



REVISTA ESPAÑOLA DE Quimioterapia

SPANISH JOURNAL
OF CHEMOTHERAPY

ISSN: 0214-3429

Volumen 28

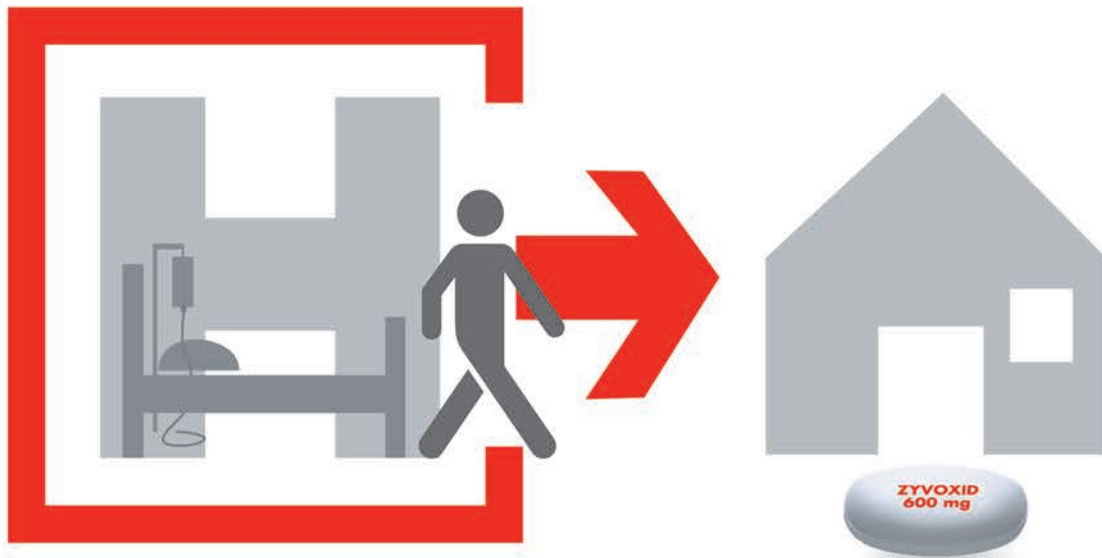
Número 5

Octubre 2015

Páginas: 225-274



Publicación Oficial
de la Sociedad Española
de Quimioterapia



La libertad de la terapia secuencial

- ➔ Biodisponibilidad oral del 100%¹
- ➔ Permite la terapia secuencial **de vía intravenosa a vía oral**, sin cambiar la dosificación y sin cambiar de medicamento²

IV/Oral
ZYVOXID[®]
(linezolid)



Trabajando juntos por un mundo más sano

IV/Oral

ZYVOXID®

(linezolid)

NOMBRE DEL MEDICAMENTO: Zyvoxid 600 mg comprimidos recubiertos con película. Zyvoxid 100 mg/5 ml granulado para suspensión oral, Zyvoxid 2 mg/ml solución para perfusión. **COMPOSICIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA:**

Comprimidos recubiertos con película: Cada comprimido contiene 600 mg de linezolid. *Granulado para suspensión oral:* Cada 5 ml contienen 100 mg de linezolid, tras su reconstitución con 123 ml de agua. *Solución para perfusión:* Cada ml contiene 2 mg de linezolid. Cada bolsa de perfusión de 300 ml contiene 600 mg de linezolid. Para consultar la lista de excipientes, ver lista de excipientes. **FORMA FARMACÉUTICA:** *Comprimidos recubiertos con película:* Comprimidos blancos, ovales con "ZYVOXID 600 mg" impreso en una cara. *Granulado para suspensión oral:* Granulado blanco o amarillo pálido con sabor a naranja. *Polvero para solución para perfusión:* Solución para perfusión. Solución isotónica, transparente, de incolora a amarilla. **DATOS CLÍNICOS: Indicaciones terapéuticas:** Neumonía nosocomial. Neumonía adquirida en la comunidad. Zyvoxid está indicado para el tratamiento de la neumonía nosocomial y de la neumonía adquirida en la comunidad, cuando se tenga la certeza o se sospeche que estén causadas por bacterias grampositivas sensibles a linezolid. Para determinar si Zyvoxid es un tratamiento adecuado, deben tenerse en cuenta los resultados de las pruebas microbiológicas o la prevalencia de resistencia entre las bacterias grampositivas a los antibióticos. Linezolid no es activo frente a infecciones causadas por microorganismos gramnegativos. Si se sospecha o se tiene la certeza de que existe una infección por microorganismos gramnegativos, se debe iniciar simultáneamente un tratamiento específico frente a microorganismos gramnegativos. Infecciones complicadas de piel y tejidos blandos (ver Advertencias y precauciones especiales de empleo). Zyvoxid está indicado para el tratamiento de infecciones complicadas de piel y tejidos blandos sólo cuando las pruebas microbiológicas muestren que la infección está originada por bacterias grampositivas sensibles a este antibiótico. Linezolid no es activo frente a infecciones causadas por microorganismos gramnegativos. Linezolid sólo debe ser usado en pacientes con infecciones complicadas de piel y tejidos blandos en los que se sospeche o se tenga la certeza de co-infección por microorganismos gramnegativos, si no hay otras alternativas terapéuticas disponibles (ver Advertencias y precauciones especiales de empleo). En estas circunstancias, debe iniciarse concomitantemente tratamiento frente a microorganismos gramnegativos. El tratamiento con linezolid debe iniciarse únicamente en el ámbito hospitalario y tras la valoración por un médico especialista, como un microbiólogo o un especialista en enfermedades infecciosas. **Deberán tenerse en cuenta las recomendaciones oficiales sobre el uso adecuado de agentes antibacterianos. Posología y forma de administración:** Para iniciar el tratamiento con Zyvoxid se puede utilizar tanto la solución para perfusión como los comprimidos recubiertos con película o la suspensión oral. Los pacientes que inicien el tratamiento con la formulación parenteral pueden pasar a cualquiera de las presentaciones orales, cuando esté indicado clínicamente. En este caso no se requiere ajuste de dosis, ya que la biodisponibilidad oral de linezolid es aproximadamente del 100%. **Duración y dosificación recomendada para el tratamiento en adultos:** La duración del tratamiento depende del microorganismo, del lugar de la infección, de la gravedad y de la respuesta clínica del paciente. Las recomendaciones sobre la duración del tratamiento que se indican a continuación reflejan las utilizadas en los ensayos clínicos. Para algunos tipos de infección, puede ser conveniente prescribir tratamientos más cortos, aunque esto no se ha evaluado en ensayos clínicos. La duración máxima del tratamiento es de 28 días. No se ha establecido la seguridad y eficacia de linezolid cuando se administra durante períodos superiores a 28 días (ver Advertencias y precauciones especiales de empleo). Las infecciones asociadas a bacteriemia no requieren aumentar la dosis recomendada ni la duración del tratamiento. Las dosis recomendadas son idénticas para la solución para perfusión, los comprimidos y el granulado para suspensión oral y son las siguientes: (ver tabla) **Niños:** Los datos de seguridad y de eficacia de linezolid en niños y adolescentes (<18 años edad) son insuficientes para establecer recomendaciones de dosis. Por consiguiente, no se recomienda el uso de linezolid en este grupo de edad hasta que se disponga de más datos. **Ancianos:** No se requiere ajuste de dosis. **Pacientes con insuficiencia renal:** No se requiere ajuste de dosis (ver Advertencias y precauciones especiales de empleo). **Pacientes con insuficiencia renal grave (es decir, $CL_{cr} < 30$ ml/min):** No se requiere un ajuste de dosis en estos pacientes. Ya que se desconoce la relevancia clínica que tiene la exposición de estos pacientes a concentraciones altas (hasta 10 veces) de los dos metabolitos principales de linezolid, este medicamento se utilizará con especial precaución en los pacientes con insuficiencia renal grave y se administrará únicamente si el beneficio esperado supera el posible riesgo. Dado que aproximadamente un 30% de la dosis de linezolid se elimina durante 3 horas de hemodiálisis, linezolid se administrará después de la diálisis en los pacientes que reciben dicho tratamiento. Los metabolitos principales de linezolid se eliminan en parte por la hemodiálisis, pero las concentraciones de sus metabolitos son considerablemente más elevadas tras la diálisis que las que se observan en pacientes con función renal normal o insuficiencia renal leve o moderada. Por tanto, linezolid se utilizará con especial precaución en pacientes con insuficiencia renal grave sometidos a diálisis y solamente si el beneficio esperado supera al posible riesgo. Hasta el momento, no hay experiencia en la administración de linezolid con pacientes en diálisis peritoneal ambulatoria continua (DPAC) o tratamientos alternativos para la insuficiencia renal (diferentes de la hemodiálisis). **Pacientes con insuficiencia hepática:** No se requiere ajustar la dosis. Sin embargo, debido a que la experiencia clínica en estos pacientes es limitada, se recomienda utilizar linezolid solamente si el beneficio esperado supera el posible riesgo (ver Advertencias y precauciones especiales de empleo). **Forma de administración:** La dosis recomendada de linezolid se debe administrar por vía intravenosa u oral dos veces al día. **Vía de administración oral:** Los comprimidos recubiertos con película pueden tomarse con o sin alimentos. La suspensión oral puede tomarse con o sin alimentos. 30 ml de suspensión reconstituída (es decir, seis cucharadas de 5 ml) corresponden a una dosis de 600 mg. **Vía de administración intravenosa:** La solución para perfusión se debe administrar durante un período de 30 a 120 minutos.

| Infecciones | Dosis | Duración del tratamiento |
|--|-----------------------|--------------------------|
| Neumonía nosocomial Neumonía adquirida en la comunidad Infecciones complicadas de piel y tejidos blandos | 600 mg 2 veces al día | 10-14 días consecutivos |

Contraindicaciones: Hipersensibilidad a linezolid o a alguno de los excipientes (Lista de excipientes). Linezolid no debe usarse en pacientes que estén tomando medicamentos que inhiban las monoamino oxidasas A o B (p.ej. fenelzina, isocarboxazida, selegilina, moclobemida) ni durante las dos semanas siguientes a la toma de dicha medicación. A menos que se disponga de los medios necesarios para realizar un estrecho control y monitorización de la tensión arterial, linezolid no se administrará a pacientes con las siguientes condiciones clínicas basales o que estén en tratamiento con los siguientes medicamentos: - Pacientes con hipertensión no controlada, feocromocitoma, síndrome carinoide, tioroxicosis, trastorno bipolar, alteraciones psicoefectivas, estado confusional agudo. - Pacientes que tomen cualquiera de estos medicamentos: inhibidores de la recaptación de serotonina, antidepressivos tricíclicos, agonistas del receptor 5-HT₂, de serotonina (triptanos), simpaticomiméticos de acción directa o indirecta (incluyendo broncodilatadores adrenérgicos, pseudoefedrina y fenilpropanolamina), vasopresores (p.ej. epinefrina, norepinefrina), fármacos dopaminérgicos (p.ej. dopamina, dóbutamina), petidina o buspirona. Los datos de los estudios en animales sugieren que linezolid y sus metabolitos pueden pasar a la leche materna, por lo que la lactancia debe interrumpirse antes y durante la administración del tratamiento (Embarazo y lactancia). **Advertencias y precauciones especiales de empleo:** Linezolid es un inhibidor reversible y no selectivo de la monoamino oxidasa (MAO); sin embargo, no ejerce ningún efecto antidepresivo a las dosis empleadas para el tratamiento antibacteriano. Apenas se dispone de datos de estudios de interacciones farmacológicas y de seguridad de linezolid sobre el riesgo de inhibición de la MAO en pacientes que reciben linezolid y presentan patologías subyacentes y/o reciben tratamiento concomitante con fármacos que incrementan este riesgo. Por ello, no se recomienda utilizar linezolid en dichas circunstancias, a menos que sea posible una estrecha observación y monitorización del paciente (ver Contraindicaciones e Interacciones con otros medicamentos y otras formas de interacción). Debe advertirse a los pacientes que no consuman grandes cantidades de alimentos ricos en tiramina (ver Interacciones con otros medicamentos y otras formas de interacción). La suspensión oral reconstituída contiene una fuente de fenilalanina (aspartamo) equivalente a 20 mg por cada 5 ml de suspensión. Por tanto, esta formulación puede ser perjudicial para pacientes con fenilcetonuria. La suspensión contiene también sacarosa, manitol y 1,7 mg/ml de sodio. Por tanto, los pacientes con intolerancia hereditaria a la fructosa, malabsorción de glucosa-galactosa o insuficiencia de sacarosa-isomaltasa, no deben tomar este medicamento. La suspensión oral contiene manitol, lo que puede tener un ligero efecto laxante. La suspensión oral contiene 8,5 mg de sodio por cada 5 ml, lo que debe ser tenido en cuenta en pacientes con dietas pobres en sodio. Se han notificado casos de mielosupresión (incluyendo anemia, leucopenia, trombocitopenia y pancitopenia) en pacientes tratados con linezolid. En los pacientes en los que se realizó seguimiento, se ha visto que los parámetros hematológicos se normalizan cuando se interrumpe el tratamiento. El riesgo de estos efectos parece asociarse con la duración del tratamiento. La trombocitopenia puede presentarse con más frecuencia en pacientes con insuficiencia renal grave, sometidos o no a diálisis. Por lo tanto, se recomienda realizar un estrecho control del hemograma en pacientes con: anemia previa, granulocitopenia o trombocitopenia; que reciban medicación concomitante que pueda disminuir los niveles de hemoglobina y el recuento de hematíes o afecte de forma adversa el recuento o la función plaquetaria; que presenten insuficiencia renal grave; o que reciban más de 10-14 días de tratamiento. Linezolid debe administrarse únicamente a aquellos pacientes en los que se pueda realizar un estrecho control de los niveles de hemoglobina, recuento sanguíneo y de plaquetas. Si durante el tratamiento con linezolid se produce mielosupresión grave debe interrumpirse el tratamiento, a menos que la continuación del mismo se considere absolutamente necesaria, en cuyo caso, se realizará un seguimiento exhaustivo de los parámetros hematológicos y se deben implantar las medidas terapéuticas apropiadas. Se recomienda además, un hemograma completo semanal (incluyendo hemoglobina, plaquetas, recuento leucocitario absoluto y fórmula) a los pacientes que reciban linezolid, independientemente de su hemograma basal. En estudios de uso compasivo, se notificó una mayor incidencia de anemia grave en pacientes que estaban siendo tratados con linezolid durante períodos de tiempo superiores a la duración máxima de tratamiento recomendada de 28 días. Estos pacientes requirieron con mayor frecuencia transfusión sanguínea. También se han notificado durante la experiencia post-comercialización casos de anemia que requirieron transfusión sanguínea, siendo mayor el número de casos en los pacientes que recibieron linezolid durante más de 28 días. Se han notificado casos de acidosis láctica con el uso de linezolid. Los pacientes que desarrollen signos o síntomas de acidosis metabólica (incluyendo náuseas o vómitos recurrentes, dolor abdominal, nivel bajo de bicarbonato o hiperventilación mientras están siendo tratados con linezolid deben recibir atención médica inmediata. En un estudio abierto en pacientes graves con infecciones vasculares relacionadas con catéter se observó un exceso de mortalidad en los pacientes tratados con linezolid frente a aquellos tratados con vancomicina/dicloxacilina/oxacilina [78/363 (21,5%) frente a 58/363 (16,0%)]. El principal factor que influyó en la tasa de mortalidad fue el estatus basal de infección por grampositivos. Las tasas de mortalidad fueron similares en los pacientes con infecciones causadas exclusivamente por microorganismos grampositivos (odds ratio 0,96; IC 95%: 0,58-1,59), pero fue significativamente superior ($p = 0,0162$) en el brazo de linezolid para los pacientes infectados con cualquier otro microorganismo o en los que no se aisló ningún microorganismo basal (odds ratio 2,48; IC 95%: 1,38-4,46). El mayor desequilibrio ocurrió durante el tratamiento y dentro de los 7 días siguientes a la interrupción del fármaco en estudio. En el brazo de linezolid, hubo más pacientes que adquirieron infecciones por microorganismos gramnegativos durante el estudio y que fallecieron por infecciones causadas por microorganismo gramnegativos y por infecciones polimicrobianas. Por lo tanto, linezolid sólo debe ser usado en pacientes con infecciones complicadas de piel y tejidos blandos en los que se sospeche o se tenga la certeza que tienen una co-infección por microorganismos gramnegativos si no hay otros tratamientos alternativos disponibles (ver Indicaciones terapéuticas). En estas circunstancias, debe iniciarse tratamiento concomitante frente a microorganismos gramnegativos. Los ensayos clínicos controlados no incluyeron pacientes con lesiones de pie diabético, úlceras de decubito, lesiones isquémicas, quemaduras graves o gangrena. Por consiguiente, se posee una experiencia limitada de la utilización de linezolid en el tratamiento de estas patologías. Linezolid se debe usar con especial precaución en pacientes con insuficiencia renal grave, únicamente si el beneficio esperado se considera superior al posible riesgo (ver Posología y forma de administración). Se recomienda que linezolid se administre a pacientes con insuficiencia hepática grave sólo si se considera que el beneficio esperado supera el posible riesgo (ver Posología y forma de administración). Se han notificado casos de colitis pseudomembranosa con casi todos los antibacterianos, incluyendo linezolid. Por tanto, es importante tener en cuenta este diagnóstico en pacientes que presenten diarrea tras la administración de cualquier antibacteriano. Si se sospecha o confirma una colitis asociada al antibiótico, puede estar justificado interrumpir el linezolid y se deben tomar las medidas oportunas. No se han evaluado en ensayos clínicos los efectos del tratamiento con linezolid sobre la flora normal. Ocasionalmente, el uso de antibióticos puede producir el sobrecrecimiento de microorganismos no sensibles. Aproximadamente el 3% de los pacientes que recibieron linezolid a las dosis recomendadas durante los ensayos clínicos, presentan candidiasis asociada al tratamiento. En casos de sobreinfección durante el tratamiento, se deben tomar las medidas adecuadas. No se ha establecido la seguridad ni la eficacia de linezolid cuando se administra más de 28 días. Se han notificado casos de neuropatía óptica y periférica, que en ocasiones progresa hasta la pérdida de la visión en pacientes tratados con Zyvoxid; estos casos han ocurrido fundamentalmente en pacientes tratados durante períodos superiores a la duración máxima recomendada de 28 días. Se debe advertir a todos los pacientes que comuniquen síntomas de alteración visual, tales como cambios en la agudeza visual, cambios en la visión de los colores, visión borrosa o defectos en el campo visual. En tales casos, se recomienda evaluar la función visual lo antes posible y debe consultarse al oftalmólogo si fuera necesario. La función visual debe ser monitorizada regularmente, en cualquier paciente tratado con Zyvoxid por un período superior a los 28 días recomendados. La continuación del tratamiento con Zyvoxid en pacientes que han sufrido neuropatía óptica o periférica, debe ser valorada frente a los posibles riesgos. Se han notificado casos de convulsiones en pacientes tratados con Zyvoxid. En la mayoría de estos casos, se notificó un historial previo de convulsiones o de factores de riesgo para las mismas. Se debe aconsejar a los pacientes que informen a su médico si tienen antecedentes de convulsiones. En los estudios realizados en ratas adultas macho con niveles de exposición a linezolid similares a los esperados en humanos, se observó una disminución reversible de la fertilidad y una morfología espermática anómala. Se desconocen los posibles efectos de linezolid sobre el sistema reproductor masculino humano. **Interacción con otros medicamentos y otras formas de interacción:** Linezolid es un inhibidor reversible no selectivo de la monoamino oxidasa (MAO). Los datos de los estudios de interacción farmacológica y de seguridad de linezolid administrado a pacientes sometidos a tratamientos concomitantes con riesgo de inhibición de la MAO son muy limitados. Por lo tanto, no se recomienda utilizar linezolid en estas circunstancias, a menos que se realice una estrecha observación y control del paciente (ver Contraindicaciones). Linezolid aumentó el efecto hipertensivo producido por la pseudoefedrina y el hidrocloreto de fenilpropanolamina en voluntarios sanos normotensos. La administración simultánea de linezolid con pseudoefedrina o hidrocloreto de fenilpropanolamina produjo incrementos medios de la tensión arterial sistólica del orden de 30-40 mmHg, comparados con los 11-15 mmHg que produce linezolid solo, los 14-18 mmHg que produce la pseudoefedrina o la fenilpropanolamina solas y los 8-11 mmHg que produce el placebo. No se han realizado estudios similares en pacientes hipertensos. Se recomienda que si se administra linezolid con fármacos con efectos vasopresores (incluyendo agentes dopaminérgicos), se titulen las dosis de éstos cuidadosamente hasta alcanzar la respuesta deseada. En voluntarios sanos, se estudió el potencial de interacción farmacológica de linezolid con dextrometorfano. Se administraron dos dosis de 20 mg de dextrometorfano con una diferencia de 4 horas, con o sin linezolid. En los sujetos sanos que recibieron linezolid y dextrometorfano no se observaron efectos del síndrome serotoninérgico (confusión, delirio, inquietud, temblor, rubor, diaforesis, hiperreflexia). Durante la experiencia postcomercialización: se ha notificado el caso de un paciente que experimentaba síntomas similares a los del síndrome serotoninérgico, durante la toma de linezolid y dextrometorfano, que se resolvieron con la interrupción de ambos tratamientos. Se han comunicado muy raramente casos de síndrome serotoninérgico, durante el uso clínico conjunto de linezolid con inhibidores de la recaptación de la serotonina, (ver Contraindicaciones y Reacciones adversas). No se observó una respuesta presora significativa en los sujetos que

recibieron linezolid y menos de 100 mg de tiramina. Esto sugiere que sólo es necesario evitar la ingesta de cantidades excesivas de alimentos o bebidas de alto contenido en tiramina (p.ej. queso curado, extractos de levadura, bebidas alcohólicas no destiladas y productos de soja fermentada como salsa de soja). Linezolid no es metabolizado de forma detectable por el sistema enzimático del citocromo P450 (CYP) ni inhibe ninguna de las isoforras humanas de CYP clínicamente significativas (1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1 y 3A4). De forma similar, linezolid no induce las isoenzimas P450 en ratas. Por tanto, no se esperan interacciones farmacológicas inducidas por CYP450 con linezolid. La administración simultánea de warfarina y linezolid (en estado estacionario), produjo una reducción del 10% del INR (International Normalized Ratio) máximo medio y una disminución del 5% del AUC del INR. Los datos procedentes de pacientes que han recibido warfarina y linezolid son insuficientes para evaluar la relevancia clínica, si existe, de estos hallazgos. **Embarazo y lactancia:** No se dispone de datos suficientes sobre el uso de linezolid en mujeres embarazadas. Los estudios en animales han mostrado toxicidad reproductiva. Existe un riesgo potencial en humanos. Linezolid no debe utilizarse durante el embarazo, a menos que sea claramente necesario. Es decir, solamente si el beneficio potencial supera al posible riesgo. Los datos de animales sugieren que linezolid y sus metabolitos pueden pasar a la leche materna por lo que la lactancia debe interrumpirse antes y durante todo el tratamiento. **Efectos sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas:** Se debe advertir a los pacientes que pueden presentar mareos mientras reciben linezolid, y se les debe aconsejar no conducir ni utilizar maquinaria en estos casos. **Reacciones adversas:** La información presentada se basa en los datos obtenidos de los ensayos clínicos en los que más de 2.000 pacientes adultos recibieron las dosis recomendadas de linezolid hasta un máximo de 28 días. Aproximadamente un 22% de pacientes experimentó reacciones adversas; las notificadas con mayor frecuencia fueron diarrea (4,2%), náuseas (3,3%), cefalea (2,1%) y candidiasis [principalmente oral (0,8%) y vaginal (1,1%), ver tabla a continuación]. Las reacciones adversas relacionadas con el fármaco notificadas con más frecuencia y que obligaron a interrumpir el tratamiento fueron cefalea, diarrea, náuseas y vómitos. Alrededor de un 3% de pacientes dejaron el tratamiento por presentar una reacción adversa relacionada con el fármaco. Las siguientes reacciones adversas a linezolid fueron consideradas graves en casos aislados: dolor abdominal localizado, accidentes isquémicos transitorios, hipertensión, pancreatitis e insuficiencia renal. Durante los ensayos clínicos, se notificó un único caso de arritmia (taquicardia) relacionado con el fármaco. En ensayos clínicos controlados en los que se administró linezolid durante periodos de hasta 28 días de tratamiento se notificó anemia en menos del 0,1% de los pacientes. En un programa de uso compasivo de pacientes con infecciones que supongan una amenaza para la vida y con co-morbilidades subyacentes, el porcentaje de pacientes que desarrollaron anemia cuando recibieron linezolid \leq 28 días fue del 2,5% (33/1.326) comparado con el 12,3% (53/430) cuando fueron tratados durante $>$ 28 días. La proporción de casos notificados de anemia grave relacionados con la medicación y que requirieron transfusión sanguínea fue del 9% (3/33) en pacientes tratados \leq 28 días y del 15% (8/53) en aquellos tratados durante más de 28 días. **Experiencia post-comercialización:** *Trastornos de la sangre y del sistema linfático:* Anemia, leucopenia, neutropenia, trombocitopenia, pancitopenia, y mielosupresión (ver sección 4.4). Entre los casos de anemia notificados, hubo más pacientes que requirieron transfusión sanguínea cuando fueron tratados con linezolid durante periodos de tiempo superiores a la duración máxima de tratamiento recomendada de 28 días (ver Advertencias y precauciones especiales de empleo). *Trastornos del sistema inmunológico:* Anafilaxia. *Trastornos del metabolismo y de la nutrición:* Acidosis láctica (ver Advertencias y precauciones especiales de empleo). *Trastornos del sistema nervioso:* neuropatía periférica, convulsiones, síndrome serotoninérgico. Se han notificado casos de neuropatía periférica en pacientes tratados con Zyvoxid. Estos casos han ocurrido principalmente en pacientes tratados durante periodos de tiempo que superan la duración máxima recomendada de 28 días (ver Advertencias y precauciones especiales de empleo). Se han notificado casos de convulsiones en pacientes tratados con Zyvoxid. En la mayoría de estos casos se ha confirmado un historial previo de convulsiones o de factores de riesgo para las mismas (ver Advertencias y precauciones especiales de empleo). Se han notificado casos de síndrome serotoninérgico (ver Contraindicaciones e Interacciones con otros medicamentos y otras formas de interacción). *Trastornos oculares:* neuropatía óptica: Se han notificado casos de neuropatía óptica, que en ocasiones evoluciona hasta la pérdida de la visión, en pacientes tratados con Zyvoxid; estos casos se han desarrollado principalmente en pacientes tratados durante periodos de tiempo que superan la duración máxima de tratamiento recomendada de 28 días (ver Advertencias y precauciones especiales de empleo). *Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo:* Angioedema, se han recibido notificaciones de trastornos cutáneos, como los descritos en el síndrome de Stevens Johnson. **Sobredosis:** No se conoce un antídoto específico. No se han notificado casos de sobredosis. Sin embargo, la siguiente información puede ser útil: Se aconsejan instaurar medidas de soporte junto con el mantenimiento del filtrado glomerular. Aproximadamente el 30% de la dosis de linezolid se elimina durante 3 horas de hemodiálisis, pero no se dispone de datos de eliminación de linezolid por diálisis peritoneal o hemoperfusión. Los dos metabolitos principales de linezolid también se eliminan en cierto grado por la hemodiálisis. Los signos de toxicidad en ratas, tras la administración de 3.000 mg/Kg/día de linezolid, fueron disminución de la actividad y ataxia, mientras que los perros tratados con 2.000 mg/Kg/día presentaron vómitos y temblores. **DATOS FARMACÉUTICOS: Lista de excipientes:** Núcleo de los comprimidos: Celulosa microcristalina (E460), Almidón de maíz, Almidón de patata tipo A, Hidroxipropilcelulosa (E463), Estearato de magnesio (E572). *Recubrimiento del comprimido:* Hipromelosa (E464), Dióxido de titanio (E171), Macrogol 400, Cera carnuba (E903), Tinta roja, Óxido de hierro rojo (E172). *Granulado para suspensión oral:* Sacarosa, Manitol (E421), Celulosa microcristalina (E460), Carboximetilcelulosa sódica (E551), Aspartamo (E951), Silice coloidal anhidra (E551), Citrato de sodio (E331), Goma de xantán (E415), Benzoato de sodio (E211), Ácido cítrico anhidrido (E330), Cloruro de sodio, Edulcorantes (fructosa, maltodextrina, glicirrizinato monomacónico, sorbitol), Naranja, crema de naranja, aromas de menta y vainilla (acetato, alfa tocoferoles acetilado, aldehído anisico, beta-cariofileno, ácido n-butírico, butil butiril lactato, decalactona, alfa, dimetil bencil carboacetato, etil alcohol, etil butirato, etil maltol, etil vainillina, furanool, terpenos de uva, heliotropina, maltodextrina, almidón alimentario modificado, monometil succinato, aldehído de naranja, aceite de naranja FLA CP, aceite de naranja 2X Valencia, aceite de naranja 5X Valencia, aceite de esencia de naranja, carbonilos de zumo de naranja, terpenos de naranja, aceite esencial de menta, propilenglicol, aceite de mandarina, extracto de vainilla, vainillina, agua). *Solución para perfusión:* Glucosa monohidrato, Citrato de sodio (E331), Ácido cítrico anhidrido (E330), Ácido clorhídrico (E507), Hidróxido de sodio (E524), Agua para preparaciones inyectables. **Incompatibilidades:** Comprimidos y granulado para suspensión oral: No procede. *Solución para perfusión:* No deben añadirse aditivos en esta solución. Si linezolid se administra con otros fármacos simultáneamente, cada uno debe administrarse por separado de acuerdo con sus instrucciones de uso. De forma similar, si se utiliza la misma vía intravenosa para la perfusión intravenosa secuencial de varios fármacos, ésta debe lavarse antes y después de la administración de linezolid con una solución compatible (ver Instrucciones de uso y manipulación). Se sabe que Zyvoxid solución para perfusión físicamente no es compatible con los siguientes compuestos: amfetocina B, hidrocloruo de clorpromacina, diazepam, isotonato de pentamidina, lactobionato de eritromicina, fenitoína sódica y sulfametoxazol/trimetoprim. Además, químicamente no es compatible con ceftriaxona sódica. **Periodo de validez:** Zyvoxid 600 mg comprimidos recubiertos con película: 3 años. Zyvoxid 100 mg/ml granulado para suspensión oral: Antes de reconstituir: 2 años; Tras reconstituir: 3 semanas. *Solución para perfusión:* Antes de la apertura: 3 años. Tras la apertura: Desde un punto de vista microbiológico, a menos que el método de apertura excluya el riesgo de contaminación bacteriana, el producto debe utilizarse inmediatamente, de no ser así los tiempos y condiciones de conservación serán responsabilidad del usuario. **Precauciones especiales de conservación:** Comprimidos recubiertos con película: No requiere condiciones especiales de conservación. *Granulado para suspensión oral:* Antes de reconstituir: Mantener el frasco bien cerrado. Tras reconstituir: Mantener el frasco en el cartón externo. *Solución para perfusión:* Almacenar en su envase original (embalaje y cartón) hasta su utilización. **Naturaleza y contenido del envase:** Comprimidos recubiertos con película: Frasco de HDPE blanco con tapón de rosca de polipropileno conteniendo 10*, 14*, 20*, 24, 30, 50 ó 60 comprimidos. Frasco de HDPE blanco con tapón de rosca de polipropileno conteniendo 100 comprimidos (Sólo para uso hospitalario). *Nota:* Los frascos anteriores también pueden suministrarse en envases hospitalarios de * 5 ó 10. *Blisters de cloruro de polivinilo (PVC)/aluminio de 10 comprimidos envasados en caja.* Cada caja contiene 10*, 20*, 30, 50 ó 60 comprimidos. *Blisters de cloruro de polivinilo (PVC)/aluminio de 10 comprimidos envasados en caja.* Cada caja contiene 100 comprimidos (Sólo para uso hospitalario). *Nota:* Los frascos anteriores también pueden suministrarse en envases hospitalarios de: * 5 ó 10. *Granulado para suspensión oral:* Frascos ámbar de cristal tipo III con un volumen nominal de 240 ml conteniendo 66 g de granulado para suspensión oral. Cada frasco lleva un tapón de rosca de seguridad para niños de polipropileno y se envasa en una cuchara de medición de 2.5 / 5 ml. *Nota:* Los frascos anteriores también pueden suministrarse en envases hospitalarios de: * 5 ó 10. *Solución para perfusión:* Bolsas de perfusión intravenosa de uso único, listas para usar, sin látex, multicapa (capa interna: copolímero de etileno propileno y copolímero de estireno/etileno butileno/estireno; capa media: copolímero de estireno/etileno butileno/estireno; capa externa: copoliéster) selladas, con una cubierta externa de aluminio laminado. La bolsa contiene 300 ml de solución y se presenta en una caja. Cada caja contiene 1*, 2**, 5, 10, 20 ó 25 bolsas de perfusión intravenosa. *Nota:* Las cajas anteriores también pueden suministrarse en envases hospitalarios de: * 5, 10 ó 20 y * 3, 6 ó 10. Puede que solamente estén comercializados algunos tamaños de envase. **Instrucciones de uso y manipulación:** Comprimidos recubiertos con película: Ninguna especial. *Granulado para suspensión oral:* Despegar el granulado y reconstituir utilizando 123 ml de agua en dos alícuotas aproximadamente iguales para obtener 150 ml de suspensión oral. La suspensión debe agitarse vigorosamente entre cada adición de agua. Antes de usar, invertir suavemente el frasco varias veces. No agitar. *Solución para perfusión:* Sólo para un único uso. Retirar el envoltorio externo solamente en el momento de su uso, comprobando si existen fugas menores apretando firmemente la bolsa. En caso

| Reacciones adversas del fármaco con frecuencia \geq 0,1% | |
|--|---|
| Infecciones e infestaciones | |
| Frecuentes: Candidiasis (especialmente candidiasis oral y vaginal) o infección fúngica. Poco frecuentes: Vaginitis. | |
| Trastornos de la sangre y del sistema linfático | |
| Poco frecuentes: (frecuencia notificada por el personal sanitario) Eosinofilia, leucopenia, neutropenia, trombocitopenia. | |
| Trastornos psiquiátricos | |
| Poco frecuentes: Insomnio. | |
| Trastornos del sistema nervioso | |
| Frecuentes: Cefalea, percepción errónea del sabor (sabor metálico). Poco frecuentes: Mareos, hipoestesia, parestesia. | |
| Trastornos oculares | |
| Poco frecuentes: Visión borrosa. | |
| Trastornos del oído y del laberinto | |
| Poco frecuentes: Acúfenos. | |
| Trastornos vasculares | |
| Poco frecuentes: Hipertensión, flebitis / tromboflebitis. | |
| Trastornos gastrointestinales | |
| Frecuentes: Diarrea, náuseas, vómitos. Poco frecuentes: Dolor abdominal localizado o generalizado, estreñimiento, boca seca, dispepsia, gastritis, glositis, heces blandas, pancreatitis, estomatitis, trastornos o cambio de color de la lengua. | |
| Trastornos hepatobiliares | |
| Frecuentes: Pruebas de función hepática anormales. | |
| Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo | |
| Poco frecuentes: Dermatitis, diaforesis, prurito, erupción, urticaria. | |
| Trastornos renales y urinarios | |
| Poco frecuentes: Poliuria. | |
| Trastornos del aparato reproductor y de la mama | |
| Poco frecuentes: Trastornos vulvovaginales. | |
| Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración | |
| Poco frecuentes: Escalofríos, fatiga, fiebre, dolor en la zona de inyección, sed aumentada, dolor localizado. | |
| Exploraciones complementarias | |
| Bioquímica | |
| Frecuentes: | Aumento de AST, ALT, LDH, fosfatasa alcalina, BUN, creatinina, lipasa, amilasa o glucemia no basal. Disminución de proteínas totales, albúmina, sodio o calcio. Aumento o disminución de potasio o bicarbonato. |
| Poco frecuentes: | Aumento de bilirrubina total, creatinina, sodio o calcio. Disminución de la glucemia no basal. Aumento o disminución de cloruro. |
| Hematología | |
| Frecuentes: | Neutrofilia o eosinofilia. Disminución de hemoglobina, hematocrito o recuento de hematies. Aumento o disminución del recuento de plaquetas o leucocitos. |
| Poco frecuentes: | Aumento del recuento de reticulocitos. Neutropenia. |
| Frecuente \geq 1/100 y $<$ 1/10 ó \geq 1% y $<$ 10% | Poco frecuente \geq 1/1.000 y $<$ 1/100 ó \geq 0,1% y $<$ 1% |

de fugas, no debe utilizarse porque puede haber perdido la esterilidad. La solución se inspeccionará visualmente antes de su uso y sólo deben utilizarse las soluciones transparentes y libres de partículas. No utilizar estas bolsas en conexiones seriadas. Desechar toda la solución sobrante. No volver a utilizar bolsas usadas. Zyvoxid solución para perfusión es compatible con las soluciones siguientes: glucosa al 5% para perfusión intravenosa, cloruro sódico al 0,9% para perfusión intravenosa, solución Ringer lactato para inyección (solución de Hartmann). **TITULAR DE LA AUTORIZACIÓN DE COMERCIALIZACIÓN:** Pfizer, S.A. Avda. de Europa 20 B, Parque Empresarial La Moraleja. 28108 Alcobendas, Madrid, España. **NÚMERO DE AUTORIZACIÓN DE COMERCIALIZACIÓN:** Zyvoxid 2 mg/ml Solución para perfusión. Nº de autorización de comercialización: 64.106; Zyvoxid 100 mg/ml Granulado para suspensión oral. : 64.107.a ; 64.108, Zyvoxid 600 mg Comprimidos recubiertos con película. : 64.109. **FECHA DE LA PRIMERA AUTORIZACIÓN/RENOVACIÓN DE LA AUTORIZACIÓN:** 20 de julio de 2001. **FECHA DE LA REVISIÓN DEL TEXTO:** Julio de 2007. **PRESENTACIONES Y PVP (IVA):** Zyvoxid 2 mg/ml Solución para perfusión intravenosa x 10 bolsas: 667,76 €. Zyvoxid 600 mg Comprimidos con cubierta pelicular x 10 comprimidos: 667,76 €. Zyvoxid 100 mg/ml Granulado para suspensión oral x 150 ml: 357,76 €. **CONDICIONES DE DISPENSACIÓN.** Con receta médica. Uso Hospitalario. *Consulte la ficha técnica completa antes de prescribir.* *Para información adicional, por favor, contacte con el Centro de Información Médico-Farmacéutica de Pfizer en www.pfizer.es o llamando al 900 354 321.* **BIBLIOGRAFÍA:** 1. Vardakas KZ et al. Association of pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects of linezolid with infection outcome. *Curr Drug Metab.* 2009 Jan;10(1):2-12. 2. Plosker GL et al. Linezolid: a pharmacoeconomic review of its use in serious Gram-positive infections. *Pharmacoeconomics.* 2005;23(9):945-64.

REVISTA ESPAÑOLA DE Quimioterapia

Revista Española de Quimioterapia tiene un carácter multidisciplinar y está dirigida a todos aquellos profesionales involucrados en la epidemiología, diagnóstico, clínica y tratamiento de las enfermedades infecciosas

Fundada en 1988 por la Sociedad Española de Quimioterapia

Indexada en Science Citation Index Expanded (SCI), Index Medicus (MEDLINE), Excerpta Medica/EMBASE, Índice Médico Español (IME), Índice Bibliográfico en Ciencias de la Salud (IBECS)

Secretaría técnica
Dpto. de Microbiología
Facultad de Medicina
Avda. Complutense, s/n
28040 Madrid
revista@seq.es
Disponible en Internet:
www.seq.es

© Copyright 2014
Sociedad Española de Quimioterapia

Reservados todos los derechos. Queda rigurosamente prohibida, sin la autorización escrita del editor, la reproducción parcial o total de esta publicación por cualquier medio o procedimiento, comprendidos la reprografía y el tratamiento informático, y la distribución de ejemplares mediante alquiler o préstamo públicos, bajo las sanciones establecidas por la ley



Sociedad Española de Quimioterapia

Publicidad y Suscripciones
Sociedad Española de Quimioterapia
Dpto. de Microbiología
Facultad de Medicina
Avda. Complutense, s/n
28040 Madrid

Atención al cliente
Teléfono 91 394 15 12
Correo electrónico
info@seq.es

Consulte nuestra página web
www.seq.es

Publicación que cumple los requisitos de soporte válido

ISSN
0214-3429

e-ISSN
1988-9518

Depósito Legal
M-32320-2012

Maquetación
acom

Impresión
España

Esta publicación se imprime en papel no ácido.
This publication is printed in acid free paper.

LOPD
Informamos a los lectores que, según la Ley 15/1999 de 13 de diciembre, sus datos personales forman parte de la base de datos de la Sociedad Española de Quimioterapia (si es usted socio)

Si desea realizar cualquier rectificación o cancelación de los mismos, deberá enviar una solicitud por escrito bien a la Sociedad Española de Quimioterapia

REVISTA ESPAÑOLA DE Quimioterapia

Director
J. Barberán López

Secretario de Redacción
Luis Alou Cervera

Comité Editorial

F. Álvarez Lerma (Barcelona)
F. Baquero Mochales (Madrid)
E. Bouza Santiago (Madrid)
J. A. García Rodríguez (Salamanca)
M. Gobernado Serrano (Valencia)

J. Mensa Pueyo (Barcelona)
J. J. Picazo de la Garza (Madrid)
J. Prieto Prieto (Madrid)
B. Regueiro García (Santiago de Compostela)
A. Torres Martí (Barcelona)

Consejo Editorial

G. Acuña (Chile)
J. M. Aguado (Madrid)
L. Aguilar (Madrid)
J. I. Alós (Madrid)
J. R. Azanza (Pamplona)
J. Aragón (Las Palmas de Gran Canaria)
A. Artero (Valencia)
J. Campos (Madrid)
F.J. Candel (Madrid)
E. Cantón (Valencia)
R. Cantón (Madrid)
J. A. Capdevila Morell (Barcelona)
E. Carreras (Barcelona)
M. Casal (Córdoba)
J. Castillo (Zaragoza)
J. J. Castón (Ciudad Real)
R. Cisterna (Bilbao)
J. Cobo Reinoso (Madrid)
J. Cordero (Madrid)
P. Courvalin (Francia)
J. L. del Pozo (Navarra)
R. De la Cámara (Madrid)
J. De la Torre (Córdoba)
A. Delgado (Bilbao)
A. Domínguez-Gil Hurlé (Salamanca)
J. Eiros (Valladolid)

M. C. Fariñas Álvarez (Santander)
C. Fariñas (Santander)
S. M. Finegold (Estados Unidos)
J. Fortún (Madrid)
X. Garau (Barcelona)
E. García Sánchez (Salamanca)
I. García García (Salamanca)
J. García Rodríguez (Madrid)
J. E. García Sánchez (Salamanca)
E. García Vázquez (Murcia)
H. Giamarellou (Grecia)
A. C. Gómez García (Badajoz)
J. Gómez Gómez (Murcia)
M. L. Gómez-Lus (Madrid)
J. González del Castillo (Madrid)
F. González Romo (Madrid)
E. Gotuzzo (Perú)
J. J. Granizo (Madrid)
S. Grau (Barcelona)
J. Guinea (Madrid)
X. Guirao (Barcelona)
N. Gutierrez Zufiaurre (Salamanca)
J. Hernández Quero (Granada)
J. P. Horcajada Gallego (Barcelona)
B. Isidoro (Madrid)
R. Isturiz (Venezuela)
J. Kosmidis (Grecia)
H. Lecour (Portugal)
J. Liñares (Barcelona)

J. E. Losa García (Madrid)
J. R. Maestre Vera (Madrid)
A. M. Martín Sánchez (Las Palmas)
I. Martínez Gil (Madrid)
L. Martínez Martínez (Santander)
E. Maseda (Madrid)
T. Mazzei (Italia)
M. A. Menéndez (Madrid)
R. Menéndez (Valencia)
P. Merino (Madrid)
R. Meyer (Estados Unidos)
P. Muñoz (Madrid)
J. L. Muñoz Bellido (Salamanca)
A. Navarro (Madrid)
V. Navarro (Alicante)
R. Negroni (Argentina)
C. E. Nord (Suecia)
A. Novelli (Italia)
V. Olmo (Las Palmas)
A. Orero (Madrid)
R. Ortiz de Lejarazu (Valladolid)
J. A. Oteo (Logroño)
E. Palencia Herrejón (Madrid)
J. Parra (Granada)
A. Pascual Hernández (Sevilla)
J. Pasquau (Sevilla)
J. Pemán (Valencia)
C. Pérez Giraldo (Badajoz)
J. L. Pérez-Arellano (Las Palmas)

B. Pérez-Gorricho (Madrid)
A. Ramos (Madrid)
C. Ramírez Ronda (Estados Unidos)
J. Reina (Palma de Mallorca)
M. A. Ripoll (Ávila)
J. Sabbaj (Guatemala)
M. Sabriá (Barcelona)
M. Salavert (Valencia)
B. Sánchez Artola (Madrid)
J. I. Santos (México)
M. A. Sanz (Valencia)
M. Segovia (Murcia)
R. Serrano (Madrid)
P. M. Shah (Alemania)
D. Sevillano (Madrid)
A. Soriano (Barcelona)
A. Tomasz (Estados Unidos)
J. R. Toral Revuelta (Madrid)
J. Tuells (Alicante)
C. Vallejo (Oviedo)
K. Ueno (Japón)
J. Vila (Barcelona)
J. Yuste (Madrid)

Sumario



REVISTA ESPAÑOLA DE Quimioterapia

Volumen 28
Número 5
Octubre 2015

| | |
|---------------------------|---|
| Revisión | La enfermedad de Noma/cancrum oris: una enfermedad olvidada 225 María García-Moro, Enrique García-Merino, Ángel Martín-del-Rey, Enrique García Sánchez, José Elías García Sánchez |
| Originales | Monoterapia con inhibidores de la proteasa potenciados en pacientes infectados por el VIH: resultados de un estudio en la "vida real" 235 Nicolás Di Benedetto, Marta Montero, Marino Blanes, José Lacruz, Sandra Cuellar, Eva Calabuig, José López, Miguel Salavert |
| | La espectrometría de masas en la identificación de patógenos respiratorios bacterianos: un método rápido y eficaz 242 M ^a Fátima López-Fabal, José Luis Gómez-Garcés, José Luis López-Hontangas, Nuria Sanz, Carmen Muñoz, Marta Regodón |
| | Un procedimiento de dos horas para determinar la sensibilidad de estafilococos y enterococos a los antibióticos en dos horas mediante un método colorimétrico 247 Gabriel Alberto March-Rosselló, María Purificación Gutiérrez-Rodríguez, María Simarro-Grande, Antonio Orduña-Domingo, Miguel Ángel Bratos-Pérez |
| | Bacteriemias por enterobacterias productoras de beta-lactamasas (BLEE, AmpC y carbapenemasas): asociación con los cuidados sanitarios y los pacientes oncológicos 256 Miriam García-Gómez, Laura Guío, José Luis Hernández, Begoña Vilar, José Ignacio Pijoán, José Miguel Montejo |
| | Evaluación de la resistencia antibiótica de <i>Escherichia coli</i> en infecciones urinarias adquiridas en la comunidad del Sector Sanitario de Barbastro (Huesca) 263 Ana Betrán, Ana M ^a Cortés, Concepción López |
| Cartas al Director | Pseudoaneurisma micótico carotídeo. Presentación de un caso clínico y revisión de la literatura 267 Maday Cabrero, Antonio Martín-Conejero, Francisco Javier Candel, Isaac Martínez, Sergio Revuelta, Manuela Hernández, Pablo Marqués, Francisco Javier Serrano-Hernando |
| | Bacteriemia por <i>Staphylococcus aureus</i> de origen respiratorio y mortalidad 271 José M Eiros, Ana Carrero, Susana Hernando, Pablo Carrero |
| | Sepsis por <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> 273 Ana Betrán, Roberto Aznar Concepción López, Javier González |

Contents



REVISTA ESPAÑOLA DE Quimioterapia

Volume 28
Number 5
October 2015

| | |
|------------------------------|--|
| Review | Noma/Cancrum oris: a neglected disease 225 María García-Moro, Enrique García-Merino, Ángel Martín-del-Rey, Enrique García Sánchez, José Elías García Sánchez |
| Originals | Boosted protease inhibitor monotherapy in HIV-infected patients: results of a study in a real life setting 235 Nicolás Di Benedetto, Marta Montero, Marino Blanes, José Lacruz, Sandra Cuellar, Eva Calabuig, José López, Miguel Salavert |
| | Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identifying respiratory bacterial pathogens: a fast and efficient method 242 M ^a Fátima López-Fabal, José Luis Gómez-Garcés, José Luis López-Hontangas, Nuria Sanz, Carmen Muñoz, Marta Regodón |
| | A two-hour procedure for determining the susceptibility of enterococci and staphylococci to antibiotics by a colourimetric method 247 Gabriel Alberto March-Rosselló, María Purificación Gutiérrez-Rodríguez, María Simarro-Grande, Antonio Orduña-Domingo, Miguel Ángel Bratos-Pérez |
| | Bacteraemia due to extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) and other beta-lactamases (ampC and carbapenemase) producing <i>Enterobacteriaceae</i>: association with health-care and cancer 256 Miriam García-Gómez, Laura Guío, José Luis Hernández, Begoña Vilar, José Ignacio Pijoán, José Miguel Montejo |
| | Evaluation of antibiotic resistance of <i>Escherichia coli</i> in urinary tract infections in Primary Care Barbastro Sector (Huesca) 263 Ana Betrán, Ana M ^a Cortés, Concepción López |
| Letters to the editor | Carotid mycotic pseudoaneurysm. Case report and review 267 Mabay Cabrero, Antonio Martín-Conejero, Francisco Javier Candel, Isaac Martínez, Sergio Revuelta, Manuela Hernández, Pablo Marqués, Francisco Javier Serrano-Hernando |
| | Bacteraemia by <i>Staphylococcus aureus</i> from respiratory origin and mortality 271 José M Eiros, Ana Carrero, Susana Hernando, Pablo Carrero |
| | <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> septicemia. Case report 273 Ana Betrán, Roberto Aznar Concepción López, Javier González |

Este medicamento está sujeto a seguimiento adicional, es prioritaria la notificación de sospechas de reacciones adversas asociadas a este medicamento.

DIFICLIR™

Trate la infección por *C. difficile*...



... y libere a su paciente de un mayor riesgo de recurrencias* 1

* Análisis conjunto de los estudios de Fase III, 003 y 004, por ITTm. La tasa de recurrencia para DIFICLIR™ fue significativamente menor comparada con vancomicina (14,14% vs. 26,02% respectivamente; $p < 0,001$).

1. DIFICLIR™ EMA Public Assessment Report 2011.

 **astellas**
Leading Light for Life

Este medicamento está sujeto a seguimiento adicional, lo que agilizará la detección de nueva información sobre su seguridad. Se invita a los profesionales sanitarios a notificar las sospechas de reacciones adversas. Ver la sección 4.8, en la que se incluye información sobre cómo notificarlas.



1. NOMBRE DEL MEDICAMENTO

DIFICLIR 200 mg comprimidos recubiertos con película

2. COMPOSICIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA

Cada comprimido contiene 200 mg de fidaxomicina.

Para consultar la lista completa de excipientes, ver sección 5.1.

3. FORMA FARMACÉUTICA

Comprimido recubierto con película. Comprimidos con forma de cápsula, de color blanco a blanquecino, con "FDX" grabado en un lado y "200" en el otro lado.

4. DATOS CLÍNICOS

4.1 Indicaciones terapéuticas

DIFICLIR está indicado en adultos para el tratamiento de infecciones por *Clostridium difficile* (ICD), también conocidas como diarreas asociadas a *C. difficile* (DACD).

Deben tenerse en cuenta las recomendaciones oficiales sobre el uso de agentes antibacterianos.

4.2 Posología y forma de administración

Posología

Adultos y pacientes de edad avanzada (≥ 65 años de edad)

La dosis recomendada es 200 mg (un comprimido), administrado dos veces al día (una vez cada 12 horas) durante 10 días.

Población pediátrica

No se ha establecido todavía la seguridad y eficacia de fidaxomicina en niños menores de 18 años. No se dispone de datos.

Insuficiencia renal

No se considera necesario realizar ajustes de dosis. Debido a que los datos clínicos son limitados para esta población, DIFICLIR se debe utilizar con precaución en pacientes con insuficiencia renal grave (ver sección 4.4).

Insuficiencia hepática

No se considera necesario realizar ajustes de dosis. Debido a que los datos clínicos son limitados para esta población, DIFICLIR se debe utilizar con precaución en pacientes con insuficiencia hepática de moderada a grave (ver sección 4.4).

Forma de administración

DIFICLIR es para administración por vía oral. DIFICLIR puede tomarse con o sin alimentos.

4.3 Contraindicaciones

Hipersensibilidad al principio activo o a alguno de los excipientes incluidos en la sección 5.1.

4.4 Advertencias y precauciones especiales de empleo

Se han notificado reacciones de hipersensibilidad incluyendo angioedema grave. Si durante el tratamiento con Dificlir tiene lugar una reacción alérgica grave, se debe interrumpir el tratamiento con el medicamento y adoptar las medidas adecuadas.

Algunos pacientes con reacciones de hipersensibilidad notificaron antecedentes de alergia a macrólidos. Fidaxomicina se debe usar con precaución en pacientes con alergia conocida a macrólidos.

Debido a los datos clínicos limitados, fidaxomicina se debe utilizar con precaución en pacientes con insuficiencia renal grave o con insuficiencia hepática de moderada a grave. Debido a los datos clínicos limitados, fidaxomicina se debe utilizar con precaución en pacientes con colitis pseudomembranosa, con ICD fulminantes o que impliquen riesgo vital. No existen datos en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal concomitante. Fidaxomicina se debe utilizar con precaución en estos pacientes debido al riesgo de una mayor absorción y al riesgo potencial de reacciones adversas sistémicas. No se recomienda la administración concomitante de inhibidores potentes de la glucoproteína P, tales como ciclosporina, ketoconazol, eritromicina, claritromicina, verapamilo, dronedarona y amiodarona (ver sección 4.5).

Descripción de la población de pacientes incluidos en ensayos clínicos

En los dos ensayos clínicos realizados en pacientes con ICD, el 47,9% (479/999) de los pacientes (población por protocolo) eran ≥ 65 años de edad y el 27,5% (275/999) de los pacientes fueron tratados con antibióticos concomitantes durante el periodo del estudio. El veinticuatro por ciento de los pacientes cumplieron al inicio al menos uno de los tres siguientes criterios de puntuación de la gravedad: temperatura corporal $> 38,5$ °C, recuento de leucocitos > 15.000 o valor de creatinina $\geq 1,5$ mg/dl. Los pacientes con colitis fulminante y los pacientes con múltiples episodios de ICD (definido como más de un episodio previo dentro de los 3 meses anteriores) fueron excluidos de los estudios.

4.5 Interacción con otros medicamentos y otras formas de interacción

Efecto de los inhibidores de la gp-P sobre fidaxomicina

Fidaxomicina es un sustrato de la gp-P. La administración concomitante de dosis únicas del inhibidor de la gp-P ciclosporina A y de DIFICLIR en voluntarios sanos provocó un aumento de la C_{max} y el AUC de fidaxomicina de 4 veces y 2 veces respectivamente, y un aumento de la C_{max} y el AUC del principal metabolito activo OP-1118 de 9,5 veces y 4 veces respectivamente. Como no está clara la relevancia clínica de este aumento de la exposición, no se recomienda la administración concomitante de inhibidores potentes de la gp-P, tales como ciclosporina, ketoconazol, eritromicina, claritromicina, verapamilo, dronedarona y amiodarona.

Efecto de fidaxomicina sobre los sustratos de la gp-P

Fidaxomicina puede ser un inhibidor de leve a moderado de la gp-P intestinal. DIFICLIR (200 mg dos veces al día) tuvo un efecto reducido pero no clínicamente relevante sobre la exposición a la digoxina. Sin embargo, no se puede descartar un efecto más amplio sobre sustratos de la gp-P con menor biodisponibilidad, más sensibles a la inhibición de la gp-P intestinal, como el etexilato de dabigatrán.

Efecto de fidaxomicina sobre otros transportadores

Fidaxomicina no tiene un efecto clínicamente significativo sobre la exposición de rosuvastatina, un sustrato de los transportadores OATP2B1 y BCRP. La administración concomitante en personas sanas de 200 mg de fidaxomicina dos veces al día, con una dosis única de 10 mg de rosuvastatina, no tuvo un efecto sobre el AUC_{inf} de rosuvastatina. La C_{max} de rosuvastatina aumentó aproximadamente un 17%, lo que indica, que no se puede excluir un aumento en la tasa de absorción.

4.6 Fertilidad, embarazo y lactancia

Embarazo

No hay datos disponibles relativos al uso de fidaxomicina en mujeres embarazadas. Los estudios en animales no sugirieron efectos perjudiciales directos ni indirectos en términos de toxicidad para la reproducción. Como medida de precaución, es preferible evitar el uso de DIFICLIR durante el embarazo.

Lactancia

Se desconoce si fidaxomicina y sus metabolitos se excretan en la leche materna. Aunque no se prevén efectos en niños/recién nacidos lactantes puesto que la exposición sistémica a fidaxomicina es baja, no se puede excluir el riesgo en recién nacidos/niños. Se debe decidir si es necesario interrumpir la lactancia o interrumpir el tratamiento con DIFICLIR tras considerar el beneficio de la lactancia para el niño y el beneficio del tratamiento para la madre.

Fertilidad

Fidaxomicina no tuvo efectos sobre la fertilidad cuando se evaluó en ratas.

4.7 Efectos sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas

La influencia de DIFICLIR sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas es nula.

4.8 Reacciones adversas

Resumen del perfil de seguridad

El perfil de seguridad de DIFICLIR se basa en los datos de 564 pacientes con ICD tratados con fidaxomicina en estudios de fase 3.

Las reacciones adversas más frecuentes relacionadas con el tratamiento fueron vómitos (1,2%), náuseas (2,7%) y estreñimiento (1,2%).

Resumen tabulado de reacciones adversas

La tabla 1 recoge las reacciones adversas asociadas a la administración de fidaxomicina dos veces al día en el tratamiento de la infección por *C. difficile*, notificadas en al menos dos pacientes, presentadas según el sistema de clasificación por órganos. La frecuencia de las reacciones adversas se define de la siguiente forma: muy frecuentes ($\geq 1/10$); frecuentes ($\geq 1/100$ a $< 1/10$); poco frecuentes ($\geq 1/1.000$ a $< 1/100$); raras ($\geq 1/10.000$ a $< 1/1.000$); muy raras ($< 1/10.000$), frecuencia no conocida (no puede estimarse a partir de los datos disponibles). Las reacciones adversas se enumeran por orden decreciente de gravedad dentro de cada intervalo de frecuencia.

Tabla 1: Resumen de las reacciones adversas según la clasificación de órganos del sistema MedDRA

| Clasificación de órganos del sistema MedDRA | Frecuentes | Poco frecuentes | Frecuencia no conocida |
|--|---------------------------------|--|--|
| Trastornos del sistema inmunológico | | erupción, prurito | reacciones de hipersensibilidad (angioedema, disnea) |
| Trastornos del metabolismo y de la nutrición | | disminución del apetito | |
| Trastornos del sistema nervioso | | mareo, cefalea, disgeusia | |
| Trastornos gastrointestinales | vómitos, náuseas, estreñimiento | distensión abdominal, flatulencias, sequedad de boca | |
| Trastornos hepato biliares | | aumento de la alanina aminotransferasa | |

Notificación de sospechas de reacciones adversas

Es importante notificar sospechas de reacciones adversas al medicamento tras su autorización. Ello permite una supervisión continuada de la relación beneficio/riesgo del medicamento. Se invita a los profesionales sanitarios a notificar las sospechas de reacciones adversas a través del Sistema Español de Farmacovigilancia de Medicamentos de Uso Humano: www.notificaRAM.es.

4.9 Sobredosis

No se han notificado casos de sobredosis aguda.

5. DATOS FARMACÉUTICOS

5.1 Lista de excipientes

Núcleo de los comprimidos:

Celulosa microcristalina, almidón pregelatinizado, hidroxipropil celulosa, butil hidroxitolueno, glicolato sódico de almidón, estearato de magnesio.

Recubrimiento:

Alcohol polivinílico, dióxido de titanio, talco, polietilenglicol, lecitina (de soja).

5.2 Incompatibilidades

No procede.

5.3 Periodo de validez

3 años.

5.4 Precauciones especiales de conservación

No requiere condiciones especiales de conservación.

5.5 Naturaleza y contenido del envase

Fascos de HDPE de 30 ml cerrados mediante sellado por inducción, con tapón de polipropileno a prueba de niños; 20 comprimidos recubiertos con película por frasco.

Fascos de HDPE de 60 ml cerrados mediante sellado por inducción, con tapón de polipropileno a prueba de niños; 60 comprimidos recubiertos con película por frasco.

Blisters alu/alu unidosis precortados de 100x1 comprimido recubierto con película (10 comprimidos recubiertos con película por lámina blíster; 10 láminas blíster por envase).

Blisters alu/alu unidosis precortados de 20x1 comprimido recubierto con película (10 comprimidos recubiertos con película por lámina blíster; 2 láminas blíster por envase).

Puede que solamente estén comercializados algunos tamaños de envases.

5.6 Precauciones especiales de eliminación

La eliminación del medicamento no utilizado y de todos los materiales que hayan estado en contacto con él se realizará de acuerdo con la normativa local.

6. TITULAR DE LA AUTORIZACIÓN DE COMERCIALIZACIÓN

Astellas Pharma Europe B.V. - Sylviusweg 62 - 2333 BE Leiden - Países Bajos

7. NÚMERO(S) DE AUTORIZACIÓN DE COMERCIALIZACIÓN

EU/1/11/733/001-004

8. FECHA DE LA PRIMERA AUTORIZACIÓN/RENOVACIÓN DE LA AUTORIZACIÓN

05/12/2011

9. FECHA DE LA REVISIÓN DEL TEXTO

06/2014

10. PRESENTACIONES Y PRECIO

Difclir 200 mg comprimidos recubiertos con película, 20 comprimidos (blísters unidosis precortados). PVL: 1.500 €. PVP: 1.555,91 €. PVP IVA: 1.618,15 €. Medicamento sujeto a prescripción médica. Dispensación hospitalaria sin cupón precinto. Financiado por el Sistema Nacional de Salud. Para más información consulte la ficha técnica completa. La información detallada de este medicamento está disponible en la página web de la Agencia Europea de Medicamentos <http://www.ema.europa.eu/>.

Revisión

María García-Moro¹
Enrique García-Merino²
Ángel Martín-del-Rey³
Enrique García-Sánchez^{4,5,6}
José Elías García-Sánchez^{4,5,6}

La enfermedad de Noma/cancrum oris: una enfermedad olvidada

¹Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca.

²IES Politécnico. Soria.

³Departamento de Matemática Aplicada. Instituto de Física Fundamental y Matemáticas. Universidad de Salamanca.

⁴Departamento de Ciencias Biomédicas y del Diagnóstico. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca.

⁵Instituto Universitario de Ciencias de la Educación (IUCE). Universidad de Salamanca.

⁶Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL).

RESUMEN

La enfermedad de Noma es una patología gangrenosa agresiva orofacial que daña a tejidos duros y blandos de la boca y de la cara.

A lo largo de los siglos ha estado presente en todo el planeta, aunque en la actualidad ha desaparecido prácticamente de los países desarrollados, afectando casi siempre a niños de los lugares más desfavorecidos, especialmente en el continente africano.

Es un proceso multifactorial en el que intervienen factores como la malnutrición, las enfermedades debilitantes (infecciones sistémicas bacterianas o víricas, inmunodepresión asociada al VIH, etc.) y las infecciones intraorales.

La necrosis tisular característica la origina una infección polimicrobiana. Algunas de las especies que se han aislado de las zonas afectadas son: *Fusobacterium necrophorum*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides fragilis*, *Bacillus cereus*, *Trueperella pyogenes*, *espiroquetas*, etc.

Sin tratamiento es letal en poco tiempo, y los pacientes que sobreviven presentan graves secuelas que dificultan su vida y sus relaciones interpersonales.

El objetivo de esta revisión es unificar la información existente y promover un mayor conocimiento y concienciación de la población.

Palabras clave: Enfermedad de Noma, cancrum oris, estomatitis gangrenosa

Noma/Cancrum oris: a neglected disease

ABSTRACT

Noma is an aggressive orofacial gangrenous pathology that damages hard and soft tissues of the mouth and the face.

Throughout the centuries it has been present around the globe, but nowadays it has practically disappeared from developed countries and mainly affects children from the most disadvantaged places, especially in Africa.

Noma disease is a multifactorial process; malnutrition, debilitating diseases (bacterial or viral systemic diseases, HIV-associated immunosuppression, etc.) and intraoral infections are some of the factors implied.

The characteristic tissue necrosis is produced by a polymicrobial infection. *Fusobacterium necrophorum*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides fragilis*, *Bacillus cereus*, *Trueperella pyogenes*, *spirochetes*, etc. are some of the species that have been isolated from the affected areas.

Without treatment, noma is lethal in a short period of time, and the patients that survive show severe sequelae that hinder their life and interpersonal relationships.

The aim of this paper is to unify the existing information and to promote wider knowledge and awareness among the population.

Keywords: Noma, cancrum oris, gangrenous stomatitis

Correspondencia:
María García Moro
Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca.
E-mail: mgarciam@usal.es

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Noma, también conocida como *cancrum oris* o estomatitis gangrenosa es una patología gangrenosa agresiva orofacial que daña a tejidos duros y blandos de la boca y la cara, dejando en la mayoría de los casos severas secuelas a los supervivientes que les impiden llevar una vida normal y que afecta principalmente a los niños¹⁻³.

Su origen es incierto se cree que está causada por una combinación de factores como la malnutrición, las enfermedades debilitantes (infecciones sistémicas bacterianas o víricas, inmunodepresión asociada al VIH, etc.) y las infecciones intraorales⁴⁻⁹. Es un proceso no recurrente¹⁰ y no transmisible¹¹. Sin tratamiento es letal en poco tiempo, y los pacientes que sobreviven presentan graves secuelas que dificultan su vida y sus relaciones interpersonales¹²⁻¹⁴.

A lo largo de los siglos ha estado presente en todo el planeta, en la actualidad ha desaparecido prácticamente de los países desarrollados, afectando casi siempre a niños de los lugares más desfavorecidos, especialmente en el continente africano¹²⁻¹⁶. Está clasificada por la Organización Mundial de la Salud con el código A69.0 (Other spirochaetal infections)¹⁷.

Es, sin lugar a dudas, una enfermedad olvidada cuya causa continúa sin esclarecerse. La patogenia del Noma es compleja y multifactorial, algunos investigadores y organizaciones han trabajado para tratar de darla a conocer y así poder ponerle freno. El contexto económico, social y educativo en los países que más la sufren y la falta de interés por parte de la salud pública dificultan que la situación mejore^{15,18}. El Noma se puede considerar como un indicador biológico de múltiples violaciones de los derechos humanos, incluido el derecho a la alimentación³.

El objetivo de esta revisión es colaborar a unificar la información existente sobre el Noma y promover un mayor conocimiento y concienciación internacional y nacional en los países afectados.

HISTORIA

"Noma" es la forma latina del término griego "νομη", traducido como "devorar" (*nomein*), utilizado en la antigüedad para referirse a los pastos o, de forma metafórica, para designar un proceso que se expande con rapidez^{12,13,19}.

En la literatura antigua pueden encontrarse diversas referencias a esta palabra. El historiador griego Polibio (siglo II d.C.) escribía: "la herida se hizo un *noma*", refiriéndose a una herida que se hacía cada vez mayor. En el Nuevo Testamento (Segunda Carta a Timoteo 2, 17) puede leerse la frase "Y su palabra se propagará como gangrena". Hipócrates, Celso y Galeno utilizaron el vocablo *noma* para referirse a enfermedades de rápida progresión, aunque no se hacía referencia expresa a una gangrena facial¹⁹.

En 1351, el cirujano flamenco Jan Yperman mencionaba, en el capítulo de enfermedades orales de su obra *Cyurgie*, el término "water canker"¹³.

Sin embargo, no fue hasta 1595 cuándo Carolus Battus describió por primera vez, de forma clínica, el mal de Noma en su *Handboeck der Chirurgien*, indicando el carácter rápido y progresivo de este tipo de úlcera; recomendando a los médicos a no ser negligentes en su tratamiento^{13,19}.

A partir del año 1600, la enfermedad fue apareciendo de manera más habitual en escritos de autores europeos. El británico Arnoldus Boot (médico y estudioso de lenguas clásicas) utilizó por primera vez el término "*cancrum oris*" en su libro *Observationes medicae de affectibus omissis*. Cornelis van de Voorde, un cirujano holandés, aplicó en 1680, como sinónimo de "devorar", la palabra "noma" de modo específico a las úlceras en los tejidos blandos y húmedos de los niños, especialmente en la boca. Esto puede leerse en su libro *Nieuw Lichtende Fakkelt der Chirurgie of Hedendaagze Heel-Konst*, en el cual se oponía al uso de "water canker" o "mouth canker" ya que el proceso era diametralmente diferente a uno canceroso^{12,13,19}.

En 1794 el inglés J.A. Symmonds observó que el sarampión precedía en muchas ocasiones a este tipo de lesiones, cuestión que sería confirmada por otros autores en los siglos posteriores. Un año después, Gabriel Lund, presentó en la Academia Real de las Ciencias de Suecia, un análisis de once pacientes afectados con Noma. Sólo uno de ellos sobrevivió, y Lund distinguió cuatro estadios en el curso de la enfermedad, además de comprobar que todos ellos eran niños (de entre 1 y 10 años) procedentes de lugares pobres y con marcada malnutrición. A pesar de que hasta finales del siglo XVIII la mayoría de autores sólo proponían como tratamiento medidas higiénicas y farmacológicas, en el año 1781 Leendert Stelwagen suturó con éxito una lesión atribuible a la enfermedad utilizando la misma técnica de cierre que para el labio leporino^{12,13}.

A partir de 1800 se produjeron importantes avances médicos y sociales. En varias publicaciones científicas se reflejó el interés por el contexto en que vivían los enfermos de Noma²⁰. Adolph Richter, en el año 1828, elaboró algo sin precedentes: una revisión de la enfermedad de Noma a lo largo de todos los siglos previos, titulada *Der Wasserkrebs der Kinder*, que sería el único libro acerca del tema hasta la fecha y en los 173 años posteriores. En 1848, el francés J. Tourdes concretó la definición de noma, que aún se utiliza en la actualidad: "*una enfermedad gangrenosa que afecta a la boca y la cara de los niños que viven en condiciones pobres de higiene y que sufren enfermedades debilitantes, especialmente fiebre eruptiva, comenzando con una úlcera en la mucosa oral que rápidamente se extiende hacia afuera y destruye los tejidos blandos y duros de la cara. Casi siempre es fatal*"²¹. En el periodo entre 1854 y 1859, se elaboraron en Amsterdam las primeras tablas de mortalidad¹³. El holandés Von Eichstorff Talma aprovechó este hecho para realizar un listado de sinónimos para denominar la enfermedad en su tesis académica *Over ulcus*²². La presencia de tantos términos para denominar una sola patología pone de manifiesto que el *cancrum oris* podía verse de forma común en Europa y Estados Unidos. La cirugía también experimentó, sobre todo en Alemania, un gran desarrollo, describiéndose en el país diversos tratamientos quirúrgicos extensivos. En 1872, el finlandés J. A. Estlander utilizó su propio método de re-

Tabla 1 Mortalidad por *cancrum oris* en el siglo XIX en Europa (modificado de Tempest¹²).

| Autor | Año | Nº total de casos | Muertes | % Mortalidad |
|-------------------|------|-------------------|---------|--------------|
| Tourdes | 1848 | 239 | 176 | 73 |
| Barthez y Rilliet | 1855 | 29 | 26 | 89 |
| Bruns | 1859 | 413 | 290 | 70 |
| Springer | 1904 | 88 | 83 | 94 |

Tabla 2 Mortalidad por *cancrum oris* en el siglo XX en casos no tratados (modificado de Tempest¹²).

| Autor | Año | País | % Mortalidad |
|-------------------------|------|-----------------|--------------|
| Fu-Tang-Chu y Chuan-Fan | 1936 | China | 56 |
| Osler | 1938 | Revisión | 75 |
| Stansky y Peache | 1941 | Filipinas | 88 |
| Stones, Farmer y Lawton | 1954 | Revisión | 80 |
| Durand | 1959 | Revisión EE.UU. | 75 |

construcción labial en dos pacientes con secuelas por Noma¹³. Después del año 1880, la enfermedad fue desapareciendo gradualmente de Europa y Norteamérica, debido al descenso de las condiciones de pobreza e inanición incluso entre los colectivos más desfavorecidos, resultante de una mejora general en el nivel de nutrición, educación y atención sanitaria¹³.

Los descubrimientos de Pasteur y Koch tuvieron un gran impacto en la ciencia, y sentaron las bases para el desarrollo de la microbiología y la microbiología médica, respectivamente. Numerosos investigadores, siguiendo los postulados de este último, trataron de descubrir un teórico agente "bacillus nomae" desde principios de siglo. Fue M.J. Stewart (Inglaterra) quien, en 1912, concluyó que la enfermedad era una infección oportunista originada por la microbiota normal de la boca. Estudios posteriores identificaron a los microorganismos causales como *Borrelia vincenti* y *Fusiformis fusiformis*, desapareciendo más tarde la identidad del primero y reclasificándose el segundo como *Fusobacterium nucleatum*¹³.

Durante la I Guerra Mundial hubo un gran desarrollo de la cirugía facial por parte de profesionales plásticos como Harold Gillies y Jan Esser. La devastación dejada por la Gran Guerra, con sus consecuentes infecciones y epidemias, movió a muchos científicos a investigar tratamientos. En el campo de la quimioterapia antiinfecciosa se desarrollaron el prontosil (1939, Gerhard Domagk) y la penicilina (1945, Fleming, Florey y Chain)¹³.

La efectividad de las terapias antimicrobianas frente a *cancrum oris* se puso de manifiesto durante e inmediatamente después de la II Guerra Mundial. En los campos de concentración alemanes de Bergen-Belsen (Adelsberger, 1945) y Auschwitz (Dawson, 1945) aparecieron enfermos por noma que

murieron como consecuencia de la severa malnutrición que presentaban^{14,16}.

Michael Tempest, considerado el padre fundador de la cirugía facial reconstructiva en pacientes con Noma, realizó una revisión sobre la enfermedad, que incluía una recopilación de datos de distintos autores sobre la mortalidad que causó en los siglos XIX y XX, concretamente hasta 1966, fecha de publicación de su escrito *Cancrum oris* (tablas 1, 2 y 3). La tabla 3 pone de manifiesto la gran importancia que tuvo el desarrollo de la antibioterapia en el descenso de la mortalidad¹².

En las últimas tres décadas del siglo XX, la atención hacia esta patología fue decreciendo, y prácticamente ningún científico contribuyó a seguir avanzando en las investigaciones. Hubo, sin embargo, algunas excepciones como la de Cyril Enwonwu, un nigeriano que, conociendo el problema que suponía la enfermedad para su país, se implicó en diversas investigaciones sobre el Noma desde diversos puntos de vista, llegando a publicar en las revistas más prestigiosas²³⁻²⁸.

La tabla 4 muestra la mortalidad, según distintos autores, en pacientes de algunos países africanos que recibieron tratamiento antibiótico. Comprende datos entre 1950 y 1996, y de nuevo se vuelve a resaltar el gran avance marcado por el descubrimiento de los antimicrobianos¹⁰.

NOMA EN LA ACTUALIDAD

En la actualidad, la enfermedad ha desaparecido prácticamente del mundo desarrollado, salvo algunos casos comunicados a finales del siglo XX en pacientes con SIDA/VIH y terapia inmunosupresora o en otros con Síndrome de Inmunodeficiencia Combinada Severa. Sin embargo, en los lugares más pobres del mundo (especialmente en África) sigue siendo un grave y olvidado problema de salud, sobre todo infantil^{8,22,29,30-32}.

La enfermedad de Noma fue designada como cuestión prioritaria por la OMS en 1994, después de varios brotes preocupantes descritos por organizaciones no gubernamentales que trabajaban en África. Aquel año se inició una campaña global contra la enfermedad (International Network Against Noma) y un programa de acción piloto resultante de la unión entre el Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos y la Universidad de Maryland³³⁻³⁵.

En el continente africano la enfermedad tiene un gran impacto social por la elevada mortalidad en niños y las secuelas que produce. La incidencia varía según las distintas zonas, siendo mayoritaria en países subsaharianos como Niger, Nigeria, Senegal o Burkina Faso. Toda esta zona, conocida como "el cinturón de noma", se caracteriza por sus condiciones áridas y calurosas, una población eminentemente pobre y continuos periodos de hambruna. A pesar de ello, la salud pública de es-

Tabla 3 Efecto del tratamiento farmacológico en la mortalidad por cancrum oris (modificado de Tempest¹²).

| Autor | Año | País | Reducción de mortalidad (%) | Tratamiento |
|----------------------|----------|------------|-----------------------------|---------------------------|
| Eckstein | 1940 | Turquía | 80-90 → 8 | Penicilina, sulfonamida |
| Tupas y Jongco | 1946 | Filipinas | 70-100 → 6-7 | Penicilina |
| Struthers | 1947 | China | 75 → 5-10 | Penicilina, sulfonamida |
| Reynaud | 1950 | Afganistán | 80 → 48 | Penicilina |
| Boulnois y Rabedaoro | 1950 | Madagascar | 75-80 → 25 | Penicilina, ác. ascórbico |
| Phan-Dinh-Tuan | 1960- 62 | Vietnam | 80 → 12 | Penicilina |

Tabla 4 Mortalidad por noma agudo en África con tratamiento antibiótico en la segunda mitad del siglo XX (modificado de Baratti-Mayer¹⁰).

| Autor | Años | País | Casos | % Mortalidad | Tratamiento |
|----------------------|---------|------------|-------|--------------|----------------------------|
| Boulnois y Rabedaoro | 1950 | Madagascar | 73 | 0 | Penicilina, ác. ascórbico |
| Jelliffe | 1949-51 | Nigeria | 53 | 30 | Penicilina |
| Tempest | 1962-65 | Nigeria | 250 | 8 | Antibióticos, sulfonamidas |
| Adekeye y Ord | 1978-82 | Nigeria | 13 | 0 | Antibióticos |
| Bourgeois et al. | 1981-93 | Senegal | 73 | 10 | Sin especificar |
| Oginni et al. | 1982-96 | Nigeria | 133 | 0 | Sin especificar |

tas naciones sigue sin prestar suficiente atención al problema debido a que el tipo de población en el que se presenta está considerado una lacra para la sociedad³⁶⁻⁴⁷.

Sin embargo, aunque el mayor número de casos se presenta por estos lugares, también afecta ocasionalmente a países de otros continentes⁴⁸⁻⁵³.

A pesar de conocerse los países donde está presente, la magnitud de esta patología y su tendencia epidemiológica son difíciles de determinar. La falta de datos estadísticos imposibilita establecer unos valores claros en cuanto a incidencia y prevalencia.

En 1997, Barmes et al. estimaron, tras investigaciones realizadas en África, que la incidencia anual de noma era de 140.000 niños (1-7 casos por cada 1000 niños, más de 12 por cada 1000 en las comunidades más afectadas). De éstos, en torno a un 80% morían por la enfermedad o complicaciones asociadas a la misma. La prevalencia en 1997 fue de 770.000 personas. La tasa de mortalidad sin tratamiento farmacológico se cree que está en torno al 90%¹⁵.

Fieger et al. realizaron un estudio similar en 2003, estableciendo que en el noreste de Nigeria 6.4 de cada 1000 niños enfermaban anualmente. Extrapolando estos resultados, se estimó una incidencia de 25600 casos para los países próximos al desierto del Sahara^{29,44}.

Todos estos resultados de prevalencia, incidencia y mortalidad son, en realidad, una mera aproximación, debido a que se calcula que sólo un 10% de los pacientes reciben atención mé-

dica durante la fase aguda de la enfermedad. La dificultad de obtener un conjunto de datos reales radica en diversos problemas que impiden descubrir, en muchas ocasiones, nuevos casos de noma, como son: el inadecuado manejo de los registros sanitarios en muchos países, los errores en el diagnóstico temprano de la patología, la rápida evolución de la enfermedad, por la que muchas veces los pacientes mueren antes de poder ser atendidos y registrados, la tendencia de los familiares a no recurrir a la atención médica hasta que las úlceras están demasiado avanzadas, las costumbres nómadas de muchos pueblos, que dificulta el registro de la población, el hábitat remoto en que algunos viven, que impide el acceso a la atención médica o la exclusión social de los pacientes³⁶⁻⁴⁴.

Éste último punto, la marginación que sufren los afectados por parte de sus comunidades, hace complicado detectar un gran número de casos, evitar el empeoramiento o la muerte y mejorar la reinserción de los individuos curados. Normalmente tienden a ser apartados de su vida cotidiana, siendo escondidos o aislados con los animales. Se debe, muchas veces, a que la aparición de las gangrenas se considera un signo demoníaco o una maldición para la familia. Por tanto, los niños conviven con la enfermedad y sus secuelas en un medio hostil y con poca esperanza de ser integrados en la colectividad^{3,13}.

Actualmente, algunas organizaciones no gubernamentales e instituciones científicas de Europa y los Estados Unidos promueven iniciativas para dar a conocer la enfermedad, poder contribuir a la sensibilización social y a la mejora de las vidas de los que la padecen. Su labor, además de poner en marcha programas de prevención, tratamiento, educación e incluso acogida temporal de niños en otros países, es tratar de transferir a los pacientes a hospitales bien equipados o hacer posibles las intervenciones quirúrgicas necesarias en hospitales locales. Algunas de estas asociaciones son: Fundación Campaner (www.fundacioncampaner.com), Stop Noma for Children (www.stopnoma.org), Gesnoma (www.gesnoma.org), Sentinelles (www.sentinelles.org), NoNoma (www.nonoma.org)^{54,55}.

ETIOLOGÍA Y FACTORES DE RIESGO

A pesar de que a día de hoy la etiología real sigue siendo un misterio, existen numerosos factores determinantes fácil-

mente observables en un afectado por noma^{56,57}. Como origen, queda descartada una necrosis de origen arterial puesto que no existe relación anatómica entre el tipo de lesión observada y la topografía vascular. Las microtrombosis capilares podrían tener un papel, pero más bien secundario a la infección^{4,26}.

Microbiología de la enfermedad de noma. En estos momentos se sabe que los factores de riesgo son la pobreza, la desnutrición, la falta de higiene oral, la proximidad residencial a ambientes insalubres y la convivencia con ganado, y las enfermedades infecciosas, en particular el sarampión y las debidas a la familia *Herpesviridae*. Por otra parte es evidente que las infecciones y la desnutrición deterioran el sistema inmunológico. Todos estos factores están en torno al desarrollo del Noma^{10,58}.

La cavidad oral está habitada por una gran cantidad de bacterias comensales. Esto, sumado a la dificultad de realizar cultivos en el laboratorio y a la imposibilidad de reproducir la enfermedad, en condiciones controladas, en animales de experimentación, supone limitaciones importantes a la hora de determinar si realmente existe una etiología primaria microbiológica^{59,60}.

Se piensa que la necrosis tisular característica la origina una infección polimicrobiana debido a su forma de presentación y al particular hedor que desprenden las lesiones. Algunas de las especies que se han aislado de las zonas afectadas son: *Fusobacterium necrophorum*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides fragilis*, *Bacillus cereus*, *Trueperella pyogenes*, espiroquetas, etc.^{10,20,27,61,62}.

Falkler et al. (1999) determinaron que las bacterias anaerobias eran las más frecuentemente aisladas, siendo *Prevotella intermedia* el microorganismo predominante en los niños desnutridos comparados con los niños sanos. Los estudios de la microflora en los lugares con lesiones activas de Noma, *Fusobacterium necrophorum* fue el más frecuente seguido de *Prevotella intermedia*, estreptococos alfa hemolíticos y *Actinomyces* spp. También se aislaron *Peptostreptococcus micros*, *Veillonella parvula*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas* spp.^{24,61}.

Los microorganismos son mayoritariamente anaerobios, formando la mayoría de ellos parte de la microbiota oral normal. Pero también se han encontrado en las gangrenas bacterias típicas del suelo, de origen animal que podrían contribuir en gran medida a la infección. Sin embargo, teniendo en cuenta que habitualmente las muestras se han obtenido de lesiones en fase avanzada y que muchas de estas bacterias están presentes en bocas de individuos sanos, no se podrían tomar como el principal agente causal de la patología sino como representación de una sobreinfección. Por lo tanto, aunque no cabe duda de su importante papel en el desarrollo, la presencia de bacterias por sí misma no es suficiente para que el Noma se produzca^{10,20,27,63}.

Huyghe et al en 2013 publicaron la presencia de las especies comúnmente recuperadas en las infecciones purulentas, y fueron identificadas como una microbiota que normalmente

coloniza las lesiones orales ulceradas. Estos datos corroboran que el Noma tiene las características de una infección oportunista, donde se aprecian modificaciones en el equilibrio entre bacterias debido a alteraciones de las defensas del huésped. Estos cambios microbianos son cuantitativos y no sólo cualitativos. Por tanto no es posible hablar de una infección bacteriana clásica sino de un proceso oportunista²⁰.

Nayak et al, en 2013, describen un caso de Noma neonatorum en el que se aísla *P. aeruginosa* sensible a ofloxacino, ciprofloxacino, amikacina y clindamicina y resistente a gentamicina⁶⁴.

El empleo de técnicas moleculares de diagnóstico microbiológico ayudará a conocer la etiología microbiológica de la enfermedad de Noma^{38,20,63,65}.

Factores socioeconómicos. La enfermedad de Noma no ha sido descrita en niños sanos ni de clases sociales acomodadas, por lo que se deduce que la pobreza es un importantísimo factor de riesgo. De ella derivan muchos otros aspectos que alteran la salud y contribuyen al desarrollo de la patología. El más importante es la malnutrición^{4,9,26,66}.

Ya en las primeras descripciones de *cancrum oris* se consideraba a los déficits alimentarios elementos muy nocivos para la enfermedad. La falta de aportación proteica a la dieta y los déficits de vitamina A y otros micronutrientes como el zinc y el ácido ascórbico son particularmente importantes ya que afectan al sistema inmune general y local y tienen consecuencias directas sobre los tejidos periodontales y la flora bucal⁶⁷. Además, en los países en que la enfermedad es más prevalente, no suele existir una alimentación equilibrada ya que los alimentos que ingieren los niños son de baja calidad, poco variados, se preparan en condiciones de antihigiénicas, etc. A todo esto hay que añadir que la lactancia tampoco se realiza de una forma adecuada, ya que durante los dos primeros años se alimenta a los niños con leche materna para después interrumpirla bruscamente y pasar a una dieta sólida^{22,23,30,68}.

Otro aspecto a tener en cuenta es que la mayoría de los casos descritos en África ocurren en la estación seca, cuando la comida escasea y el sarampión alcanza sus máximas cotas. Este factor, y otros como la falta de medios sanitarios y educativos, el difícil acceso a fuentes de agua salubre, la proximidad de las viviendas al ganado o un estilo de vida nómada, son predominantes en los países en que el Noma deja su mayor número de víctimas^{33,38,39,69}.

Salud oral y sistémica. Una higiene oral deficiente, que surge como consecuencia natural de la situación socioeconómica de la población, es una condición esencial que predispone a la aparición de gingivitis ulcerativa necrotizante, lesión frecuentemente precursora de noma⁷⁰.

Ciertas enfermedades infecciosas como la malaria, el sarampión o las causadas por *Herpesviridae* también ocasionan inmunosupresión y disfunciones que pueden facilitar la enfermedad. De éstas, el sarampión suele ser la patología que más frecuentemente antecede a la aparición de la enfermedad. A pesar de que existe una vacuna, su aplicación en los países en

vías de desarrollo no está extendida. Esta enfermedad exantemática que cursa con una importante inmunosupresión y provoca déficit de aprovechamiento de la energía y alteraciones de la vitamina A. Los niños con este cuadro suelen sufrir síndromes como kwashiorkor o marasmus, y lesiones ulcerativas muy destructivas que pueden progresar a noma^{12,24,70,71}.

También se ha sugerido que la infección por VIH/SIDA podría estar relacionada, ya que en las últimas décadas la prevalencia de gingivitis ulcerativa necrotizante asociada a esta patología se ha incrementado a nivel mundial^{43,72-74}.

Otros factores. Tempest, en su revisión *Cancrum Oris*¹², menciona otros factores como la edad, la etapa predominante son los niños menores de 6 años, y no suele aparecer en adultos. En la actualidad, esta afirmación sigue manteniéndose. En cuanto al sexo no se han encontrado evidencias que demuestren que un sexo se vea más afectado que otro^{12,13}. Otro factor que ha sido descrito es la acatalasemia, en 1952 se informó de 16 casos procedentes de Japón en los que todos los pacientes carecían de enzima catalasa⁴⁹. La acatalasemia o enfermedad de Takahara es una enfermedad que se caracteriza por la ausencia de la enzima catalasa en los peroxisomas que ocasiona una disminución o una menor actividad de la síntesis de la enzima catalasa, que tiene como función, entre otras, la reducción del agua oxigenada producida en el organismo como defensa contra una invasión microbiana, principalmente de anaerobios⁴⁹. Sin embargo, no ocurría lo mismo en pacientes procedentes de Nigeria, por lo que no sería un dato concluyente. También se ha invocado la incidencia estacional como un factor determinante en la aparición de la enfermedad pero el Noma aparecía en distintas estaciones en los diferentes países donde se ha estudiado, no está demostrado que tenga incidencia sobre esta patología por sí misma. Sin embargo puede existir una explicación relacionada con las estaciones y es que en algunas de ellas es muy acuciante la falta de recursos alimentarios o se incrementa la aparición de ciertas enfermedades. Estos dos hechos siguen claramente unos ritmos estacionales^{12,13}.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Por lo general, puede definirse el cuadro clínico de la siguiente manera: un agente desencadenante produce lesiones iniciales que evolucionan hacia las primeras manifestaciones de Noma, con posterior establecimiento de necrosis y, finalmente, resolución de las heridas con graves secuelas cicatriciales^{12,54}.

Las lesiones necrotizantes que produce esta enfermedad son bien conocidas, pero los estadios iniciales son difíciles de caracterizar, y las descripciones de las lesiones agudas, claras e imprecisas. Suele afectar a niños con placa dental bacteriana cuya respuesta inmune se ve debilitada por alguno de los factores mencionados anteriormente^{9,54,75}.

Existen varias teorías sobre cuál es el principal desencadenante, puesto que en la mayoría de los casos la enfermedad ya está bien establecida cuando el paciente acude a consulta.

Como se mencionado anteriormente, el sarampión (u otras enfermedades víricas) podría ser precursor de Noma al producir lesiones necróticas orales en niños malnutridos, que derivarían en cuadros más graves^{54,62,75}. Sin embargo, existe un consenso general y se piensa que la enfermedad va precedida por el desarrollo de un cuadro de gingivitis aguda necrotizante. Se trata de una gingivitis general o localizada que comienza con edema e inflamación y que deriva rápidamente a necrosis de las papilas interdentes, con sangrado espontáneo y dolor. Otras manifestaciones son mal olor o mal sabor, fiebre o hipersialorrea. El punto de inflexión para saber cuándo esta patología deriva a *cancrum oris* se establece cuando comienza la exposición ósea en la boca^{8,31,62,75,76}.

En los países desarrollados, la gingivitis aguda necrotizante no es muy frecuente (menos del 10% de las lesiones periodontales), y se presenta sobre todo en adultos jóvenes con poca higiene oral, fumadores y déficit de vitaminas. Sin embargo, en las naciones en vías de desarrollo es una enfermedad especialmente común en niños, y si no se trata de forma adecuada (la antibioterapia suele ser necesaria) es muy posible que derive en periodontitis necrotizante y posterior estomatitis necrótica con resorción ósea o incluso noma^{8,31,76}.

Fase aguda. No se conoce con exactitud su duración ni tampoco sus manifestaciones clínicas. Los pacientes suelen describir fiebre, taquicardias y apatía, pero estos datos no son lo suficientemente consistentes para establecer un diagnóstico certero. Normalmente las historias médicas de los pacientes muestran infecciones en un pasado muy reciente. El primer signo reconocible de lo que propiamente se denomina Noma es el edema en la mejilla y/o zona gingival. Se inicia cuando la estomatitis necrotizante presente en la zona premolar se complica y se extiende de forma muy rápida hacia la superficie de la mejilla y los labios, afectando a la piel facial. En los días sucesivos aparece un área grisácea en la parte externa de la mejilla. Rápidamente se vuelve necrótica, con color negro y forma cónica. Esta lesión, que incluye tanto tejido duro como blando, se desprende. El hueso queda expuesto y en muchas ocasiones la necrosis es tan profunda que la mandíbula se destruye totalmente. La sintomatología incluye manifestaciones muy similares a las de la gingivitis aguda necrotizante junto con otras más generales como debilidad, fiebre, deshidratación, anemia e inanición^{4,25,39,62,75,77}.

El cuadro deriva muy rápidamente a infecciones secundarias, y muchos niños mueren en esta fase debido a sepsis, neumonía por aspiración o de inacción por la incapacidad de alimentarse³⁹.

Secuelas. Tras la curación de la enfermedad quedan cicatrices fibrosas muy características, de mayor o menor tamaño, que producen graves desfiguraciones faciales y serios problemas bucales: maloclusiones, trismus, alteraciones dentales, incontinencia salival, defectos en la fonación y en la deglución^{78,79}. Se ha intentado clasificar las secuelas en multitud de ocasiones, pero la forma aceptada en la actualidad por la OMS es la propuesta por Montadon⁸⁰, que determina cuatro tipos de lesiones: I. Localizada en la mejilla y la comisura bucal. Es la

más común y en algunos casos se presenta de forma bilateral. II. Abarca el labio superior y, en muchos de los casos la nariz y el paladar. A veces se observa solamente la pérdida del septum nasal. III. Afecta al labio inferior, y a veces también a la mandíbula y el suelo bucal. IV El tipo más agresivo. Incluye mejillas, labios, maxilar, paladar, etc. Pudiendo incluso extenderse a la nariz y las cuencas oculares.

¿CÓMO HACER FRENTE A LA ENFERMEDAD?

Prevención. Es imprescindible llevar a cabo medidas apropiadas. Aunque el riesgo de desarrollar noma es pequeño, sus consecuencias son muy graves. Mantener una higiene bucodental adecuada y llevar una alimentación completa y equilibrada son las pautas principales para prevenir no sólo ésta, sino muchas patologías infecciosas. También es importante el evitar el contacto con animales y el tener acceso a agua de bebida potable. Sin embargo, en los países más afectados por esta enfermedad no existe la cultura ni, en la mayoría de los casos, la posibilidad económica de cumplir estas condiciones ya que la erradicación de la pobreza es desgraciadamente una utopía.

Hay que tener en cuenta que la población, e incluso los profesionales sanitarios, tienen un conocimiento muy limitado sobre el Noma. Las principales medidas que deben tomarse para evitar que los estadios iniciales empeoren son: 1. Las campañas informativas a todos los niveles: nacional, regional y local, para conseguir que los profesionales sanitarios, los familiares de los niños e incluso ellos mismos, puedan conocer cómo deben cuidar su salud y evitar este tipo de problemas; 2. Programas de salud pública con el fin de hacer registros rutinarios de niños en riesgo, poniendo en marcha tratamientos adecuados tras la detección de los síntomas 3. Entrenamiento de los profesionales sanitarios (médicos, dentistas, enfermeros) para enseñarles a reconocer las lesiones tempranas^{4,75,81}.

Diagnóstico. Es otro de los aspectos fundamentales para hacer frente a la enfermedad. Existen diversas enfermedades que deben tenerse en cuenta a la hora de realizar un diagnóstico diferencial como: Noma neonatorum (es un cuadro similar al Noma que afecta a neonatos y nacidos pretérmino), Ecthyma gangrenosum, Leishmaniasis mucocutánea, Úlcera de Buruli, Enfermedades periodontales necrotizantes asociadas a VIH, Angina aggranulocítica, sífilis, lesiones cancerosas orales, etc^{8,31,75}.

Para diagnosticar la enfermedad en sus estadios tempranos, es muy importante tener en cuenta: historia reciente de fiebre con exantema o enfermedad debilitante, úlcera oral con exposición ósea, salivación excesiva, mal aliento, debilidad y retraso en el crecimiento. El diagnóstico de un caso bien establecido no presenta dificultad debido a lo característico de las úlceras que se producen^{39,82}.

Tratamiento. Cuando la patología bucal aún no ha evolucionado a noma, debe tratarse al paciente con antibióticos y analgésicos. Es necesario que el paciente utilice enjuagues y un cepillo dental suave que eliminen el tejido necrótico superficial y la placa bacteriana, para evitar el avance de la lesión^{8,31,39}.

Los pacientes con Noma deben ser ingresados en el hospital para estabilizarlos. El abordaje terapéutico debe incluir medidas encaminadas a corregir la deshidratación y el balance electrolítico, suplementos nutricionales si es posible vía oral, en caso contrario se hará vía enteral y registro diario del peso. Así mismo, si las condiciones del enfermo lo permiten, deberán establecerse medidas higiénicas orales a base de colutorios con clorhexidina. Se instaurará un tratamiento con antimicrobianos adecuados (metronidazol, penicilina, clindamicina) y de las enfermedades de base asociadas^{81,83-86}. Además, se ha de vendar diariamente la lesión con gasas bañadas en un antiséptico. Deben evitarse intervenciones invasivas, ya que podrían empeorar el problema. Sólo se pueden retirar dientes o tejidos cuando estén sueltos y el paciente se haya estabilizado. Cuando la cicatrización comienza, se empiezan a realizar ejercicios de fisioterapia que se continuarán tras la cirugía. Es la forma de evitar una probable constricción bucal que podría dificultar la operación y la posterior normalización de la vida del enfermo⁸³⁻⁸⁵.

La cirugía no suele considerarse hasta por lo menos un año después de la curación, a no ser que las secuelas impidan la alimentación. En todo caso, nunca se procederá a ella hasta la completa cauterización de la herida. No existe un procedimiento quirúrgico estándar, ya que depende de la extensión, localización y severidad de las lesiones, de la disponibilidad de recursos técnicos y de la experiencia del equipo médico. En la obra *Cancrum oris* de Tempest (1966) se describen diferentes técnicas utilizadas en aquellos momentos para solucionar las secuelas de noma¹². Los tres daños más importantes a corregir son el Trismus, la pérdida persistente de saliva y los defectos externos mutilantes^{12,54,78-80,87,88}.

Tras la intervención, debe realizarse un seguimiento postquirúrgico durante al menos 2 años. Los resultados están, a día de hoy, a años luz de ser perfectos, pero a pesar de ello permiten al paciente mejorar la funcionalidad, la estética y facilitar su reinserción en la sociedad^{12,54,78-80,87}.

CONCLUSIONES

La enfermedad de noma, a pesar de haber estado presente en todo el mundo a lo largo del tiempo, devasta hoy fundamentalmente al África subsahariana. Al hacer un recorrido por la historia, se observa un decreciente interés hacia los enfermos por parte de la salud pública y los investigadores, considerándose un problema secundario a la hora de tomar decisiones sanitarias y económicas.

Existen muchas cuestiones sin resolver para llegar a tener un completo conocimiento de la enfermedad y poder obtener soluciones. Aumentar los conocimientos epidemiológicos, etiológicos y fisiopatológicos contribuiría a alcanzar grandes logros en la prevención, el diagnóstico y el tratamiento.

Sin embargo, el punto clave para frenar el Noma parece radicar en la mejora de las condiciones de vida de los ciudadanos más pobres mediante medidas educativas, higiénicas y alimentarias. Esto, junto con el aumento la concienciación social y la implantación de programas de vigilancia epidemiológica

supondría la tabla de salvación para uno de los colectivos olvidados. Por suerte, y aunque no sea suficiente, existen numerosas organizaciones, y algunos investigadores, que dedican sus esfuerzos a tratar de cambiar la situación.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

REFERENCIAS

- Mafart B, Thiery G, Dubosq JC. Noma: past, present and future? *Med Trop (Mars)* 2002; 62:124-5.
- Jelliffe DB. Infective gangrene of the mouth (cancrum oris). *Pediatrics* 1952; 9:544-50.
- Leila Srour M, Marck KW, Baratti-Mayer D. Noma: neglected, forgotten and a human rights issue. *Int Health* 2015 Jan 21. pii: ihv001.
- Enwonwu CO, Falkler Jr WA, Idigbe EO, Afolabi MB, Ibrahim M, Onwujekwe D, et al. Pathogenesis of cancrum oris (noma): confounding interactions of malnutrition with infection. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 60:223-32.
- Rotbart HA, Levin MJ, Jones JF, Hayward AR, Allan J, McLane MF, Essex M. Noma in children with severe combined-immunodeficiency. *J Pediatr* 1986; 109:596-600.
- Chidzonga MM. Noma (cancrum oris) in human immunodeficiency virus/acquired immune deficiency syndrome patients. *J Oral Maxillofac Surg* 1996; 54(9):1056-60.
- Nath S, Jovic G. Cancrum oris: management, incidence, and implications of human immunodeficiency virus in Zambia. *Plast Reconstr Surg* 1998; 102:350-7.
- Niekerk van C, Khammissa RAG, Altini M, Lemmer J, Feller L. Noma and cervicofacial necrotizing fasciitis: clinicopathological differentiation and an illustrative case report of noma. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2014; 30:213-6.
- Enwonwu CO, Phillips RS, Ibrahim CD, Danfillo IS. Nutrition and oral health in Africa. *Int Dent J* 2004; 54(6)(Suppl 1):344-51.
- Baratti-Mayer D, Pittet B, Montandon D, Bolivar I, Bornard JE, Hugonnet S, et al. Noma: an infectious disease of unknown aetiology. *Lancet Infect Dis* 2003;3:419-31.
- Bolivar I, Whiteson K, Stadelmann B, Baratti-Mayer D, Gizard Y, Mombelli A, et al. Bacterial diversity in oral samples of children in Niger with acute noma, acute necrotizing gingivitis, and healthy controls. *PLoS Negl Trop Dis* 2012; 6:1-11.
- Tempest MN. Cancrum oris. *Br J Surg* 1966; 53:949-69.
- Marck KW. A history of noma, the "face of poverty". *Plast Reconstr Surg* 2003; 111:1702-7.
- Adelsberg L. Medical observations in Auschwitz concentration camp. *Lancet* 1945; 1:317-20.
- Barnes DE, Enwonwu CO, Leclercq MH, Bourgeois D, Falkler WA. The need for action against orofacial gangrene (noma). *Trop Med Intern Health* 1997; 2:1111-4.
- Dawson J. Cancrum oris. *Br Dent J* 1945; 79:151-7.
- World Health Organization. Application of the International Classification of Diseases to Dentistry and Stomatology. Geneva 1995 3rd ed. 1995 Disponible en: http://extranet.who.int/iris/restricted/bitstream/10665/40919/1/9241544678_eng.pdf. Consultado el 12 de marzo de 2015.
- Baratti-Mayer D, Pittet B, Montandon D. GESNOMA (Geneva Study group on Noma): une recherche médicale de pointe à but humanitaire. *Ann Chir Plast Esthet* 2004; 49:302-5.
- Marck KW. Cancrum oris and noma: some etymological and historical remarks. *Br J Plast Surg* 2003; 56:524-7.
- Huyghe A, François P, Mombelli A, Tangomo M, Girard M, Baratti-Mayer D, et al. Microarray analysis of microbiota of gingival lesions in noma patients. *PLoS Negl Trop Dis* 2013; 7:1-11. e2453.
- Tourdes J. Du noma ou du sphacele de la bouche chez les enfants. Thesis, Strasbourg, 1848.
- Feller L, Altini M, Chandran R, Khammissa RAG, Masipa JN, Mohamed A, et al. Noma (cancrum oris) in the South African context. *J Oral Pathol Med* 2014; 43:1-6.
- Enwonwu CO. Epidemiological and biochemical studies of necrotizing ulcerative gingivitis and noma (cancrum oris) in Nigerian children. *Arch Oral Biol* 1972; 17:1357-71.
- Falkler WA Jr, Enwonwu CO, Idigbe EO. Microbiological understandings and mysteries of noma (cancrum oris). *Oral Dis* 1999; 5:150-5.
- Enwonwu CO, Falkler Jr WA, Phillips RS. Noma (cancrum oris). *Lancet*; 2006; 368: 147-56.
- Enwonwu CO, Falkler Jr WA, Idigbe EO. Oro-facial gangrene (noma/cancrum oris): pathogenetic mechanisms. *Crit Rev Oral Biol Med* 2000; 11: 159-71.
- Paster BJ, Falkler Jr WA, Enwonwu CO, Idigbe EO, Savage KO, et al. Prevalent bacterial species and novel phylotypes in advanced noma lesions. *J Clin Microbiol* 2002; 40:2187-91.
- Enwonwu CO, Falkler WA Jr, Idigbe EO, et al. Noma (cancrum oris): questions and answers. *Oral Dis* 1999; 5: 144-9.
- Lubala TK, Mutombo AM, Mukuku KO, Ilunga MP, Shongoya MP. Association noma aigu -VIH- malnutrition sévère chez l'enfant: à propos de 2 cas. *Pan Afr Med J* 2012; 13:1-7.
- Idigbe EO, Enwonwu CO, Falkler WA, Ibrahim MM, Onwujekwe D, Afolabi BM, et al. Living conditions of children at risk for noma: Nigerian experience. *Oral Dis* 1999; 5:156-62.
- Masipa JN, Baloyi AM, Khammissa RAG, Altini M, Lemmer J, Feller L. Noma (Cancrum Oris): A Report of a Case in a Young AIDS Patient with a Review of the Pathogenesis. *Head Neck Pathol* 2013; 7:188-92.
- Chidzonga MM, Mahomva L. Noma (cancrum oris) in human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome (HIV and AIDS): clinical experience in Zimbabwe. *J Oral Maxillofac Surg* 2008; 66:475-85.
- Ogbureke KU, Ogbureke EI. NOMA: a Preventable "Scourge" of African Children. *Open Dent J* 2010; 4: 201-6. Disponible en:

34. Berthold P. Noma: a forgotten disease. *Dent Clin North Am* 2003; 47:559-74.
35. World Health Organization Oral Health Programme. Noma, a little-known public health problem. World Health Organization, Geneva 1994. Disponible en: <https://extranet.who.int/iris/restricted/bitstream/10665/64082/1/WHD94.6.pdf>. Consultado el 22 de febrero de 2015.
36. Bourgeois DM, Diallo B, Friehe C, Leclercq MH. Epidemiology of the incidence of oro-facial noma: a study of cases in Dakar, Senegal, 1981-1993. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61:909-13.
37. Okolo SN, Chukwu GA, Egbuonu I, Ezeogu FA, Onwuanaku C, Adeleke OA, et al. Oral hygiene and nutritional status of children aged 1-7 years in a rural community. *Ghana Medical Journal* 2006; 40:22-5.
38. Whiteson KL, Lazarevic V, Tangomo-Bento M, Girard M, Maughan H, Pittet D, et al. Noma affected children from Niger have distinct oral microbial communities based on high-throughput sequencing of 16S rRNA gene fragments. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 2014; 8: e3240.
39. Baratti-Mayer D, Gayet-Ageron A, Hugonnet S, François P, Pittet-Cuenod B, Huyghe A, et al., and the GESNOMA study group. Risk factors for noma disease: a 6-year, prospective, matched case-control study in Niger. *Lancet Glob Health* 2013; 1: e87-96.
40. Konsem T, Millogo M, Gare J, Ouedraogo D, Ouoba K. Noma and Burkitt disease; a particular association about three observations seen in the Teaching Hospital Center Yalgado Ouedraogo (Burkina Faso). *Bull Soc Pathol Exot* 2014; 107:146-50.
41. Cocquempot K, Javaudin O, Lerasle P, Aigle L. Noma chez une enfant: une observation au Tchad. *Med Sante Trop* 2014; 24: 99-104.
42. Oginni FO, Oginni AO, Ugboko VI, Otuyemi OD. A survey of cases of cancrum oris seen in Ile-Ife, Nigeria. *Int J Paediatr Dent* 1999; 9: 75-80.
43. Adedjoja D, Kabue MM, Sahila P. Cancrum oris in HIV infected children in Lesotho: report of two cases. *East Afr Med J* 2002; 79:499-501.
44. Fieger A, Marck KW, Busch R, Schmidt A. An estimation of the incidence of noma in north-west Nigeria. *Trop Med Int Health* 2003; 8:402-7.
45. Wood NH, Blignaut E, Lemmer J, Meyerov R, Feller L. Necrotizing periodontal diseases in a semirural district of South Africa. *AIDS Res Treat* 2011; 2011: 638584.
46. Ndiaye FC, Bourgeois D, Leclercq MH, Berthe O. Noma: public health problem in Senegal and epidemiological surveillance. *Oral Dis* 1999; 5:163-6.
47. Bonkougou P, Sawadogo A, Balaka B, Tall F. The child's noma in an hospital center in Burkina Faso: Clinical features and course. *Mali Med* 2005; 20:40-2.
48. Barrera J, Connor MP. Noma in an Afghani child: a case report. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2012; 76:742-4.
49. Takahara S. Progressive oral gangrene probably due to lack of catalase in the blood (acatalasaemia); report of nine cases. *Lancet* 1952; 2(6745):1101-4.
50. Srour ML, Watt B, Phengdy B, Khansoulivong K, Harris J, Bennett C, et al. Noma in Laos: stigma of severe poverty in rural Asia. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 78:539-42.
51. Biswal N, Mahadevan S, Srinivasan S. Gangrenous stomatitis following measles. *Indian Pediatr* 1992; 29:509-11.
52. Malden N. An interesting case of adult facial gangrene (from Papua, New Guinea). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1985; 59:279-81.
53. Stassen LF, Batchelor AG, Rennie JS, Moos KF. Cancrum oris in an adult Caucasian female. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1989; 27:417-22.
54. Baratti-Mayer D, Pittet B, Montandon D. GESNOMA (Geneva Study Group on Noma): state-of-the-art medical research for humanitarian purposes. *Ann Chir Plast Esthet* 2004; 49:302-5.
55. Marck KW. Noma: a neglected enigma. *Lancet Glob Health* 2013; 1:e58-9.
56. Tonna JE, Lewin MR, Mensh B. A case and review of noma. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4: 869.
57. Costini B, Larroque G, Duboscq JC, Montandon D. Noma ou cancrum oris: aspect étiopathogénique et nosologique. *Med Trop (Mars)* 1995; 55: 263-73.
58. Enwonwu CO1, Falkler WA, Idigbe EO. Oro-facial gangrene (noma/cancrum oris): pathogenetic mechanisms. *Crit Rev Oral Biol Med* 2000; 11:159-71.
59. Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, et al. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol* 2001; 183:3770-83.
60. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol* 2005; 43:5721-32.
61. Falkler WA Jr, Enwonwu CO, Idigbe EO. Isolation of *Fusobacterium necrophorum* from cancrum oris (noma). *Am J Trop Med Hyg* 1999; 60:150-6.
62. Enwonwu CO. Noma (orofacial gangrene). *Int J Dermatol* 2005; 44:707.
63. Huyghe A, Francois P, Charbonnier Y, Tangomo-Bento M, Bonetti EJ, Paster BJ, et al. and Geneva Study Group on Noma (GESNOMA). Novel microarray design strategy to study complex bacterial communities. *Appl Environ Microbiol* 2008; 74:1876-85.
64. Nayak PA, Nayak UA, Khandelwal V, Gupta A. Noma neonatorum. *BMJ Case Rep* 2013; May 9. pii: ber2013009912
65. Ruan Y, Shen L, Zou Y, Qi Z, Yin J, Jiang J, et al. Comparative genome analysis of *Prevotella intermedia* strain isolated from infected root canal reveals features related to pathogenicity and adaptation. *BMC Genomics* 2015; 16:122.
66. Enwonwu CO. Noma--the ulcer of extreme poverty. *N Engl J Med* 2006; 354:221-4.
67. Phillips RS, Enwonwu CO, Falkler WA. Pro- versus anti-inflammatory cytokine profile in African children with acute oro-facial noma(cancrum oris, noma). *Eur Cytokine Netw* 2005; 16:70-7.
68. Millogo M, Konsem T, Ouédraogo D, Ouoba K, Zwetyenga N. VIH et noma au Burkina Faso. *Rev Stomatol Chir Maxillofac* 2012; 113:433-6.
69. Yuca K, Yuca SA, Cankaya H, Caksen H, Calka O, Kiri M. Report of an infant with noma (cancrum oris). *J Dermatol* 2004; 31: 488-91.

70. Lazarus D, Hudson DA. Cancrum oris—a 35-year retrospective study. *S Afr Med J* 1997; 87: 1379–82.
71. Owotade FJ, Greenspan SJ. Malaria and oral health. *Oral Dis* 2008; 14:302–7.
72. Koech KJ. Cancrum oris in an adult with human immunodeficiency virus infection: case report. *East Afr Med J* 2010; 87: 38–40.
73. Naidoo S, Chikte UM. Noma (cancrum oris): case report in a 4-year-old HIV-positive South African child. *SADJ* 2000; 55:683–6.
74. Tall F, Ki-Zerbo G, Ouédraogo I, Guigma Y. Le noma de l'enfant en milieu hospitalier de Bobo-Dioulasso : Aspects épidémiologiques, cliniques et prise en charge. *Odontostomatol Trop* 2001; 24:21–5.
75. Konsem T, Millogo M, Assouan C, Ouedraogo D. Evolving form of cancrum oris, about 55 cases collected at the Academic Hospital Yalgado Ouedraogo of Ouagadougou. *Bull Soc Pathol Exot* 2014; 107:74–8.
76. Wood NH, Blignaut E, Lemmer J, Meyerov R, Feller L. Necrotizing periodontal diseases in a semirural district of South Africa. *AIDS Res Treat* 2011; 2011:638584.
77. Enwonwu CO, Phillips RS, Ferrell CD. Temporal relationship between the occurrence of fresh noma and the timing of linear growth retardation in Nigerian children. *Trop Med Int Health* 2005; 10:65–73.
78. Martin D, Pinsolle V, Pelissier P, Barthelemy I, Weis C, Baudet J. Noma. Proposal for a surgical treatment. *Ann Chir Plast Esthet* 2004; 49:294–301.
79. Pittet B, Jaquinet A, Montandon D. Clinical experience in the treatment of noma sequelae. *J Craniofac Surg* 2001; 12:273–83.
80. Montandon D, Pittet B. Lip reconstruction in noma sequelae. *Ann Chir Plast Esthet* 2002; 47(5):520–35.
81. Adeola DS, Obiadazie AC. Protocol for managing acute cancrum oris in children: an experience in five cases. *Afr J Paediatr Surg* 2009; 6:77–81.
82. Stones, H. H. (1954). *Oral and Dental Diseases*. 3rd Edition, Chap. 32. Edinburgh: Livingstone, pp 638–40.
83. Adekeye EO, Ord RA. Cancrum oris: principles of management and reconstructive surgery. *J Maxillofac Surg* 1983; 11: 160–70.
84. Adolph HP, Yugueros P, Woods JE. Noma: a review. *Ann Plast Surg* 1996; 37: 657–68.
85. Auluck A, Pai KM. Noma: life cycle of a devastating sore - case report and literature review. *J Can Dent Assoc* 2005; 71:757.
86. Behanan AG, Auluck A, Pai KL. Cancrum oris. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2004; 42:267–9.
87. Barthélémy I, Martin D, Sannajust JP, Marck K, Pistre V, Mondié JM. Prefabricated superficial temporal fascia flap combined with a submental flap in noma surgery. *Plast Reconstr Surg* 2002; 109:936–40.
88. Marck KW, de Bruijn HP. Surgical treatment of noma. *Oral Dis* 1999; 5: 167–71.

Nicolás Di Benedetto
Marta Montero-Alonso
Marino Blanes
José Lacruz
Sandra Cuellar
Eva Calabuig
José López
Miguel Salavert

Monoterapia con inhibidores de la proteasa potenciados en pacientes infectados por el VIH: resultados de un estudio en la "vida real"

Unidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia.

RESUMEN

Introducción. La monoterapia con inhibidores de la proteasa (IP) potenciados (IP/r) podría ofrecer eficacia antiviral, disminuyendo interacciones medicamentosas, toxicidad y costes. El objetivo de este estudio fue determinar la eficacia de la monoterapia con darunavir/ritonavir (DRV/r) y lopinavir/ritonavir (LPV/r) en un escenario de "vida real".

Métodos. Se analizaron retrospectivamente todos los pacientes infectados por VIH tratados con DRV/r o LPV/r en monoterapia. Se incluyeron los que antes de iniciar esta estrategia tuvieran carga viral indetectable en dos controles consecutivos, sin trastornos neurocognitivos, ni coinfección con el virus de la hepatitis B.

Resultados. Se incluyeron 60 pacientes. La mediana (IQR) de seguimiento fue de 66 semanas (33-118). La proporción de fallos virológicos (IC95%) fue del 6,3% (1,7-20,2) y del 25,0% (12,7-43,4) en pacientes tratados con DRV/r y LPV/r, respectivamente ($p=0,0424$). La proporción de éxitos terapéuticos (IC95%) fue del 90,6% (80,5-100) en el grupo de DRV/r y del 60,7% (42,6-78,8) en el de LPV/r ($p=0,0063$). No se detectaron mutaciones de resistencia a IP. Seis pacientes con dislipemia normalizaron los niveles. La mediana de reducción del coste terapéutico mensual fue de 410 (IQR 242-416) euros/paciente.

Conclusión. La monoterapia con IP/r es una estrategia efectiva en pacientes evaluados en un escenario de "vida real". Este estudio demuestra diferencias a favor de DRV/r en términos de éxito terapéutico, aunque estos resultados deben ser confirmados en estudios prospectivos. Si bien este trabajo no fue diseñado para evaluar perfil metabólico ni costes, también se ha observado un impacto positivo de la monoterapia en ambos términos.

Palabras clave: lopinavir, darunavir, inhibidores proteasa, VIH, terapia antirretroviral altamente activa

Correspondencia:
Nicolás Di Benedetto
Unidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Av. Fernando Abril Martorell, 106. 46026. Valencia.
Dirección postal: Lladró i Mallí, 6-18. 46007. Valencia.
Tfno.: 0034 96 3236506 - Fax: 0034 96 1246254
E-mail: dibenedettonicolas@gmail.com

Boosted protease inhibitor monotherapy in HIV-infected patients: results of a study in a real life setting

ABSTRACT

Background. Boosted protease inhibitor monotherapy may offer antiviral efficacy while reducing drug interactions, costs and toxicity. The aim of this study was to assess the efficacy of darunavir/ritonavir (DRV/r) and lopinavir/ritonavir (LPV/r) monotherapy in a real life setting.

Methods. A retrospective analysis of all HIV infected patients, who had initiated DRV/r or LPV/r monotherapy, was performed. Patients whose HIV viral load had remained undetectable for at least two consecutive follow-up visits and who had no neurocognitive disorder or hepatitis B co-infection, were included.

Results. Sixty patients were included. The median (IQR) time to follow-up was 66 (33-118) weeks. The proportions (CI95%) of patients with virological failure were 6.3% (1.7-20.2) and 25.0% (12.7-43.4), respectively, in the DRV/r and LPV/r groups ($p=0.0424$). The proportions (CI95%) of patients with therapeutic success were 90.6% (80.5-100) in the DRV/r group and 60.7% (42.6-78.8) in the LPV/r group ($p=0.0063$). No protease inhibitor mutations were detected. During the follow-up, 6 patients with dyslipidemia normalized their lipid values. The median monthly cost was 410 (IQR 242-416) euros per person lower for the monotherapy than for the combined antiretroviral therapy.

Conclusions. Boosted protease inhibitor monotherapy was effective in a real life setting. This study showed differences in favour of DRV/r as compared with LPV/r in terms of therapeutic success; however prospective studies are needed to confirm these results. Finally, although this study was not specifically designed to detect benefits in terms of costs and lipid profile, it shows evidence of a positive impact of monotherapy in these fields.

Key words: lopinavir, darunavir, HIV protease inhibitors, HIV, Highly Active Antiretroviral Therapy.

INTRODUCCIÓN

El tratamiento antirretroviral combinado (TARc), usualmente compuesto por la combinación de tres fármacos de dos clases distintas, es una estrategia exitosa que significó un gran avance en el manejo de pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

Si bien la utilización del TARc de forma regular redujo la morbi-mortalidad, debe ser empleado de forma crónica, por su incapacidad para erradicar definitivamente al VIH. Por ello la toxicidad a largo plazo, las interacciones medicamentosas y los costes se han convertido en elementos claves a considerar.

El éxito de un tratamiento no solo debe definirse en términos de supresión viral efectiva, sino que debe establecerse a partir de un balance entre eficacia y tolerancia en relación a otras alternativas terapéuticas¹.

El cambio a monoterapia de mantenimiento con un inhibidor de la proteasa (IP) potenciado con ritonavir (IP/r), podría ofrecer la oportunidad de mantener la eficacia antiviral (por su potencia y barrera genética), reduciendo la complejidad del tratamiento, los riesgos de toxicidad, las interacciones medicamentosas, el coste y preservando opciones terapéuticas futuras.

Según un metanálisis la estrategia de monoterapia de mantenimiento con IP/r presenta un incremento de riesgo absoluto de fallo virológico del 10 al 13% por año. A pesar de su eficacia levemente inferior al tratamiento estándar, el riesgo de desarrollo de resistencia es mínimo y los fallos virológicos usualmente son resueltos con la re-introducción de dos inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (ITIAN)².

Si bien existe evidencia actual indicando que en una gran proporción de pacientes la monoterapia con IP/r logra un control virológico efectivo, aun no existe consenso acerca de su utilización. En este aspecto las guías de la European AIDS Clinical Society (según sus siglas en inglés, EACS) y las recomendaciones del Grupo de Estudio de SIDA (GESIDA) reconocen que la utilización de monoterapia con lopinavir/ritonavir (LPV/r) o darunavir/ritonavir (DRV/r) son opciones posibles ante intolerancia a los ITIAN o para simplificación del tratamiento en pacientes sin historia previa de fallo terapéutico a IP y con supresión de la carga viral en los últimos 6 meses^{3,4}. Sin embargo, las guías del departamento de salud y servicios humanos de Estados Unidos comentan que no se dispone de evidencia suficiente para recomendar monoterapia con IP/r de rutina fuera de ensayos clínicos⁵. Por su parte, la International Antiviral Society (según sus siglas en inglés: IAS) no recomienda la utilización de monoterapia con IP/r sin embargo hace mención de que aproximaciones terapéuticas libres de ITIAN podrían ser consideradas⁶.

El objetivo principal del trabajo fue determinar la eficacia de la monoterapia con IP/r (DRV/r y LPV/r) en pacientes infectados por el VIH en un escenario de "vida real". Como objetivos secundarios se evaluaron factores de riesgo asociados al fallo virológico, comportamiento del perfil lipídico y reducción de costes respecto al TARc.

MÉTODOS

Se realizó un estudio de cohorte retrospectivo en todos los pacientes adultos infectados por el VIH que se encontraban en seguimiento por la Unidad de Enfermedades Infecciosas de un hospital terciario que hubieran recibido, al menos por un día, monoterapia con LPV/r o DRV/r durante el periodo comprendido entre junio de 2005 y abril de 2013. Se incluyeron aquellos que, previamente al inicio de la misma, tuvieron supresión virológica en dos controles consecutivos, sin diagnóstico de hepatitis B, ni trastornos neurocognitivos y hubieran otorgado su consentimiento. Se analizaron todos los pacientes con al menos un control de carga viral posterior a la indicación de monoterapia. Se realizó el análisis global de la población, por subgrupos de tratamiento (LPV/r y DRV/r) y por tiempo de tratamiento con monoterapia superior a 48 semanas.

Se determinó la proporción de fallos virológicos (ARN del VIH-1 plasmático superior a 50 copias/mL, confirmado en dos determinaciones consecutivas) y de éxitos de tratamiento, definiendo como fracaso terapéutico al desarrollo de fallo virológico, discontinuación o modificación del tratamiento de cualquier causa. También se determinó el tiempo al primer rebrote virológico confirmado, los factores de riesgo asociados al fallo virológico, la proporción de viremias de bajo nivel desarrolladas durante el seguimiento (detección de ARN del VIH-1 mayor a 50 y menor a 400 copias/mL con resolución espontánea), el comportamiento del perfil lipídico y la reducción de costes respecto al TARc.

Para expresar las variables continuas se utilizaron estadísticos descriptivos (n, media, IC95%, rango, mediana e intervalos intercuartiles-IQR) y para las categóricas las frecuencias y porcentajes.

Las comparaciones de las variables cuantitativas se realizaron con el test de t-Student o prueba Wilcoxon Rank Sum según condiciones de aplicabilidad, mientras que las comparaciones de las cualitativas se llevaron a cabo con el test de Chi cuadrado y F Fisher. El tiempo al fallo virológico fue analizado mediante el método de Kaplan-Meier. La variable principal de resultado fue la proporción de éxitos de tratamiento. Ésta se comparó entre los dos grupos del estudio con un test bilateral de Chi cuadrado con nivel de significación de 0,05. El análisis estadístico se ha realizado con el paquete software Statistix 8.0.

RESULTADOS

Se identificaron 73 pacientes que habían recibido monoterapia con LPV/r o DRV/r dentro de una cohorte de 1025 pacientes infectados por VIH en seguimiento activo. Sesenta de ellos cumplieron criterios de inclusión, 32 fueron tratados con DRV/r (31 con 800/100 mg una vez al día y 1 con 600/100 dos veces por día) y 28 con LPV/r (800/200 mg divididos en dos tomas diarias). La mediana de edad al inicio de la monoterapia fue de 43,5 años (rango de 27 a 73 años) y el 65% fueron hombres. Las características demográficas y basales de los gru-

pos de tratamiento fueron comparadas, demostrando diferencias estadísticamente significativas en el recuento de linfocitos T CD4+ (nadir y al inicio de la monoterapia), en la proporción de pacientes estadio CDC categoría C y en la proporción de pacientes tratados previamente con regímenes basados en IP. También hubo diferencias en la mediana de triglicéridos, aunque no así en el diagnóstico de hipertrigliceridemia (tabla 1).

El IP/r más utilizado en combinación fue LPV/r (52,3%), mientras que la combinación de ITIAN utilizada con más frecuencia fue emtricitabina/tenofovir en el 56,7% de los casos. De los 28 pacientes del grupo de monoterapia con LPV/r, el 86% recibía LPV/r como parte de su terapia combinada, mientras que de los 32 pacientes del grupo de DRV/r, 43,8% recibieron DRV/r previamente.

En cuanto al criterio para el inicio de monoterapia, 13 pacientes la iniciaron por presentar efectos adversos, 8 (62%) de ellos eran tratados con esquemas basados en inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos. El resto la iniciaron por estrategia de simplificación, excepto en un caso que fue por decisión del paciente.

La mediana de seguimiento fue de 66 semanas (IQR 33 a 118). Dos pacientes se perdieron en el seguimiento y tres falle-

cieron, uno por complicaciones relacionadas con cirrosis hepática y dos por complicaciones cardiovasculares (todos tratados con LPV/r). A lo largo de todo el seguimiento el 15% de los pacientes (IC95% 8,1 a 26,1%) presentó fallo virológico, 2/32 (6,3% - IC 95% 1,7 A 20,2) en pacientes tratados con DRV/r y 7/28 (25,0% - IC95% 12,7 a 43,4) en tratados con LPV/r ($p=0,0424$). El tiempo medio hasta el primer rebrote virológico confirmado fue de 71,2 semanas (IC 95% 13,1 a 129,4 semanas), 31,5 para DRV/r y 82,6 para LPV/r ($p=0,4642$). En todos los casos se consiguió nuevo control virológico con la reintroducción del TARc y no se detectaron mutaciones de resistencia a IP.

En 5 pacientes se modificó el tratamiento por un motivo diferente al fallo virológico (tres por efectos adversos y dos porque el médico lo creyó indicado), de modo que la proporción de pacientes tratados con éxito (sin fallo virológico, modificación o discontinuación del tratamiento) fue de 90,6% (80,5-100) y de 60,7% (IC95% 42,6-78,8) en los grupos de DRV/r y LPV/r, respectivamente ($p=0,0063$) (figura 1).

De los pacientes incluidos, 49 tuvieron un seguimiento superior a 48 semanas; 22 de ellos tratados con DRV/r y 27 tratados con LPV/r. Las características basales no presentaron diferencias con respecto a los pacientes seguidos por menos de 48 semanas, excepto en que no se demostró diferencia significativa entre los tratados con DRV/r y LPV/r con respecto al estadio CDC y la proporción de tratados previamente con regímenes basados en IP. Todos los fallos virológicos y fracasos terapéuticos descritos han sido observados en este subgrupo que estuvo en seguimiento más allá de 48 semanas, de modo que la proporción de fallos virológicos, considerando únicamente a los integrantes de este subgrupo, fue de 9,1% (IC95% 2,5 a 27,8) y de 25,9% (IC95% 13,2 a 44,7) en los tratados con DRV/r o LPV/r, respectivamente. Paralelamente, la proporción de éxitos terapéuticos en los tratados con DRV/r fue del 86,4%, mientras que en los tratados con LPV/r fue del 59,3%.

Durante el seguimiento 10 pacientes presentaron viremias de bajo nivel con resolución espontánea (5 pacientes en cada grupo de tratamiento). Solo un paciente desarrolló posteriormente fallo virológico que requirió por ello la reintroducción del TARc, y ninguno requirió modificación del tratamiento por otra causa. La adherencia al tratamiento recogida tanto durante el TARc, como durante la monoterapia con IP/r, fue en todos los casos superior al 80%.

El incremento medio del recuento de linfocitos T CD4+ fue de 30 cel/μL, sin diferencias significativas entre los subgrupos de tratamiento ($p 0,4542$).

Tabla 1 Características basales de la población según inhibidor de la proteasa utilizado

| | Darunavir/r N= 32 | Lopinavir/r N= 28 |
|--|-------------------|-------------------|
| Edad en años - Mediana (rango) | 42,5 (27 a 59) | 44,5 (32 a 73) |
| Sexo masculino - N (%) | 20 (62,5) | 19 (67,9) |
| CD4+ T-cel/μL - Mediana (IQR) | | |
| Nadir ^a | 226 (139-324) | 127 (27-198) |
| Basales ^a | 603 (511-826) | 469 (269-606) |
| VIH ARN log ₁₀ copias/mL (basal)- Mediana (IQR) | 4,6 (3,8-4,9) | 4,4 (3,2-4,9) |
| Estadio CDC - C - N (%) ^a | 5 (15,6) | 11 (39,3) |
| Serología anti-VHC positiva - N (%) | 14 (43,8) | 15 (53,6) |
| Esquema previo basado en IP- N (%) ^a | 20 (62,5) | 24 (85,8) |
| Duración de infección VIH - Mediana años (IQR) | 14 (5-22,8) | 14 (8,5-20,5) |
| Años de tratamiento previo - Mediana años (IQR) | 7,5 (2-15,8) | 11,5 (6-14) |
| Supresión viral previa - Mediana meses (IQR) | 30,5 (15,5-63,8) | 35 (10,3-59,8) |
| Perfil lipídico-Mediana en mg% (IQR) | | |
| Colesterol total | 188 (158-207) | 204 (159-226) |
| LDL (low density lipoprotein) | 100 (80-121) | 113 (72-135) |
| HDL (high density lipoprotein) | 47 (42-55) | 49 (39-67) |
| Triglicéridos ^a | 116 (86-172) | 155 (124-314) |
| Diagnóstico de hipertrigliceridemia ^b - N (%) | 4 (12,5) | 9 (32,1) |

IQR: rango intercuartil. IP: Inhibidores de la proteasa. VHC: virus de la hepatitis C.

^aCaracterísticas con diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos.

^bHipertrigliceridemia (según valores superiores al percentil 90, esperados para sexo y edad, obtenidos de National Health and Nutrition Examination Survey -NHANES III).

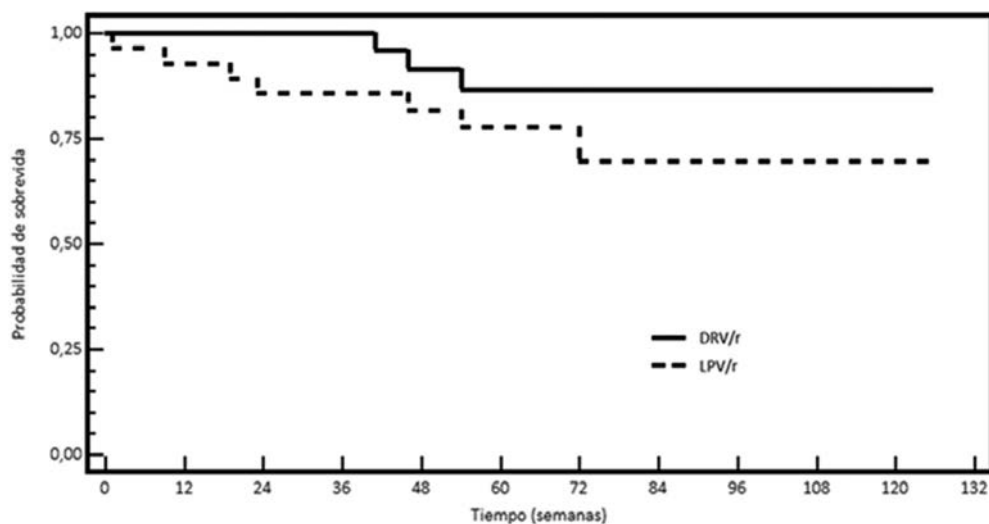


Figura 1 Tiempo hasta el fracaso terapéutico. La figura muestra el tiempo hasta el fracaso terapéutico (fallo virológico, modificación o discontinuación del tratamiento por cualquier causa) en pacientes tratados con monoterapia de mantenimiento con DRV/r o LPV/r durante 128 semanas de seguimiento inicial.

De los factores de riesgo descritos que predisponen al fallo virológico (adherencia, carga viral previa al TARc, niveles de hemoglobina basal, tiempo de duración del TARc previo a la simplificación, tiempo de carga viral indetectable previo al inicio de la monoterapia, nadir de linfocitos T CD4+ y recuento basal de linfocitos T CD4⁺)⁷⁻¹⁰, en este estudio solo se asociaron significativamente al fallo virológico la carga viral previa al TARc ($p=0,0176$) y el nadir en el recuento de linfocitos T CD4+ ($p=0,0137$).

Debe mencionarse que en la serie no se identificaron pacientes con insuficiencia renal y en solo uno de ellos se describió la presencia de síntomas neurológicos inespecíficos (olvidos frecuentes).

Antes de iniciar la monoterapia solo 1 de los 60 pacientes presentó hipercolesterolemia-LDL y 13/60 pacientes (4 en el grupo DRV/r y 9 en LPV/r) presentaba hipertrigliceridemia, según valores de LDL y triglicéridos correspondientes al percentil 90, esperados para raza, sexo y edad, obtenidos del Estudio Nacional de Salud y Nutrición (según siglas en inglés, NHANES III: National Health and Nutrition Examination Survey). Durante el seguimiento pudo observarse que 5 de los pacientes con hipertrigliceridemia (4 en tratamiento con LPV/r) y el paciente con hipercolesterolemia-LDL (en tratamiento con DRV/r) normalizaron los niveles de lípidos.

Para determinar el nivel de reducción de costes con la utilización de esta estrategia se realizó un análisis de los costes de los TARc previos y de la monoterapia. Para ello se consideraron solo los precios de los esquemas terapéuticos y no el coste derivado de la ocurrencia de fallos virológicos (estudio genotípico de resistencias) y/o efectos adversos. Los costes de cada pauta se calcularon a partir del precio de venta del laboratorio más el

4% del impuesto sobre el valor añadido (IVA) con la reducción obligatoria del 7,5%, obtenidos del documento de consenso de GESIDA/PNS de 2013⁴. La mediana de reducción del coste mensual fue de 410 euros (IQR 242-416 euros), sin diferencias significativas en los dos grupos de tratamiento ($p=0,4830$).

DISCUSIÓN

La modificación del régimen terapéutico en pacientes infectados por VIH que han logrado supresión virológica es una práctica habitual, mediante la cual se intenta mejorar la adherencia o conveniencia, preservar opciones terapéuticas futuras, reducir la toxicidad, evitar interacciones medicamentosas y reducir costes¹.

Actualmente se plantean tres indicaciones principales para la realización de un cambio de estrategia terapéutica en pacientes con supresión virológica, éstas son: el cambio por toxicidad documentada, la modificación para prevenir toxicidad a largo plazo y el cambio por simplificación³.

En pacientes con buena adherencia al tratamiento, sin historia de fallo terapéutico con IP y sin coinfección con el virus de la hepatitis B, el cambio a monoterapia con IP/r podría constituir una estrategia válida. Sin embargo, aún no es una práctica globalmente aceptada^{1,5,6}.

Hasta ahora se han publicado varios ensayos clínicos evaluando la estrategia de monoterapia de mantenimiento con IP¹¹⁻¹⁶; sin embargo, existen pocos estudios disponibles realizados en el contexto de la práctica clínica habitual^{17,18}.

La proporción de fallos virológicos (6,3% y 25% en los tratados con DRV/r y LPV/r respectivamente) hallada en este estu-

dio se asemeja tanto a la publicada en los ensayos clínicos¹¹⁻¹⁶ que comunican fallos entre el 15-20% para LPV/r y entre 12-31% para DRV/r (considerando los resultados en semana 144 del estudio MONET)¹⁵, como a los publicados en estudios en la práctica clínica habitual. Entre ellos, en 2012 Santos y col. mostraron en pacientes tratados con DRV/r una proporción de fallos virológicos del 9,8%, mientras que Moltó y col. en 2007 describieron un porcentaje del 25,5% en tratados con LPV/r^{17,18}. Si bien en estos últimos dos estudios mencionados no había una comparación directa entre los fármacos, puede apreciarse, al igual a lo observado en el actual estudio, que la proporción de fallos virológicos descritos es superior en la estrategia con LPV/r. En este aspecto, y considerando que los pacientes tratados con LPV/r fueron seguidos por más tiempo, se realizó un sub-análisis del grupo de pacientes con seguimiento superior a las 48 semanas, manteniéndose la diferencia de eficacia entre los dos IP/r.

Con respecto a las características basales de la población incluida en este estudio, cabe destacar que la proporción de mujeres (35%) y coinfectados con el virus de la hepatitis C (VHC - 48%) fue superior a la mayoría de los ensayos clínicos publicados. Sin embargo, en los dos estudios realizados en la práctica clínica habitual, la proporción de mujeres fue de 43% y 33 %, y la coinfección con VHC del 49% y el 24%, lo que se asemeja más a la población incluida en el presente estudio^{17,18}.

De los factores de riesgo descritos que predisponen al fallo virológico (adherencia, carga viral previa al TARc, niveles de hemoglobina basal, tiempo de duración del TARc previo a la simplificación, tiempo de carga viral indetectable previo al inicio de la monoterapia, nadir de linfocitos T CD4+ y recuento basal de linfocitos T CD4⁺)⁷⁻¹⁰ sólo la carga viral previa al TARc ($p=0,0176$) y el nadir en el recuento de linfocitos T CD4+ ($p=0,0137$) demostraron asociación significativa con el fallo virológico. Probablemente no se encontraron como factores de riesgo de fallo la falta de adherencia, ni el tiempo de duración del TARc previo, porque todos los pacientes presentaron niveles de adherencia superior al 80% (dado que la monoterapia fue iniciada en pacientes que demostraban buen grado de cumplimiento) y la mediana de tiempo de duración del TARc fue elevada.

Durante el seguimiento se han detectado rebotes transitorios de carga viral del VIH, los denominados "*blips*", en 5 pacientes tratados con DRV/r y en 5 con LPV/r; de ellos solo un paciente desarrolló posteriormente fallo virológico, que requirió por tanto la reintroducción del TARc. Aún en pacientes tratados satisfactoriamente con TARc, las cargas virales transitoriamente detectables no son infrecuentes. Por lo cual, algún grado de fluctuación de la carga viral en pacientes tratados con monoterapia con IP/r también es esperable¹.

Por lo mencionado la monoterapia de mantenimiento con IP/r pareciera ser una estrategia eficaz, al menos al utilizar como medidas de desenlace la detección de carga viral plasmática por métodos habituales. Sin embargo, también resulta interesante valorar la eficacia de esta estrategia mediante la detección de viremia residual por métodos ultrasensibles. En

este aspecto, un estudio español recientemente publicado, demostró, en el contexto de la práctica clínica habitual, que el tratamiento a largo plazo con monoterapia no se asocia con mayor prevalencia de viremia residual plasmática comparado con el TARc. Por otra parte también han valorado el comportamiento de los marcadores inflamatorios/pro-coagulantes (PCR, IL-6, fibrinógeno y dímero D), sin encontrar diferencias entre estrategias terapéuticas¹⁹.

Por su parte otro estudio español evaluó la presencia de replicación viral en tejido linfático en pacientes tratados con TARc comparado con monoterapia con IP/r, demostrando la presencia de replicación viral en ambos grupos de tratamiento (a pesar de mantener carga viral indetectable en plasma), por lo que tampoco existirían diferencias en este aspecto entre las dos estrategias de mantenimiento²⁰.

Otro aspecto a tener en cuenta es que, en este estudio, todos los pacientes que presentaron fallo virológico consiguieron carga viral indetectable con la reintroducción del TARc y no se han detectado mutaciones de resistencia a IP. Con respecto al desarrollo de mutaciones de resistencia y al potencial compromiso de opciones terapéuticas futuras, varios estudios han demostrado que la monoterapia es una estrategia segura. Entre ellos se puede mencionar un estudio realizado por Torres-Cornejo et al. en el que se valoraron cambios en el perfil genotípico de la proteasa del VIH en plasma y células mononucleares de sangre periférica en pacientes tratados con monoterapia basada en DRV/r durante episodios de replicación viral. En este estudio no se observaron mutaciones principales asociadas a DRV, concluyendo que la estrategia de simplificación con DRV/r en monoterapia no compromete opciones terapéuticas futuras²¹.

Si bien los únicos tres pacientes que fallecieron durante el seguimiento se encontraban en el grupo tratado con LPV/r, las muertes observadas no fueron asociadas a eventos determinantes de sida y la mediana de tiempo de seguimiento fue superior en este grupo, por lo que la ocurrencia de este evento no podría ser atribuida al fármaco utilizado.

Con respecto al comportamiento del metabolismo lipídico, el paciente con hipercolesterolemia-LDL y 4 de los 5 pacientes con hipertrigliceridemia que normalizaron los niveles, habían sido tratados con tenofovir como parte del esquema previo. Los ITIAN se asocian a insulinoresistencia, dislipemia, lipodistrofia/lipoatrofia. Sin embargo, al tenofovir se le atribuye un cierto efecto hipolipemiante. En los estudios OK y OK04^{11,12} no se evidenciaron diferencias en los niveles de lípidos en grupos de mono y triple terapia, mientras que en el estudio MONET se observó una mayor proporción de alteraciones lipídicas en el grupo de monoterapia¹⁵. Por otro lado, en los estudios desarrollados en el contexto de la práctica clínica habitual se observó un aumento significativo de la media de LDL de 116 mg/dl a 137 mg/dl a las 48 semanas en los tratados con DRV/r, mientras que en el estudio de monoterapia con LPV/r se describe un descenso significativo de los niveles de triglicéridos (de 168 a 151 mg/dl)^{17,18}. En el presente estudio no se encontró un claro empeoramiento en cuanto a la evolución del perfil

lipídico, y hasta en algunos casos pudo observarse una mejoría. Sin embargo, al no haber estudiado modificaciones en el estilo de vida (dieta, ejercicio físico), sería apresurado adjudicar esta mejoría únicamente a la monoterapia.

La penetración de los antirretrovirales en el sistema nervioso central podría resultar de importancia para prevenir la replicación del VIH-1 en esta localización. Estudios observacionales han demostrado correlación entre el CPE (según siglas en inglés: *central nervous system penetration effectiveness rank*) y los niveles de carga viral de VIH-1 en el líquido cefalorraquídeo. Aunque el CPE aún no ha sido correctamente validado, debe reconocerse que la monoterapia con DRV/r y LPV/r tiene una menor CPE comparada con la triple terapia¹. Este hecho derivaría de datos que sugieren que los pacientes tratados con IP/r en monoterapia tienen mayor frecuencia de replicación viral del VIH en el líquido cefalorraquídeo y que la replicación en el sistema nervioso central no siempre se correlaciona con los niveles plasmáticos². Sin embargo la relevancia clínica de estos hallazgos aún no ha sido del todo aclarada. En el año 2013 Perez-Valero et al. publicaron los resultados de un trabajo en el que evaluaron el desarrollo de trastornos neurocognitivos en pacientes tratados con monoterapia comparado con pacientes que recibían TARc, demostrando que en individuos con supresión virológica adecuada la monoterapia con DRV/r o LPV/r no incrementa el riesgo de desarrollar deterioro neurocognitivo²². En la misma línea una revisión publicada recientemente ha analizado el riesgo de eventos adversos a nivel del sistema nervioso central en pacientes incluidos en 11 ensayos clínicos aleatorizados no encontrando diferencias claras en el riesgo de eventos adversos neurológicos entre los pacientes tratados con monoterapia y los tratados con TARc²³. Por su parte otra revisión publicada el mismo año se ha demostrado que los pacientes en monoterapia podrían tener mayor riesgo de replicación viral sintomática en sistema nervioso central, (principalmente los que se encuentran en fallo virológico y han presentado un nadir en el recuento de linfocitos T CD4+ bajo) que se resuelve con la reintroducción del TARc, mientras que no han encontrado mayor riesgo de replicación viral en sistema nervioso central en pacientes asintomáticos²⁴. En este estudio solo se ha identificado sintomatología neurológica en un único paciente, el cual refirió olvidos frecuentes y fue derivado al servicio de neurología para continuar su evaluación.

Finalmente, en el presente estudio se observó una mediana de reducción de coste terapéutico mensual por persona de 410 euros (IQR 242-416). En este aspecto, otros autores han estimado mediante un modelo de simulación el coste-efectividad de la simplificación con IP/r comparado con el tratamiento estándar, demostrando una disminución de costes con la estrategia de monoterapia con IP/r que oscilaron entre US\$ 26500 y US\$ 72400 por vida²⁵.

Si bien se reconocen como principales debilidades del presente estudio, entre otras, su carácter retrospectivo, el no contar con controles tratados con triple terapia y la existencia de diferencias basales entre los grupos comparados que pudieron influir en el éxito terapéutico (tiempo de seguimiento, estadio CDC-C, nadir de linfocitos T CD4+ y recuento de linfocitos T

CD4+ al iniciar la monoterapia), podrían considerarse algunas fortalezas como la de haber sido desarrollado en un escenario de práctica clínica habitual y el haber contado con un tiempo de seguimiento prolongado (la mayor parte de los pacientes fueron seguidos por más de 48 semanas).

En conclusión, la monoterapia de mantenimiento con IP/r es una estrategia efectiva en pacientes evaluados en un escenario de "vida real". Este estudio demuestra diferencias a favor de DRV/r en términos de éxito terapéutico; sin embargo estos resultados deben ser confirmados en estudios prospectivos. Aunque este trabajo no fue diseñado para evaluar perfil metabólico ni costes, también se ha observado un impacto positivo de la monoterapia en ambos términos.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada en parte por la Fundación Carolina, la Fundación BBVA y por el proyecto RD12/0017/0032, integrado en el Plan Nacional de I+D+I y cofinanciado por el ISCIII-Subdirección General de Evaluación y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER). Este trabajo fue presentado en el V Congreso Nacional GESIDA, desarrollado del 19 al 22 de noviembre de 2013 en Sitges. Póster #142.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arribas JR, Doroana M, Turner D, Vandekerckhove L, Streinu-Cercel A. Boosted protease inhibitor monotherapy in HIV infected adults: outputs from a pan-European expert panel meeting. *AIDS Research and Therapy* 2013; 10:3.
2. Mathis S, Khanlari B, Pulido F, Schechter M, Negredo E, Nelson M, et al. Effectiveness of Protease Inhibitor Monotherapy versus Combination Antiretroviral Maintenance Therapy: A Meta-Analysis. *PLoS ONE* 2011; 6(7): e22003.
3. European AIDS Clinical Society (EACS). European Guidelines for treatment of HIV-infected adults in Europe. European AIDS Clinical Society Version 7.1; November 2014. Disponible en: http://www.eacsociety.org/files/guidelines_english_71_141204.pdf.
4. Panel de expertos de GeSIDA y Plan Nacional sobre el Sida. Documento de consenso de GeSIDA/Plan Nacional sobre el sida respecto al tratamiento antirretroviral en adultos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (actualización enero de 2015). Disponible en: www.gesida-seimc.org/contenidos/guiasclinicas/2015/gesida-guiasclinicas-2015-tar.pdf.
5. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services; last updated, November 13, 2014. Disponible en: <http://aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>
6. Günthard HF, Aberg JA, Eron JJ, Hoy JF, Telenti A, Benson CA, et al. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2014 recommendations of the International Antiviral Society-USA Panel. *JAMA* 2014;312:410-25.
7. Pulido F, Pérez-Valero I, Delgado R, Arranz A, Pasquau J, Portilla

- J, et al: Risk factors for loss of virological suppression in patients receiving lopinavir/ritonavir monotherapy for maintenance of HIV suppression. *Antivir Ther* 2009; 14:195-201.
8. Campo RE, Da Silva BA, Cotte L, Gathe JC, Gazzard B, Hicks CB, et al. Predictors of loss of virologic response in subjects who simplified to lopinavir/ritonavir monotherapy from lopinavir/ritonavir plus zidovudine/lamivudine. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2009; 25:269-75.
 9. Lambert-Niclot S, Flandre P, Valantin MA, Peytavin G, Duvivier C, Haim-Boukobza S, et al. Factors associated with virological failure in HIV-1-infected patients receiving darunavir/ritonavir monotherapy. *J Infect Dis* 2011; 204:1211-6.
 10. Gutmann C, Cusini A, Günthard HF, Fux C, Hirschel B, Decosterd LA, et al. Randomized controlled study demonstrating failure of LPV/r monotherapy in HIV: the role of compartment and CD4-naïve. *AIDS* 2010; 24:2347-54.
 11. Arribas JR, Pulido F, Delgado R, Lorenzo A, Miralles P, Arranz A, et al. Lopinavir/ritonavir as single-drug therapy for maintenance of HIV-1 viral suppression: 48-week results of a randomized, controlled, open-label, proof-of-concept pilot clinical trial (OK Study). *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 40:280-7.
 12. Arribas JR, Delgado R, Arranz A, Muñoz R, Portilla J, Pasquau J, et al. Lopinavir-ritonavir monotherapy versus lopinavir-ritonavir and 2 nucleosides for maintenance therapy of HIV: 96-week analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009; 51:147-52.
 13. Meynard JL, Bouteloup V, Landman R, Bonnard P, Baillat V, Cabie A, et al. Lopinavir/ritonavir monotherapy versus current treatment continuation for maintenance therapy of HIV-1 infection: the KALESOLO trial. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65: 2436-44.
 14. Nunes EP, Santini de Oliveira M, Merçon M, Zajdenverg R, Faulhaber JC, Pilotto JH, et al. Monotherapy with Lopinavir/Ritonavir as maintenance after HIV-1 viral suppression: results of a 96-week randomized, controlled, open-label, pilot trial (KalMo study). *HIV Clin Trials* 2009; 10: 368-74.
 15. Arribas JR, Clumeck N, Nelson M, Hill A, van Delft Y, Moecklinghoff C. The MONET trial: week 144 analysis of the efficacy of darunavir/ritonavir (DRV/r) monotherapy versus DRV/r plus two nucleoside reverse transcriptase inhibitors, for patients with viral load < 50 HIV-1 RNA copies/mL at baseline. *HIV Med* 2012; 13:398-405.
 16. Valantin MA, Lambert-Niclot S, Flandre P, Morand-Joubert L, Cabie A, Meynard JL, et al. Long-term efficacy of darunavir/ritonavir monotherapy in patients with HIV-1 viral suppression: week 96 results from the MONOI ANRS 136 study. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67: 691-5.
 17. Moltó J, Santos JR, Negredo E, Miranda C, Videla S, Clotet B. Lopinavir/ritonavir monotherapy as a simplification strategy in routine clinical practice. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60:436-9.
 18. Santos JR, Moltó J, Libre JM, Negredo E, Bravo I, Ornelas A, et al. Antiretroviral Simplification with Darunavir/Ritonavir Monotherapy in Routine Clinical Practice: Safety, Effectiveness, and Impact on Lipid Profile. *PLoS ONE* 2012; 7: e37442.
 19. Estébanez M, Stella-Ascariz N, Mingorance J, Pérez-Valero I, Bernardino JI, Zamora FX, et al. Inflammatory, procoagulant markers and HIV residual viremia in patients receiving protease inhibitor monotherapy or triple drug therapy: a cross-sectional study. *BMC Infect Dis* 2014;14:379.
 20. Vinuesa D, Parra-Ruiz J, Chueca N, Alvarez M, Muñoz-Medina L, Garcia F, et al. Protease inhibitor monotherapy is not associated with increased viral replication in lymph nodes. *AIDS* 2014;28:1835-7.
 21. Torres-Cornejo A, Benmarzouk-Hidalgo O, Gutierrez-Valencia A, Ruiz-Valderas R, Viciano P, López-Cortés L. Low concordance and resistance mutation emergence in the HIV protease gene among circulating and cell-associated viruses at viral replication episodes during darunavir/ritonavir monotherapy. *HIV Med* 2014 Jun 9. doi: 10.1111/hiv.12170. [En prensa].
 22. Pérez-Valero I, González-Baeza A, Estébanez M, Montes-Ramírez ML, Bayón C, Pulido F, et al. Neurocognitive impairment in patients treated with protease inhibitor monotherapy or triple drug antiretroviral therapy. *PLoS One* 2013;8:e69493.
 23. Powderly W, Hill A, Moecklinghoff C. Is there a higher risk of CNS adverse events for PI monotherapy versus triple therapy? A review of results from randomized clinical trials. *HIV Clin Trials* 2014;15:79-86.
 24. Gianotti N, Lazzarin A, Cinque P. Central nervous system HIV infection in "less-drug regimen" antiretroviral therapy simplification strategies. *Semin Neurol* 2014;34:78-88.
 25. Schackman BR, Scott CA, Sax PE, Losina E, Wilkin TJ, McKinnon JE, et al. Potential risks and benefits of HIV treatment simplification: a simulation model of proposed clinical trial. *Clin Infect Dis* 2007; 45:1062-70.

M^a Fátima López-Fabal¹
José Luis Gómez-Garcés¹
José Luis López-Hontangas²
Nuria Sanz¹
Carmen Muñoz¹
Marta Regodón¹

Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identifying respiratory bacterial pathogens: a fast and efficient method

¹Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Móstoles. Madrid. Spain

²Servicio de Microbiología. Hospital Universitario La Fe. Valencia. Spain

ABSTRACT

Mass spectrometry has become a reference resource for identifying microorganisms in clinical microbiology services. One hundred and fifty one clinical isolates were selected from respiratory specimens routinely identified as *Streptococcus pneumoniae* (43), *Haemophilus influenzae* (64) and *Moraxella catarrhalis* (44). These identifications were compared with other phenotypical methods and mass spectrometry (MALDI-TOF-MS Vitek). Result discrepancies were assessed by 16S rRNA sequencing.

Thirty-eight of the 43 strains of *S. pneumoniae* (86%) were identified as such using phenotypical methods and spectrometry. In 5 cases, MALDI-TOF identified 4 of them as *Streptococcus pseudopneumoniae* and 1 as *S. mitis/oralis*. Forty-eight of the 64 strains were identified as *H. influenzae* (75%) using biochemical identification systems and automated identification systems, whereas MALDI-TOF-MS Vitek identified 51 strains (79%) as such. Conventional methods and spectrometry identified all the 40 strains tested (100%) as *M. catarrhalis*. All strains with discrepant results were sequenced, and in all cases, the identification obtained by spectrometry was confirmed. The results obtained in this study show that mass spectrometry provides identification of these bacteria faster and in a more reliable way than those based on conventional phenotypical methods.

La espectrometría de masas en la identificación de patógenos respiratorios bacterianos: un método rápido y eficaz

RESUMEN

La espectrometría de masas se ha convertido en un recurso

Correspondencia:
José Luis Gómez-Garcés
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Móstoles. C/ Río Júcar s/n.
28935-Móstoles (Madrid). Spain
Telephone number: +34916648600
E-mail: jlgarces@salud.madrid.org

de referencia para la identificación de microorganismos en los servicios de Microbiología Clínica. Se estudiaron 151 aislamientos clínicos procedentes de muestras respiratorias que se identificaron rutinariamente como *Streptococcus pneumoniae* (43), *Haemophilus influenzae* (64) y *Moraxella catarrhalis* (44). Estos resultados se compararon con otros métodos fenotípicos y espectrometría de masas (MALDI-TOF Vitek-MS). Las discrepancias en los resultados se valoraron mediante secuenciación del ARNr 16S.

Treinta y ocho de las 43 cepas de *S. pneumoniae* (86%) fueron identificadas como tales tanto por métodos bioquímicos como por espectrometría. En 5 casos MALDI-TOF identificó 4 como *Streptococcus pseudopneumoniae* y 1 como *S. mitis/oralis*. Cuarenta y ocho de las 64 cepas fueron identificadas como *H. influenzae* (75%) al utilizar galerías comerciales y sistemas automáticos, mientras que MALDI-TOF identifica como tales a 51 cepas (79%). Los métodos convencionales y la espectrometría identificaron como *M. catarrhalis* las 40 cepas estudiadas (100%). Todas las cepas con resultados discrepantes fueron secuenciadas, confirmándose en todos los casos la identificación obtenida por espectrometría. Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que la espectrometría de masas ofrece una identificación de estas bacterias más rápida y fiable que la basada en métodos convencionales.

INTRODUCTION

Classic cultivable bacterial pathogens in acute respiratory infections mainly include *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis*. Their identification in respiratory secretions, bronchial aspirates, etc., includes a serial of conventional phenotypic tests that usually allow diagnosis within 24-48 hours. In order not to delay the identification response too long, these phenotypic schemes are limited to using specific techniques such as sensitivity to optochin, bile solubility, growth on chocolate agar and lack of growth on blood agar plates or detecting butyrate esterase and oxidase respectively for each of the three microorganisms discussed^{1,2}. Therefore, the ability to identify species closest to but other than the above, such as *S. pseudopneumoniae*, *H. parainfluen-*

zae, and other genera and species close to *Moraxella catarrhalis*, is usually not covered by the usual routine and only takes place in specially selected strains for epidemiological or clinical interest.

Mass spectrometry, using matrix-assisted laser soft ionization desorption/ionization techniques including mass analyzer known as "time of flight" (MALDI-TOF) has been incorporated less than ten years ago in the microbiology laboratory especially aimed at characterizing microbial protein in order to make a rapid and reliable diagnosis^{3,4} although the proof-of-concept that mass spectrometry could identify crude bacteria was established over 30 years ago⁵. Although these proteomic techniques are not yet fully implemented, it is clear that they offer attractive opportunities in securing and advancing microbial diagnosis. However, using them has uncovered some limitations, mainly in differentiating bacterial species that are very close structurally and genomically, as in the case of *S. pneumoniae* and other alpha haemolytic streptococci that share the same habitat⁶.

This paper is aimed at assessing this proteomic test, compared with others that show different phenotypic and genotypic characteristics, for characterizing the three classic bacterial pathogens isolated from respiratory samples.

MATERIAL AND METHODS

Microorganisms. Forty-three alpha haemolytic streptococci, 64 gram-negative small coccobacilli and 44 gram negative diplococci isolated from respiratory secretions from patients at our hospital during 2012, were presumptively identified as *S. pneumoniae*, *H. influenzae* or *M. catarrhalis* respectively, based on the results obtained by Gram staining, catalase production, sensitivity to optochin, growth on blood agar / chocolate agar and oxidase and butyrate esterase production.

Isolates. Respiratory samples were cultured on blood agar and chocolate agar (bioMérieux, France) and incubated at 35°C in atmosphere of 5% of CO₂ for isolating and identifying the said organisms.

Sensitivity to optochin. Blood agar plates were inoculated with alpha haemolytic colonies obtained in the previous cultures and a 5 µg optochin disk was placed in the centre on

the inoculated area. These subcultures were incubated for 24 hours at 35°C in an atmosphere of 5% CO₂. Optochin sensitivity was defined as a zone of inhibition ≥ 14 mm in diameter.

Bile solubility test. A 0.5 mL of 2% deoxycholate was added to 0.5 mL suspensions of each isolate prepared in phosphate-buffered saline (PBS) and incubated at 35°C for 2 h. A positive test was indicated by visible clearing of suspension (Keith 2006)

Biochemical identification systems. RapID STR (bioMérieux, France) and RapID NH (Remel, USA) systems for streptococci and for *Haemophilus* and *Moraxella* respectively were inoculated, incubated and interpreted in accordance with the manufacturer's criteria.

Latex agglutination. Slidex agglutination with pneumo-Kit (bioMérieux, France) for identification of *S. pneumoniae* from previous cultures were performed following the manufacturer's instructions

Immunochromatographic detection of antigens. Immunochromatographic devices NOW *S. pneumoniae* antigen test (Binax, USA) for the detection of cell wall polysaccharide of pneumococci were inoculated from previous cultures. Although this test is designed for urine or other sterile fluids, it was carried out following the manufacturer's instruction to suit the purpose of this study.

Oxidase production. Tetramethyl phenylenediamine dihydrochloride disks (Sigma-Aldrich, Switzerland) were impregnated with the contents of a loop of culture from blood agar plates. The violet colour after 2 minutes indicated a positive reaction.

Production of tributyrin esterase. TRIBU strips (Sigma, USA) were impregnated with the contents of a loop of culture from blood agar plates. A yellow product of acidification indicated a positive result.

VITEK-2. Identification cards ID-GPC (bioMérieux, France) for streptococci and ID-NH (bioMérieux, France) for *Haemophilus* and *Moraxella* were used for the identification of microorganisms according to manufacturer standards.

Identification by MALDI-TOF MS. Plate preparation, mass spectra generation and the combined process were performed according to the standards previously described for the Vitek MS system (bioMérieux, France)⁷, using an Axima Assur-

Table 1 Identification of 5 streptococci by different methods.

| Strain | RapID STR | VITEK-2 | MALDI-TOF | Sequencing | Latex Agglutinat | Inmunochromatografic | Bile test |
|--------|----------------------|------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------|----------------------|-------------|
| 10S | <i>S. pneumoniae</i> | <i>S. pneumoniae</i> | <i>S. pseudopneumoniae</i> | <i>S. pseudopneumoniae</i> | <i>S. pneumoniae</i> | <i>S. pneumoniae</i> | Not soluble |
| 14S | <i>S. pneumoniae</i> | <i>S. constellatus</i> | <i>S. mitis/oralis</i> | <i>S. mitis/oralis</i> | <i>S. pneumoniae</i> | <i>S. pneumoniae</i> | Not soluble |
| 33S | <i>S. pneumoniae</i> | <i>S. pneumoniae</i> | <i>S. pseudopneumoniae</i> | <i>S. pseudopneumoniae</i> | <i>S. pneumoniae</i> | <i>S. pneumoniae</i> | Not soluble |
| 39S | <i>S. pneumoniae</i> | <i>S. pneumoniae</i> | <i>S. pseudopneumoniae</i> | <i>S. pseudopneumoniae</i> | <i>S. pneumoniae</i> | <i>S. pneumoniae</i> | Not soluble |
| 41S | <i>S. pneumoniae</i> | <i>S. pneumoniae</i> | <i>S. pseudopneumoniae</i> | <i>S. pseudopneumoniae</i> | <i>S. pneumoniae</i> | <i>S. pneumoniae</i> | Not soluble |

ance mass spectrometer with version 1.0.0 of the acquisition software and MS-ID database. According to the manufacturer's instructions, a confidence value between 60 and 99% for a given species was considered as a good identification (ID).

If a unique pattern ID is not recognized, a list of possible organisms with confidence values < 60 % was given, considered low discrimination (LD) for each of the identified species. When a single result is obtained with a value <60%, the organism is considered to be outside the limits of the identification system database and recorded as "no ID"⁷.

Sequencing. A suspension of 0.5 McFarland bacterial strains under study was prepared as an extraction of nucleic acids from 500µL of the suspension in the automatic extractor Easy Mag (bioMérieux, France).

Between 5 and 50 ng of extracted DNA were amplified by chain reaction of the polymerase in standard conditions, with the previously described oligonucleotides B27F and U1492R⁸.

The amplification products were sequenced using Thermo Sequenase Dye Primer Cycle Manual Sequencing Kit (USB Corporation, USA) using primers 16S- NF 5'CACTGGAAGTGA-GACACGGT -3 'and 16S- NR 5'GTCTATTCCTTGAGTTTA -3' internal to the above, designed in our laboratory, which amplify a 586 bp fragment.

Sequencing reactions were loaded on a Long-Read Tower Sequencer (Siemens Healthcare Diagnostics, USA) and the sequences obtained were compared with those in Microbial Genomes BLAST. Identification criteria used was a degree of homology ≥ 97%.

RESULTS

***S. pneumoniae*.** Forty-three strains were presumptively identified as *S. pneumoniae* because of their Gram morphology, optochin susceptibility and catalase test. This identification was confirmed in all cases using biochemical identification systems, the immunochromatographic test and latex agglutination. The VITEK-2 system identified 39 strains as *S. pneumoniae* and the remaining strains as *S. no pneumoniae*.

Using the spectrometry system, 38 strains (86%) were identified as *S. pneumoniae*, and the other 5 strains were identified as *Streptococcus* related to *S. pneumoniae* but belonging to other species (4 as *S. pseudopneumoniae* and 1 as *S. mitis / oralis*) that also were not soluble in bile. These five strains were sequenced, confirming the results of mass spectrometry (table 1).

Furthermore, these last 5 strains were subcultured on plates with sheep blood with an optochin disk and simultaneously incubated for 18-24 hours at 35°C in an atmosphere with and without CO₂. Another 5 strains positively identified as *S. pneumoniae* were tested as controls. In an air environment, all strains showed an inhibition halo ≥ 14 mm in response to the 5 µg of optochin, whereas, when incubated in a 5 % CO₂ atmosphere, only the controls reached 14 mm in diameter (table 2).

***H. influenzae*.** Sixty-four strains were presumptively identified as *H. influenzae* considering their Gram morphology and growth on chocolate agar and lack of growth on blood agar. When using biochemical galleries, 48 were identified as *H. influenzae* and the remaining 16 as *H. parainfluenzae*. Using VITEK-2, 48 were assigned to *H. influenzae*, 12 were identified as *H. parainfluenzae* and 4 as *H. haemolyticus*.

The spectrometry system identified 51 strains as *H. influenzae*, 12 as *H. parainfluenzae* and the remaining strain as *H. haemolyticus*.

Regarding the 8 strains with no concordance with the three methods, sequencing confirmed the identifications provided by the spectrometry (table 3).

***M. catarrhalis*.** Forty strains were initially identified as *M. catarrhalis*, due to their Gram morphology, catalase test, production of oxidase and a positive test in tributyrin esterase. The VITEK-2 system did not identify any of these strains as such, while mass spectrometry and biochemical galleries provided a good identification as *M. catarrhalis*.

DISCUSSION

Final classification of streptococci, including *S. pneumoniae*, continues to be a problem,

Table 2 Optochin disk inhibition halo after 18-24 h incubation at 35°C in CO₂ an ambient atmosphere.

| Optochin inhibition halo | CO ₂ | | | Ambient | | |
|---|-----------------|--------|---------|---------|--------|-------|
| | <8mm | 8-13mm | ≥ 14 mm | <8 mm | 8-13mm | 14 mm |
| <i>S. pneumoniae</i> | - | - | 5 | - | - | 5 |
| <i>S. pseudopneumoniae</i> / <i>S. mitis/oralis</i> | 2 | 3 | - | - | - | 5 |

Table 3 Identification of 8 *Haemophilus* spp. by different methods.

| Strain | RapID NH | VITEK-2 | MALDI-TOF | Sequencing |
|--------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 5 H | <i>H. parainfluenzae</i> | <i>H. haemolyticus</i> | <i>H. influenzae</i> | <i>H. influenzae</i> |
| 21H | <i>H. parainfluenzae</i> | <i>H. influenzae</i> | <i>H. influenzae</i> | <i>H. influenzae</i> |
| 22H | <i>H. parainfluenzae</i> | <i>H. influenzae</i> | <i>H. influenzae</i> | <i>H. influenzae</i> |
| 23H | <i>H. parainfluenzae</i> | <i>H. influenzae</i> | <i>H. influenzae</i> | <i>H. influenzae</i> |
| 26H | <i>H. influenzae</i> | <i>H. haemolyticus</i> | <i>H. influenzae</i> | <i>H. influenzae</i> |
| 37H | <i>H. influenzae</i> | <i>H. haemolyticus</i> | <i>H. influenzae</i> | <i>H. influenzae</i> |
| 43H | <i>H. influenzae</i> | <i>H. parainfluenzae</i> | <i>H. influenzae</i> | <i>H. influenzae</i> |
| 45H | <i>H. parainfluenzae</i> | <i>H. influenzae</i> | <i>H. parainfluenzae</i> | <i>H. parainfluenzae</i> |

further aggravated by the fact that many of them share the same habitat. For example, using routine phenotypic discrimination techniques between *S. pneumoniae* and other alpha haemolytic streptococci, belonging to the *mitis/oralis* complex, does not always provide satisfactory or conclusive results⁹. Although optochin susceptibility is the most frequently used diagnostic test in clinical microbiology laboratories to differentiate pneumococci from other alpha haemolytic streptococci, the conditions for its use remain uncertain. This is because while some highly prestigious manuals¹ recommend incubating in CO₂, the disk manufacturer recommends incubation in ambient atmosphere. This distinction is interesting because of the recognition of *S. pseudopneumoniae* as a distinct species, but still close to *S. pneumoniae*, although with possibly different specifications as a respiratory pathogen, and whose behaviour on an optochin disc is variable. In this series, as well as in others¹⁰, there are 5 strains in which the inhibition halo was less than 14 mm when incubated in a CO₂ atmosphere. However, when incubated in an ambient atmosphere, they clearly exceeded this limit. The 5 strains were then sequenced and classified as *S. pseudopneumoniae*. The rest of the pneumococci, however, showed diameters over 14 mm, both in an ambient atmosphere and CO₂ supplemented environment. The possibility of establishing these misdiagnoses can sometimes affect the valuation of sensitivity parameters or resistance of these species¹¹.

Biochemical identification systems do not safely distinguish between *S. pneumoniae* and other streptococci either, and automated systems usually show an even weaker differentiation for these microorganisms¹⁰. Antigenic determination, a useful tool for an initial diagnostic approach, does not guarantee a correct identification of these microorganisms because, even though its sensitivity is excellent, its specificity is extremely poor¹².

Such as other authors suggest¹³, our results confirm that distinction between *S. pneumoniae* and nonpneumococcal isolates is accurately performed by Vitek MS.

A final phenotypic differentiation between *H. influenzae* and other *Haemophilus* species by conventional testing is only possible by porphyrin test that requires 24 hours more¹⁴. In our series, we did not use the porphyrin test so as not to delay the report of results, thus limiting any possible differentiation between the species. As a result of the commercial galleries used, 48 of the 64 strains were identified as *H. influenzae*, and the remaining 16 were identified as *H. parainfluenzae*. Using the automated VITEK-2 system, 48 were also assigned to *H. influenzae*, although they did not fully correspond with the strains listed as such by the galleries, 12 were identified as *H. parainfluenzae* and 4 as *H. haemolyticus*.

These results are consistent with various articles published, which indicate that the identification provided by the miniaturized galleries or automated methods differ, in approximately 20% of the cases, from the results obtained by conventional methods¹⁵. The spectrometry system identified 51 strains as *H. influenzae*, 12 as *H. parainfluenzae* and the remaining strain

as *H. haemolyticus*. In total, 8 strains showed different results with the three methods. Sequencing confirmed the identifications provided by the spectrometer.

In some cases the accuracy of identifying species within the *Haemophilus* genus is important since *H. influenzae* is currently known to induce respiratory infections in contrast to *H. haemolyticus* or *H. parainfluenzae* and thus accurate identification could reduce unnecessary antibiotic treatment¹⁶ as well as to provide an important tool when it is used for epidemiological purposes. This reliability seems to be achieved more accurately with spectrometry rather than other methods^{15,16}.

On the other hand, the routine identification of *M. catarrhalis* strains showed no obstacles in our series, simply demonstrating the production of oxidase and esterase tributin, which is fully consistent with the results obtained with identification galleries and spectrometry, whereas VITEK cards were invalid for these diagnoses.

Among the numerous papers published recently regarding the ability of mass spectrometry systems, using matrix-assisted laser soft ionization desorption/ionization techniques including the mass analyzer known as "time of flight" (MALDI-TOF), to identify microorganisms commonly found in clinical microbiology laboratories^{5,17-19} it is possible that the correct identification of respiratory bacterial pathogens are those that provide more controversial results. However, in our series, although limited by the low number of strains, the spectrometry technique gave excellent results for identifying and differentiating *M. catarrhalis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* and related species, without the need of a prior protein extraction and confirming these results in strains of questionable identification through amplification and sequencing.

In summary, our findings indicate that Vitek MS is a suitable tool for the swift and reliable identification of classic cultivable bacterial pathogens in acute respiratory infections.

REFERENCES

1. Spellerberg B. & Brandt C. *Streptococcus*. In *Manual of Clinical Microbiology*, Edited by American Society for Microbiology, Washington DC, 10th ed. 2011: pp. 331-349.
2. Speelvelde E, Fosspre JM, Gordts B, Landuyt HW. Comparison of three rapid methods, tributyrine, 4-methylumbelliferyl butyrate, and indoxyl acetate, for rapid identification of *Moraxella catarrhalis*. *J Clin Microbiol* 1994;32: 1362-3.
3. Bizzini A, Durussel C, Bille J, Greub G, Prod'homme G. Performance of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of bacterial strains routinely isolated in a clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol* 2010; 48:1549-54.
4. Dubois D, Segonds C, Prere MF, Marty N, Oswald E. Identification of clinical *Streptococcus pneumoniae* isolates among other alpha and non-hemolytic streptococci by use of the Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system. *J Clin Microbiol* 2013; 51:1861-7.

5. Seng P, Drancourt M, Gouriet F, La Scola B, Fournier PE, Rolain JM et al. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of flight mass spectrometry. *Clin Infect Dis* 2009; 49:543-51.
6. Ikryannikova LN, Filimonova AV, Malakhova MV, Savinova T, Filimonova O, Ilina EN et al. Discrimination between *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus mitis* based on sorting of their MALDI mass spectra. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19:1066-71
7. Dubois D, Grare M, Prere MF, Segonds C, Marty N, Oswald E. Performances of the Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system for rapid identification of bacteria in routine clinical microbiology. *J Clin Microbiol* 2012; 50:2568-76
8. Weisburg WG, Barns SM, Pelletier DA, Lane DJ. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J Bacteriol* 1991; 173:697-703.
9. Facklam RR. What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15: 613-30.
10. Arbique JC, Poyart C, Trieu-Cuot P, Quesne G, Carvalho Mda G, Steigerwalt AG, et al. Accuracy of phenotypic and genotypic testing for identification of *Streptococcus pneumoniae* and description of *Streptococcus pseudopneumoniae* sp. nov. *J Clin Microbiol* 2004; 42:4686-96.
11. Song JH, Baek JH. Incorrect identification of *Streptococcus pneumoniae* and its effect on antimicrobial resistance rates. *Int J Antimicrob Agents* 2009; 33:92-9.
12. Keith ER, Podmore RG, Anderson TP, Murdoch DR. Characteristics of *Streptococcus pseudopneumoniae* isolated from purulent sputum samples. *J Clin Microbiol* 2006; 44:923-7.
13. Branda JA, Markham RP, Garner CD, Rychert JA, Ferraro MJ. Performance of the Vitek MS v2.0 system in distinguishing *Streptococcus pneumoniae* from nonpneumococcal species of the *Streptococcus mitis* group. *J Clin Microbiol*. 2013; 51:3079-82.
14. Haag AM, Taylor SN, Johnston KH, Cole RB. Rapid identification and speciation of Haemophilus bacteria by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 1998; 33:750-6.
15. Frickmann H, Christner M, Donat M, Berger A, Essig A, Podbielski A et al. Rapid discrimination of *Haemophilus influenzae*, *H. parainfluenzae*, and *H. haemolyticus* by fluorescence in situ hybridization (FISH) and two matrix-assisted laser-desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS) platforms. *PLoS One* 2013; 8:e63222
16. Bruin JP, Kostrzewa M, van der Ende A, Badoux P, Jansen R, Boers SA, et al. Identification of *Haemophilus influenzae* and *Haemophilus haemolyticus* by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33:279-84.
17. Ferreira L, Vega S, Sánchez-Juanes F, González M, Herrero A, Muñoz MC, et al. Identifying bacteria using a matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometer. Comparison with routine methods used in clinical microbiology laboratories. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2010; 28:492-7.
18. Jordana-Lluch E, Martró Català E, Ausina Ruiz V. Mass spectrometry in the clinical microbiology laboratory. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012; 30:635-44.
19. Mellmann A, Cloud J, Maier T, Keckevoet U, Ramminger I, Iw-en P, et al. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry in comparison to 16S rRNA gene sequencing for species identification of non-fermenting bacteria. *J Clin Microbiol* 2008; 46:1946-54.

Gabriel Alberto March-Rosselló¹
María Purificación Gutiérrez-Rodríguez²
María Simarro-Grande²
Antonio Orduña-Domingo^{1,2}
Miguel Ángel Bratos-Pérez^{1,2}

A two-hour procedure for determining the susceptibility of enterococci and staphylococci to antibiotics by a colourimetric method

¹Servicio de Microbiología e Inmunología, Hospital Clínico Universitario de Valladolid.
²Área de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Valladolid

ABSTRACT

Introduction. Rapid determination of the antibiotic susceptibility test in bacteria remains a challenge for Clinical Microbiology laboratories.

Methods. An improvement in the colorimetric antimicrobial susceptibility testing performed with resazurin in enterococci and staphylococci has been carried out. The design of method was performed using two collection strains, which have a known susceptibility. This procedure was then validated against standard commercial methods on 15 strains of staphylococci and 15 strains of enterococci from patients.

Results. The essential agreement between the colorimetric method and commercial methods (E-test, MicroScan and VITEK2) was 100%.

Conclusion. Resazurin allows us to obtain a reliable antibiotic susceptibility test in staphylococci and enterococci in less than two hours.

Keywords: resazurin; rapid antibiotic susceptibility test; bacteriology

Un procedimiento de dos horas para determinar la sensibilidad de estafilococos y enterococos a los antibióticos en dos horas mediante un método colorimétrico

RESUMEN

Introducción. La realización de un antibiograma rápido sigue siendo un reto para los laboratorios de Microbiología Clínica.

Métodos. Se ha realizado una mejora en el antibiograma colorimétrico realizado mediante resazurina en estafilococos y enterococos. El diseño del método se realizó mediante el uso

de dos cepas de colección que presentan una sensibilidad conocida. Este procedimiento se validó posteriormente frente a los métodos comerciales mediante el procesamiento de 15 cepas de estafilococos y 15 de enterococos aisladas de pacientes.

Resultados. Se ha obtenido un 100% de concordancia entre la sensibilidad obtenida mediante resazurina y la obtenida mediante los métodos comerciales (E-test, MicroScan and VITEK2).

Conclusión. Mediante el uso de resazurina es posible obtener un antibiograma en estafilococos y enterococos en menos de dos horas de forma fiable.

Palabras clave: resazurina; antibiograma rápido; bacteriología

INTRODUCTION

In clinical microbiology laboratories, the most widely used methods to obtain antibiotic susceptibility tests (AST) are based on the observation of bacterial growth when the bacteria, previously isolated in culture plates, are incubated in the presence of the antibiotic being tested. Within these methods, disc diffusion and antimicrobial gradient methods (e.g. E-test strips) require a time of 17-24 hours to yield a result¹. Also, broth microdilution has been used in various automated equipment; among which there is the VITEK2® (biomérieux, Marcy l'Etoile, France) and the Phoenix® (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA) systems that provide the fastest results with an average time of nine hours².

All the aforementioned methodologies have two drawbacks. Ideally, results should be obtained faster, since early administration of an appropriate antibiotic for the treatment of bacterial infections improves patients' outcome, lowering hospitalization costs³. Besides, the values of minimum inhibitory concentration (MIC) or the inhibition zone diameter provided are not reproducible^{4,5}. In order to overcome these difficulties, various methodologies, such as flow cytometry, molecular detection techniques, bioluminescence, chemiluminescence, nephelometry, microarrays or colourimetric methods have been introduced in clinical microbiology laboratories. Within colourimetric methods, resazurin is a well-known and easy-

Correspondencia:
Gabriel Alberto March Rosselló
Servicio de Microbiología e Inmunología, Hospital Clínico Universitario de Valladolid, España.
Tfno.: +34 983420000.
Fax: +34 98257511.
E-mail: gmr810@hotmail.com

to handle probe for determining cell viability⁶. Resazurin is an oxidised form of a redox indicator that is blue in colour and non-fluorescent. When incubated with non-viable cells, it is not reduced and maintains its blue colour. On the other hand, when incubated with viable cells, which contain reductants substances, such as NADPH or NADH, resazurin is reduced to resorufin that is red and fluorescent. This colour change can be detected using both fluorescence and optical density measuring instruments, or with the naked eye⁷. When this feature of resazurin was applied to AST, the time required to achieve results ranged from four to 24 hours⁷⁻¹⁰. In order to optimize this procedure, the aim of the present work is to perform a faster AST from gram-positive bacteria obtained in culture plates using resazurin.

MATERIAL AND METHODS

Experimental design of the antimicrobial susceptibility test. Standard antimicrobial powder of vancomycin, oxacillin, amikacin, ciprofloxacin and ampicillin were obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Stock solutions were prepared according to the protocol proposed by the EUCAST¹¹, sterilized by filtration using a MILLEX GS 0.22 µm membrane filter (EMD® Millipore Corporation, Billerica, MA, USA) and stored at -80°C. Further dilutions of antibiotic were carried out before use.

Resazurin powder (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) was dissolved in distilled water at a concentration of 0.1% and sterilised by filtration using a MILLEX GS 0.22 µm membrane filter (EMD® Millipore Corporation, Billerica, MA, USA). Finally, the dissolution was stored in darkness at +4°C until use.

The influence of both bacterial inoculum and resazurin concentration on the time required to obtain red colour was studied using the strains *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 and *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. From colonies of these strains, a 3-McFarland-standard bacterial suspension was prepared. Adequate aliquots of these suspensions were added into tubes containing 3 ml of cation-adjusted Mueller-Hinton broth (CAMHB) (Difco, Sparks, MD, USA) with 0.0002% or 0.0003% resazurin in order to achieve bacterial concentrations of 10⁴, 10⁵, 10⁶, 10⁷ and 10⁸ CFU/ml. In addition, a bacteria-free tube was used as a negative control tube. Tubes were incubated in a water bath at 35°C for three hours. During this time, two methods of lecture were applied after every fifteen minutes of incubation. In the first one, the colour of the medium was read visually; growth in each tube was indicated by a colour change from blue to red. In the second one, measurements of optical density at both 570 and 600 nm were performed (Smart Spec™ Plus, Bio-Rad, Hercules, CA, USA) and the percentage of the reduced form of resazurin was calculated in accordance with the manufacturer's technical insert¹² by applying the next equation:

$$\text{Percent reduced form of resazurin} = \frac{(\epsilon_{ox})_{\lambda_2} \cdot A_{\lambda_1} t - (\epsilon_{ox})_{\lambda_1} \cdot A_{\lambda_2} t}{(\epsilon_{red})_{\lambda_1} \cdot A_{\lambda_2} c - (\epsilon_{red})_{\lambda_2} \cdot A_{\lambda_1} c} \cdot 100$$

where

λ_1 : 570 nm, λ_2 : 600 nm

$(\epsilon_{ox})_{\lambda_2}$: 117216

$(\epsilon_{ox})_{\lambda_1}$: 80586

$(\epsilon_{red})_{\lambda_1}$: 155677

$(\epsilon_{red})_{\lambda_2}$: 14652

$A_{\lambda_1} t$: observed optical density reading for test tube.

$A_{\lambda_2} t$: observed optical density reading for test tube.

$A_{\lambda_2} c$: observed optical density for negative control tube.

$A_{\lambda_1} c$: observed optical density for negative control tube.

In order to set up the experimental conditions of the AST, the strain *E. faecalis* ATCC 29212 was tested against ampicillin, vancomycin and ciprofloxacin, and *S. aureus* ATCC 29213 was tested against amikacin, vancomycin, oxacillin, and ciprofloxacin. All antibiotics were studied at EUCAST breakpoints concentrations of sensitivity and resistance¹³. Moreover, each strain was evaluated at three bacterial concentrations: 10⁶, 10⁷ and 10⁸ CFU/ml. These bacterial concentrations were achieved in the same way as described previously. The medium used to perform the AST was 3 ml of CAMHB with 0.0003% resazurin and antibiotic. For oxacillin, the medium was supplemented with 2% NaCl. In addition, control tubes without antibiotics were included in all experiments and bacteria-free tube was used as negative control tube. Tubes were incubated in a water bath at 35°C for three hours. Finally, tubes were measured in the same way as described previously and a new procedure for determining of the susceptibility of staphylococci and enterococci to antibiotics was proposed.

Validation procedure. The procedure was validated with 30 clinical strains isolated at University Clinic Hospital of Valladolid (Spain), which were identified from colonies obtained in culture plates using MALDI-TOF (Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany). In brief, 15 enterococci (10 *Enterococcus faecalis* and 5 *Enterococcus faecium*) were tested against vancomycin, ampicillin and ciprofloxacin, and 15 staphylococci (5 *Staphylococcus aureus*, 5 *Staphylococcus epidermidis*, 3 *Staphylococcus hominis*, 1 *Staphylococcus lugdunensis* and 1 *Staphylococcus haemolyticus*) were tested against amikacin, vancomycin, oxacillin, and ciprofloxacin. All antibiotics were studied at EUCAST breakpoints concentrations of susceptibility.

The results of susceptibility obtained from colonies grown in culture plates by means of the commercial methods VITEK2 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France), MicroScan (Siemens, Tarrytown, NY, USA) and E-test (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France), applying the criteria published by the EUCAST, were considered as the gold standard. Finally, results obtained by resazurin were compared to the gold standard according to FDA criteria¹⁴; agreements and disagreements among the susceptibility values obtained were classified as agreements, very major errors (false susceptibility), major errors (false resistance), or minor errors (susceptible/resistant versus intermediate susceptibility).

RESULTS

Results obtained from collection strains. When the strains *E. faecalis* ATCC 29212 and *S. aureus* ATCC 29213 were incubated without antibiotic, inoculums of 10^4 and 10^5 CFU/ml were not able to produce the colour change from blue to red after three hours of incubation. On the other hand, inoculums of 10^6 , 10^7 and 10^8 CFU/ml of these strains required a determined period of time to produce the colour red. Specifically, bacterial concentrations of 10^6 CFU/ml produced the colour change during the third hour of incubation, bacterial concentrations of 10^7 CFU/ml produced it during the second hour of incubation, and bacterial concentrations of 10^8 CFU/ml produced it during the first hour of incubation. Moreover, these times were the same with both resazurin concentrations tested, but the intensity of red colour obtained with 0.0003% resazurin was visually more intense than the obtained with 0.0002% resazurin. When the colour red was appreciated visually, the percentage of the re-

duced form of resazurin was higher than 17%, irrespective of the resazurin concentration tested.

When we performed the AST using the collection strains, inoculums of 10^6 CFU/ml provided the colour change during the third hour of incubation and the results obtained during this period of time are shown in table 1. With these conditions, all AST were correctly obtained because the strains *E. faecalis* ATCC 29212, *S. aureus* ATCC 29213, which are susceptible to the antibiotic being incubated, were not able to produce the colour change. Inoculums of 10^7 CFU/ml of the collection strains provided the colour change from blue to red during the second hour of incubation and the results obtained during this period of time are shown in table 2. Also, with these conditions, all AST were correctly obtained for the same reason aforementioned. Inoculums of 10^8 CFU/ml of the collection strains provided the colour change of the medium during the first hour of incubation and the results obtained during this

| Strain tested | Antibiotic tested | Incubation time (minutes) | | | | | | | | | | | | Susceptibility by resazurin |
|--------------------------|-------------------|---------------------------|------|------|-------|------|------|-------|------|------|-------|-------|-------|-----------------------------|
| | | 135 | | | 150 | | | 165 | | | 180 | | | |
| | | WA | S | R | WA | S | R | WA | S | R | WA | S | R | |
| <i>E. faecalis</i> 29212 | Ampicillin | 9.61 | 3.71 | 2.88 | 13.44 | 6.38 | 5.89 | 20.25 | 7.21 | 7.86 | 34.01 | 10.33 | 9.95 | Susceptible |
| | Vancomycin | 10.64 | 2.73 | 1.77 | 15.15 | 5.87 | 4.68 | 24.47 | 8.26 | 9.52 | 39.20 | 11.89 | 11.37 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | 7.40 | 3.64 | 3.11 | 12.91 | 5.82 | 6.47 | 21.23 | 8.76 | 8.34 | 36.87 | 10.19 | 10.45 | Susceptible |
| <i>S. aureus</i> 29213 | Amikacin | 7.42 | 5.51 | 4.44 | 9.48 | 6.20 | 6.31 | 15.92 | 7.69 | 9.25 | 24.22 | 9.63 | 9.14 | Susceptible |
| | Vancomycin | 6.92 | 4.32 | 4.71 | 8.10 | 5.82 | 6.15 | 14.72 | 8.76 | 7.30 | 23.98 | 10.73 | 10.90 | Susceptible |
| | Oxacillin | 6.28 | 4.72 | 3.53 | 10.47 | 6.53 | 5.29 | 14.67 | 8.35 | 9.95 | 23.06 | 10.12 | 9.62 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | 8.89 | 4.06 | 4.17 | 9.23 | 5.85 | 6.58 | 13.30 | 7.28 | 7.12 | 25.71 | 12.76 | 12.19 | Susceptible |

WA: tube without antibiotic; S: tube with antibiotic at breakpoint concentration of susceptibility; R: tube with antibiotic at breakpoint concentration of resistance

| Strain tested | Antibiotic tested | Incubation time (minutes) | | | | | | | | | | | | Susceptibility by resazurin |
|--------------------------|-------------------|---------------------------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----------------------------|
| | | 75 | | | 90 | | | 105 | | | 120 | | | |
| | | WA | S | R | WA | S | R | WA | S | R | WA | S | R | |
| <i>E. faecalis</i> 29212 | Ampicillin | 19.73 | 5.12 | 5.92 | 35.04 | 8.93 | 9.85 | 45.52 | 11.13 | 11.33 | 55.30 | 14.51 | 14.37 | Susceptible |
| | Vancomycin | 20.68 | 4.34 | 4.60 | 38.77 | 9.58 | 9.95 | 47.49 | 9.05 | 9.71 | 58.01 | 15.25 | 15.19 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | 20.85 | 5.70 | 5.48 | 36.38 | 8.61 | 8.78 | 43.19 | 10.11 | 9.25 | 57.40 | 13.73 | 12.82 | Susceptible |
| <i>S. aureus</i> 29213 | Amikacin | 7.34 | 6.54 | 7.63 | 10.22 | 8.65 | 8.76 | 22.81 | 12.15 | 12.84 | 37.97 | 12.13 | 11.54 | Susceptible |
| | Vancomycin | 6.25 | 6.01 | 6.23 | 12.73 | 10.92 | 10.86 | 24.90 | 11.08 | 12.95 | 37.72 | 13.72 | 12.38 | Susceptible |
| | Oxacillin | 7.46 | 6.27 | 6.32 | 13.66 | 9.68 | 11.53 | 23.33 | 10.54 | 9.03 | 35.28 | 10.04 | 9.99 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | 7.32 | 7.21 | 6.12 | 11.53 | 9.30 | 9.99 | 24.37 | 12.57 | 12.88 | 40.93 | 13.31 | 13.13 | Susceptible |

WA: tube without antibiotic; S: tube with antibiotic at breakpoint concentration of susceptibility; R: tube with antibiotic at breakpoint concentration of resistance

Table 3 Percentage of the reduced form of resazurin obtained from collection strains with an inoculum of 10^8 CFU/ml

| Strain tested | Antibiotic tested | Incubation time (minutes) | | | | | | | | | | | | Susceptibility by resazurin |
|-----------------------------|-------------------|---------------------------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----------------------------|
| | | 15 | | | 30 | | | 45 | | | 60 | | | |
| | | WA | S | R | WA | S | R | WA | S | R | WA | S | R | |
| <i>E. faecalis</i> 29212 | Ampicillin | 7.99 | 8.36 | 7.42 | 14.25 | 14.13 | 15.39 | 28.41 | 26.55 | 23.81 | 41.03 | 30.61 | 33.59 | Resistant |
| | Vancomycin | 6.23 | 9.27 | 9.88 | 13.75 | 14.37 | 13.21 | 30.55 | 25.34 | 27.12 | 42.07 | 33.38 | 38.11 | Resistant |
| | Ciprofloxacin | 7.68 | 7.85 | 7.54 | 12.19 | 14.20 | 14.97 | 33.29 | 34.37 | 30.51 | 47.43 | 45.09 | 44.65 | Resistant |
| <i>S. aureus</i> 29213 | Amikacin | 5.44 | 6.52 | 6.21 | 9.07 | 12.87 | 11.96 | 14.30 | 13.55 | 14.71 | 26.86 | 29.17 | 32.82 | Resistant |
| | Vancomycin | 5.32 | 5.18 | 7.26 | 9.94 | 9.80 | 10.36 | 15.15 | 12.13 | 15.07 | 27.92 | 27.16 | 31.79 | Resistant |
| | Oxacillin | 7.47 | 6.82 | 5.54 | 10.03 | 10.59 | 12.28 | 14.62 | 14.77 | 11.83 | 29.12 | 24.52 | 27.57 | Resistant |
| | Ciprofloxacin | 6.75 | 7.66 | 7.25 | 9.34 | 10.18 | 11.95 | 15.46 | 13.27 | 15.52 | 30.02 | 32.94 | 33.76 | Resistant |

WA: tube without antibiotic; S: tube with antibiotic at breakpoint concentration of susceptibility; R: tube with antibiotic at breakpoint concentration of resistance

period of time are shown in table 3. With these conditions, all collection strains tested provided an incorrect AST because all susceptible strains to the antibiotics being incubated were able to produce colour change. In all these cases, when the colour red was appreciated visually, the percentage of the reduced form of resazurin was also higher than 17%.

On the basis of the results obtained from collection strains, the variables of the AST proposed were defined as follows: inoculum of 10^7 CFU/ml of staphylococci and enterococci, two hours of incubation and 0.0003% resazurin.

Results obtained from clinical strains. For validation of the proposed AST against commercial methods, 15 clinical strains of staphylococci and 15 of enterococci were processed. The results of the AST performed by commercial methods (VITEK2, MicroScan and E-test) from colonies obtained in culture plates showed 100% concordance among them. Results obtained from clinical strains of staphylococci and enterococci are shown in tables 4 and 5 respectively. Applying the proposed method, all AST were correctly obtained. As in all other such previous cases, when the colour red was appreciated visually, the percentage of the reduced form of resazurin was also higher than 17%.

DISCUSSION

Recently, there has been an increased effort to develop rapid and low-cost methods for AST. One method that meets is resazurin. In addition, solutions of resazurin can be easily prepared and, according manufacturer's manual¹², can be stored at room temperature in the darkness for a year without losing optical properties, thus requiring only a small amount of storage space. Moreover, the results obtained with resazurin can be interpreted easily, by naked eye or using a fluorometer or spectrophotometer. For these reasons, resazurin could be extensively used. On the other hand, molecular methods are expensive and require technical equipment, and so they can be used only in developed centres⁹.

Resazurin concentrations of 0.0002% and 0.0003% were selected because absorbance values obtained during the experiments were within the linearity range of the spectrophotometer. For the same bacterial inoculum incubated without antibiotic, resazurin concentration values did not alter the time needed for the bacteria to produce the colour change, which means that the value of resazurin concentration did not produce differences in the time required to produce the colour change. However, we decided to use resazurin at 0.0003% because the intensity of the colour red produced was more intense than that produced with 0.0002%.

E. faecalis ATCC 29212 and *S. aureus* ATCC 29213 strains were used in the experimental design of the AST because they have a known antibiotic susceptibility and are commonly used in quality control of susceptibility testing. These strains, which are susceptible to the antibiotics tested, produced a colour change from blue to red when it were incubated with antibiotic at inoculums higher than 10^7 CFU/ml. Therefore, an incorrect AST was obtained since growth in each tube was indicated by a colour change from blue to red (table 3). Thus, the maximum inoculum of these strains that provided a reliable AST was 10^7 CFU/ml and, as consequence, results could be obtained in less than hours. Concentrations lower than 10^7 CFU/ml of these strains also provided a reliable AST, but the time needed to obtain results was more than two hours (table 1).

The proposed AST was validated with 30 clinical strains of staphylococci and enterococci using inoculums of 10^7 CFU/ml. Applying our method, a 100% concordance between the results of susceptibility obtained by resazurin and by the commercial methods (VITEK2, MicroScan and E-test) was obtained in less than two hours (tables 4 and 5). Our results were the same to that previously reported in enterococci tested against vancomycin and in *S. aureus* tested against vancomycin, oxacillin and cefoxitin⁸⁻¹⁰. However, in these cases, the time required to obtain results ranged from four to six hours. This was because bacteria were incubated with antibiotic for several hours, later resazurin was added, and one hour or two hours

Table 4 Percentage of the reduced form of resazurin obtained from 15 clinical strains of staphylococci

| Bacteria (number of strain) | Antibiotic tested | Susceptibility by commercial methods (E-test MIC: mg/L) | Incubation time (minutes) | | | | | | | | | | | | Susceptibility by resazurin |
|-----------------------------------|-------------------|---|---------------------------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------------------------------|
| | | | 75 | | | 90 | | | 105 | | | 120 | | | |
| | | | WA | S | R | WA | S | R | WA | S | R | WA | S | R | |
| <i>S. aureus</i> (1) | Amikacin | Susceptible (0.06) | 10.59 | 5.12 | 6.49 | 19.19 | 9.54 | 9.36 | 31.38 | 12.17 | 10.26 | 39.33 | 13.71 | 12.80 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible (1) | 15.62 | 7.34 | 6.85 | 24.11 | 10.49 | 10.21 | 39.90 | 13.53 | 13.71 | 50.77 | 16.23 | 15.18 | Susceptible |
| | Oxacillin | Susceptible (0.5) | 13.13 | 8.40 | 7.35 | 21.85 | 10.18 | 11.55 | 33.93 | 12.44 | 11.83 | 41.18 | 15.36 | 16.37 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Susceptible(0.008) | 10.84 | 6.83 | 7.21 | 19.94 | 9.33 | 10.18 | 28.46 | 11.93 | 10.80 | 38.46 | 12.87 | 13.49 | Susceptible |
| <i>S. aureus</i> (2) | Amikacin | Susceptible (1) | 8.61 | 6.83 | 5.71 | 14.63 | 11.16 | 10.70 | 21.69 | 13.60 | 12.35 | 33.05 | 15.95 | 14.22 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible(2) | 7.17 | 7.26 | 6.78 | 15.47 | 10.81 | 11.63 | 24.11 | 13.72 | 12.18 | 35.81 | 14.22 | 15.95 | Susceptible |
| | Oxacillin | Resistant (>256) | 9.45 | 5.78 | 6.27 | 11.20 | 12.27 | 11.29 | 19.47 | 20.88 | 22.37 | 31.54 | 29.08 | 33.21 | Resistant |
| | Ciprofloxacin | Resistant (4) | 8.56 | 7.55 | 7.99 | 13.58 | 13.92 | 14.37 | 18.75 | 19.46 | 20.29 | 27.74 | 25.16 | 26.78 | Resistant |
| <i>S. aureus</i> (3) | Amikacin | Susceptible (1) | 3.19 | 3.13 | 4.63 | 9.24 | 10.81 | 9.95 | 15.52 | 12.39 | 12.54 | 23.10 | 13.55 | 14.03 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible(1) | 4.69 | 4.74 | 5.23 | 8.17 | 8.34 | 8.50 | 12.77 | 9.57 | 9.65 | 20.79 | 13.89 | 11.94 | Susceptible |
| | Oxacillin | Resistant (8) | 5.37 | 5.15 | 5.19 | 8.31 | 10.60 | 9.38 | 12.13 | 11.21 | 12.81 | 22.07 | 19.46 | 19.59 | Resistant |
| | Ciprofloxacin | Susceptible (0.015) | 6.03 | 4.27 | 6.30 | 10.56 | 7.88 | 8.91 | 13.73 | 12.97 | 11.28 | 21.11 | 17.57 | 16.14 | Susceptible |
| <i>S. aureus</i> (4) | Amikacin | Susceptible (2) | 4.77 | 4.95 | 4.61 | 8.80 | 7.66 | 6.16 | 15.81 | 10.33 | 11.74 | 24.49 | 10.93 | 12.26 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible (1) | 5.52 | 4.21 | 6.34 | 9.42 | 7.77 | 7.43 | 13.29 | 10.85 | 9.99 | 20.02 | 12.36 | 12.75 | Susceptible |
| | Oxacillin | Susceptible (0.32) | 6.25 | 7.94 | 5.56 | 10.76 | 9.45 | 9.32 | 16.11 | 12.91 | 11.83 | 24.42 | 14.51 | 15.33 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Susceptible(0.06) | 4.89 | 5.10 | 5.24 | 9.13 | 5.53 | 4.02 | 12.64 | 7.28 | 6.55 | 19.23 | 9.36 | 10.68 | Susceptible |
| <i>S. aureus</i> (5) | Amikacin | Susceptible (0.015) | 6.19 | 6.34 | 6.97 | 10.25 | 8.15 | 7.89 | 15.47 | 12.77 | 11.79 | 21.22 | 14.44 | 14.12 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible (0.5) | 7.64 | 6.19 | 5.37 | 11.86 | 7.22 | 7.71 | 16.48 | 14.09 | 13.28 | 24.66 | 15.89 | 13.41 | Susceptible |
| | Oxacillin | Susceptible(0.32) | 8.19 | 7.83 | 7.21 | 12.68 | 10.99 | 9.95 | 15.26 | 12.43 | 12.25 | 22.34 | 13.29 | 14.31 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Susceptible (1) | 6.49 | 3.71 | 3.44 | 9.37 | 4.53 | 5.12 | 13.74 | 9.26 | 9.92 | 19.27 | 13.11 | 12.85 | Susceptible |
| <i>S. epidermidis</i> (6) | Amikacin | Susceptible(1) | 7.40 | 5.27 | 7.31 | 12.59 | 10.11 | 10.25 | 16.17 | 12.78 | 14.36 | 21.81 | 14.93 | 15.54 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible (1) | 7.16 | 6.59 | 6.93 | 11.01 | 11.48 | 8.39 | 15.95 | 8.10 | 10.91 | 20.28 | 11.33 | 12.79 | Susceptible |
| | Oxacillin | Resistant (8) | 6.99 | 5.38 | 4.13 | 9.54 | 7.77 | 7.68 | 12.42 | 10.39 | 9.55 | 19.23 | 12.85 | 12.41 | Resistant |
| | Ciprofloxacin | Susceptible(0.015) | 5.11 | 4.69 | 3.48 | 8.29 | 5.25 | 5.88 | 11.93 | 6.42 | 7.18 | 18.91 | 9.79 | 10.83 | Susceptible |
| <i>S. epidermidis</i> (7) | Amikacin | Susceptible (0.06) | 9.74 | 7.12 | 7.25 | 13.61 | 9.99 | 10.03 | 19.32 | 10.89 | 10.15 | 22.76 | 13.24 | 14.24 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible (0.5) | 8.67 | 6.14 | 7.78 | 12.34 | 8.56 | 8.93 | 20.80 | 12.41 | 11.71 | 28.35 | 15.66 | 14.16 | Susceptible |
| | Oxacillin | Susceptible(0.25) | 8.22 | 5.87 | 6.22 | 13.79 | 7.33 | 6.78 | 19.15 | 9.57 | 9.23 | 25.84 | 12.33 | 13.58 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Susceptible (0.06) | 9.63 | 4.76 | 5.83 | 13.37 | 6.93 | 7.19 | 19.10 | 12.32 | 11.81 | 20.39 | 13.12 | 13.79 | Susceptible |
| <i>S. epidermidis</i> (8) | Amikacin | Susceptible(1) | 5.70 | 4.43 | 4.39 | 10.24 | 6.54 | 7.32 | 14.66 | 9.57 | 9.33 | 20.24 | 12.19 | 12.02 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible (2) | 6.31 | 6.91 | 4.52 | 9.77 | 8.27 | 8.16 | 15.72 | 10.80 | 11.16 | 22.01 | 14.90 | 15.11 | Susceptible |
| | Oxacillin | Resistant (>256) | 6.65 | 7.18 | 5.77 | 11.54 | 10.62 | 10.77 | 14.59 | 15.68 | 14.32 | 21.35 | 22.66 | 20.59 | Resistant |
| | Ciprofloxacin | Susceptible(1) | 5.83 | 3.46 | 3.94 | 10.72 | 7.33 | 7.42 | 16.11 | 8.72 | 9.98 | 25.68 | 12.13 | 14.41 | Susceptible |
| <i>S. epidermidis</i> (9) | Amikacin | Susceptible (0.12) | 4.76 | 3.11 | 4.59 | 9.32 | 6.81 | 5.53 | 13.82 | 10.55 | 9.27 | 20.76 | 11.29 | 13.38 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible(1) | 5.18 | 5.52 | 5.32 | 10.55 | 8.19 | 9.15 | 15.65 | 12.21 | 11.76 | 21.64 | 14.88 | 15.47 | Susceptible |
| | Oxacillin | Resistant (16) | 3.21 | 4.63 | 6.25 | 9.78 | 9.53 | 9.48 | 14.81 | 13.37 | 14.51 | 20.17 | 20.64 | 20.25 | Resistant |
| | Ciprofloxacin | Susceptible (0.03) | 6.55 | 5.34 | 5.87 | 9.02 | 8.76 | 9.86 | 13.35 | 10.61 | 10.65 | 20.15 | 13.33 | 14.66 | Susceptible |

Table 4 Percentage of the reduced form of resazurin obtained from 15 clinical strains of staphylococci (cont.)

| Bacteria (number of strain) | Antibiotic tested | Susceptibility by commercial methods (E-test MIC: mg/L) | Incubation time (minutes) | | | | | | | | | | | | Susceptibility by resazurin |
|-----------------------------------|-------------------|---|---------------------------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------------------------------|
| | | | 75 | | | 90 | | | 105 | | | 120 | | | |
| | | | WA | S | R | WA | S | R | WA | S | R | WA | S | R | |
| <i>S. epidermidis</i> (10) | Amikacin | Susceptible (1) | 5.34 | 3.29 | 3.94 | 9.43 | 5.34 | 5.27 | 14.49 | 8.45 | 8.13 | 22.59 | 14.61 | 14.17 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible (2) | 6.72 | 5.39 | 6.41 | 10.29 | 7.23 | 8.40 | 15.44 | 10.27 | 9.57 | 20.82 | 12.17 | 13.28 | Susceptible |
| | Oxacillin | Resistant (>256) | 5.18 | 5.42 | 5.63 | 10.89 | 10.71 | 11.38 | 14.13 | 13.34 | 13.80 | 23.73 | 21.42 | 20.33 | Resistant |
| | Ciprofloxacin | Susceptible (0.24) | 7.94 | 6.74 | 5.91 | 12.32 | 8.36 | 8.67 | 16.28 | 12.92 | 12.41 | 25.30 | 15.93 | 14.19 | Susceptible |
| <i>S. hominis</i> (11) | Amikacin | Susceptible (0.5) | 4.39 | 5.58 | 5.21 | 10.47 | 9.82 | 8.38 | 16.12 | 12.47 | 13.11 | 25.17 | 14.88 | 15.84 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible (1) | 5.74 | 6.23 | 3.86 | 9.36 | 10.47 | 9.04 | 15.83 | 13.35 | 13.39 | 24.84 | 15.72 | 15.73 | Susceptible |
| | Oxacillin | Resistant (32) | 5.16 | 7.82 | 7.31 | 10.50 | 11.29 | 11.85 | 15.54 | 12.64 | 12.88 | 26.05 | 25.95 | 26.46 | Resistant |
| | Ciprofloxacin | Susceptible (1) | 6.22 | 4.19 | 3.99 | 9.28 | 10.51 | 10.60 | 16.91 | 15.39 | 15.23 | 23.18 | 22.50 | 21.24 | Susceptible |
| <i>S. hominis</i> (12) | Amikacin | Susceptible (1) | 9.31 | 7.52 | 6.27 | 15.91 | 9.23 | 9.49 | 24.77 | 11.32 | 11.82 | 30.22 | 14.96 | 15.17 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible (2) | 11.04 | 7.19 | 6.62 | 14.76 | 10.19 | 9.57 | 22.32 | 12.49 | 12.42 | 31.56 | 16.13 | 16.24 | Susceptible |
| | Oxacillin | Susceptible(0.125) | 10.73 | 6.43 | 7.84 | 14.12 | 9.90 | 8.01 | 23.66 | 14.72 | 13.15 | 32.78 | 15.27 | 14.52 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Susceptible (0.008) | 10.68 | 8.55 | 8.51 | 15.47 | 10.38 | 10.25 | 22.72 | 12.21 | 12.94 | 31.63 | 15.36 | 15.66 | Susceptible |
| <i>S. hominis</i> (13) | Amikacin | Susceptible (0.5) | 4.14 | 4.28 | 5.10 | 8.85 | 6.13 | 6.34 | 12.53 | 9.27 | 10.19 | 20.45 | 13.54 | 13.31 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible (1) | 3.36 | 3.69 | 4.72 | 9.26 | 7.26 | 8.93 | 13.15 | 10.94 | 9.77 | 19.19 | 14.21 | 13.15 | Susceptible |
| | Oxacillin | Resistant (>256) | 4.95 | 5.35 | 5.44 | 8.68 | 8.42 | 8.63 | 12.68 | 12.26 | 13.81 | 21.64 | 22.78 | 20.63 | Resistant |
| | Ciprofloxacin | Resistant (>32) | 4.73 | 6.12 | 4.98 | 9.75 | 8.33 | 9.75 | 15.18 | 14.79 | 13.63 | 20.95 | 21.39 | 20.42 | Resistant |
| <i>S. lugdunensis</i> (14) | Amikacin | Susceptible (0.06) | 11.71 | 8.94 | 7.20 | 19.41 | 10.09 | 10.46 | 29.66 | 12.94 | 11.29 | 38.28 | 15.63 | 15.64 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible (0.5) | 14.16 | 7.11 | 7.13 | 22.55 | 9.75 | 10.70 | 30.31 | 13.11 | 13.87 | 39.37 | 16.14 | 15.37 | Susceptible |
| | Oxacillin | Susceptible (0.32) | 15.50 | 8.04 | 9.24 | 20.27 | 11.81 | 11.32 | 33.27 | 13.23 | 12.24 | 41.67 | 14.31 | 14.51 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Susceptible(0.06) | 13.34 | 6.64 | 6.83 | 21.71 | 9.53 | 9.24 | 32.78 | 11.44 | 13.11 | 40.07 | 14.62 | 15.74 | Susceptible |
| <i>S. haemolyticus</i> (15) | Amikacin | Susceptible (1) | 5.49 | 4.53 | 4.26 | 11.83 | 5.16 | 8.95 | 16.45 | 8.97 | 11.81 | 22.13 | 14.57 | 14.63 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible (0.5) | 6.62 | 4.16 | 5.86 | 9.94 | 7.62 | 7.87 | 15.28 | 10.84 | 12.38 | 24.86 | 15.39 | 16.48 | Susceptible |
| | Oxacillin | Susceptible (0.125) | 5.10 | 5.86 | 6.38 | 10.11 | 8.31 | 8.39 | 16.36 | 13.77 | 12.76 | 24.42 | 16.21 | 15.13 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Susceptible (0.24) | 6.75 | 5.48 | 5.63 | 10.25 | 8.95 | 9.28 | 16.76 | 13.14 | 13.94 | 25.74 | 15.70 | 15.89 | Susceptible |

WA: tube without antibiotic; S: tube with antibiotic at breakpoint concentration of susceptibility; R: tube with antibiotic at breakpoint concentration of resistance

later after adding resazurin, results could be interpreted. In this study, in order to reduce the time required to perform the AST, bacteria, resazurin and antibiotic were incubated together. This procedure allowed us to obtain reliable results in less than two hours in staphylococci and enterococci.

In both AST performed using collection and clinical strains, when a colour change from blue to red was observe the percentage of the reduced form of resazurin was, in all cases, higher than 17% (tables 1-5). By testing more strains, we think that it could be possible to define a criterion of susceptibility using the optical density readings. This fact might facilitate the automation of the assay for routine use in clinical microbiology laboratories because the AST could be interpreted by a spectrophotometer.

In addition, resazurin is a potential alternative method for

performing a fast and reliable AST for other microorganisms. In the case of *Mycobacterium tuberculosis*, it is possible to obtain results with an incubation of, at least, eight days¹⁵⁻¹⁸. In yeasts, results can be achieved with an incubation up to 48 hours¹⁹⁻²². Finally, resazurin, in a period of time ranged from 24 to 53 hours, allows determining the cytotoxicity of different drugs against parasites, such as *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi*²³⁻²⁵.

Since MALDI-TOF has revolutionized clinical microbiology laboratories due to the fact that bacterial identification can be obtained in some minutes²⁶, resazurin could be used in commercial panels with a large inoculum of staphylococci, enterococci to provide a faster AST without the need to introduce another methodology in the laboratory. Moreover, given that the change from blue (no growth) to red (growth) is ob-

Table 5 Percentage of the reduced form of resazurin obtained from 15 clinical strains of enterococci

| Bacteria (number of strain) | Antibiotic tested | Susceptibility by commercial methods (E-test MIC: mg/L) | Incubation time (minutes) | | | | | | | | | | | | Susceptibility by resazurin |
|-----------------------------------|-------------------|---|---------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------------------------------|
| | | | 75 | | | 90 | | | 105 | | | 120 | | | |
| | | | WA | S | R | WA | S | R | WA | S | R | WA | S | R | |
| <i>E. faecalis</i> (1) | Ampicillin | Susceptible (0.5) | 15.12 | 6.17 | 7.38 | 21.87 | 10.55 | 11.38 | 34.79 | 13.15 | 12.71 | 45.41 | 15.28 | 15.77 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible (1) | 15.31 | 7.80 | 7.13 | 22.73 | 10.91 | 9.26 | 31.20 | 12.06 | 12.42 | 40.98 | 16.93 | 15.47 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Susceptible (2) | 15.15 | 5.27 | 6.42 | 22.24 | 9.13 | 9.82 | 30.42 | 13.87 | 13.29 | 42.35 | 14.34 | 15.22 | Susceptible |
| <i>E. faecalis</i> (2) | Ampicillin | Susceptible (2) | 13.21 | 7.43 | 6.19 | 19.19 | 11.84 | 10.49 | 29.11 | 13.18 | 12.68 | 37.79 | 13.66 | 13.28 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible (2) | 12.10 | 6.46 | 6.62 | 18.88 | 9.77 | 9.70 | 27.87 | 12.61 | 10.62 | 35.58 | 15.91 | 14.12 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Resistant (>32) | 14.95 | 13.24 | 14.72 | 20.17 | 21.93 | 20.64 | 28.33 | 28.32 | 28.59 | 37.96 | 39.19 | 34.27 | Resistant |
| <i>E. faecalis</i> (3) | Ampicillin | Susceptible (1) | 19.48 | 6.44 | 6.81 | 29.63 | 10.23 | 9.79 | 38.39 | 11.21 | 11.51 | 43.19 | 15.20 | 14.51 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible (0.5) | 18.71 | 6.26 | 5.68 | 29.44 | 8.97 | 9.58 | 41.19 | 13.72 | 13.86 | 50.28 | 16.89 | 14.13 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Susceptible (1) | 21.90 | 5.70 | 7.93 | 28.14 | 9.80 | 9.39 | 40.62 | 12.82 | 13.43 | 52.14 | 15.93 | 15.66 | Susceptible |
| <i>E. faecalis</i> (4) | Ampicillin | Resistant (>256) | 12.43 | 8.63 | 8.37 | 22.69 | 21.54 | 20.96 | 31.48 | 30.74 | 32.11 | 43.33 | 40.27 | 39.26 | Resistant |
| | Vancomycin | Susceptible (2) | 11.54 | 7.59 | 6.31 | 20.06 | 10.68 | 10.45 | 29.56 | 12.83 | 14.27 | 37.69 | 15.64 | 15.78 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Resistant (>32) | 11.75 | 10.70 | 10.47 | 21.91 | 22.11 | 22.93 | 30.67 | 29.39 | 26.84 | 38.81 | 37.31 | 38.31 | Resistant |
| <i>E. faecalis</i> (5) | Ampicillin | Susceptible (2) | 18.95 | 5.34 | 5.10 | 24.28 | 7.25 | 7.02 | 35.18 | 12.58 | 11.18 | 47.26 | 15.73 | 14.71 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible (2) | 19.27 | 3.29 | 4.29 | 25.11 | 5.14 | 5.76 | 33.83 | 12.44 | 9.94 | 43.41 | 14.84 | 13.05 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Susceptible (0.06) | 18.96 | 4.12 | 3.12 | 27.74 | 7.85 | 6.88 | 34.11 | 10.82 | 10.73 | 45.49 | 13.62 | 13.48 | Susceptible |
| <i>E. faecalis</i> (6) | Ampicillin | Susceptible (1) | 5.04 | 3.41 | 3.28 | 12.51 | 6.55 | 7.75 | 19.93 | 10.19 | 10.97 | 33.84 | 15.29 | 15.63 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible (2) | 6.11 | 4.36 | 4.71 | 11.19 | 6.68 | 8.22 | 20.84 | 11.13 | 12.73 | 34.32 | 15.68 | 14.16 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Susceptible (2) | 5.87 | 5.45 | 3.83 | 13.65 | 8.44 | 7.81 | 21.30 | 9.28 | 9.22 | 34.53 | 15.42 | 14.31 | Susceptible |
| <i>E. faecalis</i> (7) | Ampicillin | Susceptible (1) | 12.59 | 4.48 | 5.62 | 20.16 | 7.94 | 6.34 | 31.65 | 12.72 | 11.39 | 40.80 | 15.59 | 14.40 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible (0.5) | 12.56 | 3.75 | 3.97 | 20.37 | 6.39 | 6.12 | 32.26 | 12.54 | 12.18 | 45.74 | 14.38 | 15.98 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Susceptible (1) | 12.88 | 5.11 | 4.64 | 19.84 | 7.47 | 7.23 | 30.32 | 11.17 | 10.59 | 39.36 | 14.89 | 13.17 | Susceptible |
| <i>E. faecalis</i> (8) | Ampicillin | Resistant (16) | 19.16 | 20.51 | 19.94 | 29.27 | 31.26 | 30.87 | 40.26 | 41.12 | 41.62 | 53.88 | 50.47 | 52.12 | Resistant |
| | Vancomycin | Susceptible (2) | 20.48 | 4.42 | 4.37 | 28.12 | 7.31 | 8.55 | 43.57 | 11.48 | 10.79 | 56.55 | 14.78 | 15.29 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Resistant (>32) | 18.84 | 19.18 | 19.28 | 31.55 | 28.12 | 28.26 | 44.40 | 40.23 | 39.82 | 51.47 | 49.51 | 51.66 | Resistant |
| <i>E. faecalis</i> (9) | Ampicillin | Susceptible(1) | 5.34 | 5.73 | 5.85 | 11.76 | 8.42 | 8.40 | 19.78 | 10.92 | 11.58 | 32.75 | 15.92 | 14.53 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible (1) | 4.79 | 4.50 | 3.13 | 12.33 | 8.67 | 7.48 | 20.94 | 12.11 | 12.93 | 29.28 | 14.49 | 15.46 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Susceptible (1) | 6.32 | 5.13 | 4.80 | 10.69 | 9.29 | 6.57 | 18.12 | 11.27 | 9.14 | 30.32 | 16.77 | 14.23 | Susceptible |
| <i>E. faecalis</i> (10) | Ampicillin | Susceptible (2) | 12.97 | 8.71 | 5.17 | 20.28 | 10.97 | 9.24 | 31.38 | 12.16 | 11.98 | 42.68 | 16.12 | 14.79 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible(2) | 13.73 | 6.93 | 7.85 | 20.62 | 11.34 | 9.05 | 30.72 | 12.48 | 12.21 | 45.43 | 15.28 | 15.36 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Susceptible(0.5) | 13.22 | 8.39 | 8.92 | 21.59 | 10.74 | 11.84 | 36.47 | 11.53 | 12.55 | 49.29 | 13.86 | 13.27 | Susceptible |
| <i>E. faecium</i> (11) | Ampicillin | Resistant (>256) | 20.82 | 20.68 | 21.17 | 32.27 | 33.26 | 33.31 | 44.29 | 40.94 | 40.89 | 52.13 | 49.77 | 47.15 | Resistant |
| | Vancomycin | Susceptible(2) | 22.45 | 5.27 | 5.29 | 32.58 | 8.75 | 7.19 | 45.64 | 9.11 | 11.29 | 57.41 | 13.63 | 13.71 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Susceptible (2) | 20.26 | 5.59 | 4.42 | 33.74 | 7.99 | 7.52 | 40.57 | 12.84 | 10.74 | 50.18 | 15.95 | 12.23 | Susceptible |

Table 5 Percentage of the reduced form of resazurin obtained from 15 clinical strains of enterococci (cont.)

| Bacteria (number of strain) | Antibiotic tested | Susceptibility by commercial methods (E-test MIC: mg/L) | Incubation time (minutes) | | | | | | | | | Susceptibility by resazurin | | | |
|-----------------------------------|-------------------|---|---------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------------------------------|-------|-------|-------------|
| | | | 75 | | | 90 | | | 105 | | | | 120 | | |
| | | | WA | S | R | WA | S | R | WA | S | R | | WA | S | R |
| <i>E. faecium</i> (12) | Ampicillin | Resistant (>256) | 11.88 | 10.36 | 12.16 | 20.98 | 19.83 | 19.83 | 32.88 | 30.43 | 29.28 | 44.16 | 39.33 | 41.34 | Resistant |
| | Vancomycin | Susceptible (2) | 12.78 | 5.33 | 7.10 | 19.26 | 8.19 | 8.46 | 31.27 | 11.81 | 12.10 | 40.84 | 14.28 | 15.11 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Susceptible (1) | 10.27 | 6.41 | 4.35 | 22.03 | 8.64 | 9.28 | 30.14 | 12.59 | 13.64 | 43.58 | 15.13 | 15.67 | Susceptible |
| <i>E. faecium</i> (13) | Ampicillin | Resistant (>256) | 19.19 | 18.26 | 18.93 | 29.34 | 28.67 | 27.15 | 38.12 | 35.15 | 36.49 | 47.76 | 48.34 | 48.24 | Resistant |
| | Vancomycin | Susceptible (1) | 20.32 | 6.47 | 5.54 | 32.26 | 9.86 | 8.72 | 36.88 | 12.41 | 12.26 | 46.95 | 14.72 | 16.48 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Susceptible (1) | 22.97 | 4.35 | 4.33 | 33.57 | 7.29 | 10.16 | 40.14 | 11.67 | 11.75 | 50.28 | 15.76 | 15.71 | Susceptible |
| <i>E. faecium</i> (14) | Ampicillin | Susceptible (0.5) | 11.43 | 8.83 | 7.87 | 19.26 | 10.45 | 10.64 | 28.81 | 12.72 | 13.19 | 35.81 | 15.84 | 16.65 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible (2) | 12.99 | 10.27 | 11.22 | 18.83 | 12.17 | 12.58 | 29.42 | 13.13 | 14.64 | 38.43 | 16.21 | 15.18 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Susceptible (1) | 10.55 | 9.34 | 9.23 | 22.52 | 11.59 | 12.44 | 32.28 | 13.46 | 13.82 | 40.11 | 16.44 | 16.38 | Susceptible |
| <i>E. faecium</i> (15) | Ampicillin | Susceptible (1) | 11.63 | 6.28 | 7.22 | 22.58 | 10.30 | 9.71 | 33.27 | 13.12 | 11.63 | 40.35 | 14.18 | 15.63 | Susceptible |
| | Vancomycin | Susceptible (1) | 11.77 | 5.63 | 7.48 | 20.03 | 8.29 | 8.62 | 34.84 | 12.46 | 12.82 | 44.71 | 15.23 | 13.52 | Susceptible |
| | Ciprofloxacin | Susceptible (0.06) | 12.31 | 7.47 | 7.59 | 25.72 | 10.88 | 9.16 | 33.93 | 11.39 | 12.25 | 42.11 | 13.42 | 15.38 | Susceptible |

WA: tube without antibiotic; S: tube with antibiotic at breakpoint concentration of susceptibility; R: tube with antibiotic at breakpoint concentration of resistance

vious, even for wells with reduced or small rates of growth, resazurin could overcome problems frequently encountered in conventional broth microdilution tests, such as inoculum sedimentation or very scant or transparent growth, which occur with some species of bacteria⁷.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by a grant from the Fundación Francisco Soria Melguizo, Spain

REFERENCES

- Pulido MR, Garcia-Quintanilla M, Martin-Pena R, Cisneros JM, McConnell MJ. Progress on the development of rapid methods for antimicrobial susceptibility testing. *J Antimicrob Chemother* 2013;68:2710-7.
- Eigner U, Schmid A, Wild U, Bertsch D, Fahr AM. Analysis of the comparative workflow and performance characteristics of the VITEK 2 and Phoenix systems. *J Clin Microbiol* 2005; 43:3829-34.
- Galar A, Yuste JR, Espinosa M, Guillen-Grima F, Hernaez-Crespo S, Leiva J. Clinical and economic impact of rapid reporting of bacterial identification and antimicrobial susceptibility results of the most frequently processed specimen types. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012; 31:2445-52.
- Lo-Ten-Foe JR, de Smet AM, Diederer BM, Kluytmans JA, van Keulen PH. Comparative evaluation of the VITEK 2, disk diffusion, estest, broth microdilution, and agar dilution susceptibility testing methods for colistin in clinical isolates, including heteroresistant *Enterobacter cloacae* and *Acinetobacter baumannii* strains. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:3726-30.
- Endtz HP, Van Den Braak N, Van Belkum A, et al. Comparison of eight methods to detect vancomycin resistance in enterococci. *J Clin Microbiol* 1998;36:592-4.
- Ahmed SA, Gogal RM, Jr., Walsh JE. A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes: an alternative to [3H]thymidine incorporation assay. *J Immunol Methods* 1994;170:211-24.
- Baker CN, Banerjee SN, Tenover FC. Evaluation of Alamar colorimetric MIC method for antimicrobial susceptibility testing of gram-negative bacteria. *J Clin Microbiol* 1994;32:1261-7.
- Coban AY, Darka O, Tasdelen Fisgin N, et al. The resazurin microplate method for rapid detection of vancomycin resistance in enterococci. *J Chemother* 2005;17:361-6.
- Coban AY. Rapid determination of methicillin resistance among *Staphylococcus aureus* clinical isolates by colorimetric methods. *J Clin Microbiol* 2012;50:2191-3.
- Coban AY, Bozdogan B, Cihan CC, et al. Two new colorimetric methods for early detection of vancomycin and oxacillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2006;44:580-2.
- EUCAST Definitive Document E.DEF 3.1, June 2000: Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by agar dilution. *Clin Microbiol Infect* 2000;6:509-15.
- alamarBlue® Assay. Available at http://tools.lifetechnologies.com/content/sfs/manuals/PI-DAL1025-1100_TI%20alamarBlue%20Rev%201.1.pdf. Accessed 10 September 2014
- The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing-

- EUCAST. 2014. Available at: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/. Accessed 10 September 2014.
14. Food and Drug Administration. Guidance on Review Criteria for Assessment of Antimicrobial Susceptibility Devices. 2009 Available at: <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/98fr/000109gd.pdf>. Accessed 10 September 2014.
 15. Campanerut PA, Ghiraldi LD, Sposito FL, et al. Rapid detection of resistance to pyrazinamide in *Mycobacterium tuberculosis* using the resazurin microtitre assay. *J Antimicrob Chemother* 2011;66:1044-6.
 16. Coban AY, Uzun M, Akgunes A, Durupinar B. Comparative evaluation of the microplate nitrate reductase assay and the resazurin microtitre assay for the rapid detection of multidrug resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2012;107:578-81.
 17. Dixit P, Singh U, Sharma P, Jain A. Evaluation of nitrate reduction assay, resazurin microtiter assay and microscopic observation drug susceptibility assay for first line antitubercular drug susceptibility testing of clinical isolates of *M. tuberculosis*. *J Microbiol Methods* 2012;88:122-6.
 18. Nour MS, El-Shokry MH, Shehata IH, Abd-El Aziz AM. Evaluation of resazurin microtiter assay and high resolution melting curve analysis for detection of rifampicin and isoniazid resistance of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates. *Clin Lab* 2013;59:763-71.
 19. Pfaller MA, Barry AL. Evaluation of a novel colorimetric broth microdilution method for antifungal susceptibility testing of yeast isolates. *J Clin Microbiol* 1994;32:1992-6.
 20. To WK, Fothergill AW, Rinaldi MG. Comparative evaluation of macrodilution and alamar colorimetric microdilution broth methods for antifungal susceptibility testing of yeast isolates. *J Clin Microbiol* 1995;33:2660-4.
 21. Kauffman CA, Zarins LT. Colorimetric method for susceptibility testing of voriconazole and other triazoles against *Candida* species. *Mycoses* 1999;42:539-42.
 22. Tiballi RN, He X, Zarins LT, Revankar SG, Kauffman CA. Use of a colorimetric system for yeast susceptibility testing. *J Clin Microbiol* 1995;33:915-7.
 23. Shimony O, Jaffe CL. Rapid fluorescent assay for screening drugs on *Leishmania* amastigotes. *J Microbiol Methods* 2008;75:196-200.
 24. Rolon M, Vega C, Escario JA, Gomez-Barrío A. Development of resazurin microtiter assay for drug sensibility testing of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. *Parasitol Res* 2006;99:103-7.
 25. Mikus J, Steverding D. A simple colorimetric method to screen drug cytotoxicity against *Leishmania* using the dye Alamar Blue. *Parasitol Int* 2000;48:265-9.
 26. Fournier PE, Drancourt M, Colson P, Rolain JM, La Scola B, Raoult D. Modern clinical microbiology: new challenges and solutions. *Nat Rev Microbiol* 2013;11:574-85.

Miriam García-Gómez^{1,2}
Laura Guío^{1,2}
José Luis Hernández^{2,3}
Begoña Vilar^{2,3}
José Ignacio Pijoán^{2,4,5}
José Miguel Montejo^{1,2}

Bacteriemias por enterobacterias productoras de beta-lactamasas (BLEE, AmpC y carbapenemasas): asociación con los cuidados sanitarios y los pacientes oncológicos

¹Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Cruces, Bizkaia, España.

²BioCruces Health Research Institute.

³Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Cruces, Bizkaia, España.

⁴Unidad de Epidemiología Clínica y Soporte Metodológico, Hospital Universitario Cruces, Bizkaia, España.

⁵CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), España.

RESUMEN

Introducción. Las bacteriemias por enterobacterias multirresistentes suponen un gran motivo de preocupación actualmente. Para conocer el impacto de dichas infecciones en nuestra área, realizamos el presente estudio.

Método. Estudio observacional prospectivo de una cohorte de pacientes con bacteriemia por enterobacterias productoras de BLEE y otras beta-lactamasas (BE-BL) ingresados en el Hospital Universitario Cruces durante 2 años. Estudio descriptivo y análisis de mortalidad y por subgrupos, con especial atención a los pacientes oncológicos.

Resultados. Durante el periodo estudiado, se diagnosticaron 3.409 episodios de bacteriemia, de los cuales 124 (3,6%) fueron BE-BL. El 40,3% de los casos fueron de origen nosocomial, el 15,3% comunitario y el 44,4% asociados a cuidados sanitarios. El 44,4% de la cohorte presentaba cáncer. La presencia de *E. coli* fue mayoritaria en las BE-BL de cualquier foco (83%). El 58,1% recibió un tratamiento empírico inadecuado. La mortalidad a los 7 días fue del 10,5% y a los 30 días del 21,8%. Ninguna de las variables analizadas mostró asociación con la mortalidad a los 7 y 14 días, aunque la presencia de cáncer de órgano sólido ($p=0,032$) así como de infección por VIH en estadio avanzado ($p=0,027$), se asociaron con una mayor mortalidad a los 30 días.

Conclusiones. Más de la mitad de los casos de BE-BL fueron de origen extra-hospitalario, y dentro de ellos, fueron mayoritarios los casos asociados a cuidados sanitarios. A pesar de que más de la mitad de los pacientes recibieron un tratamiento antibiótico empírico inadecuado, este hecho no se asoció a mayor mortalidad; encontrándose únicamente una asociación entre mortalidad a los 30 días y presencia de neoplasia sólida subyacente o de VIH avanzado.

Palabras clave: Beta-lactamasas de Espectro Extendido; Bacteriemia; Infección asociada a cuidados sanitarios.

Bacteraemia due to extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) and other beta-lactamases (ampC and carbapenemase) producing *Enterobacteriaceae*: association with health-care and cancer

ABSTRACT

Introduction. Bloodstream infections due to multiresistant *Enterobacteriaceae* are a major matter of concern nowadays. The present study evaluated the impact of these infections in our area.

Methods. Prospective observational study of a cohort of patients with bacteraemia due to extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) and other beta-lactamases producing organisms among hospitalized patients in Cruces Hospital for 2 years. We conducted a descriptive analysis, a subgroup analysis (cancer vs. non-cancer patients) and a mortality analysis.

Results: During the study period, 3409 episodes of bacteraemia were diagnosed, of which 124 (3.6%) were ESBL and other beta-lactamases producing *Enterobacteriaceae*. 40.3% of the cases were nosocomial, 15.3% community acquired and 44.4% were health-care associated. 44.4% of the cohort had cancer as underlying disease. The most commonly isolated organism was *E. coli* (83% of cases), regardless of the source of infection. 58.1% of patients received inadequate empirical therapy. 7 day-mortality was 10.5% and 30 day-mortality was 21.8%. None of the analyzed variables showed association with 7 and 14 day-mortality, but the presence of solid cancer ($p=0.032$) and advanced HIV infection ($p=0.027$), were significantly associated with higher 30 day-mortality.

Conclusions. More than half of bacteraemia episodes affected outpatients and most of them were health-care associated episodes. Even though more than half of the patients received inadequate empirical treatment, this was not related to higher mortality. We only found an association between 30 day-mortality and the presence of underlying solid malignancy or advanced HIV infection.

Keywords: Extended-Spectrum Beta-Lactamases; Bacteraemia; Health-care associated infections.

Correspondencia:
Dra. Miriam García Gómez.
Unidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Cruces.
Plaza de Cruces s/n, 48903, Barakaldo, Bizkaia, España.
Email: miriam.garciagomez@osakidetza.net

INTRODUCCIÓN

Las beta-lactamasas (BL) se han convertido en uno de los mecanismos de resistencia más importantes de las bacterias gramnegativas (BGN) en las últimas décadas. Dentro de ellas, las beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE), las beta-lactamasas tipo AmpC y las carbapenemasas suponen un gran problema en la actualidad, debido a las limitaciones terapéuticas eficaces para su erradicación. El último informe de la European Center for Disease Prevention and Control alerta de un aumento general de la resistencia a los antimicrobianos en toda Europa en los patógenos gramnegativos vigilados¹. Hay múltiples factores de riesgo asociados a la adquisición de infecciones por BGN productores de BL que, según los estudios publicados, difieren en función del origen nosocomial o comunitario de las mismas. A pesar de que existen resultados contradictorios en las publicaciones, hay una gran coincidencia en que estas infecciones multirresistentes confieren un peor pronóstico al cuadro clínico²⁻⁸. La presencia de cáncer como factor de riesgo se ha analizado ampliamente en estudios previos, observándose una mayor frecuencia de tratamiento antibiótico empírico inadecuado y una mayor mortalidad, especialmente en el caso de neoplasias sólidas⁹⁻¹². El objetivo del presente estudio fue describir las características epidemiológicas, clínicas, microbiológicas y terapéuticas de una cohorte de pacientes con bacteriemia por enterobacterias productoras de BLEE y otras beta-lactamasas (BE-BL) en nuestro centro, y analizar los factores pronósticos asociados a mortalidad, particularmente en la cohorte de pacientes con cáncer.

MATERIAL Y MÉTODOS

Selección de casos y diseño del estudio. Se trata de un estudio observacional prospectivo de una cohorte de pacientes

con BE-BL ingresados en nuestro hospital durante un periodo de tiempo de 2 años (abril 2011- abril 2013). El Hospital Universitario Cruces es un centro terciario situado en Barakaldo, en la provincia de Bizkaia, con unas 900 camas y más de 50.000 ingresos anuales, que atiende a una población de más de 370.000 habitantes. Es además hospital de referencia regional en Cirugía Cardíaca Infantil, Trasplante Renal, Trasplante Hepático y Grandes Quemados. Se recogió información de la historia clínica de los pacientes en una base de datos informatizada y con variables pre-definidas. Para el análisis, cada episodio de BE-BL se consideró un caso. Las variables estudiadas se describen en la tabla 1. Dado que el estudio era observacional, y no de intervención, el manejo clínico del episodio infeccioso lo realizó su médico responsable, sin que los investigadores del estudio ejercieran ninguna influencia sobre las decisiones diagnóstico-terapéuticas.

Definiciones. De forma simplificada hablaremos de bacteriemias por enterobacterias productoras de beta-lactamasas (BE-BL), sin especificar el tipo de BL (BLEE, AmpC o carbapenemasa), salvo en el apartado específico de microbiología. Clasificamos las bacteriemias según su lugar de adquisición en: comunitarias, asociada a cuidados sanitarios, y nosocomiales. Consideramos de origen nosocomial a aquellas bacteriemias que tuvieron lugar a partir de las 48 horas desde el ingreso hospitalario y bacteriemia asociada a cuidados sanitarios (ACS) a las que cumplían alguno de los siguientes criterios: ingreso (de > 48 horas de duración) en un hospital de agudos en los últimos 3 meses; atención especializada en hospitalización domiciliaria u hospital de día en el mes previo a la bacteriemia (incluyendo la realización de procedimientos endoscópicos digestivos y/o urinarios y/o otros procedimientos invasivos como sondaje vesical o catéteres intravenosos); y hemodiálisis en el último mes o pacientes residentes en centros socio sanitarios o de crónicos. Las bacteriemias que no cumplían ninguna de las características anteriores fueron clasificados como comu-

| Tabla 1 | Variables estudiadas | |
|-----------------------|---|--|
| Datos demográficos | Edad, sexo | |
| Datos del paciente | Origen | Comunitario, nosocomial, asociado cuidados sanitarios |
| | Comorbilidad | Índice de Charlson, IRC, DM |
| | Inmunosupresión | Cáncer (sólido/hematológico), trasplante, quimioterapia activa, corticoterapia, tratamiento biológico, VIH estadio 3 |
| Datos clínicos | Gravedad del episodio | Pitt score, presencia de sepsis/shock séptico |
| | Foco de origen de la bacteriemia, tratamiento antibiótico empírico, tratamiento antibiótico dirigido, adecuación del tratamiento antibiótico, tiempo de instauración del tratamiento definitivo, estancia media | |
| Datos microbiológicos | Mortalidad | Temprana Tardía |
| | | Tipo de enterobacteria |
| | | Tipo de beta-lactamasa Antibiograma |

IRC: insuficiencia renal crónica, DM: diabetes mellitus

nitarias (tienen su origen en la comunidad y es detectada dentro de las primeras 48 horas de hospitalización, no mediando durante ese periodo ninguna actividad asistencial que pueda haberla inducido)^{2,13,14}. La severidad de la infección fue evaluada en el momento de la instauración de la bacteriemia mediante el índice de "Pittsburgh Bacteremia Score". Sepsis grave y shock séptico: definidos según los criterios de consenso de la International Sepsis Definitions Conference¹⁵. Insuficiencia renal crónica (IRC): pérdida irreversible de la función renal calculada como un filtrado glomerular < 50 ml/min/1.73 m². Neutropenia: recuento absoluto de neutrófilos en sangre <1000 células/mm³. Incluimos dentro del grupo de inmunosupresión a aquellos pacientes en tratamiento quimioterápico activo, tratamiento corticoideo (>15 mg/día durante más de 15 días), tratamiento con inmunosupresores clásicos y fármacos biológicos, neutropenia de cualquier origen e infección por VIH estadio 3. Tratamiento empírico y definitivo adecuado: administración de un régimen terapéutico como tratamiento empírico o definitivo, respectivamente, que contenga al menos un antibiótico activo frente al microorganismo (demostrado mediante sensibilidad *in vitro*)¹⁶. Retraso de tratamiento adecuado: tiempo (días) transcurridos entre el diagnóstico de bacteriemia y la instauración de tratamiento específico adecuado. Estancia hospitalaria: días transcurridos desde el episodio de bacteriemia hasta el alta hospitalaria o fallecimiento en el centro. Mortalidad precoz: muerte por cualquier causa en los 7 primeros días tras el diagnóstico de bacteriemia. Mortalidad tardía: muerte por cualquier causa en los 30 días tras el diagnóstico de bacteriemia.

Estudio microbiológico. Procesamiento de hemocultivos: Los hemocultivos se procesaron por el sistema BACTEC 9240 (Becton-Dickinson). Pruebas de identificación bacteriana y sensibilidad antibiótica: Todas las enterobacterias se identificaron y se estudió la sensibilidad por el sistema automatizado VITEK 2 (BioMérieux). La interpretación de la sensibilidad se realizó siguiendo los criterios del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Pruebas fenotípicas de confirmación de BLEE: Para la confirmación fenotípica de BLEE se utilizó el test de sinergismo con ácido clavulánico. Para ello realizamos dos técnicas: prueba de sinergia de doble disco y con tiras de E-test®. En el caso de la *Klebsiella oxytoca* con un perfil compatible con hiperproducción de k1, resistencia a ceftriaxona y aztreonam pero sensibilidad mantenida a ceftazidima, se enviaron al centro de referencia para estudio molecular de BLEE. En ausencia de detección de éstas se consideró hiperproducción de k1. Pruebas fenotípicas de confirmación de AmpC: Para la confirmación fenotípica de AmpC se utilizó la prueba del sinergismo con cloxacilina. Pruebas fenotípicas de detección de CBPM: Se utilizó el test de Hodge modificado (siguiendo las normas del CLSI), que detecta cualquier tipo de carbapenemasa, y pruebas de sinergismo con EDTA, que son específicas de las metalo-betalactamas. Todas las cepas sospechosas de ser productoras de CBPM, AmpC y k1 hiperproducida se enviaron al centro de referencia Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid para su estudio molecular.

Análisis de los datos (análisis estadístico). Los datos

fueron analizados mediante el software estadístico Stata v12.1 (StataCorp. 2011. Stata Statistical Software: Release 12. College Station, TX: StataCorp LP). Las variables categóricas se describen como frecuencias (%) y las continuas como medias con desviación estándar (DE) o medianas con rangos en función de las características distribucionales de los datos. Para evaluar la existencia de potenciales predictores de la mortalidad se utilizaron modelos de regresión logística binaria con la muerte a los 7, 14 y 30 días respectivamente como variables respuesta. Se evaluaron los siguientes factores pronósticos potenciales: la existencia de cáncer y tipo (sólido o hematológico), neutropenia, exposición a tratamiento quimioterápico, corticoterapia y/o tratamientos inmunosupresores y biológicos, la existencia de una infección por VIH estadio C3 y el estado de receptor de un trasplante. Aquellos factores que de forma bivalente presentaban una $p < 0,2$ en su asociación con la mortalidad fueron incluidos en un modelo de regresión múltiple. El nivel de significación estadística para cada variable en el modelo final fue del 5%. Se excluyó del análisis de mortalidad a 6 pacientes en los que no se instauró tratamiento antibiótico, dado que se adoptaron medidas paliativas debido a su enfermedad de base (análisis de mortalidad en 118 pacientes).

RESULTADOS

Análisis descriptivo. Durante el periodo estudiado, se diagnosticaron en nuestro Hospital 3.409 episodios de bacteriemia, de los cuales 1.208 (35,4%) fueron causados por enterobacterias y 124 episodios fueron causados por enterobacterias portadoras de BL, lo que supone el 3,6 % de las bacteriemias totales y el 10,3% de las bacteriemias por enterobacterias. De los 124 casos de BE-BL detectados, 80 (64,5%) fueron en varones y 44 (35,5%) en mujeres. La edad media fue de $68,2 \pm 15,4$ años. El 40,3% (50 casos) de los casos fueron de origen nosocomial, el 15,3% (19 casos) comunitario y el 44,4% (55 casos) fueron ACS. La mediana del Índice de Charlson fue de 4,5 (rango 0-13), siendo más bajo en mujeres (mediana 4) que en varones (mediana 5), aunque sin significación estadística. Respecto al Pitt Score, la mediana fue de 2 (rango 0-10). El 38,7% de las bacteriemias (48 casos) debutaron como sepsis grave/shock séptico. Los focos de bacteriemia más frecuentes fueron el urinario y el biliar (en ambos 53 casos: 42,7%), seguidos del de piel y partes blandas (7 casos: 5,7%), respiratorio (6 casos: 4,8%), dispositivo intravascular (3 casos: 2,4%) y otros (2 casos: 1,6%). En mujeres fue más frecuente el foco digestivo (21/44) y en los hombres el urinario (39/80) seguido del digestivo (32/80). Cincuenta y cinco pacientes (44,4%) presentaban cáncer (38 sólidos, 17 hematológicos), 35 pacientes eran diabéticos (28,2%) y 25 pacientes sufrían insuficiencia renal crónica (20,2%). Diez pacientes habían recibido un trasplante de órgano sólido: 8 renal, 1 hepático y 1 pulmonar. Treinta y un pacientes (25%) estaban inmunodeprimidos, de los cuales 11 recibían tratamiento quimioterápico (8,9%), 17 corticoterapia (13,7%), 10 terapia biológica (8%) y 4 presentaban infección por VIH estadio 3 (3,2%). La caracterización microbiológica y la sensibilidad antibiótica *in vitro* quedan recogidas en las tablas

2 y 3, respectivamente. La presencia de *E. coli* fue mayoritaria en las BE-BL de cualquier foco (83%). Destaca la presencia de *K. pneumoniae* en pacientes con trasplante renal y en los tratados con corticoterapia, respecto a otros gérmenes, así como su ausencia en otros tipos de poblaciones consideradas clásicamente de riesgo para este microorganismo (neutropénicos, oncohematológicos y diabéticos). Respecto al tratamiento empírico, 52 pacientes (41,9%) fueron tratados con un beta-lactámico/inhibidor de beta-lactamasa, 37 (29,8%) con un carbapenémico, 23 (18,6%) con una cefalosporina, 8 (6,5%) con una fluoroquinolona y 2 (1,6%) con tigeciclina. Dos pacientes (1,6%) no recibieron ningún tratamiento antibiótico empírico debido a la situación clínica de gravedad que presentaban, habiéndose decidido por su médico responsable la limitación del esfuerzo terapéutico. Setenta y dos pacientes (58,1%) recibieron un tratamiento empírico inadecuado, sin apreciarse diferencias estadísticamente significativas por el hecho de pertenecer a un grupo específico de pacientes. En relación al tratamiento definitivo, 105 pacientes (84,7%) recibieron un carbapenémico, 7 (5,7%) un betalactámico/inhibidor de beta-lactamasa, 2 (1,6%) cotrimoxazol, 2 (1,6%) tigeciclina, 1 (0,8%) cefepima y otro (0,8%) ciprofloxacino. Doce pacientes (9,7%) de la cohorte no tenían un tratamiento definitivo adecuado, 6 (4,8%) de los cuales no recibieron ningún antibiótico, al ser adoptada en estos casos una actitud paliativa por su médico correspondiente por tratarse de situaciones clínicas terminales. En cuanto al tiempo hasta la instauración del régimen definitivo adecuado, se consiguió en las primeras 48 horas en el 72,3% de los casos, y más allá de las primeras 48 horas en el 27,7%. La mediana de estancia hospitalaria fue de 18,5 días (rango 0-132 días). La mortalidad precoz fue del 10,5% y la tardía del 21,8%, existiendo una mortalidad tardía superior en varones (25% vs. 15,9%) sin significación estadística ($p=0,241$). En la tabla 4 se recogen los datos de mortalidad en función del lugar de adquisición de la bacteriemia.

Análisis por subgrupos (oncológicos vs. no oncológicos). De los pacientes oncológicos, 36 (65,4%) eran varones y 19 (34,6%) mujeres, con una media de edad de $65,2 \pm 15,0$ años vs. $70,6 \pm 15,4$ años de los pacientes no oncológicos ($p=0,053$). Las características basales de ambos subgrupos, así como su análisis comparativo quedan reflejados en la tabla 5. Cabe mencionar que en el grupo de pacientes oncológicos el origen más frecuente de la bacteriemia fue el digestivo, mientras que en los no oncológicos fue el urinario, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p=0,002$). La mediana del Pitt Score en los pacientes oncológicos fue de 2 (rango 0-9) mientras que en pacientes no oncológicos fue de 1 (rango 0-10), con una significación estadística marginal ($p=0,060$). Treinta y cinco pacientes del grupo oncológico (63,6%) recibieron un tratamiento empírico inadecuado frente a 37 pacientes de grupo no oncológico (53,5%), sin existir significación estadística. Tampoco existieron diferencias en el tiempo de retraso de instauración de tratamiento definitivo entre ambos grupos. La mediana de estancia hospitalaria en pacientes oncológicos fue de 17 días (rango 0-132) vs. 20 días (rango 1-126) en pacientes no oncológicos ($p=0,474$). La mortalidad fue mayor en

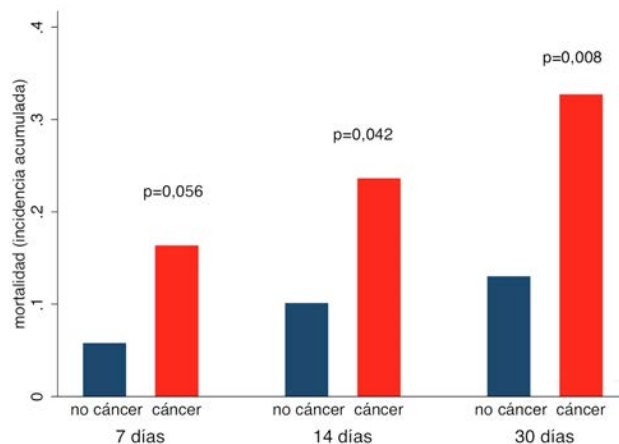


Figura 1 Mortalidad a los 7,14 y 30 días en pacientes oncológicos vs. no oncológicos

Tabla 2 Caracterización microbiológica

| Microorganismo productor de BE-BL | Total de aislamiento (n=124) |
|-----------------------------------|------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> | 104 (83,9%) |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 12 (9,7%) |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> | 4 (3,2%) |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 2 (1,6%) |
| <i>Citrobacter</i> spp. | 1 (0,8%) |
| <i>Proteus mirabilis</i> | 1 (0,8%) |

BE-BL = Bacteriemias por enterobacterias productoras de beta-lactamasas

Tabla 3 Sensibilidad antibiótica *in vitro*

| Agente antimicrobiano | Total de cepas sensibles aisladas (n=124) |
|-----------------------|---|
| Amikacina | 104 (83,9%) |
| Gentamicina | 86 (69,4%) |
| Ciprofloxacino | 25 (20,1%) |
| Cotrimoxazol | 39 (31,4%) |
| Imipenem | 123 (99,2%) |

pacientes oncológicos en comparación con los no oncológicos en los tres puntos temporales estudiados aunque esta diferencia fue estadísticamente significativa solo a los 14 ($p=0,042$) y los 30 días ($p=0,008$) (figura 1).

Análisis de mortalidad. Se realizó un análisis de mortalidad a los 7, 14 y 30 días desde el diagnóstico de bacteriemia para tratar de identificar las variables asociadas con mortalidad. Se excluyó del análisis a 6 pacientes en los que no se

| Mortalidad | Nosocomial | Comunitaria | Asociada a cuidados sanitarios | Global |
|------------|-------------|--------------|--------------------------------|----------------|
| Día 7 | 7/50 (14%) | 1/19 (5,2%) | 5/55 (9%) | 13/124 (10,5%) |
| Día 14 | 9/50 (18%) | 1/19 (5,2%) | 10/55 (18,2%) | 20/124 (16,1%) |
| Día 30 | 13/50 (26%) | 3/19 (15,8%) | 11/55 (20%) | 27/124 (21,8%) |

| | Oncológicos (n=55) | No oncológicos (n=69) | p* |
|--------------------------------|--------------------|-----------------------|-------|
| Lugar de adquisición | | | |
| Asociada a cuidados sanitarios | 24 (43,64%) | 31 (44,93%) | 0,16 |
| Comunitaria | 5 (9,09%) | 14 (20,29%) | |
| Nosocomial | 26 (47,27%) | 24 (34,78%) | |
| Foco de origen | | | |
| Urinario | 14 (25,45%) | 39 (56,52%) | 0,002 |
| Intestinal | 30 (54,55%) | 23 (33,33%) | |
| Partes blandas | 3 (5,45%) | 4 (5,80%) | |
| Respiratorio | 3 (5,45%) | 3 (4,35%) | |
| Asociado a catéter | 3 (5,45%) | 0 | |
| Otros | 2 (3,64%) | 0 | |
| Microorganismo BE-BL | | | |
| <i>E. coli</i> | 48 (87,27%) | 56 (81,16%) | 0,16 |
| <i>K. pneumoniae</i> | 2 (3,64%) | 10 (14,49%) | |
| <i>K. oxytoca</i> | 2 (3,64%) | 2 (2,90%) | |
| <i>E. cloacae</i> | 1 (1,82%) | 1 (1,45%) | |
| <i>Citrobacter spp.</i> | 1 (1,82%) | 0 | |
| <i>P. mirabilis</i> | 1 (1,82%) | 0 | |
| Tratamiento empírico | | | |
| No tratamiento empírico | 2 (3,64%) | 0 | 0,45 |
| Carbapenémicos | 16 (29,09%) | 21 (30,43%) | |
| BLBLI | 23 (41,82%) | 29 (42,03%) | |
| Cefalosporinas | 9 (16,36%) | 14 (20,29%) | |
| Fluoroquinolonas | 3 (5,45%) | 5 (7,25%) | |
| Tigeciclina | 2 (3,64%) | 0 | |
| Tratamiento definitivo | | | |
| No tratamiento definitivo | 5 (9,09%) | 2 (2,90%) | 0,29 |
| Carbapenémicos | 45 (81,82%) | 60 (86,96%) | |
| BLBLI | 3 (5,45%) | 4 (5,80%) | |
| Cotrimoxazol | 0 | 2 (2,90%) | |
| Fluoroquinolonas | 1 (1,82%) | 0 | |
| Tigeciclina | 1 (1,82%) | 0 | |
| Cefepima | 0 | 1 (1,45%) | |

instauró tratamiento antibiótico, dado que se adoptaron medidas paliativas debido a la gravedad de su enfermedad de base (n=118). Ninguno de los potenciales predictores evaluados se asoció significativamente a mortalidad precoz en el análisis univariante ni en el multivariante. En cuanto a la mortalidad en el día 14, se encontró

únicamente una tendencia a mayor mortalidad de los pacientes con VIH avanzado (p= 0,069), sin que esta asociación fuera estadísticamente significativa. En el análisis multivariante de mortalidad a los 30 días, la presencia de cáncer o infección por VIH en estadio avanzado se asoció significativamente con una mayor mortalidad (neoplasia sólida, p= 0,032; VIH estadio 3, p=0,027).

DISCUSIÓN

Todos los autores europeos describen un aumento notable en los últimos años de las infecciones por enterobacterias productoras de BL¹⁷⁻²⁰. Durante el año 2000 un estudio español multicéntrico¹⁹ de infecciones por *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE, objetivó una prevalencia de BLEE del 2,7% en *K. pneumoniae* y del 0,5% en *E. coli*. En 2006, se desarrolló un segundo estudio nacional comparativo, constatándose un incremento considerable de su prevalencia: 5,04% en *K. pneumoniae* y 4,04% en *E. coli*²⁰. Unido a este incremento en su prevalencia, se ha observado un cambio en la epidemiología de estas infecciones. Así, a finales de los años 90, la mayoría de las cepas productoras de BLEE estaban relacionadas con brotes nosocomiales y raramente asociadas a infecciones adquiridas en la comunidad; la prevalencia de producción de BLEE era mayor en cepas de *K. pneumoniae* que en *E. coli*^{17,18,20}. Esta situación ha cambiado en los últimos años y la mayoría de cepas BLEE aisladas, son ahora *E. coli*, de origen comunitario y asociadas a infecciones urinarias^{2,21}. También se describe una mayor incidencia de estas infecciones en centros de crónicos y asociadas a cuidados sanitarios¹⁸. Esto es especialmente preocupante, ya que refleja la cada vez mayor participación de los patógenos multirresistentes en infecciones adquiridas en la comunidad, hecho que podría asociarse a una mayor morbi-mortalidad. Ya en el 2006, Rodríguez-Baño et al. describen

* test exacto de Fisher, BIBLI= beta-lactámico/inhibidor de beta-lactamasas.

en un estudio de bacteriemias por *E. coli* BLEE que el 49% de los casos fueron nosocomiales, el 19% comunitarias puras, siendo el 32% de los casos restantes asociados a los cuidados sanitarios²¹. Este nuevo escenario epidemiológico, también se observa en nuestro estudio, ya que más de la mitad de BE-BL fueron de origen extrahospitalario: el 44,4% estaban asociados a cuidados sanitarios y el 15,3% eran puramente comunitarias, siendo *E. coli* el germen implicado en casi el 85% de los casos.

Las opciones de tratamiento en las infecciones causadas por estos microorganismos son limitadas, ya que presentan resistencia a cefalosporinas (excepto cefamicinas), penicilinas de amplio espectro y aztreonam. Además, con frecuencia, los plásmidos que codifican esta resistencia portan genes de resistencia a otros antibióticos, como las quinolonas, aminoglucósidos y cotrimoxazol, y el fenómeno de resistencia cruzada es muy frecuente^{1,18,21-23}. Esta multiresistencia dificulta enormemente la selección de un tratamiento adecuado¹⁷. Estudios españoles de los últimos años^{21,24} describen resistencias de *E. coli* BLEE a ciprofloxacino de 68-89%, y a cotrimoxazol de 64-82%, datos concordantes con los de nuestro estudio, con resistencias a quinolonas y cotrimoxazol de 79,8% y 68,6% respectivamente. Por tanto, el uso de ambos grupos de antibióticos en regímenes empíricos no estaría indicado. Asimismo, existen datos insuficientes para recomendar su uso en el tratamiento definitivo de estas infecciones⁸, aunque podrían considerarse como alternativa a los carbapenémicos si se demuestra su susceptibilidad *in vitro*^{8,23,25}. Teniendo en cuenta la evidencia disponible, los carbapenémicos deberán ser considerados los fármacos de elección para el tratamiento de infecciones graves causadas por estos microorganismos⁸.

Otro aspecto importante a destacar es el hecho de que casi un 45% de nuestra cohorte presentaba neoplasia como enfermedad de base, fenómeno descrito también por otros autores⁵. Un estudio español publicado por Gudiol et al. en 2008 realizado en pacientes con neoplasias (sólidas y hematológicas) mostraba que los pacientes con bacteriemia por *E. coli* BLEE recibían más frecuentemente un tratamiento empírico inadecuado que aquellos con bacteriemia por *E. coli* no BLEE, y que el primer grupo se asociaba con mayor tasa de mortalidad global, aunque las diferencias no eran estadísticamente significativas⁹. Kang et al., en cambio, describen en una población con neoplasias hematológicas una mortalidad significativamente mayor en los pacientes con bacteriemia por BLEE frente a bacteriemia no BLEE (44,8% vs. 14,2%, respectivamente; $p < 0,001$)¹¹. En nuestro estudio, los pacientes oncológicos presentaban una mortalidad significativamente mayor a los 30 días desde el diagnóstico de bacteriemia en comparación al grupo no oncológico. Esta diferencia se debe principalmente a la alta mortalidad de los pacientes con tumores sólidos.

Existe gran controversia respecto a las implicaciones pronósticas que tienen las BE-BL, ya que así como algunos estudios no encuentran una asociación significativa entre su presencia y un mayor fracaso terapéutico o mortalidad²⁴, otros concluyen que la presencia de estos organismos confiere peor pronóstico al cuadro clínico^{2-8,26}. Para varios autores, la mortalidad en bacteriemias por estos microorganismos multirre-

sistentes se relaciona con el uso de un tratamiento empírico inadecuado^{2,5,6,12,21,26}; con la severidad de la infección^{2,11,26} y con la presencia de enfermedad de base grave (fundamentalmente cáncer) y/o coexistencia de varias comorbilidades⁵. En nuestro estudio, las enfermedades de base son las que más influyen en la mortalidad, asociándose de forma significativa con mortalidad a los 30 días el hecho de tener un cáncer de estirpe sólida o padecer infección por VIH en estadio avanzado. Es importante mencionar que a pesar de que el 58,1% de los pacientes del presente estudio recibiera un tratamiento empírico inadecuado, este hecho no se asoció con una mayor mortalidad.

Las principales limitaciones de nuestro estudio son su naturaleza observacional, el ser unicéntrico, el no disponer de un grupo control de comparación, el tamaño muestral que no permite un análisis detallado de determinados subgrupos y la ausencia de tipificación genotípica del tipo de BLEE.

Se puede concluir que en nuestro medio, más de la mitad de las BE-BL fueron de origen extra-hospitalario, siendo la población asociada a cuidados sanitarios y la de pacientes con neoplasia sólida subyacente las más representadas en la cohorte, mostrando estos últimos además una mayor mortalidad tardía respecto a otros grupos. Otros factores, como la presencia de VIH avanzado se asociaron también a mayor mortalidad a los 30 días. Más de la mitad de los pacientes recibieron un tratamiento antibiótico empírico inadecuado, no obstante, este hecho no se asoció en nuestro estudio a mayor mortalidad.

FINANCIACIÓN

Los autores declaran no haber recibido ningún tipo de financiación para la realización de este estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. European Antimicrobial Surveillance System (EARSS) data. En <http://www.earss.rivm.nl>.
2. Rodríguez-Baño J, Picón E, Gijón P, Hernández JR, Ruiz M, Peña C. Community-onset bacteremia due to extended-spectrum-lactamase-producing *Escherichia coli*: risk factors and prognosis. Clin Infect Dis 2010; 50:40-8.
3. Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Kaye KS, Ben-Ami R, Schwartz D, Carmeli Y. Clinical and economic impact of bacteremia with extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50:1257-62.
4. Schwaber MJ, Carmeli Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum β -lactamase production in *Enterobacteriaceae* bacteremia: a systematic review and meta-analysis. J Antimicrob Chemother 2007; 60: 913-20.
5. Tumbarello M, Sanguinetti M, Montuori E, Treccarichi EM, Posteraro B, Fiori R. et al. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by extended-spectrum- β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: importance of inadequate initial antimicrobial treatment. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51:1987-94.
6. Peña C, Gudiol C, Calatayud L, Tubau F, Domínguez MA, Pujol M. et

- al. *Infections due to Escherichia coli* producing extended-spectrum β -lactamase among hospitalised patients: factors influencing mortality. *J Hosp Infect* 2008; 68: 116 – 22.
7. Ramphal R, Ambrose PG. Extended-Spectrum β -lactamases and clinical outcomes: current data. *Clin Infect Dis* 2006; 42: S164-S172.
 8. Rodríguez-Baño J, Cisneros JM, Cobos-Triguero N, Fresco G, Navarro-San Francisco C, Gudiol C. et al. Diagnosis and antimicrobial treatment of invasive infections due to multidrug-resistant *Enterobacteriaceae*. Guidelines of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2015; 33:337.e1-337.e21
 9. Gudiol C, Calatayud L, García-Vidal C, Lora-Tamayo J, Cisnal M, Duarte R. et al. Bacteraemia due to extended- spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* (ESBL-EC) in cancer patients: clinical features, risk factors, molecular epidemiology and outcome. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65:333-41.
 10. Gudiol C, Tubau F, Calatayud C, García-Vidal C, Cisnal M, Sánchez-Ortega I. et al. Bacteraemia due to multidrug-resistant Gram-negative bacilli in cancer patients: risk factors, antibiotic therapy and outcomes. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66: 657-63.
 11. Kang CI, Chung DR, Ko KS, Peck KR, Song JH. Risk factors for infection and treatment outcome of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bacteremia in patients with hematologic malignancy. *Ann Hematol* 2012; 91:115-21.
 12. Trecarichi EM, Tumbarello M, Spanu T, Caira M, Fianchi L, Chiusolo P. et al. Incidence and clinical impact of extended-spectrum- β -lactamase (ESBL) production and fluoroquinolone resistance in bloodstream infections caused by *Escherichia coli* in patients with hematological malignancies. *J Infect* 2009; 58:299- 307.
 13. Cisneros-Herreros JM, Cobo-Reinoso J, Pujol-Rojo M, Rodríguez-Baño J, Salavert- Lleti M. Guía para el diagnóstico y tratamiento del paciente con bacteriemia. Guías de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2007; 25:111-30.
 14. Friedman ND, Kaye KS, Stout JE, McGarry SA, Trivette SL, Briggs JP, et al. Healthcare- associated bloodstream infections in adults: a reason to change the accepted definition of community-acquired infections. *Ann Intern Med* 2002; 137:791-7.
 15. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003; 31:1250-6.
 16. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 20th informational supplement (CLSI document M100-S20). Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute, 2010.
 17. Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: an emerging public-health problem. *Lancet Infect Dis* 2008; 8:159-66.
 18. Cantón R. Prevalence and spread of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14:S144-S153.
 19. Hernández JR, Pascual A, Cantón R, Martínez-Martínez L, Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria (GEIH). *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de β -lactamasas de espectro extendido en hospitales españoles (Proyecto GEIH- BLEE 2000). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003; 21:77-82.
 20. Angel Díaz M, Ramón Hernández J, Martínez Martínez L, Rodríguez-Baño J, Pascual A, Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria (GEIH). *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de β -lactamasas de espectro extendido en hospitales españoles: segundo estudio multicéntrico (Proyecto GEIH- BLEE 2006). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2009; 27:503-10.
 21. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, Muniain MA, de Cueto M, Ríos MJ. et al. Bacteremia due to extended-spectrum β -lactamase-producing *E. coli* in the CTX-M era: a new clinical challenge. *Clin Infect Dis* 2006; 43: 1407 – 14.
 22. Livermore DM. Defining an extended-spectrum β -lactamase. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 3-10.
 23. Oteo J, Pérez-Vázquez M, Campos J. Extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli*: changing epidemiology and clinical impact. *Curr Opin Infect Dis* 2010; 23: 320-6.
 24. Oteo J, Navarro C, Cercenado E, Delgado-Iribarren A, Wilhelmi I, Orden B. et al. High-level of cefotaxime and ceftazidime resistance in *Escherichia coli*: spread of clonal and unrelated isolates between the community, long-term care facilities, and hospital institutions. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 2359-66.
 25. Kang CI, Kim SH, Kim DM, Park WB, Lee KD, Kim HB. et al. Risk factors for and clinical outcomes of bloodstream infections caused by extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004; 25: 860-67.
 26. Lee CI, Lee NY, Yan JJ, Lee HC, Ko NY, Chang CM. et al. Extended-spectrum β -lactamase-producing phenotype signifies a poor prognosis for patients with cefpodoxime-resistant *Escherichia coli* or *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. *J Microbiol Immunol Infect* 2009; 42:303-9.

Ana Betrán¹
Ana M^a Cortés²
Concepción López¹

Evaluación de la resistencia antibiótica de *Escherichia coli* en infecciones urinarias adquiridas en la comunidad del Sector Sanitario de Barbastro (Huesca)

¹Servicio de Microbiología Hospital de Barbastro

²Servicio Medicina Preventiva Hospital de Barbastro

RESUMEN

Objetivo. Determinar la resistencia *in vitro* del uropatógeno comunitario más frecuente, *Escherichia coli* a varios antimicrobianos en nuestro Sector Sanitario y deducir opciones de tratamiento empírico.

Material y métodos. Desde el 1 de enero de 2011 al 31 de diciembre de 2013 se estudiaron las cepas de *E. coli* aisladas de urocultivos de pacientes procedentes de Atención Primaria del Sector de Barbastro. Se determinó la sensibilidad a nueve antibióticos de uso frecuente. Se analizó la existencia de diferencias estadísticamente significativas de sensibilidad en los años estudiados, comparando los intervalos de confianza al 95% para proporciones por el método de Wilson.

Resultados. *E. coli* ha sido la bacteria más frecuentemente aislada durante estos años, suponiendo el 61,08% del total de urocultivos positivos enviados desde Atención Primaria. De forma global, ha habido un aumento de la resistencia de los aislamientos de *E. coli* a todos los antimicrobianos estudiados. Aún así, la resistencia se ha mantenido por debajo del 4% frente a fosfomicina y nitrofurantoina y por debajo del 10% en cefalosporinas de segunda y tercera generación. La resistencia frente a amoxicilina-clavulánico ha ido aumentando en estos años hasta alcanzar el 21,5% en 2013, siendo este antibiótico el único que ha presentado un incremento estadísticamente significativo. Los máximos niveles de resistencia (superior al 30%) se encontraron en los antibióticos administrados vía oral y frecuentemente indicados en infecciones urinarias no complicadas: trimetoprim-sulfametoxazol, ciprofloxacino y ampicilina.

Conclusiones. El conocimiento periódico y actualizado de los patrones de sensibilidad de los microorganismos más frecuentemente aislados en muestras de orina en cada área de salud permite elegir tratamientos empíricos más adecuados y eficaces.

Palabras clave: infección urinaria, resistencia antibiótica, *Escherichia coli*

Correspondencia:
Ana Betrán
Servicio de Microbiología Hospital de Barbastro
Hospital de Barbastro, Carretera Nacional 240
22300 Barbastro (Huesca)
E-mail: abetrane@salud.aragon.es

Evaluation of antibiotic resistance of *Escherichia coli* in urinary tract infections in Primary Care Barbastro Sector (Huesca)

ABSTRACT

Objectives. Evaluate the resistance of community-uropathogen, *Escherichia coli* to several antibiotics in our health sector and deduce empirical treatment options.

Methods. *E. coli* strains isolated from urine cultures of patients from Primary Care Barbastro Sector, between January 2011 and December 2013, were studied. The resistances rates for nine common antibiotics were determined, and differences in sensitivity were analyzed, comparing confidence intervals for proportions by the method of Wilson.

Results. *E. coli* was the most frequently isolated bacteria (61.08% of positive urine cultures sent from Primary Care). Overall, there has been an increase in resistance of *E. coli* isolates in all antimicrobials studied. Still, resistance has remained below 4% compared to fosfomycin and nitrofurantoin and below 10% in cephalosporins second and third generation. Resistance to amoxicillin-clavulanate has increased progressively reaching 21.5% in 2013; only this antibiotic has presented a statistically significant increase. The maximum levels of resistance (over 30%) were found in the antibiotics administered orally and often indicated in uncomplicated urinary tract infections: trimethoprim-sulfamethoxazole, ciprofloxacin and ampicillin.

Conclusions. Update knowledge susceptibility patterns of microorganisms most commonly isolated in urine samples in each health area allows to choose the most suitable and effective treatments through empirical knowledge.

Key words: Urinary tract infection, antibiotic resistance, *Escherichia coli*

INTRODUCCIÓN

Las infecciones del tracto urinario (ITU) constituyen uno de los principales motivos de consulta en Atención Primaria. El principal agente etiológico de las ITU adquiridas en la comunidad, y el que más se ha asociado a recidivas, es *Escherichia coli*^{1,2}. El conocimiento de los patrones antibióticos de las bacterias que más frecuentemente producen ITU en el ámbito local es importante para indicar un tratamiento empírico racional y adecuado³, siendo este aspecto especialmente importante en Atención Primaria, donde la mayoría de las ITU se tratan empíricamente.

El Sector Sanitario de Barbastro incluye 15 zonas de salud (Abiego, Aínsa, Albalate de Cinca, Barbastro, Benabarre, Berbegal, Binéfar, Castejón de Sos, Fraga, Graus, Lafortunada, Monzón Rural, Monzón Urbano, Tamarite de Litera y Mequinzenza). En conjunto prestan atención sanitaria a una población de aproximadamente 107.428 habitantes.

Nuestro objetivo en este trabajo es doble: por un lado, evaluar la resistencia a varios antibióticos en cepas de *E. coli* aisladas en muestras de orina de pacientes procedentes de Atención Primaria en el Sector de Barbastro en un periodo de tres años y, en segundo lugar, valorar si algunas de las pautas de tratamiento empírico comúnmente aceptadas y recomendadas por guías clínicas en nuestro país, serían aplicables en nuestro entorno en función de los resultados obtenidos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio epidemiológico descriptivo retrospectivo de los urocultivos positivos en los que se aisló *E. coli* de muestras enviadas desde los Centros de Atención Primaria del Sector Sanitario de Barbastro entre los años 2011 y 2013.

El urocultivo se realizó mediante siembra con asa calibrada en medio de Agar CLED (cisteína-lactosa-deficiente en electrolitos) y Agar Sangre. El sistema MicroScan® de Dade Behring y el método de microdilución en placa aplicando puntos de corte del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), permitieron la identificación bacteriana y la determinación de la sensibilidad *in vitro* frente a fosfomicina, nitrofurantoina, cefuroxima, cefotaxima, tobramicina, amoxicilina-clavulánico, trimetoprim-sulfametoxazol, ciprofloxacino y ampicilina⁴ (tabla 1).

Se determinaron las proporciones de resistencias a los antibióticos indicados, con sus respectivos intervalos de confianza al 95% calculado por el método de Wilson, mediante el programa SPSS 15.0.

RESULTADOS

El número de consultas atendidas en Atención Primaria del Sector Sanitario de Barbastro fueron 483.150 en el año 2011, 496.447 en 2012 y 495.133 en el año 2013. De esas consultas se recibieron 26.243 muestras de orina procedentes de Atención Primaria en el Laboratorio de Microbiología del Hospital de

Tabla 1 Valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) para la interpretación de la sensibilidad (CLSI)⁴. Valores expresados en mg/L.

| Antimicrobiano | Sensible |
|----------------------------|----------|
| Fosfomicina | ≤64 |
| Nitrofurantoina | ≤32 |
| Cefuroxima | ≤4 |
| Amoxicilina-clavulánico | ≤8/4 |
| Trimetoprim-sulfametoxazol | ≤2/38 |
| Ciprofloxacino | ≤1 |
| Ampicilina | ≤8 |
| Cefotaxima | ≤1 |
| Tobramicina | ≤4 |

Barbastro distribuidas de la siguiente manera: 9.255 muestras recibidas en el año 2011, 8.226 muestras en 2012 y 8.762 en 2013. Fueron positivas el 32,06% de las mismas en el año 2011, el 32,48% en 2012, el 27,66% en 2013. De forma global fueron positivas el 30,72% de las muestras analizadas.

E. coli fue la bacteria más frecuentemente aislada durante estos años, suponiendo el 61,08% del total de urocultivos positivos enviados desde Atención Primaria en nuestra Área Sanitaria. El segundo microorganismo en frecuencia, *Klebsiella pneumoniae*, no alcanzó el 8% del total de los aislamientos urinarios.

La tabla 2 muestra la evolución del patrón de resistencia bacteriana de *E. coli* entre los años 2011 y 2013, con valores expresados en porcentaje. Se han remarcado en gris aquellos valores que superan el 20%, que es la cifra por encima de la cual no se recomienda un antimicrobiano para su uso empírico⁵. Como se observa en la tabla 2, en estos tres años se ha producido un aumento de resistencia estadísticamente significativo para amoxicilina-clavulánico. Fosfomicina, cefuroxima, cefotaxima, ciprofloxacino y ampicilina han aumentado sus porcentajes de resistencia pero no de manera estadísticamente significativa. La resistencia para nitrofurantoina, trimetoprim-sulfametoxazol y tobramicina ha permanecido estable, con porcentaje de resistencias similares en los tres años.

Aunque ha habido un aumento global de la resistencia de cepas de *E. coli* aisladas en urocultivos procedentes de Atención Primaria a los antibióticos estudiados, algunos antimicrobianos como fosfomicina, nitrofurantoina, cefotaxima, cefuroxima y tobramicina mantienen un bajo perfil de resistencia. Amoxicilina-clavulánico comenzaría, en el último año estudiado, a no ser recomendable para el tratamiento empírico de la infección urinaria en el ámbito comunitario en nuestro Sector. Los máximos niveles de resistencia (superior al 20%) se encontraron en los antibióticos administrados vía oral y frecuentemente indicados en infecciones urinarias no complicadas: trimetoprim-sulfametoxazol, ciprofloxacino y ampicilina.

Tabla 2 Evolución de la resistencia bacteriana (%) en cepas de *E. coli* aisladas en muestras de orina enviadas por Atención Primaria en el Sector de Barbastro entre los años 2011 y 2013 e intervalo de confianza al 95%

| | 2011 | 2012 | 2013 |
|----------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Fosfomicina | 2,29 (1,70-3,09) | 2,42 (1,77-3,32) | 3,65 (2,82-4,71) |
| Nitrofurantoina | 3,28 (2,56-4,20) | 2,81 (2,10-3,75) | 3,19 (2,43-4,20) |
| Cefotaxima | 5,08 (4,17-6,19) | 5,55 (4,53-6,81) | 7,04 (5,87-8,44) |
| Cefuroxima | 8,47 (7,29-9,85) | 8,69 (7,39-10,19) | 10,30 (8,88-11,93) |
| Tobramicina | 10,33 (9,03-11,92) | 8,75 (7,45-10,26) | 11,41 (9,92-13,11) |
| Amoxicilina-clavulánico | 16,24 (14,63-18,01) | 15,59 (13,88-17,47) | 21,59 (19,60-23,72) |
| Ciprofloxacino | 31,01 (28,94-33,17) | 32,01 (29,75-34,37) | 34,83 (32,49-37,25) |
| Trimetoprim-sulfametoxazol | 34,68 (32,54-36,90) | 32,71 (30,44-35,08) | 33,98 (31,66-36,39) |
| Ampicilina | 58,86 (56,59-61,10) | 63,57 (61,16-65,93) | 61,44 (58,99-63,85) |

En sombreado los valores superiores a 20%

Según estos resultados, el uso empírico de estos tres antibióticos debería desaconsejarse en centros extrahospitalarios de nuestra área.

DISCUSIÓN

El tratamiento empírico de las infecciones urinarias es una práctica habitual en Atención Primaria. Para indicar un tratamiento empírico racional es importante conocer los microorganismos que con más frecuencia producen ITU en cada zona así como conocer los patrones de sensibilidad antimicrobiana y su evolución en el tiempo.

En nuestro estudio, *E. coli* fue el microorganismo más frecuentemente aislado (61%) en muestras de orina de población urbana y rural extrahospitalaria del Sector de Barbastro. La distribución de los microorganismos en trabajos recientes en nuestro país es similar, con predominio de *E. coli*⁶.

Desde principios de los años noventa, se ha observado en España un continuo aumento de la resistencia de *E. coli* a las quinolonas. Las causas que han determinado este incremento son múltiples, relacionándose con el uso masivo de estos antibióticos, tanto en humanos como en animales. Actualmente, la tasa de resistencia a quinolonas de cepas de *E. coli* aisladas de urocultivos oscila entre el 10 y 30%^{7,8}. En nuestro medio, la tasa de resistencia a quinolonas superó el 30%, y según este dato, su uso empírico en infecciones urinarias estaría contraindicado. Sin embargo, hay estudios que defienden su gran utilidad en el tratamiento empírico de las cistitis no complicadas, incluso con porcentajes de resistencia del 20-30% debido fundamentalmente a la alta concentración que alcanza el fármaco en la orina, fenómeno que no se ha descrito ni en penicilinas ni en trimetoprim-sulfametoxazol⁹.

La tasa de resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol es elevada en España (20-35%)⁷ con similares resultados en nuestro Sector. Es un fármaco que debería ser considerado por su seguridad y bajo coste, sin embargo, debido a las elevadas tasas

de resistencias obtenidas en nuestra zona, su uso como tratamiento empírico sería poco recomendable.

Resultados de estudios españoles indican una elevada prevalencia (>50%) de resistencias de *E. coli* a ampicilina⁷, al igual que en los datos obtenidos en nuestro Sector, por lo que en general debería desaconsejarse como tratamiento empírico en las ITU. La combinación penicilina-inhibidor de betalactamasas mantiene buena actividad frente a *E. coli* aunque en el último año estudiado, el porcentaje observado superó el 20% de resistencias, comenzando a no ser recomendable como terapia empírica. Además, algunos antimicrobianos con actividad anaeróbica (como por ejemplo, amoxicilina-clavulánico) pueden favorecer la aparición

posterior de recurrencias debido al desequilibrio ecológico que producen en la flora vaginal. La reducción de flora anaerobia facilita la colonización del introito vaginal por uropatógenos procedentes de la flora fecal¹⁰.

Las cefalosporinas de segunda y tercera generación ensayadas presentaron un porcentaje de sensibilidad en torno a un 89-94%, similar a lo observado en otros estudios españoles¹¹, por lo que podrían considerarse una alternativa válida para el tratamiento empírico de infecciones urinarias, aunque sus tasas de recurrencias pueden ser mayores debido a su actividad anaeróbica y además es preciso un tratamiento más prolongado que otras opciones antibióticas para lograr la misma eficacia erradicadora.

La elevada actividad observada *in vitro* de la fosfomicina (sensibilidad superior al 96%) la convierte en una alternativa de primera línea en el tratamiento empírico de las ITU en nuestro medio; a pesar de que sus tasas de erradicación son inferiores a las conseguidas con quinolonas o trimetoprim-sulfametoxazol, la fosfomicina presenta ventajas para considerarla como antimicrobiano de primera línea: su mecanismo de acción evita resistencias cruzadas y su cómoda posología permite aumentar el cumplimiento terapéutico¹²; además no se usa en alimentación animal ni veterinaria.

La nitrofurantoina, a pesar de su elevada sensibilidad (superior al 95%) y su probada eficacia en el tratamiento de las ITU, se emplea muy poco por su potencial toxicidad pulmonar, y quizá por ello el porcentaje de sensibilidad se ha mantenido estable en los últimos años, tanto en nuestro medio, como en otras zonas de nuestro país¹².

Con respecto a otros antibióticos estudiados, la tobramicina presentó una buena actividad frente a *E. coli* aunque no es de uso habitual en Atención Primaria.

Diferentes guías clínicas para tratamientos empíricos de infecciones urinarias señalan la necesidad de actualizar los datos relativos a los patrones de resistencia bacteriana para promover la prescripción apropiada de antibióticos. Adaptando las

recomendaciones de estas guías a nuestro entorno^{13,14}, podría mejorarse la efectividad de los tratamientos antibióticos, disminuir la tasa de resistencias y prevenir recurrencias.

La guía de práctica clínica publicada por la Asociación Española de Urología¹³ recomienda como tratamiento de primera elección fosfomicina, como segunda trimetoprim-sulfametoxazol, ciprofloxacino y amoxicilina-clavulánico, y como tercera, nitrofurantoína. Otra guía considerada de referencia¹⁴ recomienda para tratamiento empírico de la cistitis simple, cefalosporinas orales, fluoroquinolonas, fosfomicina y nitrofurantoína.

Según los datos obtenidos en este estudio, el tratamiento empírico de primera elección para las ITU extrahospitalarias en nuestra área sanitaria podría ser fosfomicina, nitrofurantoína o cefalosporinas de segunda y tercera generación. No se recomendaría como pauta de primera elección el tratamiento con amoxicilina-clavulánico por su mayor frecuencia de reinfecciones y porque en el último año de estudio (2013) presentó un índice de resistencias superior al 20%. Tampoco trimetoprim-sulfametoxazol ni fluoroquinolonas serían pautas de primera elección por el elevado índice de resistencias que presentaron.

Las extrapolaciones de los resultados de este estudio no serían siempre válidas, ya que deberían considerarse características clínicas de los pacientes que no hemos considerado aquí, pero creemos que estos datos pueden ser útiles a modo de orientación terapéutica empírica para el tratamiento de infecciones urinarias extrahospitalarias en nuestro Sector. Los patrones locales de susceptibilidad son los que deben marcar las pautas de tratamiento empírico en lugar de guías internacionales seguidas de manera inespecífica.

Los antibióticos que presentaron menor índice de resistencias en nuestra área sanitaria fueron fosfomicina, nitrofurantoína, y cefalosporinas de segunda y tercera generación. Debería reconsiderarse el uso de ciprofloxacino, trimetoprim-sulfametoxazol y ampicilina en el tratamiento empírico de las infecciones de orina extrahospitalarias. El conocimiento periódico y actualizado de los patrones de sensibilidad antibiótica de un área de salud concreta favorecería la elección de un tratamiento empírico eficaz, disminuiría la aparición de resistencias y contribuiría a un uso más racional y adecuado de los antimicrobianos.

FINANCIACIÓN

Los autores declaran no haber recibido financiación para la realización de este estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- Sánchez Merino JM, Guillán Maquieira C, Fuster Foz C, López Medrano R, González Pérez M, Raya Fernández C, et al. Evolución de la resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* en muestras de orina procedentes de la comunidad. Arch Esp Urol 2008; 61(7):776-80.
- Martínez B, Gómez J, Guerra B, Gómez Vargas J, Ruiz Gómez J, Siarro E, et al. Factores de riesgo y pronóstico de las infecciones urinarias por gramnegativos. Rev Esp Quimioter 2000; 13:276-80.
- Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. Am J Med 2002;113 Suppl 1A:S5-13.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. In: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-second informational supplements. M100-S22. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute 2012.
- Gupta K, Scholes D, Stamm WE. Increasing prevalence of antimicrobial resistance among uropathogens causing acute uncomplicated cystitis in women. J Am Med Assoc 1999; 281:736-8.
- Sánchez Merino JM, Guillán Maquieira C, Fuster Foz C, Madrid García FJ, Jiménez Rodríguez M, García Alonso J. Sensibilidad microbiana de *Escherichia coli* en infecciones urinarias extrahospitalarias. Actas Urol Esp 2003; 27: 783-7.
- Alos J. Epidemiología y etiología de la infección urinaria comunitaria: Sensibilidad antimicrobiana de los principales patógenos y significado clínico de la resistencia. Enferm Infecc Microbiol Clin 2005; 23:3-8.
- Queipo JA, Budía A, Jiménez MJ et al. Evolución de la resistencia microbiana a fluorquinolonas en un hospital terciario. Actas Urol Esp 2000; 24:381-7.
- Del Río Pérez G. Tratamiento de las infecciones urinarias. En: Drobnic L, editor. Tratamiento antimicrobiano. Madrid: EMISA; 1997;429-43.
- Pigrau C. Infección del tracto urinario. Salvat, 2013.
- Junquera S, Loza E, Baquero F. Evolución del patrón de sensibilidad de aislados de *Escherichia coli* en urocultivos procedentes del medio hospitalario y extrahospitalario. Enferm Infecc Microbiol Clin 2005; 23:197-201.
- Garau M, Latorre A, Alonso-Sanz M. Fosfomicina: un antibiótico infravalorado en infecciones urinarias por *Escherichia coli*. Enferm Infecc Microbiol Clin 2001; 19:462-6.
- Palou J, Millán F, Brenes FJ, Costa J. Cistitis no complicada en la mujer. Guía de práctica clínica. Asociación Española de Urología, 2008.
- Mensa J, Gatell J M, García-Sánchez JE, Letang E, López-Suñe E, Marco F. Guía de terapéutica antimicrobiana 2014. Editorial Anares, 2014.

Carta al Director

Maday Cabrero¹
Antonio Martín-Conejero¹
Francisco Javier Candel²
Isaac Martínez¹
Sergio Revuelta¹
Manuela Hernández¹
Pablo Marqués¹
Francisco Javier Serrano-Hernando¹

Pseudoaneurisma micótico carotídeo. Presentación de un caso clínico y revisión de la literatura

¹Servicio de Angiología y Cirugía Vascular. Hospital Clínico San Carlos. Universidad Complutense. Madrid

²Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Clínico San Carlos. Universidad Complutense. Madrid

Sr. Editor: las infecciones endovasculares constituyen complicaciones infrecuentes y graves de infecciones locales o bacteriémicas. A menudo concurren en su presentación la asociación de fiebre y una masa pulsátil compresiva, que orientan al clínico. Sin embargo, el retraso en la filiación de las formas clínicas menos expresivas ensombrece el pronóstico. Presentamos el caso de un varón de 75 años con antecedentes de hipertensión, EPOC e insuficiencia cardíaca, remitido desde otro centro por el hallazgo en angio-TAC de un pseudoaneurisma carotídeo derecho con compromiso de la vía aérea. Unos diez días antes, el paciente acudió a su Hospital de referencia por un síndrome febril, sin clínica digestiva asociada y descompensación de su insuficiencia cardíaca. En 2 hemocultivos se aisló *Salmonella enteritidis* sensible a ampicilina (CMI < 2 mg/L), ceftriaxona (CMI < 1 mg/L), cefotaxima (CMI < 1 mg/L), imipenem (CMI ≤ 2 mg/L), ciprofloxacino (CMI ≤ 0,5 mg/L) y trimetoprim-sulfametoxazol (CMI ≤ 2 mg/L), entre otros. Se le prescribió al paciente ceftriaxona a dosis de 2 g IV día tras conocer el resultado del hemocultivo. A los 10 días es remitido a nuestro hospital presentando masa pulsátil cervical derecha dolorosa con soplo sistólico a la auscultación, sin signos inflamatorios a dicho nivel, asociado a disfonía, disfagia y disnea con estridor, precisándose la realización de una traqueostomía urgente. El angio-TAC cervical mostró un pseudoaneurisma de 3 cm de diámetro transversal máximo, con gas en su interior, dependiente del origen de la carótida

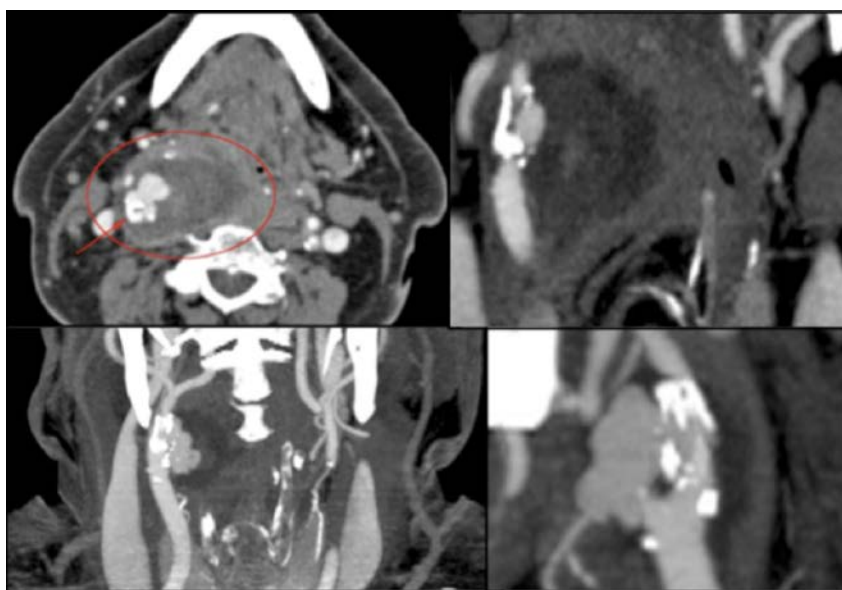


Figura 1 Se observa pseudoaneurisma carotídeo dependiente de la pared posterior de la arteria carótida interna derecha cerca de la bifurcación carotídea. Se observa placa de ateroma calcificada a dicho nivel, lugar de asentamiento del microorganismo.

interna derecha que se extendía medialmente causando desviación de la línea media y neumomediastino (figura 1). El TAC cerebral era normal. La arteriografía confirmó los hallazgos del angio-TAC (figura 2). La analítica entonces mostró 16.100 leucocitos/mm³ con neutrofilia del 79%, una Hb de 9,3 g, 646.000 plaquetas/mm³ y una PCR de 13,6 mg/l. El resto fue normal.

El paciente fue intervenido con carácter de urgencia, realizándose abordaje de la bifurcación carotídea derecha. Se comprobó a dicho nivel la existencia de un pseudoaneurisma de gran tamaño que englobaba la bifurcación. Se controlaron carótida común, externa e interna (figura 3). Al abrir el saco se pudo objetivar una rotura en la cara posterior de la carótida interna y la pared arterial desestructurada (figura 3). Se realizó una resección del pseudoaneurisma, solicitando tinción de gram intraoperatoria y cultivo de la pieza. Se practicó re-

Correspondencia:
Maday Cabrero
Servicio de Angiología y Cirugía Vascular. Hospital Clínico San Carlos.
Universidad Complutense Madrid.
Avenida Doctor Martín Lagos s/n
28040 Madrid.
Tfno.: 91 330 30 45
E-mail: maday.cabrero@gmail.com

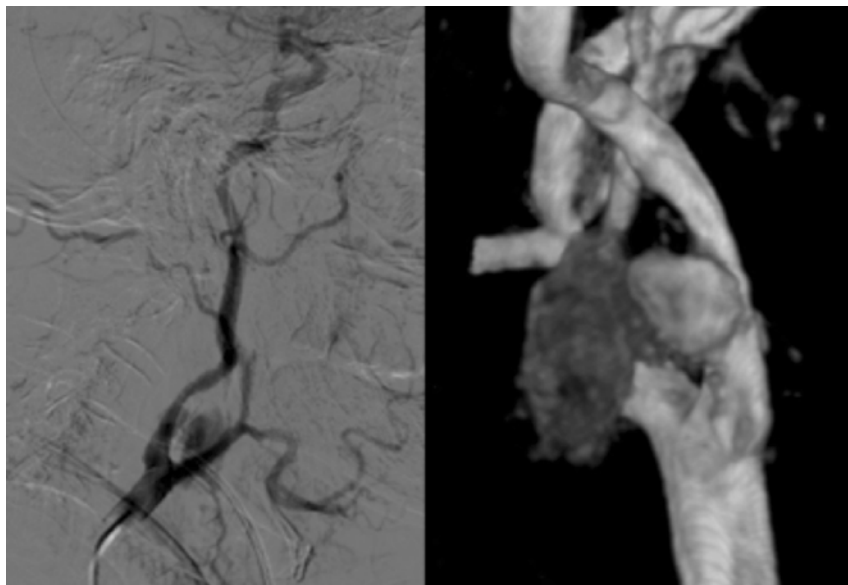


Figura 2 (a) Se observa extravasación de contraste a nivel de la cara posterior de la arteria carótida interna derecha proximal. (b) Reconstrucción de la arteriografía carotídea.



Figura 3 Procedimiento quirúrgico: (a) disección y control proximal y distal de bifurcación carotídea derecha. Se observa pseudoaneurisma. (b) imagen quirúrgica tras resección de pseudoaneurisma carotídeo y realización de anastomosis distal de la vena safena invertida con la carótida interna derecha. (c) bypass carotídeo-carotídeo con anatomosis proximal T-T en carótida común y distal T-T en carótida interna con vena safena invertida. Ligadura de carótida externa.

construcción vascular mediante ligadura de carótida externa e interposición de by-pass venoso con safena interna entre carótida primitiva y carótida interna. En la tinción de gram de la muestra intraoperatoria se observaron bacilos gramnegativos. A las 24 horas crecieron unas colonias mucosas en agar sangre, lactosa negativa en agar Mac Conkey y sulfhidrico positiva en agar SS (Biomérieux) (figura 4). Las colonias se identificaron mediante MALDI-TOF (MALDI Biotyper, Bruker Co) como *Sal-*

monella enteritidis (Score 2,13). La aglutinación mediante el set de Spicer-edwards (DIFCO-Detroit-Michigan) reveló un grupo D. El estudio de sensibilidad se realizó mediante el sistema automatizado Wider (Soria Melguizo), reveló un fenotipo de sensibilidad idéntico al obtenido en el hemocultivo de su hospital de referencia. El paciente fue dado de alta sin presentar complicaciones del procedimiento quirúrgico, neurológicamente asintomático y siguiendo tratamiento antimicrobiano con 2 g de ceftriaxona endovenosa hasta completar seis semanas.

La incidencia de aneurismas micóticos de la arteria carótida extracraneal es baja, con un registro de aproximadamente 20 casos cada década¹. Desde el punto de vista patogénico, el origen del pseudoaneurisma puede tener tres orígenes²⁻³: El mecanismo más frecuente³ es a partir de una bacteriemia, asentando la bacteria a través de los *vasa-vasorum*, en la pared de un vaso, casi siempre a nivel de irregularidades de la misma como una placa de ateroma. El organismo implicado con mayor frecuencia es *S. aureus* y *S. pyogenes* cuando el origen es una endocarditis y *Salmonella* sp en los de origen extracardiaco². Este tipo de aneurisma micótico secundario a una bacteriemia es frecuente en el anciano comórbido, como ocurrió en nuestro caso. Menos frecuente es a partir de una infección contigua. El mecanismo de producción del aneurisma es similar a la de origen sanguíneo, con extensión de la infección por los linfáticos y los *vasa-vasorum*, pero los microorganismos varían dependiendo del tipo de infección. Por último están los aneurismas traumáticos o tras inoculación directa, típicos de los adictos a drogas por vía parenteral, que se producen de forma accidental al inyectarse una arteria, inoculándose además microorganismos propios de la piel. Estos aneurismas también pueden tener un

origen iatrogénico, en el contexto de una punción arterial o la canalización de una vía central. El microorganismo aislado más frecuentemente es *S. aureus*. Los microorganismos implicados con mayor frecuencia en los aneurismas micóticos carotídeos se recogen en la tabla 1. Las especies del género *Salmonella* sp que con mayor frecuencia causan aneurismas micóticos y abscesos son *S. chloreaesuis* y *S. enteritidis*^{4,5}.

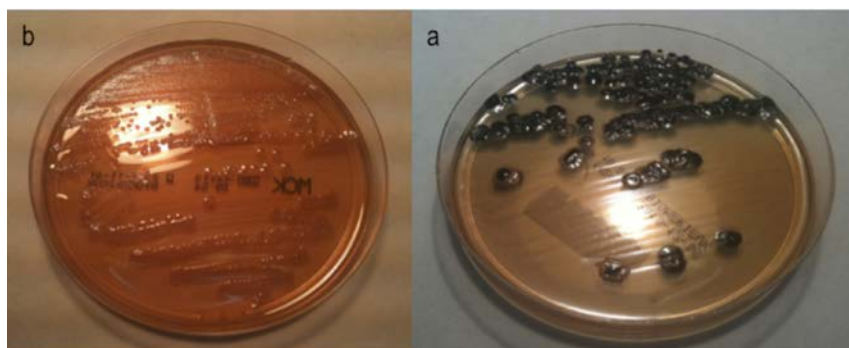


Figura 4 (a) Crecimiento de colonias lactosa negativas en placa de MacConkey (MCK). (b) Crecimiento de colonias negras (sulfídricas positivas) en agar SS.

| Tabla 1 | | Microorganismos implicados en aneurismas micóticos carotídeos ^{1,3} |
|-----------------------------------|----|--|
| Agente etiológico | n | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 28 | |
| <i>Salmonella</i> sp | 14 | |
| <i>Streptococci</i> | 13 | |
| <i>Escherichia coli</i> | 6 | |
| <i>Klebsiella</i> sp | 5 | |
| <i>Aspergillus</i> sp | 3 | |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | 2 | |
| Otros: | | |
| <i>Proteus</i> sp | 1 | |
| <i>Yersinia</i> sp | 1 | |
| <i>Pseudomonas</i> sp | 1 | |
| <i>Enterococcus</i> sp | 1 | |
| <i>Bacteroides</i> sp | 1 | |
| <i>Mycobacterium bovis</i> | 1 | |

Nuestro paciente presentó clínica muy sugerente de pseudoaneurisma carotídeo, como fue fiebre alta, y masa pulsátil cervical con compromiso de la vía aérea, así como disfonía y disfagia. La frecuente existencia de celulitis en la piel supradistante a la masa pulsátil no estaba presente en este caso¹⁻⁸. Sin embargo a veces, la clínica es más larvada o inespecífica, sobre todo en pacientes que ya han iniciado el tratamiento antibiótico. Analíticamente el hallazgo más frecuente es la presencia de leucocitosis con neutrofilia y la elevación de reactantes de fase aguda como la PCR. Los hemocultivos con frecuencia son positivos. La prueba diagnóstica de elección ante su sospecha es el angio-TAC ya que aunque el eco-doppler carotídeo permite diagnosticar la presencia de un pseudoaneurisma, no valora con precisión la extensión de la infección, la lesión vascular en pacientes con calcificación o enfisema subcutáneo (como nuestro caso), ni el compromiso de estructuras vecinas como la vía aérea. En ocasiones la arteriografía permite una mejor planificación quirúrgica⁶.

El tratamiento de este tipo de aneurismas siempre debe ser quirúrgico, asociado a tratamiento antimicrobiano. Si se desconoce la etiología microbiana se recomienda comenzar con antibioterapia de amplio espectro. Nuestro paciente mantuvo tratamiento con ceftriaxona desde el conocimiento de los resultados de los cultivos. La duración del tratamiento antibiótico es controvertida, aunque la mayoría de las series aconsejan un tratamiento prolongado, desde 6 semanas⁹ a 6 meses¹⁰. Nuestro paciente mantuvo tratamiento endovenoso con ceftriaxona hasta seis semanas después del acto quirúrgico. Los antimicrobianos que con más frecuencia se emplean en

el tratamiento de la infección endovascular por *Salmonella* sp son las cefalosporinas de tercera generación parenterales o las quinolonas.

En todos los casos es necesario el tratamiento quirúrgico ya que sin él las tasas de mortalidad alcanzan el 70-90% por ruptura, hemorragia, embolias sépticas u oclusión arterial. Son tres las opciones terapéuticas: la ligadura de la arteria con escisión del pseudoaneurisma, el tratamiento endovascular y la escisión-restauración de la continuidad arterial con limpieza de los tejidos circundantes al pseudoaneurisma. La tabla 2 muestra los métodos más frecuentemente utilizados y descritos en la literatura, incluyendo este caso. La ligadura de la carótida queda reservada para los casos en que la reconstrucción es técnicamente imposible o en aquellos pacientes con oclusión crónica de la misma, ya que su ligadura se asocia a infartos masivos en el 30-50% y a muerte del paciente en el 17-40%^{5,11,12}. El manejo endovascular, considerada una técnica poco invasiva, no ha sido bien estudiado en el caso de los pseudoaneurismas micóticos carotídeos¹³. Existen dos posibilidades, la exclusión del pseudoaneurisma mediante la implantación de un stent cubierto y la embolización con coils como alternativa a la ligadura. Ambas técnicas están limitadas por el hecho de introducir material protésico en una zona infectada¹⁴. Se han descrito tratamientos combinados en caso de pseudoaneurismas rotos, implantando un stent cubierto que controle el sangrado y una cirugía abierta definitiva que evite la permanencia del stent en una zona infectada¹⁵. Si es factible técnicamente, se prefiere la escisión del aneurisma asociado a restauración de la continuidad arterial con desbridamiento de todo el tejido infectado. El material de elección para llevar a cabo la revascularización, ya sea mediante bypass o angioplastia con parche, es la vena safena debido a su resistencia a la infección y a su disponibilidad^{1,5,6}. Otros autores también abalan el uso de un segmento de arteria femoral superficial o de arteria hipogástrica como conducto¹⁶, así como el uso de prótesis arteriales criopreservadas^{17,18}. El uso de material protésico para realización de by-passes no está recomendado por el alto riesgo de sobreinfección de los mismos^{6,19}. En nuestro paciente la reconstrucción vascular fue posible por lo que se

Tabla 2 Principales procedimientos descritos para el control de aneurismas micóticos carotídeos.

| Procedimiento | n |
|--|----|
| Resección y ligadura | 30 |
| Resección y cierre primario | 1 |
| Resección y anastomosis primaria | 2 |
| Resección y bypass | 24 |
| Vena | 20 |
| Arteria hipogástrica | 1 |
| Prótesis arteria bovina criopreservada | 1 |
| Dacron | 1 |
| PTFE | 1 |
| Ligadura y bypass subclavio carotídeo | 1 |
| Resección y parche | 7 |
| Vena | 5 |
| Pericardio bovino | 1 |
| PTFE | 1 |
| Embolización | 7 |
| Coil | 6 |
| Amplatz | 1 |
| Stent cubierto | 3 |
| No se describe | 25 |

PTFE: Politetrafluoroetileno, Amplatz: Ocluser arterial metálico.

realizó escisión del pseudoaneurisma y la restitución del flujo arterial mediante bypass carótido-carotídeo con vena safena interna contralateral.

Como conclusión, la infección endovascular por *Salmonella* sp constituye una entidad infrecuente y grave. El diagnóstico puede ser complejo y en él intervienen la anamnesis y la integración del hemocultivo en un cuadro febril agudo y masa pulsátil, aunque existen presentaciones más inespecíficas que retrasan el diagnóstico y la evolución. La técnica diagnóstica que más información ofrece sobre el estado del tejido afectado y ayuda a la planificación quirúrgica es el angio-TAC y el tratamiento de elección es la terapia combinada quirúrgica que incluye la exclusión del pseudoaneurisma preferiblemente mediante by-pass de safena y el tratamiento antimicrobiano prolongado, con frecuencia en periodo superior a tres meses.

BIBLIOGRAFÍA

- Pirvu A, Bouchet C, Garibotti FM, Hauptert S, Sessa C. Mycotic Aneurysm of the Internal Carotid Artery. *Ann of Vasc Surg* 2013; 6: 826-30.
- Rutherford's Vascular Surgery. 8th Edition. Chapter 142: Infected Aneurysms (2236-8)
- Abularrage CJ, Crawford RS, Durand, ML, LaMuraglia GM. Extracranial infected carotid artery aneurysm. *J Vasc Surg* 2009; 50: 1484-6.
- Cohen JI, Bartlett JA, Corey GR. Extra-intestinal manifestations of salmonella infections. *Medicine (Baltimore)* 1987; 66: 349-88
- Lloret MD, Escudero JR, Hospedales J, Viver E: Mycotic aneurysm of the caotid artery due to *Salmonella enteritidis* associated with multiple brain abscesses. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1996; 12: 250-2
- Nader R, Mohr G, Sheiner NM, Tampieri D, Mendelson J, Albrecht S. Mycotic aneurysm of the Carotid Bifurcation in the Neck: Case Report and Review of the literature. *Neurosurgery* 2001; 48: 1152-6.
- Jebara VA, Acar C, Dervanian P, Charchques JC, Bischoff N, Uva MS et al. Mycotic aneurysms of the carotid arteries: Case report and review of the literatura. *J Vasc Surg* 1991; 14: 215-9.
- Grossi RJ, Onofrey D, Tvetenstrand C, Blumenthal J. Mycotic carotid aneurysm. *J Vasc Surg* 1987;6 : 81-3.
- Papadoulas S, Zampakis P, Liamis A, Dimopoulos PA, Tsolakis IA. Micotic aneurysm of the internal carotid artery presenting with multiple cerebral septic emboli. *Vascular* 2007; 15: 215-20.
- Hot A, Mazighi M, Lecuit M, et al. Fungal internal carotid artery aneurism: succesful embolization of an *Aspergillus*-associated case and review. *Clin Infect Dis* 2007; 45: e156-61.
- Ehrenfeld WK, Stoney RJ, Wylie EJ. Relation of carotid stump pressure to safety of carotid artery ligation. *Surgery* 1983; 93: 299-305.
- Archie JR, Edrington RD. Carotid endarterectomy. In: Cronenwett JL, Rutherford RB eds. *Decision making in vascular surgery*. Philadelphia:WB Saunders, 2001. pp 38-43.
- Reisner A, Marshall GS, Bryant K, Postel GC; Eberly SM. Endovascular occlusion of a carotid pseudoaneurism complicating deep neck space infection in a child: Case report. *J Neurosurg* 1999; 91: 510-4.
- Marotta TR, Buller C, Taylor D, Morris C, Zwimpfer T: Autologous vein-covered stent repair of a cervical internal carotid artery pseudoanurysm: Technical case report. *Neurosurgery* 1998; 42: 408-13.
- Wales L,Kruger A.J., Jenkins J.S., Mitchell K., Boyne N.S., Walker P.J. Mycotic carotid pseudoaneurysm: staged endovascular and surgical repair. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2010; 39: 23-5.
- Sessa CN, Morach MD, Berguer R, et al. Carotid resection and replacemente with autogenous arterial graft during operation for neck malignancy. *Ann Vasc Surg* 1998; 12: 229-35.
- Kieffer E, Gomes D, Chiche L, et al. Allograft replacemente for infrarenal aortic graft infection: early and late results in 179 patients. *J Vasc Surg* 2004; 39: 1009-17.
- Sessa C, Costache V, Porcu P, et al. Tracheoinnominate artery fistula: combined endovascular and surgical managemente by emergency stent-graft placemente followed by cryopreserved arterial allograft repair. *Ann Vasc Surg* 2006; 20: 731-5.
- Naik DK, Atkinson NR, Field PL, Milne PY: Mycotic cervical carotid aneurysm. *Aust N Z J Surg* 1995; 65: 620-1.

Carta al Director

José M Eiros¹
Ana Carrero²
Susana Hernando²
Pablo Carrero²

Bacteriemia por *Staphylococcus aureus* de origen respiratorio y mortalidad

¹Área de Microbiología, Facultad de Medicina de Valladolid

²Hospital General de Segovia

Sr. Editor: hemos leído con interés el original de Vendrell et al¹ en el que se describe la prevalencia de colonización por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en residentes sociosanitarios y su asociación con la mortalidad. Al hilo de sus recomendaciones queremos efectuar una aportación complementaria desde la óptica de la asistencia hospitalaria en lo referente a esta temática.

Se ha realizado en un hospital de segundo nivel un estudio retrospectivo de 2000 a 2008, observacional y no intervencionista. Se estudiaron todos los episodios bacteriémicos en los que se aisló *S. aureus*. La variable dependiente fue la muerte directamente relacionada con el proceso infeccioso. Se analizaron 392 episodios bacteriémicos por *S. aureus*, 261 (66,6%) correspondieron a *S. aureus* sensible a meticilina (SASM), y 131 (33,4%) a SARM. De ellos el 60% se documentaron en varones con una mediana de edad de 75 años. Aplicando un análisis multivariante, mediante un modelo de regresión logística múltiple no condicional, se seleccionaron los factores pronósticos independientes y estadísticamente significativos, que estaban relacionados con la mortalidad directamente relacionada con la bacteriemia debida a *S. aureus*. En el modelo final permaneció el foco de origen respiratorio con una OR de 5,49 (IC95%: 1,68 – 17,93; p = 0,004). De manera complementaria el mayor peso lo alcanzó el presentar una situación clínica "mala" o "crítica" frente a la "regular" o estable" (clasificación Winston)² con una OR de 47,75 (IC95%: 15,59 – 146,20; p < 0,001). La sensibilidad y especificidad del modelo para una incidencia de mortalidad del 27,1%, fue del 91,4% y del 86,9%, respectivamente. Entre los factores intrínsecos asociados a resistencia a meticilina destacaron la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. La mortalidad estuvo relacionada con la procedencia de los pacientes bacteriémicos. Para aquellos que provenían de residencias de ancianos, el riesgo de muerte fue 1,96 (IC95%: 1,00- 3,90) veces mayor que para los pacientes procedentes de su domicilio particular

El hecho de conocer el foco de origen tiene importancia epidemiológica, terapéutica y pronóstica. A pesar de la relevancia de su conocimiento, este dato no logra ser demostrado en un porcentaje que oscila entre el 20 y el 45% de las bacteriemias en distintas series³⁻⁸. Nuestra contribución se sitúa dentro de este rango ya que en un tercio de los pacientes de la presente serie quedó sin evidenciar la puerta de entrada. La mortalidad global, para nuestra serie cuando el agente etiológico fue *S. aureus*, fue del 27,1%. Si distinguimos por la resistencia a meticilina la proporción varía siendo mayor para los SARM, la mortalidad para SASM fue del 17,5% y 46,4% para SARM. Esta letalidad coincide con los estudios realizados a partir del año 2000 por García-Vázquez et al⁹ quienes aportan una mortalidad en su serie de un 16% para SASM y un 42,6% para SARM. De manera adicional cabe aludir al meta-análisis realizado por Cosgrove et al¹⁰ durante un período de 20 años en el que se concluyó que la bacteriemia asociada a SARM presentaba una mayor mortalidad que la asociada a SASM, con una probabilidad de muerte de 1,93 veces mayor, lo cual alcanzaba significación estadística. Laupland et al⁴, en estudio realizado en Canadá durante siete años documentaron una mortalidad global del 25%, que cuando era debida a SASM fue del 24% y cuando el agente estaba representado por SARM se situaba en el 39%.

Nuestra experiencia previa¹¹ mostraba hace una década un escaso protagonismo de los SARM en personas que acudían a Centros de Mayores con residencia en la comunidad y con una clonalidad monoclónica. Es innegable que con el paso del tiempo en nuestro entorno se corrobora lo señalado por Vendrell et al¹, y que las series hospitalarias¹² son fiel reflejo de la problemática que conlleva esta patología emergente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Vendrell E, Capdevila JA, Barrufet P, Force L, Sauca G, Martínez E, et al. Mortality among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriers in long-term care facilities. Rev Esp Quimioter 2015; 28: 92-7.
2. Winston DJ, Murphy W, Young LS, Hewitt WL. Piperacillin therapy for serious bacterial infections. Am J Med 1980; 69: 255-61.

Correspondencia:
José M^a Eiros Bouza.
Microbiología, sexta planta, Facultad de Medicina.
Avda Ramón y Cajal 7, 47005 Valladolid.
Tfno 983 423063.
Fax 983 423022.
E-mail: eiros@med.uva.es

3. Alvarez Lerma F, Palomar M, Insausti J, Olaechea P, Cerda E, Sanchez Godoy J, et al. Infecciones nosocomiales por *Staphylococcus aureus* en pacientes críticos en unidades de cuidados intensivos. *Med Clin (Barc)* 2006; 126: 641-6.
4. Laupland KB, Ross T, Gregson DB. *Staphylococcus aureus* bloodstream infections: risk factors, outcomes, and the influence of methicillin resistance in Calgary, Canada, 2000-2006. *J Infect Dis* 2008; 198: 336-43.
5. Chang FY, Peacock JE, Musher DM, Triplett P, MacDonald BB, Mylotte JM, et al. *Staphylococcus aureus* bacteremia: recurrence and the impact of antibiotic treatment in a prospective multicenter study. *Medicine (Baltimore)* 2003; 82: 333-9.
6. Forsblom E, Ruotsalainen E, Molkanen T, Ollgren J, Lyytikäinen O, Jarvinen A. Predisposing factors, disease progression and outcome in 430 prospectively followed patients of healthcare- and community-associated *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *J Hosp Infect* 2011; 78: 102-7.
7. Martin MA, Pfaller MA, Wenzel RP. Coagulase-negative staphylococcal bacteremia. Mortality and hospital stay. *Ann Intern Med* 1989; 110: 9-16.
8. Mylotte JM, Tayara A. *Staphylococcus aureus* bacteremia: predictors of 30-day mortality in a large cohort. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 1170-4.
9. García-Vázquez E, Gómez J, Baños R, Canteras M, Ruiz J, Baños V, et al. Estudio comparativo de pacientes con bacteriemia por *Staphylococcus aureus* sensible a la meticilina frente a *S. aureus* resistente a la meticilina: epidemiología y factores pronósticos. *Med Clin (Barc)* 2007; 128: 681-6.
10. Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 53-9.
11. Otaolea Santacoloma L, Eiros Bouza JM, Ortiz de Lejarazu R, Carrero González P, Chaves Sánchez F, Luquero Alcalde FJ. Epidemiological study of *Staphylococcus aureus* nasal carriage in senior centers. *Rev Esp Quimioter* 2007; 20: 339-45.
12. González-Castillo J, Cenci C, Rodríguez-Adrada E, Candel FJ, de la Torre-Misiego F, Fernández C, Martín-Sánchez FJ. *Staphylococcus aureus* infections and factors associated with resistance to methicillin in a hospital emergency department. *Rev Esp Quimioter* 2013; 26: 337-45.

Carta al Director

Ana Betrán¹
Roberto Aznar²
Concepción López¹
Javier González³

Sepsis por *Yersinia pseudotuberculosis*

¹Servicio de Microbiología Hospital de Barbastro, Huesca

²Servicio Medicina Interna Hospital de Barbastro, Huesca

³Unidad Cuidados Intensivos Hospital de Barbastro, Huesca

Sr. Editor: el género *Yersinia* está formado por al menos 11 especies, de las cuales tres son consideradas patógenos humanos: *Yersinia pestis*, *Yersinia enterocolitica* y *Yersinia pseudotuberculosis*. Estas especies comparten genes responsables de su virulencia, entre los que se encuentra la producción de sideróforos que proveen a la bacteria del hierro necesario para su proliferación y patogenicidad. La avidez por el hierro¹ de este género se manifiesta clínicamente en la predisposición de los pacientes que presentan una sobrecarga de hierro a sufrir infecciones graves por *Yersinia*. Otros factores predisponentes son la diabetes, cirrosis hepática e inmunodepresión. Aunque la incidencia de las infecciones graves es baja, presentan una elevada mortalidad²⁻⁴.

Presentamos un caso de sepsis por *Y. pseudotuberculosis* en un paciente de 58 años, con diabetes tipo 1 desde hace 30 años, hipertensión y retinitis pigmentosa. No presentaba alteraciones hepáticas ni renales previas. Fue remitido a urgencias por fiebre de hasta 39,5°C, afectación del estado general y sintomatología respiratoria. No refería dolor abdominal ni diarrea. La analítica al ingreso mostraba: leucocitos 48.700/mm³, hematocrito 42,8%, hemoglobina 14,1 mg/dL, plaquetas 73.000/mm³, glucosa 308 mg/dL; urea 151 mg/dL; creatinina 2,63 mg/dL; PCR 428,1 mg/L; procalcitonina: 26,56 ng/mL; lactato arterial 3,3 mmol/L; GAB: ph: 7,44; pCO₂: 20,9; pO₂:49,2; HCO₃:14; Exc. Base: -7,8; saturación O₂: 84,8; fosfatasa alcalina 1791; ALT 184; bilirrubina total 21,79 mg/dL; bilirrubina directa 21,61 mg/dL. Metabolismo del hierro: ferritina 4.586 mcg/L; el hierro total, saturación de hierro y transferrina, fueron normales. Requirió ingreso en UCI, precisando soporte respiratorio, nutrición parenteral y diálisis. La tomografía computarizada (TC) mostró un patrón en vidrio deslustrado en bases pulmonares, derrame pleural bilateral y trombosis portal. Se inició tratamiento empírico con piperacilina-tazobactam y aminoglucósido. Durante el ingreso se extrajeron dos series de hemocul-

tivos, y tras 48 horas de incubación, en ambas crecieron bacilos gramnegativos que fueron identificados mediante el sistema multiprueba API 20E (BioMérieux, Francia) y mediante pruebas bioquímicas contenidas en los paneles del sistema MicroScan® como *Yersinia pseudotuberculosis* con el 99% de precisión. La identificación se confirmó en el Centro Nacional de Microbiología, resultando ser un serotipo O: 1. La susceptibilidad frente a betalactámicos, quinolonas, aminoglucósidos, tetraciclinas y cotrimoxazol se realizó mediante microdilución en placa contenida en los mismos paneles MicroScan®, siendo sensible a todos ellos. A los 10 días de tratamiento antibiótico se realizó coprocultivo, que fue negativo. Las serologías para Hepatitis B, Hepatitis C y VIH fueron negativas; no se realizó serología para *Yersinia*. Con respecto a la evolución clínica, el paciente continuó con fiebre intermitente, modificándose el tratamiento a cefotaxima y posteriormente a imipenem, mejorando lentamente el cuadro febril. El valor máximo de ferritina, que se había detectado en la fase aguda de la enfermedad, fue descendiendo lentamente y llegó a normalizarse a los 5 meses. El paciente fue dado de alta tras 10 semanas de hospitalización, con tratamiento anticoagulante y cotrimoxazol. Se le sugirió realizar una biopsia hepática, pero la rechazó, realizándose en su lugar un estudio de elastometría hepática (Fibroscan®) a los 4 meses del ingreso, que mostró un resultado sugestivo de cirrosis hepática. Durante el seguimiento posterior de más de un año, los niveles de ferritina continuaron normales, la función hepática se estabilizó y no se desarrollaron complicaciones tardías.

Las manifestaciones clínicas más frecuentes de la infección por *Y. pseudotuberculosis* son enterocolitis, síntomas sugestivos de apendicitis y linfadenitis mesentérica. El caso publicado por Lantero et al³ fue el primer caso de sepsis descrito en nuestro país. En Rusia se han descrito brotes epidémicos de fiebre, hepatitis y shock tóxico similares a la escarlatina⁵. Otras descripciones de infecciones invasivas se han realizado en países de clima frío^{3,4}, lo que puede relacionarse con la capacidad de *Yersinia* de proliferar a bajas temperaturas. La agresividad de la infección dependerá de la virulencia de las distintas cepas, y de los factores predisponentes del huésped. La primera se expresa en la producción de proteínas de membrana que ejercen una variedad de acciones biológicas y tóxicas. Además,

Correspondencia:
Ana Betrán
Servicio de Microbiología Hospital de Barbastro,
Hospital de Barbastro, Carretera Nacional 240
22300 Barbastro (Huesca)
E-mail: abetrane@salud.aragon.es

los niveles elevados de glucosa en plasma y la fiebre favorecen la sobreexpresión de algunos genes de virulencia en *Y. pseudotuberculosis*^{1,6}. La insuficiencia renal que presentó este paciente precisó diálisis, pese a no tener antecedentes de nefropatía previa. La nefropatía intersticial se ha descrito en otros pacientes con sepsis por *Y. pseudotuberculosis*, relacionándose con la producción de superantígenos⁷. En la patogenia de la colestasis observada pudieron influir diversos factores, como la trombosis portal, la nutrición parenteral administrada o la propia infección. La infección bacteriana fue una de las causas más evidentes, ya fuera de forma directa, mediante el desarrollo de granulomatosis hepática (lesión histopatológica característica de la infección por *Y. pseudotuberculosis* a la que debe su nombre), o indirecta, como ocurre en la colestasis intrahepática inducida por citoquinas proinflamatorias. El paciente cumplía criterios de sepsis grave; destacaron los elevados niveles de PCR, procalcitonina y ferritina en suero. La ferritina puede comportarse como un reactante de fase aguda; su elevación es muy marcada en ciertos síndromes que comparten un escenario común de hiperestimulación de la respuesta inflamatoria, en la que los macrófagos juegan un importante papel por ser los responsables tanto de la producción de citoquinas como de la secreción de ferritina⁸. La ferritina también se encuentra elevada en el síndrome hemofagocítico reactivo, que puede desencadenarse por infecciones virales y bacterianas. En nuestro caso, aplicando un Score recientemente actualizado para este síndrome, el paciente no cumplía los criterios requeridos, si bien compartía alguna de las características, como la ictericia, la hiperferritinemia y la trombopenia⁹. En este paciente, los niveles de ferritina fueron descendiendo lentamente hasta normalizarse, pudiendo descartarse trastornos del metabolismo del hierro como la hemocromatosis.

El tratamiento antibiótico de la sepsis por *Y. pseudotuberculosis* es controvertido. En experimentos realizados en ratones con una cepa patógena humana, los antibióticos betalactámicos (incluido imipenem) fueron menos activos que doxiciclina, gentamicina u ofloxacino¹⁰. Las asociaciones de dos antibióticos incluyendo cefotaxima, piperacilina-tazobactam o imipenem y aminoglucósidos, son las opciones más utilizadas en la literatura publicada recientemente. El uso de fluoroquinolonas también se ha descrito, aunque en nuestro medio preocupa la elevada resistencia encontrada al ácido nalidixico. No está clara la duración óptima del tratamiento. Pese a que en nuestro paciente no se detectó ningún absceso, la monitorización de los marcadores inflamatorios mostró una lenta respuesta al tratamiento, por lo que se decidió prolongar el cotrimoxazol oral durante 6 meses, por ser bien tolerado y además ser uno de los fármacos recomendados por la OMS.

En vista de su complejidad, debemos destacar la importancia de llegar al diagnóstico etiológico de las infecciones graves por *Yersinia*, lo que puede ser difícil sobre todo si no se aísla la bacteria en hemocultivo. Para su aislamiento en coprocultivo hay que considerar que *Y. pseudotuberculosis* puede no desarrollarse en los medios específicos para *Yersinia* (CIN) ni en otros medios selectivos (medio *Salmonella-Shigella*). La serología podría ser útil en cuadros sépticos en los que se detecte

una sobrecarga de hierro. Otras técnicas, como la PCR, tienen actualmente una disponibilidad muy limitada.

FINANCIACIÓN

Los autores declaran no haber recibido financiación para la realización de este estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rakin A, Schneider L, Podladchikova O. Hunger for iron: the alternative siderophore iron scavenging systems in highly virulent *Yersinia*. *Front Cell Infect Microbiol* 2012;2:151.
2. Chiu HY, Flynn M, Hoffbrand AV, Politis D. Infection with *Y. enterocolitica* in patients with iron overload. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1986;292:7.
3. Lantero M, Martin E, Michaus ML, Gastañares MJ, Perales I. Sepsicemia por *Yersinia pseudotuberculosis* y lupus eritematoso sistémico. Descripción de un caso y revisión de la literatura. *Enf Inf Microbiol Clin* 1986;4:278-82.
4. Kaasch AJ, Dinter J, Goeser T, Plum G, Seifert H. *Yersinia pseudotuberculosis* bloodstream infection and septic arthritis: case report and review of the literature. *Infection* 2012; 40:185-90.
5. Eppinger M, Rosovitz MJ, Fricke WF, Rasko DA, Kokorina G, et al. The Complete Genome Sequence of *Yersinia pseudotuberculosis* IP31758, the Causative Agent of Far East Scarlet-Like Fever. *PLoS Genet* 2007;3(8):e142.
6. Galindo CL, Rosenzweig JA, Kirtley ML, Chopra AK. Pathogenesis of *Y. enterocolitica* and *Y. pseudotuberculosis* in human yersiniosis. *J Pathog* 2011;182051.
7. Kaito H, Kamei K, Ogura M, Kikuchi E, Hoshino H, Nakagawa S, et al. Acute encephalopathy and tubulointerstitial nephritis associated with *Yersinia pseudotuberculosis*. *Pediatr Int* 2012; 54:926-8.
8. Rosário C, Zandman-Goddard G, Meyron-Holtz EG, D'Cruz, DP, Shoenfeld Y. The Hyperferritinemic Syndrome: macrophage activation syndrome, Still's disease, septic shock and catastrophic antiphospholipid syndrome. *BMC Med* 2013;11:185.
9. Bidros M, Chirch LM, Santos MT, Tannenbaum SH. The perfect storm: hemophagocytic lymphohistiocytosis complicating disseminated yersiniosis. *Conn Med* 2014;78:143-8.
10. Lemaitre B, Mazigh DA, Scavizzi MR. Failure of β -lactam antibiotics and marked efficacy of fluorquinolones in treatment of murine *Yersinia pseudotuberculosis* infection. *Antimicrob Agent Chemother* 1991;35:1785-90.



Recomendaciones de tratamiento de la infección fúngica invasora por hongo filamentoso en el paciente hematológico 2012

