

TESIS DOCTORAL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

SEPTIEMBRE 2012

**IMPACTO DE LA FUENTE DE PROGENITORES
HEMATOPOYÉTICOS EN LA MORTALIDAD RELACIONADA
CON LA INFECCIÓN POST-TRASPLANTE ALOGÉNICO.
ASPERGILOSIS INVASIVA POST-TRASPLANTE: FACTORES
DE PROGRESIÓN Y PRONÓSTICO**

AUTORA: ROCIO PARODY PORRAS

Para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía

Directores de la tesis: Dr. Jordi Sierra Gil

Dra. Mercè Gurgui Ferrer

Dr. Rodrigo Martino Bofarull

ANTECEDENTES Y MOTIVACIÓN DE LA TESIS

Cuando acabé la carrera de Medicina en mi ciudad natal, Sevilla, y superé favorablemente el MIR, decidí escoger la especialidad de Hematología y hemoterapia, motivada en gran parte por mi padre, médico hematólogo del hospital universitario Virgen del Rocío de Sevilla. En aquel momento necesitaba experimentar un cambio radical en mi vida. En definitiva, quería emprender sola, sin la protección de mi familia y amigos que en cualquier caso siempre estarían ahí, la siguiente etapa de mi vida. Tras visitar varios centros españoles y, siempre guiada por el consejo de mi padre, me sentí especialmente atraída por la ciudad de Barcelona. Dos hospitales, en los que me recibieron francamente bien, me hicieron dudar hasta el último momento, y finalmente, casi de manera impulsiva, opté por el hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Supongo que la originalidad de su arquitectura, sus jardines, y el hecho de no parecer precisamente un centro de trabajo, algo positivo tanto para los profesionales como para los pacientes, me hizo inclinarme por éste. Tenía la certeza de que el nivel profesional de ambos era equivalente.

Mirando hacia atrás, estoy convencida de que no me equivoqué: he ganado la experiencia de conocer a fondo una ciudad muy diferente a la mía natal, ni peor ni mejor, y he comprobado “in situ” que no era cierta la imagen que yo misma tenía de Barcelona y su gente. En pocos meses me adapté a una ciudad bulliciosa, cosmopolita y bilingüe, una sociedad seria y distante de entrada, pero acogedora y respetuosa finalmente, y en la que encontré grandes amigos que han estado, están y sin ninguna duda permanecerán a mi lado, aunque sea en la distancia, el resto de mi vida. Mentiría si no reconociera que en todo este tiempo siempre tuve la añoranza de mi tierra y mi gente sevillana, pero afortunadamente una escapada de tanto en tanto compensaba la distancia.

En el hospital de Sant Pau empecé mi residencia en julio de 2006, un año muy difícil por la cantidad de cambios personales vividos. El segundo año de la residencia tomé contacto con mi especialidad, y desde el principio me sentí motivada por el área clínica, concretamente el paciente hematológico crítico ingresado. Me interesaba de forma especial la patología infecciosa asociada al paciente hematológico inmunodeprimido tras recibir una quimioterapia intensiva o bien un trasplante de progenitores hematopoyéticos, y que contribuía en gran parte a la mortalidad relacionada con el procedimiento. Tengo que admitir que mi principal inclinación a

lo largo de los años ha sido en el área del trasplante alogénico: la accesibilidad creciente del procedimiento a una mayor población de pacientes y las innovaciones continuas en el tratamiento de soporte, tanto en el campo de la patología infecciosa como en la reconstitución inmunológica post-trasplante y fisiopatología de la enfermedad del injerto contra huésped, despertaron pronto mi curiosidad. La complejidad de estos pacientes y la conciencia de “todo” lo que tenía y tengo aún que aprender al respecto han sido siempre mi principal motor en el trabajo.

No puedo dejar de mencionar que gran parte de mi motivación personal en el desarrollo de la presente tesis doctoral se la debo especialmente al excelente profesional que me la supo transmitir y con el que tuve la oportunidad de trabajar en el hospital de S.Pau, el Dr. Rodrigo Martino. Su entusiasmo diario y su dilatada experiencia en el área de trasplante me incitó a colaborar con él en distintos trabajos, primero como data manager y luego como coautora de artículos publicados en revistas científicas.

Mi labor científica se inició en el desarrollo de un estudio prospectivo sobre incidencia y factores de riesgo de las infecciones por virus respiratorios en los receptores de un trasplante hematopoyético, y que fue presentado como tema de la suficiencia investigadora. A continuación me dediqué a la recogida retrospectiva de todas las complicaciones infecciosas que acontecían en los pacientes receptores de un trasplante alogénico no emparentado, en el seno de un estudio planteado a nivel nacional, y posteriormente me centré en los factores de riesgo y pronósticos de una de las infecciones oportunistas que más me ha interesado: las infecciones fúngicas, concretamente por *Aspergillus*, y reuní los tres manuscritos que enfocaron el tema de mi tesis doctoral.

Me hace especial ilusión dedicar esta tesis en primer lugar a Rodrigo, la persona que confió en mí inicialmente y me apoyó siempre en mi trabajo a lo largo de todos estos años, al resto del equipo de hematología del hospital de Sant Pau con el que tuve la oportunidad de trabajar durante y después de mi residencia, y como no a mi familia, padres y hermanos, que incondicionalmente me apoyaron en los mejores y peores momentos de esta etapa de mi vida.

INDICE

Glosario de abreviaturas

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

- 1.1. Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos
 - 1.1.1. Fuentes alternativas de progenitores hematopoyéticos
 - 1.1.1.1. Sangre periférica frente a Médula ósea
 - 1.1.1.2. Trasplante de Sangre de Cordón Umbilical
- 1.2. Complicaciones infecciosas asociadas al trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos. Mortalidad relacionada con la infección
 - 1.2.1. Factores generales predisponentes de infección en el período precoz y tardío post-trasplante
 - 1.2.2. Impacto del tipo de donante: relacionado versus no emparentado
 - 1.2.3. Impacto de la fuente de progenitores: Cordón umbilical versus médula ósea y sangre periférica
 - 1.2.4. Aspectos generales de la etiología infecciosa post-trasplante
- 1.3. Aspergilosis invasiva en el paciente hematológico:
 - 1.3.1. Generalidades y patogénesis de la infección por *Aspergillus* spp.
 - 1.3.2. Diagnóstico precoz de la aspergilosis invasiva
 - 1.3.3. Tratamiento antifúngico de primera línea: generalidades
 - 1.3.3.1. Criterios de respuesta al tratamiento antifúngico
 - 1.3.4. Incidencia y mortalidad atribuible de la aspergilosis invasiva en la población inmunodeprimida
 - 1.3.5. Factores de riesgo de la AI:
 - 1.3.5.1. Factores de riesgo de desarrollo de AI en el trasplante alogénico
 - 1.3.5.2. Factores de progresión tras el trasplante alogénico
 - 1.3.5.2. Factores pronósticos de AI en los pacientes hematológicos

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3. RESULTADOS

Manuscrito 1. [Parody R](#), [Martino R](#), [Rovira M](#), [Vazquez L](#), [Vázquez MJ](#), [de la Cámara R](#), [Blazquez C](#), [Fernández-Avilés F](#), [Carreras E](#), [Salavert M](#), [Jarque I](#), [Martín C](#), [Martínez F](#), [López J](#), [Torres A](#), [Sierra J](#), [Sanz GF](#); [Infectious/Non-infectious Complications Subcommittee of the Grupo Español de Trasplante Hematopoyético \(GETH\)](#). Severe Infections after Unrelated Donor Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Adults: Comparison of Cord Blood Transplantation with Peripheral Blood and Bone Marrow Transplantation. *Biology of Blood and Marrow transplantation* 2006 July;12(7):734-748.

Manuscrito 2. Martino R, **Parody R**, Fukuda T, Maertens J, Theunissen K, Ho A, Mufti GJ, Kroger N, Zander AR, Heim D, Paluszewska M, Selleslag D, Steinerova K, Ljungman P, Cesaro S, Nihtinen A, Cordonnier C, Vazquez L, Lopez-Duarte M, Lopez J, Cabrera R, Rovira M, Neuburger S, Cornely O, Hunter AE, Marr KA, Dornbusch AJ, Einsele H. Impact of the intensity of the pretransplantation conditioning regimen in patients with prior invasive aspergillosis undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective survey of the Infectious Diseases Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood* 2006: November; 108 (9): 2928-2936.

Anexo. Parody R, Martino R, Sánchez F, Subirá M, Hidalgo A, Sierra J. Predicting survival in adults with invasive aspergillosis during therapy for hematological malignancies or after hematopoietic stem cell transplantation: Single-center analysis and validation of the Seattle, French and Strasbourg prognostic indexes. *American Journal of Hematology* 2009 Jun 30;84(9):571-578. *American Journal of Hematology* 2009: September; 84(9): 571-578.

4. DISCUSIÓN GENERAL

5. CONCLUSIONES

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Glosario de abreviaturas

AI: aspergilosis invasiva
AloTPH: Trasplante alogénico de Progenitores Hematopoyéticos
AloTIR: Trasplante alogénico con Intensidad Reducida
Amb: Anfotericina liposomal
AnfB: anfotericina B convencional
API: Aspergilosis pulmonar invasiva
CMV: Citomegalovirus
DCT: Depleción de células T
DE: Donante emparentado
DNE: Donante no emparentado
ECT: efecto del injerto contra el tumor
EICH: enfermedad del injerto contra el huésped
GM: galactomanano
IAC: incidencia acumulada
IFI: infección fúngica invasiva
IRVB: infección respiratoria de vías bajas
LAM: leucemia aguda mieloide
LBA: lavado broncoalveolar
MR: mortalidad
MRI: mortalidad relacionada con la infección
MRT: mortalidad relacionada con el trasplante
PHSP: progenitores hematopoyéticos de sangre periférica
RC: respuesta completa
RP: respuesta parcial
Se: Sensibilidad
SG: supervivencia global
SLA: Supervivencia libre de aspergilosis
Sp: especificidad
TACAR: tomografía axial computerizada de alta resolución
TMO: Trasplante alogénico de médula ósea
TSP: Trasplante alogénico de sangre periférica
TSCU: Trasplante de Sangre de Cordón Umbilical
VOR: voriconazol

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1. Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos.

El trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (AloTPH) constituye un tratamiento potencialmente erradicador de las hemopatías malignas en general, así como determinadas patologías benignas de índole variada. Sin embargo, la morbilidad y mortalidad asociadas con el procedimiento lo limitan a una población seleccionada de pacientes. La probabilidad de disponer de un donante familiar histocompatible es de un 33% aproximadamente, y en caso de no disponerlo se procede a la búsqueda de un donante no emparentado (DNE). A pesar de la existencia de registros internacionales de donante, en general, menos de un 50% de búsquedas son exitosas, si bien la variabilidad individual es enorme en función de la frecuencia del HLA del paciente en la comunidad internacional. La disponibilidad de un donante de médula ósea (ó sangre periférica) conlleva un tiempo medio de 4 meses, lo cual supone una importante limitación en pacientes con alto riesgo de recaída de su enfermedad de base .

El aloTPH de DNE se asocia a una mayor tasa de enfermedad del injerto contra el huésped (EICH) grave y fallo del injerto , y una supervivencia global 10-20% menor respecto al aloTPH de un donante emparentado (DE) HLA idéntico . En la última década se han introducido innovaciones esenciales con objeto de reducir la mortalidad asociada al trasplante (MRT) y de ampliar las indicaciones del aloTPH:

(1) La introducción progresiva de regímenes de acondicionamiento de intensidad reducida (aloTIR) ha permitido ampliar los criterios de inclusión para recibir dicho procedimiento . Así, la edad del paciente (por encima de 45-50 años) y la presencia de morbilidad asociada, bien sea por un status avanzado de la enfermedad de base, antecedente de infección grave no resuelta y patologías subyacentes, suponen actualmente una contraindicación relativa; Es esencial la valoración individual de cada paciente.

En términos generales, en el aloTIR el efecto mieloablativo y toxicidad de la quimioterapia y/o radioterapia en el periodo peritrasplante se reducen, mientras queda preservado el efecto del injerto contra el tumor (ECT) por las células inmunocompetentes infundidas. Al no eliminarse completamente la hematopoyesis del huésped se genera un estado inmunológico de “quimera mixta” donde se

establece de forma recíproca la tolerancia inmune donante/receptor. La progresiva retirada de la inmunosupresión y en ocasiones la inmunoterapia coadyuvante mediante infusión de linfocitos del donante favorece el cambio de “quimera mixta” a “quimera completa” del donante; Ello se asocia a un riesgo moderado de enfermedad del injerto contra huésped (EICH), retardado respecto al aloTPH mieloablativo, y potencia el efecto de injerto contra tumor.

(2) La inmunoprolifaxis y tratamiento de la EICH se ha diversificado. Aunque el tratamiento de primera línea continúa siendo la corticoterapia, existen fármacos de nueva generación en fase de desarrollo, asociados en segunda y tercera líneas, que tratan de mejorar la pobre supervivencia asociada a la EICH grave. Por otro lado la introducción de técnicas de depleción T del injerto *ex vivo* ó *in vivo*, que incluyen terapias antilinfocitarias (globulina antitimocítica y anticuerpos monoclonales dirigidos frente a marcadores de membrana linfocitarios como el CD52), reducen el riesgo de EICH aguda.

(3) El tipo de fuente de progenitores, representado inicialmente por la médula ósea (MO), ha sido en gran parte desplazado por los progenitores hematopoyéticos movilizados a sangre periférica (SP) y por el cordón umbilical (CU).

1.1.1. Fuentes alternativas de progenitores hematopoyéticos.

Uno de los principales inconvenientes de la MO se deriva de su forma de obtención, dada la necesidad de hospitalización del donante para someterle a una intervención quirúrgica bajo anestesia general. Frente a ello, en los últimos 20 años se han introducido 2 fuentes alternativas de progenitores: la SP y el CU.

1.1.1.1. Sangre periférica frente a Médula ósea.

Los PH del donante sano se movilizan a la sangre periférica a través de leucoaféresis (1 ó 2 sesiones generalmente), previa administración de factor de crecimiento granulocitario (G-CSF) durante 4 ó 5 días a dosis altas (mínimo 10 microgramos/kg/día repartido en dos dosis). Desde 1995, numerosos estudios han analizado y comparado la SP respecto a la MO (. La SP ofrece como ventajas la accesibilidad de la fuente (no requiere ingreso hospitalario del donante) y la mayor cantidad de progenitores hematopoyéticos (PH) infundidos que reduce el período de neutropenia secundario al acondicionamiento. El mayor contenido de linfocitos T en

el inóculo obtenido de PHSP no parece asociarse a una mayor tasa de EICH aguda respecto a la médula ósea, aunque sí de EICH crónica . El mayor riesgo de EICH planteó la introducción de diferentes técnicas de depleción T del inóculo, bien *ex vivo* ó *in vivo* (con el uso de anticuerpos monoclonales como alemtuzumab o globulina antitimocítica). En la actualidad aún persiste la controversia de la posible ventaja de la SP, en términos de supervivencia global (SG) y libre de enfermedad (SLE), frente a la MO .

1.1.1.2 Trasplante de sangre de cordón umbilical.

El primer TSCU fue realizado en 1988 en un niño afecto con anemia de Fanconi . Poco a poco se consolidó como una alternativa viable, fundamentalmente en los niños, y se generó un registro internacional que en el día de hoy cuenta con más de 100000 unidades criopresevadas disponibles (incluidos los bancos privados de cordón). El principal inconveniente de esta fuente radica en la cantidad de celularidad del producto infundido (aproximadamente un logaritmo menos de células nucleadas respecto a la MO y SP). La celularidad mínima que se acepta en la actualidad para reducir el tiempo de recuperación granulocitaria y disminuir la probabilidad de fallo de injerto depende de la enfermedad de base (maligna versus no maligna) y número de disparidades, aunque se recomienda no infundir unidades por debajo de 2×10^7 /kg de células nucleadas totales y 1.7×10^5 /kg de CD34+.

Sin embargo, el TSCU ofrece una serie de ventajas que se resumen en los siguientes puntos:

(1) La pureza de los progenitores hematopoyéticos determina que el estudio de histocompatibilidad entre donante y receptor se simplifique a 3 antígenos HLA: A, B (serología) y DRB1 (por alta resolución), y no 5 antígenos (incluidos C y DQB1) como se requiere en la actualidad en el caso de la sangre periférica y médula ósea.

(2) El TSCU se asocia a una menor incidencia y severidad de la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH) y por tanto a una posible retirada precoz del tratamiento inmunosupresor, respecto a otras fuentes de progenitores. Sin embargo, la tasa de recaída no es superior al de otras fuentes, como sería esperable. Los mecanismos exactos del efecto graft versus leucemia no están bien dilucidados

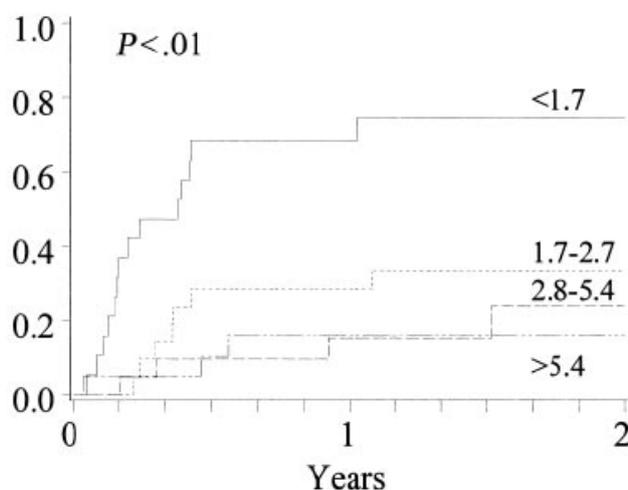
(3) La rápida disponibilidad de unidades de cordón, comparado con la fuente de progenitores del adulto (menos de 2 semanas según lo estimado en algunos estudios)

y por tanto es la única alternativa en aquellos pacientes sin donante emparentado que necesitan de forma urgente recibir un aloTPH

(4) La “stem cells” del CU tiene un mayor potencial de crecimiento e injerto, según se ha demostrado en modelos murinos, característica que explica el éxito final del injerto en pacientes tanto adultos como niños .

La SLE al año del TSCU está condicionada fundamentalmente por la celularidad infundida (dosis total de células nucleadas y CD34+, figura 1), la edad del paciente (SLE a 1 año de hasta 73%, en menores o iguales de 30 años, frente a SLE a 1 año de 27%, en mayores de 30 años) y el estadio de la enfermedad de base (precoz versus avanzado) . El impacto de la disparidad HLA en los resultados globales del trasplante es contradictorio, con estudios que no han encontrado diferencias de SG en base a la presencia de 0-3 *mismatched* y estudios que sí . Un estudio americano recientemente publicado analiza los resultados de 1202 TSCU: la presencia de mismatched unidireccional en sentido injerto contra huésped se asocia a una tasa de injerto superior (HR=1.6) y MRT y global inferiores (HR=0.5) que se igualan a los resultados de TSCU matched. Sin embargo la presencia exclusiva de mismatched en sentido rechazo se asocia a resultados globales peores [34].

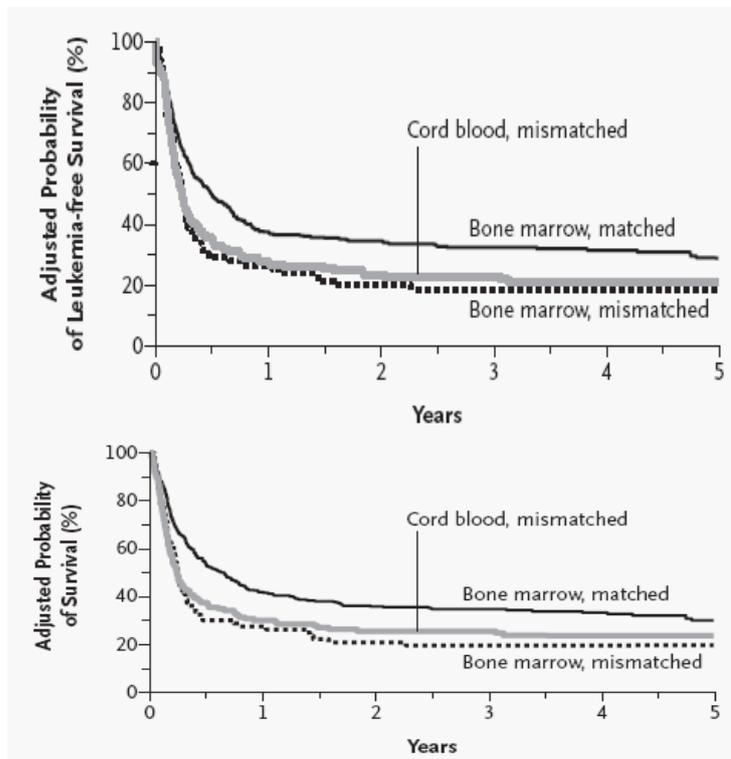
Figura 1. Incidencia acumulada de mortalidad relacionada con el tratamiento tras aloTSCU (n = 102). Efecto de la dosis de CD34 ($\times 10^5$ /kilogramo de peso). Wagner et al. [25]



Los dos primeros estudios que impulsaron el uso de CU como fuente alternativa en adultos, ambos retrospectivos con más de 500 pacientes incluidos, se publicaron en el año 2004: En el estudio de Rocha y col. se encuentran resultados similares en cuanto a MRT, tasa de recaída (TR), supervivencia libre de progresión (SLP) y EICH crónica en el TSCU (94% con *mismatched*) y el TMO con identidad HLA. En el estudio de Laughlin , el cual incluye una proporción importante de casos *mismatched* en ambos grupos de pacientes (TSCU y TMO), los resultados (MRT, TR y mortalidad global) del TMO con identidad HLA son superiores a los del TSCU y el TMO con algún *mismatched*, que por otro lado son comparables entre si; Adicionalmente, no se encuentran diferencias significativas entre los TSCU con uno ó 2 HLA *mismatched* (figura 2). Concomitantemente el estudio japonés de Takahashi objetiva que el TSCU (n=68) se asocia a resultados significativamente mejores en cuanto a MRT y SLE, respecto al TMO de DNE (n=45). Recientemente el mismo grupo ha publicado un estudio comparativo de los resultados del TSCU frente al TMO y el TSP de donante relacionado, en términos de MRT, tasa de recaídas, SLE y EICH aguda y crónica. En dicho estudio no se encuentran diferencias significativas entre ambos grupos excepto en la proporción de EICH grave aguda ó crónica, que es significativamente mayor en el grupo de MO y SP.

La mortalidad relacionada con el TPH (MRT) de CU es particularmente alta en adultos, generalmente superior al 50%, y la etiología más frecuente en los 6 primeros meses es de origen infeccioso, debido a la aplasia y al déficit inmunológico prolongados asociados a este tipo de fuente .

Figura 2. Probabilidad ajustada de Supervivencia libre de enfermedad (A) y supervivencia global (B) a 3 años tras aloTMO y aloTSCU. Probabilidad ajustada a edad, estadio de enfermedad y status serológico del paciente y donante. Laughlin et al [29]



1.2. Complicaciones infecciosas asociadas al trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos. Mortalidad relacionada con la infección.

Uno de los principales retos del aloTPH es la reducción de la mortalidad relacionada con el trasplante (MRT), la cual abarca toda complicación letal que ocurra en un paciente trasplantado, desde el inicio del acondicionamiento y sin que intervenga la enfermedad de base del paciente, es decir, excluyendo la mortalidad relacionada con la progresión de la misma. Las infecciones oportunistas que acontecen en el período post-trasplante, tanto precoz como tardío, constituyen una de las causas más frecuentes de MRT [41]. La mortalidad relacionada con la infección (MRI) varía ostensiblemente de unos estudios a otros y generalmente es responsable de un 35-50% de las causas de MRT (tabla 1).

Tabla 1. Mortalidad global y mortalidad relacionada con la infección. Revisión de literatura en función de la fuente de progenitores

Estudio	N	Periodo estudio	Fuente de PH	MRT	MRI	Conclusiones relevantes
Sanz Blood-01	22	1997-2000	CU	43% (100d)	40%	SLE 53%(1a) > en ≤ 30 años y/ó estadio precoz
Remberger Blood 01 ¹⁴	107vs107	1993-1999	MO vs SP	32 vs 31% (1 a)	-	TR 25 vs 31%(ns) SLE 46vs43%
Nucci TID -03	29 vs 27	1995-1999	MO vs SP	55vs 38%	50vs60%	>tasa infección post-injerto en SP
Hamza BJH04	28vs23	1997-2003	CU vs MO/SP	-	25vs22%	>tasa inf. Pre-injerto en CU, no difer. en global
Takahashi Blood-04	45vs68	1996-2003	CU vs MO	9vs29%(1y)	19vs13%	No difer en TR
Laughlin NEJM-04	600 (LA)	1996-2001	CU vs MO matched MO mismatched	63vs 46vs 65%	45vs 21vs 24%	MRT y MRG: MOmatched < CU y BM No diferencias en TR entre grupos
Rocha NEJM-04	682 (LA)	1998-2002	CU vs MO	69 vs 63%	42vs41%	No diferencias significativas en EICHc, TR, MRT, SLE

PH: progenitores hematopoyéticos; MRT: mortalidad global relacionada con el trasplante; MRG: mortalidad global; MRI: mortalidad relacionada con la infección; MO: médula ósea; SP: sangre periférica; CU: cordón umbilical; LA: leucemia aguda; EICHc: enfermedad del injerto contra huésped crónica; TR: tasa de recaída; SLE: supervivencia libre de enfermedad; NS: no significativo

1.2.1. Factores generales predisponentes de infección en el periodo precoz y tardío post-trasplante.

En el **periodo precoz**, el status inmunológico deficitario del receptor asociado a la hemopatía maligna de base se acentúa tras el tratamiento de acondicionamiento (quimioterapia con ó sin radioterapia) debido, por un lado, a la aplasia medular secundaria, y por otro lado, a la disrupción de las barreras mucosas como puerta de entrada de patógenos oportunistas, en su mayoría endógenos.

El periodo de pancitopenia es variable en función de factores como la intensidad del acondicionamiento previo, la fuente de progenitores y el uso de factores de crecimiento granulocitario (G-CSF) en la fase precoz post-TPH.

El acondicionamiento de intensidad reducida ha tenido un efecto favorable en la disminución de MRT y en la incidencia de complicaciones infecciosas en el periodo pre-injerto, si bien continúa siendo un tema debatido en el periodo post-injerto, respecto al TPH mieloablatoivo, sobre todo en el contexto de EICH y tratamiento corticoide. Un estudio multicéntrico nacional liderado por Martino et al compararon el desarrollo de infecciones graves entre 71 pacientes con aloTIR y 123 aloTPH mieloablatoivo. Mientras que la incidencia de infección y enfermedad por CMV fue mayor en el aloTPH mieloablatoivo (21 vs 39% y 1 vs 9.5%, respectivamente), la incidencia de infecciones fúngicas (IFI), bacterianas y neumonía de origen desconocido no difirió de forma significativa, así como la probabilidad de MRI a 1 año (10 y 19% respectivamente, $p=0.3$). Además en el análisis multivariado la única variable que prevaleció como factor de riesgo de la MRI fue el desarrollo de EICH grave [50].

Respecto al uso de G-CSF en el periodo inmediato post-trasplante, hasta el momento no se ha demostrado que mejore la supervivencia global e incluso estudios retrospectivos han encontrado que puede aumentar la incidencia de EICH y de MRT global.

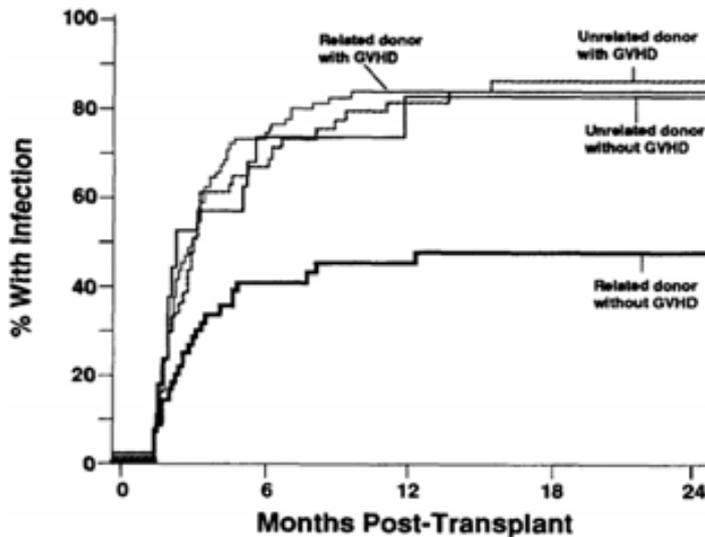
La reconstitución inmunológica completa del paciente trasplantado se demora como mínimo el primer año del aloTPH, debido fundamentalmente al tratamiento inmunosupresor mantenido durante meses como profilaxis o tratamiento de la EICH. Los principales defectos de la inmunidad en el **periodo post-injerto** son la linfopenia prolongada con predominio de linfocitos CD8 sobre CD4 (cociente invertido CD4/CD8 en sangre periférica), los niveles bajos de determinadas subclases de inmunoglobulinas (IgA, IgG2 e IgG4) y la respuesta inadecuada, tanto primaria como secundaria, a los antígenos exógenos.

La reconstitución de las células T después del TPH tiene lugar por dos vías: (a) transferencia y expansión de células T del donante y (b) vía timo-dependiente, mediante la generación de nuevas células T (“naive”) a partir de los PH del donante, y que contribuyen a una reconstitución de linfocitos T más duradera y diversa. Además influyen diferentes factores como la edad del paciente, la presencia de HLA *mismatches*, donante no relacionado, fuente de PH y desarrollo de EICH.

1.2.2. Impacto del tipo de donante: relacionado versus no emparentado.

En la última década se han publicado varios estudios relevantes, en su mayoría retrospectivos, que analizan el tipo e incidencia de complicaciones infecciosas en el periodo post TPH . Los primeros estudios al respecto confirmaban la hipótesis de que el aloTPH de DNE se asociaba a una mayor incidencia de complicaciones infecciosas graves, respecto al aloTPH de DE. Ochs et al analizaron una serie de 251 AloTPH mieloablativo de MO (151 DE frente a 98 DNE) y encontraron que el aloDNE se asociaba a una mayor incidencia de infecciones tardías (>50 días hasta 2 años) y MRT, y una menor SG a 3 años, atribuible a un estado de inmunodeficiencia más intenso y prolongado, con independencia al desarrollo de EICH (figura 3). En el análisis multivariado las complicaciones infecciosas tardías prevalecían como factor de riesgo independiente de MRT (RR 5.5, p: 0.0001).

Figura 3. Incidencia de infecciones tardías. Efecto del tipo de donante y EICH (variable tiempo-dependiente) en la incidencia de infecciones tardías en el aloTMO de DE y DNE. En el aloTMO de DE se incrementa significativamente la incidencia de infecciones tardías en presencia de EICH grave ($P < .0001$), mientras que en el aloTMO de DNE dicha variable no influye. Ochs et al.



La introducción posterior del AtoTIR, junto con el mayor grado requerido de histocompatibilidad donante-receptor y los avances introducidos en el tratamiento de soporte, han mejorado los resultados globales del aloDNE, si bien los estudios publicados hasta el momento son en su mayoría retrospectivos: en esta línea el grupo de Seattle publicó un estudio comparativo de AtoTIR (184 DNE vs 221 DE) con acondicionamiento basado en irradiación corporal total (2 Gy) con o sin fludarabina; No se encontraron diferencias significativas en cuanto a EICH grave, MRT, tasa de recaída y mortalidad global entre ambos grupos. Estudios monocéntricos más recientes han publicado resultados equiparables en términos de supervivencia global del aloTPH de DE y DNE [61-63], incluso favorecedores para el DNE en la leucemia mieloide aguda (LAM) de alto riesgo, datos que apoyan la mejoría en el tratamiento de soporte y en la planificación general del trasplante adecuado a las características del paciente y de su enfermedad.

Sin embargo, hasta el momento actual, los estudios publicados que han analizado el efecto de la fuente de progenitores hematopoyéticos en la incidencia de complicaciones infecciosas son escasos y controvertidos, sobre todo en adultos.

1.2.3. Efecto del tipo de fuente de PH

El uso creciente del cordón umbilical (CU) como una fuente alternativa de progenitores hematopoyéticos plantea como desventaja una aplasia post-acondicionamiento más prolongada y la transmisión de un sistema inmune neonatal nativo, que aumenta el riesgo de complicaciones infecciosas, sobre todo bacterianas, en el periodo precoz post-trasplante, respecto a la MO y SP.

Existen varios estudios retrospectivos que comparan las infecciones graves en niños receptores de TSCU respecto TMO de DNE. Barker et al [64] analizaron una serie de 136 trasplantes pediátricos y encontraron que la incidencia acumulada de infecciones graves era similar en TSCU, TMO sin depleción T (DCT) y TMO con DCT; la DCT se asociaba a un mayor riesgo de infecciones virales en el período precoz (hasta día +42) y de infecciones graves en general después de los 6 primeros meses, respecto a la no DCT y al TSCU. Además, en dicho estudio se encontró que

la EICH aguda grave y el fallo de injerto aumentaban el riesgo de infecciones graves, con independencia del tipo de fuente.

En adultos, los estudios que comparan CU con otras fuentes son retrospectivos, escasos, sobre todo en cuanto a complicaciones infecciosas se refiere, e incluyen series pequeñas de pacientes. Saavedra et al reportaron una serie de 27 TSCU en adultos, con una mortalidad relacionada con infección (MRI) a los 100 días de un 40% (causa primaria en 4 de 10 pacientes), fundamentalmente de etiología bacteriana. El mismo grupo analizó las complicaciones infecciosas en 22 pacientes receptores de un aloTPH de DNE de MO, con una MRI a los 100 días de 100% (5 de 5 pacientes). Hamza et al publicaron un estudio comparativo de CU (n:28) frente a MO de DNE (n:23) en pacientes hematológicos adultos. Las principales diferencias entre CU y SP/MO fueron la tasa de injerto a día +42 (86 vs 96%, respectivamente), la mayor incidencia de infecciones precoces (<50 días) en el CU, la cinética de recuperación linfocitaria (+200 días en el CU frente a más de 1 año tras MO/SP), la SLE a 100 días (34 vs 78% respectivamente) y a 3 años (25 vs 35%); Además se destacaba la correlación de la cifra de linfocitos con la tasa global de infecciones en todos los tipos de TPH. Más recientemente, Narimatsu et al publicaron los resultados de 102 pacientes receptores de un aloTIR de SCU, con una incidencia acumulada de bacteriemias a los 100 días de hasta el 32% y una mortalidad atribuible a dicha causa del 32% (8 de los 25 fallecidos con bacteriemias).

Según los estudios previos, el TSCU se asocia a un riesgo mayor de infecciones en el periodo precoz en relación con la mayor duración de la neutropenia. Queda por dilucidar si los resultados globales en cuanto a MRI y MRT pueden ser equiparables a la MO y SP, siempre y cuando se establezcan unos criterios de selección estrictos de la unidad de cordón.

1.2.4. Aspectos generales de la etiología infecciosa post-trasplante

Gran parte de la etiología infecciosa que afecta al paciente trasplantado es de origen endógeno, bien por colonización previa por bacterias/hongos patógenos (como *Candidas*), bien por reactivación de infecciones latentes (CMV y otros herpes virus, Epstein Barr, adenovirus, tuberculosis). La presencia de comorbilidad asociada a enfermedades como diabetes, patología oral ó anorrectal y/ó de enfermedades respiratorias, potencian el déficit inmunológico y aumentan el riesgo de MRT.

Los distintos periodos post-TPH, precoz (< 30 días), post-injerto intermedio (<100 días) y tardío se asocian a patrones característicos de complicaciones infecciosas potenciales (tabla 2), diferentes de otros estados de inmunodeficiencia tanto congénita como adquirida (aplasia post-quimioterapia, trasplante de órgano sólido, VIH, etc).

Tabla 2. Complicaciones infecciosas asociadas al TPH, según el periodo post-trasplante

Periodo	Factores predisponentes	Tipo de infección común
Precoz (0-30días)	Lesión de piel y mucosas Neutropenia	Bacterianas gram +>gram- Hongos Candidas > Filamentosos Virus VHS, BK/JC > CMV
Intermedio (1-3meses)	Inmunidad humoral (Hipogammaglobulinemia) Inmunidad celular (linf T) EICH aguda/Tto. inmunosupresor	Hongos Filamentosos > P.carinii Virus , sobre todo CMV > ADV, VHH6 Bacterias encapsuladas
Tardío (>3 meses)	Inmunidad celular (linf T) EICH crónica	Virus CMV, VVZ, VEB, JC Bacterias encapsuladas > TBC

Así, en el periodo precoz, en el cual el paciente se encuentra por lo general hospitalizado y en régimen de aislamiento, hay un claro predominio de infecciones de origen endógeno como bacterias, hongos levaduriformes, y reactivación de virus tipo herpes, o bien de infecciones previas infra-tratadas como aspergilosis . Las medidas de aislamiento son variables de un centro a otro, y a día de hoy se cuestiona la validez de las medidas estrictas clásicas, con excepción de aspectos básicos como el lavado de manos, el aislamiento de contacto y respiratorio para personas portadoras de determinadas infecciones (virus respiratorios, TBC) y el uso de sistemas de filtro de alta eficacia para prevenir la entrada de agentes exógenos como esporas de *Aspergillus* [70,71].

Tras el primer mes del TPH, las infecciones que cobran protagonismo, asociadas a la inmunodeficiencia celular y humoral, son fundamentalmente el CMV dentro de las virales , y el *Aspergillus*, infección fúngica que se desarrolla a continuación.

1.3. Aspergilosis invasiva en el paciente hematológico

La infección fúngica invasiva (IFI) continua siendo una amenaza común en el paciente hematológico inmunodeprimido, sobre todo en la aplasia pos-quimioterapia intensiva de la leucemia aguda mieloide (LAM) y en la fase post-injerto del aloTPH, con tasas de mortalidad descritas superiores al 90% en algunos grupos.

1.3.1. Generalidades y patogénesis de la infección por *Aspergillus* spp.

Aspergillus spp. es un hongo filamentoso saprofito y ubicuo en la naturaleza, cuyas esporas pueden resistir variaciones climáticas extremas. Se han reconocido menos de 10 especies dentro de las casi 300 especies identificadas que pueden causar una variedad de enfermedades en el ser humano, eminentemente pulmonares, dado que la vía aérea es la principal puerta de entrada. El espectro de patogenicidad de *Aspergillus* abarca desde la colonización como comensal de la vía aérea hasta la invasión de tejido pulmonar y vasos sanguíneos, con posterior diseminación al resto de órganos.

Aspergillus fumigatus es el más prevalente y el principal responsable del aumento de incidencia de la AI en la población inmunodeprimida, seguido de *A. niger*, *nidulans*, *terreus*, *flavus*, *clavatus*, *niveus* y *ostus*. Los factores específicos descritos hasta el momento que contribuyen a su patogénesis son complejos y abarcan tanto factores virulentos del hongo (endotoxinas, factores heparina-like y ácido oxálico con capacidad de *burlar* la barrera defensiva del huésped), como factores medioambientales y del propio huésped.

La respuesta inmunológica del huésped está condicionada por su grado de inmunocompetencia y se resume en los siguientes puntos:

1. Tras la inhalación de las esporas de *Aspergillus*, la primera barrera inmunológica está representada por el sistema mucociliar que recubre la vía aérea, donde las conidias son opsonizadas para su presentación y fagocitosis por los macrófagos alveolares, que a su vez activan el reclutamiento de polimorfonucleares (PMNs). Es frecuente la formación de granulomas con presencia de PMNs y eosinófilos en distribución variable, donde el hongo queda en estado latente, con capacidad de generar un espectro amplio de neumopatías, desde el estado de portador asintomático hasta desórdenes de tipo inmunoalérgico [74].

2. En caso de disfunción de la primera barrera, como ocurre en pacientes neutropénicos tras tratamiento de quimioterapia, se produce la germinación de las conidias y el crecimiento incontrolado de las hifas, con posterior invasión del torrente sanguíneo y diseminación a otros tejidos donde favorecen la trombosis de pequeños vasos y necrosis tisular, que a su vez facilita el crecimiento de las hifas. De esta manera se desarrolla la forma angioinvasiva de la aspergilosis.

3. En pacientes no neutropénicos con disfunción inmune asociada a tratamiento corticoide prolongado la función fagocitaria de los macrófagos es deficitaria pero existe una respuesta local inflamatoria intensa debido a la presencia de PMNs, la cual es responsable de la lesión tisular, aunque puede evitar la multiplicación de las hifas .

1.3.2. Diagnóstico precoz de la AI.

Recientemente se han publicado los criterios actualizados que definen la IFI por hongos levaduriformes y filamentosos, basados en factores de riesgo del huésped, signos de la infección (microbiología directa ó indirecta positiva) y características radiológicas sugestivas . Dichos criterios conservan respecto a la revisión previa la definición clásica de IFI **probada**, en base a la evidencia microbiológica y/o histopatológica de la infección, mientras que se introducen modificaciones para la IFI **probable** (al menos 1 criterio de cada uno de los 3 siguientes: clínico, del huésped y micológico directo o indirecto, incluido el test de galactomanano (GM), y **posible** (restringida a pacientes de alto riesgo con evidencia clínica consistente, sin documentación microbiológica) .

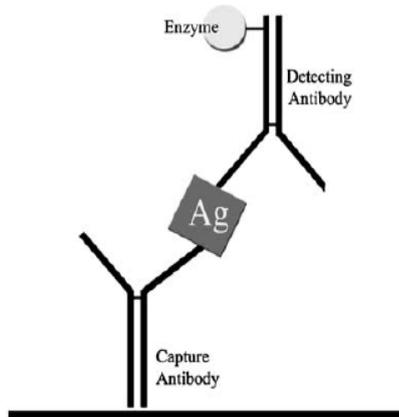
El éxito de la respuesta de la AI al tratamiento antifúngico radica en el diagnóstico precoz de la misma. El estudio diagnóstico comienza en el paciente hematológico de alto riesgo asintomático, mediante la monitorización rutinaria, y se amplía en el paciente con algún síntoma sugestivo, como fiebre persistente a pesar de tratamiento antibiótico de amplio espectro.

Actualmente las 2 herramientas básicas en el diagnóstico precoz de la AI son:

a) Técnicas microbiológicas: Hoy en día la técnica estándar es el índice de GM, componente polisacárido de la pared celular del hongo, detectado en suero (también en lavado bronchoalveolar, LBA, y líquido cerebro-espinal) y

expresado en relación a una muestra control. El test se realiza mediante una técnica de enzimoimmunoanálisis (Figura 4) que utiliza anticuerpos monoclonales murinos dirigidos de forma específica frente a $\beta(1\rightarrow5)$ galactofuranosa (Aspergillus Platelia®, BioRad Laboratorio) . Un meta-análisis reciente sobre el test de GM reportó una sensibilidad (Se) de 78% y especificidad (Sp) de 86%, con una exactitud diagnóstica de 89%, variables según el grupo de pacientes y el punto de corte adoptados . En pacientes hematológicos de alto riesgo Maertens et al definieron una Se de 100% y Sp de 97.5% del GM, para un punto de corte de 0.5 en al menos 2 determinaciones consecutivas . Hay que tener presente la posibilidad de obtener falsos positivos en pacientes que reciben determinados antibióticos como piperacilina-tazobactam y beta-lactámicos, y causas menos comunes como la reacción cruzada del test con antígenos de otras especies como *Penicilium*, *Histoplasma* o *Geotrichum* (otros descritos son *Alternaria*, *Trychophyton*, *Botrytis*, *Wallemia*); alimentación enteral con proteína de soja; administración parenteral de fluidos con gluconato sódico; contaminación de la muestra con algodón, la colonización intestinal por *Bifidobacterias*, etc. Por otro lado, el test pierde sensibilidad en aquellos pacientes que reciben tratamiento antifúngico con actividad frente a *Aspergillus* [83,84]. Dado que el valor predictivo positivo aumenta en función de la probabilidad pre-test de AI, el test debe ser usado sólo en poblaciones de alto riesgo (neutropenia y trasplante hematopoyético, con escasa utilidad por el contrario en trasplante de órganos sólido). El test de galactomanano en otros líquidos, especialmente en el LBA, se ha estudiado y validado en los últimos años, dado que parece ser más sensible (>70%) respecto a otras pruebas como la citología y cultivo en LBA y la biopsia transbronquial [85]

Figura 4. Detección de antigenemia de Galactomanano por Platelia® Aspergillus EIA. La muestra se calienta a 100° C. durante 3 min en presencia de 4% de EDTA, y el sobrenadante se retira y se mezcla con anticuerpo marcado con enzima. La mezcla se incuba y posteriormente se añade un sustrato cromogénico, la tetrametilbencidina. Si el antígeno está presente se contabiliza el color con un lector especial. Wheat et al[144].

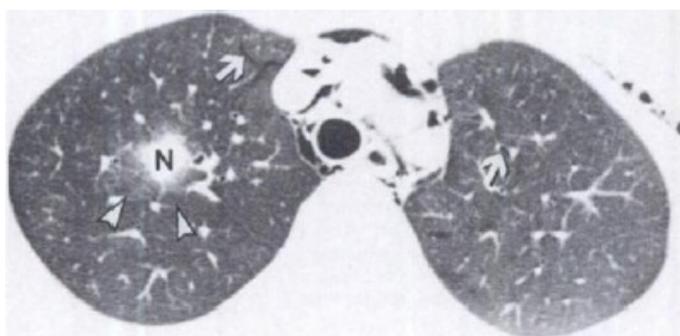


La detección de Beta D glucano (no específica de *Aspergillus*) y del ADN de *Aspergillus* en sangre mediante técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) aún no están introducidas en la rutina diaria de la mayoría de los centros. Numerosos estudios en la actualidad se centran fundamentalmente en la segunda de ellas debido a su alta sensibilidad y especificidad [86,87].

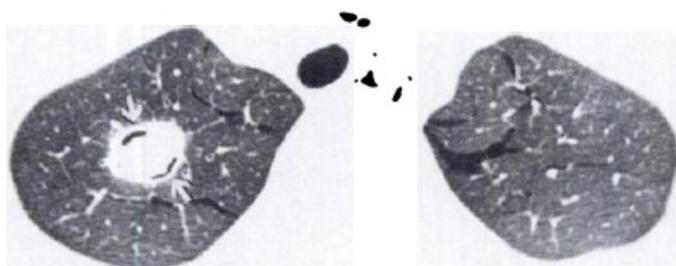
b) Radiología torácica, basada esencialmente en la tomografía axial computerizada de alta resolución (TACAR). Esta herramienta diagnóstica está plenamente establecida en el paciente neutropénico gracias a 2 signos radiológicos altamente sugestivos aunque no patognomónicos de AI [88,89]: el signo del halo y el signo de la semiluna. El signo del halo se visualiza como un anillo en vidrio deslustrado alrededor de un nódulo de bordes imprecisos (figura 5) y representa el tejido de necrosis coagulativa y hemorragia alrededor de la masa de elementos fúngicos. Ocurre precozmente en la infección y generalmente (75% de los casos) desaparece en la primera semana de la infección, dentro del periodo de aplasia. El signo de la semiluna o del aire creciente (“air crecent sign”) representa una imagen de cavitación pulmonar que ocurre con la recuperación granulocitaria. Entre ambas imágenes es posible visualizar un patrón radiológico inespecífico (generalmente alveolar) que por tanto obliga a descartar la AI por otros medios como técnicas invasivas. Caillot et al [90] describieron la evolución

radiológica de la AI en un total de 25 pacientes con AI probada. En el día 0 casi el 100% de los casos presentaban el signo del halo (24/25). Entre los días 6 y 10 en el 50% de los casos se evidenciaban patrones radiológicos por TACAR inespecíficos, mientras que a partir de las 2 semanas el signo de la semiluna se visualizaba en un 63 % de los casos, y el signo del halo en menos de un 20% de casos. Más recientemente, Greene et al [89] reportaron los signos radiológicos de AI (con criterios de probable ó probada) en una serie de 235 pacientes, de los cuales 173 tenían una enfermedad hematológica e incluía a 57 receptores de un aloTPH; la incidencia de signo del halo fue de un 78% en los pacientes hematológicos.

Figura 5. Criterios radiológicos de la aspergilosis pulmonar invasiva: (a) signo del halo: nódulo rodeado de área de vidrio deslustrado, marcado con punta de flecha, típico durante la fase de neutropenia; (b) signo de la semiluna o del “aire creciente”, que aparece en el periodo de recuperación de la aplasia. Won et al.[145].



a.



b.

Sin embargo, la AI que ocurre en el paciente no neutropénico, generalmente en el contexto del aloTPH en fase tardía con tratamiento inmunosupresor, se asocia con menor frecuencia al patrón radiológico típico [91]. Además, aunque menos conocido, está descrito un segundo patrón radiológico en los

pacientes que desarrollan una AI de vía aérea, y que corresponde al llamado árbol en gemación (“tree in bud”). En estos casos al no existir un componente eminentemente angioinvasivo el nivel de galactomanano alcanzado en suero suele ser mucho más bajo dificultando el diagnóstico precoz [92].

1.3.3. Tratamiento antifúngico de primera línea de la AI: generalidades

El tratamiento clásico de la **AI documentada** con anfotericina B convencional (AnfB) ha sido sustituido por un triazol de amplio espectro, el voriconazol (VOR), a raíz de un estudio aleatorizado que demostraba de forma significativa su superioridad frente a la primera y en el que se le asignaba un nivel de evidencia A1 [93]. El mecanismo de acción de los triazoles tiene como diana interceptar la biosíntesis de ergosterol, mediante inhibición de una enzima p450 (lanosterol 14-1-demetilasa), con lo que se produce la alteración de la membrana y la muerte celular del hongo. En el estudio mencionado de Herbrecht et al se randomizaron 277 pacientes hematológicos con AI probable ó probada en un grupo tratado con VOR (144) frente a otro grupo tratado con AnfB (133). En la semana 12, se objetivaron un 52.8% de respuestas (completa y parcial) en el grupo de VOR frente a 31.6% en el grupo AnfB (diferencia absoluta 21.2 % con IC95% de 10.4-32.9) y una SRV global de 70.8% frente a 57.9% respectivamente. Además se encontró una incidencia de reacciones adversas graves como nefrotoxicidad significativamente menor en el grupo de VOR. El efecto secundario más frecuente del azol, transitorio, fueron las alteraciones visuales (44.8% de los pacientes)

Un segundo estudio randomizado (201 pacientes en total), que comparaba la anfotericina liposomal (Amb) a 3 mg/kg versus 10 mg/kg establecía la dosis de 3 mg/kg como una alternativa de primera línea aceptada con el mismo grado de evidencia que el VOR (estudio AMBILOAD) , con una tasa de respuesta del 50% y una SRV a 3 meses del 72%, resultados equivalentes a los obtenidos en la rama de VOR del estudio previo.

El tratamiento de rescate más eficaz no está claramente definido. Las alternativas incluyen tanto formulaciones lipídicas de la anfotericina como azoles de nueva generación y equinocandinas , sin que hoy por hoy se haya establecido el lugar que ocupa la terapia combinada, a la espera de resultados consistentes de estudios

randomizados [98,99]. Igualmente la determinación de niveles del fármaco en sangre en caso de azoles orales es un tema en desarrollo y de enorme interés para diferenciar la refractariedad real de la terapia inadecuada por condiciones intrínsecas del paciente [100].

1.3.3.1 Criterios de respuesta al tratamiento antifúngico

El seguimiento y la valoración de la respuesta del paciente al tratamiento antifúngico se debe centrar en 3 aspectos fundamentales relacionados: (1) la evolución clínica del mismo; (2) la negativización de la microbiología; (3) la resolución parcial y/o total de las lesiones radiológicas. No obstante, existen matizaciones discutibles en cada uno de los puntos y debido a ello los criterios de respuesta han sido debatidos y publicados recientemente a raíz de una reunión de consenso de un panel de expertos [101]. Homogeneizar dichos criterios es fundamental en los pacientes incluidos en ensayos clínicos (tabla 3). Los expertos acordaron el límite de 6 semanas en ensayos clínicos de terapia en primera línea, para definir la respuesta de la AI al tratamiento, mientras que en estudios de tratamiento de rescate el límite establecido fue de 12 semanas. Los principales puntos aún discutibles son los siguientes:

- a) Criterios de respuesta clínica como la resolución de la fiebre, debido a la posible interurrencia de otras causas de fiebre como infecciones concomitantes. La aparición de hemoptisis, más común tras la recuperación, no es signo de fracaso terapéutico. Por otro lado hay que tener en cuenta que durante la recuperación granulocitaria puede ocurrir un síndrome de respuesta inflamatoria que empeora el estado clínico del paciente, sin que ello signifique un fracaso del tratamiento.
- b) La cinética de GM después de iniciado el tratamiento antifúngico no es completamente conocida. Trabajos recientes defienden la correlación del nivel de GM con la evolución clínica y radiológica [102-105], aunque no definen la secuencia habitual de la respuesta. Por otro lado se ha descrito un posible aumento paradójico del nivel de GM en las primeras semanas del tratamiento antifúngico como consecuencia de la destrucción de numerosas hifas, concretamente con equinocandinas, sobre todo en modelos murinos,

[102], mientras que en humanos es un tema debatido [106,107]. Aunque no está claramente definido el tiempo que tarda el test de GM en negativizarse, la persistencia de su positividad debe ser considerado un fracaso terapéutico.

- c) En el contexto del síndrome de respuesta inflamatoria inmune mencionado en el primer punto, se ha descrito un aumento de volumen de las lesiones pulmonares en las primeras semanas de tratamiento [88,108], que normalmente se asocia a un empeoramiento de la clínica pulmonar del paciente. Miceli et al describieron una serie de 19 pacientes con AI que experimentaron un deterioro tanto clínico como radiológico durante la recuperación granulocitaria, pero que concomitantemente presentaban una respuesta microbiológica favorable con negativización del GM. Todos excepto 3 pacientes, que fallecieron por otras causas, sobrevivieron a los 3 meses libres de AI.

Por otro lado, en los pacientes no neutropénicos al diagnóstico de la AI, la secuencia radiológica no corresponde frecuentemente con el patrón de evolución típico (signo de halo, patrón inespecífico de periodo intermedio y signo de la semiluna) [101].

Tabla 3. Criterios generales de respuesta a la terapia antifúngica. Segal et al

Tipo de respuesta	Criterio
Éxito*	
Respuesta completa	Supervivencia dentro del periodo predefinido de observación, resolución de los signos y síntomas atribuibles, anomalías radiológicas y evidencia micológica
Respuesta parcial	Supervivencia dentro del periodo predefinido de observación, mejoría de los signos y síntomas atribuibles, anomalías radiológicas y evidencia de respuesta micológica por cultivos ó marcador cuantitativo de laboratorio
Fracaso	
Respuesta estable	Supervivencia dentro del periodo predefinido de observación, con mínima ó no respuesta, sin evidencia de progresión según criterios clínicos, radiológicos y/ó micológicos
Progresión	Evidencia de progresión según criterios clínicos, radiológicos y micológicos

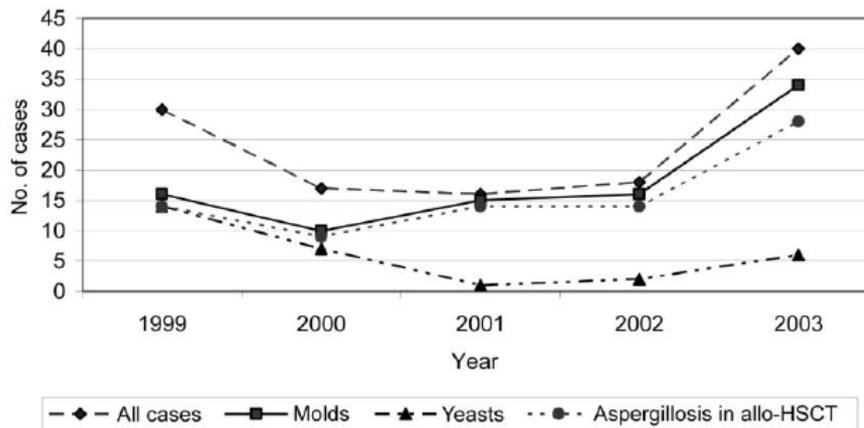
Muerte	Éxito durante el periodo predefinido, independientemente de la etiología
*En pacientes inmunodeprimidos con infecciones invasoras por hongos filamentosos, la estabilización de la enfermedad puede considerarse signo de eficacia y por tanto un objetivo razonable hasta que la recuperación inmunológica del paciente se recupere	

1.3.4 Incidencia de la AI en el paciente hematológico.

La incidencia global de las micosis invasivas ha aumentado en la última década, sobretodo a expensas de los hongos filamentosos, entre los cuales *Aspergillus* continúa siendo el más prevalente (figura 6), mientras que las infecciones por hongos levaduriformes son menos frecuentes desde la introducción del fluconazol como profilaxis standard. Dos importantes estudios epidemiológicos italianos de AI estiman una incidencia de las infecciones producidas por *Aspergillus* en torno a un 4-7% en la LA y entre un 6-14% en el aloTPH, a diferencia del trasplante autólogo (AutoTPH), donde la incidencia se sitúa en un 1-2%. La AI asociada a la quimioterapia acontece fundamentalmente en el período de aplasia (más frecuentemente tras el tratamiento de inducción de la LAM), mientras que en el aloTPH existen dos períodos de riesgo: (1) -aplasia post-acondicionamiento y (2) post-injerto granulocitario, en los pacientes que desarrollan EICH grave tratada con tratamiento esteroide a dosis altas y/o tratamientos inmunosupresores combinados.

Los factores potenciales que han contribuido al aumento de la incidencia de las IFI en los últimos años son: (1) un aumento del número de pacientes en riesgo, debido a la introducción del trasplante de acondicionamiento de intensidad reducida para pacientes mayores y/o con morbilidad asociada, al retraso en la reconstitución inmune tras el aloTPH asociado al uso de técnicas de depleción T in vitro ó in vivo como inmunoprolifaxis de la EICH, y por último, al uso combinado de nuevos fármacos inmunosupresores en el tratamiento de la EICH refractaria y (2) un aumento de los casos diagnosticados como probables, que anteriormente sólo podían ser clasificados como posibles, asociado a la introducción en la rutina diaria de la TACAR junto a tests microbiológicos de detección precoz (galactomanano en suero, Beta D glucano, PCR).

Figure 6. Incidencia anual de infecciones fúngicas invasivas, y en particular de aspergilosis invasiva en el aloTPH. Pagano et al



1.3.5. Factores de riesgo de la AI en el TPH.

1.3.5.1. Factores predisponentes de desarrollo de AI de novo

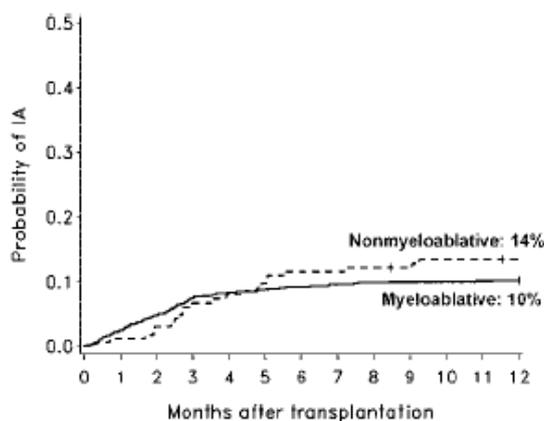
Numerosos estudios han analizado los factores de riesgo para adquirir una IFI de novo, especialmente por *Aspergillus*, en el periodo post-trasplante, inicialmente en el aloTPH mieloablativo de MO y posteriormente, en relación a las distintas modalidades de aloTPH respecto al tipo de acondicionamiento (mieloablativo versus no mieloablativo), fuentes alternativas de progenitores; SP y CU y tipo de inmunoprofilaxis (depleción T *in vitro* e *in vivo*).

El grupo de Seattle, con una elevada casuística de trasplantes, ha publicado numerosos trabajos sobre AI. En uno de sus estudios iniciales analizaron los factores de riesgo relacionados con el huésped así como las características del trasplante que influían significativamente en el desarrollo de AI en el período precoz (≤ 40 días) y tardío (41-180 días) después del **aloTPH mieloablativo** [120]. La incidencia de AI precoz aumentaba con la edad avanzada del paciente, TSCU, neutropenia prolongada y tipo de enfermedad de base (aplasia y mielodisplasia). La EICH aguda grave (grados III-IV), el uso de altas dosis de esteroides de forma prolongada, la neutropenia y linfopenia tardías, la depleción T o selección positiva de CD34+, el status serológico anti-CMV, las infecciones por virus respiratorios y la EICH crónica

extensa aumentaban la incidencia de AI tardía, mientras que la enfermedad por CMV tenía un impacto tanto en el período precoz como tardío. La influencia negativa del tratamiento corticoide en la incidencia de AI tardía se objetivó en el trabajo de Thursky, donde se destacó no sólo el impacto de las altas dosis de esteroides (>1 mg/kg/d) en las 2 semanas previas al diagnóstico de la AI, sino también de las dosis moderadas (0.25-1 mg/kg/d) mantenidas en las 8 semanas previas al diagnóstico [121]. Trabajos más recientes confirman la influencia negativa en el desarrollo de AI de factores relacionados con el trasplante (mismatched y uso de ATG) en el periodo precoz, y con el huésped (edad avanzada, citopenias, sobrecarga férrica) y las complicaciones asociadas al trasplante (EICH, infecciones concomitantes), en el periodo tardío, post-injerto [122].

En contra de lo esperado, la incidencia de aspergilosis en el aloTIR es similar ó incluso superior respecto al aloTPH convencional (figura 7), con una mediana de aparición posterior al día +100, algo más tardía que en el aloTPH mieloablativo. Sin embargo, la poca literatura existente respecto al AloTIR de SCU, de reciente publicación, presenta un espectro diferente de la AI, que se desarrolla exclusivamente durante los primeros 100 días (media 20 días, rango 11-82), y que se atribuye a la baja incidencia de EICHc en este tipo de trasplante [118].

Figure 7. Comparación de incidencia de aspergilosis invasiva (AI) tras aloTPH mieloablativo y aloTIR. Incidencia acumulada de AI en 63 pacientes con aloTIR comparador con 1673 pacientes con aloTPH mieloablalativo (1993-1998). Fukuda et al [110].



Los principales factores de riesgo de AI en el aloTIR están relacionados con la edad avanzada, EICH aguda y/o crónica grave, enfermedad por CMV y depleción T, de forma similar al aloTPH mieloablativo [115,116,122,124]. Varios estudios has

resaltado la relación temporal de la AI pulmonar con una infección previa por virus respiratorios (VR). Martino et al analizaron de forma prospectiva el tipo e incidencia de infecciones respiratorias por VR en el TPH (un total de 172 aloTPH y 240 autoTPH), y objetivaron su asociación con otras infecciones como la AI y el *S.pneumoniae*. Los 3 factores de riesgo de AI que prevalecieron en el análisis multivariado en el grupo de aloTPH (12 casos de AI probable ó probada) fueron la EICH grave, neumonía previa por CMV y antecedente de infección respiratoria de vías bajas (IRVB) por VR (HR 2.1% CI, 1.1-4.1, P=0.05). Posteriormente el mismo grupo analizó una serie de 31 pacientes con infección respiratoria por *Piconavirus* (*Enterovirus* y *Rhinovirus*), y también objetivó la asociación de IRVB por *Rhinovirus* y AI en un 20% de casos. Recientemente, siguiendo la misma línea, un estudio retrospectivo del mismo grupo ha analizado el riesgo de AI en una serie de 219 pacientes receptores de un aloTIR, en la que se estima una incidencia acumulada (IAC) a 4 años de AI del 13% (IC 4-24%) y se destaca, junto a los factores de riesgo clásicos, el impacto de la IRVB por VRs de la comunidad en el desarrollo posterior de una AI (HR 4.3, P<0.01) [127].

1.3.5.2 Factores de progresión de AI tras un aloTPH.

Los pacientes hematológicos que desarrollan una AI y que se exponen a un nuevo período de inmunosupresión tras el siguiente ciclo de quimioterapia y/ó TPH presentan un riesgo de recaída de infección de un 20-30%. Hasta hace unos años, la AI que acontecía en los pacientes hematológicos en fase de aplasia post-quimioterapia era considerada casi una contraindicación absoluta para la realización de un TPH posterior debido al alto riesgo de progresión ó recaída tras el procedimiento y a un aumento de la MRT. Sin embargo, recientemente se han introducido 2 factores que han condicionado un cambio de actitud: (1) la disponibilidad de agentes antifúngicos menos tóxicos que la AnfB con eficacia igual ó superior a la misma (anfotericina B lipídica y liposomal, voriconazol y caspofungina); y (2) la introducción del acondicionamiento de intensidad reducida, asociado a una menor toxicidad precoz post-TPH y a una duración más corta de las citopenias. De hecho, varias series publicadas recogen resultados favorables en pacientes receptores de un aloTIR con AI previa, e incluso en receptores de un

aloTPH convencional en los que el tratamiento médico se complementaba con cirugía radical .

El tratamiento de soporte en los pacientes con antecedente de AI es debatido por varias razones:

(1) No existen estudios prospectivos randomizados para identificar qué antifúngico es más eficaz como profilaxis secundaria y además las series publicadas son pequeñas con grupos inferiores a 50 pacientes. Cordonnier et al publicaron los resultados favorables en 11 pacientes afectos de LA (8 LAM, 3 LAL) con antecedente de AI y que recibieron VOR como profilaxis secundaria durante el aloTPH (9 de ellos) o sucesivos ciclos de quimioterapia. Ningún paciente presentó recaída ó progresión de la AI [134]. Una revisión reciente [136] recoge un total de 25 estudios con 239 pacientes con antecedente de AI que se exponen a un nuevo ciclo de QT o TPH. De 197 pacientes con profilaxis antifúngica (PAF), sólo 31 (16%) presentan una recaída de la AI, frente a 26 de 42 pacientes (62%) sin PAF ($p=0.0001$). Por tanto, si bien la administración de PAF secundaria está universalmente aceptada, la elección del antifúngico ha de ser individualizada según las características del paciente (tolerancia oral, deterioro de función renal y /ó hepático, interacciones medicamentosas).

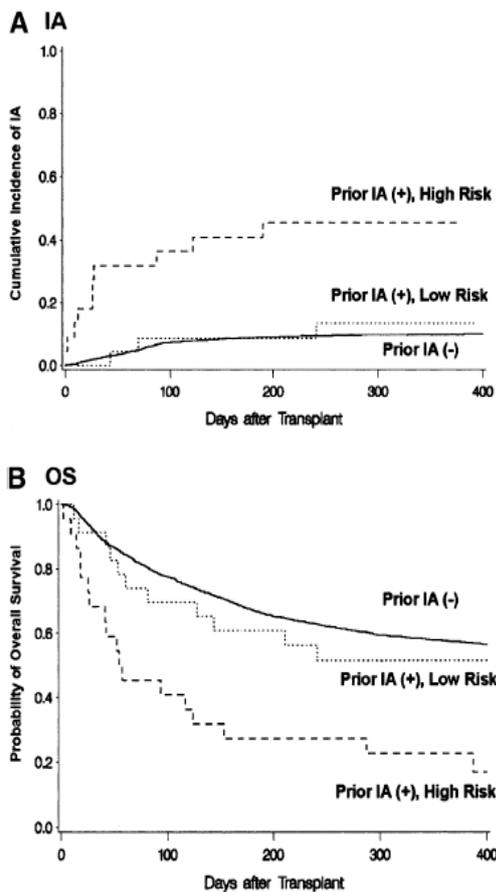
(2) Aunque la cirugía parece una opción razonable en pacientes con lesiones solitarias, buen estado general y margen de seguridad suficiente para retrasar el siguiente ciclo de quimioterapia, no hay evidencia de que se asocie a un aumento de la SRV global [137].

(3) Los tratamientos de soporte para acortar el período de neutropenia con factores de crecimiento granulocitario, infusión de granulocitos del donante e inmunoterapia adoptiva con linfocitos T anti-Aspergillus han dado resultados contradictorios [138,139].

Existen pocos datos en la literatura sobre factores predictivos de resultados adversos en pacientes con AI previa al TPH, que tendrían utilidad para establecer unas medidas terapéuticas adecuadas para estos pacientes. La escasa literatura al respecto se explica por un lado a la dificultad de obtener el diagnóstico de AI con un alto nivel de certeza, y por otro lado a que el aloTPH no debe retrasarse en hemopatías malignas de alto riesgo, en espera de un diagnóstico de certeza de la AI. Hasta la fecha se han publicado sólo dos estudios con una serie de pacientes superior a 20: Offner et al (48 pacientes con antecedente de AI probable/probada, 33% de

recaídas de la AI post TPH y mortalidad asociada a la infección del 88%) encontraron como único factor significativo de riesgo de recaída, mortalidad (MR) global y MR asociada a AI el tipo de acondicionamiento (regímenes diferentes a busulfán-ciclofosfamida. Asimismo se reportó una tendencia a una menor tasa de recaídas en el grupo con PAF secundaria (29% vs 57%, en el grupo sin PAF) [128]. El grupo de Seattle (45/2319 aloTPH con historia previa de AI) definió como grupo de alto riesgo de recaída los pacientes con AI pulmonar previa que presentaban una radiografía anormal en el momento del trasplante y/o habían recibido tratamiento antifúngico durante menos de 1 mes previo al trasplante, y que además presentaban una SG significativamente menor. El grupo de bajo riesgo presentaba sin embargo una IAc de AI post TPH y una SG superponibles al grupo de pacientes sin historia de AI previa (figura 8). Así mismo la fuente de progenitores (CU>MO>SP) y el grado de certeza de AI (probable y probada vs posible) influían en el riesgo de progresión post-TPH. El acondicionamiento con irradiación corporal total se asociaba a mayor MRT a 100 días (respecto a sólo QT y aloTIR) aunque en términos de progresión de AI no se alcanzó una diferencia estadísticamente significativa (26% vs 14%, p: 0.3) [129].

Figura 8. IAc de AI y SG tras aloTPH. Pacientes con AI previa de alto riesgo (terapia antifúngica previa < 30 días ó Rx anormal, línea discontinua, n=22) tenían una incidencia de AI post TPH (A) significativamente mayor, y una menor SG (B) a 1 año, comparado con los pacientes sin AI previa (línea continua; n= 2274; 45% versus 10%, $P = .001$; y 23% versus 58%, $P = .001$, respectivamente). Los resultados fueron equivalentes en el grupo de bajo riesgo (línea de puntos, n=23) respecto a los pacientes sin historia de AI previa.23). Fukuda et al .



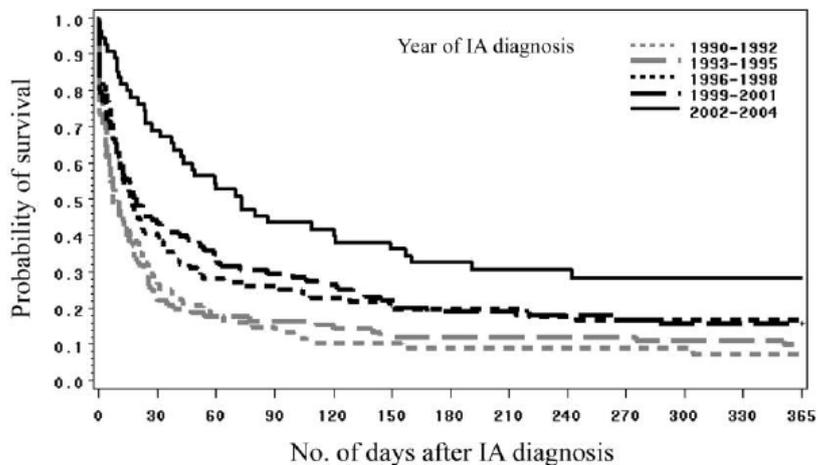
Teniendo en cuenta que los resultados del AloTPH han mejorado ostensiblemente en la década del 2000, sobre todo respecto a una menor MNR, son necesarios estudios actualizados así como definir la mejor estrategia a seguir en aquellos pacientes con antecedente de AI que se exponen a un nuevo período de inmunosupresión como es el TPH.

1.3.5.3. Factores pronósticos de la aspergilosis invasiva en los pacientes hematológicos.

En los pacientes hematológicos de alto riesgo, la mortalidad atribuible a la AI, a 3-4 meses, se estima en un 40-60% en pacientes afectados de leucemia aguda [109, 140,141] y 70-95% en receptores de un aloTPH [142,144]. Sin embargo, la supervivencia a corto plazo de la AI parece haber mejorado en años recientes, probablemente debido a los avances en el tratamiento de soporte de los pacientes, así como a la precocidad del diagnóstico gracias a técnicas radiológicas más sensibles

(TACAR) y a la introducción de tests microbiológicos indirectos ya referidos previamente . Así, en un estudio del grupo de Seattle publicado recientemente [144] la probabilidad estimada de supervivencia a los tres meses del diagnóstico de la AI fue significativamente mayor en los pacientes diagnosticados entre 2002 y 2004 frente a los pacientes diagnosticados en los años previos (45% vs 22%, $p=0.001$ (figura 9). Además, desde mediados de la década de los 90 se disponen de nuevos antifúngicos con actividad anti-Aspergillus, como son las formulaciones lipídica y liposomal de anfotericina, itraconazol endovenoso, VOR, otros azoles de nueva generación y las equinocandinas [96,146].

Figura 9. Curva de Kaplan-Meier de SG tras diagnóstico de AI tras aloTPH, según el año de diagnóstico. Supervivencia comprada en el periodo 2002–2004 comparada con el periodo 1990–2001 ($P = .0001$). Upton et al[138].



A diferencia de los factores de riesgo de AI en los pacientes hematológicos, ampliamente descritos en el momento actual, existen pocos estudios que analicen los factores predictivos de mortalidad de la AI. La disponibilidad de un modelo fácilmente reproducible que pueda predecir el pronóstico de la AI sería trascendental para la actitud terapéutica a tomar y ayudaría a la interpretación y diseño de estudios prospectivos y retrospectivos. La mayoría de expertos están de acuerdo en que los factores del huésped son probablemente los más importantes en la evolución de la AI [142-144, 147,148]. Así, la disfunción de uno ó varios órganos en los receptores de un aloTPH y el grado de inmunosupresión, ya sea por neutropenia mantenida (sin

recuperación tras el diagnóstico de la AI) y/o tratamiento corticoide prolongado (más de 7-10 días) tienen un claro impacto pronóstico negativo [140, 142].

Dos estudios publicados en los últimos años analizaron las variables con impacto en la Supervivencia Libre de Aspergilosis (SLA) y SG a 3-4 meses en receptores de un TPH que desarrollaban una AI probable ó probada. El estudio francés de Cordonnier et al (retrospectivo, multicéntrico, que incluía 51 pacientes con AI, 41 aloTPH y 10 autoTPH) reportó una MRT asociada a AI a 4 meses de 0.62 (IC 0.47-0.76) con 7 variables identificadas como factores pronósticos: monocitopenia $< 120/\text{mm}^3$, AI diseminada, tratamiento corticoide previo (>2 semanas en los 2 meses previos a la AI) y a dosis altas (≥ 2 mg/kg) en el momento del diagnóstico, EICH grave, derrame pleural y edad joven (12-35 años). La AI fue la principal causa de MRT del grupo (28 de 33 casos), sola o asociada a otras patologías [143]. El estudio americano de Upton et al (retrospectivo, monocéntrico, 405 pacientes incluidos 381 aloTPH) encontró una MRT asociada a AI a 3 meses de 32 y 23% según el año diagnóstico (≤ 2001 y ≥ 2002 , respectivamente) e identificó los siguientes factores pronósticos: HLA *mismatched*, disfunción renal, hiperbilirrubinemia, tratamiento corticoide a dosis altas, AI diseminada, AI tardía y acondicionamiento mieloablativo. El subgrupo de pacientes tratados con VOR presentó una tendencia a una mayor SRV (HR 0.4, IC 0.1-1, $p=0.06$), mientras que no se encontraron diferencias entre la monoterapia y la terapia combinada [144].

Un estudio multicéntrico reciente analiza las características epidemiológicas de las IFI asociadas al TPH en los últimos años (2004-2007). Entre 234 casos de IFI, *Aspergillus* continua siendo la etiología más frecuente si bien la MRT asociada a la misma es significativamente más baja que la reportada en estudios previos (21.5% y 35.5% a 6 y 12 semanas, respectivamente), y en comparación con las otras etiologías de IFI (candidiasis y zigomicosis). El aloTIR y la ausencia de disfunción orgánica severa (renal o respiratoria) se asociaban a mayor SRV a las 6 semanas [149].

Sin embargo, los factores pronósticos de la AI que se desarrolla en pacientes hematológicos no trasplantados apenas han sido objeto de estudio en los últimos años. Recientemente el grupo de Strasbourg ha publicado los factores pronósticos de la AI en una serie heterogénea de 289 pacientes inmunodeprimidos, incluidos pacientes con enfermedades hematológicas tratados con quimioterapia (n:192), aloTPH (n:51) y trasplante de órgano sólido [141]. La SRV global y libre de AI a 3 meses fue de 52.2% (IC 46.5-57.9%) y 59.8% (IC 54-65.4%), respectivamente. Los

factores pronósticos de MRT asociada a AI fueron los siguientes: enfermedad hematológica avanzada, aloTPH, corticoides a dosis $>0.2\text{mg/kg}$, neutropenia al diagnóstico (la monocitopenia tuvo impacto significativo sólo en la MRT global), insuficiencia renal, AI posible (vs probable/probada), AI diseminada y extensión radiológica de la infección. Acorde con el estudio de Upton, se encontró una mejora de los resultados globales a lo largo del periodo de estudio, con una SRV global a 3 meses de 47.5% y 60.4% antes y después de octubre-2002, respectivamente, atribuible esencialmente al uso de VOR como terapia de primera línea, por ser el principal cambio introducido en la práctica estándar (tabla 4).

Tabla 4. Factores pronósticos de AI en pacientes hematológicos

AloTPH					
Estudio	n/periodo	Alo/Auto	Tipo AI	SRV (%)	MRI
Cordonnier et al	51 (2002)	41/10	46 probable 5 probada	SG-4m 34 SLA-4m 43	55% (4m)
Upton et al	405 (1990-2004)	381/24	170 probable 235 probada	22%<2002 44%>2001 (SG-3m)	32% (3m)
Enfermedad hematológica (incluido TPH)					
Estudio	n/periodo	noTPH/TPH	Tipo AI	SRV(%)	MRI (%)
Nivoix et al	289* (1997-2006)	192 41Allo 24Auto	195 probable/ probada 94 posibles	SG-3m 52 SLA-3m 60	39% (3m)

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. Manuscrito 1.

La hipótesis planteada en el primer artículo que encabeza la presente tesis doctoral se basa en el impacto real de la fuente de progenitores hematopoyéticos (CU frente a SP o MO) en los resultados globales del trasplante alogénico de donante no emparentado de adultos. Para englobar el mayor número de pacientes se diseñó un estudio multicéntrico en el seno del grupo español de trasplante hematopoyético (GETH).

Los objetivos del estudio son:

2.1.1. MRI, MRT y SG, a los 100 días y a los 3 años del TPH (mediana de seguimiento del estudio). Se estimó la incidencia acumulada (IAC) para cada uno de estos resultados excepto la SG, considerando los factores de riesgo competitivos en cada caso. La SG se calculó mediante el método Kaplan Meier [152,154].

2.1.2. Análisis uni y multivariado de los factores con impacto en los resultados globales mencionados en el punto previo (MRI, MRT y SG), previa selección de una serie de variables relacionadas con el paciente y/o trasplante, incluyendo el tipo de fuente.

2.1.3. Tipo e incidencia de infecciones graves asociadas al trasplante alogénico de donante no emparentado de cordón umbilical frente a médula ósea ó sangre periférica, con especial énfasis en los factores de riesgo asociados a la infección y enfermedad por Citomegalovirus (CMV) y las infecciones fúngicas. Las infecciones graves se definen en base a criterios estándar establecidos por grupos de trabajo especializados .

2.2. Manuscrito 2.

La hipótesis del segundo artículo se originó como proyecto común del “Infectious Diseases Working Party of The European Group for Blood and Marrow Transplantation (IDWP-EBMT)”. El fundamento de la misma es analizar si el acondicionamiento **no mieloablativo** es de elección en pacientes con historia

reciente de AI probada ó probable, respecto al mieloablato, dadas las diferencias en cuanto a MRT y tiempo de aplasia entre ambos tipos de TPH, que podría asociarse a un menor riesgo de progresión de AI con el aloTIR.

Los objetivos del estudio son:

2.2.1. Incidencia acumulada a 2 años de AI post trasplante en pacientes con historia previa.

2.2.2. Análisis uni y multivariado de los factores relacionados con progresión de la AI post aloTPH, con objeto de identificar distintos grupos de riesgo, a través de un modelo aplicable en la práctica clínica.

2.3. Anexo.

La hipótesis del tercer artículo presentado como anexo de a presente tesis se basa en el diseño de un modelo predictivo de supervivencia de la AI en los pacientes hematológicos, a partir de la experiencia de nuestro centro, y la validación de dicho modelo con los resultados publicados previamente por 3 grupos independientes.

Los objetivos del estudio son:

2.1.1. Identificar las variables con impacto pronóstico en la SLA y SG a 4 meses en los receptores de un aloTPH y pacientes hematológicos no aloTPH, respectivamente.

2.1.2. Contrastar los resultados con los modelos pronósticos publicados (estudio francés, de Seattle y de Strasbourg).

3. RESULTADOS

3.1. Manuscritos

3.1.1. Manuscrito 1

En el primer manuscrito de la tesis evaluamos de forma retrospectiva el desarrollo de infecciones graves en 192 adultos receptores de un trasplante alogénico de progenitores de donante no emparentado, con un análisis detallado del tipo de infecciones desarrolladas tras aloTSCU (n= 48) y tras aloTMO ó aloTSP (n=144). En

este estudio multicéntrico participaron 7 centros españoles con una actividad anual mínima de 10 aloDNE.

Con un seguimiento a 3 años, el aloTSCU se asociaba a un riesgo mayor de infecciones graves en general (85% versus 69% en MO/SP, $P < 0.01$). De forma particular, en el aloTSCU se observó una mayor incidencia de infecciones bacterianas antes del día +100 respecto a la aloTPH de MO ó SP, aunque a los 3 años la incidencia global de infecciones (bacterianas, fúngicas y víricas) se igualaba en ambos grupos. Además, la MRI a 100 días y 3 años no difería de forma significativa entre los grupos ($P = 0.2$ y 0.5 , respectivamente).

En el análisis multivariado, el factor de riesgo más significativo de MRI para el grupo global de 192 pacientes fue la monocitopenia ($0.2 \times 10^9/L$). En el aloTSCU, la neutropenia ($0.2 \times 10^9/L$) al día +30 y la dosis baja infundida de células nucleadas totales ($<2 \times 10^7/kg$) mostraron una tendencia a una MRI aumentada ($P = 0.05$ en ambos casos).

El tipo de fuente de progenitores no tuvo efecto en los siguientes resultados: MRT a 100 días y 1 año, infección y/o enfermedad por CMV y SG.

El número de *mismatches* de HLA (en base a A, B y DRB1) no tuvo efecto en ningún resultado en el caso del aloTSCU, mientras que sí tuvo un impacto significativo tanto en la MRT como en la SG en el grupo de MO/SP ($P < 0.01$).

La MRI fue la primera causa de muerte, en porcentaje similar en ambos grupos: 61% de los aloTSCU y 59% de los aloTPH de MO ó SP que fallecieron.

Los resultados globales del estudio confirman la contribución de las complicaciones infecciosas graves en la morbilidad y mortalidad del aloTPH de DNE en los adultos. Sin embargo, los hallazgos descritos sugieren que el riesgo de MRI en el aloTSCU es similar al resto de fuentes si se realiza una selección adecuada de la unidad de CU, en base fundamentalmente a una dosis suficiente de CD34+.

3.1.2. Manuscrito 2

En este estudio multicéntrico retrospectivo en el que participaron 23 centros europeos analizamos los resultados de 129 pacientes receptores de un aloTPH con historia previa de aspergilosis invasiva probable ó probada, y de los cuales 57 (44%) recibieron un aloTIR.

En global, 27 pacientes presentaron una progresión de la AI tras el aloTPH (IAc a 2 años del 22%). Las variables que incrementaron la IAc de AI a 2 años fueron (1) neutropenia prolongada, (2) estadio avanzado de la enfermedad basal, y (3) terapia antifúngica durante menos de 6 semanas previo al aloTPH. Además, (4) el acondicionamiento mieloablativo aumentó el riesgo de progresión en los primeros 30 días tras el aloTPH. En el periodo post-injerto (> 30 días), las variables que se añadieron como significativas fueron (5) enfermedad por CMV, (6) MO ó CU como fuente de progenitores y (7) el desarrollo de EICH aguda grados II-IV.

Con estos resultados presentamos un modelo de riesgo de progresión con 3 grados, de menor a mayor riesgo ($P < 0.001$): bajo (0-1 factores de riesgo; Incidencia de AI del 6%), intermedio (2-3 factores de riesgo; Incidencia de AI del 27%) y alto (> 3 factores de riesgo, con una incidencia de 72%). Dicho modelo puede tener utilidad práctica en futuros estudios basados en la indicación de profilaxis antifúngica secundaria tras el aloTPH.

3.1.3. Anexo

En este estudio monocéntrico retrospectivo analizamos los resultados de 130 pacientes hematológicos adultos que desarrollaron una AI probada (n: 23), probable (n: 71) y posible (n: 36) en el servicio de hematología clínica durante un periodo de 13 años. Cuarenta y nueve pacientes (38%) eran receptores de un aloTPH.

La AI fue la principal causa de muerte en 27/49 (55%) receptores de un aloTPH y 28/81 (35%) de los pacientes hematológicos no trasplantados. El diagnóstico de AI antes ó durante el año 2000 tuvo un impacto negativo tanto en la SLA como en la SG a 4 meses, en el grupo global.

En el análisis multivariado, que se realizó de forma independiente en pacientes con aloTPH y no aloTPH, 5 variables (excluido el año de diagnóstico) disminuyeron la SLA a 4 meses para cada grupo: (1) disfunción de un órgano (insuficiencia renal, hiperbilirrubinemia ó insuficiencia respiratoria aguda en el momento del diagnóstico), (2) disfunción de más de un órgano (2 puntos), (3) AI diseminada, (4) neutropenia prolongada más de 10 días (grupo no aloTPH) ó monocitopenia ($<0.1 \times 10^9/l$) (sólo grupo aloTPH), y (5) altas dosis de esteroides (grupo no aloTPH) ó donante alternativo (grupo aloTPH).

Según el número de factores pronósticos adversos presentes en el momento del diagnóstico de la AI, identificamos 3 subgrupos para los pacientes no aloTPH y receptores de aloTPH, con los siguientes porcentajes estimados de SLA, respectivamente: buen pronóstico (SLA de 97% y 78%), intermedio (SLA de 73% y 32%) y pobre (SLA de 20% y 11%) [$P<0.01$]. Además el estudio incluye la validación de nuestro modelo con los previamente publicados, en el contexto del aloTPH (modelo francés y de Seattle) y en pacientes hematológicos en general (modelo de Strasbourg).

4. DISCUSION

El trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos se asocia a una mortalidad relacionada con el procedimiento variable según el tipo de donante (emparentado versus no relacionado) y la intensidad del acondicionamiento. En el trasplante de donante alternativo, la MRT a 1 año es de un 30-40% según diferentes series, aunque en determinados subgrupos, como es en el caso de enfermedad basal activa previo al TPH y/o la presencia de otras morbilidades, puede ser muy superior.

Las dos principales causas de MRT son la EICH y las complicaciones infecciosas graves, frecuentemente asociadas al tratamiento inmunosupresor asociado a la primera. La mayoría de los estudios publicados monocéntricos y multicéntricos han demostrado que los adultos receptores de un AloDNE tienen un mayor riesgo de desarrollar complicaciones infecciosas graves. Sin embargo, los cambios introducidos en la última década respecto a la diversidad de fuente de progenitores, grado de histocompatibilidad donante-receptor y tratamiento de soporte, han disminuido la elevada MRT que se asociaba clásicamente al aloTPH, y de forma particular al aloDNE .

En el primero de los estudios presentados en la presente tesis nos planteamos describir detalladamente el tipo de infecciones graves asociadas al aloDNE tanto en la fase precoz como tardía del mismo, así como sus principales factores de riesgo. Para reunir el máximo número de pacientes diseñamos un estudio multicéntrico en el seno del grupo español de complicaciones infecciosas y no infecciosas de TPH (GETH). El análisis estadístico fue rigurosamente elaborado para realizar un estudio

comparativo de los resultados globales entre el CU y las fuentes habituales de MO y SP.

Las frecuencias e incidencias acumuladas de las infecciones más comunes coinciden con los estudios previos en adultos, como es el caso de la MRI (40%, 38% y 42% a 3 años en CU, MO y SP), las IFIs (IAC a 3 años de 12% para todo el grupo) y la infección y enfermedad por CMV (IAC a 3 años 30% y 6.5% respectivamente), ambas con una presentación predominantemente tardía (a partir del día +100) después del trasplante, independientemente del tipo de fuente. En estudios previos, la etiología infecciosa fue responsable de al menos el 50% de todas las causas de mortalidad.

El TSCU ha sido extensamente debatido en adultos debido a un mayor riesgo de fallo primario de injerto, recuperación hematopoyética tardía y reconstitución inmune deficiente dada la menor cantidad de celularidad infundida . Existe escasa literatura respecto a las complicaciones infecciosas asociadas al TSCU del adulto debido a la menor experiencia acumulada en este campo, respecto a la MO y la SP. Recientes estudios indican que la supervivencia del TSCU es equiparable al aloDNE de MO . En nuestro estudio no encontramos diferencias estadísticamente significativas de MRI y MRT entre los distintos grupos (CU y MO/SP). En particular, el TSCU se asoció en los primeros 100 días a una mayor incidencia de infecciones graves, sobre todo bacterianas, y una mayor proporción de MRI. Sin embargo, a partir del día +100 la tasa de infecciones graves en el TSCU era más baja respecto a la MO/SP. La cinética de reconstitución inmune mieloide y linfoide en cada tipo de aloTPH explica en gran parte las diferencias respecto al tipo de complicaciones infecciosas que ocurren en el post-trasplante [30,31,37].

Las infecciones precoces se atribuyen principalmente a la neutropenia y a la disrupción de las barreras mucosas, lo que justifica el mayor riesgo de infecciones precoces asociadas al TSCU, con un periodo de aplasia más prolongado respecto a otras fuentes. Estudios recientes proponen un procedimiento alternativo para acelerar la recuperación hematopoyética del TSCU y así disminuir la frecuencia de infecciones precoces, mediante la co-infusión de la unidad de cordón junto a progenitores hematopoyéticos procedentes de un donante haploide con depleción total de linfocitos T , o bien la co-infusión de 2 unidades de cordón [160,161]. Sin embargo, hoy por hoy continúan siendo técnicas novedosas que se realizan en pocos centros y en pacientes seleccionados.

Tras el injerto granulocitario, la inmunidad celular es de especial relevancia. La recuperación de un sistema inmune eficaz en la fase post-injerto se ve afectada especialmente en caso de EICH aguda y/o crónica grave debido al tratamiento inmunosupresor intensivo de la misma [39,40]. Como era esperable, encontramos que la EICH grave aumentaba el riesgo de la mayoría de las infecciones graves tanto precoces como tardías. La menor frecuencia de EICH crónica grave en el TSCU podría justificar un riesgo más bajo de infecciones tardías asociadas al mismo, fundamentalmente IFIs, en nuestro estudio.

En el análisis de factores de riesgo introducimos el recuento de neutrófilos, linfocitos y monocitos como variables tiempo-dependientes, y encontramos un impacto significativo de la monocitopenia en la MRI, en la MRT y en el desarrollo de IFIs. Varios estudios recientes coinciden en el impacto negativo de la monocitopenia en el desarrollo y evolución de las infecciones graves. Un estudio de Seattle con 103 pacientes, publicado por Storek y col., encontró que la monocitopenia en el día +80 fue un factor de riesgo independiente para el desarrollo de cualquier infección grave y de las infecciones virales y fúngicas después del día 100. Por otro lado, un estudio multicéntrico francés publicado recientemente reportó como factor pronóstico significativo en la supervivencia libre de aspergilosis la presencia de monocitopenia. Las razones no están bien dilucidadas ya que el recuento de monocitos podría ser un marcador directo ó indirecto de la respuesta inmune específica.

Rocha y col. encontraron una MRT y mortalidad global significativamente menores tras el aloTMO de DNE con identidad HLA, mientras que los resultados eran similares entre el aloTMO con uno ó más HLA *mismatched* y el TSCU . Un estudio actual multicéntrico ha analizado retrospectivamente los resultados de 1525 trasplantes de DNE en adultos con LAM, incluyendo CU (n:165), SP y MO con identidad HLA 8/8 y con *mismatched* (28% de los casos): los resultados en términos de SLE son equiparables en el TSCU respecto a SP/MO con identidad 8/8 como con un *mismatched*, aunque la MRT es significativamente inferior en los casos de BM/SP con identidad HLA 8/8, respecto al resto [158]. Nuestros resultados están en consonancia con dichos estudios ya que encontramos una MRI significativamente menor en el aloTPH de SP y MO con identidad 8/8, respecto al aloTPH de SP/MO con *mismatched* y el TSCU ($P=0.01$). Sin embargo, en el TSCU, el grado de histocompatibilidad no tuvo impacto en ninguno de los resultados globales, a

diferencia de la celularidad total, variable con efecto protector para la MRI y la MRT, hallazgo que destaca su importancia en el proceso de selección de la unidad de cordón. Hay que tener precaución en la interpretación de los resultados, ya que el escaso número de casos con uno, 2 ó más HLA *mismatched* no permite en términos estadísticos detectar el efecto real del número de disparidades de HLA. Además, la identidad HLA en el cordón se basaba, de acuerdo con las recomendaciones vigentes en ese período, en el estudio de 6 loci (en A, B y DR) y los antígenos de clase I se analizaban sólo por baja resolución, mientras que para la MO y SP el análisis se realizaba por baja y alta resolución, en la mayoría de casos (en A, B, C y DR como mínimo) [43,45]. La mayoría de expertos apuntan que si se incluyera el estudio molecular completo en una muestra significativa de cordones, se identificarían *mismatches* de HLA con impacto en los resultados globales, incluido la MRI, observación que merece un análisis detallado en estudios futuros.

Dentro de las infecciones graves asociadas al trasplante alogénico, la aspergilosis invasiva ha sido extensamente estudiada tanto por su frecuencia como por la mortalidad asociada a la misma. Distintos aspectos referentes al riesgo de progresión y a factores pronósticos de la AI en pacientes hematológicos constituyen los objetivos analizados en el segundo y tercer manuscrito que completan la presente tesis.

La incidencia de la AI en el aloTPH oscila entre el 8-14 % en los estudios publicados hasta el momento, algo superior en el aloTPH de DNE respecto al de DE. En pacientes con historia previa al TPH de AI, el riesgo de recidiva en el período post-trasplante aumenta significativamente en determinados pacientes, como son aquellos con radiología anormal previa al TPH. Es fundamental conocer los factores que predicen un mayor riesgo de progresión para decidir de forma individualizada la estrategia global, respecto a diferentes aspectos como el tipo de acondicionamiento, fuente de progenitores, inmunosupresión pos-trasplante ó profilaxis antifúngica secundaria, entre otros.

El antecedente de AI previa ha sido considerado una contraindicación absoluta para la realización de un aloTPH mieloablativo. Sin embargo, se han publicado resultados favorables tras un aloTIR. Con todo ello, se hace indispensable conocer el impacto real de la intensidad del acondicionamiento del aloTPH. Gran parte de los estudios publicados incluyen mayoritariamente casos de AI *posible* como

antecedente previo al TPH , lo cual se explica en buena parte por la dificultad de diagnóstico pre-mortem de las infecciones fúngicas, sobre todo previo a la disponibilidad de técnicas precoces no invasivas.

Aunque la tasa de reactivación es alta si persiste una radiología anormal, el riesgo de progresión disminuye significativamente cuando la AI está en remisión parcial o completa antes del nuevo ciclo de quimioterapia o TPH. Las publicaciones más recientes incluyen pocos pacientes en general, sometidos a quimioterapia ó trasplante autólogo. Sólo dos estudios publicados han incluido más de 10 casos con AI bien documentada previo al TPH (alo ó auto) con la serie más larga seguida hasta el día +100 . En este contexto, el segundo estudio incluido en la presente tesis se centra en los factores de riesgo de progresión de la AI post-TPH en el contexto de las mejoras introducidas en el tratamiento de soporte en los últimos años. La definición de grupos de riesgo de progresión se realizó a partir de un riguroso análisis multivariado con las variables más significativas. La incidencia de progresión post-TPH resultó algo más baja que el estudio previo del grupo de Seattle [129] (29% versus 35% a 1 año, respectivamente), en el cual las variables asociadas con un mayor riesgo de progresión fueron: (1) terapia antifúngica previa al TPH durante menos de 30 días, (2) MO ó CU versus SP y (3) persistencia de anomalías radiológicas. Nuestro estudio confirmó que el tipo de fuente de progenitores, la duración total de tratamiento antifúngico antes del TPH y la respuesta de la AI antes del TPH se asociaban a un mayor riesgo de progresión, junto al tipo de acondicionamiento, grado de EICH y enfermedad por CMV.

No fue posible analizar la asociación del tipo de terapia antifúngica con el resultado final de la AI debido a la heterogeneidad de los tratamientos usados tras el aloTPH. Sin embargo, se observó una tendencia a un menor riesgo de progresión en aquellos pacientes que recibieron voriconazol como profilaxis secundaria, hallazgo esperable dado que el voriconazol es hoy por hoy el tratamiento de elección de la AI como primera línea [93].

Por otro lado, las nuevas técnicas diagnósticas no invasivas como el GM permiten un diagnóstico precoz de la AI, así como un incremento en el número de casos probables que previamente se catalogaban como posibles. En un estudio retrospectivo es difícil interpretar los resultados del GM, sobre todo teniendo en cuenta que en el período del estudio aún no era una técnica estandarizada y tenía una sensibilidad muy variable entre centros. No obstante, analizamos un grupo de 67

pacientes con un screening regular de galactomanano. Once (46%) de 24 pacientes con 2 ó más GM positivos (≥ 0.8) presentaron progresión precoz tras el aloTPH, frente a sólo 2 (4.7%) de 43 con GM seriados negativos (falsos negativos).

Las principales limitaciones de nuestro estudio se deben, por un lado, a su carácter retrospectivo, y por otro lado, al hecho de que la elección del tipo de acondicionamiento esté sujeta a criterio de cada centro y por tanto los pacientes tanto del grupo de TPH mieloablativo como del aloTIR son heterogéneos.

El manuscrito tercero (Anexo) recoge una serie consecutiva a lo largo de un período de 13 años, de pacientes hematológicos con un diagnóstico de AI posible, probable ó probada, rigurosamente clasificados según los criterios entonces vigentes. Al tratarse de un período prolongado de tiempo, es esperable que los pacientes de períodos más precoces y tardíos difieran entre sí, debido a las novedades introducidas en el tratamiento de soporte recibido en cada momento en el campo tanto de métodos diagnósticos como de alternativas terapéuticas. De acuerdo con publicaciones previas [109,110,144], objetivamos una mejoría de la supervivencia global de la IFI en nuestro estudio, antes y después del 2000 (figura 8).

Generalmente los estudios de IFI más estrictos en su diseño no suelen incluir casos de AI posible según los criterios de la EORTC del año 2002 publicados por Asciglu et al. Sin embargo, en nuestro análisis decidimos incluir los pacientes con AI posible, que fueron rigurosamente seleccionados en base a criterios radiológicos estrictos, como previamente se ha considerado. Hay que resaltar que la mayoría de casos de AI probable ó posible que fallecieron y tuvieron un estudio de necropsia cambiaron a la categoría de probada, y por tanto avalan nuestros criterios de inclusión y minimiza la posibilidad de incluir falsos positivos. Por otro lado los modelos de S. Pau y de Strasbourg fueron predictivos de manera equitativa para los casos de AI posible y los casos de AI probable ó probada. Aunque no podemos saber con certeza cuántos casos de AI no fueron diagnosticados en el periodo de estudio, es destacable que de las 129 autopsias realizadas en nuestro departamento entre 1995 y 2007, 45 casos (34%) tenían una AI, de los cuales sólo 3 (2%) no cumplían criterios de AI posible y por tanto no fueron diagnosticados pre-mortem. Ello demuestra la interrelación e implicación de los clínicos, microbiólogos y radiólogos de nuestro centro.

Este estudio aporta una serie de conclusiones relevantes en la práctica clínica diaria con pacientes inmunodeprimidos. En primer lugar, y en consonancia con estudios previos [141,143,144], podemos concluir que la SG de la AI ha aumentado en los últimos años, fuera incluso de los ensayos clínicos que implican intrínsecamente una selección de los pacientes. En segundo lugar es posible identificar diferentes grupos pronósticos, en función de la presencia de uno a varios factores en el momento del diagnóstico de la AI.

El diseño retrospectivo de los estudios previos y el pequeño tamaño de las series reportadas dificultan conocer el impacto real de las variables analizadas en relación con el paciente, la infección y la terapia de quimioterapia ó trasplante. Sin embargo diferentes series, incluida la nuestra, encuentran en los análisis univariados y/ó multivariados similares variables con impacto negativo en el pronóstico de la AI, por lo que nuestros resultados validan las observaciones reportadas previamente [141, 143,144]. El paso siguiente sería analizar los factores de riesgo pronóstico en series amplias de pacientes, con objeto de establecer un índice pronóstico internacional fácilmente aplicable en la rutina diaria. Ello es especialmente importante para los clínicos debido a que los resultados de los ensayos son sólo aplicables a un grupo selecto de pacientes de buen pronóstico. Así, la tasa de mortalidad global es muy superior en los estudios monocéntricos o multicéntricos ajenos a ensayos clínicos. Como ejemplo, la SG a 4 meses en nuestro estudio es de un 47%, similar al 53% en el estudio de Leuven [100], al 52% del estudio de Strasbourg y al 46% en el estudio italiano de Pagano [109], pero significativamente menor que la SG a 3 meses de un 71% y 72% en ensayos clínicos recientemente publicados [93,94].

El uso de dosis altas de corticoides (≥ 2 mg/kg/d) tuvo un impacto negativo en la SLA a 4 meses en el grupo global, aunque no se pudo demostrar en los receptores de un aloTPH, a diferencia de estudios previos [140,144]. La explicación más probable es que la mayoría de pacientes de aloTPH (34/48 pacientes, 71%) estaban recibiendo corticoides, y 10 casos adicionales habían recibido dosis altas en las 6 semanas previas (datos no mostrados).

Respecto al impacto de las citopenias en el momento del diagnóstico de la AI sobre la SLA a 4 meses, encontramos que la monocitopenia influía negativamente tanto en la SLA como en la SG del grupo de aloTPH, como se objetivó en estudios previos, mientras que la neutropenia tenía un impacto negativo en el grupo no

aloTPH (generalmente neutropénicos al diagnóstico de la AI). Ello resalta la importancia tanto de los neutrófilos como los monocitos en el control de la infección, con roles diferentes según las características de los pacientes (trasplantados y no trasplantados).

Al igual que en el segundo manuscrito de la tesis, tampoco pudimos identificar el impacto pronóstico de la terapia antifúngica de primera línea, ya que los regímenes usados cambiaron a lo largo del período de estudio. En el análisis univariado el uso de voriconazol se asoció a una mejora de la SLA a 4 meses (tabla 2) aunque la variable no se introdujo en el análisis multivariante debido a la colinearidad con el año de diagnóstico y con la disfunción hepática. Como ya se reportó en el estudio de Seattle, parece que la introducción del voriconazol como tratamiento de elección de la AI a partir del 2002 (14) ha tenido un papel relevante en la mejoría de los resultados globales [93].

Por otro lado no pudimos analizar la repercusión de los cambios radiológicos ni del índice de galactomanano en la evolución del paciente, los cuales pueden tener utilidad en la monitorización de la respuesta al tratamiento en los pacientes hematológicos inmunodeprimidos, sobre todo en la población neutropénica. Recientemente un estudio europeo publicado por Greene y cols. [89] describió la correlación existente entre los hallazgos radiológicos al diagnóstico (halo versus no halo) con la respuesta al tratamiento y SG en la semana 12 de acuerdo a estudios previos: en un grupo de 222 pacientes con AI, 147 pacientes (61%) presentaban el signo del halo. La respuesta al tratamiento y la SG evaluadas en la semana 12 fueron significativamente mejores en el grupo del halo respecto al grupo que presentaba otros hallazgos radiológicos (respuesta de 52 vs 29% y SG 71 vs 53 %, respectivamente).

Respecto al impacto pronóstico que puede tener el índice de galactomanano, Miceli et al [108] revisaron la evidencia actual del GM como factor predictivo de respuesta (un total de 27 estudios, con 257 casos de AI probada ó probable) a través del coeficiente de correlación kappa que resultó elevado (0.87 y 0.91 para la SRV y respuesta globales, respectivamente). Ello refuerza la utilidad clínica de su monitorización semanal en pacientes de alto riesgo, no solo como test diagnóstico sino también como parámetro de seguimiento.

CONCLUSIONES

Manuscrito 1:

El cordón umbilical como fuente de progenitores hematopoyéticos es una alternativa factible en adultos que carecen de donante adultos HLA idénticos, con una selección adecuada de la unidad de cordón, en la que prima la celularidad de la misma sobre la identidad HLA. Hemos encontrado similares resultados globales en cuanto al riesgo de complicaciones infecciosas graves y de MRI del TSCU, respecto a la MO y la SP.

Manuscrito 2:

El antecedente de AI en pacientes hematológicos candidatos a recibir una aloTPH no constituye una contraindicación absoluta a la consecución del mismo, fundamentalmente en pacientes que cumplen criterios de bajo riesgo según el modelo de estratos presentado. Los pacientes de alto riesgo deberían incluirse en estudios prospectivos para establecer la mejor estrategia que reduzca su alta probabilidad de progresión post-trasplante, la cual incluiría una profilaxis secundaria adecuada junto con una monitorización estricta mediante métodos de diagnóstico precoz (el ya estandarizado índice de galactomanano y técnicas aún en fase de estudio como la PCR y el beta-D-glucano)

Manuscrito 3, Anexo:

El modelo pronóstico de S.Pau ayuda a identificar un grupo de pacientes hematológicos afectados de una AI que se asocian a una supervivencia más alta de lo esperable. Además dicho modelo valida los estudios previos sobre factores pronósticos. El estadio de la enfermedad de base, la comorbilidad del paciente y su estado inmunológico parecen ser las variables con mayor impacto en la supervivencia. La disponibilidad de un *score* pronóstico internacional ayudaría a identificar a los pacientes de peor pronóstico con las terapias actuales y que podrían

ser subsidiarios de ensayos clínicos, y a comparar los resultados de estudios concomitantes con objetivos similares, dentro o fuera de ensayos clínicos.

REFERENCES

1. Atkinson K., Dodds AJ, Concanonn AJ. et al. Unrelated volunteer bone marrow transplantation: initial experience at St Vincent's Hospital, Sydney. *Aust N Z J Med*, 1993. 23(5): p. 450-7.
2. Marks D.I., Cullis JO, Ward KN. et al. Allogeneic bone marrow transplantation for chronic myeloid leukemia using sibling and volunteer unrelated donors. A comparison of complications in the first 2 years. *Ann Intern Med*, 1993. 119(3): p. 207-14.
3. Rubinstein P., Carrier C, Scaravadau A., et al. Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. *N Engl J Med*, 1998. 339(22): p. 1565-77.
4. Kernan N.A., Bartsch G, Ash RC. et al. Analysis of 462 transplantations from unrelated donors facilitated by the National Marrow Donor Program. *N Engl J Med*, 1993. 328(9): p. 593-602.
5. Grewal SS, Barker JN, Davies SM, Wagner JE. Unrelated donor hematopoietic cell transplantation: marrow or umbilical cord blood? *Blood*, 2003. 101(11): p. 4233-44.
6. Sierra J., Martino R, Sanchez B, Pinana JL, Valcarcel D, Brunet S. Hematopoietic transplantation from adult unrelated donors as treatment for acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant*, 2008. 41(5): p. 425-37.
7. Champlin R., Khouri I, Shimoni A. et al. Harnessing graft-versus-malignancy: non-myeloablative preparative regimens for allogeneic haematopoietic transplantation, an evolving strategy for adoptive immunotherapy. *Br J Haematol*, 2000. 111(1): p. 18-29.
8. Wong R., Giralt SA, Martin T. et al. Reduced-intensity conditioning for unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation as treatment for myeloid malignancies in patients older than 55 years. *Blood*, 2003. 102(8): p. 3052-9.
9. Martino R., Caballero MD, Canals C., et al. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning: results of a prospective multicentre study. *Br J Haematol*, 2001. 115(3): p. 653-9.
10. Slavin, S., Nagler A, Naparstek E., et al. Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases. *Blood*, 1998. 91(3): p. 756-63.
11. Martino R, Perez-Simon JA, Moreno E., et al. Reduced-intensity conditioning allogeneic blood stem cell transplantation with fludarabine and oral busulfan with or without pharmacokinetically targeted busulfan dosing in patients with myeloid leukemia ineligible for conventional conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005. 11(6): p. 437-47.
12. Valcarcel, D., Martino R., Sureda A. et al. Conventional versus reduced-intensity conditioning regimen for allogeneic stem cell

- transplantation in patients with hematological malignancies. *Eur J Haematol*, 2005. 74(2): p. 144-51.
13. Couriel DR., Saliba RM, Giralt S. et al. Acute and chronic graft-versus-host disease after ablative and nonmyeloablative conditioning for allogeneic hematopoietic transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2004. 10(3): p. 178-85.
 14. Chakraverty R., Peggs K, Chopra R et al. Limiting transplantation-related mortality following unrelated donor stem cell transplantation by using a nonmyeloablative conditioning regimen. *Blood*, 2002. 99(3): p. 1071-8.
 15. Korbling M. Anderlini P. Peripheral blood stem cell versus bone marrow allotransplantation: does the source of hematopoietic stem cells matter? *Blood*, 2001. 98(10): p. 2900-8.
 16. Vigorito AC., Marques Juniot JF, Aranha FJ, et al. A randomized, prospective comparison of allogeneic bone marrow and peripheral blood progenitor cell transplantation in the treatment of hematologic malignancies: an update. *Haematologica*, 2001. 86(6): p. 665-6.
 17. Bensinger WL., Martin PJ, Storer B, et al. Transplantation of bone marrow as compared with peripheral-blood cells from HLA-identical relatives in patients with hematologic cancers. *N Engl J Med*, 2001. 344(3): p. 175-81.
 18. Remberger M., Ringden O, Blau IW. et al. No difference in graft-versus-host disease, relapse, and survival comparing peripheral stem cells to bone marrow using unrelated donors. *Blood*, 2001. 98(6): p. 1739-45.
 19. Remberger M., Beelen DW, Fauser A, et al. Increased risk of extensive chronic graft-versus-host disease after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation using unrelated donors. *Blood*, 2005. 105(2): p. 548-51.
 20. Smith AR, Wagner JE. Alternative Hematopoietic Stem cells sources for Transplantation: Place of Umbilical Cord blood. *Br J Haematol*, 2009. 147(2): p. 246-61
 21. Vigorito, A.C., Azevedo WM, Marques JF. et al. A randomised, prospective comparison of allogeneic bone marrow and peripheral blood progenitor cell transplantation in the treatment of haematological malignancies. *Bone Marrow Transplant*, 1998. 22(12): p. 1145-51.
 22. Champlin RE., Schmitz N, Horowitz MM. et al. Blood stem cells compared with bone marrow as a source of hematopoietic cells for allogeneic transplantation. IBMTR Histocompatibility and Stem Cell Sources Working Committee and the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Blood*, 2000. 95(12): p. 3702-9.
 23. Koca E. Champlin RE. Peripheral blood progenitor cell or bone marrow transplantation: controversy remains. *Curr Opin Oncol*, 2008. 20(2): p. 220-6.
 24. Gluckman E., Rocha V. Donor selection for unrelated cord blood transplants. *Curr Opin Immunol*, 2006. 18(5): p. 565-70.
 25. Wagner EJ, Barker JN, DeFor TE. Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. *Blood*. 2002. 1;100(5):p. 1611-8.
 26. Gluckman E., Rocha V, Arcese W, et al. Factors associated with outcomes of unrelated cord blood transplant: guidelines for donor choice. *Exp Hematol*, 2004. 32(4): p. 397-407.

27. Broxmeyer H.E., Hangoc G, S. Cooper S. Clinical and biological aspects of human umbilical cord blood as a source of transplantable hematopoietic stem and progenitor cells. *Bone Marrow Transplant*, 1992. 9 Suppl 1: p. 7-10.
28. Barker JN., et al., Searching for unrelated donor hematopoietic stem cells: availability and speed of umbilical cord blood versus bone marrow. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2002. 8(5): p. 257-60.
29. Wagner JE, Gluckman E. Umbilical cord blood transplantation: The first twenty years. *Semin Hematol*, 2010. 47(1): p. 3-12.
30. Laughlin, M.J., Barker J, Bambach B. et al. Hematopoietic engraftment and survival in adult recipients of umbilical-cord blood from unrelated donors. *N Engl J Med*, 2001. 344(24): p. 1815-22.
31. Sanz G.F., Saavedra S, Planelles D et al., Standardized, unrelated donor cord blood transplantation in adults with hematologic malignancies. *Blood*, 2001. 98(8): p. 2332-8.
32. Locatelli F., Rocha V, Chastang C. et al. Factors associated with outcome after cord blood transplantation in children with acute leukemia. Eurocord-Cord Blood Transplant Group. *Blood*, 1999. 93(11): p. 3662-71.
33. Laughlin M.J., Eapen M, Rubinstein P. et al., Outcomes after transplantation of cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with leukemia. *N Engl J Med*, 2004. 351(22): p. 2265-75.
34. Stevens CE, Carrier C, Carpenter C, Sung D, Scaradavou A. HLA mismatched direction in cord blood transplantation: impact on outcome and implications for cord blood unit selection. *Blood*, 2011. 118(14): p. 3969-78.
35. Rocha V., Labopin M, Sanz G, et al. Transplants of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia. *N Engl J Med*, 2004. 351(22): p. 2276-85.
36. Takahashi S., Iseki T, Ooi J. et al. Single-institute comparative analysis of unrelated bone marrow transplantation and cord blood transplantation for adult patients with hematologic malignancies. *Blood*, 2004. 104(12): p. 3813-20.
37. Takahashi S., Ooi J, Tomonari A. Comparative single-institute analysis of cord blood transplantation from unrelated donors with bone marrow or peripheral blood stem-cell transplants from related donors in adult patients with hematologic malignancies after myeloablative conditioning regimen. *Blood*, 2007. 109(3): p. 1322-30.
38. Saavedra S., Sanz GF, Jarque I, et al. Early infections in adult patients undergoing unrelated donor cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 2002. 30(12): p. 937 -43.
39. Long G.D., Laughlin M, Madan B, et al. Unrelated umbilical cord blood transplantation in adult patients. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2003. 9(12): p. 772-80.
40. Cornetta K., Laughlin M, Carter S, et al. Umbilical cord blood transplantation in adults: results of the prospective Cord Blood Transplantation (COBLT). *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005. 11(2): p. 149-60.
41. Bacigalupo A., Sormani MP, Lamparelli T. et al., Reducing transplant-related mortality after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica*, 2004. 89(10): p. 1238-47.

42. Williamson E.C., Millar MR, Steward CG. et al. Infections in adults undergoing unrelated donor bone marrow transplantation. *Br J Haematol*, 1999. 104(3): p. 560-8.
43. Saavedra S., Jarque I, Sanz GF, et al. Infectious complications in patients undergoing unrelated donor bone marrow transplantation: experience from a single institution. *Clin Microbiol Infect*, 2002. 8(11): p. 725-33.
44. van Kraaij MG., Verdonck LF, Rozenberg-Arska M. et al. Early infections in adults undergoing matched related and matched unrelated/mismatched donor stem cell transplantation: a comparison of incidence. *Bone Marrow Transplant*, 2002. 30(5): p. 303-9.
45. McCann S., Verdonck LF, Rozenberg-Arska M, Dekker AW. Outbreaks of infectious diseases in stem cell transplant units: a silent cause of death for patients and transplant programmes. *Bone Marrow Transplant*, 2004. 33(5): p. 519-29.
46. Yoo JH., Lee DG, Choi SM, et al. Infectious complications and outcomes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in Korea. *Bone Marrow Transplant*, 2004. 34(6): p. 497-504.
47. Hamza NS., Lisgaris M, Yadavalli G, et al. Kinetics of myeloid and lymphocyte recovery and infectious complications after unrelated umbilical cord blood versus HLA-matched unrelated donor allogeneic transplantation in adults. *Br J Haematol*, 2004. 124(4): p. 488-98.
48. Mossad SB., Avery RK, Longworth DL. et al. Infectious complications within the first year after nonmyeloablative allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 2001. 28(5): p. 491-5.
49. Frere P., Baron F, Bonnet C. et al., Infections after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with a nonmyeloablative conditioning regimen. *Bone Marrow Transplant*, 2006. 37(4): p. 411-8.
50. Martino R., Caballero MD, Canals C. et al. Reduced-intensity conditioning reduces the risk of severe infections after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 2001. 28(4): p. 341-7.
51. Bishop MR., Tarantolo SR, Geller RB. et al. A randomized, double-blind trial of filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor) versus placebo following allogeneic blood stem cell transplantation. *Blood*, 2000. 96(1): p. 80-5.
52. Remberger M., Naseh N, Aschan J. et al. G-CSF given after haematopoietic stem cell transplantation using HLA-identical sibling donors is associated to a higher incidence of acute GVHD II-IV. *Bone Marrow Transplant*, 2003. 32(2): p. 217-23.
53. Ringden O., Labopin M, Gorin NC. et al., Treatment with granulocyte colony-stimulating factor after allogeneic bone marrow transplantation for acute leukemia increases the risk of graft-versus-host disease and death: a study from the Acute Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *J Clin Oncol*, 2004. 22(3): p. 416-23.
54. Aucouturier P., Barra A, Intrator L. et al. Long lasting IgG subclass and antibacterial polysaccharide antibody deficiency after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*, 1987. 70(3): p. 779-85.
55. Paulin T., Ringden O, Nilsson B. Immunological recovery after bone marrow transplantation: role of age, graft-versus-host disease, prednisolone treatment and infections. *Bone Marrow Transplant*, 1987. 1(3): p. 317-28.

56. Fallen PR., McGreavey L, Madrigal JA. et al., Factors affecting reconstitution of the T cell compartment in allogeneic haematopoietic cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant*, 2003. 32(10): p. 1001-14.
57. Ochs L., Shu XO, Miller J, et al. Late infections after allogeneic bone marrow transplantations: comparison of incidence in related and unrelated donor transplant recipients. *Blood*, 1995. 86(10): p. 3979-86.
58. Perez-Simon JA., Martino R, Caballero D. et al. Reduced-intensity conditioning allogeneic transplantation from unrelated donors: evaluation of mycophenolate mofetil plus cyclosporin A as graft-versus-host disease prophylaxis. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2008. 14(6): p. 664-71.
59. Perez-Simon JA., Diez-Campelo M, Martino R. et al., Impact of CD34+ cell dose on the outcome of patients undergoing reduced-intensity-conditioning allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Blood*, 2003. 102(3): p. 1108-13.
60. Mielcarek M., Storer BE, Sandmaier BM. et al., Comparable outcomes after nonmyeloablative hematopoietic cell transplantation with unrelated and related donors. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2007. 13(12): p. 1499-507.
61. Kang BW, Moon JH, Chae YS et al. Comparative analysis of outcomes of allogeneic peripheral blood stem cell transplantation from related and unrelated donors. *Ann Hematol*. 2010. 89(8): p 813-20.
62. Lee SJ, Kang BW, Moon JH. Et al. Comparable analysis of outcomes for allogeneic peripheral blood stem cell transplantation from matched related and matched unrelated donors in acute myeloid leukemia. *Acta Haematol*. 2012;127(2):p. 81-9.
63. Rieger CT, Rieger H, Kolb HJ et al. Infectious complications after allogeneic stem cell transplantation: incidence in matched-related and matched-unrelated transplant settings. *Transpl Infect Dis*. 2009; p 11(3):220-6.
64. Barker JN., Hough RE, van Burik JA, et al. Serious infections after unrelated donor transplantation in 136 children: impact of stem cell source. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005. 11(5): p. 362-70.
65. Narimatsu H., Matsumura T, Kami M. et al., Bloodstream infection after umbilical cord blood transplantation using reduced-intensity stem cell transplantation for adult patients. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005. 11(6): p. 429-36.
66. Martino R., Lopez R, Sureda A, Brunet S, Domingo-Albós A. et al. Risk of reactivation of a recent invasive fungal infection in patients with hematological malignancies undergoing further intensive chemo-radiotherapy. A single-center experience and review of the literature. *Haematologica*, 1997. 82(3): p. 297-304.
67. Martino R., Santamaria A, Muñoz L. et al., Bacteremia by gram-negative bacilli in patients with hematologic malignancies. Comparison of the clinical presentation and outcome of infections by enterobacteria and non-glucose-fermenting gram-negative bacilli. *Acta Haematol*, 1999. 102(1): p. 7-11.
68. Paulin T., Ringdén O, Nilsson B, Löngvist B, Gahrton G. Variables predicting bacterial and fungal infections after allogeneic marrow engraftment. *Transplantation*, 1987. 43(3): p. 393-8.
69. Mitchell AE., Derrington P, Turner P, Hunt LP, Oakhill A, Marks DI. Gram-negative bacteraemia (GNB) after 428 unrelated donor bone marrow

- transplants (UD-BMT): risk factors, prophylaxis, therapy and outcome. *Bone Marrow Transplant*, 2004. 33(3): p. 303-10.
70. Mooney BR., Reeves SA, Larson E, Infection control and bone marrow transplantation. *Am J Infect Control*, 1993. 21(3): p. 131-8.
 71. Russell JA., Poon MC, Jones AR, Woodman RC Ruether BA. Allogeneic bone-marrow transplantation without protective isolation in adults with malignant disease. *Lancet*, 1992. 339(8784): p. 38-40.
 72. Ljungman P., Reusser P, de la Cámara R. et al., Management of CMV infections: recommendations from the infectious diseases working party of the EBMT. *Bone Marrow Transplant*, 2004. 33(11): p. 1075-81.
 73. Kradin RL., Mark EJ. The pathology of pulmonary disorders due to *Aspergillus* spp. *Arch Pathol Lab Med*, 2008. 132(4): p. 606-14.
 74. Mircescu MM., Lipuma L, van Rooijen N, Pamer EG, Hohl TM. Essential role for neutrophils but not alveolar macrophages at early time points following *Aspergillus fumigatus* infection. *J Infect Dis*, 2009. 200(4): p. 647-56.
 75. Dagenais T.R. Keller NP, Pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* in Invasive Aspergillosis. *Clin Microbiol Rev*, 2009. 22(3): p. 447-65.
 76. 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(12): p. 1813-21.
 77. Ascoglu S., Rex JH, de Paw B. et al. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis*, 2002. 34(1): p. 7-14.
 78. Subirá M., Martino R, Rovira M. Vázquez L, Serrano D, De la Cámara R. Clinical applicability of the new EORTC/MSG classification for invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematological malignancies and autopsy-confirmed invasive aspergillosis. *Ann Hematol*, 2003. 82(2): p. 80-2.
 79. Wheat LJ. Nonculture diagnostic methods for invasive fungal infections. *Curr Infect Dis Rep*, 2007. 9(6): p. 465-71.
 80. Pfeiffer CD., Fine JP, Safdar N. Diagnosis of invasive aspergillosis using a galactomannan assay: a meta-analysis. *Clin Infect Dis*, 2006. 42(10): p. 1417-27.
 81. Maertens J., Verhaegen J, Lagrou K, Van Eldere J, Boogaerts M. Screening for circulating galactomannan as a noninvasive diagnostic tool for invasive aspergillosis in prolonged neutropenic patients and stem cell transplantation recipients: a prospective validation. *Blood*, 2001. 97(6): p. 1604-10.
 82. Maertens J., Theunissen K, Verbeken E, et al. Prospective clinical evaluation of lower cut-offs for galactomannan detection in adult neutropenic cancer patients and haematological stem cell transplant recipients. *Br J Haematol*, 2004. 126(6): p. 852-60.
 83. Marr KA., Balajee SA, McLaughlin L, Tabouret M, Bentsen C, Walsh TJ. Detection of galactomannan antigenemia by enzyme immunoassay for the diagnosis of invasive aspergillosis: variables that affect performance. *J Infect Dis*, 2004. 190(3): p. 641-9.

84. Marr KA., Laverdiere M, Gugel A, Leisenring W. Antifungal therapy decreases sensitivity of the Aspergillus galactomannan enzyme immunoassay. *Clin Infect Dis*, 2005. 40(12): p. 1762-9.
85. Nguyen MH, Leather H, Claucy CJ. et al., Galactomannan testing in bronchoalveolar lavage fluid facilitates the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematologic malignancies and stem cell transplant recipients. *Biol Blood Marrow Transplant*.2011, 17(7):1043-50.
86. White PL., et al., Linton CJ, Perry MD, Johnson EM, Barnes RA. The evolution and evaluation of a whole blood polymerase chain reaction assay for the detection of invasive aspergillosis in hematology patients in a routine clinical setting. *Clin Infect Dis*, 2006. 42(4): p. 479-86.
87. Blennow O, Remberger M, Klingspor L. 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(12):1710-8.
88. Kuhlman JE., Fishman EK, Burch PA, Karp JE, Zerhouni EA, Siegelman SS. CT of invasive pulmonary aspergillosis. *AJR Am J Roentgenol*, 1988. 150(5): p. 1015-20.
89. Greene RE., Schlamm HT, Oestmann JW, et al. Imaging findings in acute invasive pulmonary aspergillosis: clinical significance of the halo sign. *Clin Infect Dis*, 2007. 44(3): p. 373-9.
90. Caillot D., Couaillier JF, Bernard A. et al. Increasing volume and changing characteristics of invasive pulmonary aspergillosis on sequential thoracic computed tomography scans in patients with neutropenia. *J Clin Oncol*, 2001. 19(1): p. 253-9.
91. Cornillet A., Camus C, Nimubona S. et al. Comparison of epidemiological, clinical, and biological features of invasive aspergillosis in neutropenic and nonneutropenic patients: a 6-year survey. *Clin Infect Dis*, 2006. 43(5): p. 577-84.
92. Hidalgo A., Parody R, Martino R. et al., Correlation between high-resolution computed tomography and galactomannan antigenemia in adult hematologic patients at risk for invasive aspergillosis. *Eur J Radiol*, 2009. 71(1): p. 55-60.
93. Herbrecht R., Denning DW, Patterson TF. et al. Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. *N Engl J Med*, 2002. 347(6): p. 408-15.
94. Cornely OA., Maertens J, Bresnik M. et al., Liposomal amphotericin B as initial therapy for invasive mold infection: a randomized trial comparing a high-loading dose regimen with standard dosing (AmBiLoad trial). *Clin Infect Dis*, 2007. 44(10): p. 1289-97.
95. Maerten J., Raad I, Petrikkos G, et al., Efficacy and safety of caspofungin for treatment of invasive aspergillosis in patients refractory to or intolerant of conventional antifungal therapy. *Clin Infect Dis*, 2004. 39(11): p. 1563-71.
96. Martino R., Cortés M, Subirá M, Parody R, Moreno E, Sierra J. Efficacy and toxicity of intermediate-dose amphotericin B lipid complex as a primary or salvage treatment of fungal infections in patients with hematological malignancies. *Leuk Lymphoma*, 2005. 46(10): p. 1429-35.
97. Martino R., Subirá M, Sureda A, Sierra J. Amphotericin B lipid complex at 3 mg/kg/day for treatment of invasive fungal infections in adults

- with haematological malignancies. *J Antimicrob Chemother*, 1999. 44(4): p. 569-72.
98. Raad II, Hanna HA, Boktour M, et al. Novel antifungal agents as salvage therapy for invasive aspergillosis in patients with hematologic malignancies: posaconazole compared with high-dose lipid formulations of amphotericin B alone or in combination with caspofungin. *Leukemia*, 2008. 22(3): p. 496-503.
 99. Maertens J, Marchetti O, Herbrecht R. et al. Third European Conference on Infections in Leukemia. European guidelines for antifungal management in leukemia and hematopoietic stem cell transplant recipients: summary of the ECIL 3--2009 update. *Bone Marrow Transplant*. 2011 May;46(5):709-18.
 100. Hope WW., Billaud EM, Lestner J, Denning DW. Therapeutic drug monitoring for triazoles. *Curr Opin Infect Dis*, 2008. 21(6): p. 580-6.
 101. Segal BH., Herbrecht R, Stevens DA. et al. Defining responses to therapy and study outcomes in clinical trials of invasive fungal diseases: Mycoses Study Group and European Organization for Research and Treatment of Cancer consensus criteria. *Clin Infect Dis*, 2008. 47(5): p. 674-83.
 102. Boutboul F., Alberti C, Leblanc T. et al. Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: increasing antigenemia is associated with progressive disease. *Clin Infect Dis*, 2002. 34(7): p. 939-43.
 103. Maertens, J., Theunissen K, Verhoef G, et al. Galactomannan and computed tomography-based preemptive antifungal therapy in neutropenic patients at high risk for invasive fungal infection: a prospective feasibility study. *Clin Infect Dis*, 2005. 41(9): p. 1242-50.
 104. Woods, G., Miceli MH, Graziutti ML, Zhao W, Barlogie B, Anaissie E. et al., Serum Aspergillus galactomannan antigen values strongly correlate with outcome of invasive aspergillosis: a study of 56 patients with hematologic cancer. *Cancer*, 2007. 110(4): p. 830-4
 105. Maertens J, Buvé K, Theunissen K. Galactomannan serves as a surrogate endpoint for outcome of pulmonary invasive aspergillosis in neutropenic hematology patients. *Cancer* 2009. 115(2): p.355-62.
 106. Petraitiene R., Petraitis V, Groll AH. et al., Antifungal efficacy of caspofungin (MK-0991) in experimental pulmonary aspergillosis in persistently neutropenic rabbits: pharmacokinetics, drug disposition, and relationship to galactomannan antigenemia. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002. 46(1): p. 12-23.
 107. Klont RR., Mennink-Kersten MA, Ruegebrink D, et al., Paradoxical increase in circulating Aspergillus antigen during treatment with caspofungin in a patient with pulmonary aspergillosis. *Clin Infect Dis*, 2006. 43(3): p. e23-5.
 108. Miceli MH., Maertens J, Buvé K. et al. Immune reconstitution inflammatory syndrome in cancer patients with pulmonary aspergillosis recovering from neutropenia: Proof of principle, description, and clinical and research implications. *Cancer*, 2007. 110(1): p. 112-20.
 109. Pagano L., Caira M, Candoni A. et al., The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM-2004 study. *Haematologica*, 2006. 91(8): p. 1068-75.

110. Pagano L., Caira M, Nosari A. et al., Fungal infections in recipients of hematopoietic stem cell transplants: results of the SEIFEM B-2004 study-- Sorveglianza Epidemiologica Infezioni Fungine Nelle Emopatie Maligne. *Clin Infect Dis*, 2007. 45(9): p. 1161-70.
111. Jantunen E., Ruutu P, Niskanen L, et al., Incidence and risk factors for invasive fungal infections in allogeneic BMT recipients. *Bone Marrow Transplant*, 1997. 19(8): p. 801-8.
112. Baddley JW., Stroud TP, Salzman D, Pappas PG. Invasive mold infections in allogeneic bone marrow transplant recipients. *Clin Infect Dis*, 2001. 32(9): p. 1319-24.
113. Wald A., Leisenring W, van Burik J, et al. Epidemiology of Aspergillus infections in a large cohort of patients undergoing bone marrow transplantation. *J Infect Dis*, 1997. 175(6): p. 1459-66.
114. Baddley JW. Clinical risk factors for invasive aspergillosis. *Med Mycol*. 2011. 49 Suppl 1:S7-S12.
115. Fukuda T., Boeckh M, Carter RA, et al. Risks and outcomes of invasive fungal infections in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants after nonmyeloablative conditioning. *Blood*, 2003. 102(3): p. 827-33.
116. Kojima R., Kami M, Nannya Y, et al. Incidence of invasive aspergillosis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with a reduced-intensity regimen compared with transplantation with a conventional regimen. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2004. 10(9): p. 645-52.
117. Martino R., Subirá M, Rovira M. et al. Invasive fungal infections after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: incidence and risk factors in 395 patients. *Br J Haematol*, 2002. 116(2): p. 475-82.
118. Miyakoshi, S., Kusumi E, Matsumura T et al. Invasive fungal infection following reduced-intensity cord blood transplantation for adult patients with hematologic diseases. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2007. 13(7): p. 771-7.
119. van Burik JA., Carter S, Freifeld AG et al. Higher risk of cytomegalovirus and aspergillus infections in recipients of T cell-depleted unrelated bone marrow: analysis of infectious complications in patients treated with T cell depletion versus immunosuppressive therapy to prevent graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2007. 13(12): p. 1487-98.
120. 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): p. 4358-66.
121. 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): p. 115-21.
122. 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 15;47(8):p.1041-50.
123. Labbe A.C., Su SH, Laverdière M. et al., High incidence of invasive aspergillosis associated with intestinal graft-versus-host disease following nonmyeloablative transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2007. 13(10): p. 1192-200.

124. Mihi C.N., King E, Yossepovitch O. et al. Risk factors and attributable mortality of late aspergillosis after T-cell depleted hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis*, 2008. 10(3): p. 162-7.
125. Martino R., Porrás RP, Rabella N. et al., Prospective study of the incidence, clinical features, and outcome of symptomatic upper and lower respiratory tract infections by respiratory viruses in adult recipients of hematopoietic stem cell transplants for hematologic malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005. 11(10): p. 781-96.
126. Parody R., Rabella N, Martino R. et al. Upper and lower respiratory tract infections by human enterovirus and rhinovirus in adult patients with hematological malignancies. *Am J Hematol*, 2007. 82(9): p. 807-11.
127. Martino R., Piñana JL, Parody R. et al. Lower respiratory tract respiratory virus infections increase the risk of invasive aspergillosis after a reduced-intensity allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*, 2009. 44(11): p. 749-56.
128. Offner F., Cordonnier C, Ljungman P, et al. Impact of previous aspergillosis on the outcome of bone marrow transplantation. *Clin Infect Dis*, 1998. 26(5): p. 1098-103.
129. Fukuda T., Boeckh M, Guthrie KA, et al. Invasive aspergillosis before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: 10-year experience at a single transplant center. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2004. 10(7): p. 494-503.
130. Martino R., Nomdedéu J, Altés A. et al. Successful bone marrow transplantation in patients with previous invasive fungal infections: report of four cases. *Bone Marrow Transplant*, 1994. 13(3): p. 265-9.
131. Singhal S., Safdar A, Chiang KY. et al. Non-myeloablative allogeneic transplantation ('microallograft') for refractory myeloma after two preceding autografts: feasibility and efficacy in a patient with active aspergillosis. *Bone Marrow Transplant*, 2000. 26(11): p. 1231-3.
132. Hermann S., Klein SA, Jacobi V. et al. Older patients with high-risk fungal infections can be successfully allografted using non-myeloablative conditioning in combination with intensified supportive care regimens. *Br J Haematol*, 2001. 113(2): p. 446-54.
133. El-Cheikh J, Castagna L, Wang L. et al. Impact of prior invasive aspergillosis on outcome in patients receiving reduced-intensity conditioning allogeneic hematopoietic stem cell transplant. *Leuk Lymphoma*. 2010. 51(9):1705-10.
134. Cordonnier C., Maury S, Pautas C, et al. Secondary antifungal prophylaxis with voriconazole to adhere to scheduled treatment in leukemic patients and stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant*, 2004. 33(9): p. 943-8.
135. de Fabritiis, P., Spagnoli A, Di Bartolomeo D. et al., Efficacy of caspofungin as secondary prophylaxis in patients undergoing allogeneic stem cell transplantation with prior pulmonary and/or systemic fungal infection. *Bone Marrow Transplant*, 2007. 40(3): p. 245-9.
136. Sipsas NV, Kontoyiannis DP. Clinical issues regarding relapsing aspergillosis and the efficacy of secondary antifungal prophylaxis in patients with hematological malignancies. *Clin Infect Dis*, 2006. 42(11): p. 1584-91.

137. Salerno, C.T., Ouyang DW, Pederson TS, et al. Surgical therapy for pulmonary aspergillosis in immunocompromised patients. *Ann Thorac Surg*, 1998. 65(5): p. 1415-9.
138. Hubel, K., Dale DC, Engert A, Liles WC. Current status of granulocyte (neutrophil) transfusion therapy for infectious diseases. *J Infect Dis*, 2001. 183(2): p. 321-328.
139. Mousset, S., Hermann S, Klein SA, et al. Prophylactic and interventional granulocyte transfusions in patients with haematological malignancies and life-threatening infections during neutropenia. *Ann Hematol*, 2005. 84(11): p. 734-41.
140. Subira, M., Martino R, Franquet T. et al., Invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematologic malignancies: survival and prognostic factors. *Haematologica*, 2002. 87(5): p. 528-34.
141. Nivoix Y., Velten M, Letscher-Bru V. et al., Factors associated with overall and attributable mortality in invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis*, 2008. 47(9): p. 1176-84.
142. Ribaud P., Chastang C, Latgé JP. et al., Survival and prognostic factors of invasive aspergillosis after allogeneic bone marrow transplantation. *Clin Infect Dis*, 1999. 28(2): p. 322-30.
143. Cordonnier C., Ribaud P, Herbrecht R, et al., Prognostic factors for death due to invasive aspergillosis after hematopoietic stem cell transplantation: a 1-year retrospective study of consecutive patients at French transplantation centers. *Clin Infect Dis*, 2006. 42(7): p. 955-63.
144. Upton A., Kirby KA, Carpenter P, Boeckh M, Marr KA. Invasive aspergillosis following hematopoietic cell transplantation: outcomes and prognostic factors associated with mortality. *Clin Infect Dis*, 2007. 44(4): p. 531-40.
145. Busca A., Locatelli F, Barbui A. et al., Usefulness of sequential *Aspergillus galactomannan* antigen detection combined with early radiologic evaluation for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in patients undergoing allogeneic stem cell transplantation. *Transplant Proc*, 2006. 38(5): p. 1610-3.
146. Walsh TJ., Anaissie EJ, Denning DW. et al., Treatment of aspergillosis: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*, 2008. 46(3): p. 327-60.
147. Barnes PD, Marr KA. Risks, diagnosis and outcomes of invasive fungal infections in haematopoietic stem cell transplant recipients. *Br J Haematol*, 2007. 139(4): p. 519-31.
148. Baddley JW, Andes DR, Marr KA, et al., Factors associated with mortality in transplant patients with invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis*. 2010. 50(12):1559-67.
149. 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): p. 265-73.
150. Wheat LJ, Walsh TJ. Diagnosis of invasive aspergillosis by galactomannan antigenemia detection using an enzyme immunoassay. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2008. 27(4): p. 245-51.

151. Won HJ., Lee KS, Cheon JE. et al., Invasive pulmonary aspergillosis: prediction at thin-section CT in patients with neutropenia--a prospective study. *Radiology*, 1998. 208(3): p. 777-82.
152. Klein JP., Rizzo JD, Zhang MJ, et al., Statistical methods for the analysis and presentation of the results of bone marrow transplants. Part 2: Regression modeling. *Bone Marrow Transplant*, 2001. 28(11): p. 1001-11.
153. Klein J.P., Rizzo JD, Zhang MJ, et al., Statistical methods for the analysis and presentation of the results of bone marrow transplants. Part I: unadjusted analysis. *Bone Marrow Transplant*, 2001. 28(10): p. 909-15.
154. Ljungman P., Ribaud P, Eyrich M. et al., Cidofovir for adenovirus infections after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a survey by the Infectious Diseases Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 2003. 31(6): p. 481-6.
155. Yoshikawa T., Human herpesvirus 6 infection in hematopoietic stem cell transplant patients. *Br J Haematol*, 2004. 124(4): p. 421-32.
156. Finke J., Bertz H, Schmoor C et al., Allogeneic bone marrow transplantation from unrelated donors using in vivo anti-T-cell globulin. *Br J Haematol*, 2000. 111(1): p. 303-13.
157. Hwang WY., Samuel M, Tan D, Koh LP, Lim W, Linn YC. A meta-analysis of unrelated donor umbilical cord blood transplantation versus unrelated donor bone marrow transplantation in adult and pediatric patients. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2007. 13(4): p. 444-53.
158. Eapen M, Rocha V, Sanz G, et al. Effect of graft source of unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation in adults with acute leukemia: a retrospective analysis. *Lancet*. 2010;11(7): p.653-60.
159. Fernandez MN., Regidor C, Cabrera R, et al. Unrelated umbilical cord blood transplants in adults: Early recovery of neutrophils by supportive co-transplantation of a low number of highly purified peripheral blood CD34+ cells from an HLA-haploidentical donor. *Exp Hematol*, 2003. 31(6): p. 535-44.
160. Sebrango A, Vicuña I, de Laiglesia A, et al. Haematopoietic transplants combining a single unrelated cord blood unit and mobilized haematopoietic stem cells from an adult HLA-mismatched third party donor. Comparable results to transplants from HLA-identical related donors in adults with acute leukaemia and myelodysplastic syndromes. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2010 Jun;23(2):259-74.
161. Yen HJ., Chiou TJ, Hung GY. et al., Long-term mixed full-donor chimerism with dominance reversion after a double-unit cord blood transplant. *Eur J Haematol*, 2008. 80(4): p. 366-7.
162. Delaney C., Gutman JA, Appelbaum FR. Cord blood transplantation for haematological malignancies: conditioning regimens, double cord transplant and infectious complications. *Br J Haematol*, 2009. 147(2): p. 207-16.
163. Storek J., Espino G, Dawson MA, Storer B, Flowers ME, Maloney DG. Low B-cell and monocyte counts on day 80 are associated with high infection rates between days 100 and 365 after allogeneic marrow transplantation. *Blood*, 2000. 96(9): p. 3290-3.
164. Ramila E., Sureda A, Mafertino R. et al. Bronchoscopy guided by high-resolution computed tomography for the diagnosis of pulmonary infections in

patients with hematologic malignancies and normal plain chest X-ray. *Haematologica*, 2000. 85(9): p. 961-6.

165. Horger M., Hebart H, Einsele H. et al. Initial CT manifestations of invasive pulmonary aspergillosis in 45 non-HIV immunocompromised patients: association with patient outcome? *Eur J Radiol*, 2005. 55(3): p. 437-44.