engraftment >15 days. As a result, more patients were classified as high risk for post-engraftment IFD in the validation cohort, as compared with the training cohort. In spite of this heterogeneity, the score system was able to predict the CI of IFD stratifying the validation cohort in three increasing risk categories, like in the training cohort. However, the predictive accuracy was modest to discriminate between low- and intermediate-risk patients (3% vs 6% CI of IFD at 12 months), as compared with the originally reported in the training cohort (1% vs 10% at 12 months). On the other hand, the high-risk population in the validation group demonstrated a much higher CI of IFD (14% at 12 months), but this was lower to the CI reported in the high-risk setting of the training cohort (24% at 12 months).¹¹ We can hypothesise that the different antifungal prophylactic management in both cohorts could explain these differences, at least in part.

The overall incidence of post-engraftment IFD was in line with previous studies reporting late or very late IFD incidence after

alloSCT (ranging from 7% to 10%).^{3-5,19} Concerning the type and timing of IFD, we found that, as in previous studies, *Aspergillus* spp. and lung were the most frequent isolate and site.^{8,20} Another criticism to the present study is that the overall incidence of post-engraftment IFD was significantly lower in the validation cohort as compared with the training cohort (8% vs 11%, $P = 0.006$).¹¹ As more patients were classified as high-risk of IFD in the validation cohort, we can speculate that the oral antifungal prophylaxis administered in the later cohort could play a role in reducing the post-engraftment IFD rate. In fact, 65% of patients received oral voriconazole in both cohorts, but in the validation series 38% did full-dose prophylaxis (200 mg/12 h) and 27% low dose (100 mg/12 h), while in the training set all patients received the low-dose schedule. We can argue that low-dose and full-dose voriconazole may have no clinical meaning, as drug exposures are not predictable in the population (great intrapatent pharmacokinetic variability, with levels not measured in our real-life cohort). However, we found an apparent effect of the dose of voriconazole prophylaxis in our patients, with need of confirmation in well-designed studies. As the study cohorts were not comparable, we analysed the impact of the full- vs. low-dose voriconazole schedules adjusting by our risk score, observing that low- and intermediate-risk patients had a significantly lower risk of IFD when the full dose was administered. However, our data suggest that a full-dose schedule was not sufficient to reduce the risk of post-engraftment IFD in the high-risk population, as the CI at 1 year was still very high irrespectively of the voriconazole dosage. We can affirm that, despite active and tolerable oral triazole prophylaxis, mould infection prevention remains an unsolved issue in this alloSCT population.²¹ This could be explained by the short duration of the prophylactic period, as it is depicted in the CI curve of probable/proven IFD for high-risk patients, with a constant increase during the first year. We can argue that many patients in the high-risk setting discontinued prophylaxis after the first 6 months in spite of persisting risk factors as cGVHD, corticosteroid use, CMV reactivation or even a preexisting subclinical developed in the early post-transplant period. Our data highlight the importance of prolonged antifungal prophylaxis schedules in the high-risk patients. Other strategies to prevent IFD in this setting could be as follows: (a) new oral anti-mould agents with a more favourable safety profile (in particular with less hepatotoxicity and drug-drug interactions) allowing for sustained and manageable administration and (b) combination or rotation schedules while persisting high-risk conditions, in an attempt to increase the antifungal activity. We should highlight that the majority of post-engraftment IFD episodes occurred before day+180, a time period in which some important early factors for IFD as aGVHD or use of corticosteroids have been described. The fact that those early predictors were not part of the predictive model, together with the inclusion of some late predictors (ie, cGVHD), could restrict the potential clinical utility of the score to only predict late (after 3 months to 1 year) IFD. However, our validated score index could be used as a dynamic assessment in which patients can have a four out of five risk factors during the first 3 months (as CMV reactivation may

occur from the immediate post-transplant period), to guide short- and long-term prophylaxis.

Based on our validated score index, we could implement the following risk-adapted antifungal prophylaxis study: (a) for low-risk: oral voriconazole 200 mg/12 h until day +100, the triazole may be interrupted and not substituted in appearance of toxicity; (b) for intermediate-risk: oral voriconazole 200 mg/12 h until day +100 or until resolution of any of the dynamic risk factors (eg, extensive cGVHD or CMV reactivation); in appearance of toxicity, voriconazole should be replaced by another oral triazole (eg, posaconazole or isavuconazole); (c) for high-risk: oral voriconazole 300 mg/12 h until day +180 or until resolution of any of the dynamic risk factors; in appearance of toxicity, voriconazole should be replaced by another oral triazole; chest CT scan every 2 months during the first year.

As far as we know, this is the first prognostic index to predict the occurrence of post-engraftment IFD validated in an external cohort of alloSCT recipients. Thus, our validated prognostic index could be useful to implement risk-adapted antifungal prophylactic strategies in the post-engraftment alloSCT setting. Nevertheless, our prognostic tool should be used only in the setting of post-engraftment patients fulfilling the study inclusion/exclusion criteria. This study suggests that a full-dose schedule of oral voriconazole prophylaxis could reduce the risk of IFD in the low/intermediate-risk patients, without a significant impact in the high-risk patients, for whom optimised prophylactic schedules or more effective agents should be considered.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank to Carlos Pastorini, David Pellicer, and Shirley Weiss for data collection and management. This study was in part supported by Asociación Medicina e Investigación (A.M.I.), a grant 2012/023 from the Instituto de Investigación Sanitaria La Fe.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no other conflict of interest.

AUTHORS CONTRIBUTION

Pau Montesinos, Rebeca Rodríguez-Veiga, Estefanía García, Antonio Torres and Miguel A. Sanz conceived the study, analysed and interpreted the data; Pau Montesinos, Rebeca Rodríguez-Veiga, Blanca Boluda and Antonio Torres wrote the paper; Pau Montesinos and Rebeca Rodríguez-Veiga performed the statistical analyses; Rafael Rojas, Josefina Serrano, David Martínez-Cuadrón, Carmen Martín, Jaime Sanz, Salvador Tabares, José L. Piñana, Ignacio Lorenzo, Miguel Salaver, Javier Pernán, Isidro Jarque, Juan Montoro, Pilar Solves and Guillermo F. Sanz reviewed the manuscript and contributed to the final draft.

ORCID

Pau Montesinos  <https://orcid.org/0000-0002-3275-5593>

REFERENCES

- Zhang P, Jiang EL, Yang DL, et al. Risk factors and prognosis of invasive fungal infections in allogeneic stem cell transplantation recipients: a single-institution experience. *Transpl Infect Dis*. 2010;12(4):316-321.
- Kontoyannis DP, Marr KA, Park BJ, 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(8):1091-1100.
- Marr KA, Carter RA, Boeckh M, Martin P, Corey L. Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: changes in epidemiology and risk factors. *Blood*. 2002;100(13):4358-4366.
- García-Vidal C, Upton A, Kirby KA, Marr KA. Epidemiology of invasive mold infections in allogeneic stem cell transplant recipients: biological risk factors for infection according to time after transplantation. *Clin Infect Dis*. 2008;47(8):1041-1050.
- Mikulska M, Raiola AM, Bruno B, et al. Risk factors for invasive aspergillosis and related mortality in recipients of allogeneic SCT from alternative donors: an analysis of 306 patients. *Bone Marrow Transplant*. 2009;44(6):361-370.
- Choi JK, Cho SY, Yoon SS, et al. Epidemiology and risk factors for invasive fungal diseases among allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients in Korea: results of "RISK" Study. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2017;23(10):1773-1779.
- Marks DI, Pagliuca A, Kibbler CC, et al. Voriconazole versus itraconazole for antifungal prophylaxis following allogeneic haematopoietic stem-cell transplantation. *Br J Haematol*. 2011; 155(3):318-327.
- Robin C, Cordonnier C, Sitbon K, et al. Mainly post-transplant factors are associated with invasive aspergillosis after allogeneic stem cell transplantation: a study from the surveillance des aspergilloses invasives en France and Société Francophone de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019;25(2):354-361. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2018.09.028>. Epub 2018 Sep 27.
- Portugal RD, Garnica M, Nucci M. Index to predict invasive mold infection in high-risk neutropenic patients based on the area over the neutrophil curve. *J Clin Oncol*. 2009;27(23):3849-3854.
- Ullmann AJ, Lipton JH, Vesole DH, et al. Posaconazole or fluconazole for prophylaxis in severe graft-versus-host disease. *N Engl J Med*. 2007;356(4):335-347.
- Montesinos P, Rodríguez-Veiga R, Boluda B, et al. Incidence and risk factors of post-engraftment invasive fungal disease in adult allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients receiving oral azoles prophylaxis. *Bone Marrow Transplant*. 2015;50(11):1465-1472.
- Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant*. 1995; 15(6):825-828.
- Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL, et al. Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients. *Am J Med*. 1980; 69(2):204-217.
- Montesinos P, Sanz J, Cantero S, et al. Incidence, risk factors, and outcome of cytomegalovirus infection and disease in patients receiving prophylaxis with oral valganciclovir or intravenous ganciclovir after umbilical cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009;15(6):730-740.
- Moons KG, Altman DG, Reitsma JB, et al. Transparent Reporting of a multivariable prediction model for Individual Prognosis or Diagnosis (TRIPOD): explanation and elaboration. *Ann Intern Med*. 2015;162(1):W1-W73.
- De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, 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; 46:1813-1821.
- Gray RJ. A class of K-sample test for comparing the cumulative incidence of a competing risk. *Ann Stat*. 1988;16(3):1141-1154.
- Steyerberg EW, Vickers AJ, Cook NR, et al. Assessing the performance of prediction models: a framework for traditional and novel measures. *Epidemiology*. 2010;21(1):128-138.
- Thursky K, Byrnes G, Grigg A, Szer J, Slavin M. Risk factors for post-engraftment invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2004;34(2):115-121.
- Neofytos D, Horn D, Anaissie E, et al. Epidemiology and outcome of invasive fungal infection in adult hematopoietic stem cell transplant recipients: analysis of Multicenter Prospective Antifungal Therapy (PATH) Alliance registry. *Clin Infect Dis*. 2009;48(3):265-273.
- Maertens JA, Girmenia C, Brüggemann RJ, et al. European guidelines for primary antifungal prophylaxis in adult haematology patients: summary of the updated recommendations from the European Conference on Infections in Leukaemia. *J Antimicrob Chemother*. 2018;73(12):3221-3230.

How to cite this article: Rodríguez-Veiga R, Montesinos P, García E, et al. Validation of a multivariable prediction model for post-engraftment invasive fungal disease in 465 adult allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Mycoses*. 2019;00:1-10. <https://doi.org/10.1111/myc.12891>

8.2.2 *Manuscrito en castellano*

TÍTULO

Validación de un modelo de predicción multivariable de la infección fúngica invasiva post-injerto en 465 receptores adultos de trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos

RESUMEN

Antecedentes

Recientemente presentamos un modelo simple de predicción multivariable para evaluar el riesgo de IFI tras el injerto mieloide, este modelo se obtuvo gracias al estudio de 404 receptores de alo-TPH (cohorte de entrenamiento)

Objetivos

El objetivo de este estudio es validar este modelo de predicción en una cohorte externa evaluando la incidencia acumulada de IFI en el primer año post alo-TPH (cohorte de validación). Además, se analiza el tipo y la incidencia de IFI según la profilaxis recibida.

Material y métodos

Se incluyeron consecutivamente 465 receptores de alo-TPH adultos que fueron dados de alta sin IFI previa y que sobrevivieron al menos 40 días tras la infusión de progenitores.

Resultados

La edad media de los pacientes incluidos fue de 45 años (rango 14-69 años). Se clasificaron en bajo riesgo, 139 pacientes, riesgo intermedio, 162 pacientes y alto riesgo, 164 pacientes; El 35% receptores de alo-TPH de la cohorte de validación fue de clasificada de alto riesgo en comparación al 27% en la cohorte de entrenamiento, $p=0.03$. La IA de IFI probable o probada en la cohorte de validación fue del 8% frente al 11% en la cohorte de entrenamiento ($p=0.006$). El 65 % de los receptores incluidos la cohorte de entrenamiento recibió voriconazol 100 mg/12 h (esta fue la única dosis de voriconazol en esta cohorte), mientras que en la cohorte de validación sólo el 27% de los receptores de alo-TPH recibieron 100mg/12h y el 38% recibió profilaxis a la dosis de 200mg/12 h. Esta diferencia en la profilaxis de voriconazol administrada se refleja en una IA al año de IFI menor en la cohorte de validación (8% vs 11%, $p=0.006$). El modelo de predicción multivariable para evaluar el riesgo de IFI tras el

injerto mieloide se validó, la IA para los pacientes clasificados de bajo riesgo fue del 3%, 6% para los de riesgo intermedio y 14% para los de alto riesgo ($p < 0.001$)

Conclusión

Según nuestro conocimiento este es el primer modelo de predicción multivariable para evaluar el riesgo de IFI tras el injerto que ha sido validado en una cohorte externa.

INTRODUCCIÓN

La infección fúngica invasiva (IFI) es un reto y una causa de morbilidad y mortalidad en pacientes sometidos a trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH) (1,2). Varios estudios, realizados sobre todo en series retrospectivas de una única institución, han analizado la incidencia y los factores de riesgo de IFI tras el alo-TPH, (1-8) reportando una incidencia que varía entre el 1% y el 20% (1-10). Existen pocos estudios que analicen la epidemiología y los factores de riesgo de IFI después del injerto mieloide en receptores adultos de alo-TPH (3-6,9), y hasta donde nosotros sabemos, no existen modelos de predicción multivariable validados de la infección fúngica invasiva post-injerto en este contexto.

Recientemente desarrollamos en una cohorte de 404 receptores adultos alo-TPH, un sistema simple de puntuación con valor pronóstico para predecir el desarrollo de IFI post-injerto, usando 5 variables pre y post-trasplante, que podría ser útil para mejorar en el futuro las estrategias de profilaxis. (11) Nuestro modelo de predicción multivariable de la infección fúngica invasiva post-injerto clasificó a los receptores de alo-TPH en tres grupos de aproximadamente un tercio cada uno. El grupo de bajo riesgo mostró un 0.7% de incidencia acumulada (IA) de IFI, mientras que en los grupos de riesgo intermedio y alto la IA fue de 9.9% y 24.7%, respectivamente. No obstante, este sistema de puntuación con valor pronóstico post-injerto debe ser validado en una cohorte externa.

Los objetivos de este estudio son a) validar el modelo de predicción multivariable de la infección fúngica invasiva post-injerto en una cohorte externa de pacientes adultos sometidos a alo-TPH y b) evaluar el impacto de la profilaxis antifúngica primaria en capacidad predictiva de este modelo de predicción de IFI post-injerto.

MATERIAL y MÉTODOS

Diseño del estudio y selección de pacientes

Las historias clínicas consecutivas y sin selección de todos los pacientes adultos con neoplasias hematológicas sometidos a un aloTPH entre 2003 y 2016 en el Hospital Universitario Reina Sofía (Córdoba, España) y entre 2014 y 2016 en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe (Valencia, España) fueron con el fin de evaluar los criterios de elegibilidad para este estudio retrospectivo. Se consideraban elegibles los pacientes que cumplían todos los siguientes criterios: a) injerto mieloide estable con recuperación de neutrófilos (más de 3 días con un recuento absoluto de neutrófilos (ANC) superior a $0,5 \times 10^9/L$ y quimerismo completo del donante); b) los pacientes debían sobrevivir más de 40 días tras el aloTPH y recibir alta hospitalaria (tratamiento ambulatorio) y recibir profilaxis antifúngica por vía oral según las recomendaciones institucionales establecidas en ese momento; c) pacientes sin sospecha o diagnóstico de IFI en el periodo pre trasplante o el período temprano post-trasplante (es decir, todos los pacientes dados de alta con profilaxis antimicótica secundaria o terapia antimicótica no eran elegibles); d) seguimiento mínimo de 180 días y e) pacientes no incluidos en el estudio anterior para el desarrollo modelo de predicción de IFI post-injerto, tal y como se ha publicado anteriormente (esos pacientes tratados de 2001 a 2013 en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe, se consideran aquí como la cohorte de entrenamiento).(11) Todos los pacientes dieron su consentimiento informado de acuerdo con las directrices institucionales. Todos los pacientes dieron su consentimiento informado de acuerdo con las pautas institucionales. Este estudio retrospectivo fue aprobado por la Comisión de Ética para la Investigación de la institución de acuerdo con la Declaración de Helsinki (número de estudio 2013/0036).

Fuente de progenitores, regímenes de acondicionamiento y profilaxis de la EICH

A lo largo de todo el estudio, los pacientes fueron trasplantados de un hermano (idéntico o haploidéntico) o un donante no relacionado (sangre del cordón umbilical [UCBT] o médula ósea o sangre periférica) según la disponibilidad del donante y la urgencia del procedimiento. La correspondencia donante-receptor se basó en el tipaje del antígeno leucocitario humano (HLA). El régimen de acondicionamiento mieloablativo para los pacientes que recibieron un alo-TPH de hermano idéntico consistió en ciclofosfamida (CY) e irradiación corporal total (TBI) o busulfán (BU) y fludarabina (FLU); Adicionalmente, algunos pacientes recibieron melphalan más TBI como acondicionamiento antes de 2004. Los pacientes que recibieron un aloTPH de un donante no emparentado recibieron BU más FLU más tiotepa (TT) con linfoglobulina o timoglobulina (ATG), o CY más TBI más ATG. El régimen de

acondicionamiento para pacientes que recibieron un trasplante haploidéntico consistió en BU más FLU más CY. Se recomendaba un régimen de intensidad reducida (RIC) con dosis más bajas de BU más FLU \pm TT o FLU más melphalan (MEL) en pacientes mayores de 55 años o con mortalidad relacionada con el trasplante previsiblemente alta. Desde 2007, algunos pacientes recibieron UCBT usando RIC con BUFLUTT y ATG.

La profilaxis de la enfermedad de injerto contra huésped aguda (EICH) consistió en ciclosporina más metotrexato en aloTPH de hermanos HLA idénticos o donantes no emparentados idénticos, a excepción de aquellos pacientes que recibieron progenitores con selección CD34 + positiva que recibieron ciclosporina y prednisona. A partir de 2012, algunos pacientes del Hospital Universitario Reina Sofía recibieron profilaxis con tacrolimus y sirolimus. La profilaxis de la UCBT se realizó con ciclosporina y prednisona o ciclosporina y micofenolato. En los aloTPH haploidénticos, la profilaxis consistió en CY post-trasplante junto con tacrolimus y micofenolato. La EICH aguda y crónica fue clasificada según los criterios publicados previamente (12,13).

La prevención de la reactivación y de enfermedad por citomegalovirus (CMV) tras el injerto se realizó con ganciclovir intravenoso o valganciclovir oral en todos los pacientes seropositivos al CMV en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe, (14) y aciclovir oral para los pacientes seronegativos, esta fue también la profilaxis de todos los pacientes del Hospital Reina Sofía. Una vez que la PCR del CMV o la pp65 Ag se positivaban, se iniciaba tratamiento anticipado en primera línea con ganciclovir intravenoso 5 mg/kg dos veces al día o valganciclovir oral 900 mg dos veces al día (dosis ajustada de acuerdo con la tasa de filtrado glomerular).

Diagnóstico, profilaxis y tratamiento de la IFI después del injerto mieloide

Siguiendo las recomendaciones establecidas por la institución aquellos pacientes con un aloTPH de donante no emparentado o con una disparidad HLA y aquellos con un aloTPH de un hermano HLA-idéntico que requerían corticoides sistémicos para tratamiento de la EICH aguda, recibieron profilaxis antifúngica primaria por vía oral desde el injerto o desde el alta hasta el día +100 (\pm 15 días). La profilaxis consistía en voriconazol a dosis bajas en pacientes del Hospital Universitario y Politécnico La Fe (100 mg/12h o 200 mg/24h) y voriconazol a dosis completas (200 mg/12h) en pacientes del Hospital Universitario Reina Sofía. Los receptores de un trasplante de hermano HLA idéntico que no precisaban corticoides sistémico al alta, recibieron fluconazol oral de 100 a 400 mg/día hasta el día +100 (\pm 15 días). En los

pacientes que desarrollaron EICH crónico en tratamiento con prednisona oral a una dosis superior a 20 mg/día se recomendaba voriconazol. Dicha profilaxis se mantuvo hasta que la dosis de prednisona se reducía por debajo de 15-20 mg/día. Se retiraba la profilaxis oral a discreción del médico en caso de toxicidad limitante o al iniciarse el tratamiento antifúngico ante la sospecha o la documentación de una IFI.

Durante todo el periodo del estudio se recomendaba la realización del antígeno de galactomanano de *Aspergillus* (AGA) cada 7 o 15 días hasta el día +100. La tomografía computarizada estuvo disponible durante todo el período de estudio (TC) y se recomendaba siempre que hubiese algún motivo clínico (a saber, neutropenia febril con duración superior a 5–7 días, o en caso de sospecha de infección pulmonar).

El diagnóstico y la clasificación de la IFI se realizó de acuerdo con las definiciones revisadas de 2008 de la Organización Europea para la Investigación y el Tratamiento del Cáncer y Micosis (EORTC/MSG) (16).

Cuando se sospechaba la existencia de una IFI, se iniciaba a criterio del médico el tratamiento antifúngico. Se monitorizó el curso clínico de la IFI siguiendo la evolución clínica y usando las pruebas radiológicas y microbiológicas estándar según su disponibilidad.

Recogida de datos

El método para la recogida de datos se ha descrito anteriormente (11).

Definiciones del estudio y objetivos

El objetivo principal del estudio fue evaluar el IA al 1 año de IFI post-injerto (probable y probada) de acuerdo con el modelo de predicción multivariable desarrollado previamente para pacientes adultos sometidos a un aloTPH (11). A modo de resumen, este modelo de multivariable permitía según una puntuación, que usaba factores de riesgo seleccionados en el análisis multivariable, predecir el riesgo de desarrollar una IFI post-injerto. Las cinco variables pronósticas, incluyendo tres variables estáticas (presentes desde el injerto): edad (punto de corte > 40 años), número de TPH previos (punto de corte ≥ 1) y duración de la neutropenia previa al injerto (punto de corte > 15 días) y dos variables dinámicas: desarrollo de EICH crónica extensa a partir del día +100 (sí o no) y reactivación del CMV hasta el día +180 (sí o no). Se asignó un punto a cada factor de riesgo independiente para construir el modelo de predicción multivariable post-injerto. Así se clasificaron a los receptores de aloTPH en tres grupos de un tercio aproximadamente cada uno (de 3 a 5 puntos riesgo alto, 2 puntos riesgo intermedio y de 0 a 1 punto bajo riesgo para el desarrollo de IFI) (11). Se siguieron las pautas/lista de verificación TRIPOD diseñadas para los

estudios de validación (15). Los objetivos secundarios fueron el tipo de IFI (según los aislamientos microbiológicos, el lugar de la infección y siguiendo los criterios de EORTC) y la incidencia de IFI según el tipo de profilaxis primaria (a saber, dosis completa de voriconazol oral comparada con otros).

Metodología estadística

El análisis se realizó con el principio de intención de tratar “intention to treat analysis”. Para el análisis de las diferencias en la distribución de variables entre subconjuntos de pacientes se usó el análisis “Chi-square”. Los análisis tiempo hasta el evento no ajustado se calcularon a partir de la fecha de aloTPH. Con el fin de validar el modelo de predicción de IFI post-injerto multivariable, los pacientes de la cohorte de validación fueron clasificados según el riesgo establecido en dicho sistema de puntuación. La probabilidad de IFI se calculó mediante el método de IA (para probabilidad marginal) con la finalidad de tener en cuenta los riesgos competitivos y se comparó mediante la prueba de Gray (17). En el análisis de IA de IFI se consideraron como causa competitiva del fracaso: la muerte, el fallo de injerto secundario y la recaída. El seguimiento de los pacientes se realizó hasta su fallecimiento o fecha de último seguimiento. El seguimiento de los pacientes se actualizó en febrero de 2017, con una mediana de seguimiento en los supervivientes de 30 meses (rango, 7- 180 meses). El sistema de puntuación de Brier se calculó usando un paquete de software R (R Core Team, Viena, Austria, <http://www.R-project.org/>) (18). Todos los pacientes incluidos en la cohorte de validación disponían de datos completos, que como mínimo contenía todos los factores de riesgo independientes usados para la construcción del modelo predictivo. Todos los valores de P informados son bilaterales. Los cálculos estadísticos se realizaron usando el paquete de software R-2.14.0.

RESULTADOS

Características de los pacientes y del trasplante

Un total de cuatrocientos sesenta y cinco pacientes trasplantados de enero de 2003 a junio de 2016 resultaron elegibles para el estudio (cohorte de validación), de ellos 278 correspondían al Hospital Universitario Reina Sofía (2003-2016) y 187 del Hospital Universitario y Politécnico La Fe (2014-2016) (Figura 1).

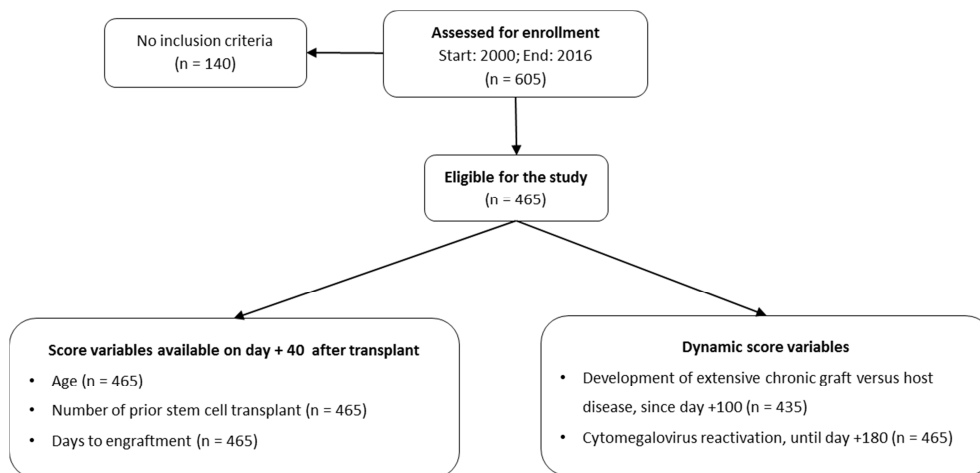


Figura 1. Diagrama CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) para la cohorte de validación.

La Tabla 1 muestra las principales características de los pacientes y del trasplante en la cohorte de validación. En resumen, se incluyeron 281(60%) varones, la mediana de edad de los receptores fue de 45 años (rango, 14-69 años). La patología subyacente más frecuente fue la leucemia mieloblástica aguda (LMA) (46%), seguido de la leucemia linfoblástica aguda (LLA) (22%). En el 73% de los pacientes el aloTPH se realizó en una fase temprana de la enfermedad. Se había realizado un TPH previo en 93 (20%) pacientes. El tipo de aloTPH más frecuente fue el de donante hermano HLA idéntico, 276 (59%). Doscientos setenta y siete (60%) pacientes recibieron un régimen de acondicionamiento mieloablativo, y el resto, 188 (40%), recibió RIC. En cuanto a la profilaxis antifúngica primaria, 177 (38%) pacientes recibieron la dosis completa de voriconazol, 125 (27%) recibieron dosis bajas de voriconazol, 149 (32%) no recibieron profilaxis antifúngica y 14 (3%) pacientes recibieron otra profilaxis antifúngica.

Se distribuyeron los pacientes según el modelo de predicción de IFI post-injerto multivariable de la siguiente manera: 139 pacientes (30%) bajo riesgo (0-1 puntos), 162 pacientes (35%) riesgo intermedio (2 puntos), y 164 pacientes (35%) alto riesgo (3 a 5 puntos). La Tabla 1 muestra también las diferencias estadísticamente significativas entre la cohorte de entrenamiento y validación. En resumen, la cohorte de validación mostraba comparativamente más pacientes mayores ($P < 0.03$), más trasplante de médula ósea de donante no emparentado y menos de cordón umbilical ($P < 0.001$), más regímenes que contenían TBI y menos con ATG ($P < 0.001$), un mayor número de pacientes con neutropenia previa al injerto de más de 15 días ($P < 0.001$), más reactivaciones CMV hasta el día + 180 ($P = 0.009$) y menos EICH crónica extensa (P

<0.001). Un mayor número de pacientes de la cohorte de validación fue clasificado como alto riesgo (3 a 5 puntos) ($P = 0.03$).

Tabla 1. Características principales del paciente y de los trasplantes en las cohortes de entrenamiento y validación.

Características	Cohorte de entrenamiento N (%)	Cohorte de validación N (%)	P*
Total	404	465	
Sexo			
Varones	232 (57)	281 (60)	0.41
Mujeres	172 (43)	184 (40)	
Edad, años			
≤ 40	197 (49)	193 (42)	0.03
> 40	207 (51)	272 (58)	
Enfermedad de base			
LLA	91 (23)	100 (22)	0.68
LMA/SMD	192 (48)	212 (46)	
LNH/LH	55 (14)	77 (17)	
Otras	66 (16)	76 (16)	
Estadio de la enfermedad			
Temprano	263 (65)	339 (73)	0.16
Avanzado	118 (29)	123 (26)	
Otros	23 (6)	3 (1)	
Fuente de los progenitores			
Médula ósea	10 (2)	136 (29)	<0.001
Cordón umbilical	144 (36)	81 (17)	
Sangre periférica	250 (62)	248 (53)	
TPH previo			
Ninguno	325 (80)	372 (80)	0.94
Autólogo	63 (16)	63 (13)	
Alogénico	21 (5)	30 (7)	
Tipo de trasplante			
Hermano HLA idéntico	232 (57)	276 (59)	<0.001
Cordón umbilical	144 (36)	81 (17)	
No emparentado	25(6)	84 (18)	
Hermano haploidéntico	3 (1)	24 (5)	
Régimen de			

Características	Cohorte de entrenamiento N (%)	Cohorte de validación N (%)	P*
acondicionamiento			
Mieloablativo	269 (67)	277 (60)	0.04
Intensidad reducida	135 (33)	188 (40)	
Acondicionamiento con TBI			
Sí	0 (0)	149 (32)	<0.001
No	404 (100)	316 (68)	
Acondicionamiento con FLU			
Sí	302 (75)	306 (66)	0.005
No	102 (25)	159 (34)	
Acondicionamiento con ATG			
Sí	178 (44)	152 (33)	<0.001
No	226 (56)	313 (67)	
Profilaxis EICHa			
Cya-metotrexato	215 (53)	229 (49)	<0.001
Cya-prednisona	142 (35)	66 (14)	
Cya-micofenolato	40 (10)	101 (22)	
Tacrolimus-sirolimus	0 (0)	39 (8)	
Ciclofosfamida post-trasplante	0 (0)	15 (3)	
Otro	7 (3)	15 (3)	
Tipo de profilaxis primaria			
No/fluconazol	41 (10)	149 (32)	<0.001
Itraconazol	102 (25)	0 (0)	
Dosis baja voriconazol	261 (65)	125 (27)	
Dosis completa voriconazol	0 (0)	177 (38)	
Otros antifúngicos con cobertura para filamentosos	0 (0)	14 (3)	
Días de neutropenia pre-injerto			
≤15	259 (64)	219 (47)	<0.001
>15	144 (36)	246 (53)	
EICHe extenso*			

Características	Cohorte de entrenamiento N (%)	Cohorte de validación N (%)	P*
No	194 (51)	278 (63)	<0.001
Sí	186 (49)	157 (36)	
Reactivación CMV hasta el +180			
No	263 (65)	261 (56)	0.009
Sí	141 (35)	204 (44)	
IFI score post-injerto			
0-1 (bajo riesgo)	143 (35)	139 (30)	0.033
2 (riesgo intermedio)	151 (37)	162 (35)	
3-5 (alto riesgo)	110 (27)	164 (35)	

Abreviaturas: IFI: Infección fúngica invasiva; LLA: leucemia linfoblástica aguda; LMA: leucemia mieloblástica aguda; SMD: Síndrome mielodisplásico; LNH: Linfoma no Hodgkin; LH: linfoma Hodgkin; CMV: citomegalovirus; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos; FLU: fludarabina; ATG: linfoglobulina o timoglobulina; Cya: ciclosporina; EICH: enfermedad injerto contra huésped *EICHc analizado sólo en pacientes evaluables (supervivientes día +100).

Incidencia y clasificación de la IFI post-injerto

La mediana del tiempo hasta el diagnóstico de la IFI fue de 132 días. La IA global de IFI a los 6 y 12 meses fue de 5% y 8% respectivamente, siendo significativamente menor que en encontrada en la cohorte de entrenamiento (8% y 11% respectivamente, $P = 0.006$) (Figura 2). Un total 42 episodios de IFI fueron diagnosticados (33 probables y 9 probados), siendo el pulmón el órgano más frecuentemente afectado y el *Aspergillus* spp. el aislamiento más frecuente (Tabla 2).

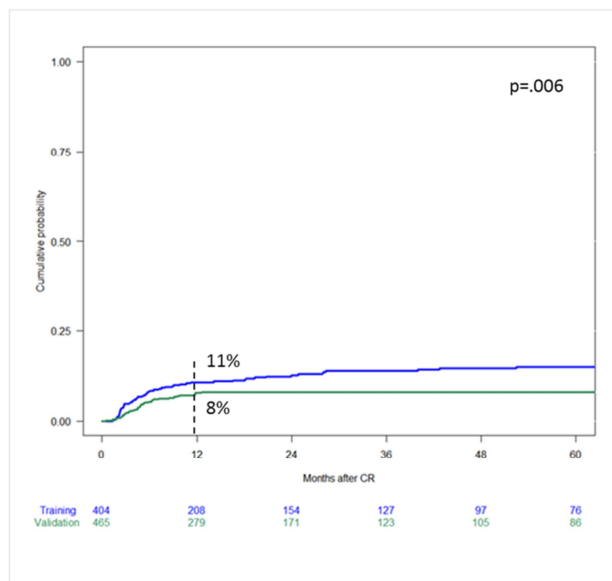


Figura 2. Comparativa de la incidencia acumulada (IA) de IFI en la cohorte de entrenamiento (azul) frente a la cohorte de validación (verde). La línea discontinua señala la IA de IFI al año.

Tabla 2. Características de las IFIs en la cohorte de validación

Tipo de IFI	N (%)
Probada	9 (21)
Probable	33 (79)
Lugar de la infección	
Pulmón	38 (90)
Torrente sanguíneo	1 (2)
Rino-sinusal	3 (7)
Patógeno fúngico	
<i>Aspergillus spp.</i>	38 (90)
<i>Cándida spp.</i>	1 (2)
<i>Mucor spp.</i>	3 (7)

Abreviatura: IFI: infección fúngica invasiva.

Validación del modelo de predicción de IFI post-injerto multivariable

Todos los pacientes de la cohorte de validación disponían de las cinco variables requeridas en el modelo de predicción multivariable. El análisis univariante mostró que las siguientes variables conservaban la importancia pronóstica del modelo de predicción de IFI post-injerto: > 15 días de neutropenia pre-injerto, desarrollo de EICH crónica extensa y reactivación del CMV hasta el día +180, sin embargo la edad > 40 años y la presencia de TPH previo no conservaban el valor predictivo único.

Tabla 3. Incidencia acumulada (IA) de IFI post-injerto en la cohorte de validación siguiendo las variables del modelo predictivo

Características	IC de IFI post-injerto a los 6 meses (intervalo de confianza 95%)	IC de IFI post-injerto a los 12 meses (intervalo de confianza 95%)	P
Total	8 (4-8)	8 (6-11)	
Edad, años			
≤ 40	4 (2-8)	6 (3-10)	0.24
> 40	6 (4-10)	9 (6-13)	
TPH previo			
Ninguno	5 (3-8)	7 (5-10)	0.12
Uno o más	6 (3-13)	11 (6-18)	
Días de neutropenia [†]			
≤15	4 (2-7)	5 (2-8)	0.01
>15	7 (4-11)	11 (7-15)	
EICHc extenso			
No	5 (3-8)	6 (3-9)	0.01
Sí	5 (3-10)	12 (7-17)	
Reactivación CMV [#]			
No	4 (2-7)	6 (3-9)	0.05
Sí	7 (4-11)	10 (6-15)	

Abreviaturas: IFI: infección fúngica invasiva; CMV: citomegalovirus; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos; EICHc: enfermedad injerto contra huésped crónica; [†] pre-injerto; [#] hasta día +180.

Usando el modelo de predicción de IFI post-injerto, la IA de IFI a los 6 y a los 12 meses para pacientes de riesgo bajo, intermedio y alto fue del 3% y 3%, 4% y 6%, y 9% y 14%, respectivamente (P = 0.0004) (Figura 3 y Tabla 4). La puntuación de Brier fue de 0.07518 (intervalo de confianza: 0.04959-0.1010).

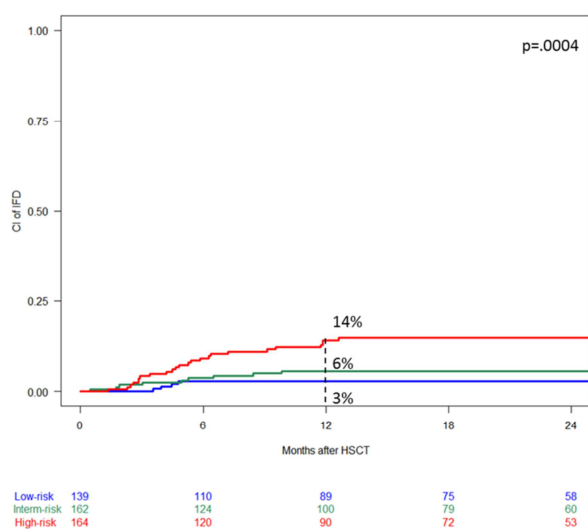


Figura 3. Incidencia acumulada (IA) de IFI según el número de factores de riesgo independientes. Azul, bajo riesgo: 0-1 factor, verde, riesgo intermedio: 2 factores y rojo, alto riesgo: 3 o más factores. La línea discontinua señala la IA de IFI al año.

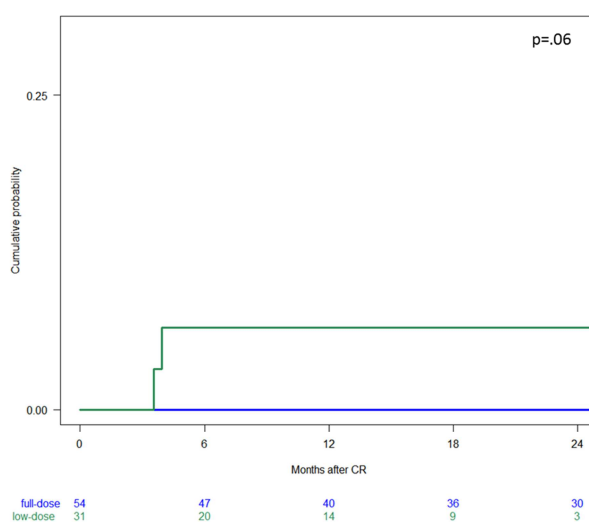
Tabla 4. Incidencia acumulada (IA) de IFI según el modelo predictivo y la dosis de voriconazol oral

Características	Número de pacientes (N)	IA de IFI a los 6 meses (%)	IA de IFI a los 12 meses (%)	P
Total	465	5	8	
Riesgo de IFI post-injerto				
Bajo	139	3	3	0.0004
Intermedio	162	4	6	
Alto	164	9	14	
Dosis de voriconazol / riesgo				
Completa / bajo	54	0	0	0.06
Baja / bajo	31	6	6	
Completa/intermedio	71	1	1	0.01
Baja/intermedio	40	5	13	
Completa/alto	52	8	17	0.64
Baja/alto	54	15	19	

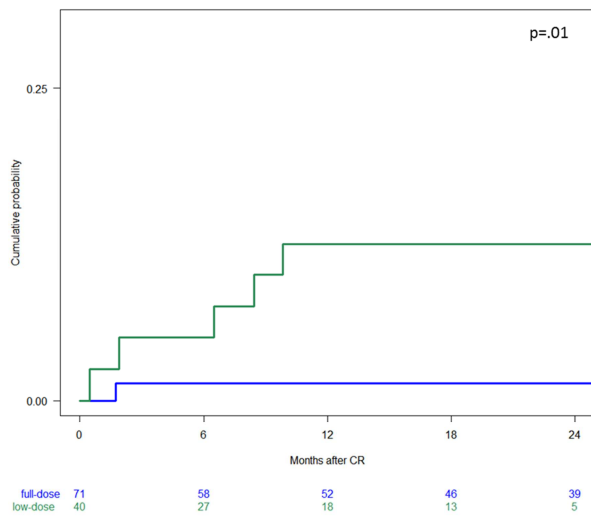
Abreviaturas: IFI: infección fúngica invasiva; IA: incidencia acumulada

Impacto de la dosis de voriconazol en la profilaxis de la IFI post-injerto

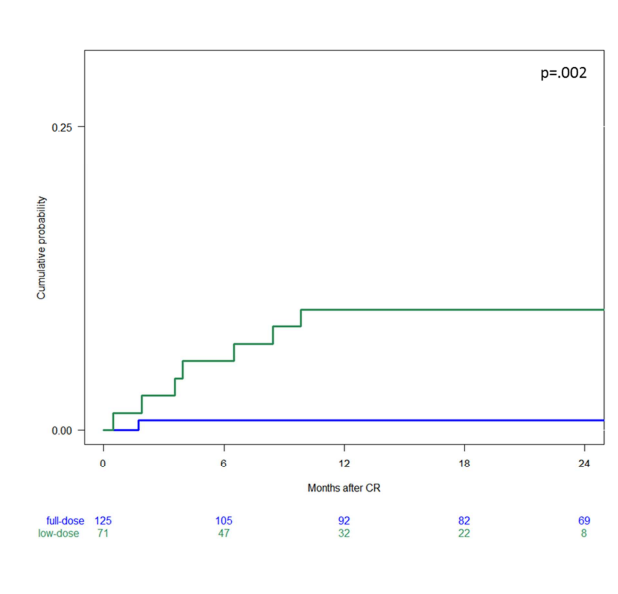
Del total de los 302 pacientes (65%) que recibieron voriconazol oral al alta, 125 (27%) recibieron dosis bajas y 177 (38%) dosis completas. El análisis univariante mostro que los pacientes que recibían la dosis completa tenían menos IA de IFI a los 6 y 12 meses en comparación con los que recibían las dosis bajas (3% y 6% vs 10% y 14%, $P = 0.009$). La tabla 4 muestra la IA de IFI según el riesgo y el esquema de voriconazol asignados. El voriconazol a dosis completas impacto beneficiosamente en los pacientes clasificados como riesgo bajo e intermedio ($P=0.06$ y $P=0.01$ respectivamente; $P=0.002$ si se consideran conjuntamente), pero no entre los pacientes de alto riesgo ($P = 0.64$) (Figura 4).



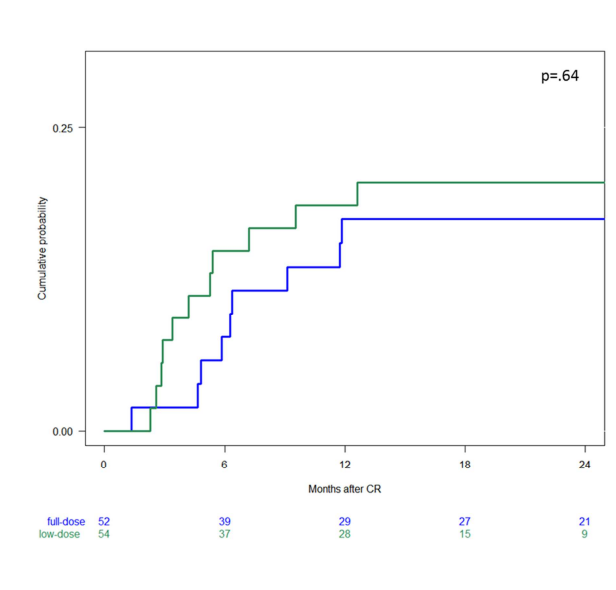
4a)



4b)



4c)



4d)

Figura 4. Incidencia acumulada de IFI tras el injerto según la dosis profiláctica de voriconazol: dosis baja 100 mg/12 h (verde), dosis completa 200 mg/12h (azul). (a) bajo riesgo. (b) riesgo intermedio. (c) riesgo bajo e intermedio juntos. (d) alto riesgo

DISCUSIÓN

Este estudio valida en una gran cohorte externa el modelo multivariable para predecir el riesgo de IFI probable/probada tras el injerto en pacientes adultos trasplantados por neoplasias hematológicas previamente desarrollado (11). A pesar de las diferencias entre la cohorte de validación y la cohorte de entrenamiento en las características y la profilaxis antifúngica, el modelo predictivo mantuvo su capacidad discriminatoria de la IA de IFI al año (bajo 3%, intermedio 6% y alto riesgo 14%, $P < 0.0001$). Además, el presente estudio sugiere que el uso de una profilaxis con voriconazol a dosis completa podría reducir la IA de IFI, en comparación con la profilaxis con dosis baja, especialmente en pacientes de riesgo bajo e intermedio.

Aunque anteriormente se habían identificado varios factores de riesgo para el desarrollo de IFI post-injerto (1-6) y algunos de ellos han servido para construir el modelo multivariable (9), que sepamos, en ningún caso un modelo predictivo de esta complicación fue validado en una cohorte externa. Como limitación de nuestro estudio, la cohorte histórica de entrenamiento y la de validación abarcan un período extenso y su análisis retrospectivo restringe la obtención de conclusiones confiables aplicables a

la actualidad. Además, ambas cohortes mostraron una gran heterogeneidad en muchas características críticas del paciente o del trasplante lo que podría influir potencialmente en el riesgo de IFI post-injerto (p. Ej., fuente de los progenitores, edad del paciente, régimen de acondicionamiento, profilaxis e incidencia de EICH, profilaxis e incidencia del CMV y tiempo hasta el injerto). De hecho, la cohorte de validación aquí analizada mostró con más frecuencia reactivación del CMV hasta el día +180, más pacientes de > 40 años y más tiempo hasta el injerto > 15 días. Por ello, se clasificaron más pacientes como alto riesgo para IFI post-injerto en la cohorte de validación en comparación con la cohorte de entrenamiento. A pesar de esta heterogeneidad, el modelo predictivo multivariable pudo discriminar la IA de la IFI en la cohorte de validación en tres categorías de riesgo creciente, al igual que lo hacía en la cohorte de entrenamiento. Sin embargo, la precisión de la predicción fue modesta a la hora de discriminar entre pacientes de riesgo bajo e intermedio (IA del 3% frente al 6% de IFI a los 12 meses), en comparación con la cohorte de entrenamiento original (1% frente al 10% a los 12 meses). Por otro lado, la población de alto riesgo en el grupo de validación demostró una IA mucho más alta de IFI (14% a los 12 meses), pero aun así menor a la IA informada en la cohorte de entrenamiento (24% a los 12 meses) (11). Es de suponer que las diferencias en la profilaxis antifúngica entre ambas cohortes podrían explicar estas diferencias, al menos en parcialmente.

La incidencia global de IFI post-injerto estuvo en concordancia con estudios previos que informan de una incidencia de IFI tardía o muy tardía en el aloTPH (entre el 7% y el 10%) (3-5,19). En cuanto al tipo y el lugar de la IFI, al igual que en estudios previos, el aislamiento más frecuente fue *Aspergillus* spp. y el órgano más frecuentemente afectado el pulmón (8,20). Otra posible crítica al presente estudio sería la incidencia global de IFI post-injerto que fue significativamente más baja en la cohorte de validación en comparación con la cohorte de entrenamiento (8% vs 11%, $P = 0.006$) (11). En la medida en la que más pacientes de la cohorte de validación fueron clasificados como de alto riesgo de IFI, se podría especular que la profilaxis antifúngica oral podría haber desempeñado un papel destacable reduciendo la tasa de IFI post-injerto. De hecho, aunque el 65% de los pacientes recibieron voriconazol oral en ambas cohortes, en la cohorte de validación el 38% recibió la dosis completa (200 mg/12 h) y solo el 27% la dosis baja (100 mg/12 h), sin embargo en la cohorte de entrenamiento todos los pacientes recibieron la dosis baja. Se podría argumentar que hablar de dosis baja y dosis completa de voriconazol carece de significado clínico, porque la exposición al fármaco no es predecible en la población (existe gran variabilidad farmacocinética intra-paciente no se midieron niveles en nuestra cohorte

de vida real). Sin embargo, se encontró aparentemente un efecto de la dosis en la profilaxis con voriconazol de nuestros pacientes que deberá confirmarse en futuros estudios bien diseñados. Como las cohortes del estudio no resultaron comparables, se analizó el impacto de la profilaxis con voriconazol a dosis completa frente a dosis bajas ajustándolo según el modelo de predicción multivariable, y se vio que los pacientes de riesgo bajo e intermedio mostraban un riesgo significativamente menor de IFI cuando recibían dosis completas de voriconazol. Sin embargo, la profilaxis con dosis completas no redujo de manera significativa el riesgo de IFI post-injerto en el grupo de alto riesgo, puesto que la IA al año era, aun así, muy alta con independencia de la dosis de voriconazol. Se podría afirmar que a pesar la buena tolerancia y actividad de la profilaxis con triazoles la prevención de la IFI sigue siendo un problema sin resolver entre los pacientes con aloTPH (21). Esto podría deberse a la corta duración de la profilaxis, tal y como se muestra en la curva de IA de IFI probable/probada en pacientes de alto riesgo, con un aumento constante de la incidencia durante el primer año. Se puede argumentar que muchos pacientes de alto riesgo interrumpieron la profilaxis tras los primeros 6 meses a pesar de presentar factores de riesgo como la EICH crónica, el uso de corticoides, la reactivación del CMV o inclusive casos de infección subclínica preexistente desarrolladas en el período post-trasplante temprano. Nuestros datos destacan la importancia de prolongar la profilaxis antifúngica en pacientes de alto riesgo. Otras estrategias para prevenir la IFI en este contexto podrían ser las siguientes: a) nuevos agentes antifúngicos orales con un perfil de seguridad más favorable (en particular menos hepatotoxicidad y menos interacciones farmacológicas) que permitan una administración de fácil administración y mantenida en el tiempo, b) programas que combinen o roten los fármacos mientras persistan el alto riesgo, en un intento de incrementar así la actividad antifúngica. Debemos subrayar que la mayoría de los episodios de IFI post-injerto ocurrieron antes del día + 180, período de tiempo en el que se han descrito algunos factores tempranos importantes para IFI como EICH aguda o el uso de corticosteroides. El hecho de que esos factores predictivos no formaran parte del modelo multivariable, asociado a la inclusión de predictores tardíos (es decir, EICH crónica), podría restringir potencialmente la utilidad clínica del modelo predictivo a la detección de IFIs tardías (de 3 meses a 1 año post-alloTPH). Sin embargo, nuestro modelo multivariable validado de predicción de IFI post-injerto podría usarse de una forma dinámica en la que los pacientes ya pueden tener cuatro de cinco factores de riesgo durante los primeros 3 meses (ya que la reactivación del CMV puede ocurrir en el período inmediatamente posterior al trasplante), permitiendo guiar la profilaxis a corto y largo plazo.

Siguiendo nuestro modelo multivariable validado de predicción de IFI post-injerto, podríamos implementar el siguiente esquema de profilaxis antifúngica adaptada al riesgo: a) para bajo riesgo: voriconazol oral 200 mg/12h hasta el día +100, el triazol podría interrumpirse y no sustituirse en caso de toxicidad; b) para riesgo intermedio: voriconazol oral 200 mg/12 h hasta el día +100 o hasta la resolución de cualquiera de los factores de riesgo dinámicos (p. ej., reactivación de EICH crónico extenso o del CMV); en caso de toxicidad, el voriconazol debería ser reemplazado por otro triazol oral (por ejemplo, posaconazol o isavuconazol); c) para alto riesgo: voriconazol oral 300 mg/12 h hasta el día +180 o hasta la resolución de cualquiera de los factores de riesgo dinámicos; en caso de toxicidad, el voriconazol debería reemplazarse por otro triazol oral; se propone la realización de tomografía computarizada del tórax cada 2 meses durante el primer año.

Hasta donde nosotros sabemos, este es el primer índice pronóstico con capacidad de predecir la ocurrencia de IFI post-injerto que ha sido validado en una cohorte externa de receptores aloTPH. Por lo tanto, nuestro modelo validado de predicción podría ser útil para implementar estrategias de profilaxis antifúngica adaptándolas al riesgo en el entorno post-injerto del aloTPH. Sin embargo, esta herramienta debe usarse en post-injerto y solo en el contexto de pacientes que cumplan los criterios de inclusión/exclusión del estudio. Este estudio sugiere que la profilaxis a dosis completa con voriconazol oral podría reducir el riesgo de IFI en los pacientes de riesgo bajo/intermedio, sin que presente un impacto significativo en los pacientes de alto riesgo, para quienes debemos considerar una profilaxis optimizada o el uso de fármacos más eficaces.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Carlos Pastorini, David Pellicer y Shirley Weiss por la recogida y gestión de los datos. Este estudio fue apoyado en parte por la Asociación Medicina e Investigación (A.M.I.), y por una beca 2012/023 del Instituto de Investigación Sanitaria La Fe.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de intereses.

AUTORÍA

Pau Montesinos, Rebeca Rodríguez-Veiga, Estefanía García, Antonio Torres y Miguel A. Sanz concibieron el estudio, analizaron e interpretaron los datos; Pau Montesinos, Rebeca Rodríguez-Veiga, Blanca Boluda y Antonio Torres escribieron el artículo; Pau Montesinos y Rebeca Rodríguez-Veiga realizaron los análisis estadísticos; Rafael Rojas, Josefina Serrano, David Martínez- Cuadrón, Carmen Martín, Jaime Sanz, Salvador Tabares, José L. Piñana, Ignacio Lorenzo, Miguel Salavert, Javier Pemán, Isidro Jarque, Juan Montoro, Pilar Solves y Guillermo F. Sanz revisaron el manuscrito. y contribuyeron al borrador final.

ORCID

Pau Montesinos <https://orcid.org/0000-0002-3275-5593>

BIBLIOGRAFÍA

1. Zhang P, Jiang EL, Yang DL, et al. Risk factors and prognosis of invasive fungal infections in allogeneic stem cell transplantation recipients: a single-institution experience. *Transpl Infect Dis.* 2010; 12 (4): 316-321.
2. Kontoyiannis DP, Marr KA, Park BJ, 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 (8): 1091-1100.
3. Marr KA, Carter RA, Boeckh M, Martin P, Corey L. Invasive aspergilosis in allogeneic stem cell transplant recipients: changes in epidemiology and risk factors. *Blood.* 2002; 100 (13): 4358-4366.
4. Garcia-Vidal C, Upton A, Kirby KA, Marr KA. Epidemiology of invasive mold infections in allogeneic stem cell transplant recipients: biological risk factors for infection according to time after transplantation. *Clin Infect Dis.* 2008; 47 (8): 1041-1050.
5. Mikulska M, Raiola AM, Bruno B, et al. Risk factors for invasive aspergilosis and related mortality in recipients of allogeneic SCT from alternative donors: an analysis of 306 patients. *Bone Marrow Transplant.* 2009; 44 (6): 361-370.
6. Choi JK, Cho SY, Yoon SS, et al. Epidemiology and risk factors for invasive fungal diseases among allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients in

Korea: results of "RISK" Study. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2017; 23 (10): 1773-1779.

7. Marks DI, Pagliuca A, Kibbler CC, et al. Voriconazole versus itraconazole for antifungal prophylaxis following allogeneic haematopoietic stem-cell transplantation. *Br J Haematol.* 2011; 155 (3): 318-327.

8. Robin C, Cordonnier C, Sitbon K, et al. Mainly post-transplant factors are associated with invasive aspergillosis after allogeneic stem cell transplantation: a study from the surveillance des aspergilloses invasives en France and Société Francophone de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019; 25 (2): 354-361. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2018.09.028>. Epub 2018 Sep 27.

9. Portugal RD, Garnica M, Nucci M. Index to predict invasive mold infection in high-risk neutropenic patients based on the area over the neutrophil curve. *J Clin Oncol.* 2009; 27 (23): 3849-3854.

10. Ullmann AJ, Lipton JH, Vesole DH, et al. Posaconazole or fluconazole for prophylaxis in severe graft- versus- host disease. *N Engl J Med.* 2007; 356 (4): 335-347.

11. Montesinos P, Rodríguez-Veiga R, Boluda B, et al. Incidence and risk factors of post-engraftment invasive fungal disease in adult allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients receiving oral azoles prophylaxis. *Bone Marrow Transplant.* 2015; 50 (11): 1465-1472.

12. Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant.* nineteen ninety five; 15 (6): 825-828.

13. Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL, et al. Chronic graft- versus- host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients. *Am J Med.* 1980; 69 (2): 204-217.

14. Montesinos P, Sanz J, Cantero S, et al. Incidence, risk factors, and outcome of cytomegalovirus infection and disease in patients receiving prophylaxis with oral valganciclovir or intravenous ganciclovir after umbilical cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009;

15 (6): 730-740. 15. Moons KG, Altman DG, Reitsma JB, et al. Transparent Reporting of a multivariable prediction model for Individual Prognosis or Diagnosis (TRIPOD): explanation and elaboration. *Ann Intern Med.* 2015; 162 (1): W1-W73.

16. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, 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: 1813-1821.

17. Gray RJ. A class of K- sample test for comparing the cumulative incidence of a competing risk. Ann Stat. 1988; 16 (3): 1141-1154.

18. Steyerberg EW, Vickers AJ, Cook NR, et al. Assessing the performance of prediction models: a framework for traditional and novel measures. Epidemiology. 2010; 21 (1): 128-138.

19. Thursky K, Byrnes G, Grigg A, Szer J, Slavin M. Risk factors for post-engraftment invasive aspergilosis in allogeneic stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant. 2004; 34 (2): 115-121.

20. Neofytos D, Horn D, Anaissie E, et al. Epidemiology and outcome of invasive fungal infection in adult hematopoietic stem cell transplant recipients: analysis of Multicenter Prospective Antifungal Therapy (PATH) Alliance registry. Clin Infect Dis. 2009; 48 (3): 265-273.

21. Maertens JA, Girmenia C, Brüggemann RJ, et al. European guidelines for primary antifungal prophylaxis in adult haematology patients: summary of the updated recommendations from the European Conference on Infections in Leukaemia. J Antimicrob Chemother. 2018; 73 (12): 3221-3230.

8.3 Anexo 3

Referencia bibliográfica

Rodríguez-Veiga R, Montesinos P, Boluda B, Lorenzo I, Martínez-Cuadrón D, Salavert M, et al. Incidence and outcome of invasive fungal disease after front-line intensive chemotherapy in patients with acute myeloid leukemia: impact of antifungal prophylaxis. *Ann Hematol.* 2019;98(9):2081–8.

8.3.1 *Manuscrito original*

Annals of Hematology (2019) 98:2081–2088
<https://doi.org/10.1007/s00277-019-03744-5>

ORIGINAL ARTICLE



Incidence and outcome of invasive fungal disease after front-line intensive chemotherapy in patients with acute myeloid leukemia: impact of antifungal prophylaxis

Rebeca Rodríguez-Veiga¹ · Pau Montesinos^{1,2} · Blanca Boluda¹ · Ignacio Lorenzo¹ · David Martínez-Cuadrón^{1,2} · Miguel Salavert³ · Javier Pemán⁴ · Pilar Calvillo⁵ · Isabel Cano¹ · Evelyn Acuña¹ · Ana Villalba¹ · José Luis Piñana¹ · Jaime Sanz^{1,2} · Pilar Solves^{1,2} · Leonor Senent¹ · Ana Vicente¹ · Amparo Sempere¹ · José Cervera^{1,2} · Eva Barragán¹ · Isidro Jarque^{1,2} · Antonio Torres^{1,6} · Miguel A. Sanz^{1,2,7} · Guillermo F. Sanz^{1,2,7}

Received: 16 April 2019 / Accepted: 15 June 2019 / Published online: 25 June 2019
 © Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2019

Abstract

Few reports analyze the incidence and clinical outcome of invasive fungal disease (IFD) in patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia (AML) undergoing intensive chemotherapy, and thus the impact of different antifungal prophylactic regimens remains unclear. We analyze the incidence and clinical outcome of IFD in a large series of adult AML patients undergoing front-line intensive induction and consolidation chemotherapy between 2004 and 2015 in a single institution. Three antifungal prophylaxis regimens were given (2004–2005 oral fluconazole, 2006–2012 intravenous itraconazole, and 2013–2015 voriconazole). Overall, 285 patients and 589 intensive chemotherapy episodes were assessed (47%) (induction courses 47% and consolidation 53%). The median age was 51 years (range, 17–65). We observed 56 (10%) episodes of IFD. According to the EORTC 2008 criteria, IFD was classified as possible (29, 52%), probable (17, 30%), and proven (10, 18%). Possible/probable/proven IFD rate was significantly lower during HiDAC consolidation as compared to any anthracycline-containing chemotherapy courses (2% vs. 11%, $P=0.001$), and under voriconazole prophylaxis as compared to itraconazole and fluconazole (6% vs. 11% vs. 15%, $P=0.007$), and the multivariate analysis showed that they were independent risk factors. Patients under voriconazole prophylaxis had shorter hospitalization duration and less frequent use of empirical or directed antifungal therapy. In conclusion, IFD was a frequent complication during upfront intensive chemotherapy courses for adult AML patients. This retrospective study shows that voriconazole prophylaxis was feasible and associated with a lower risk of IFD compared with intravenous itraconazole or oral fluconazole schedules.

Keywords Invasive fungal disease · Intensive chemotherapy · Acute myeloid leukemia · Antifungal prophylaxis · Voriconazole

Rebeca Rodríguez-Veiga and Pau Montesinos contributed equally to this work.

✉ Pau Montesinos
 montesinos_pau@gva.es

¹ Department of Hematology, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Avda. Fernando Abril Martorell 106, CP: 46026 Valencia, Spain

² CIBERONC, Instituto Carlos III, Madrid, Spain

³ Department of Infectious Diseases, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, València, Spain

⁴ Department of Microbiology, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, València, Spain

⁵ Department of Radiology, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, València, Spain

⁶ Asociación Medicina e Investigación (A.M.I.), Córdoba, Spain

⁷ Department of Medicine, Universitat de València, València, Spain

Introduction

Invasive fungal disease (IFD) is a life-threatening infectious complication frequently occurring in patients with acute myeloid leukemia (AML) experiencing prolonged and severe neutropenia after intensive chemotherapy phase (induction and consolidation) [1–3]. The occurrence of IFD leads to a significant increase in morbidity and mortality in these patients [2, 4]. For these reasons, it is generally accepted that this population might be considered at high risk for development of IFD and could benefit from prophylactic strategies using efficacious and well-tolerated antifungal agents [5, 6]. However, there are few reports analyzing specifically the incidence and clinical outcome of IFD in patients with newly diagnosed AML undergoing intensive chemotherapy [7, 8]. Therefore, there is little evidence about the efficacy of

different prophylactic regimens, being fluconazole and posaconazole [9, 10] the only approved agents for this indication to date. In addition, few real-life clinical practice-derived studies analyzing the usefulness of antifungal prophylaxis in AML patients are available [11–15].

In this study, we analyze the incidence and clinical outcome of IFD in a large series of AML patients undergoing front-line intensive induction and consolidation chemotherapy between January 2004 and December 2015 in a single institution. Three antifungal prophylactic schedules (fluconazole, itraconazole, and voriconazole) were administered according to institutional guidelines in three subsequent periods, allowing us to perform a retrospective comparison of the incidence and outcome of IFD under different prophylactic strategies.

Material and methods

Study design and patient selection

From January 2004 to December 2015, consecutive unselected adult patients with newly diagnosed AML were diagnosed at the Hospital Universitario y Politécnico La Fe. The clinical records of all patients were reviewed to assess their eligibility for this retrospective study. Patients were eligible if they fulfilled all the following criteria: (1) newly diagnosed AML excluding acute promyelocytic leukemia; (2) age less or equal than 65 years old; and (3) administration of intensive induction chemotherapy. Induction chemotherapy consisted of 3 + 7 combination (idarubicin $12 \text{ mg/m}^2 \times 3 \text{ days} + \text{Ara-C } 200 \text{ mg/m}^2 \text{ in continuous perfusion} \times 7 \text{ days}$) or mitoxantrone plus cytarabine (MTZ + Ara-C). The first consolidation consisted of 3 + 7 or MTZ + Ara-C (as first induction) (149, 25%) or high-dose cytarabine ($3 \text{ g/m}^2/12 \text{ h days } 1, 3, 5; 1.5 \text{ g/m}^2 \text{ for patients older than } 60 \text{ years old}$) (HiDAC). Second or beyond consolidation courses consisted of HiDAC. All patients provided informed consent according to institutional guidelines. This retrospective study was approved by the Research Ethics Board of the institution according to the Declaration of Helsinki (study number 2013/0036).

Risk stratification, monitoring, and diagnosis of IFD

All the patients were considered at high risk for development of IFD, as the induction and consolidation regimens could potentially lead to long-lasting severe granulocytopenia. Patients were hospitalized during the post-chemotherapy aplastic phase. During the study period, monitoring tests using serial *Aspergillus* galactomannan antigen (AGA) were performed twice a week during the post-chemotherapy neutropenia. Computed tomography (CT) scan was available all over the study period and performed as per clinical judgment (i.e.,

in the presence of febrile neutropenia lasting > 5–7 days, or under suspicion of lung infection). Diagnosis and classification of IFD was performed according to the European Organization for Research and Treatment of Cancer and Mycoses Study Group (EORTC/MSG) revised definitions of 2008 [16].

Prophylactic management and treatment of IFD

According to the institutional risk-adapted strategy of IFD prophylaxis, all patients received antifungal prophylaxis from the first day of chemotherapy administration until myeloid recovery (granulocyte count in peripheral blood $> 0.5 \times 10^9/\text{L}$). From January 2004 to December 2005, prophylaxis consisted of low-dose oral fluconazole (100 mg/daily), from January 2006 to December 2012 intravenous itraconazole (200 mg/daily), and from January 2013 to December 2015 oral voriconazole (200 mg/twice a day) (the later switch of prophylactic agent was due to repeated shortages of intravenous itraconazole). No pharmacokinetic studies for dose adjustment were performed across all the study period. Oral prophylaxis was withdrawn when limiting toxicity at the physician's discretion appeared or when antifungal treatment was indicated due to suspicion of or documented IFD. Patients with previous documented IFD during the neutropenia were discharged with secondary prophylaxis or long-term antifungal therapy and therefore were not analyzed for subsequent chemotherapy episodes.

Once IFD was suspected, antifungal therapy was started using monotherapy or combination, usually including caspofungin (50 mg once a day) or liposomal amphotericin (3 mg/kg once a day). The clinical course of IFD was monitored using the standard clinical, radiological, and microbiological tests, when available. Granulocyte colony-stimulating factors (G-CSF) were given in older patients and in those with serious infectious complications to accelerate the neutrophil count recovery.

Data collection and prognostic factors

Data were prospectively and retrospectively collected and registered in a specific form. Fourteen patient and treatment characteristics were examined to establish their relationship with the occurrence of IFD. Demographic data, disease, and treatment characteristics included age, sex, ECOG (performance status) at diagnosis, white blood cell (WBC) count, platelet count, hemoglobin level, serum levels of glucose, creatinine, urea nitrogen, uric acid, albumin, AST, ALT, bilirubin, and alkaline phosphatase, presence of extramedullary disease, FAB subtype, secondary or de novo AML, cytogenetic risk according to MRC classification [17], chemotherapy regimen (agents and doses), treatment phase (induction or consolidation), type of antifungal primary prophylaxis, and neutropenia duration.

Clinical records were also reviewed to assess serial serum AGA, computerized tomography scans and other imaging tests, antifungal therapies, length of hospitalization duration, response to chemotherapy, use of therapeutic antifungal agents (empirical or directed therapy), microbiological isolates, and cause of death.

Study definitions and end-points

The primary end-point of the study was to assess the crude incidence of IFD (possible, probable, and proven) in all episodes of intensive chemotherapy. For patients who had refractory/resistant AML or developed an IFD episode (possible/probable/proven) during a certain intensive chemotherapy cycle, subsequent chemotherapy courses were not analyzed. Secondary end-points were the type of IFD (according to microbiological isolates, site of infection, and EORTC criteria) and dose-limiting toxicities (DLT) of voriconazole, itraconazole, or fluconazole prophylaxis (defined as dose adjustment or withdrawal of the antifungal agent due to related toxicity). In addition, the main clinical outcomes were assessed as follows: (1) mortality during each chemotherapy phase, (2) mortality due to IFD, (3) induction complete remission rate (CR) with or without full hematologic recovery (CRi) according to the revised Cheson criteria, [18], (4) use of empirical or adapted antifungal therapy, and (5) length of hospitalization duration. The incidences of IFD, as well as the clinical outcomes, were analyzed according to the prophylactic regimen and the type of chemotherapy episode. All patients were followed until discharge of each chemotherapy episode or death during hospitalization.

In addition, the response of IFD therapy was evaluated at the end of antifungal treatment. Resolved IFD was defined as clinical improvement and radiological recovery along with the absence of positive microbiologic results or progressive decline in mycological surrogate biomarkers. Treatment failure was defined as death due to direct consequences of the IFD. Patients still presenting signs or symptoms of IFD when dying by another cause were considered not evaluable.

Statistical methods

The analysis was made on an intent-to-treat principle. The chi-square, ANOVA, Kruskal–Wallis, and Mann–Whitney's U test were used to analyze the differences in the distribution of variables between patient subsets. We measured the crude incidence of IFD (i.e., the number of events/number of observed episodes) overall and per type of chemotherapy and prophylactic schedule. Differences in the crude incidence of IFD were considered statistically significant if the type I error alpha was $< 5\%$ ($P < 0.05$). The characteristics selected for inclusion in the multivariate analysis were those for which there was some indication of a significant association in the univariate analysis ($P < 0.1$). Multivariate analysis was performed using the odds ratio by Cox [19]. The patient follow-up information was updated in June 2016. All P

values reported are 2-sided. Computations were performed using the R 2.12.2 software package.

Results

Patient and treatment characteristics

Over the period of the study, a total of 285 consecutive adult patients fulfilling the inclusion criteria underwent intensive induction chemotherapy at our institution. Overall, 589 episodes of intensive chemotherapy were assessed: 285 first induction courses (47%) (3 + 7 [278, 47%]) and MTZ+Ara-C [7, 1%]) and 304 consolidation courses (53%) (3 + 7 [149, 25%], HiDAC [127, 22%], MTZ+Ara-C [28, 5%]) (Fig. 1). Antifungal prophylaxis consisted of oral fluconazole in 72 (12%) chemotherapy episodes, intravenous itraconazole in 233 (40%), oral voriconazole in 264 (45%), and an echinocandin or low-dose liposomal amphotericin B in 20 episodes (3%).

Table 1 shows the main patient and disease characteristics at diagnosis according to the antifungal prophylaxis schedule for induction (fluconazole [35, 12%] vs. itraconazole [114, 40%] vs. voriconazole [127, 45%] vs. other prophylaxes [9, 3%]). Briefly, 158 patients (55%) were male, median age at AML diagnosis was 51 years (range, 17–65 years), and 51 (18%) were secondary AML arising after other neoplastic condition. A CR/CRi was achieved after one induction cycle in 185 patients (65%), with a 10% of induction death rate. Median duration of grade 4 neutropenia during induction was 20 days (from the end of 3 + 7), ranging from 11 to 63 days. Ten percent (29 out of 228) evaluable patients had a grade 4 neutropenia shorter than 15 days.

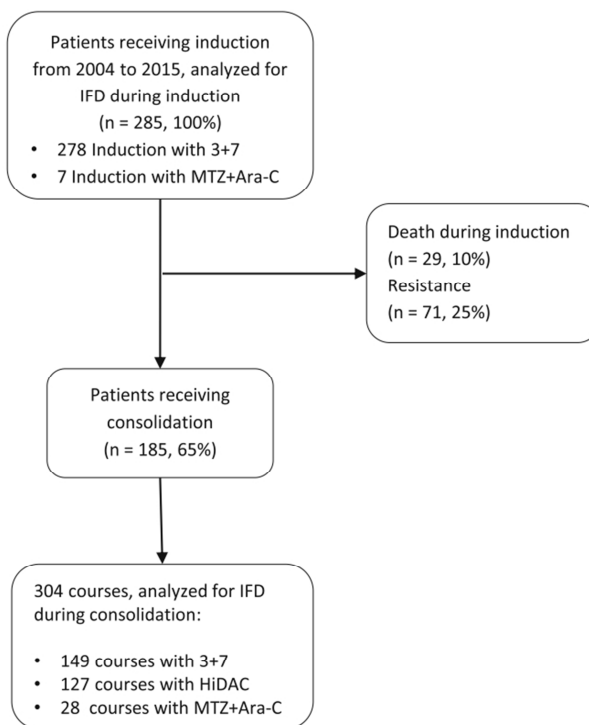
Overall incidence and type of IFD

We observed 56 episodes of IFD during the 589 episodes of intensive chemotherapy (10% crude incidence). Of them, 29 were possible (52%), 17 probable (30%), and 10 proven (18%). Table 2 shows the isolates in cases of proven (4 candidemia, 2 mucormycosis, 1 aspergillosis, and 3 others) and probable IFD (17 positive AGA). For 29 episodes of possible IFD, the lung (97%) was the most frequent site. Of 56 episodes of IFD, 45 (81%) were resolved after therapy, 5 (8%) resulted in death by IFD, and 6 (11%) were not evaluable for response.

Incidence of IFD and clinical outcomes according to type of chemotherapy

Table 3 shows the crude incidence of IFD according to the type of intensive chemotherapy regimen. IFD (possible/probable/proven) was significantly lower during HiDAC consolidation as compared to any anthracycline-containing chemotherapy courses (2% vs. 11%, $P = 0.001$). The incidence of

Fig. 1 Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT) diagram showing the included in the study



probable/proven IFD was also significantly lower in HiDAC episodes (0% vs. 5%, $P=0.002$). As well, outcomes were favorable in the HiDAC episodes: death during chemotherapy episode (2% vs. 10%, $P=0.001$), hospitalization duration among survivors (24 vs. 35.3 days, $P<0.001$), and use of empirical or directed antifungal therapy (18% vs. 64%, $P<0.001$). The rate of use of empirical or directed antifungal therapy was especially high among 3 + 7 induction episodes (75%, significantly higher than in anthracycline-based consolidation episodes, $P<0.001$).

Incidence of IFD and clinical outcomes according to antifungal prophylaxis

Table 4 shows the crude incidence of IFD according to the type of antifungal prophylaxis. IFD (possible/probable/proven) was significantly lower under voriconazole prophylaxis as compared to itraconazole and fluconazole (6% vs. 11% vs. 15%, $P=0.007$). As well, IFD was less frequent in the voriconazole vs. itraconazole cohort ($P=0.03$). The frequency of probable/proven IFD was not significantly lower among

the voriconazole prophylaxis cohort. Hospitalization duration was shorter and the use of empirical or directed antifungal therapy less frequent in the voriconazole prophylaxis cohort ($P<0.001$ and $P=0.008$, respectively).

Dose-limiting toxicity of antifungal prophylaxis

No DLT was observed among fluconazole courses, but 1 (0.5%) hepatotoxicity and 1 (0.5%) cardiotoxicity among itraconazole courses. DLT was observed in 2.2% of voriconazole courses (4 hepatotoxicity, 1 neurotoxicity, and 1 cardiotoxicity).

Multivariate analyses for IFD

The multivariate analysis, including age, gender, treatment phase, type of chemotherapy, antifungal therapy, and neutropenia duration showed that voriconazole prophylaxis (odds ratio 0.54, 95% confidence interval 0.29–0.99, $P=0.049$) and HiDAC (odds ratio 0.13, 95% confidence interval 0.03–0.56, $P=0.006$) were independently associated with lower risk of IFD (possible/probable/proven).

Table 1 Patient and disease characteristics according to antifungal prophylaxis during induction

Characteristic	Overall <i>n</i> (%)	Fluconazol <i>n</i> (%)	Itraconazole <i>n</i> (%)	Voriconazole <i>n</i> (%)	Other prophylaxes <i>n</i> (%)	<i>P</i> value*
Total	285 (100)	35 (12)	114 (40)	127 (45)	9 (3)	
Age, years, mean (range)	51 (17–65)	50 (17–65)	47 (21–65)	50 (19–65)	42 (17–65)	0.26
Male gender	158 (55)	21 (60)	64 (56)	69 (54)	4 (44)	0.84
ECOG 0–1 (<i>N</i> = 281)	229 (82)	30 (86)	86 (76)	108 (82)	5 (86)	0.29
Secondary AML	51 (18)	5 (14)	21 (18)	24 (19)	1 (11)	0.21
FAB subtype (<i>N</i> = 279)						
M0	16 (6)	3 (9)	4 (4)	8 (6)	1 (12)	0.69
M1	54 (19)	9 (26)	20 (18)	24 (19)	1 (12)	
M2	62 (22)	6 (17)	34 (30)	26 (21)	0 (0)	
M4	52 (19)	8 (23)	24 (21)	19 (15)	1 (12)	
M5	38 (14)	5 (15)	13 (12)	18 (15)	2 (25)	
M6	15 (5)	2 (6)	6 (5)	7 (6)	0 (0)	
M7	4 (1)	0 (0)	2 (2)	2 (2)	0 (0)	
Other	30 (10)	2 (6)	9 (8)	20 (15)	3 (38)	
WBC × 10 ⁹ /L, mean (range)	10.5 (0.3–434)	21.2 (0.8–324)	9.1 (0.8–182)	9.2 (0.3–434)	16.4 (3.3–180)	0.22
Hemoglobin g/dL, mean (range)	8.9 (3.8–15.5)	9.3 (5–14.2)	9 (5–13.5)	8.4 (3.8–15.5)	8.7 (6–10.5)	0.29
Extramedullary disease, (<i>N</i> = 271)	62 (23)	8 (24)	27 (25)	26 (21)	1 (14)	0.83
Cytogenetics						
Core-binding factor	34 (12)	6 (17)	17 (15)	11 (9)	0 (0)	0.42
Normal karyotype	121 (43)	16 (46)	48 (42)	53 (42)	4 (44)	
Intermediate	39 (14)	1 (3)	13 (11)	24 (19)	1 (11)	
Unfavorable	70 (25)	11 (31)	28 (25)	28 (22)	3 (33)	
No metaphases/unknown	21 (7)	1 (3)	8 (7)	11 (9)	1 (11)	
Response to induction						
CR/CRi	185 (65)	23 (69)	79 (69)	79 (62)	4 (44)	0.39
Resistance/PR	71 (25)	8 (19)	22 (19)	38 (30)	3 (33)	
Induction death	29 (10)	4 (11)	13 (11)	20 (8)	2 (22)	

*Comparison between itraconazole plus fluconazole cohorts vs. voriconazole cohort

AML, acute myeloid leukemia; CR, complete remission; CRi, complete remission with incomplete blood counts; PR, partial remission

Discussion

Despite using universal antifungal prophylaxis during intensive chemotherapy phase for AML patients, IFD was a frequent complication. In our historical cohort comparison, oral voriconazole prophylaxis was well tolerated and could lead to a significant reduction of the risk of development of IFD compared with itraconazole or fluconazole. Patients treated during

voriconazole prophylaxis period had shorter hospitalization duration and less frequent use of empirical or directed antifungal therapy. We also demonstrate that anthracycline-containing chemotherapy courses were associated with higher IFD rate compared with the HiDAC monotherapy.

As far as we know, this is the larger series analyzing the risk of IFD in AML patients receiving induction chemotherapy and the impact of different antifungal prophylaxis schedules. We must acknowledge several limitations of our study: (1) the non-randomized design should prevent us from drawing any strong conclusion, especially when comparing antifungal prophylactic regimens; (2) a potential historical bias could be favorable to newer patients (i.e., those receiving voriconazole or itraconazole) because of improvements in general management. However, in our opinion, management in our institution was homogeneous across the study period, including the same diagnostic tools and criteria for IFD. In addition, the three historical cohorts were comparable in the main baseline patients and disease characteristics; and (3) this was an intent-to-treat analysis in real-life population; we can argue that protocol and guidelines on management are less strict than in clinical trials. However, our study could provide more practical and reliable results in comparison with some trials. As an example, the randomized study by Marks et al. [20] compared

Table 2 Site, isolates, and classification of IFD episodes

Type of IFD	<i>N</i> (%)
Overall	56 (10)
Proven	10 (18)
Candidemia	4 (40)
Rhinosinusal aspergillosis	1 (10)
Disseminated mucormycosis	2 (20)
Other	3 (30)
Probable	17 (30)
Pulmonary aspergillosis	16 (94)
Disseminated aspergillosis	1 (6)
Possible	29 (52)
Lung	28 (97)
Rhinosinusal	1 (3)

Table 3 Incidence of IFD and clinical outcomes according to the chemotherapy schedule

Type of chemotherapy	N (%)	Deaths during chemotherapy episode, N (%)	P value	Total IFD episodes, N (%)	P value	Proven and probable IFD episodes, N (%)	P value	Inpatient stay by chemotherapy cycle, survivors, days mean (range)	P value	Use of intravenous antifungal therapy, N (%)	P value
IDA + ARA-C, 3 + 7 (induction)	278 (47)	31 (11)		34 (12)		17 (6)		34.1 (16–94)		207 (75)	
MTZ + ARA-C (induction)	7 (1)	1 (14)		1 (14)		1 (14)		30.9 (24–36)		3 (43)	
IDA + ARA-C, 3 + 7 (consolidation)	149 (25)	11 (7)		15 (10)		8 (5)		35.2 (18–117)		73 (49)	
MTZ + ARA-C (consolidation)	28 (5)	3 (11)		3 (11)		1 (4)		32.1 (9–53)		12 (43)	
HD-ARA-C (consolidation)	127 (22)	2 (2)		2 (2)		0 (0)		24.0 (16–54)		22 (18)	
Anthracycline-containing (induction and consolidation)	462 (78)	46 (10)	0.001*	53 (11)	<0.001*	27 (5)	.002*	34.3 (9–117)	<0.001*	295 (64)	<0.001*

*Comparison between anthracycline containing schedules versus non-anthracycline containing schedules

Table 4 Incidence of IFD and main clinical outcomes according to antifungal prophylaxis

Antifungal prophylaxis	N (%)	Deaths during chemotherapy episode, N (%)	P value	Total IFD episodes, N (%)	P value	Proven and probable IFD episodes, N (%)	P value	Inpatient stay by chemotherapy cycle, days mean (range)	P value	Use of intravenous antifungal therapy, N (%)	P value
Fluconazole	72 (13)	7 (10)	0.28	11 (15)	0.007*	7 (10)	0.19*	34.5 (20–88)	<0.001*	41 (57)	0.008*
Itraconazole	233 (40)	22 (9)		26 (11)	0.03**	11 (5)	0.26**	35.0 (9–117)		143 (61)	
Voriconazole	264 (45)	17 (6)		15 (6)		8 (3)		31.6 (17–102)		126 (48)	
Other prophylaxes	20 (3)	2 (11)		2 (11)		1 (5)		36.4 (24–91)		7 (37)	

*Comparison between itraconazole plus fluconazole cohorts vs. voriconazole cohort

**Comparison between itraconazole vs. voriconazole cohort

voriconazole vs. itraconazole prophylaxis following allogeneic stem cell transplantation, using strict assessment and inclusion criteria, thus showing very low rates of IFD (<2%).

Although it is generally accepted that AML patients receiving intensive chemotherapy are at high risk for development of IFD [21, 22], there are few studies critically analyzing the incidence and risk factors for this complication in this setting. To our knowledge, only two retrospective studies were exclusively focused on AML patients receiving intensive schedules: Egerer et al. [14] reported 1.3% of proven IFD among 40 patients (76 chemotherapy courses) receiving posaconazole prophylaxis, and Vehreschild JJ et al. [15] found, in another retrospective study, a probable/proven IFD incidence of 3.9% under posaconazole vs. 19.5% under topic polyenes prophylaxis in 159 subjects. Larger studies were performed in heterogeneous cohorts including not only AML patients: (1) a large ($n = 602$) randomized clinical trial compared posaconazole vs. fluconazole or itraconazole prophylaxis in AML/MDS patients with neutropenia after chemotherapy, showing 2% vs. 8% of probable/proven IFD [9]; (2) Hachem R et al. [13] retrospectively compared voriconazole vs. posaconazole prophylaxis in 200 patients with hematological malignancies (67% were AML), showing 3% vs. 0% of probable/proven IFD; (3) Tormo M et al. [11] analyzed posaconazole vs. itraconazole in 174 AML/MDS patients undergoing intensive chemotherapy (293 cycles), resulting in 1.7% vs. 5.3% rates of probable/proven IFD; and (4) a retrospective study by Ananda-Rajah MR et al. [12] analyzed 216 AML/MDS patients and 576 cycles of intensive chemotherapy or allograft conditioning, showing possible/probable/proven IFD rates of 13% under fluconazole, 20% with itraconazole, and 8% with voriconazole and posaconazole. Our results are in line with previous reports, with an overall crude incidence of 10% of possible/probable/proven IFD per chemotherapy courses (6% in the voriconazole cohort), and 5% when considering only probable/proven IFD (3% in the voriconazole cohort). A higher incidence of IFD was seen in patients receiving fluconazole (15%), possibly due to the lack of activity of fluconazole against filamentous fungi [9]. As expected, *Aspergillus* was the most frequent isolate, and the lung was the preferred site of infection [4, 7].

Regarding the prognostic factors for IFD, we observed that this complication was more frequent during induction chemotherapy compared with consolidation phase. Moreover, we observed that consolidation cycles containing an anthracycline had a similar frequency of IFD (10%) than induction cycles (12%). As far as we know, this is the first study showing that the inclusion of an anthracycline is a risk factor for the development of IFD. We can argue that this was due to less severe neutropenia duration in courses containing an anthracycline plus cytarabine combination compared with HiDAC monotherapy. However, we were not able to show a correlation between neutropenia duration and the development of IFD, probably because the vast majority of patients had a critically prolonged grade 4

neutropenia (>21 days) irrespectively of the chemotherapy regimen (data not shown). We can speculate that an excess of mucosal barrier damage induced by anthracyclenic agents could lead to an increased rate of IFD [23]. On the other hand, we show that, along with HiDAC monotherapy schedule, voriconazole was an independent protective risk factor for the development of possible/probable/proven IFD. This finding is aligned with other studies showing less IFD among patients receiving a second-generation triazole (i.e., posaconazole or voriconazole). We show here that an appropriate voriconazole dosage of 200 mg/12 h was well tolerated and efficacious. In contrast, we have shown that lower dose voriconazole (100 mg/12 h) was not efficacious and did not spare toxicity in a large series of allografted patients in our institution [24]. Although a 200 mg/12 h voriconazole prophylaxis seems appropriate in the setting of standard upfront chemotherapy AML, we still need to face up the following questions: (1) are posaconazole, isavuconazole, and voriconazole exchangeable options for primary prophylaxis? and (2) whether a triazole antifungal agent will be appropriate in the era of new small molecules which usually are metabolized through the CYP3A4 leading to significant drug-drug interactions. After analyzing our experience, we are currently using full-dose voriconazole prophylaxis, instead of posaconazole, during upfront intensive chemotherapy cycles. The main reason for keeping this policy is that voriconazole is now a generic drug with a significantly lower price than posaconazole.

In conclusion, IFD was a frequent complication during upfront intensive chemotherapy courses for adult AML patients. This retrospective study shows that voriconazole prophylaxis was feasible and associated with a lower risk of IFD as compared with intravenous itraconazole or oral fluconazole schedules.

Authorship Pau Montesinos, Rebeca Rodríguez-Veiga, and Antonio Torres conceived the study, analyzed, and interpreted the data; Pau Montesinos, Rebeca Rodríguez-Veiga, Blanca Boluda, and Antonio Torres wrote the paper; Pau Montesinos, Ignacio Lorenzo, and Rebeca Rodríguez-Veiga performed the statistical analyses; Ignacio Lorenzo, David Martínez-Cuadrón, Miguel Salavert, Javier Pemán, Pilar Calvillo, Isabel Cano, Evelyn Acuña, Ana Villalba, José Luis Piñana, Jaime Sanz, Pilar Solves, Leonor Senent, Ana Vicente, Amparo Sempere, José Cervera, Eva Barragán, Isidro Jarque, Miguel A. Sanz, and Guillermo F. Sanz reviewed the manuscript and contributed to the final draft.

Funding information This study was in part supported by Asociación Medicina e Investigación (A.M.I.), a grant 2012/023 from the Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. This paper was supported by an independent medical grant provided by Pfizer, Inc.

Compliance with ethical standards

This retrospective study was approved by the Research Ethics Board of the institution according to the Declaration of Helsinki (study number 2013/0036).

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Pagano L, Caira M, Candoni A et al (2010) Invasive aspergillosis in patients with acute myeloid leukemia: a SEIFEM-2008 registry study. *Haematologica* 95:644–650
- Pagano L, Caira M, Nosari A et al (2011) Etiology of febrile episodes in patients with acute myeloid leukemia: results from the Hema e-Chart Registry. *Arch Intern Med* 171:1502–1503
- Caira M, Candoni A, Verga L, SEIFEM Group (Sorveglianza Epidemiologica Infezioni Fungine in Emopatie Maligne) et al (2015) Pre-chemotherapy risk factors for invasive fungal diseases: prospective analysis of 1,192 patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia (SEIFEM 2010-a multicenter study). *Haematologica* 100(2):284–292. <https://doi.org/10.3324/haematol.2014>
- Neofytos D, Treadway S, Ostrander D et al (2013) Epidemiology, outcomes, and mortality predictors of invasive mold infections among transplant recipients: a 10-year, single-center experience. *Transpl Infect Dis*. 15:233–242
- Tacke D, Buchheidt D, Karthaus M et al (2014) Primary prophylaxis of invasive fungal infections in patients with haematologic malignancies. 2014 update of the recommendations of the Infectious Diseases Working Party of the German Society for Haematology and Oncology. *Ann Hematol* 93:1449–1456
- Maertens J, Marchetti O, Herbrecht R et al (2011) European guidelines for antifungal management in leukemia and hematopoietic stem cell transplant recipients: summary of the ECIL 3–2009 update. *Bone Marrow Transplant* 46:709–718
- Lien MY, Chou CH, Lin CC et al (2018) Epidemiology and risk factors for invasive fungal infections during induction chemotherapy for newly diagnosed acute myeloid leukemia: a retrospective cohort study. *PLoS One*. 13(6):e0197851. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197851>
- Gimnena C, Micozzi A, Piciocchi A et al (2014) Invasive fungal diseases during first induction chemotherapy affect complete remission achievement and long-term survival of patients with acute myeloid leukemia. *Leuk Res*. 38(4):469–474. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2014.01.007>
- Cornely OA, Maertens J, Winston DJ et al (2007) Posaconazole vs. fluconazole or itraconazole prophylaxis in patients with neutropenia. *N Engl J Med* 356:348–359
- Pagano L, Caira M, Candoni A et al (2012) Evaluation of the practice of antifungal prophylaxis use in patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia: results from the SEIFEM 2010-B registry. *Clin Infect Dis* 55:1515–1521
- Tommo M, Pérez-Martínez A, Calabuig M et al (2018) Primary prophylaxis of invasive fungal infections with posaconazole or itraconazole in patients with acute myeloid leukaemia or high-risk myelodysplastic syndromes undergoing intensive cytotoxic chemotherapy: a real-world comparison. *Mycoses* 61:206–212. <https://doi.org/10.1111/myc.12728>
- Ananda-Rajah MR, Grigg A, Downey MT et al (2012) Comparative clinical effectiveness of prophylactic voriconazole/posaconazole to fluconazole/itraconazole in patients with acute myeloid leukemia/myelodysplastic syndrome undergoing cytotoxic chemotherapy over a 12-year period. *Haematologica* 97:459–463
- Hachem R, Assaf A, Numan Y et al (2017) Comparing the safety and efficacy of voriconazole versus posaconazole in the prevention of invasive fungal infections in high-risk patients with hematological malignancies. *Int J Antimicrob Agents*. 50(3):384–388. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.03.021>
- Egerer G, Geist MJP (2011) Posaconazole prophylaxis in patients with acute myelogenous leukaemia—results from an observational study. *Mycoses* 54(Suppl. 1):7–11
- Vehreschild JJ, Rüping MJGT, Wisplinghoff H et al (2010) Clinical effectiveness of posaconazole prophylaxis in patients with acute myelogenous leukaemia (AML): a 6 year experience of the Cologne AML cohort. *J Antimicrob Chemother* 65:1466–1471
- De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP et al (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 (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis* 46:1813–1821
- Grimwade D, Hills RK, Moorman AV et al (2010) National Cancer Research Institute Adult Leukaemia Working Group. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. *Blood*. 116(3):354–365. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-11-254441>
- Cheson BD, Bennett JM, Kopecky KJ et al (2003) Revised recommendations of the International Working Group for diagnosis, standardization of response criteria, treatment outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 21(24):4642–4649
- Fine J, Gray R (1999) A proportional hazards model for the subdistribution of a competing risk. *J Am Stat Assoc* 94:496–509
- Marks DI, Pagliuca A, Kibbler CC, IMPROVIT Study Group et al (2011) Voriconazole versus itraconazole for antifungal prophylaxis following allogeneic haematopoietic stem-cell transplantation. *Br J Haematol* 155(3):318–327
- Maertens JA, Girmenia C, Brüggemann RJ et al (2018) European guidelines for primary antifungal prophylaxis in adult haematology patients: summary of the updated recommendations from the European Conference on Infections in Leukaemia. *J Antimicrob Chemother* 73(12):3221–3230. <https://doi.org/10.1093/jac/dky286>
- Tissot F, Agrawal S, Pagano L et al (2017) ECIL-6 guidelines for the treatment of invasive candidiasis, aspergillosis and mucormycosis in leukemia and hematopoietic stem cell transplant patients. *Haematologica* 102(3):433–444
- Atallah E, Cortes J, O'Brien S et al (2007) Establishment of baseline toxicity expectations with standard frontline chemotherapy in acute myelogenous leukemia. *Blood* 110:3547
- Rodríguez-Veiga R, Montesinos P, García E, Boluda B, Rojas R, Serrano J et al (2019) Validation of a multivariable prediction model for post-engraftment invasive fungal disease in 465 adult allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Mycoses*. <https://doi.org/10.1111/myc.12891>

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

8.3.2 *Manuscrito en castellano*

TITULO

Incidencia y resultado de la enfermedad fúngica invasiva en pacientes con leucemia mieloide aguda en tratamiento con quimioterapia intensiva: impacto de la profilaxis antifúngica

RESUMEN

Pocos estudios analizan la incidencia y la evolución clínica de la IFI en pacientes con LMA de nuevo diagnóstico tratada con quimioterapia intensiva; es por eso que en la actualidad, el impacto de las diferentes estrategias de profilaxis antifúngica en esta población es desconocido. Este estudio analiza la incidencia y la evolución clínica de la IFI desarrollada en pacientes con LMA de Novo que recibieron quimioterapia intensiva en un solo hospital entre los años 2004 y el 2015. Durante este periodo se administraron tres regímenes de profilaxis antifúngica: fluconazol oral de 2004 a 2005, itraconazol intravenoso de 2006 a 2012 y voriconazol de 2013 a 2015. En total, se evaluaron 285 pacientes y 589 cursos de quimioterapia intensiva (47% inducciones y 53% consolidaciones). La mediana de edad fue de 51 años (rango 17-65 años). Se estudiaron 56 episodios de IFI (10%). Siguiendo los criterios de la clasificación EORTC/MSG de 2008, se identificaron 29 episodios de IFI posible (52%), 17 episodios de IFI probable (30%) y 10 episodios de IFI probada (18%). La incidencia de IFI posible, probable y probada fue significativamente menor durante la consolidación de con citarabina a altas dosis en comparación con los regímenes de quimioterapia que contenían antraciclina (2% vs 11%, $p=0.001$). La incidencia de IFI en los pacientes que recibieron profilaxis con voriconazol comparada con los que recibieron profilaxis con itraconazol o fluconazol fue menor (6% vs. 11% vs. 15%, $p=0.007$). El análisis multivariante mostró que tanto recibir profilaxis con voriconazol como recibir consolidación con citarabina a altas dosis eran factores de riesgo protectores independientes. Los pacientes a los que se les administró una profilaxis con voriconazol tuvieron una menor duración de la hospitalización y precisaron con menos frecuencia el uso de tratamiento empírico o dirigido. En conclusión, la IFI es una complicación frecuente en pacientes con LMA que reciben tratamiento de primera línea con quimioterapia intensiva. Este estudio retrospectivo muestra que la profilaxis antifúngica con voriconazol es factible y se asocia con un menor riesgo de IFI si se compara con la profilaxis antifúngica con itraconazol intravenoso o fluconazol oral.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad fúngica invasiva (IFI) es una complicación infecciosa potencialmente mortal que ocurre con frecuencia en pacientes con leucemia mieloblástica aguda (LMA) durante el periodo de neutropenia prolongada y grave que sigue a cada ciclo de quimioterapia intensiva (inducción y consolidación) (1–3). La IFI conduce a un aumento significativo de la morbilidad y la mortalidad en estos pacientes (2, 4). En general se acepta que esta población presenta un alto riesgo para el desarrollo de la IFI y podría beneficiarse de diferentes estrategias profilácticas usando antifúngicos eficaces y bien tolerados (5, 6). Sin embargo, existen pocos trabajos publicados que analicen específicamente la incidencia y el resultado clínico de la IFI en pacientes con LMA recién diagnosticada en tratamiento con quimioterapia intensiva (7, 8). Por lo tanto, no existe suficiente evidencia sobre la eficacia de los diferentes regímenes de profilaxis, y sólo el fluconazol y el posaconazol (9, 10) han sido aprobados para esta indicación hasta la fecha. Además existen muy pocos estudios clínicos basados en la práctica habitual que analicen la utilidad de la profilaxis antifúngica en pacientes con LMA (11-15). Este estudio analiza en una sola institución la incidencia y el resultado terapéutico de la IFI en una gran serie de pacientes con LMA sometidos a quimioterapia intensiva de primera línea, inducción y consolidación, entre enero de 2004 y diciembre de 2015. Durante este periodo se administraron tres tipos de profilaxis antifúngica (fluconazol, itraconazol y voriconazol) de acuerdo con las recomendaciones establecidas en la institución en dichos periodos, permitiendo realizar una comparación retrospectiva de la incidencia y resultados terapéuticos de la IFI con diferentes estrategias profilácticas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio y selección de pacientes

Se incluyeron consecutivamente y sin selección todos los pacientes adultos con diagnóstico de LMA “de Novo” realizados entre enero de 2004 y diciembre de 2015 en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Las historias clínicas de todos los pacientes con LMA fueron revisadas con el fin de evaluar los criterios de elegibilidad para este estudio retrospectivo. Los pacientes se consideraban elegibles si cumplían todos los criterios siguientes: 1) LMA de nuevo diagnóstico, excluyendo la leucemia promielocítica aguda; 2) edad igual o inferior a 65 años; y 3) haber recibido quimioterapia de inducción intensiva. La quimioterapia de inducción consistía en el

esquema 3+7 (idarrubicina 12 mg/m² × 3 días + Ara-C 200mg/m² en perfusión continua × 7 días) o mitoxantrona más citarabina (MTZ + Ara-C). La primera consolidación consistió en repetir el esquema (como en primera inducción) 3+7 o MTZ + Ara-C (149, 25%) o en citarabina a altas dosis (HiDAC) (3 g/m²/12 h días 1, 3, 5; 1.5 g/m² para pacientes mayores de 60 años). El segundo y subsiguientes ciclos de consolidación consistieron en HiDAC. Todos los pacientes dieron su consentimiento informado de acuerdo con las pautas institucionales. Este estudio retrospectivo fue aprobado por la Comisión de Ética para la Investigación de la institución de acuerdo con la Declaración de Helsinki (número de estudio 2013/0036).

Estratificación del riesgo, monitorización y diagnóstico de la IFI

Para el propósito de este estudio se consideró que todos los pacientes tenían un alto riesgo de desarrollar IFI, pues todos los regímenes de inducción y consolidación tenían capacidad de producir una neutropenia grave y prolongada. Los pacientes permanecieron ingresados en el hospital durante la fase de aplasia post-quimioterapia. Durante todo el periodo del estudio se recomendaba la realización del antígeno de galactomanano de *Aspergillus* (AGA) dos veces a la semana mientras durase la neutropenia post-quimioterapia. También se disponía durante todo el periodo del estudio la tomografía computarizada (TC) y se recomendaba su realización según criterios clínicos (a saber, en neutropenia febril con duración superior a 5–7 días, o en caso de sospechar infección pulmonar). El diagnóstico y la clasificación de la IFI se realizó de acuerdo con las definiciones revisadas de 2008 de la Organización Europea para la Investigación y el Tratamiento del Cáncer y Micosis (EORTC / MSG) (16).

Manejo profiláctico y tratamiento de la IFI

Las recomendaciones de la institución sobre la profilaxis adaptada al riesgo de IFI establecían que todos los pacientes debían recibir profilaxis antifúngica desde el primer día de administración de quimioterapia hasta la recuperación mieloide (recuento de neutrófilos en sangre periférica superior a 0.5×10⁹/L). La profilaxis consistió en fluconazol por vía oral (100 mg/día) desde enero de 2004 hasta diciembre de 2005, itraconazol por vía intravenosa (200 mg/día) desde enero de 2006 hasta diciembre de 2012, y voriconazol por vía oral (200 mg/dos veces al día) desde enero de 2013 hasta diciembre de 2015 (este último cambio se realizó por el desabastecimiento repetido de itraconazol por vía intravenosa). No se realizaron estudios farmacocinéticos para el ajuste de dosis en el período de estudio. Se retiraba la profilaxis oral a discreción del médico en caso de toxicidad limitante o al iniciarse el tratamiento antifúngico ante la sospecha o la documentación de una IFI. Los pacientes que al alta recibían

tratamiento para una IFI o recibían profilaxis secundaria tras el diagnóstico de una IFI salieron del análisis y no fueron analizados los subsiguientes ciclos de quimioterapia. Ante la sospecha de IFI se recomendaba iniciar tratamiento antifúngico en monoterapia o en combinación, que generalmente incluía caspofungina (50 mg una vez al día) o anfotericina liposomal (3 mg/kg una vez al día). Se monitorizó el curso clínico de la IFI siguiendo la evolución clínica y usando las pruebas radiológicas y microbiológicas estándar según su disponibilidad. El factor estimulante de la colonia de granulocitos (G-CSF) se recomendaba para el acortar la neutropenia en pacientes mayores y en aquellos pacientes con complicaciones infecciosas graves.

Recogida de datos y factores pronósticos

Los datos se recogieron y registraron de manera prospectiva en formularios específicos diseñados para tal fin. Se revisaron catorce características de los pacientes y del tratamiento para averiguar su relación con el desarrollo de IFI. Entre los datos demográficos, características de la enfermedad y de su tratamiento revisados se incluyeron: edad, sexo, ECOG (estado funcional) en el momento del diagnóstico, recuento de glóbulos blancos (WBC), recuento de plaquetas, nivel de hemoglobina, niveles séricos de glucosa, creatinina, urea, ácido úrico, albúmina, AST/GOT, ALT/GPT, bilirrubina y fosfatasa alcalina, presencia de enfermedad extramedular, subtipo de FAB, LMA secundaria o “de Novo”, riesgo citogenético según la clasificación de MRC (17) régimen de quimioterapia (fármacos y dosis), fase de tratamiento (inducción o consolidación), tipo de profilaxis antifúngica primaria y duración de la neutropenia.

Se revisaron también las historias clínicas para evaluar el AGA seriado en suero, las tomografías computarizadas y otras pruebas de imagen, tratamientos antifúngicos, duración de la hospitalización, respuesta a la quimioterapia, tipo de uso de agentes antifúngicos (terapia empírica o dirigida), aislamientos microbiológicos y causas de muerte.

Definiciones del estudio y objetivos

El objetivo primario del estudio fue evaluar la incidencia cruda de IFI (posible, probable y probada) en todos los episodios de quimioterapia intensiva. No fueron analizados los subsiguientes episodios en caso de que el paciente desarrollase una LMA refractaria/resistente o tuviese un episodio previo de IFI (posible, probable y probada) durante alguno de los ciclos de quimioterapia intensiva. Los objetivos secundarios fueron el tipo de IFI (según los aislamientos microbiológicos, el lugar de la infección y siguiendo los criterios de EORTC) y la toxicidad limitante de dosis (TLD)

para la profilaxis con voriconazol, itraconazol o fluconazol (definida como ajuste de dosis o retirada del antifúngico por una toxicidad relacionada). Además, los resultados clínicos más importantes fueron evaluados de la siguiente manera: (1) mortalidad durante cada ciclo de quimioterapia, (2) mortalidad por IFI, (3) tasa de remisión completa (RC) incluyendo también la remisión sin recuperación hematológica completa (RCi) durante la fase de inducción según los criterios revisados de Cheson (18), (4) uso de terapia antifúngica empírica o adaptada, y (5) duración de la hospitalización. La incidencia de IFI, así como la evolución clínica, se analizó según el tipo de profilaxis y el tipo de quimioterapia administrados durante cada episodio. El seguimiento de todos los pacientes se realizó hasta el alta de cada episodio o en su caso hasta la muerte durante la hospitalización.

Además, se evaluó la respuesta al tratamiento antifúngico al final el mismo. Se definió como IFI resuelta la mejoría clínica junto a la resolución de las alteraciones radiológicas en ausencia de resultados microbiológicos positivos o la disminución progresiva de los biomarcadores micológicos con respecto al momento del diagnóstico. El fracaso terapéutico se definió como la muerte debido a las consecuencias directas del IFI. Aquellos pacientes con signos o síntomas de IFI en el momento de la muerte, siempre que esta no se produjese por la propia IFI, se consideraron no evaluables.

Metodología estadística

El análisis se realizó con el principio de intención de tratar “intention to treat analysis”. Para el análisis de las diferencias en la distribución de variables entre subconjuntos de pacientes se usó el análisis “Chi-square”, ANOVA, Kruskal-Wallis y la prueba de Mann-Whitney. La incidencia bruta de IFI (es decir, el número de eventos/episodios observados) se analizó según el tipo de quimioterapia y la profilaxis antifúngica recibida. Las diferencias en la incidencia bruta de IFI se consideraron significativas admitiendo un error tipo I alfa <5% ($P < 0.05$). Las características seleccionadas para su inclusión en el análisis multivariante fueron aquellas en las que se vio una asociación significativa en el análisis univariante ($P < 0.1$). El análisis multivariante se realizó usando la razón de probabilidades de Cox “odds ratio” (19). El seguimiento de los pacientes se actualizó en junio de 2016. Todos los valores de P reportados son bilaterales. Los análisis estadísticos se realizaron usando el paquete de software R 2.12.2.

RESULTADOS

Características de los pacientes y del tratamiento recibido

Un total de 285 pacientes adultos consecutivos que cumplieron los criterios de inclusión y recibieron quimioterapia de inducción intensiva en nuestra institución durante el periodo del estudio. En total, se evaluaron 589 episodios de quimioterapia intensiva: 285 ciclos de inducción (47%) (3+7 [278,47%] y MTZ+Ara-C [7,1%]) y 304 ciclos de consolidación (53%) (3+7 [149, 25%], HiDAC [127, 22%], MTZ+Ara-C [28, 5%]) (Figura 1). La profilaxis antifúngica consistió en fluconazol oral en 72 (12%) ciclos de quimioterapia, itraconazol intravenoso en 233 (40%), voriconazol oral en 264 (45%) y en 20 ciclos (3%) otros tipos de profilaxis, recibiendo una equinocandina o anfotericina B liposómica a dosis baja.

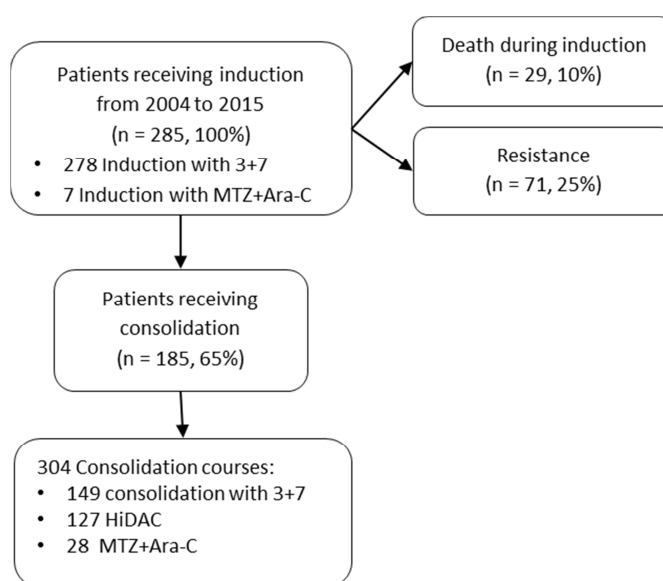


Figura 1. Diagrama CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) para esta población.

La Tabla 1 muestra las principales características de los pacientes y de la enfermedad en el momento del diagnóstico según el tipo de profilaxis antifúngica administrada durante la inducción (fluconazol [35, 12%] vs. itraconazol [114, 40%] vs. voriconazol [127, 45%] vs otras profilaxis [9, 3%]). Se resumen brevemente aquí las principales características, se incluyeron 158 (55%) hombres, la edad media al diagnóstico de la LMA fue de 51 años (rango, 17-65 años), y en 51 casos (18%) la LMA era secundaria al ser diagnosticada tras haber padecido otra neoplasia. La tasa de RC/RCi tras un ciclo de inducción fue del 65%, con una mortalidad durante la inducción del 10%. La duración media de la neutropenia de grado 4 durante la inducción fue de 20 días (calculada desde el final del 3+7), con un rango de 11 a 63

días. Un diez por ciento de los pacientes evaluables (29 de 228) presentaron una duración inferior a 15 días de la neutropenia de grado 4.

Tabla 1. Incidencia de IFI y la evolución según el tipo de profilaxis antifúngica recibida.

Características	Total N (%)	Fluconazol N (%)	Itraconazol N (%)	Voriconazol N (%)	Otras N(%)	P
Total	285 (100)	35 (12)	114 (40)	127 (45)	9 (3)	
Edad, año; Media (rango)	51 (17-65)	50 (17-65)	47 (21-65)	50 (19-65)	42 (17-65)	0.26
Sexo, hombres	158 (55)	21 (60)	64 (56)	69 (54)	4 (44)	0.84
ECOG 0-1 (N=281)	229 (82)	30 (86)	86 (76)	108 (82)	5 (86)	0.29
LMA secundaria	51 (18)	5 (14)	21 (18)	24 (19)	1 (11)	0.21
Subtipo FAB (N=279)						
M0	16 (6)	3 (9)	4 (4)	8 (6)	1 (12)	0.69
M1	54 (19)	9 (26)	20 (18)	24 (19)	1 (12)	
M2	62 (22)	6 (17)	34 (30)	26 (21)	0 (0)	
M4	52 (19)	8 (23)	24 (21)	19 (15)	1 (12)	
M5	38 (14)	5 (15)	13 (12)	18 (15)	2 (25)	
M6	15 (5)	2 (6)	6 (5)	7 (6)	0 (0)	
M7	4 (1)	0 (0)	2 (2)	2 (2)	0 (0)	
Otras	30 (10)	2 (6)	9 (8)	20 (15)	3 (38)	
WBC x10 ⁹ /L; Media (rango)	10.5 (0.3-434)	21.2 (0.8-324)	9.1 (0.8-182)	9.2 (0.3-434)	16.4 3.3-180)	0.22
Hb g/dL, Media (rango)	8.9 (3.8- 15.5)	9.3 (5-14.2)	9 (5-13.5)	8.4 (3.8-15.5)	8.7 (6-10.5)	0.29

Extramedular, (N= 271)	62 (23)	8 (24)	27 (25)	26 (21)	1 (14)	0.83
Citogenética						
CBF	34 (12)	6 (17)	17 (15)	11 (9)	0 (0)	0.42
Normal	121 (43)	16 (46)	48 (42)	53 (42)	4 (44)	
Intermedio	39 (14)	1 (3)	13 (11)	24 (19)	1 (11)	
Desfavorable	70 (25)	11 (31)	28 (25)	28 (22)	3 (33)	
ND	21 (7)	1 (3)	8 (7)	11 (9)	1 (11)	
Respuesta#						
RC/RCi	185 (65)	23 (69)	79 (69)	79 (62)	4 (44)	0.39
RES/RP	71 (25)	8 (19)	22 (19)	38 (30)	3 (33)	
Muerte	29 (10)	4 (11)	13 (11)	20 (8)	2 (22)	

#Tras la inducción

Abreviaturas: LMA: leucemia mieloblástica aguda; Hb: hemoglobina; WBC: recuento de leucocitos; RC: Remisión Completa; RCi: Remisión completa con recuentos incompletos; RES: resistencia; RP: remisión parcial; *CBF*: *Core Binding Factor*; ND: no disponible;

Incidencia global y tipo de IFI

Se estudiaron 56 episodios de IFI del total de los 589 ciclos de quimioterapia intensiva (10% de incidencia bruta). De ellos, 29 eran posibles (52%), 17 probables (30%) y 10 probados (18%). La Tabla 2 muestra los aislamientos microbiológicos obtenidos, en la IFI probada: 4 candidemias, 2 mucormicosis, 1 aspergilosis y 3 con otros aislamientos, en la IFI probable: 17 AGA positivo. En caso de la IFI posible el lugar más frecuentemente afectado fue el pulmón (97%). De 56 los episodios de IFI, 45 (81%) se resolvieron con el tratamiento planificado, hubo 5 (8%) fallecimientos a causa de la IFI y 6 (11%) casos resultaron no fueron evaluables para respuesta.

Tabla 2. Lugar, aislamientos microbiológicos y clasificación de episodios de IFI

Tipo de IFI	N (%)
Total	56 (10)
Probada	10 (18)
Candidemia	4 (40)
Aspergilosis Rino-sinusal	1 (10)
Mucormicosis diseminada	2 (20)
Otras	3 (30)
Probable	17 (30)
Aspergilosis pulmonar	16 (94)
Aspergilosis diseminada	1 (6)
Posible	29 (52)
Pulmón	28 (97)
Rino-sinusal	1 (3)

Abreviaturas; IFI: infección fúngica invasiva

Incidencia de IFI y resultados clínicos según el tipo de quimioterapia

La Tabla 3 muestra la incidencia cruda de IFI según el régimen de quimioterapia intensiva. La incidencia de IFI (posible/probable/probada) fue significativamente inferior durante la consolidación con HiDAC en comparación con los ciclos de quimioterapia que contuviesen una antraciclina (2% vs. 11%, $P=0.001$). La incidencia de IFI probable/probada fue significativamente inferior durante los ciclos de HiDAC (0% vs. 5%, $P=0.002$). Además, durante los ciclos de HiDAC se analizó una serie de datos favorables: muerte durante el episodio de quimioterapia (2% frente a 10%, $P=0.001$), duración de la hospitalización entre los supervivientes (24 frente a 35,3 días, $P < 0.001$) y uso de tratamiento antifúngico empírico o dirigido (18% frente a 64%, $P < 0.001$). La tasa de tratamiento antifúngico empírico o dirigido fue especialmente alta en los episodios de inducción 3+7 (75%, con diferencias significativas con las consolidaciones que contenían antraciclinas, $P < 0.001$).

Tabla 3. Incidencia de IFI y evolución clínica según el régimen de quimioterapia administrada.

Tipo de quimioterapia	N (%)	Muertes en IND N (%)	P	Episodios de IFI N (%)	P	Episodios de IFI [#] N (%)	P
IDA+ARA-C, 3+7 (IND)	278 (47)	31 (11)		34 (12)		17 (6)	
MTZ + ARA-C (IND)	7 (1)	1 (14)		1 (14)		1 (14)	
IDA + ARA-C, 3+7 (CON)	149 (25)	11 (7)		15 (10)		8 (5)	
MTZ + ARA-C (CON)	28 (5)	3 (11)		3 (11)		1 (4)	
HD-ARA-C (CON)	127 (22)	2 (2)		2 (2)		0 (0)	
Antraciclinas (IND y CON)	462 (78)	46 (10)	0.001*	53 (11)	<0.001*	27 (5)	0.002*

* Comparación entre la cohort de itraconazol y fluconazole frente a la de voriconazol** Comparación entre la cohort de itraconazol frente a la de voriconazol. # Episodios de IFI probada y probable.

Abreviaturas: IFI: infección fúngica invasiva; IND: inducción; CON: consolidación; IDA: idarrubicina; ARA-C: citarabina; HD; altas dosis; MTZ: mirtazapina.

Tipo de quimioterapia	N (%)	Hospitalización/ciclo, días. media (rango)	P	Antifúngico intravenoso N (%)	P
IDA + ARA-C, 3+7 (IND)	278 (47)	34.1 (16-94)		207 (75)	
MTZ + ARA-C (IND)	7 (1)	30.9 (24-36)		3 (43)	
IDA + ARA-C, 3+7 (CON)	149 (25)	35.2 (18-117)		73 (49)	
MTZ + ARA-C (CON)	28 (5)	32.1 (9-53)		12 (43)	
HD-ARA-C (CON)	127 (22)	24.0 (16-54)		22 (18)	
Antraciclinas (IND y CON)	462 (78)	34.3 (9-117)	<0.001*	295 (64)	<0.001*

* Comparación entre la cohort de itraconazol y fluconazole frente a la de voriconazol** Comparación entre la cohort de itraconazol frente a la de voriconazol.

Abreviaturas: IFI: infección fúngica invasiva; IND: inducción; CON: consolidación; IDA: idarrubicina; ARA-C: citarabina; HD; altas dosis; MTZ: mirtazapina

Incidencia de IFI y resultados clínicos según la profilaxis antifúngica administrada

La Tabla 4 muestra la incidencia cruda de IFI según el tipo de profilaxis antifúngica administrada. La IFI (posible/probable/probada) fue significativamente más baja cuando se administraba profilaxis con voriconazol en comparación con los que recibían itraconazol y fluconazol (6% vs. 11% vs. 15%, $P = 0.007$). Además, esta diferencia se mantuvo al comparar la profilaxis con voriconazol vs. itraconazol ($P = 0.03$). En la cohorte de profilaxis con voriconazol la frecuencia de IFI probable/probada no fue significativamente más baja. Entre los pacientes que recibieron voriconazol la duración de la hospitalización fue más corta y se precisó menos tratamiento antifúngico empírico o dirigido ($P < 0.001$ y $P = 0.008$, respectivamente).

Tabla 4. Incidencia de IFI y principales resultados clínicos según la profilaxis antifúngica administrada

Profilaxis antifúngica	N (%)	Muerte en inducción N (%)	P	Episodios totales de IFI N (%)	P	Episodios de IFI probada y probable N (%)	P	Tiempo de hospitalización por ciclo, supervivientes, Días media (rango)	P	Uso de tratamiento antifúngico intravenoso N (%)	P
Fluconazol	72 (13)	7 (10)	.28	11 (15)	0.007*	7 (10)	.19*	34.5 (20-88)	<0.001*	41 (57)	0.008*
Itraconazol	233 (40)	22 (9)		26 (11)	0.03**	11 (5)	.26**	35.0 (9-117)		143 (61)	
Voriconazol	264 (45)	17 (6)		15 (6)		8 (3)		31.6 (17-102)		126 (48)	
Otras	20 (3)	2 (11)		2 (11)		1 (5)		36.4 (24-91)		7 (37)	

* Comparación entre la cohort de itraconazol y fluconazole frente a la de voriconazol** Comparación entre la cohort de itraconazol frente a la de voriconazol

Toxicidad limitante de dosis

No se vio toxicidad limitante de dosis en los ciclos de fluconazol, en los ciclos de itraconazol se vio 1 (0.5%) episodio de hepatotoxicidad y 1 (0.5%) episodio de cardiotoxicidad. Se vio toxicidad limitante de dosis en el 2,2% de los ciclos de voriconazol (4 hepatotoxicidad, 1 neurotoxicidad y 1 cardiotoxicidad)

Análisis multivariante para IFI

El análisis multivariante, que incluyó la edad, el sexo, la fase del tratamiento, el tipo de quimioterapia, la tratamiento antifúngico y la duración de la neutropenia, mostró que la profilaxis con voriconazol (odds ratio 0.54, intervalo de confianza del 95% 0.29–0.99, $P=0.049$) y los ciclos con HiDAC (odds ratio 0.13, intervalo de confianza del 95% 0.03–0.56, $P=0.006$) se asociaron de forma independiente con un menor riesgo de padecer IFI (posible/probable/probada).

DISCUSIÓN

La IFI fue una complicación frecuente en pacientes con LMA a pesar de usar profilaxis antifúngica universal durante el tratamiento con quimioterapia intensiva. En este estudio comparativo de cohortes históricas, la profilaxis oral con voriconazol fue bien tolerada y se asoció a una reducción significativa del riesgo de IFI en comparación con la profilaxis con itraconazol o fluconazol. Mientras se administró la profilaxis con voriconazol se vio una menor duración de las hospitalizaciones y una reducción en el de tratamiento antifúngico empírico o dirigido. También se vio una tasa más alta de IFI durante los ciclos de quimioterapia que contenían antraciclinas en comparación con HiDAC en monoterapia.

Hasta donde nosotros sabemos, esta es la serie más grande que analiza el riesgo de desarrollar una IFI en pacientes con LMA en tratamiento con quimioterapia de inducción y el impacto de los diferentes regímenes de profilaxis antifúngica. Existen una serie de limitaciones en este estudio: 1) el diseño de este no fue aleatorizado, por ello no se pueden extraer conclusiones firmes, especialmente cuando se comparan regímenes profilácticos antifúngicos; 2) el posible sesgo histórico favorecería a los pacientes más recientes (es decir, aquellos que recibieron voriconazol o itraconazol) debido a las mejoras en el soporte en los últimos años. Sin embargo, en nuestra opinión el manejo clínico fue comparable en todos los periodos históricos, incluyendo las mismas herramientas diagnósticas y la misma clasificación de IFI. Adicionalmente, las tres cohortes históricas fueron comparables en las principales características basales, y 3) se realizó un análisis por intención de tratar “intent-to-treat” sobre una

población de la vida real; podríamos argumentar que el protocolo y las guías terapéuticas son menos estrictas que en los ensayos clínicos. Sin embargo, nuestro estudio podría proporcionar resultados más prácticos y confiables en comparación con algunos ensayos. Como ejemplo, el estudio aleatorizado realizado por Marks et al. (20) comparó la profilaxis con voriconazol vs. itraconazol tras el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, usando una evaluación y unos criterios de inclusión muy estrictos, mostrando así tasas muy bajas de IFI (<2%).

Aunque en general se acepta que los pacientes con LMA que reciben quimioterapia intensiva tienen un alto riesgo de desarrollar IFI (21, 22), hay pocos estudios que analicen críticamente la incidencia y los factores de riesgo de esta complicación en este contexto. Hasta donde nosotros sabemos, solo dos estudios prospectivos se centraron exclusivamente en pacientes con LMA en tratamiento con quimioterapia intensiva: Egerer et al. (14) reportaron sobre una muestra de 40 pacientes (76 ciclos de quimioterapia) en profilaxis con posaconazol, un 1.3% de IFI probada; Vehreschild JJ et al. (15) en otro estudio retrospectivo describen en 159 pacientes una incidencia de IFI probable/probada del 3.9% con posaconazol como profilaxis frente a 19.5% de IFI con polienos tópicos. Existen estudios más grandes realizados en cohortes heterogéneas y que por tanto no sólo incluían pacientes con LMA: 1) un ensayo clínico aleatorizado realizado en una gran cohorte (n = 602) comparó la profilaxis con posaconazol frente a fluconazol o itraconazol en pacientes con LMA/SMD con neutropenia post-quimioterapia, mostrando una tasa de IFI probable/probada del 2% frente a 8 % respectivamente (9); 2) Hachem R et al. (13) compararon retrospectivamente la profilaxis con voriconazol frente a posaconazol en 200 pacientes con neoplasias hematológicas (67% eran LMA), mostrando una incidencia de IFI probable/probada de 3% frente a 0%; 3) Tormo M et al. (11) analizaron en 174 pacientes con LMA/SMD sometidos a quimioterapia intensiva (293 ciclos) la profilaxis con posaconazol frente a itraconazol, lo que resultó en tasas de IFI probable/probada de 1.7% frente a 5.3%; y 4) en otro estudio retrospectivo de Ananda-Rajah MR et al. (12) se analizó en 216 pacientes con LMA/SMD, 576 ciclos de quimioterapia intensiva o de acondicionamiento, mostrando tasas de IFI posibles/probables/probadas del 13% con fluconazol, 20% con itraconazol y 8% con voriconazol y posaconazol. Nuestros resultados están en línea con estudios previamente publicados, con una incidencia bruta del 10% de IFI posible/probable/probada durante los ciclos de quimioterapia (6% en la cohorte de voriconazol), y 5% cuando se consideró solo la IFI probable/probada (3% en la cohorte de voriconazol). Se vio una mayor incidencia de IFI en pacientes con profilaxis con

fluconazol (15%), posiblemente debido a la falta de actividad del fluconazol frente a hongos filamentosos (9). Como era de esperar, *Aspergillus* fue el aislamiento más habitual, y el pulmón el lugar más frecuentemente afectado en este tipo de infecciones (4, 7).

Con respecto a los factores pronósticos para el desarrollo de IFI, esta complicación fue más frecuente durante la quimioterapia de inducción en comparación con la de consolidación. Además, vimos que los ciclos de consolidación que contenían antraciclinas tenían una frecuencia similar de IFI (10%) a los ciclos de inducción (12%). Hasta donde nosotros sabemos, este es el primer estudio que muestra que la inclusión de una antraciclina es un factor de riesgo para el desarrollo de IFI. Podemos argumentar que esto es debido a una duración de la neutropenia más prolongada en los ciclos que contienen antraciclinas frente a HiDAC en monoterapia. Sin embargo, no se pudo demostrar una correlación entre la duración de la neutropenia y el desarrollo de IFI, probablemente porque la mayoría de los pacientes tenían un grado 4 de neutropenia muy prolongado (> 21 días) con independencia del régimen de quimioterapia (datos no mostrados). Se puede especular también que un mayor daño de la barrera mucosa en los regímenes que contienen antraciclinas podría conducir a una mayor tasa de IFI (23). Por otro lado, demostramos que, además del tratamiento con HiDAC en monoterapia, la profilaxis con voriconazol fue un factor protector independiente para el desarrollo de IFI posible/probable/probada. Este hallazgo está en línea con otros estudios que muestran una menor incidencia de IFI en los pacientes que reciben un triazol de segunda generación (es decir, posaconazol o voriconazol). Se muestra aquí también que la dosis completa de voriconazol de 200 mg/12h fue bien tolerada y eficaz. Al contrario que la dosis de voriconazol 100 mg/12h, que tal y como se mostró en otro estudio realizado en nuestra institución sobre profilaxis post injerto alogénico no fue eficaz y no redujo la toxicidad (24). Aunque la profilaxis con voriconazol de 200 mg/12h resultó adecuada en el contexto de pacientes con LMA y quimioterapia intensiva de primera línea, todavía quedan preguntas sin contestar: 1) ¿son el posaconazol, el isavuconazol y el voriconazol opciones intercambiables para la profilaxis primaria? y 2) ¿son adecuados los triazoles como profilaxis en la era de las nuevas pequeñas moléculas inhibitorias “small molecular inhibitors”, que generalmente se metabolizan a través del CYP3A4 y podrían conducir a interacciones farmacológicas significativas con otros medicamentos?. Tras este análisis, hemos continuado administrando la profilaxis con voriconazol a dosis completa, en lugar de posaconazol, durante los ciclos de quimioterapia intensiva de primera línea. La razón principal para

mantener esta política es que el voriconazol es ahora un medicamento genérico con un precio significativamente más bajo que el posaconazol.

En conclusión, la IFI fue una complicación frecuente en pacientes adultos con LMA durante los ciclos de quimioterapia intensiva de primera línea. Este estudio retrospectivo nos muestra que la profilaxis con voriconazol fue factible y se asoció a un riesgo más bajo de IFI en comparación con la profilaxis con itraconazol intravenoso o fluconazol oral.

AUTORÍA

Pau Montesinos, Rebeca Rodríguez-Veiga y Antonio Torres concibieron el estudio, analizaron e interpretaron los datos; Pau Montesinos, Rebeca Rodríguez-Veiga, Blanca Boluda y Antonio Torres escribieron el documento; Pau Montesinos, Ignacio Lorenzo y Rebeca Rodríguez-Veiga realizaron los análisis estadísticos; Ignacio Lorenzo, David Martínez-Cuadrón, Miguel Salavert, Javier Pemán, Pilar Calvillo, Isabel Cano, Evelyn Acuña, Ana Villalba, José Luis Piñana, Jaime Sanz, Pilar Solves, Leonor Senent, Ana Vicente, Amparo Sempere, José Cervera, Eva Barragán , Isidro Jarque, Miguel A. Sanz y Guillermo F. Sanz revisaron el manuscrito y contribuyeron a generar el borrador final.

FINANCIACIÓN DEL ESTUDIO

Este estudio fue en parte respaldado por la Asociación Medicina e Investigación (A.M.I.), y a través del Instituto de Investigación Sanitaria La Fe con una beca 2012/023l. Se recibió una subvención médica independiente proporcionada por Pfizer, Inc. Para la elaboración de este manuscrito.

CONFORMIDAD CON LAS NORMAS ÉTICAS

Este estudio retrospectivo fue aprobado por la Comisión de Ética para la Investigación de la institución de acuerdo con la Declaración de Helsinki (número de estudio 2013/0036).

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Pagano L, Caira M, Candoni A et al (2010) Invasive aspergilosis in patients with acute myeloid leukemia: a SEIFEM-2008 registry study. *Haematologica* 95:644–650
2. Pagano L, Caira M, Nosari A et al (2011) Etiology of febrile episodes in patients with acute myeloid leukemia: results from the Hema e-Chart Registry. *Arch Intern Med* 171:1502–1503
3. Caira M, Candoni A, Verga L, SEIFEM Group (Sorveglianza Epidemiologica Infezioni Fungine in Emopatie Maligne) et al (2015) Pre-chemotherapy risk factors for invasive fungal diseases: prospective analysis of 1,192 patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia (SEIFEM 2010-a multicenter study). *Haematologica* 100(2):284–292. <https://doi.org/10.3324/haematol.2014>
4. Neofytos D, Treadway S, Ostrander D et al (2013) Epidemiology, outcomes, and mortality predictors of invasive mold infections among transplant recipients: a 10-year, single-center experience. *Transpl Infect Dis.* 15:233–242
5. Tacke D, Buchheidt D, Karthaus M et al (2014) Primary prophylaxis of invasive fungal infections in patients with haematologic malignancies. 2014 update of the recommendations of the Infectious Diseases Working Party of the German Society for Haematology and Oncology. *Ann Hematol* 93:1449–1456
6. Maertens J, Marchetti O, Herbrecht R et al (2011) European guidelines for antifungal management in leukemia and hematopoietic stem cell transplant recipients: summary of the ECIL 3–2009 update. *Bone Marrow Transplant* 46:709–718
7. Lien MY, Chou CH, Lin CC et al (2018) Epidemiology and risk factors for invasive fungal infections during induction chemotherapy for newly diagnosed acute myeloid leukemia: a retrospective cohort study. *PLoS One.* 13(6):e0197851. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197851>
8. Girmenia C, Micozzi A, Piciocchi A et al (2014) Invasive fungal diseases during first induction chemotherapy affect complete remission achievement and long-term survival of patients with acute myeloid leukemia. *Leuk Res.* 38(4):469–474. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2014.01.007>
9. Cornely OA, Maertens J, Winston DJ et al (2007) Posaconazole vs. fluconazole or itraconazole prophylaxis in patients with neutropenia. *N Engl J Med* 356:348–359

10. Pagano L, Caira M, Candoni A et al (2012) Evaluation of the practice of antifungal prophylaxis use in patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia: results from the SEIFEM 2010-B registry. *Clin Infect Dis* 55:1515–1521

11. Tormo M, Pérez-Martínez A, Calabuig M et al (2018) Primary prophylaxis of invasive fungal infections with posaconazole or itraconazole in patients with acute myeloid leukaemia or high-risk myelodysplastic syndromes undergoing intensive cytotoxic chemotherapy: a real-world comparison. *Mycoses* 61:206–212. <https://doi.org/10.1111/myc.12728>

12. Ananda-Rajah MR, Grigg A, Downey MT et al (2012) Comparative clinical effectiveness of prophylactic voriconazole/ posaconazole to fluconazole/itraconazole in patients with acute myeloid leukemia/myelodysplastic syndrome undergoing cytotoxic chemotherapy over a 12-year period. *Haematologica* 97:459–463

13. Hachem R, Assaf A, Numan Yet al (2017) Comparing the safety and efficacy of voriconazole versus posaconazole in the prevention of invasive fungal infections in high-risk patients with hematological malignancies. *Int J Antimicrob Agents*. 50(3):384–388. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.03.021>

14. Egerer G, Geist MJP (2011) Posaconazole prophylaxis in patients with acute myelogenous leukaemia—results from an observational study. *Mycoses* 54(Suppl. 1):7–11

15. Vehreschild JJ, Rüping MJGT, Wisplinghoff H et al (2010) Clinical effectiveness of posaconazole prophylaxis in patients with acute myelogenous leukaemia (AML): a 6 year experience of the Cologne AML cohort. *J Antimicrob Chemother* 65:1466–1471

16. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP et al (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 (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis* 46:1813–1821

17. Grimwade D, Hills RK, Moorman AV et al (2010) National Cancer Research Institute Adult Leukaemia Working Group. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. *Blood*. 116(3):354–365. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-11-254441>

18. Cheson BD, Bennett JM, Kopecky KJ et al (2003) Revised recommendations of the International Working Group for diagnosis, standardization of

response criteria, treatment outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 21(24):4642–4649

19. Fine J, Gray R (1999) A proportional hazards model for the subdistribution of a competing risk. *J Am Stat Assoc* 94:496–509

20. Marks DI, Pagliuca A, Kibbler CC, IMPROVIT Study Group et al (2011) Voriconazole versus itraconazole for antifungal prophylaxis following allogeneic haematopoietic stem-cell transplantation. *Br J Haematol* 155(3):318–327

21. Maertens JA, Girmenia C, Brüggemann RJ et al (2018) European guidelines for primary antifungal prophylaxis in adult haematology patients: summary of the updated recommendations from the European Conference on Infections in Leukaemia. *J Antimicrob Chemother* 73(12):3221–3230. <https://doi.org/10.1093/jac/dky286>

22. Tissot F, Agrawal S, Pagano L et al (2017) ECIL-6 guidelines for the treatment of invasive candidiasis, aspergilosis and mucormycosis in leukemia and hematopoietic stem cell transplant patients. *Haematologica* 102(3):433–444

23. Atallah E, Cortes J, O'Brien S et al (2007) Establishment of baseline toxicity expectations with standard front line chemotherapy in acute myelogenous leukemia. *Blood* 110:3547

24. Rodríguez-Veiga R, Montesinos P, García E, Boluda B, Rojas R, Serrano J et al (2019) Validation of a multivariable prediction model for post-engraftment invasive fungal disease in 465 adult allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Mycoses*. <https://doi.org/10.1111/myc.12891>.

9 BIBLIOGRAFÍA

- Agrawal, S., Hope, W., Sinkó, J. & Kibbler, C. (2011) Optimizing management of invasive mould diseases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.
- Aliff, T.B., Maslak, P.G., Jurcic, J.G., Heaney, M.L., Cathcart, K.N., Sepkowitz, K.A. & Weiss, M.A. (2003) Refractory aspergillus pneumonia in patients with acute leukemia: Successful therapy with combination caspofungin and liposomal amphotericin. *Cancer*.
- Almirante, B., Rodríguez, D., Park, B.J., Cuenca-Estrella, M., Planes, A.M., Almela, M., Mensa, J., Sanchez, F., Ayats, J., Gimenez, M., Saballs, P., Fridkin, S.K., Morgan, J., Rodriguez-Tudela, J.L., Warnock, D.W. & Pahissa, A. (2005) Epidemiology and predictors of mortality in cases of Candida bloodstream infection: Results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *Journal of Clinical Microbiology*.
- Alsharif, M., Cameron, S.E.H., Young, J.A.H., Savik, K., Henriksen, J.C., Gulbahce, H.E. & Pambuccian, S.E. (2009) Time trends in fungal infections as a cause of death in hematopoietic stem cell transplant recipients: An autopsy study. *American Journal of Clinical Pathology*.
- Ascioglu, S., Rex, J.H., de Pauw, B., Bennett, J.E., Bille, J., Crokaert, F., Denning, D.W., Donnelly, J.P., Edwards, J.E., Erjavec, Z., Fiere, D., Lortholary, O., Maertens, J., Meis, J.F., Patterson, T.F., Ritter, J., Selleslag, D., Shah, P.M., Stevens, D.A. & Walsh, T.J. (2002) Defining Opportunistic Invasive Fungal Infections in Immunocompromised Patients with Cancer and Hematopoietic Stem Cell Transplants: An International Consensus. *Clinical Infectious Diseases*.
- Atallah, E., Cortes, J., O'Brien, S., Pierce, S., Rios, M.B., Estey, E., Markman, M., Keating, M., Freireich, E.J. & Kantarjian, H. (2007) Establishment of baseline toxicity expectations with standard frontline chemotherapy in acute myelogenous leukemia. *Blood*.
- Barberán, J., Mensa, J., Llamas, J.C.V., Ramos, I.J., Ruiz, J.C.G., Marín, J.R.C., Tello, P.B., Massana, M.B., Vidal, J.B., Viñas, J.M.C., Huelva, F.J.C., Pons, E.C., Mediavilla, J.D., Morfa, M.L.D., Barrigón, F.E., Avellán, P.F., López, S.G., García, C.G., Maraver, D.H., Guía, A.L. de la, et al (2011) Recommendations for the treatment of invasive fungal infection caused by filamentous fungi in the hematological patient. *Revista española de quimioterapia : publicacion oficial de la Sociedad Española de Quimioterapia*.

- Berdal, J.E., Haagensen, R., Ranheim, T. & Bjørnholt, J. V. (2014) Nosocomial candidemia; risk factors and prognosis revisited; 11 years experience from a Norwegian secondary hospital. *PLoS ONE*.
- Blennow, O., Remberger, M., Klingspor, L., Omazic, B., Fransson, K., Ljungman, P., Mattsson, J. & Ringdén, O. (2010) Randomized PCR-based therapy and risk factors for invasive fungal infection following reduced-intensity conditioning and hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplantation*.
- Bow, E.J., Laverdière, M., Lussier, N., Rotstein, C., Cheang, M.S. & Ioannou, S. (2002) Antifungal prophylaxis for severely neutropenic chemotherapy recipients: A meta-analysis of randomized-controlled clinical trials. *Cancer*.
- Caillot, D., Thiébaud, A., Herbrecht, R., De Botton, S., Pigneux, A., Bernard, F., Larché, J., Monchecourt, F., Alfandari, S. & Mahi, L. (2007) Liposomal amphotericin B in combination with caspofungin for invasive aspergillosis in patients with hematologic malignancies: A randomized pilot study (combistrat trial). *Cancer*.
- Caira, M., Candoni, A., Verga, L., Busca, A., Delia, M., Nosari, A., Caramatti, C., Castagnola, C., Cattaneo, C., Fanci, R., Chierichini, A., Melillo, L., Mitra, M.E., Picardi, M., Potenza, L., Salutari, P., Vianelli, N., Facchini, L., Cesarini, M., De Paolis, M.R., et al (2015) Pre-Chemotherapy risk factors for invasive fungal diseases: Prospective analysis of 1,192 patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia (seifem 2010-a multicenter study). *Haematologica*.
- Cheson, B.D., Bennett, J.M., Kopecky, K.J., Büchner, T., Willman, C.L., Estey, E.H., Schiffer, C.A., Doehner, H., Tallman, M.S., Lister, T.A., LoCocco, F., Willemze, R., Biondi, A., Hiddemann, W., Larson, R.A., Löwenberg, B., Sanz, M.A., Head, D.R., Ohno, R. & Bloomfield, C.D. (2003) Revised Recommendations of the International Working Group for diagnosis, standardization of response criteria, treatment outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia. *Journal of Clinical Oncology*.
- Cornely, O.A., Böhme, A., Reichert, D., Reuter, S., Maschmeyer, G., Maertens, J., Buchheidt, D., Paluszewska, M., Arenz, D., Bethe, U., Effelsberg, J., Lövenich, H., Sieniawski, M., Haas, A., Einsele, H., Eimermacher, H., Martino, R., Silling, G., Hahn, M., Wacker, S., et al (2008) Risk factors for breakthrough invasive fungal infection during secondary prophylaxis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.
- Cornely, O.A., Hoenigl, M., Lass-Flörl, C., Chen, S.C.A., Kontoyiannis, D.P., Morrissey, C.O. & Thompson, G.R. (2019) Defining breakthrough invasive fungal infection–

- Position paper of the mycoses study group education and research consortium and the European Confederation of Medical Mycology. *Mycoses*, **62**.
- Cornely, O.A., Maertens, J., Bresnik, M., Ebrahimi, R., Ullmann, A.J., Bouza, E., Heussel, C.P., Lortholary, O., Rieger, C., Boehme, A., Aoun, M., Horst, H.-A., Thiebaut, A., Ruhnke, M., Reichert, D., Vianelli, N., Krause, S.W., Olavarria, E. & Herbrecht, R. (2007a) Liposomal Amphotericin B as Initial Therapy for Invasive Mold Infection: A Randomized Trial Comparing a High-Loading Dose Regimen with Standard Dosing (AmBiLoad Trial). *Clinical Infectious Diseases*.
- Cornely, O.A., Maertens, J., Winston, D.J., Perfect, J., Ullmann, A.J., Walsh, T.J., Helfgott, D., Holowiecki, J., Stockelberg, D., Goh, Y.T., Petrini, M., Hardalo, C., Suresh, R. & Angulo-Gonzalez, D. (2007b) Posaconazole vs. fluconazole or itraconazole prophylaxis in patients with neutropenia. *New England Journal of Medicine*.
- Cox, D.R. (1972) Regression Models and Life-Tables. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*.
- Cuenca-Estrella, M., Gomez-Lopez, A., Mellado, E., Buitrago, M.J., Monzon, A. & Rodriguez-Tudela, J.L. (2006) Head-to-head comparison of the activities of currently available antifungal agents against 3,378 Spanish clinical isolates of yeasts and filamentous fungi. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.
- Denning, D.W. (2003) New drug classes Echinocandin antifungal drugs. *The Lancet*.
- Dimopoulos, G., Ntziora, F., Rachiotis, G., Armaganidis, A. & Falagas, M.E. (2008) *Candida albicans* versus non-*albicans* intensive care unit-acquired bloodstream infections: Differences in risk factors and outcome. *Anesthesia and Analgesia*.
- Donhuijsen, K., Petersen, P. & Schmid, W.K. (2008) Trend reversal in the frequency of mycoses in hematological neoplasias: autopsy results from 1976 to 2005. *Deutsches Arzteblatt international*.
- Egerer, G. & Geist, M.J.P. (2011) Posaconazole prophylaxis in patients with acute myelogenous leukaemia - results from an observational study. *Mycoses*.
- Ellis, D. (2002) Amphotericin B: spectrum and resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.
- Ethier, M.C., Science, M., Beyene, J., Briel, M., Lehrnbecher, T. & Sung, L. (2012) Mould-active compared with fluconazole prophylaxis to prevent invasive fungal diseases in cancer patients receiving chemotherapy or haematopoietic stem-cell

- transplantation: A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *British Journal of Cancer*.
- Fine, J.P. & Gray, R.J. (1999) A Proportional Hazards Model for the Subdistribution of a Competing Risk. *Journal of the American Statistical Association*.
- Fortún, J., Carratalá, J., Gavaldá, J., Lizasoain, M., Salavert, M., de la Cámara, R., Borges, M., Cervera, C., Garnacho, J., Lassaleta, Á., Lumbreras, C., Sanz, M.Á., Ramos, J.T., Torre-Cisneros, J., Aguado, J.M. & Cuenca-Estrella, M. (2011) Recomendaciones sobre el tratamiento de la enfermedad fúngica invasiva por *Aspergillus* spp. y otros hongos filamentosos de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Actualización 2011. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*.
- Freifeld, A.G., Bow, E.J., Sepkowitz, K.A., Boeckh, M.J., Ito, J.I., Mullen, C.A., Raad, I.I., Rolston, K. V., Young, J.A.H. & Wingard, J.R. (2011) Clinical practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer: 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*.
- Georgios, C., Luna, M., Russell, E L., Gerald P Bodey, Roy Chemaly, Jeffrey J Tarrand, Amar Safdar, Issam I Raad, Kontoyiannis, D.P. (2006) Invasive fungal infections in patients with hematologic malignancies in a tertiary care cancer center: An autopsy study over a 15-year period (1989-2003). *Haematologica*.
- Garcia-Vidal, C., Royo-Cebrecos, C., Peghin, M., Moreno, A., Ruiz-Camps, I., Cervera, C., Belmonte, J., Gudiol, C., Labori, M., Roselló, E., de la Bellacasa, J.P., Ayats, J. & Carratalà, J. (2014) Environmental variables associated with an increased risk of invasive aspergillosis. *Clinical Microbiology and Infection*.
- Garcia-Vidal, C., Upton, A., Kirby, K.A. & Marr, K.A. (2008) Epidemiology of Invasive Mold Infections in Allogeneic Stem Cell Transplant Recipients: Biological Risk Factors for Infection According to Time after Transplantation. *Clinical Infectious Diseases*.
- Grimwade, D., Hills, R.K., Moorman, A. V., Walker, H., Chatters, S., Goldstone, A.H., Wheatley, K., Harrison, C.J. & Burnett, A.K. (2010) Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: Determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. *Blood*.

- Hajjeh, R.A., Sofair, A.N., Harrison, L.H., Lyon, G.M., Arthington-Skaggs, B.A., Mirza, S.A., Phelan, M., Morgan, J., Lee-Yang, W., Ciblak, M.A., Benjamin, L.E., Sanza, L.T., Huie, S., Yeo, S.F., Brandt, M.E. & Warnock, D.W. (2004) Incidence of Bloodstream Infections Due to *Candida* Species and In Vitro Susceptibilities of Isolates Collected from 1998 to 2000 in a Population-Based Active Surveillance Program. *Journal of Clinical Microbiology*.
- De Heer, K., Gerritsen, M.G., Visser, C.E. & Leeflang, M.M.G. (2019) Galactomannan detection in broncho-alveolar lavage fluid for invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *Cochrane Database of Systematic Reviews*.
- Herbrecht, R., Denning, D.W., Patterson, T.F., Bennett, J.E., Greene, R.E., Oestmann, J.W., Kern, W. V., Marr, K.A., Ribaud, P., Lortholary, O., Sylvester, R., Rubin, R.H., Wingard, J.R., Stark, P., Durand, C., Caillot, D., Thiel, E., Chandrasekar, P.H., Hodges, M.R., Schlamm, H.T., et al (2002) Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. *New England Journal of Medicine*.
- Heussel, C.P., Kauczor, H.U., Heussel, G., Fischer, B., Mildenerger, P. & Thelen, M. (1997) Early detection of pneumonia in febrile neutropenic patients: Use of thin-section CT. *American Journal of Roentgenology*.
- Horn, D.L., Neofytos, D., Anaissie, E.J., Fishman, J.A., Steinbach, W.J., Olyaei, A.J., Marr, K.A., Pfaller, M.A., Chang, C. & Webster, K.M. (2009) Epidemiology and Outcomes of Candidemia in 2019 Patients: Data from the Prospective Antifungal Therapy Alliance Registry. *Clinical Infectious Diseases*.
- Kanamori, H., Rutala, W.A., Sickbert-Bennett, E.E. & Weber, D.J. (2015) Review of Fungal Outbreaks and Infection Prevention in Healthcare Settings during Construction and Renovation. *Clinical Infectious Diseases*.
- Kontoyiannis, D.P., Chamilos, G., Lewis, R.E., Giralt, S., Cortes, J., Raad, I.I., Manning, J.T. & Han, X. (2007) Increased bone marrow iron stores is an independent risk factor for invasive aspergillosis in patients with high-risk hematologic malignancies and recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Cancer*.
- Kontoyiannis, D.P., Marr, K.A., Park, B.J., Alexander, B.D., Anaissie, E.J., Walsh, T.J., Ito, J., Andes, D.R., Baddley, J.W., Brown, J.M., Brumble, L.M., Freifeld, A.G., Hadley, S., Herwaldt, L.A., Kauffman, C.A., Knapp, K., Lyon, G.M., Morrison, V.A., Papanicolaou, G., Patterson, T.F., et al (2010) Prospective Surveillance for Invasive Fungal Infections in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients,

- 2001–2006: Overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database. *Clinical Infectious Diseases*.
- Kuse, E.R., Chetchotisakd, P., da Cunha, C.A., Ruhnke, M., Barrios, C., Raghunadharao, D., Sekhon, J.S., Freire, A., Ramasubramanian, V., Demeyer, I., Nucci, M., Leelarasamee, A., Jacobs, F., Decruyenaere, J., Pittet, D., Ullmann, A.J., Ostrosky-Zeichner, L., Lortholary, O., Koblinger, S., Diekmann-Berndt, H., et al (2007) Micafungin versus liposomal amphotericin B for candidaemia and invasive candidosis: a phase III randomised double-blind trial. *Lancet*.
- Lee, C.H., Lin, C., Ho, C.L. & Lin, J.C. (2018) Primary fungal prophylaxis in hematological malignancy: A network meta-analysis of randomized controlled trials. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.
- Lewis, R.E., Cahyame-Zuniga, L., Leventakos, K., Chamilos, G., Ben-Ami, R., Tamboli, P., Tarrand, J., Bodey, G.P., Luna, M. & Kontoyiannis, D.P. (2013) Epidemiology and sites of involvement of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies: A 20-year autopsy study. *Mycoses*.
- Lien, M.Y., Chou, C.H., Lin, C.C., Bai, L.Y., Chiu, C.F., Yeh, S.P. & Ho, M.W. (2018) Epidemiology and risk factors for invasive fungal infections during induction chemotherapy for newly diagnosed acute myeloid leukemia: A retrospective cohort study. *PLoS ONE*.
- Lortholary, O., Gangneux, J.P., Sitbon, K., Lebeau, B., de Monbrison, F., Le Strat, Y., Coignard, B., Dromer, F. & Bretagne, S. (2011) Epidemiological trends in invasive aspergillosis in France: The SAIF network (2005-2007). *Clinical Microbiology and Infection*.
- Maertens, J., Maertens, V., Theunissen, K., Meersseman, W., Meersseman, P., Meers, S., Verbeken, E., Verhoef, G., Van Eldere, J. & Lagrou, K. (2009) Bronchoalveolar Lavage Fluid Galactomannan for the Diagnosis of Invasive Pulmonary Aspergillosis in Patients with Hematologic Diseases. *Clinical Infectious Diseases*.
- Maertens, J., Marchetti, O., Herbrecht, R., Cornely, O.A., Flückiger, U., Frre, P., Gachot, B., Heinz, W.J., Lass-Flörl, C., Ribaud, P., Thiebaut, A. & Cordonnier, C. (2011) European guidelines for antifungal management in leukemia and hematopoietic stem cell transplant recipients: Summary of the ECIL 32009 update. *Bone Marrow Transplantation*, **46**, 709–718.
- Maertens, J.A., Raad, I.I., Marr, K.A., Patterson, T.F., Kontoyiannis, D.P., Cornely, O.A., Bow, E.J., Rahav, G., Neofytos, D., Aoun, M., Baddley, J.W., Giladi, M.,

- Heinz, W.J., Herbrecht, R., Hope, W., Karthaus, M., Lee, D.G., Lortholary, O., Morrison, V.A., Oren, I., et al (2016) Isavuconazole versus voriconazole for primary treatment of invasive mould disease caused by *Aspergillus* and other filamentous fungi (SECURE): A phase 3, randomised-controlled, non-inferiority trial. *The Lancet*.
- Marks, D.I., Pagliuca, A., Kibbler, C.C., Glasmacher, A., Heussel, C.P., Kantecki, M., Miller, P.J.S., Ribaud, P., Schlamm, H.T., Solano, C. & Cook, G. (2011) Voriconazole versus itraconazole for antifungal prophylaxis following allogeneic haematopoietic stem-cell transplantation. *British Journal of Haematology*.
- Marr, K.A., Carter, R.A., Boeckh, M., Martin, P. & Corey, L. (2002) Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: Changes in epidemiology and risk factors. *Blood*.
- Marr, K.A., Schlamm, H.T., Herbrecht, R., Rottinghaus, S.T., Bow, E.J., Cornely, O.A., Heinz, W.J., Jagannatha, S., Koh, L.P., Kontoyiannis, D.P., Lee, D.G., Nucci, M., Pappas, P.G., Slavin, M.A., Queiroz-Telles, F., Selleslag, D., Walsh, T.J., Wingard, J.R. & Maertens, J.A. (2015) Combination antifungal therapy for invasive aspergillosis a randomized trial. *Annals of Internal Medicine*.
- Marty, F.M., Cosimi, L.A. & Baden, L.R. (2004) Breakthrough Zygomycosis after Voriconazole Treatment in Recipients of Hematopoietic Stem-Cell Transplants [7]. *New England Journal of Medicine*.
- Menichetti, F., Del Favero, A., Martino, P., Bucaneve, G., Micozzi, A., Girmenia, C., Barbabietola, G., Pagano, L., Leoni, P., Specchia, G., Caiozzo, A., Raimondi, R. & Mandelli, F. (1999) Itraconazole oral solution as prophylaxis for fungal infections in neutropenic patients with hematologic malignancies: a randomized, placebo-controlled, double-blind, multicenter trial. GIMEMA Infection Program. Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'. *Clinical Infectious Diseases*.
- Mikulska, M., Raiola, A.M., Bruno, B., Furfaro, E., Van Lint, M.T., Bregante, S., Ibatci, A., Del Bono, V., Bacigalupo, A. & Viscoli, C. (2009) Risk factors for invasive aspergillosis and related mortality in recipients of allogeneic SCT from alternative donors: An analysis of 306 patients. *Bone Marrow Transplantation*.
- Montesinos, P., Rodríguez-Veiga, R., Boluda, B., Martínez-Cuadrón, D., Cano, I., Lancharro, A., Sanz, J., Arilla, M.J., López-Chuliá, F., Navarro, I., Lorenzo, I., Salavert, M., Pemán, J., Calvillo, P., Martínez, J., Carpio, N., Jarque, I., Sanz, G.F. & Sanz, M.A. (2015) Incidence and risk factors of post-engraftment invasive fungal disease in adult allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients

- receiving oral azoles prophylaxis. *Bone Marrow Transplantation*, **50**, 1465–1472.
- Moons, K.G.M., Altman, D.G., Reitsma, J.B., Ioannidis, J.P.A., Macaskill, P., Steyerberg, E.W., Vickers, A.J., Ransohoff, D.F. & Collins, G.S. (2015) Transparent reporting of a multivariable prediction model for individual prognosis or diagnosis (TRIPOD): Explanation and elaboration. *Annals of Internal Medicine*.
- Neofytos, D., Horn, D., Anaissie, E., Steinbach, W., Olyaei, A., Fishman, J., Pfaller, M., Chang, C., Webster, K. & Marr, K. (2009) Epidemiology and Outcome of Invasive Fungal Infection in Adult Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients: Analysis of Multicenter Prospective Antifungal Therapy (PATH) Alliance Registry. *Clinical Infectious Diseases*.
- Neofytos, D., Treadway, S., Ostrander, D., Alonso, C.D., Dierberg, K.L., Nussenblatt, V., Durand, C.M., Thompson, C.B. & Marr, K.A. (2013) Epidemiology, outcomes, and mortality predictors of invasive mold infections among transplant recipients: A 10-year, single-center experience. *Transplant Infectious Disease*.
- Nicolle, M.C., Bénet, T., Thiebaut, A., Bienvenu, A.L., Voirin, N., Duclos, A., Sobh, M., Cannas, G., Thomas, X., Nicolini, F.E., de Monbrison, F., Piens, M.A., Picot, S., Michallet, M. & Vanhems, P. (2011) Invasive aspergillosis in patients with hematologic malignancies: Incidence and description of 127 cases enrolled in a single institution prospective survey from 2004 to 2009. *Haematologica*.
- Nucci, M. & Colombo, A. (2002) Risk factors for breakthrough candidemia. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*.
- Odabasi, Z., Mattiuzzi, G., Estey, E., Kantarjian, H., Saeki, F., Ridge, R.J., Ketchum, P.A., Finkelman, M.A., Rex, J.H. & Ostrosky-Zeichner, L. (2004) -D-Glucan as a Diagnostic Adjunct for Invasive Fungal Infections: Validation, Cutoff Development, and Performance in Patients with Acute Myelogenous Leukemia and Myelodysplastic Syndrome. *Clinical Infectious Diseases*.
- Pagano, L., Caira, M., Candoni, A., Offidani, M., Martino, B., Specchia, G., Pastore, D., Stanzani, M., Cattaneo, C., Fanci, R., Caramatti, C., Rossini, F., Luppi, M., Potenza, L., Ferrara, F., Mitra, M.E., Fadda, R.M., Invernizzi, R., Aloisi, T., Picardi, M., et al (2010) Invasive aspergillosis in patients with acute myeloid leukemia: A SEIFEM-2008 registry study. *Haematologica*.
- Pagano, L., Caira, M., Nosari, M., Van Lint, MT., Candoni, A., Offidani, M., Aloisi, t., Irrera, G., Bonini, A., Picardi, M., Caramatti, C., Invernizzi, R., Mattei, D., Melillo, L., de Waure, C., Reddicono, G., Fianchi, L., Valentini, CG., Girmenia, C., Leone,

- G., Aversa, F. (2007) Fungal infections in recipients of hematopoietic stem cell transplants: results of the SEIFEM B-2004 study--Sorveglianza Epidemiologica Infezioni Fungine Nelle Emopatie Maligne. *Clinical Infectious Diseases*.
- Pagano, L., Caira, M., Nosari, A., Rossi, G., Viale, P., Aversa, F. & Tumbarello, M. (2011) Etiology of febrile episodes in patients with acute myeloid leukemia: Results from the hema e-Chart registry. *Archives of Internal Medicine*.
- Pagano, L., Pagliari, G., Basso, A., Marra, R., Sica, S., Frigieri, L., Morace, G., Ardito, F. & Leone, G. (1997) The role of bronchoalveolar lavage in the microbiological diagnosis of pneumonia in patients with haematological malignancies. *Annals of Medicine*.
- Pappas, P.G., Kauffman, C.A., Andes, D.R., Clancy, C.J., Marr, K.A., Ostrosky-Zeichner, L., Reboli, A.C., Schuster, M.G., Vazquez, J.A., Walsh, T.J., Zaoutis, T.E. & Sobel, J.D. (2015) Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*.
- Park, S., Kim, K., Jang, J.H., Kim, S.J., Kim, W.S., Chung, D.R., Kang, C.I., Peck, K.R. & Jung, C.W. (2016) Randomized trial of micafungin versus fluconazole as prophylaxis against invasive fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Journal of Infection*.
- Pauw, B. De, Thomas J. Walsha, Donnellya, J.P., Stevens, D. a., Edwards, J.E., Calandra, T., Pappas, P.G., Maertens, J., Lortholary, O., Kauffman, C. a., Denning, D.W., Patterson, T.F., Maschmeyer, G., Bille, J., Dismukes, W.E., Herbrecht, R., Hope, W.W., Kibbler, C.C., Kullberg, B.J., Marr, K. a., et al (2008) Revised Definitions of Invasive Fungal Disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive. *Clin. Infect. Dis*, **46**, 1813–1821.
- Pechlivanoglou, P., Vries, R. De, Daenen, S.M.G.J. & Postma, M.J. (2011) Cost benefit and cost effectiveness of antifungal prophylaxis in immunocompromised patients treated for haematological malignancies: Reviewing the available evidence. *PharmacoEconomics*.
- Pemán, J., Cantón, E., Quindós, G., Eraso, E., Alcoba, J., Guinea, J., Merino, P., Ruiz-Pérez-de-Pipaon, M.T., Pérez-del-Molino, L., Linares-Sicilia, M.J., Marco, F., García, J., Roselló, E.M., Gómez-G-de-la-Pedrosa, E., Borrell, N., Porrás, A., Yagüe, G., Miranda, C., Campos-Herrero, I., Navarro, D., et al (2012) Epidemiology, species distribution and in vitro antifungal susceptibility of

- fungaemia in a Spanish multicentre prospective survey. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.
- Pemán, J. & Salavert, M. (2013) Epidemiología y prevención de las infecciones nosocomiales causadas por especies de hongos filamentosos y levaduras. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, **31**, 328–341.
- Penack, O., Schwartz, S., Martus, P., Reinwald, M., Schmidt-Hieber, M., Thiel, E. & Blau, I.W. (2006) Low-dose liposomal amphotericin B in the prevention of invasive fungal infections in patients with prolonged neutropenia: Results from a randomized, single-center trial. *Annals of Oncology*.
- Phai Pang, K.A., Godet, C., Fekkar, A., Scholler, J., Nivoix, Y., Letscher-Bru, V., Massias, L., Kauffmann-Lacroix, C., Elsendoorn, A., Uzunov, M., Datry, A. & Herbrecht, R. (2012) Breakthrough invasive mould infections in patients treated with caspofungin. *Journal of Infection*.
- Przepiorka, D., Weisdorf, D., Martin, P., Klingemann, H.G., Beatty, P., Hows, J. & Thomas, E.D. (1995) Consensus conference on acute GVHD grading. In *Bone Marrow Transplantation*.
- Ramsay, I., Gorton, R.L., Patel, M., Workman, S., Symes, A., Haque, T., Irish, D., Seneviratne, S.L., Burns, S.O., Wey, E. & Lowe, D.M. (2016) Transmission of Hepatitis B core antibody and galactomannan enzyme immunoassay positivity via immunoglobulin products: A comprehensive analysis. *Clinical Infectious Diseases*.
- Reboli, A.C., Rotstein, C., Pappas, P.G., Chapman, S.W., Kett, D.H., Kumar, D., Betts, R., Wible, M., Goldstein, B.P., Schranz, J., Krause, D.S. & Walsh, T.J. (2007) Anidulafungin versus fluconazole for invasive candidiasis. *New England Journal of Medicine*.
- Richardson, M.D. & Kokki, M.H. (1998) Diagnosis and prevention of fungal infection in the immunocompromized patient. *Blood Reviews*.
- Robenshtok, E., Gafter-Gvili, A., Goldberg, E., Weinberger, M., Yeshurun, M., Leibovici, L. & Paul, M. (2007) Antifungal prophylaxis in cancer patients after chemotherapy or hematopoietic stem-cell transplantation: Systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Oncology*.
- Robin, C., Cordonnier, C., Sitbon, K., Raus, N., Lortholary, O., Maury, S., Peffault de la Tour, R., Bretagne, S. & Bastuji-Garin, S. (2019) Mainly Post-Transplant Factors Are Associated with Invasive Aspergillosis after Allogeneic Stem Cell Transplantation: A Study from the Surveillance des Aspergilloses Invasives en

- France and Société Francophone de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*.
- Rodríguez-Veiga, R., Montesinos, P., Boluda, B., Lorenzo, I., Martínez-Cuadrón, D., Salavert, M., Pemán, J., Calvillo, P., Cano, I., Acuña, E., Villalba, A., Piñana, J.L., Sanz, J., Solves, P., Senent, L., Vicente, A., Sempere, A., Cervera, J., Barragán, E., Jarque, I., et al (2019a) Incidence and outcome of invasive fungal disease after front-line intensive chemotherapy in patients with acute myeloid leukemia: impact of antifungal prophylaxis. *Annals of Hematology*, **98**, 2081–2088.
- Rodríguez-Veiga, R., Montesinos, P., García, E., Boluda, B., Rojas, R., Serrano, J., Martínez-Cuadrón, D., Martín, C., Sanz, J., Tabares, S., Piñana, J.L., Lorenzo, I., Montoro, J., Salavert, M., Pemán, J., Jarque, I., Solves, P., Sanz, G.F., Torres, A. & Sanz, M.A. (2019b) Validation of a multivariable prediction model for post-engraftment invasive fungal disease in 465 adult allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Mycoses*, **62**, 418–427.
- Rotstein, C., Bow, E.J., Laverdiere, M., Ioannou, S., Carr, D., Moghaddam, N. & Grp, C.F.P.S. (1999) Randomized placebo-controlled trial of fluconazole prophylaxis for neutropenic cancer patients: Benefit based on purpose and intensity of cytotoxic therapy. *Clinical Infectious Diseases*.
- Shannon, V.R., Andersson, B.S., Lei, X., Champlin, R.E. & Kontoyiannis, D.P. (2010) Utility of early versus late fiberoptic bronchoscopy in the evaluation of new pulmonary infiltrates following hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*.
- Shulman, H.M., Sullivan, K.M., Weiden, P.L., McDonald, G.B., Striker, G.E., Sale, G.E., Hackman, R., Tsoi, M.S., Storb, R. & Donnall Thomas, E. (1980) Chronic graft-versus-host syndrome in man: A long-term clinicopathologic study of 20 seattle patients. *American Journal of Medicine*.
- Sickles, E.A. (1975) Clinical presentation of infection in granulocytopenic patients. *Archives of Internal Medicine*.
- Sinkó, J., Csomor, J., Nikolova, R., Lueff, S., Kriván, G., Reményi, P., Bártai, Á. & Masszi, T. (2008) Invasive fungal disease in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients: An autopsy-driven survey. *Transplant Infectious Disease*.
- Steyerberg, E.W., Vickers, A.J., Cook, N.R., Gerds, T., Gonen, M., Obuchowski, N., Pencina, M.J. & Kattan, M.W. (2010) Assessing the performance of prediction models: A framework for traditional and novel measures. *Epidemiology*.

- Sulahian, A., Porcher, R., Bergeron, A., Touratier, S., Raffoux, E., Menotti, J., Derouin, F. & Ribaud, P. (2014) Use and limits of (1-3)- β -D-glucan assay (fungitell), compared to galactomannan determination (platelia Aspergillus), for diagnosis of invasive aspergillosis. *Journal of Clinical Microbiology*.
- Thursky, K., Byrnes, G., Grigg, A., Szer, J. & Slavin, M. (2004) Risk factors for post-engraftment invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*.
- Tissot, F., Agrawal, S., Pagano, L., Petrikos, G., Groll, A.H., Skiada, A., Lass-Flörl, C., Calandra, T., Viscoli, C. & Herbrecht, R. (2017) ECIL-6 guidelines for the treatment of invasive candidiasis, aspergillosis and mucormycosis in leukemia and hematopoietic stem cell transplant patients. *Haematologica*.
- Tormo, M., Pérez-Martínez, A., Calabuig, M., Hernández-Boluda, J.C., Amat, P., Navarro, D. & Solano, C. (2018) Primary prophylaxis of invasive fungal infections with posaconazole or itraconazole in patients with acute myeloid leukaemia or high-risk myelodysplastic syndromes undergoing intensive cytotoxic chemotherapy: A real-world comparison. *Mycoses*.
- Ullmann, A.J., Aguado, J.M., Arikan-Akdagli, S., Denning, D.W., Groll, A.H., Lagrou, K., Lass-Flörl, C., Lewis, R.E., Muñoz, P., Verweij, P.E., Warris, A., Ader, F., Akova, M., Arendrup, M.C., Barnes, R.A., Beigelman-Aubry, C., Blot, S., Bouza, E., Brüggemann, R.J.M., Buchheidt, D., et al (2018) Diagnosis and management of Aspergillus diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline. *Clinical Microbiology and Infection*.
- Ullmann, A.J., Lipton, J.H., Vesole, D.H., Chandrasekar, P., Langston, A., Tarantolo, S.R., Greinix, H., De Azevedo, W.M., Reddy, V., Boparai, N., Pedicone, L., Patino, H. & Durrant, S. (2007) Posaconazole or fluconazole for prophylaxis in severe graft-versus-host disease. *New England Journal of Medicine*.
- Uzun, O., Asciglu, S., Anaissie, E.J. & Rex, J.H. (2001) Risk Factors and Predictors of Outcome in Patients with Cancer and Breakthrough Candidemia. *Clinical Infectious Diseases*.
- Vehreschild, J.J., Rüping, M.J.G.T., Wisplinghoff, H., Farowski, F., Steinbach, A., Sims, R., Stollorz, A., Kreuzer, K.A., Hallek, M., Bangard, C. & Cornely, O.A. (2010) Clinical effectiveness of posaconazole prophylaxis in patients with acute myelogenous leukaemia (AML): A 6 year experience of the Cologne AML cohort. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.

- Vergidis, P., Razonable, R.R., Wheat, L.J., Estes, L., Caliendo, A.M., Baden, L.R., Wingard, J.R., Baddley, J., Assi, M., Norris, S., Chandrasekar, P., Shields, R., Nguyen, H., Freifeld, A., Kohler, R., Kleiman, M., Walsh, T.J. & Hage, C.A. (2014) Reduction in false-positive aspergillus serum galactomannan enzyme immunoassay results associated with use of piperacillin-tazobactam in the United States. *Journal of Clinical Microbiology*.
- Walsh, T.J., Pappas, P., Winston, D.J., Lazarus, H.M., Petersen, F., Raffalli, J., Yanovich, S., Stiff, P., Greenberg, R., Donowitz, G., Schuster, M., Reboli, A., Wingard, J., Arndt, C., Reinhardt, J., Hadley, S., Finberg, R., Laverdière, M., Perfect, J., Garber, G., et al (2002) Voriconazole compared with liposomal amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with neutropenia and persistent fever. *New England Journal of Medicine*.
- Walsh, T.J., Shoham, S., Petraitiene, R., Sein, T., Schaufele, R., Kelaher, A., Murray, H., Mya-San, C., Bacher, J. & Petraitis, V. (2004) Detection of galactomannan antigenemia in patients receiving piperacillin-tazobactam and correlations between in vitro, in vivo, and clinical properties of the drug-antigen interaction. *Journal of Clinical Microbiology*.
- Wingard, J.R., Carter, S.L., Walsh, T.J., Kurtzberg, J., Small, T.N., Baden, L.R., Gersten, I.D., Mendizabal, A.M., Leather, H.L., Confer, D.L., Maziarz, R.T., Stadtmauer, E.A., Bolaños-Meade, J., Brown, J., DiPersio, J.F., Boeckh, M. & Marr, K.A. (2010) Randomized, double-blind trial of fluconazole versus voriconazole for prevention of invasive fungal infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*.
- Wingard, J.R., Merz, W.G., Rinaldi, M.G., Miller, C.B., Karp, J.E. & Saral, R. (1993) Association of *Torulopsis glabrata* infections with fluconazole prophylaxis in neutropenic bone marrow transplant patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.
- Winston, D.J., Bartoni, K., Territo, M.C. & Schiller, G.J. (2011) Efficacy, Safety, and Breakthrough Infections Associated with Standard Long-Term Posaconazole Antifungal Prophylaxis in Allogeneic Stem Cell Transplantation Recipients. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*.
- Wirk, B. & Wingard, J.R. (2009) Current approaches in antifungal prophylaxis in high risk hematologic malignancy and hematopoietic stem cell transplant patients. *Mycopathologia*.

- Zaoutis, T.E., Jafri, H.S., Huang, L.M., Locatelli, F., Barzilai, A., Ebell, W., Steinbach, W.J., Bradley, J., Lieberman, J.M., Hsiao, C.C., Seibel, N., Laws, H.J., Gamba, M., Petrecz, M., Taylor, A.F., Strohmaier, K.M., Chow, J.W., Kartsonis, N.A. & Ngai, A.L. (2009) A prospective, multicenter study of caspofungin for the treatment of documented candida or aspergillus infections in pediatric patients. *Pediatrics*.
- Zhang, P., Jiang, E.L., Yang, D.L., Yan, Z.S., Huang, Y., Wei, J.L., Wang, M., Ma, Q.L., Liu, Q.G., Zou, D.H., He, Y., Qiu, L.G., Feng, S.Z. & Han, M.Z. (2010) Risk factors and prognosis of invasive fungal infections in allogeneic stem cell transplantation recipients: A single-institution experience. *Transplant Infectious Disease*.