



# Teste de galactomanana para o diagnóstico de aspergilose invasiva: uma revisão

## Galactomannan test for the diagnosis of invasive aspergillosis: a review

RIALA6/1749

Sabrina MESQUITA-ROCHA\*

\*Endereço para correspondência: Coordenadoria de Vigilância em Saúde, Secretaria Municipal de Saúde de São Paulo, Prefeitura da Cidade de São Paulo, Rua Santa Isabel, 181, 5º andar, Vila Buarque, São Paulo, SP, Brasil, CEP: 01221-010. Tel: 11 3397 8353. E-mail: [bia17mesquita@gmail.com](mailto:bia17mesquita@gmail.com)

Recebido: 02.07.2018 - Aceito para publicação: 26.09.2018

### RESUMO

As doenças fúngicas invasivas têm sido um problema crescente em ambientes hospitalares, sobretudo nas últimas duas décadas. A aspergilose invasiva (AI), ocasionada pelo gênero *Aspergillus*, está entre as principais causas de morte em pacientes gravemente imunocomprometidos, com mortalidade que varia de 70 a 90%. O padrão de referência para o diagnóstico de AI é o cultivo do micro-organismo e a análise histopatológica dos órgãos afetados. Estes procedimentos são dificilmente realizados na maioria dos casos, e apresentam baixa sensibilidade (<50%), além de as amostras serem habitualmente obtidas em estados avançados da infecção. O teste de detecção de galactomanana tem sido objeto de estudo para o diagnóstico de AI, por representar uma promissora ferramenta e por ser uma técnica sorológica rápida e não invasiva. A presente revisão tem por objetivo fazer levantamento de estudos que utilizaram o teste de galactomanana em amostras de pacientes com quadros clínicos distintos, porém com suspeita e/ou com comprovada AI, bem como as atuais tendências de conhecimento, aplicação e utilidade do ensaio laboratorial

**Palavras-chave.** *Aspergillus*, aspergilose invasiva, teste galactomanana.

### ABSTRACT

Invasive fungal diseases represent an increasing problem in the hospital environments, predominantly in the last two decades. The invasive aspergillosis (IA), induced by *Aspergillus* species, has been the main cause of death in severely immunocompromised patients, with mortality varying from 70 to 90%. Difficulties are found for diagnosing the IA. *In vitro* culture of biological material shows low sensitivity (<50%), besides the positivity usually occurs at the advanced stages of the infection. The test for detecting galactomannan has been the object of the present study, seeing that it represents a promising diagnostic tool, as a fast and non-invasive serological procedure. The objective of the present review is to survey the studies which have been performed by using methods for detecting galactomannan in samples from patients with distinct clinical pictures. Patients presenting suspicion and/or confirmed IA were also included, as well as the up-to-date trends in knowledge, application and utility of the test.

**Keywords.** *Aspergillus*, invasive aspergillosis, galactomannan test.

## INTRODUÇÃO

As Doenças Fúngicas Invasivas (DFIs) representam um problema crescente em ambientes hospitalares, sobretudo nas últimas duas décadas. O principal fator para este aumento é o crescente número de pacientes susceptíveis, como receptores de órgãos sólidos e de medula óssea, pacientes submetidos ao uso de quimioterápicos e corticosteróides e pacientes portadores do vírus HIV<sup>1,2</sup>. Apesar de não serem consideradas doenças de notificação compulsória, estima-se que mais de 3,8 milhões de pessoas possam padecer de infecções fúngicas no Brasil<sup>3</sup>.

Entre os agentes mais importantes nas DFIs de ambientes nosocomiais, destaca-se o fungo *Aspergillus*, um gênero amplamente distribuído na natureza, como no ar, água, solo, alimentos, material em decomposição, sendo considerado um agente oportunista. O gênero compreende cerca de 200 espécies, sendo *Aspergillus fumigatus* o agente infeccioso mais comum, embora *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus (Erimicella) nidulans* e *Aspergillus calidoustus* (antes *Aspergillus ustus*) apresentem também um papel importante na etiologia de DFIs. Dentre as manifestações ocasionadas por *Aspergillus* estão a aspergilose pulmonar invasiva (API) ou aspergilose invasiva (AI), aspergilose cavitária crônica, bola fúngica, sinusite, ceratite e manifestações alérgicas<sup>4,5</sup>.

A despeito da ausência de dados oficiais dos casos de aspergilose, um estudo conduzido no Brasil estimou a frequência baseada em revisão de artigos que descreveram o número de casos de doenças fúngicas por tipo de doença e incluindo casos de aspergilose, por grupo específico de pacientes (asmáticos, com fibrose cística e Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica - DPOC). Os autores calcularam que 1.010.465 casos de doenças fúngicas ocasionadas por *Aspergillus* ocorrem no Brasil por ano, incluindo aspergilose invasiva, aspergilose broncopulmonar crônica e asma ocasionada por sensibilização fúngica<sup>3</sup>. A Aspergilose Invasiva (AI) está entre as principais causas de morte em pacientes severamente

imunocomprometidos, com mortalidade que varia de 85 a 90%. A principal porta de entrada do agente é a inalação de conídios, estruturas facilmente dispersas no ar, que se depositam no pulmão e devido à baixa imunidade celular do hospedeiro, iniciam a colonização e posterior processo patogênico. Nas últimas décadas novos fatores de risco foram incluídos para AI, como problemas estruturais pulmonares, DPOC, abuso de antibióticos de amplo espectro, longo tempo de permanência em unidades de terapia intensiva, e resistência a antifúngicos<sup>6-8</sup>.

Há várias dificuldades no diagnóstico da AI. O padrão ouro para o diagnóstico é o crescimento do agente em cultura utilizando materiais biológicos de sítios estéreis e análise histopatológica dos órgãos afetados. Contudo, a sensibilidade do método é baixa (< 50%), o que torna o diagnóstico final tardio. Atualmente, o diagnóstico da AI é baseado na análise de sinais e sintomas, histopatologia, exames radiológicos (não são específicos) crescimento em cultura e a detecção de DNA fúngico ou componentes da parede celular como galactomanana e/ou  $\beta$ -D- glucana em amostras clínicas provenientes de sítios estéreis<sup>9,10</sup>.

O teste de detecção de galactomanana (GM) está descrito como um critério micológico para o diagnóstico de AI, de acordo com o consenso de definição de diagnóstico de doença fúngica invasiva (EORTC/MS), e pela Sociedade Americana de Doenças Infecciosas. O teste representa uma promissora ferramenta diagnóstica, por ser um método sorológico rápido e não invasivo. Desde 2002 foi liberado pela United States Food and Drug Association (US FDA) para uso no diagnóstico de AI. O diagnóstico tardio representa um pior prognóstico, uma vez que a terapia antifúngica é tardia e compromete a sobrevivência do paciente<sup>1,6,11</sup>.

A presente revisão tem por objetivo fazer um levantamento de estudos que utilizaram o teste de galactomanana em amostras de pacientes com quadros clínicos distintos, porém com possível e/ou com comprovada AI, bem como as tendências de conhecimento, aplicação e utilidade do teste.

## MÉTODOS

Para a presente revisão foram realizadas buscas na base de dados MEDLINE/PUBMED, utilizando os descritores *Galactomannan test* e *Aspergillus*. Foram selecionados artigos que descreveram a aplicação do teste e suas limitações, e artigos que descreveram o *cut-off* utilizado bem como os valores de sensibilidade e especificidade do teste, publicados entre 2007 e 2017.

### Galactomanana

A galactomanana (GM) um heteropolissacarídeo termoestável constituinte da parede celular de várias espécies de fungos, principalmente nos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, sendo liberada durante o crescimento da hifa no tecido infectado. A molécula tem uma não imunogênica manana com sítios imunoreativos contendo unidades de galactofuranose<sup>11-13</sup>.

Há diferenças químicas entre galactomananas de espécies distintas. Todavia, a estrutura química da galactomanana de *Aspergillus* e *Penicillium* é muito similar. Peculiaridades entre espécies de *Aspergillus* também são relatadas: *A. fumigatus* libera baixos níveis de galactomanana, enquanto *A. terreus*, *A. niger* e *A. nidulans* libera altas concentrações<sup>11</sup>.

A cinética da liberação da galactomanana não é bem definida. Vários fatores como o estado imunológico do hospedeiro, o sítio da infecção, a fase de crescimento do agente, podem influenciar na concentração liberada. Em casos de doenças não invasivas ocasionadas por *Aspergillus* e terapia antifúngica sistêmica podem ocorrer resultados falso-negativos. A concentração de galactomanana detectada é proporcional ao crescimento fúngico no tecido infectado mesmo na ausência de sinais e sintomas clínicos<sup>6,12</sup>.

Os materiais biológicos mais utilizados no teste de detecção de galactomanana são o soro (sangue) e o lavado broncoalveolar (LBA), no entanto pode ser raramente detectado no líquido cefalo-espinhal, fluido peritoneal, urina e fluido do pericárdio. *Aspergillus* dificilmente é isolado

em culturas de sangue, e o teste utilizando soro tem menor sensibilidade em pacientes neutropênico, além de baixa reprodutibilidade observada em alguns estudos<sup>14-16</sup>.

Os testes comerciais mais utilizados para a detecção de galactomanana são a aglutinação por partículas de látex (Pastorex *Aspergillus*, Sanofi Diagnostics Pasteur), o radioimunoensaio, e o teste que utiliza a técnica de ELISA (Platelia™ *Aspergillus*, Bio Rad France). O teste de Platelia™ utiliza anticorpos monoclonais EB-A2 e apresenta alta sensibilidade capaz de detectar 0,5 -1 ng/mL de galactomanana. Este teste é utilizado há mais de uma década na Europa e nos Estados Unidos, como ferramenta no diagnóstico de AI<sup>11</sup>.

O teste de galactomanana tem boa sensibilidade em amostras de LBA, em pacientes neutropênicos e não-neutropênicos, quando comparado com teste em soro. Além disso, a detecção do antígeno em amostras de LBA é, em alguns casos, mais rapidamente evidenciada do que outros métodos como cultura e a Reação de Polimerase em Cadeia (PCR). O teste de PCR pode apresentar baixa sensibilidade em amostras oriundas de pacientes que recebem terapia antifúngica, contudo estudos apontam que ele pode ser combinado com outros testes laboratoriais para aumentar a especificidade e consequentemente, a acurácia do diagnóstico<sup>17-20</sup>.

Utilizando uma combinação de métodos (PCR espécie específica para detecção de DNA fúngico, teste de GM no soro e LBA, detecção de 1,3 β - D- Glucana), em modelo murino, infectado com *A. terreus*, Ahmad et al<sup>21</sup> concluíram que a combinação de métodos confere um diagnóstico mais rápido e específico para a detecção de *A. terreus*<sup>21</sup>.

Urabe et al<sup>22</sup>, avaliaram as técnicas de PCR espécie-específica, 1,3 β - D- Glucana e GM em amostras de LBA de 120 pacientes com aspergilose pulmonar crônica. Os testes de 1,3 β - D- Glucana e GM obtiveram ótimos resultados de especificidade e sensibilidade, quando combinados (utilizando o *cut-off* de 0.5 ng/mL), contudo como único critério micológico de diagnóstico, a PCR espécie-espe-

cífica teve maiores valores de sensibilidade.

A falta de reprodutibilidade, tempo de estocagem da amostra e padronização do *cut-off* representam uma limitação do teste. Todavia, o teste de GM em amostras de soro e LBA é recomendado, mas como um marcador de AI em pacientes com doenças hematológicas malignas e transplantados de células tronco hematopoiéticas<sup>1,23</sup>.

Outros fatores influenciam na sensibilidade do teste tais como a população na qual o teste é aplicado, a concomitante terapia antifúngica, o tipo de amostra utilizada, a definição do *cut-off* do teste (definir valores que indicam colonização e infecção) e o uso prolongado de antibióticos  $\beta$  - lactâmicos são alguns dos fatores que comprometem a eficácia e o número de resultados falsos positivos em amostras de LBA<sup>24,25</sup>.

A padronização de procedimentos pré-analíticos é necessária para diminuição de resultados falso-negativos e/ou falso-positivos. Em amostras de soro o tempo e temperatura de estocagem da amostra, os valores de bilirrubinas, e presença de hemólise e a antibioticoterapia podem comprometer os resultados. Ademais, recentes investigações apontaram que o uso do antifúngico micafungina limita a sensibilidade e especificidade do teste de GM em amostras de soro<sup>13,26,27</sup>.

Outra questão relevante é que o teste de GM pode ser aplicado no monitoramento de AI comprovada, uma vez que há decaimento da titulação de GM em pacientes em tratamento antifúngico, o que representa um indicador de efetividade do tratamento<sup>28</sup>.

### **Teste de Galacomanana aplicado em paciente com doenças hematológicas**

Em unidades hematológicas a incidência de AI é descrita como mais alta devido à severa imunossupressão dos pacientes com doenças malignas (principalmente a neutropenia), além do fato de que frequentemente os sintomas de AI mimetizam com outros sintomas oriundos da patologia de base. A maioria dos estudos que aplicaram o teste de GM nesta população foi

conduzida em hospitais europeus e americanos.

Woods et al<sup>29</sup> conduziram um estudo em Arkansas, USA, numa unidade hematológica, onde amostras de soro de 56 pacientes foram testadas com Platelia™ *Aspergillus*. A sobrevida dos pacientes com AI diagnosticada esteve fortemente correlacionada com a rápida detecção de GM nos testes realizados.

Outros estudos utilizaram LBA para avaliar a sensibilidade do teste de GM neste tipo de amostra. Em uma investigação, realizada em um hospital universitário na França, 64 amostras de LBA provenientes de 57 pacientes de uma unidade hematológica foram testadas por Platelia™ *Aspergillus* e por PCR em tempo real. A sensibilidade do teste de GM foi de 88% em culturas positivas e 38% em culturas negativas. A análise por PCR em tempo real mostrou sensibilidade inferior ao teste de GM<sup>30</sup>.

Ainda na Europa, dois estudos avaliaram amostras de LBA no teste de GM como ferramenta no diagnóstico de AI. O primeiro, um estudo prospectivo em 110 pacientes com doenças malignas e suspeita clínica de AI. Utilizando *cut-off*  $\geq 0.5$  ng/mL, a detecção de GM em LBA obteve sensibilidade de 88%, enquanto que em amostra de soro foi de apenas 42%. O nível de GM em LBA de 11 pacientes com AI comprovada foi positivo, enquanto que no soro e na cultura foram negativas. Nesta população de risco, o teste de detecção de GM em LBA obteve melhores resultados<sup>31</sup>. Na Alemanha, um estudo comparou a utilidade do teste de GM em amostras de LBA e soro de 26 pacientes imunocomprometidos e com alto risco para Aspergilose Pulmonar Invasiva (API). A sensibilidade e especificidade do teste foram de 85%, 88% em amostras de LBA e de 23% e 88% em amostras de soro respectivamente. Os autores concluíram que o teste de GM tem resultados superiores para o diagnóstico de API, utilizando as amostras de LBA<sup>32</sup>.

O teste de GM representa uma alternativa para pacientes hematológicos que tem alto risco de desenvolver API. Reinwald et al<sup>33</sup>, avaliaram 79 pacientes de risco, dos quais 29 foram diagnosticados com API provável



ou provada. O teste de GM em amostras de LBA, utilizando o *cut-off* de 0.5 ng/mL teve 79% e 96% de sensibilidade e especificidade respectivamente. Neste estudo a positividade do teste de GM e da PCR foi altamente similar.

Na Holanda, de Mol et al<sup>34</sup>, utilizou o teste de GM em 72 amostras de LBA em pacientes pediátricos diagnosticados com API. A especificidade do teste foi de 82,4% e a especificidade de 87,5% utilizando o *cut-off* de 0.5 ng/mL. Apesar de bons resultados, os autores avaliaram que as evidências obtidas em exames de imagem (TC) são mais seguras para iniciar ou continuar a terapia antifúngica, combinadas com resultados do teste de GM.

Outro estudo prospectivo avaliou a utilidade do teste de GM em 145 crianças com episódios de neutropenia febril, no período de 2007 a 2011, combinado com exames de imagem para classificar os pacientes com AI provada, provável e possível. O *cut-off* de 0.7 ng/mL para o teste de GM em amostras de soro apresentou 82.2% e 82.5% de sensibilidade e especificidade respectivamente, o que representou uma ótima opção para o diagnóstico de AI em pacientes pediátricos<sup>35</sup>.

Em países da Ásia o teste de GM também tem sido aplicado em unidades de população de risco (com doenças hematológicas malignas). Um estudo prospectivo de caso-controle conduzido na Índia avaliou o teste de GM em amostras de LBA e soro em 51 pacientes hematológicos; o grupo controle incluiu 20 pacientes sem doenças hematológicas e evidências de AI. A sensibilidade do teste em amostras de LBA foi de 87,5% e a especificidade foi de 100%, utilizando o *cut-off* de 1.0 ng/mL<sup>36</sup>.

Um estudo multicêntrico conduzido na Turquia avaliou o teste de GM em pacientes pediátricos com episódios de neutropenia. Foram incluídos 47 pacientes, sendo 25 com diagnóstico de AI (provada, provável ou possível) e 22 pacientes sem evidências clínicas. Um total de 158 amostras de sangue foram testadas utilizando *cut-off* de 0.5 ng/mL. A sensibilidade e especificidade do teste foram de 68% e 77% respectivamente.

Os autores ressaltaram que para o diagnóstico de AI os resultados de GM devem ser avaliados em conjunto com as evidências clínicas<sup>37</sup>.

No Irã, um estudo avaliou técnicas não invasivas para o diagnóstico de AI em pacientes onco-hematológicos. Dos 62 pacientes incluídos no estudo, 26 foram diagnosticados com AI. Utilizando amostras de soro e o *cut-off* de 0.5 ng/mL, a sensibilidade e especificidade do teste foi de 94,4% e 100% respectivamente. Apesar dos resultados, os autores descreveram a importância da combinação de achados clínicos, radiológicos e microbiológicos no diagnóstico de AI em pacientes de risco<sup>38</sup>.

A maioria dos estudos tem por objetivo avaliar o valor do teste de GM aplicado numa determinada população de risco. A combinação de técnicas comumente é realizada com intuito de definir um método de diagnóstico mais rápido e preciso. Como exemplo, as técnicas baseadas em métodos moleculares e tomografia computadorizada. Contudo, a falta de padronização interlaboratorial diminui sua eficácia no diagnóstico de AI. Como alternativa, a combinação de métodos como a detecção de GM e tomografia computadorizada (TC) aumentam a rapidez do diagnóstico e, conseqüentemente, melhor prognóstico para o paciente.

Segundo Hachem et al<sup>39</sup>, avaliando o teste de detecção de GM e de 1,3  $\beta$ -D Glucana conjuntamente, a sensibilidade do teste de GM em amostras de soro é baixa quando a infecção envolve espécies de *Aspergillus* não fumigatus.

O teste de GM em amostras de LBA também pode ter grande utilidade no monitoramento e controle de surtos de aspergilose. A associação de mais de um teste com exames radiológicos proporciona diagnóstico rápido quando comparados ao uso de apenas um método.

### **Teste de Galactomanana aplicado em pacientes sem doença hematológica**

O diagnóstico de AI ainda é um desafio em pacientes não neutropênicos. Apesar da menor especificidade do teste de GM em relação a técnicas moleculares, a sensibilidade

do teste pode chegar a 90%, principalmente quando amostras de LBA são utilizadas<sup>40</sup>.

Para pacientes com doenças hematológicas, principalmente neutropênicos, a quantificação da galactomanana em amostras de LBA e soro tem sido extensivamente testada. Atualmente *Aspergillus* spp. tem sido agente de doenças invasivas em outro grupo de risco: pacientes com DPOC, submetidos a altas doses de corticosteróides, portadores de hepatite C, cirrose, com doenças autoimunes, doenças respiratórias como as ocasionadas por vírus H1N1, e aqueles com longa permanência em unidades de terapia intensiva<sup>41</sup>.

O padrão para o diagnóstico de AI (critério micológico, clínico e radiológico) foi desenvolvido e padronizado em pacientes com neutropenia e outras doenças hematológicas, contudo nas últimas duas décadas diversos estudos utilizaram testes de GM e PCR para o diagnóstico de outros pacientes de risco.

Na Espanha, um estudo que compreendeu três hospitais universitários no período de 2010 a 2014, avaliou a aplicabilidade do teste de GM em amostras de LBA de 188 pacientes divididos em dois grupos: o primeiro compreendeu pacientes com DPOC e o segundo pacientes imunossuprimidos sem doenças hematológicas. Dos pacientes analisados, 31 foram diagnosticados com aspergilose provada ou provável. A sensibilidade do teste foi mais alta nas amostras de pacientes imunossuprimidos do que com DPOC (81,8% e 66,7% respectivamente). Os *cut-off* utilizados para os grupos foram de >1.0 ng/mL para pacientes com outros tipos de imunossupressão e > 0.5 ng/mL para os pacientes com DPOC. O estudo concluiu que para a coorte estudada, o teste de GM teve bom desempenho no diagnóstico de AI<sup>42</sup>.

Um estudo com pacientes com doença DPOC utilizando amostras de LBA e soro avaliou que utilizando o *cut-off* de 1.19 ng/mL nas amostras de LBA há um aumento da sensibilidade e especificidade do teste, utilizando o Plateia Galactomana. Em amostras de soro o *cut-off* ideal foi de 0.5 ng/mL<sup>43</sup>.

Num estudo caso-controle conduzido em unidade pediátrica do Iran, selecionou amostras de LBA de pacientes com API provável ou provada. Foram utilizadas 16 amostras de pacientes com aspergilose provável ou provada e 54 controles (pacientes classificados com possível *aspergilose e API*). Utilizando o *cut-off* de 0.5 ng/mL a sensibilidade do teste de GM em amostras de LBA foi de 87,5%. Dentre os controles, sete amostras foram positivas para GM<sup>44</sup>.

Zhou et al<sup>45</sup>, avaliaram o teste de GM em amostras de LBA e soro de 120 pacientes não neutropênicos, no período de 2014 e 2016. A análise dos dados, utilizando três *cut-off* de (0.5 ng/mL, 0.7 ng/mL e 1.0 ng/mL), mostrou que em amostras de LBA a sensibilidade do teste de GM é superior do que em amostras de soro, contudo a especificidade não. No estudo o *cut-off* de 0.7 ng/mL foi o que apresentou maiores valores de sensibilidade e especificidade, em amostras de LBA (72,97% e 89,16% respectivamente).

Na Índia, um estudo avaliou o teste de GM em 50 pacientes não hematológicos, com outras co-morbidades, como *Diabetes mellitus*. O *cut-off* de 0.5 ng/mL em amostras de soro teve 79% de sensibilidade e 71% de especificidade<sup>46</sup>.

Ağca et al<sup>47</sup>, avaliaram o teste de GM em 1427 amostras de LBA e lavado bronquial (700 e 727 respectivamente), provenientes de pacientes neutropênicos e não neutropênicos. Neste estudo o *cut-off* de 1.0 ng/mL foi ideal para o diagnóstico de AI e recuperação do agente em cultura, e a acurácia do teste foi superior em amostras de LBA.

No Japão, um estudo com 114 pacientes com aspergilose pulmonar crônica, a sensibilidade e especificidade do teste de GM utilizado em amostras de LBA foi de 77,2% e 77%, respectivamente, utilizando um *cut-off* de 0.4 ng/mL, valores superiores aos observados em amostras de soro, onde utilizando um *cut-off* de 0.7 ng/mL a sensibilidade e especificidade foram de 66,7% e 63,5% respectivamente<sup>48</sup>.

Na Turquia, um estudo avaliou a utilidade do teste de GM em amostras de LBA de 44 pacientes não neutropênicos, com uso de corticosteróides, da unidade de terapia

intensiva, com diagnóstico de “provável API” e “possível API”. Utilizando o *cut-off* de 0.7 ng/mL a sensibilidade foi de 100% e a especificidade de 87,9% em amostras de LBA. Os autores avaliaram que o uso do teste de GM pode ser efetivamente utilizado para o diagnóstico de API em comparação com outros métodos utilizados<sup>49</sup>.

He et al<sup>50</sup>, avaliaram o teste de GM em amostras de soro e LBA de 34 pacientes com DPOC. O teste de GM em amostras de LBA, utilizando o *cut-off* de 0.8 ng/mL, teve sensibilidade e especificidade de 88,9% e 100% respectivamente. Os autores concluíram que em pacientes com DPOC a detecção de GM pode ser utilizada para o diagnóstico de API.

Com o objetivo de investigar fatores preditores de mortalidade em pacientes não-neutropênicos, Russo et al<sup>51</sup>, num estudo retrospectivo analisam fatores de risco, e testaram GM em amostras do trato respiratório de 27 pacientes com API (provada e provável). Utilizando o *cut-off* de 2.0 ng/mL o teste de GM foi hábil para classificar pacientes com pior prognóstico, com sensibilidade e especificidade de 100% e 77% respectivamente. Neste estudo o fator preditivo para mortalidade de pacientes com API foi a cirrose hepática.

Na Flórida, um estudo retrospectivo conduzido num hospital terciário, avaliou a utilização do teste de galactomanana por ELISA, em amostras de LBA e soro de pacientes transplantados de órgãos sólidos. Por meio deste teste foi possível detectar AI em cinco pacientes, no qual evoluíram bem após a terapia antifúngica. A sensibilidade do método foi de 100%. Entre os pacientes transplantados de pulmão, o teste de LBA apresentou um valor de 41,7% de resultados falso-positivos, o que evidencia a frequente colonização das vias aéreas respiratórias destes pacientes. Foi utilizado o *cut-off*  $\geq 1.0$  ng/mL em todos os casos. Assim, o estudo ratificou que o teste de GM aplicado a transplantados de pulmão não apresenta boa especificidade<sup>52</sup>.

Outro estudo, avaliando a eficácia do teste em receptores de pulmão, demonstrou que há dificuldade em estabelecer um *cut-off* para GM para definir uma provável infecção. Foi possível

verificar que a determinação do *cut-off*  $\geq 1.0$  ng/mL não foi suficiente para a população estudada, e neste caso, as evidências clínicas e radiológicas foram os principais fatores sugestivos de AI<sup>53</sup>.

No Irã, um estudo avaliou a sensibilidade do teste de GM em amostras de soro e LBA, em pacientes transplantados de coração e pulmão. Dos 17 pacientes incluídos, API foi diagnosticada em nove. Utilizando o *cut-off* de 0.5 ng/mL para amostras de soro e LBA, a sensibilidade do teste em amostras de soro e LBA foi de 77,1% e 100% respectivamente. Em ambas amostras a especificidade foi de 100%. Os autores concluíram que a utilização do teste de GM pode ser uma boa opção para o diagnóstico oportuno de API<sup>54</sup>.

Swoboda-Kopec et al<sup>55</sup>, testaram GM em amostras de soro de 20 pacientes transplantados de órgãos sólidos, com suspeita de AI, e em paralelo utilizou um teste comercial de PCR (MycAssayTM). O *cut-off* utilizado foi  $\geq 0.5$  ng/mL. Sete pacientes apresentaram níveis de GM acima do *cut-off*, contudo não foi estabelecida concordância com o teste de PCR utilizado.

Os testes sorológicos são utilizados extensivamente no diagnóstico de diversas doenças, contudo para o diagnóstico de AI a falta de padronização, como o *cut-off* ideal para o tipo de amostra, limita a utilização de teste como a GM como único critério de diagnóstico. Nos estudos citados os *cut-off* utilizados variaram de 0.4 a 2.0 ng/mL (Tabela), o que demonstra que a definição do valor deve ser de acordo com a população na qual o teste é aplicado.

## CONCLUSÃO

A detecção de galactomanana por ELISA representa uma alternativa no diagnóstico em amostras de LBA, pois apresenta alta sensibilidade e especificidade, rapidez, além de não ser um método invasivo, e poderia ser utilizado em unidades de risco no Brasil. Contudo, o método deve ser realizado concomitantemente a outros, como microscopia e cultura e exames de imagem, uma vez que o teste não é suficientemente sensível e específico para o correto diagnóstico.

**Tabela.** Valores de *cut-off*, sensibilidade e especificidade do teste de detecção de galactomanana (GM) em amostras de pacientes com e sem doença hematológica

Autores/ano de publicação	Número de amostras	Tipo de amostra	Pacientes com doença hematológica	Cut-off (ng/mL)**	Sensibilidade %	Especificidade %
Urabe et al <sup>22</sup> /2017	120	LBA*	Não	≥0.5	77,8%	90%
Fréalte et al <sup>30</sup> /2009	64	LBA	Sim	≥0.5	88%	58%
Meersseman et al <sup>31</sup> /2008	110	LBA	Sim	≥0.5	88%	----
Boch et al <sup>32</sup> /2016	26	LBA	Sim	≥0.5	85%	88%
Reinwald et al <sup>33</sup> /2012	79	LBA	Sim	≥0.5	79%	96%
de Mol et al <sup>34</sup> /2013	72	LBA	Sim	≥0.5	82,4%	87,5%
Dinand et al <sup>35</sup> /2016	145	Soro	Sim	≥0.7	82,2%	82,5%
Gupta et al <sup>36</sup> /2017	71	LBA e soro	Sim	≥1.0	87,5%	100%
Sav et al <sup>37</sup> /2017	158	Soro	Sim	≥0.5	68%	77%
Badiee et al <sup>38</sup> /2016	62	Soro	Sim	≥0.5	94,4%	100%
Zhang et al <sup>40</sup> /2016	94	LBA e soro	Não	≥1.19	90,5%	65,5%
Fortún et al <sup>42</sup> /2016	188	LBA	Não	≥0.5	81,8%	66,7%
Mohammadi et al <sup>44</sup> /2015	70	LBA	Sim/Não***	≥0.5	87,5%	93,33%
Zhou et al <sup>45</sup> /2017	120	LBA e soro	Não	≥0.7	72,97%	89,16%
Savio et al <sup>46</sup> /2016	50	Soro	Não	≥0.5	79%	71%
Ağca et al <sup>47</sup> /2014	1427	LBA e lavado bronquial	Sim/Não***	≥ 1.0	----	----
Izumikawa et al <sup>48</sup> /2012	114	LBA	Não	≥0.4	77,2%	77%
Özger et al <sup>49</sup> /2015	44	LBA	Não	≥0.7	100%	87,9%
He et al <sup>50</sup> /2012	34	LBA e soro	Não	≥0.8	88,9%	100%
Russo et al <sup>51</sup> /2014	27	Amostras trato respiratório	Não	≥2.0	100%	77%
Clancy et al <sup>52</sup> /2007	81	LBA e soro	Não	≥1.0	100%	90,8%
Husain et al <sup>53</sup> /2007	333	LBA	Não	≥1.0	60%	98%
Tabarsi et al <sup>54</sup> /2012	17	LBA e soro	Não	≥0.5	77,1%	100%
Swoboda-Kopec et al <sup>55</sup> /2015	46	Soro	Não	≥0.5	----	----

\*LBA: Lavado Broncoalveolar; \*\*ng/mL: nanograma por mililitro; \*\*\* Dois grupos foram analisados no estudo



Outro ponto importante é a determinação do *cut-off* do teste que deve ser determinado de acordo com a população na qual é aplicado.

## REFERÊNCIAS

1. Patterson TF, Thompson GR, Denning DW, Fishman JA, Hadley S, Herbrecht R et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2016; 63(4):433–42. <https://dx.doi.org/10.1093/cid/ciw444>
2. Bassetti M, Bouza E. Invasive mould infections in the ICU setting: complexities and solutions. *J Antimicrob Chemother*. 2017; 72 (sypl\_1): i39-i47. <https://dx.doi.org/10.1093/jac/dkx032>
3. Giacomazzi J, Baethgen L, Carneiro LC, Millington MA, Denning DW, Colombo AL et al. The burden of serious human fungal infections in Brazil. *Mycoses*. 2016; 59(3):145-50. <https://doi.org/10.1111/myc.12427>
4. Chamilos G, Kontoyiannis DP. Defining the diagnosis of invasive aspergillosis. *Med Mycol*. 2006; 44: 5163-72. <https://dx.doi.org/10.1080/13693780600823258>
5. Hope WW, Walsh TJ, Denning DW. Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis*. 2005;5(10):609-22. [https://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(05\)70238-3](https://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(05)70238-3)
6. Sun KS, Tsai CF, Chen SCC, Chen YY, Huang WC. Galactomannan testing and the incidence of invasive pulmonary aspergillosis: a 10-year nationwide population-based study in Taiwan. *Plos One*. 2016; 11 (2): e0149964. <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0156566>
7. Rijnders BJ, Cornelissen JJ, Slobbe L, Becker MJ, Doorduijn JK, Hop WCP et al. Aerosolized liposomal amphotericin B for the prevention of invasive pulmonary aspergillosis during prolonged neutropenia: a randomized placebo-controlled trial. *Clin Infect Dis*. 2008; 46(9):1401-8. <https://dx.doi.org/10.1086/586739>
8. Meersseman W, Lagrou K, Maertens J, Van Wijngaerden E. Invasive aspergillosis in intensive care unit. *Clin Infect Dis*. 2007;45(2):205-16. <https://dx.doi.org/10.1086/518852>
9. Barnes PD, Marr KA. Risks, diagnosis and outcomes of invasive fungal infections in haematopoietic stem cell transplant recipients. *Br J Haematol*. 2007; 139(4):519-31. <https://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2141.2007.06812.x>
10. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/ Invasive Fungal Infections Cooperative Group and National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) consensus group. *Clin Infect Dis*. 2008; 46(12):1813-21. <https://dx.doi.org/10.1086/588660>
11. Aquino VR, Goldani LZ, Pasqualotto AC. Update on the contribution of galactomannan for the diagnosis of invasive aspergillosis. *Mycopathologia*. 2007;163(4):191-202. <https://dx.doi.org/10.1007/s11046-007-9010-2>
12. Warris A, Lehrnbecher T. Progress in the diagnosis of invasive fungal disease in children. *Curr Fungal Infect Rep*. 2017;11(2):35-44. <https://dx.doi.org/10.1007/s12281-017-0274-9>
13. Monteiro AA, Rubenich DS, Zandoná MR, Pasqualotto AC. Impact of pré-analytical variables in the determination of serum galactomannan. *Med Mycol*. 2017;55(6):635-41. <https://dx.doi.org/10.1093/mmy/myw123>
14. Alanio A, Menotti J, Gits-Museli M, Hamane S, Denis B, Rafoux E et al. Circulating *Aspergillus fumigatus* DNA is quantitatively correlated to galactomannan in serum. *Front Microbiol*. 2017;8:2040. <https://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2017.02040>
15. Pedroza KC, de Matos SB, de Moura DL, Oliveira MB, Araújo MA, Nascimento RJ et al. Reproducibility of positive results for the detection of serum galactomannan by Platelia™ *Aspergillus* EIA. *Mycopathologia*. 2013;176(3-4):295-7. <https://dx.doi.org/10.1007/s11046-013-9670-z>

16. Perloth J, Choi B, Spellberg B. Nosocomial fungal infections: epidemiology, diagnosis, and treatment. *Med Mycol*. 2007;45(4):312-46. <https://dx.doi.org/10.1080/13693780701218689>
17. Arvanitis M, Anagnostou T, Mylonakis E. Galactomannan and polymerase chain reaction-based screening for invasive aspergillosis among high-risk hematology patients: a diagnostic meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2015;61(8):1263-72. <https://dx.doi.org/10.1093/cid/civ555>
18. D'Haese J, Theunissen K, Vermeulen E, Schoemans H, De Vlieger G, Lammertijn L et al. Detection of galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid samples of patients at risk for invasive pulmonary aspergillosis: analytical and clinical validity. *J Clin Microbiol*. 2012; 50(4):1258-63. <https://dx.doi.org/10.1128/JCM.06423-11>
19. Acosta J, Catalan M, del Palacio-Peréz-Medel A, Lora D, Montejo JC, Cuetara MS et al. A prospective comparison of galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of pulmonary invasive aspergillosis in medical patients under intensive care: comparison with the diagnostic performance of galactomannan and of (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -d-glucan chromogenic assay in serum samples. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17(7):1053-60. <https://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03357.x>
20. Reinwald M, Hummel M, Kovalevskaya E, Spiess B, Heinz WJ, Vehreschild JJ et al. Therapy with antifungals decreases the diagnostic performance of PCR for diagnosing invasive aspergillosis in bronchoalveolar lavage samples of patients with haematological malignancies. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67(9):2260-7. <https://dx.doi.org/10.1093/jac/dks208>
21. Ahmad S, Khan ZU, Theyyathel M. Diagnostic value of DNA, (1-3)  $\beta$ -d-glucan, and galactomannan detection in serum and bronchoalveolar lavage of mice experimentally infected with *Aspergillus terreus*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2007;59(2):165-71. <https://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2007.04.009>
22. Urabe N, Sakamoto S, Sano G, Suzuki J, Hebisawa A, Nakamura Y et al. Usefulness of two *Aspergillus* PCR assays and *Aspergillus* galactomannan and  $\beta$ -d-glucan testinf of bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 2017;55(6):1738-46. <https://dx.doi.org/10.1128/JCM.02497-16>
23. Johnson GL, Sarker SJ, Hill K, Tsitsikas DA, Morin A, Bustin SA et al. Significant decline in Galactomannan signal during storage of clinical serum samples. *Int J Mol Sci*. 2013;14(7):12970-7. <https://doi.org/10.3390/ijms140712970>
24. Eigl S, Prattes J, Reinwald M, Thornton CR, Reischies F, Spiess B et al. Influence of mould-active antifungal treatment on the performance of the *Aspergillus*-specific bronchoalveolar lavage fluid lateral-flow device test. *Int J Antimicrob Agents*. 2015;46(4):401-5. <https://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2015.05.017>
25. Brownback KR, Pitts LR, Simpson SQ. Utility of galactomannan antigen detection in bronchoalveolar lavage fluid in immunocompromised patients. *Mycoses*. 2013;56(5):552-8. <https://dx.doi.org/10.1111/myc.12074>
26. Zheng F, Zha H, Yang D, Deng J, Zhang Z. Diagnostic values and limitations of (1,3)- $\beta$ -d-glucans and galactomannan assays for invasive fungal infection in patients admitted to pediatric intensive care unit. *Mycopathologia*. 2017;182(3-4):331-8. <https://dx.doi.org/10.1007/s11046-016-0063-y>
27. Kim R, Koh Y, Shin DY, Choe PG, Kim NJ, Yoon et al. The limited role of serum galactomannan assay in screening for invasive pulmonary aspergillosis in allogeneic stem cell transplantation recipients on micafungin prophylaxis: a retrospective study. *Blood Res*. 2017;52(4):300-6. <https://dx.doi.org/10.5045/br.2017.52.4.300>
28. Hadrich I, Makni F, Cheikhrouhou F, Neji S, Amouri I, Sellami H et al. Clinical utility and prognostic value of galactomannan in neutropenic patients with invasive aspergillosis. *Pathol Biol (Paris)*. 2012;60(6):357-61. <https://dx.doi.org/10.1016/j.patbio.2011.10.011>
29. Woods G, Miceli MH, Graziutti ML, Zhao W, Barlogie B, Anaissie E. Serum *Aspergillus* galactomannan antigen values strongly correlate with outcome of invasive aspergillosis. *Cancer*. 2007;110(4):830-4. <https://dx.doi.org/10.1002/cncr.22863>

30. Fréalle E, Decrucq K, Botterel F, Bouchindhomme B, Camus D, Dei-Cas E et al. Diagnosis of invasive aspergillosis using bronchoalveolar lavage human DNA content on real-time PCR performance. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2009;28(3):223-32. <https://dx.doi.org/10.1007/s10096-008-0616-1>
31. Meersseman W, Lagrou K, Maertens J, Wilmer A, Hermans G, Vanderschueren S et al. Galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid: a tool for diagnosing aspergillosis in intensive care unit patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;177(1):27-34. <https://dx.doi.org/10.1164/rccm.200704-606OC>
32. Boch T, Buchheidt D, Spiess B, Miethke T, Hofmann WK, Reinwald M. Direct comparison of galatomannan performance in concurrent serum and bronchoalveolar lavage samples in immunocompromised patients at risk for invasive pulmonary aspergillosis. *Mycoses*. 2016;59(2):80-5. <https://dx.doi.org/10.1111/myc.12434>
33. Reinwald M, Spiess B, Heinz WJ, Vehreschild JJ, Lass-Flörl C, Kiehl M et al. Diagnosing pulmonary aspergillosis in patients with hematological malignancies: a multicenter prospective evaluation of an *Aspergillus* PCR assay and a galactomannan ELISA in bronchoalveolar lavage samples. *Eur J Haematol*. 2012;89(2):120-7. <https://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0609.2012.01806.x>
34. de Mol M, de Jongste JC, van Westreenen M, Merkus PJ, de Vries AH, Hop WC et al. Diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in children with bronchoalveolar lavage galactomannan. *Pediatr Pulmonol*. 2013;48(8):789-96. <https://dx.doi.org/10.1002/ppul.22670>
35. Dinand V, Anjan M, Oberoi JK, Khanna S, Yadav SP, Wattal C et al. Threshold of galactomannan antigenemia positivity for early diagnosis of invasive aspergillosis in neutropenic children. *J Microbiol Immunol Infect*. 2016;49(1):66-73. <https://dx.doi.org/10.1016/j.jmii.2013.12.003>
36. Gupta A, Capoor MR, Shende T, Sharma B, Mohindra R, Suri JC et al. Comparative evaluation of galactomannan test with bronchoalveolar lavage and serum for the diagnosis of invasive aspergillosis in patients with hematological malignancies. *J Lab Physicians*. 2017;9(4):234-8. [https://dx.doi.org/10.4103/JLP.JLP\\_127\\_16](https://dx.doi.org/10.4103/JLP.JLP_127_16)
37. Sav H, Atalay MA, Koc AN, Unal E, Demir G, Zararsiz G. Utility of the *Aspergillus* galactomannan antigen testing for neutropenic paediatric patients. *Infez Med*. 2017;25(1):38-44. Disponível em: [https://www.infezmed.it/media/journal/Vol\\_25\\_1\\_2017\\_7.pdf](https://www.infezmed.it/media/journal/Vol_25_1_2017_7.pdf)
38. Badiie P, Hashemizadeh Z, Ramzi M, Karimi M, Mohammadi R. Non-invasive methods to diagnose fungal infection in pediatric patients with hematologic disorders. *Jundishapur J Microbiol*. 2016;9(11):e41573. <https://dx.doi.org/10.5812/jjm.41573>
39. Hachem RY, Kontoyiannis DP, Chemaly RF, Jiang Y, Reitzel R, Raad I. The utility of galactomannan enzyme immunoassay and (1-3)  $\beta$ -d-Glucan in the diagnosis of invasive fungal infections: low sensitivity for *Aspergillus fumigatus* infection in hematologic malignancy patients. *J Clin Microbiol*. 2009;47(1):129-33. <https://dx.doi.org/10.1128/JCM.00506-08>
40. Zhang S, Wang S, Wan Z, Que C, Li R, Yu J. Quantitative real-time PCR and Platelia Galactomannan Assay for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: bronchoalveolar lavage fluid performs better than serum in non-neutropenic patients. *Mycopathologia*. 2016;181(9-10):625-9. <https://dx.doi.org/10.1007/s11046-016-0024-5>
41. Bassetti M, Peghin M, Vena A. Challenges and solution of invasive aspergillosis in non-neutropenic patients: a review. *Infect Dis Ther*. 2018;7(1):17-27. <https://dx.doi.org/10.1007/s40121-017-0183-9>
42. Fortún J, Martín-Dávila P, Gomez Garcia de la Pedrosa E, Silva JT, Garcia-Rodríguez J, Benito D et al. Galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of invasive aspergillosis in non-hematological patients. *J Infect*. 2016;72(6):738-44. <https://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2016.02.019>

43. Zhang S, Wang S, Wan Z, Li R, Yu J. The diagnosis of invasive and noninvasive pulmonary aspergillosis by serum and bronchoalveolar lavage fluid galactomannan assay. *Biomed Res Int*. 2015;2015:943691. <https://dx.doi.org/10.1155/2015/943691>
44. Mohammadi S, Khalilzadeh S, Goudarzipour K, Hassanzad M, Mahdavian A, Aarabi N et al. Bronchoalveolar galactomannan in invasive pulmonary aspergillosis: a prospective study in pediatric patients. *Med Mycol*. 2015;53(7):709-16. <https://dx.doi.org/10.1093/mmy/myv053>
45. Zhou W, Li H, Zhang Y, Huang M, He Q, Li P et al. Diagnostic value of galactomannan antigen test in serum and bronchoalveolar lavage fluid samples from patients with nonneutropenic invasive pulmonary aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 2017;55(7):2153-61. <https://dx.doi.org/10.1128/JCM.00345-17>
46. Savio J, Menon NR, Sudharma AR, Jairaj V, Mathew J. Galactomannan assay and invasive pulmonary aspergillosis – comparison of the test performance at an in-house and the kit cut-off. *J Clin Diagn Res*. 2016;10(8): DC01-4. <https://dx.doi.org/10.7860/JCDR/2016/19175.8310>
47. Ağca H, Ener B, Yılmaz E, Ursavaş A, Kazak E, Özkocaman V et al. Comparative evaluation of galactomannan optical density indices and culture results in bronchoscopic specimens obtained from neutropenic and non-neutropenic patients. *Mycoses*. 2014;57(3):169-75. <https://dx.doi.org/10.1111/myc.12126>
48. Izumikawa K, Yamamoto Y, Mihara T, Takazono T, Morinaga Y, Kurihara S et al. Bronchoalveolar lavage galactomannan for the diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis. *Med Mycol*. 2012;50(8):811-7. <https://dx.doi.org/10.3109/13693786.2012.682228>
49. Özger S, Hızel K, Kalkancı A, Aydoğdu M, Civil F, Dizbay M et al. Evaluation of risk factors for invasive pulmonary aspergillosis and detection of diagnostic values of galactomannan and PCR methods in bronchoalveolar lavage samples from non-neutropenic intensive care unit patients. *Mikrobiyol Bul*. 2015;49(4):565-75.
50. He H, Ding L, Sun B, Li F, Zhan Q. Role of galactomannan determinations in bronchoalveolar lavage fluid samples from critically ill patients with chronic obstructive pulmonary disease for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: a prospective study. *Crit Care*. 2012;16(4):R138. <https://dx.doi.org/10.1186/cc11443>
51. Russo A, Giuliano S, Vena A, Lucidi C, Falcone M, Raponi G et al. Predictors of mortality in non-neutropenic patients with invasive pulmonary aspergillosis: does galactomannan have a role? *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2014;80(1):83-6. <https://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2014.05.015>
52. Clancy CJ, Jaber RA, Leather HL, Wingard JR, Staley B, Wheat LJ et al. Bronchoalveolar lavage galactomannan in diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis among solid-organ transplant recipients. *J Clin Microbiol*. 2007;45(6):1759-65. <https://dx.doi.org/10.1128/JCM.00077-07>
53. Husain S, Paterson DL, Studer SM, Crespo M, Pilewski J, Durkin M et al. *Aspergillus* galactomannan antigen in the bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of invasive aspergillosis in lung transplant recipients. *Transplantation*. 2007;83(10):1330-6. <https://dx.doi.org/10.1097/01.tp.0000263992.41003.33>
54. Tabarsi P, Soraghi A, Marjani M, Zandian P, Baghaei P, Najafzadeh K et al. Comparison of serum and bronchoalveolar lavage galactomannan in diagnosing invasive aspergillosis in solid-organ transplant recipients. *Exp Clin Transplant*. 2012;10(3):278-81. <https://dx.doi.org/10.6002/ect.2011.0176>
55. Swoboda-Kopec E, Golás M, Piskorska K, Dabkowska M, Niecwietajewa I, Paczek L et al. *Aspergillus* galactomannan detection in comparison to a real-time PCR assay in serum samples from a high-risk group of patients. *Cent Eur J Immunol*. 2015;40(4):454-60. <https://dx.doi.org/10.5114/ceji.2015.56968>