



REVISTA ESPAÑOLA DE
Quimioterapia

SPANISH JOURNAL
OF CHEMOTHERAPY

ISSN: 0214-3429

Volumen 29

Número 6

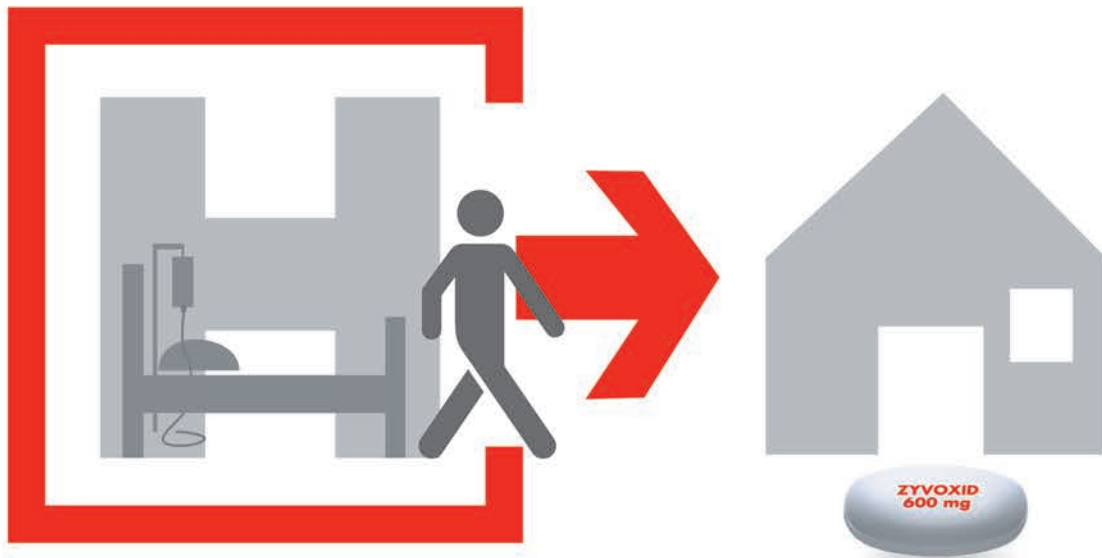
Diciembre 2016

Páginas: 288-344



Publicación Oficial
de la Sociedad Española
de Quimioterapia

Imagen portada: María Teresa Corcuera



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 de 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 reconstituida (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 carcinóide, tirotoxicosis, trastorno bipolar, alteraciones psicoactivas, 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 reconstituida 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 pentamida, 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 2016
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
acomm

Imagen portada:
María Teresa Corcuera

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. Casa (Córdoba)
J. Castillo (Zaragoza)
J. J. Castón (Ciudad Real)
R. Cisterna (Bilbao)
J. Cobo Reinoso (Madrid)
J. Cordero (Madrid)
M. Córdoba (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)

P. Escribano (Madrid)
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)
P. Llinares (La Coruña)
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. Suárez (Madrid)
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 29
Número 6
Diciembre 2016

Revisión	Determinantes de resistencia a fármacos antiparasitarios en la filariasis linfática humana Fernando Cobo	288
Originales	Gripe estacional en octogenarios y nonagenarios ingresados en un hospital general: epidemiología, clínica y factores pronósticos José M. Ramos, M. Mar García-Navarro, M. Pilar González de la Aleja, Rosario Sánchez-Martínez, Adelina Gimeno-Gascón, Sergio Reus, Esperanza Merino, Juan C. Rodríguez-Díaz Joaquín Portilla	296
	Características clínico-demográficas de la población del Sur de Gran Canaria con diagnóstico de enterobiasis: valoración de la toma de muestras Deyanira Carrillo-Quintero, Laura del Otero Sanz, Sara Hernández-Egido, Antonio Martín Sánchez	302
	Monoterapia con darunavir/cobicistat. Experiencia en un hospital de tercer nivel Lucía Yunquera-Romero, Rocío Asensi-Díez, Juan Carlos del Río-Valencia, Isabel Muñoz-Castillo, Manuel Ángel Castaño-Carracedo	308
	Cuestiones claves en la atención del paciente infectado en Urgencias Flavia Chiarella, Juan González-Del Castillo, Francisco Javier Candel, Eric Jorge García-Lamberechts, María José Núñez-Orantos, Francisco Javier Martín-Sánchez representing the Infectious Disease Group of Spanish Emergency Medicine Society	318
Original breve	Evaluación de un nuevo dispositivo para la recogida de la muestra, transporte y detección del estreptococo del grupo B en mujeres embarazadas Alberto Tenorio-Abreu, José Antonio Gómez-Fernández, Luis Arroyo-Pedrero, Esmeralda Rodríguez-Molins	328
	Tipificación mediante secuencias multilocus de cepas humanas de <i>Campylobacter coli</i> en Granada (España) José Antonio Carrillo-Ávila, Antonio Sorlózano-Puerto, Mercedes Pérez-Ruiz, José Gutiérrez-Fernández	332
Cartas al Director	Controles interlaboratorio: algo más que un examen de conocimientos Marina Peñuelas, Francisco Javier Candel, Avelina Suárez Moya	336
	Coinfección por <i>Mycobacterium africanum</i> y <i>Mycobacterium avium</i> en una paciente con SIDA Ana García-Cañas, Juana Cacho-Calvo, Gabriel Gaspar Alonso-Vega, F. Javier Esteban-Fernández, Sergio Julio Rodríguez-Álvarez, Gloria Pérez-Caballero, Emilia Condés-Moreno	338
	Carga de enfermedad por neumonía Miguel López Gobernado, Alberto Pérez-Rubio, Agustín Mayo, José M ^o Eiros	340
	Varicela zóster con fallo multiorgánico fulminante tras altas dosis de corticoides Dolores Escudero, Santiago Melón, Raquel Rodríguez-García, Lucía Viña, Iván Astola, Fernando Vázquez	342

Contents



REVISTA ESPAÑOLA DE Quimioterapia

Volume 29
Number 6
December 2016

Review	Determinants of parasite drug resistance in human lymphatic filariasis 288 Fernando Cobo
Originals	Seasonal influenza in octogenarians and nonagenarians admitted to a general hospital: epidemiology, clinical presentation and prognostic factors 296 José M. Ramos, M. Mar García-Navarro, M. Pilar González de la Aleja, Rosario Sánchez-Martínez, Adelina Gimeno-Gascón, Sergio Reus, Esperanza Merino, Juan C. Rodríguez-Díaz Joaquín Portilla
	Demographic and clinical features of diagnosed individuals of enterobiasis in the southern Gran Canaria: sampling assessment 302 Deyanira Carrillo-Quintero, Laura del Otero Sanz, Sara Hernández-Egido, Antonio Martín Sánchez
	Darunavir/cobicistat monotherapy. Experience in a tertiary hospital 308 Lucía Yunquera-Romero, Rocío Asensi-Díez, Juan Carlos del Río-Valencia, Isabel Muñoz-Castillo, Manuel Ángel Castaño-Carracedo
	Key issues in the infected patient care in the Emergency Department 318 Flavia Chiarella, Juan González-Del Castillo, Francisco Javier Candel, Eric Jorge García-Lamberechts, María José Núñez-Orantos, Francisco Javier Martín-Sánchez representing the Infectious Disease Group of Spanish Emergency Medicine Society
Brief Reports	Multilocus Sequence Typing analysis of human <i>Campylobacter coli</i> in Granada (Spain) 328 Alberto Tenorio-Abreu, José Antonio Gómez-Fernández, Luis Arroyo-Pedrero, Esmeralda Rodríguez-Molins
	Evaluation of a new device for sample collection, transport and detection of Group B <i>Streptococcus</i> in pregnant women 332 Alberto Tenorio-Abreu, José Antonio Gómez-Fernández, Luis Arroyo-Pedrero, Esmeralda Rodríguez-Molins
Letters to the editor	Interlaboratory controls: more than just a knowledge test 336 Marina Peñuelas, Francisco Javier Candel, Avelina Suárez Moya
	<i>Mycobacterium africanum</i> and <i>Mycobacterium avium</i> co-infection in an AIDS patient 338 Ana García-Cañas, Juana Cacho-Calvo, Gabriel Gaspar Alonso-Vega, F. Javier Esteban-Fernández, Sergio Julio Rodríguez-Álvarez, Gloria Pérez-Caballero, Emilia Condés-Moreno
	Pneumonia: burden of disease 340 Miguel López Gobernado, Alberto Pérez-Rubio, Agustín Mayo, José M ^a Eiros
	Varicella Zoster with fulminant multiorgan failure after high-dose corticosteroids 342 Dolores Escudero, Santiago Melón, Raquel Rodríguez-García, Lucía Viña, Iván Astola, Fernando Vázquez

Mycamine® erradica las principales especies de *Candida*¹⁻³



Mycamine® es igual de eficaz que caspofungina y anfotericina B liposomal^{4,5} y menos nefrotóxico que anfotericina-B liposomal^{6*}

Mycamine® no requiere dosis de carga, alcanzando concentraciones terapéuticas desde la primera dosis^{6,7}

Mycamine® ha demostrado un perfil de seguridad clínica favorable en el análisis conjunto de más de 3.000 pacientes incluidos en el desarrollo clínico⁸

Mycamine® es la única equinocandina con indicación en cualquier edad pediátrica, incluidos neonatos⁹⁻¹¹

Bibliografía: 1. Espinel-Ingroff A. Rev Iberoam Micol 2003; 20: 121-136. 2. Ernst EJ, et al. Antimicrob Agent Chemother 2002; 46: 3846-3853. 3. Tawara S, et al. Antimicrob Agent Chemother 2000; 44: 57-62. 4. Pappas PG, et al. Clin Infect Dis 2007; 45: 883-893. 5. Kuse ER, et al. Lancet 2007;369:1519-27. 6. Cross SA, Scott LJ. Drugs 2008;68:225-2255. 7. Hiemenz, et al. Antimicrob Agents and Chemother, Apr. 2005; 49 (4): 13331-1336. 8. Cornely OA, et al. Expert Opin Drug Saf 2011;10:171-83. 9. Ficha técnica Mycamine®. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/es_Es/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/00734/WC500031075.pdf. 10. Ficha técnica Candidas®. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/es_Es/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/00379/WC500021033.pdf. 11. Ficha técnica Ecalta®. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/es_Es/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000788/WC500020673.pdf.

*p < 0,0001

MYCAMUN1160716. Fecha de elaboración: Julio 2016

1. NOMBRE DEL MEDICAMENTO. Mycamine 50 mg polvo para solución para perfusión. Mycamine 100 mg polvo para solución para perfusión. **2. COMPOSICIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA.** Mycamine 50 mg: Cada vial contiene 50 mg de micafungina (como sal sódica). Tras su reconstitución, cada ml contiene 10 mg de micafungina (como sal sódica). Mycamine 100 mg: Cada vial contiene 100 mg de micafungina (como sal sódica). Tras su reconstitución, cada ml contiene 20 mg de micafungina (como sal sódica). Para consultar la lista completa de excipientes, ver sección 5.1. **3. FORMA FARMACÉUTICA.** Polvo para solución para perfusión. Polvo blanco compacto. **4. DATOS CLÍNICOS. 4.1 Indicaciones terapéuticas.** Mycamine está indicado para: **Adultos, adolescentes ≥ 16 años y pacientes de edad avanzada.** Tratamiento de la candidiasis invasiva. Tratamiento de la candidiasis esofágica en los pacientes en los que la terapia intravenosa es adecuada. Profilaxis de la infección por *Candida* en pacientes sometidos a trasplante alogénico de células precursoras hematopoyéticas o en pacientes que se espera que puedan presentar neutropenia (recuento absoluto de neutrófilos < 500 células/microlitro(μ l)) durante 10 o más días. **Niños (neonatos incluidos) y adolescentes < 16 años.** Tratamiento de la candidiasis invasiva. Profilaxis de la infección por *Candida* en pacientes sometidos a trasplante alogénico de células precursoras hematopoyéticas o en pacientes que se espera que puedan presentar neutropenia (recuento absoluto de neutrófilos < 500 células/ μ l) durante 10 o más días. La decisión sobre el uso de Mycamine debe tomarse teniendo en cuenta el riesgo potencial de desarrollo de tumores hepáticos (ver sección 4.4). Por lo tanto, Mycamine debe usarse solo cuando no resulte adecuado el uso de otros antifúngicos. **4.2 Posología y forma de administración.** Hay que prestar atención a las directrices nacionales/oficiales sobre el uso adecuado de antifúngicos. El tratamiento con Mycamine debe ser iniciado por un médico con experiencia en el tratamiento de infecciones fúngicas. Las muestras para cultivos fúngicos y otros estudios de laboratorio relevantes (incluida la anatomía patológica) deben obtenerse antes de iniciar la terapia, a fin de aislar e identificar el/los organismo/s causantes. La terapia podrá establecerse antes de conocerse los resultados de los cultivos y de los otros estudios de laboratorio. Sin embargo, una vez disponibles estos resultados, debe ajustarse la terapia antifúngica según corresponda. **Posología.** La pauta posológica de Mycamine depende del peso del paciente de acuerdo con las siguientes tablas:

Uso en pacientes adultos, adolescentes ≥ 16 años y pacientes de edad avanzada.

Indicación	Peso > 40 kg	Peso ≤ 40 kg
Tratamiento de la candidiasis invasiva	100 mg/día*	2 mg/kg/día*
Tratamiento de la candidiasis esofágica	150 mg/día	3 mg/kg/día
Profilaxis de la infección por <i>Candida</i>	50 mg/día	1 mg/kg/día

*Si la respuesta del paciente no es la adecuada (por ejemplo, si los cultivos siguen siendo positivos o si su cuadro clínico no mejora), la dosis puede incrementarse a 200 mg/día en los pacientes que pesen > 40 kg o 4 mg/kg/día en los pacientes que pesen ≤ 40 kg.

Duración del tratamiento. Candidiasis invasiva: La duración del tratamiento para la infección por *Candida* debe ser, como mínimo, de 14 días. El tratamiento antifúngico debe continuarse durante al menos una semana más tras la obtención de dos cultivos sanguíneos consecutivos negativos, y **después** de la resolución de los síntomas y signos clínicos de la infección. Candidiasis esofágica: Para el tratamiento de la candidiasis esofágica, Mycamine debe administrarse durante al menos una semana tras la resolución de los síntomas y signos clínicos. Profilaxis de las infecciones por *Candida*: Para la profilaxis de la infección por *Candida*, Mycamine debe administrarse durante al menos una semana tras la recuperación del recuento de neutrófilos.

Uso en niños ≥ 4 meses de edad hasta adolescentes < 16 años.

Indicación	Peso corporal > 40 kg	Peso corporal ≤ 40 kg
Tratamiento de la candidiasis invasiva	100 mg/día*	2 mg/kg/día*
Profilaxis de la infección por <i>Candida</i>	50 mg/día	1 mg/kg/día

*Si la respuesta del paciente no es la adecuada (por ejemplo, si los cultivos siguen siendo positivos o si su cuadro clínico no mejora) la dosis puede incrementarse a 200 mg/día en pacientes que pesen > 40 kg o a 4 mg/kg/día en pacientes que pesen ≤ 40 kg.

Uso en niños (neonatos incluidos) < 4 meses de edad

Indicación	
Tratamiento de la candidiasis invasiva	4 – 10 mg/kg/día*
Profilaxis de la infección por <i>Candida</i>	2 mg/kg/día

*La dosificación de 4 mg/kg de micafungina en niños menores de 4 meses de edad se aproxima a la exposición al fármaco alcanzada en adultos que reciben 100 mg/día para el tratamiento de la candidiasis invasiva. Si se sospecha infección del sistema nervioso central (SNC), se debe usar una dosis mayor (por ejemplo, 10 mg/kg) debido a la penetración dosis-dependiente de micafungina en el SNC (ver sección 5.2). No se ha establecido adecuadamente en estudios clínicos controlados la seguridad y eficacia en niños (neonatos incluidos) menores de 4 meses de edad de las dosis de 4 y 10 mg/kg para el tratamiento de la candidiasis invasiva con afectación del SNC.

Duración del tratamiento. Candidiasis invasiva: La duración del tratamiento para la infección por *Candida* debe ser, como mínimo, de 14 días. El tratamiento antifúngico debe continuarse durante al menos una semana tras la obtención de dos cultivos sanguíneos consecutivos negativos, y **después** de la resolución de los síntomas y signos clínicos de la infección. Profilaxis de las infecciones por *Candida*: Para la profilaxis de la infección por *Candida*, Mycamine debe administrarse durante al menos una semana tras la recuperación del recuento de neutrófilos. La experiencia sobre el uso de Mycamine en pacientes menores de dos años es limitada. **Sexo/raza.** No se precisa ningún ajuste de la dosis en función del sexo o de la raza. **Pacientes con insuficiencia hepática.** No se precisa ningún ajuste de la dosis en pacientes con insuficiencia hepática leve o moderada. En la actualidad no se dispone de suficientes datos relativos al uso de Mycamine en pacientes con insuficiencia hepática grave y, por tanto, no se recomienda su uso en dichos pacientes (ver sección 4.4). **Pacientes con insuficiencia renal.** No se precisa ningún ajuste de la dosis en pacientes con insuficiencia renal. **Forma de administración.** Tras su reconstitución y dilución, la solución se administrará mediante perfusión intravenosa durante aproximadamente 1 hora. Las perfusiones realizadas con mayor rapidez suelen desencadenar con más frecuencia reacciones mediadas por histamina. Ver sección 5.6 para leer las instrucciones para la reconstitución. **4.3 Contraindicaciones.** Hipersensibilidad al principio activo, a otras equinocandinas o a alguno de los excipientes incluidos en la sección 5.1. **4.4 Advertencias y precauciones especiales de empleo.**

Efectos hepáticos:

En ratas, tras un periodo de tratamiento de 3 meses o superior se observó el desarrollo de focos de alteración hepatocitaria (FAH) y de tumores hepatocelulares. El supuesto umbral para el desarrollo de tumores en ratas se encontraba aproximadamente en el rango de la exposición clínica. Se debe tener en cuenta la relevancia de este hallazgo para el uso terapéutico en humanos. Hay que monitorizar estrechamente la función hepática durante el tratamiento con micafungina. Para minimizar el riesgo de regeneración adaptativa y la potencial formación posterior de un tumor hepático, se recomienda interrumpir cuanto antes el tratamiento si los niveles de alanina aminotransferasa/aspartato aminotransferasa (ALAT/ASAT) se incrementan de forma significativa y persistente. El tratamiento con micafungina debe llevarse a cabo en base a una evaluación cuidadosa de la relación beneficio/riesgo, particularmente en los pacientes que padecen una insuficiencia hepática grave o una insuficiencia hepática crónica con procesos preneoplásicos comprobados, como fibrosis hepática avanzada, cirrosis, hepatitis vírica, trastorno hepático neonatal o defecto enzimático congénito, o que están recibiendo un tratamiento concomitante con propiedades hepatotóxicas o genotóxicas.

El tratamiento con micafungina se asoció con un deterioro significativo de la función hepática (incremento de ALAT, ASAT o de la bilirrubina total > 3 veces el límite superior del rango normal (LSN)) tanto en voluntarios sanos como en pacientes. En algunos pacientes se han notificado alteraciones hepáticas más graves, hepatitis o fracaso hepático con casos mortales. Los pacientes pediátricos menores de un año, tienen más probabilidad de sufrir una lesión hepática (ver sección 4.8). **Reacciones anafilácticas.** Durante la administración de micafungina pueden producirse reacciones anafilácticas/anafilactoides, incluido el shock anafiláctico. Si se producen estas reacciones, debe suspenderse la perfusión de micafungina y administrarse el tratamiento adecuado. **Reacciones cutáneas.** Se han notificado reacciones cutáneas exfoliativas, como síndrome de Stevens-Johnson y necrólisis epidérmica tóxica. Si los pacientes presentan exantema, deben ser cuidadosamente monitorizados, y si las lesiones progresan, debe suspenderse el tratamiento con micafungina. **Hemólisis.** Se han notificado casos raros de hemólisis, incluyendo hemólisis intravascular aguda o anemia hemolítica, en pacientes tratados con micafungina. Los pacientes con datos clínicos o de laboratorio de hemólisis durante el tratamiento con micafungina deben ser cuidadosamente monitorizados para detectar cualquier empeoramiento de estas condiciones hemolíticas, y para evaluar la relación beneficio/riesgo de continuar con el tratamiento con micafungina. **Efectos renales.** Micafungina puede causar alteraciones renales, fracaso renal y resultados anómalos en las pruebas de función renal. Los pacientes deben ser cuidadosamente monitorizados para detectar cualquier empeoramiento de la función renal. **Interacciones con otros medicamentos.** La coadministración de micafungina y anfotericina B desoxicolato debe usarse solo cuando los beneficios superan claramente a los riesgos, con una estrecha monitorización de las toxicidades de anfotericina B desoxicolato (ver sección 4.5). En los pacientes tratados con sirolimus, nifedipino o itraconazol en combinación con Mycamine debe monitorizarse la toxicidad de sirolimus, nifedipino o itraconazol, y, si es necesario, debe reducirse la dosis de estos medicamentos (ver sección 4.5). **Población pediátrica.** La incidencia de algunas reacciones adversas fue superior en los pacientes pediátricos que en los adultos (ver sección 4.8). **4.5 Interacción con otros medicamentos y otras formas de interacción.** Micafungina tiene un escaso potencial de interacción con los medicamentos metabolizados a través de las vías mediadas por el citocromo CYP3A. Se llevaron a cabo estudios de interacciones farmacológicas en individuos sanos para evaluar el potencial de interacción entre micafungina y micofenolato mofetilo, ciclosporina, tacrolimus, prednisolona, sirolimus, nifedipino, fluconazol, ritonavir, rifampicina, itraconazol, voriconazol y anfotericina B. En estos estudios no se observaron alteraciones farmacocinéticas de micafungina. No se precisaron ajustes de la dosis de micafungina cuando estos medicamentos se administran de forma concomitante. La exposición (AUC) de itraconazol, sirolimus y nifedipino se incrementó ligeramente en presencia de micafungina (22%, 21% y 18%, respectivamente). La coadministración de micafungina y anfotericina B desoxicolato se asoció con un incremento del 30% de la exposición a anfotericina B desoxicolato. Ya que esto puede tener importancia clínica, esta coadministración debe usarse solo cuando los beneficios superan claramente a los riesgos, con una estrecha monitorización de las toxicidades de anfotericina B desoxicolato (ver sección 4.4). En los pacientes tratados con sirolimus, nifedipino o itraconazol en combinación con Mycamine debe monitorizarse la toxicidad de sirolimus, nifedipino o itraconazol, y, si es necesario, debe reducirse la dosis de estos medicamentos (ver sección 4.4). **4.6 Fertilidad, embarazo y lactancia.** Embarazo. No existen datos suficientes sobre la utilización de micafungina en mujeres embarazadas. En estudios en animales, micafungina cruzó la barrera placentaria y se observó toxicidad reproductiva. Se desconoce el riesgo potencial en seres humanos. Mycamine no debería utilizarse durante el embarazo excepto si fuese claramente necesario. **Lactancia.** Se desconoce si micafungina se excreta en la leche humana materna. Los estudios realizados en animales han demostrado la excreción de micafungina en la leche materna. La decisión de continuar o interrumpir el periodo de lactancia o de continuar o interrumpir el tratamiento con Mycamine debe tomarse teniendo en cuenta el beneficio que supone la lactancia para el neonato y el beneficio que supone Mycamine para la madre. **Fertilidad.** En estudios en animales se ha observado toxicidad testicular. Micafungina puede alterar potencialmente la fertilidad masculina en humanos. **4.7 Efectos sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas.** No se han realizado estudios de los efectos del medicamento sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas. No obstante, pueden aparecer reacciones adversas que pueden influir sobre la capacidad de conducir y usar máquinas (ver sección 4.8). **4.8 Reacciones adversas. Resumen del perfil de seguridad.** El perfil de seguridad de micafungina se basa en los ensayos clínicos realizados con 3028 pacientes tratados con micafungina: 2002 pacientes con infecciones por *Candida* (incluyendo candidemia, candidiasis invasiva y candidiasis esofágica), 375 pacientes con aspergilosis invasiva (principalmente infecciones refractarias) y 651 pacientes en profilaxis de infecciones sistémicas fúngicas. Los pacientes tratados con micafungina en los ensayos clínicos representan una población crítica de pacientes con enfermedades graves, que requieren

múltiples fármacos, incluyendo quimioterapia antineoplásica, inmunosupresores sistémicos potentes y antibióticos de amplio espectro. Estos pacientes presentaban una amplia variedad de enfermedades subyacentes complejas, como neoplasias hematológicas e infección por VIH, o eran receptores de trasplantes y/o estaban siendo tratados en unidades de cuidados intensivos. Los pacientes tratados de forma profiláctica con micafungina estuvieron sometidos a un trasplante de células precursoras hematopoyéticas (TCPH) y presentaban alto riesgo de contraer infecciones fúngicas. En total, el 32,2% de los pacientes presentaron reacciones adversas. Las reacciones adversas notificadas con mayor frecuencia fueron náuseas (2,8%), incremento de la fosfatasa alcalina en sangre (2,7%), flebitis (2,5%, principalmente en pacientes infectados por VIH con vías periféricas), vómitos (2,5%) e incremento de la aspartato aminotransferasa (2,3%). No se observaron diferencias clínicamente significativas cuando se analizaron los datos de seguridad en función del sexo o la raza. **Tabla de reacciones adversas.** En la tabla 1 se enumeran las reacciones adversas en función de la clasificación por órganos y sistemas, y de acuerdo con el término preferido por MedDRA. Las reacciones adversas se enumeran en orden decreciente de gravedad dentro de cada intervalo de frecuencia. **Descripción de algunas reacciones adversas seleccionadas. Posibles síntomas de tipo alérgico.** En los ensayos clínicos se han notificado síntomas como exantema y rigidez. La mayoría fueron de intensidad leve a moderada, y no limitaron el tratamiento. Durante la terapia con micafungina y solo en pacientes con enfermedades subyacentes graves (como SIDA en fase avanzada, neoplasias), que requerían múltiples medicaciones concomitantes, se notificaron reacciones graves de forma poco frecuente (p. ej. reacción anafiláctica 0,2%, 6/3028). **Reacciones hepáticas adversas.** La incidencia global de reacciones hepáticas adversas en los pacientes tratados con micafungina en ensayos clínicos fue de 8,6% (260/3028). La mayoría de las reacciones hepáticas adversas fueron leves y moderadas. Las reacciones más frecuentes fueron el incremento de fosfatasa alcalina (FA) (2,7%), ASAT (2,3%), ALAT (2,0%), bilirrubina en sangre (1,6%) y las alteraciones en las pruebas de función hepática (1,5%). Algunos pacientes (1,1%; 0,4% graves) interrumpieron el tratamiento debido a algún acontecimiento hepático. De forma poco frecuente, se observaron casos de insuficiencia hepática grave (ver sección 4.4). **Reacciones locales en el lugar de la inyección.** Ninguna de las reacciones adversas en el lugar de la inyección limitó el tratamiento. **Población pediátrica.** La incidencia de algunas reacciones adversas (enumeradas en la siguiente tabla) fue superior en los pacientes pediátricos que en los adultos. Además, los pacientes pediátricos menores de 1 año de edad experimentaron con el doble de frecuencia un incremento en ALAT, ASAT y FA que los pacientes pediátricos de mayor edad (ver sección 4.4). La razón más probable para estas diferencias fueron las diferentes enfermedades que sufren estos pacientes en comparación con los adultos u otros pacientes pediátricos de mayor edad observadas en los ensayos clínicos. Al inicio del ensayo, la proporción de pacientes pediátricos con neutropenia era varias veces superior a la de los pacientes adultos (40,2% y 7,3% de niños y adultos, respectivamente), al igual que pacientes TCPH alógenos (29,4% y 13,4% respectivamente) y tumores hematológicos (29,1% y 8,7%, respectivamente).

Trastornos de la sangre y del sistema linfático	
Frecuentes	trombocitopenia
Trastornos cardíacos	
Poco frecuentes	taquicardia
Trastornos vasculares	
Frecuentes	hipertensión, hipotensión
Trastornos hepatobiliares	
Frecuentes	hiperbilirrubinemia, hepatomegalia
Trastornos renales y urinarios	
Frecuentes	fracaso renal agudo, incremento de la urea en sangre

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 Sobre dosis.** En los ensayos clínicos, se han administrado dosis diarias repetidas de hasta 8 mg/kg (dosis total máxima de 896 mg) a pacientes adultos, sin describirse una toxicidad limitante de la dosis. En un caso espontáneo se notificó la administración de una dosis de 16 mg/kg/día en un paciente recién nacido. No se observaron reacciones adversas asociadas a esta dosis elevada. No se dispone de experiencia relacionada con sobredosis de micafungina. En caso de sobredosis, se deberá administrar un tratamiento sintomático y medidas generales de apoyo. Micafungina se une fuertemente a las proteínas y no es dializable.

Tabla 1. Reacciones adversas

Clasificación de Órganos y Sistemas	Frecuente ≥ 1/100 a < 1/10	Poco frecuente ≥ 1/1000 a < 1/100	Rara ≥ 1/10.000 a < 1/1000	Desconocida (la frecuencia no puede estimarse a partir de los datos disponibles)
Trastornos de la sangre y del sistema linfático	leucopenia, neutropenia, anemia	pancitopenia, trombocitopenia, eosinofilia, hipoalbuminemia	anemia hemolítica, hemólisis (ver sección 4.4)	coagulación intravascular diseminada
Trastornos del sistema inmune		reacción anafiláctica/anafilactoides (ver sección 4.4), hipersensibilidad		
Trastornos endocrinos		hiperhidrosis		
Trastornos del metabolismo y la nutrición	hipopotasemia, hipomagnesemia, hipocalcemia	hiponatremia, hiperpotasemia, hipofosfatemia, anorexia		
Trastornos psiquiátricos		insomnio, ansiedad, confusión		
Trastornos del sistema nervioso	cefalea	somnolencia, temblor, mareo, alteración del sentido del gusto		
Trastornos cardíacos		taquicardia, palpitaciones, bradicardia		
Trastornos vasculares	flebitis	hipotensión, hipertensión, sofocos		shock
Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos		disnea		
Trastornos gastrointestinales	náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal	dispepsia, estreñimiento		
Trastornos hepatobiliares	incremento de la fosfatasa alcalina en sangre, incremento de la aspartato aminotransferasa, incremento de la alanina aminotransferasa, incremento de la bilirrubina en sangre (incluyendo hiperbilirrubinemia), pruebas hepáticas funcionales anómalas	fracaso hepático (ver sección 4.4), incremento de la gammaglutamiltransferasa, ictericia, colestasis, hepatomegalia, hepatitis		lesión hepatocelular con casos mortales (ver sección 4.4)
Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo	exantema	urticaria, prurito, eritema		erupción cutánea tóxica, eritema multiforme, síndrome de Stevens-Johnson, necrólisis epidérmica tóxica (ver sección 4.4)
Trastornos renales y urinarios		incremento de la creatinina sérica, incremento de la urea sérica, empeoramiento de la insuficiencia renal		alteración renal (ver sección 4.4), fracaso renal agudo
Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	pirexia, rigidez	trombosis en el lugar de inyección, inflamación en el lugar de perfusión, dolor en el lugar de inyección, edema periférico		
Exploraciones complementarias		incremento de la lactato deshidrogenasa en sangre		

5. DATOS FARMACÉUTICOS. 5.1 Lista de excipientes. Lactosa monohidrato. Ácido cítrico anhidro (para ajustar el pH). Hidróxido sódico (para ajustar el pH). **5.2 Incompatibilidades.** Este medicamento no debe mezclarse o infundirse simultáneamente con otros, excepto con los mencionados en la sección 5.6. **5.3 Período de validez.** Vial intacto (sin abrir): 3 años. **Concentrado reconstituido en el vial:** Se ha comprobado la estabilidad química y física del producto en uso durante 48 horas a 25°C, cuando se reconstituye con solución de cloruro sódico 9 mg/ml (0,9%) para perfusión o con solución de glucosa 50 mg/ml (5%) para perfusión. **Solución diluida para perfusión:** Se ha comprobado que la estabilidad química y física que permite su uso es de 96 horas a 25°C, protegida de la luz, cuando se diluye con solución de cloruro sódico 9 mg/ml (0,9%) para perfusión o con solución de glucosa 50 mg/ml (5%) para perfusión. Mycamine no contiene conservantes. Desde el punto de vista microbiológico, las soluciones diluidas y reconstituidas deben utilizarse inmediatamente. Si no se usan de forma inmediata, los tiempos y condiciones de conservación previas a su uso son responsabilidad del usuario, y no deberían superar las 24 horas a una temperatura entre 2 y 8 °C, a menos que la reconstitución y la dilución se hayan producido en condiciones asepticas controladas y validadas. **5.4 Precauciones especiales de conservación.** **Viales intactos (sin abrir):** Este medicamento no requiere condiciones especiales de conservación. Para las condiciones de conservación tras la reconstitución y dilución del medicamento, ver sección 5.3. **5.5 Naturaleza y contenido del envase.** Vial de vidrio Tipo I de 10 ml con tapón de goma de isobutileno-isopreno (PTFE-laminado) y con caperuza "flip-off". El vial está precintado con una película protectora UV. Se suministra en cajas de 1 vial. **5.6 Precauciones especiales de eliminación y otras manipulaciones.** 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. Mycamine no debe mezclarse o infundirse simultáneamente con otros medicamentos excepto aquellos mencionados más abajo. Mycamine se reconstituye y diluye, utilizando técnicas asepticas a temperatura ambiente, tal y como se indica a continuación: **1.** La caperuza plástica debe retirarse del vial y el tapón debe desinfectarse con alcohol. **2.** Deben inyectarse lenta y asepticamente dentro de cada vial junto a la pared interna, 5 ml de solución de cloruro sódico 9 mg/ml (0,9%) para perfusión o solución de glucosa 50 mg/ml (5%) para perfusión (tomados de una botella/bolsa de 100 ml). Aunque el concentrado hará espuma, debe tenerse especial cuidado en minimizar la cantidad de espuma generada. Debe reconstituirse un número suficiente de viales de Mycamine para obtener la dosis necesaria en mg (consultar la tabla a continuación). **3.** El vial debe girarse con suavidad. **NO DEBE AGITARSE.** El polvo se disolverá completamente. El concentrado debe usarse inmediatamente. El vial es para un único uso. Por lo tanto, el concentrado reconstituido no utilizado debe desecharse inmediatamente. **4.** Todo el concentrado reconstituido debe retirarse de cada vial y devolverse a la botella/bolsa de perfusión de la que fue tomado inicialmente. La solución diluida para perfusión debe utilizarse inmediatamente. Se ha comprobado que la estabilidad química y física permite el uso del medicamento durante 96 horas a 25°C siempre que esté protegido de la luz, y la dilución se realice tal y como se ha descrito anteriormente. **5.** La botella/bolsa para la perfusión debe invertirse cuidadosamente para dispersar la solución diluida pero **NO** debe agitarse para evitar la formación de espuma. No debe utilizarse la solución si está turbia o se ha formado precipitado. **6.** La botella/bolsa que contiene la solución diluida para perfusión debe introducirse en una bolsa opaca con precinto para protegerla de la luz.

Preparación de la solución para perfusión

Dosis (mg)	Vial de Mycamine a utilizar (mg/vial)	Volumen de cloruro sódico (0,9%) o de glucosa (5%) a añadir en cada vial	Volumen (concentración) de polvo reconstituido	Perfusión estándar (hasta 100 ml) Concentración final
50	1 x 50	5 ml	aprox. 5 ml (10 mg/ml)	0,5 mg/ml
100	1 x 100	5 ml	aprox. 5 ml (20 mg/ml)	1,0 mg/ml
150	1 x 100 + 1 x 50	5 ml	aprox. 10 ml	1,5 mg/ml
200	2 x 100	5 ml	aprox. 10 ml	2,0 mg/ml

Tras la reconstitución y dilución, la solución se debe administrar mediante perfusión intravenosa durante aproximadamente 1 hora. **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/1/08/448/001 (Mycamine 50 mg), EU/1/08/448/002 (Mycamine 100 mg). **8. FECHA DE LA PRIMERA AUTORIZACIÓN/RENOVACIÓN DE LA AUTORIZACIÓN.** Fecha de la primera autorización 25/abril/2008. Fecha de la última renovación 20/diciembre/2012. **9. FECHA DE LA REVISIÓN DEL TEXTO.** 06/2016. **10. PRESENTACIONES Y PRECIO VENTA AL PÚBLICO (IVA).** Mycamine 50 mg, 1 vial, polvo para solución para perfusión: 275,81€. Mycamine 100 mg, 1 vial, polvo para solución para perfusión: 498,66 €. **11. CONDICIONES DE DISPENSACIÓN.** Con receta médica. Uso hospitalario. 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>.

Review

Fernando Cobo

Determinants of parasite drug resistance in human lymphatic filariasis

Department of Microbiology and Parasitology. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada, Spain

ABSTRACT

Infection with filarial nematodes remains endemic in several countries worldwide and some of these infections are commonly associated with severe disease. The elimination of lymphatic filariasis relies on drug administration using the three drugs currently available for treatment: diethylcarbamazine, albendazole, and ivermectin. However, development of drug resistance is a reported phenomenon. The issue of resistance to antihelminthics used in humans has become increasing importance since the global program to eliminate lymphatic filariasis is implemented in larger population groups and the duration of the program is increasing. Recently, ivermectin resistance has been reported in Ghana, and widespread of resistance to benzimidazole (such as albendazole) is present because specific mutations in the gene encoding β -tubulin have been associated with drug resistance. Moreover, it is well known that diethylcarbamazine susceptibility is not 100% for lymphatic filariasis treatment. A review of the mechanisms of resistance to these antihelminthics is necessary in order to optimize the treatment for human lymphatic filariasis.

KEY WORDS: Filariasis, resistance, mass drug administration, albendazole, ivermectin, diethylcarbamazine

Determinantes de resistencia a fármacos antiparasitarios en la filariasis linfática humana

RESUMEN

La infección por filarias sigue siendo endémica en varios países y algunas de estas infecciones pueden producir enfermedad grave. La eliminación de la filariasis linfática se basa en administración de fármacos, mediante la utilización de los tres medicamentos disponibles actualmente para su tratamiento: dietilcarbamazina, albendazol e ivermectina. Sin embargo, ha sido descrito el fenómeno de la resistencia a estos fármacos. La resistencia a antihelmínticos utilizados en seres humanos está adquiriendo una importancia cada vez mayor, desde que el programa global para eliminar la filariasis linfática se ha instaurado en grandes grupos de población, y conforme la duración de ese programa va aumentando. Recientemente, ha sido publicada la resistencia a ivermectina en Ghana, y la amplia propagación de resistencia a benzimidazoles (tal como albendazol) está presente debido a que las mutaciones específicas en el gen que codifica la β -tubulina han sido asociadas con resistencia a fármacos. Además, es ampliamente conocido que la sensibilidad a dietilcarbamazina no es del 100% para el tratamiento de la filariasis linfática. Por ello, se hace necesaria una revisión de los mecanismos de resistencia a estos antihelmínticos, para una optimización del tratamiento frente a la filariasis linfática humana.

PALABRAS CLAVE: Filariasis, resistencia, administración de fármacos en masa, albendazol, ivermectina, dietilcarbamazina

INTRODUCTION

Lymphatic filariasis is a disease caused by infection with a group of filarial nematodes transmitted by mosquito vectors. The World Health Organization (WHO) considers lymphatic filariasis to be a neglected tropical disease affecting approximately 120 million people in over 73 countries¹. *Wuchereria ban-*

Correspondence:
Dr. Fernando Cobo
Department of Microbiology and Parasitology
Hospital Universitario Virgen de las Nieves
Avda Fuerzas Armadas, 2 - 18014 Granada, Spain
Phone: +34958020780 - Fax: +34958248562
E-mail: fernando.cobo.sspa@juntadeandalucia.es

crofti is responsible for approximately 90% of the disease worldwide, while the remaining cases are due to *Brugia malayi* and *B. timor*². These filarial nematodes have important social and economic impact causing considerable morbidity and serious illnesses with resultant social stigmatization, marginalization, and loss of work in patients³.

Control and treatment of lymphatic filariasis is difficult for several reasons: limitation of effective drugs, vector control programmes unsuccessful and no available vaccines. For that reason, in 2000 WHO launched The Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis (GPELF) with the objective to eliminate this disease as a public health problem by 2020⁴. The elimination strategy is based on annual treatment of whole communities with combinations of drugs, known as mass drug administration (MDA). Currently MDA use the three drugs available for treatment at different regimens: ivermectin (IVM), albendazole (ALB), and diethylcarbamazine (DEC)⁵. The possibility of this global elimination strategy has been established due to the eradication some years ago of lymphatic filariasis in China and other countries using DEC alone.

However, the issue of resistance to antihelminthics using for treating human infections has become increasingly important⁶. Previously, it has been already reported the emergence of high levels of drug resistance in veterinary medicine due to the extensively use of benzimidazoles (BZ) and IVM⁷⁻⁸. In view of this fact, it stands to reason that the MDA in larger populations groups for several years may perform a strong selective pressure on parasites, leading also to the emergence of drug-resistant strains⁹. As population groups and the duration of the programme increase, the threat of treatment failure due to the emergence of resistance could be more visible. On the other hand, the genetic variation of filarial parasites can be an important factor that might influence the efficacy of the drug as well as the development and spread of drug resistance¹⁰.

Until now, it has been demonstrated the evidence of non-susceptibility to DEC in filarial nematodes¹¹, although detailed studies of resistance are difficult due to a poor understanding of its mechanism of action. In 2004, resistance to IVM was reported in *Onchocerca volvulus*¹², but no confirmed reports of resistance in *W. bancrofti* have been provided. However, there is growing evidence of resistance to BZ in many nematode parasites¹³.

Despite these findings, the importance and the mechanisms of resistance to these drugs remain still unclear. The objective of this review is to assess the magnitude of antihelminthic resistance in lymphatic filariasis as well as to explore the main determinants of parasite drug resistance in order to better understand the potential treatment failures with MDA and to improve the treatment strategies.

ANTIFILARIAL DRUGS FOR LYMPHATIC FILARIASIS: MASS DRUG ADMINISTRATION

Because of the findings on the research during the past

Table 1

Recommended treatment strategies for mass drug administration (MDA).

Type of filariasis	Region	Treatment strategy
Lymphatic filariasis	Africa	IVM and ALB for at least 5 years
Lymphatic filariasis	Rest of the world	DEC and ALB for at least 5 years
Onchocerciasis	Africa	IVM every year for at least 15-17 years
Onchocerciasis	Rest of the world	IVM twice every year until transmission have been interrupted

Source: WHO. IVC: ivermectin; ALB: albendazole; DEC = diethylcarbamazine.

30 years, new treatment regimens and strategies to face with lymphatic filariasis were established. Thus, in 1997 WHO classified lymphatic filariasis as a potentially eradicable disease¹⁴. The main objective of GPELF is to eliminate lymphatic filariasis as a public health problem, decreasing in transmission by reducing the microfilariae load through the supply of a combination of two drugs that should be applied to entire populations at risk by MDA⁴. The elimination strategy is based on stopping the spread of infection and in controlling morbidity. In order to apply this program, the first step consists on mapping the geographical distribution of the disease. Once made, once-yearly administration of single doses of two drugs given together for at least 5 years is the recommended regimen for treatment (table 1). Coverage of at least 65% of the total at-risk population should be established to be effective. Finally, a surveillance phase after MDA should be established with transmission assessment surveys¹⁵. In areas where onchocerciasis is co-endemic, IVM (150 µg/kg) plus ALB (400 mg) is the recommended treatment, while in areas where onchocerciasis is not endemic, DEC (8 mg/kg) plus ALB (400 mg) is the preferred treatment regimen.

During the period 2000-2011, more than 3.9 billion doses of these drugs were administered to the endemic population. By the end of 2011, 53 of 73 endemic countries were already applying MDA¹⁶; twelve of these countries had already moved to the surveillance phase. The final objective is to apply MDA for 100% of endemic countries and move to the surveillance phase and for 70% of endemic countries to be verified for no transmission by 2020¹⁷.

MECHANISMS OF ACTION OF ANTIFILARIAL AGENTS

Diethylcarbamazine (DEC)

DEC is a piperazine derivate used as major chemotherapeutic agent to treat lymphatic filariasis since 1947¹⁸⁻¹⁹. Although the cause by which DEC leads to decrease the concentration of parasites in the peripheral circulation is still unknown, several mechanisms of action have been suggested (table 2). *In vitro* studies have demonstrated that alterations in parasite eicosanoid metabolism are present. Specifically, the effects on parasite eicosanoid production (block on the

Table 2 Summary of the proposed mechanisms of action and parasite drug resistance for MDA drugs.

Drug	Mechanism of action	Effects	Mechanism of resistance
DEC	Block on the cyclooxygenase pathway	Immobilization of microfilarias	Single nucleotide polymorphisms Activation of innate and non-specific immune system
	Microfilarial DNA break	Apoptosis	
	Macrofilaricidal effect	Death of the adult parasite	
ALB	Binding to β -tubulin and blocks the formation of microtubule matrix	Stop cell division	Unknown
	Blocks glucose uptake	Immobilization and death of the parasite	
	Macrofilaricidal effect	Suppression of reproduction by the adult parasite	
IVM	Affinity to glutamate-gated chloride channel	Paralysis and death of the parasite	Changes in β -tubulin, protein 60 and acidic ribosomal protein P-glycoprotein and ABC transporters dysfunction Polymorphisms of MDR1 and CYP3A genes

MDA: mass drug administration

DEC: diethylcarbamazine; ALB: albendazole; IVM: ivermectin

cyclooxygenase pathway) and host endothelium can lead to death of microfilaria²⁰. These changes may produce vasoconstriction, amplified endothelial adhesion, and cytotoxic activity and then can lead to immobilization of microfilarias. All these facts could produce activation of the innate and non-specific immune system²¹.

On the other hand, other studies have found evidences that DEC induces microfilarial DNA break with subsequent apoptosis possibly related to an altered function of microtubules, although this process is not enough to eliminate microfilarias, because in *in vitro* conditions the microfilariae are still alive²².

With regard to macrofilaricidal effect, the distinct results in the different studies are most likely due to different level of transmission in the areas where the study was performed. However, available data show that DEC could also eliminate the adult worms causing lymphatic filariasis when administered in low doses in medicated table salt²³, but this macrofilaricidal effect is limited. Studies that show higher rates of adulticidal effect have often been carried out in areas without new worm infections.

Albendazole (ALB)

ALB is a broad-spectrum anthelmintic belonging to benzimidazole group of antihelmintics that has been used widely to treat intestinal helminthic infections since the late 1980s and now also serves as treatment of lymphatic filariasis²⁴. Several mechanisms of action were proposed for the BZs in the past, but currently it is well known that the BZ drugs perform their primary action selectively binding to the cytoskeletal protein β -tubulin²⁵. This binding inhibits the polymerization and blocks the formation of microtubule matrix which is essential to the functioning of cells. Finally, these facts lead to stop cell division. Moreover, ALB blocks glucose uptake in the larval and

adults stages, leading to depletion of glycogen and reducing the stores of adenosine triphosphate (ATP) leading to immobilization and death of the parasite²⁶. However, the most important effect of ALB on *W. bancrofti* is the prolonged suppression of reproduction by the adult parasites (approximately 9 months)²⁷. Macrofilaricidal effect has been demonstrated only when high and frequent doses are administered (400 mg/day/21 days), but it is associated with high side effects and intolerability²⁸.

Ivermectin (IVM)

IVM was the first commercially available macrocyclic lactone endectocide and until now it is the only macrocyclic lactone used in parasites infecting humans. This drug was discovered in the mid-1970s and it was introduced as antiparasitic agent in 1981, showing activity against a wide variety of nematodes²⁹. The target of IVM is aimed at the microfilaria stage of several nematodes (e.g. *O. volvulus*) binding with high affinity to glutamate (GABA)-gated chloride channels causing an increase in the permeability of the cell membrane to chloride ions with hyperpolarization of the nerve or muscle cell. Hyperpolarization results in paralysis and death of the parasite either directly or by lack of feeding in worms. GABA is an important inhibitory neurotransmitter in the nematode neuromuscular system, and some research found that GABA receptors could play a role in the mechanism of action of IVM³⁰.

In nematodes, macrocyclic lactones could cause some effects such as paralysis/activation of body muscle, pharyngeal pumping and inhibition of reproduction³¹. Paralysis of the pharyngeal muscle is unlikely to be important in filariae. However, inhibition of reproduction could be the most important effect in these parasites. It is likely that IVM acts on microfilariae *in vivo* by increasing their sensitivity to the host immune system, although the true mechanism is still unknown.

MECHANISMS OF PARASITE DRUG RESISTANCE

The development of drug resistance in veterinary parasitology suggests that the resistance to the treatment of lymphatic filariasis in human nematode parasites could be also produced. The occurrence of anthelmintic resistance in filarial parasites such as *W. bancrofti* is difficult to demonstrate because these parasites do not have a free-living stage and cannot be cultured in animal models. In this context, parasitological evidence of anthelmintic drug resistance can only be found by demonstrating the persistence of parasites after treatment over a long period of time. However, due to the difficulty to monitor the anthelmintic resistance in lymphatic filariasis, molecular markers for anthelmintic resistance are needed.

Drug resistance for lymphatic filariasis could become a growing risk which may be probably due to the selective pressure on parasite populations⁹. Large scale exposure to antifilarial drugs through MDA programme can lead to the rapid emergence and spread of drug-resistant strains doing useless the efforts to eradicate the infection.

ALB is currently one of the drugs give for MDA in the GPELF programme, so as a component of this treatment it would be necessary to monitor the possibility of emerging of resistance to this medicine in lymphatic filariasis. However, not only drug pressure is responsible for the emergence of resistance, but also untreated populations of *W. bancrofti* might have drug-resistant alleles for ALB¹³⁻³². The resistance-associated mutation could be found at a high frequency even before the MDA program had been started, although these mutations may be found at a high frequency in worms from treated patients¹³.

ALB resistance in lymphatic filariasis and in many other nematodes is associated with single nucleotide polymorphisms (SNPs). Molecular markers for anthelmintic resistance have shown that this resistance is known to be produced by substituting tyrosine for phenylalanine in parasite β -tubulin at either position 167 or 200³³⁻³⁴. The mutation at codon 200 appears to be more common in nematodes and has been demonstrated to be recessive³⁵. The deletion of phenylalanine and the substitution for tyrosine at codons 167 and 200 is the key factor for the high-affinity binding of ALB and other benzimidazoles to nematode tubulin leading to sensitivity to these anthelmintics³⁶.

A study showed that in worms collected from patients treated with ALB plus IVM there were higher 200-genotype mutation than in untreated patients or those treated only with ALB. The overall allele frequency was 31.6% higher in the treated versus the non-treated worm population, which indicates that this mutation appears after drug treatment¹³. Moreover, the same study shows that in patients who had been submitted to two rounds of treatment with ALB + IVM the allele frequency was an additional 25.9% higher.

Resistance to IVM had been previously found in nematodes infecting animals³⁷, although until now no confirmed resistance to IVM in lymphatic filariasis has been reported. How-

ever, it was not until 2004 when it was reported resistance to IVM in the human parasite *O. volvulus*. In a study performed in patients living in northern Ghana, a suboptimal response to ivermectin treatment was demonstrated¹², and more recently, resistance to IVM was found in other population-based study from Ghana³⁸. Some studies have been performed by analysing changes in β -tubulin, protein 60 and acidic ribosomal protein genes³⁹. However, no clearly relationship has been established between these genes and the apparition of IVM resistance.

On the other hand, research has also focused on the study to other genes such as P glycoprotein and ABC transporter that could be associated with resistance to IVM⁴⁰⁻⁴³. Some works have concluded that IVM treatment results in a homozygote deficit of these genes in the treated population and changes in allele frequencies have been found after IVM administration. However, the significance of these findings in the development of resistance to IVM remains unclear.

On the other hand, IVM is a known substrate for both the CYP3A4 and MDR1 genes and several studies have previously identified genetic polymorphisms within the MDR1 gene related with some effects on drug response⁴⁴⁻⁴⁵. In addition, the CYP3A gene and some subfamilies have been involved in the metabolism of some pharmaceutical drugs. It is well known that genetic polymorphisms may cause suboptimal response to some drugs due to a pharmacokinetic variability. Some authors have theorized about the relationship of the polymorphisms of both MDR1 and CYP3A genes and the presence of drug inefficacy⁴⁶.

In 2010, a study exploring the influence of genetic variations within MDR1, CYP3A4, and CYP3A5 genes on response to IVM treatment by examining genotype frequencies in responders and suboptimal responders was performed⁴⁷. The authors found both a significantly higher MDR1 (3435T) variant allele frequency in suboptimal responders than in responders (21% vs. 12%) and also than in the control group (21% vs. 11%). With regard to genotypes, CYP3A5*1/CYP3A5*1 and CYP3A5*1/CYP3A5*3 genotypes were also found to be significantly different for responders and suboptimal responders. The haplotype *1/*1/*3/*1 was also found to be significantly different for responders and suboptimal responders. Although this study only included a small population, a relationship between CYP3A4 and MDR1 variants and response to IVM treatment could be established based on host genetic differences. These distinct genetic variants can play an important role in the variable drug response to IVM. However, further studies including larger populations will be necessary in order to confirm these results.

Many studies have reported that drug pressures on parasite populations leads to the development of drug resistance and reduces genetic variation among parasite populations. Eberhard et al¹¹ generated evidence of nonsusceptibility to DEC in *W. bancrofti* which indicates the possible threat of widespread resistance to this drug. The genetic variation of microfilarias is an important factor that may influence the efficacy of the medicine as well as the development and spread of drug resistance among parasite populations. DEC quickly reduces

the quantity of microfilariae in the blood, but according with some works this drug does not completely eliminate microfilariae from the blood⁴⁸⁻⁴⁹. Because of the mode of action of DEC is poorly understood, the mechanism of resistance against this drug is currently unknown, so research is needed in order to discover it.

GENETIC DIVERSITY OF FILARIAL PARASITES RELATED TO DRUG RESISTANCE

Genetic diversity is mainly produced by mixing genetically different populations, although antifilarial drug pressure on the parasite populations could also play an important role in increasing this gene diversity. The introduction of new drugs for the treatment of filariasis can lead to the selection of alleles encoding resistance to these drugs, affecting the efficacy about the parasite.

Some studies have shown the existence of genetic variability of *W. bancrofti* parasite populations using techniques such as the random amplified polymorphic DNA (RAPD)⁵⁰⁻⁵¹. The RAPD profile was performed in order to analyse the phylogenetic relationships between the populations. The analysis of the RAPD profiles showed a high degree of genetic variability. In four endemic locations in India, population genetic analysis was carried out based on RAPD profiles of 31 individual populations. The highest number of polymorphic loci was found in the urban parasite populations. A phylogenetic tree was constructed using RAPD profiles and four different clusters were found in a rural area and three different clusters in an urban area. On the other hand, the profiles from the urban area showed that only one locus was common and the percentage of polymorphic loci among individual parasite populations was very high, so a high heterogeneity was found.

Moreover, genetic heterogeneity of microfilaria population within a carrier was analysed. Twenty-one individual microfilarias were investigated and gene diversity was found to be very high. In this case, four different lineages were obtained through the phylogenetic tree constructed, so at least four genotypes of microfilaria exist. Finally, the results of analysis showed that the parasite heterogeneity and number of genotypes increased with age probably due to the acquisition of new infections.

Other studies have used the EPIFIL system which consists of a model that describes some parasites population dynamics⁵²⁻⁵³. Based on this model, the authors could describe the trend in drug resistance by examining factors affecting the spread of ABZ resistance under several assumptions⁵⁴. The speed of ABZ resistance spread is higher with treatment with ABZ + DEC than with ABZ + IVM. Moreover, the spread of ABZ resistance is strongly dependent on treatment coverage because this model also indicates that treatment with ABZ + DEC for 10 years at 85% coverage could increase the resistant genotype frequency to approximately 13%. Thus, higher levels of therapeutic coverage can lead to rapid spread of ABZ resistance⁵⁴.

Using the same EPIFIL system, Schwab et al. attempt to analyse the population genetics of potential multi-drug resistance in *W. bancrofti* due to combination chemotherapy⁵⁵. This model predict a decrease of the possibility that IVM resistance will produce a parasite increase, although this decrease may occult an increase in the number of adult worms resistant to both ABZ and IVM. This work also suggests that some changes in the proportion of ABZ and IVM resistant microfilariae could be observed during the treatment period. According to this model, the presence of IVM resistance would increase the rate of ABZ resistance and *vice versa*.

On the other hand, the model also indicates that children will have a higher proportion of resistance than adults, because acquisition of new infections will be higher in children, whereas could be reduced in adults because of protecting antibodies against filarial infections.

Genetic diversity of the parasite populations may influence the drug response and the clinical outcome, but also it can be a consequence of the drug pressure due to different chemotherapy strategies. With respect to this, Ramasamy et al. described the different genetic structure of *W. bancrofti* populations depending on the chemotherapy strategy⁵⁶. One hundred and seventy-eight blood samples from microfilaria carriers were analysed using the RAPD technique and genetic profiles were generated. From 74 populations of *W. bancrofti* under MDA treatment with DEC alone, there was 100% of polymorphism percentages, showing high levels of genetic diversity and could be clustered into eight groups. Furthermore, from 60 *W. bancrofti* parasite populations under treatment with DEC + ALB, there were 70% polymorphisms and 18 polymorphic loci, showing 5 clusters. Finally, 34 *W. bancrofti* populations with selective treatment with a standard dose of DEC during a long time were analysed, being the percentage of polymorphisms of 92%, showing 4 groups.

These results demonstrate the influence of the different treatment strategies on the genetic structure of *W. bancrofti*. Genetic diversity of filarial parasites is usually maintained at high levels because of some circumstances, but anti-filarial treatment causes a break in that stable state. Several treatment combinations at different doses may reduce genetic diversity and can lead to the selection of drug resistance alleles⁵⁷.

The study of cytochrome oxidase subunit 1 (COI) which is a useful marker for taxonomic and population genetic studies, has also been used in order to detect genetically different *W. bancrofti* strains. A study sequenced 22 samples from two Ghana districts⁵⁸. Genetic analysis shows 11 haplotypes, and 58 polymorphic sites were found between populations, being the southern population more polymorphic than the northern population. Furthermore, the COI gene from 16 patients infected with *W. bancrofti* was sequenced and the authors discovered 109 unique haplotypes with one common haplotype present in 15 of them⁵⁹. These data confirmed the high levels of genetic diversity in populations of *W. bancrofti*.

Because of the genetic variability may have important

implications in chemotherapy resistance and clinical response, further studies using more genetic markers and comparing the influence of different treatment regimens on the genetic structure of filarias will be necessary in order to identify different parasite strains which can explain in depth the difference in drug response of lymphatic filariasis.

NEED FOR NEW ANTI-FILARIAL DRUGS

Overall, treatment with anti-filarial drugs through the MDA programme had proved in a significant reduction of morbidity caused by microfilarias, although in some areas such as the Polynesian Islands over 50 years of MDA using DEC did not eliminate the infection⁶⁰. However, broad use of the three drugs currently available increases the risk for the emergence and spread of drug resistance, which may be a threat to the development of the GPELF. Since there is no available vaccine and the vector control programs have failed, the short-term goal is to identify and develop new classes of drugs and alternative chemotherapeutic strategies.

In the 1970's a group of intracellular bacteria called *Wolbachia* was discovered. This microorganism acts as endosymbiont of filarial nematodes except in *Loa Loa*, and it is well known that filarial parasites depend on these endosymbionts for metabolic and reproductive functions⁶¹. Many antibiotics but, above all doxycycline are known to be effective in the treatment of human filariasis through the action in *Wolbachia*⁶². In LF doxycycline at a dose of 100-200 mg/day for six weeks is microfilaricidal⁶³, and at a dose of 200 mg/day for 4 weeks cause sterility and death of adult worms⁶⁴. However, the macrofilarial effect of doxycycline in onchocerciasis is not 100% and is contraindicated in pregnant or breastfeeding women and children under 9 years, so new drugs will be necessary for these populations.

There have been two recent scientific advances that provide new perspectives for target validation for anti-filarial drug discovery like the development of RNA interference (RNAi) and the large-scale production of gene sequence information. RNAi provides an adequate but also a difficult technique for searching biological functions of genes in parasitic nematodes⁶⁵. In this sense, a Scientific Working Group (SWG) recommended strategic guidelines for the research in this field⁶⁶. RNAi screening of the filarial genome may found essential genes, some of which may be adequate targets for anti-filarial drug discovery.

On the other hand, the filarias genome sequencing may also serve as identification of drug targets for LF. Genome projects are based on the identification, cloning and sequencing of all genes of the parasites. Currently, about 20 million base pairs of expressed filarial parasite DNA sequence are available in genomic libraries⁶⁷. Moreover, the sequencing of the mitochondrial genomes for filarial parasites may provide additional targets for potential useful drugs.

Additional biochemical compounds have been proposed as potential targets for the investigation of new anti-filarial drugs. The targets which have been validated to antifilarials

include arachidonic acid, β -tubulin, antioxidant defence system, DNA topoisomerases, GABA receptor channel, glutamate-gated chloride channel and nicotinic acetylcholine receptor⁶⁸.

CONCLUDING REMARKS

The goal of the GPELF is to eliminate the parasite infection based on the annual administration of ALB, IVM or DEC in two different regimens according the areas of endemicity. MDA to the general population is currently the main strategy of WHO to make in practice this objective in endemic areas. However, the majority of the medicines have only demonstrated a microfilaricidal effect, but they are ineffective on the elimination of adult worms. Moreover, it is well known that the filarial control programmes based on strong selective pressure on parasite populations could lead to the emergence of drug-resistant strains, and the duration of the programme may increase the probability of treatment failure related to parasite resistance.

Drug pressure may have influence about genetic variation among parasite populations and genetic structure of filarial parasites seems an important factor that may explain the decrease of drugs efficacy in some circumstances. In view of this threat, efforts should be taken on the study of mechanisms of resistance related to parasite genetic structure in order to determinate the existence of drug-resistant strains, as well as the finding of new filarial genetic markers for drug resistance. Development of methods to monitor the emergence of drug resistance as well as the discovery of new potential targets for the investigation of new anti-filarial drugs is essential for the future control of the disease.

CONFLICT OF INTEREST

Author declares no conflict of interest

FUNDING

Author declares no funding for this work

REFERENCES

1. WHO, "Lymphatic filariasis", Geneva, Switzerland, March 2014, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/en/>.
2. Michael E, Bundy DAP. Global mapping of lymphatic filariasis. *Parasit Today* 1997; 13: 472-6.
3. Ramaiah KD, Guyatt H, Ramu K, Vanamail P, Pani SP, Das PK. Treatment costs and loss of work time to individuals with chronic lymphatic filariasis in rural communities in South India. *Trop Med Int Health* 1999; 4: 19-25.
4. World Health Organization. Elimination of lymphatic filariasis. *Wkly Epidemiol Rec* 2002; 77: 177-9.
5. Gyapong JO, Kumaraswami V, Biswas G, Ottesen EA. Treatment strategies underpinning the global programme to eliminate

- lymphatic filariasis. *Expert Opin Pharmacother* 2005; 179-200.
6. McCarthy J. Is anthelmintic resistance a threat to the program to eliminate lymphatic filariasis? *Am J Trop Med Hyg* 2005; 73: 232-3.
 7. Conway DP. Variance in effectiveness of thiabendazole against *Haemonchus contortus* in sheep. *Am J Vet Res* 1964; 25: 844-5.
 8. Prichard RK. Anthelmintic resistance in nematodes: extent, recent understanding and future directions for control and research. *Int J Parasitol* 1990; 20: 515-23.
 9. Grant WN. Genetic variation in parasitic nematodes and its implications. *Int J Parasitol* 1994; 24: 821-30.
 10. Anderson TJ, Jaenike J. Host specificity, evolutionary relationships and macrogeographic differentiation among *Ascaris* populations from humans and pigs. *Parasitology* 1997; 115: 325-42.
 11. Eberhard ML, Lammie PJ, Dickinson CM, Roberts JM. Evidence of nonsusceptibility to diethylcarbamazine in *Wuchereria bancrofti*. *J Infect Dis* 1991; 1157-60.
 12. Awadzi K, Boakye DA, Edwards G, Opoku NO, Attah SK, Osei-Atweneboana MY, et al. An investigation of persistent microfilaridermias despite multiple treatments with ivermectin, in two onchocerciasis-endemic foci in Ghana. *Ann Trop Med Parasitol* 2004; 98: 231-49.
 13. Schwab AE, Boakye DA, Kyelem D, Prichard RK. Detection of benzimidazole resistance-associated mutations in the filarial nematode *Wuchereria bancrofti* and evidence for selection by albendazole and ivermectin combination treatment. *Am J Trop Med Hyg* 2005; 73: 234-8.
 14. Fiftieth World Health Assembly: resolutions and decisions; annexes. Geneva, World Health Organization, 1997: 5-14 (WHA50/1997/REC/1).
 15. Transmission assessment surveys in the Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis. WHO position statement. Geneva, World Health Organization, 2012. (WHO/HTM/NTD/PCT/2012.9).
 16. Lymphatic filariasis: monitoring and epidemiological assessment of mass drug administration programme. A manual for national elimination programmes. Geneva, World Health Organization, 2011. (WHO/HTM/NTD/PCT/2011.4).
 17. Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis. Progress report 2000-2009 and strategic plan 2010-2020. Geneva. World Health Organization, 2010.
 18. Hawking F. Diethylcarbamazine and new compounds for treatment of filariasis. *Adv Pharmacol Chemother* 1979; 16: 130-94.
 19. Mackenzie CD, Kron MA. Diethylcarbamazine: a review of its action in onchocerciasis, lymphatic filariasis and inflammation. *Trop Dis Bull* 1985; 82: R1-R36.
 20. Kanesa-athan N, Douglas JG, Kazura JW. Diethylcarbamazine inhibits endothelial and microfilarial prostanoid metabolism in vitro. *Mol Biochem Parasitol* 1991; 49: 11-20.
 21. Maizels RM, Denham DA. Diethylcarbamazine (DEC): immunopharmacological interactions of an anti-filarial drug. *Parasitology* 1992; 105: S49-S60.
 22. Peixoto CA, Santos ACO, Ayres CFJ. Molecular evidence for apoptosis in microfilariae of *Wuchereria bancrofti* induced by diethylcarbamazine. *Parasitol Research* 2008; 103: 717-21.
 23. Hewitt RI, White E, Wallace WS. Experimental chemotherapy of filariasis. Effect of piperazine derivatives against naturally acquired filarial infections in cotton rats and dogs. *J Lab Clin Med* 1947; 32: 1304-13.
 24. Ottesen EA, Ismail MM, Horton J. The role of Albendazole in programmes to eliminate lymphatic filariasis. *Parasitol today* 1999; 15: 382-6.
 25. Friedman PA, Platzer EG. Interaction of antihelminthic benzimidazoles and benzimidazole derivatives with bovine brain tubulin. *Biochim Biophys Acta* 1978; 544: 605-14.
 26. Bertram GK. Clinical pharmacology of the antihelminthic drugs. In: Basic and clinical pharmacology. 5th edition, 1992, Chapter 55, pp 748. Appleton and Lange, London.
 27. Michael E, Malecela-Lazaro MN, Simonsen PE, Pedersen EM, Barker G, Kumar A, et al. Mathematical modelling and the control of lymphatic filariasis. *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 223-34.
 28. Jayakody RL, de Silva CSS, Weerasinghe WMT. Treatment of bancroftian filariasis with albendazole: evaluation of efficacy and adverse reactions. *Trop Biomed* 1993; 10: 19-24.
 29. Campbell WC. Ivermectin: an update. *Parasitol Today* 1985; 1: 10-16.
 30. Schulz-Key H. Observations on the reproductive biology of *Onchocerca volvulus*. *Acta Leiden* 1990; 59: 27-44.
 31. Bennett JL, Williams JF, Dave V. Pharmacology of ivermectin. *Parasitol Today* 1988; 4: 226-8.
 32. Schwab AE, Churcher TS, Schwab AJ, Basáñez MG, Prichard RK. An analysis of the population genetics of potential multi-drug resistance in *Wuchereria bancrofti* due to combination chemotherapy. *Parasitology* 2007; 134: 1025-40.
 33. Kwa MSG, Veenstra JG, Roos MH. Molecular characterization of β -tubulin genes present in benzimidazole-resistant populations of *Haemonchus contortus*. *Mol Biochem Parasitol* 1993; 60: 133-44.
 34. Kwa MSG, Veenstra JG, Roos MH. Benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* is correlated with a conserved mutation at amino acid 200 in beta-tubulin isotype 1. *Mol Biochem Parasitol* 1993; 63: 299-303.
 35. Elard L, Humbert JF. Importance of the mutation of amino acid 200 of the isotype 1 β -tubulin gene in the benzimidazole resistance of the small-ruminant parasite *Teladorsagia circumcincta*. *Parasitol Res* 1999; 85: 452-6.
 36. Prichard R. Genetic selection following selection of *Haemonchus contortus* with anthelmintics. *Trends Parasitol* 2001; 17: 445-53.
 37. Prichard RK. Anthelmintic resistance in nematodes: extent, recent understanding and future directions for control and research. *Int J Parasitol* 1990; 20: 515-23.
 38. Osei-Atweneboana MY, Eng JK, Boakye DA, Gyapong JO, Prichard RK. Prevalence and intensity of *Onchocerca volvulus* infection and efficacy of ivermectin in endemic communities in Ghana: a two-phase epidemiological study. *Lancet* 2007; 369: 2021-9.
 39. Bourguinat C, Pion SD, Kamgno J, Gardon J, Duke BO, Boussinesq M, et al. Genetic selection of low fertile *Onchocerca volvulus* by

- ivermectin treatment. *PLOS Negl Trop Dis* 2007; 1: e72.
40. Ardelli BF, Guerriero SB, Prichard RK. Ivermectin imposes selection pressure on P-glycoprotein from *Onchocerca volvulus*: Linkage disequilibrium and genotype diversity. *Parasitology* 2006; 132: 375-86.
 41. Bourguinat C, Ardelli BF, Pion SD, Kamgno J, Gardon J, Duke BO, et al. P-glycoprotein-like protein, as possible genetic marker for ivermectin resistance selection in *Onchocerca volvulus*. *Mol Biochem Parasitol* 2008; 158: 101-11.
 42. Ardelli BF, Prichard RK. Reduced genetic variation of an *Onchocerca volvulus* ABC transporter gene following treatment with ivermectin. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2007; 101: 1223-32.
 43. Prichard RK, Poulet A. ABC transporters and beta-tubulin in macrocyclic lactone resistance: Prospects for marker development. *Parasitology* 2007; 134: 1123-32.
 44. Sakaeda T, Nakamura T, Okumura K. Pharmacogenetics of MDR1 and its impact on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs. *Pharmacogenomics* 2003; 4: 397-410.
 45. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmöller J, John A, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 3473-8.
 46. Ardelli BF, Guerriero SB, Prichard RK. Genomic organization and effects of ivermectin selection on *Onchocerca volvulus* P-glycoprotein. *Mol Biochem Parasitol* 2005; 143: 58-66.
 47. Kudzi W, NO Doodoo A, Mills JJ. Genetic polymorphisms in MDR1, CYP3A4 and CY3A5 genes in a Ghanaian population: a plausible explanation for altered metabolism of ivermectin in humans? *BMC Med Genet* 2010; 11: 111.
 48. Eberhard ML, Lowrie RC, Lammie PJ. Persistence of microfilaremia in bancroftian filariasis after diethylcarbamazine citrate therapy. *Trop Med Parasitol* 1988; 39: 128-130.
 49. Eberhard ML, Lammie PJ, Roberts JM, Lowrie RC. Effectiveness of spaced doses of diethylcarbamazine citrate for the control of bancroftian filariasis. *Trop Med Parasitol* 1989; 40: 111-3.
 50. Pradeep Kumar N, Patra KP, Hoti SL, Das PK. Genetic variability of the human filarial parasite, *Wuchereria bancrofti* in South India. *Acta Tropica* 2002; 82: 67-76.
 51. Hoti SL, Thangadurai R, Dhamodharan R, Das PK. Genetic heterogeneity of *Wuchereria bancrofti* populations at spatially hierarchical levels in Pondicherry and surrounding areas, south India. *Infect Genet Evol* 2008; 8: 644-52.
 52. Chan MS, Srividya A, Norman RA, Pani SP, Ramaiah KD, Vanamail P, et al. EPIFIL: a dynamic model of infection and disease in lymphatic filariasis. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 59: 606-14.
 53. Norman RA, Chan MS, Srividya A, Pani SP, Ramaiah KD, Vanamail P, et al. EPIFIL: the development of an age-structured model for describing the transmission dynamics and control of lymphatic filariasis. *Epidemiol Infect* 2000; 124: 529-41.
 54. Schwab AE, Churcher TS, Schwab AJ, Basáñez MG, Prichard RK. Population genetics of concurrent selection with albendazole and ivermectin or diethylcarbamazine on the possible spread of albendazole resistance in *Wuchereria bancrofti*. *Parasitology* 2006; 133: 598-601.
 55. Schwab AE, Churcher TS, Schwab AJ, Basáñez MG, Prichard RK. An analysis of the population genetics of potential multi-drug resistance in *Wuchereria bancrofti* due to combination chemotherapy. *Parasitology* 2007; 134: 1025-40.
 56. Ramasamy D, Hoti SL, Sharma R, Das MK. Influence of anti-filarial chemotherapy strategies on the genetic structure of *Wuchereria bancrofti* populations. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2011; 106: 240-7.
 57. Paul RE, Packer MJ, Walmsley M, Lagog M, Ranford-Cartwright LC, Paru R, et al. Mating patterns in malaria parasite populations of Papua New Guinea. *Science* 1995; 269: 1709-11.
 58. de Souza DK, Osei-Poku J, Blum J, Baidoo H, Brown CA, Lawson BW, et al. The epidemiology of lymphatic filariasis in Ghana, explained by the possible existence of two strains of *Wuchereria bancrofti*. *Pan African Med J* 2014; 17: 133.
 59. Small ST, Ramesh A, Bun K, Reimer L, Thomsen E, Baea M, et al. Population genetics of the filarial worm *Wuchereria bancrofti* in a post-treatment region of Papua New Guinea: insights into diversity and life history. *PLOS Negl Trop Dis* 2013; 7: e2308.
 60. Pichon G. Limitation and facilitation in the vectors and other aspects of the dynamics of filarial transmission: the need for vector control against *Anopheles* transmitted filariasis. *Ann Trop Med Parasitol* 2002; 96: S143-S152.
 61. Taylor MJ. *Wolbachia* bacteria of filarial nematodes in the pathogenesis of disease and as a target for control. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2000; 94: 596-98.
 62. Townson S, Hutton D, Siemieniaka J, Hollick L, Scanlon T, Tagboto SK, et al. Antibiotics and *Wolbachia* in filarial nematodes: antifilarial activity of rifampicin, oxytetracycline and chloramphenicol against *Onchocerca gutturosa*, *Onchocerca lienalis* and *Brugia pahangi*. *Ann Trop Med Parasitol* 2000; 94: 801-16.
 63. Hoerauf A, Mand S, Fischer K, Kruppa T, Marfo-Debrekeye Y, Debrah AY, et al. Doxycycline as a novel strategy against bancroftian filariasis-depletion of *Wolbachia* endosymbionts from *Wuchereria bancrofti* and stop of microfilaria production. *Med Microbiol Immunol* 2003; 192: 211-6.
 64. Debrah AY, Mand S, Marfo-Debrekeye Y, Batsa L, Pfarr K, Buttner M, et al. Macrofilaricidal effect of 4 weeks of treatment with doxycycline on *Wuchereria bancrofti*. *Trop Med Int Health* 2007; 12: 1433-41.
 65. Aboobaker AA, Blaxter ML. Use of RNA interference to investigate gene function in the human filarial nematode parasite *Brugia malayi*. *Mol Biochem Parasitol* 2003; 129: 41-51.
 66. Behm CA, Bendig MM, McCarter JP, Sluder AE. RNAi-based discovery and validation of new targets in filarial nematodes. *Trends Parasitol* 2005; 21: 97-100.
 67. Parkinson J, Mitreva M, Hall N, Blaxter M, McCarter JP. 400000 nematode ESTs on the net. *Trends Parasitol* 2003; 19: 283-6.
 68. Tripathi RP, Katiyar D, Dwivedi N, Singh BK, Pandey J. Recent developments in search of antifilarial agents. *Curr Med Chem* 2006; 13:3319-34.

José M. Ramos^{1,2}
M. Mar García-Navarro¹
M. Pilar González de la Aleja¹
Rosario Sánchez-Martínez¹
Adelina Gimeno-Gascón³
Sergio Reus⁴
Esperanza Merino⁴
Juan C. Rodríguez-Díaz³
Joaquín Portilla^{1,2,4}

Seasonal influenza in octogenarians and nonagenarians admitted to a general hospital: epidemiology, clinical presentation and prognostic factors

¹Department of Internal Medicine, Hospital General Universitario de Alicante. Alicante, Spain

²Department of Clinical Medicine, Universidad Miguel Hernández de Elche, Campus of San Juan de Alicante, Alicante, Spain

³Service of Microbiology, Hospital General Universitario de Alicante. Alicante, Spain.

⁴Unit of Infection Diseases, Hospital General Universitario de Alicante. Alicante, Spain

ABSTRACT

Background. Seasonal influenza is responsible for high annual morbidity and mortality worldwide, especially in elderly patients. The aim of the study was to analyse the epidemiological, clinical and prognostic features of influenza in octogenarians and nonagenarians admitted to a general hospital, as well as risk factors associated with mortality.

Methods. Retrospective, cross-sectional, descriptive study in patients admitted and diagnosed with influenza by molecular biology in the General University Hospital of Alicante from 1 January to 31 April 2015.

Results. A total of 219 patients were diagnosed with influenza in the study period: 55 (25.1%) were ≤ 64 years-old; 77 (35.2%) were aged 65–79; 67 (30.6%) were aged 80–89 years; and 20 (9.1%) were aged ≥ 90 years. Most flu episodes were caused by influenza A ($n=181$, 82.6%). Patients aged 80 years or older had lower glomerular filtration rate (mean: 49.7 mL/min vs. 62.2 mL/min; $p=0.006$), a greater need for non-invasive mechanical ventilation (22% vs 9.3%; $p=0.02$), greater co-morbidity due to cardiac insufficiency (40.5% vs. 16.4%; $p<0.001$) and chronic renal disease (32.9 vs. 20%, $p=0.03$), and greater mortality (19% vs. 2.9%; $p<0.001$). In a multivariate analysis, mortality was higher in those aged 80 or over (adjusted odds ratio [ORa] 9.2, 95% confidence interval [CI] 1.65–51.1), those who had acquired the flu in a long-term care facility (ORa 11.9, 95% CI 1.06–134), and those with hyperlactataemia (ORa 1.89, 95% CI 1.20–3.00).

Conclusions. Seasonal influenza is a serious problem leading to elevated mortality in octogenarian and nonagenarian patients admitted to a general hospital.

Key words: Human influenza; Influenza A virus; Aged care; Frail elderly; Geriatric care

Gripe estacional en octogenarios y nonagenarios ingresados en un hospital general: epidemiología, clínica y factores pronósticos

RESUMEN

Introducción. La gripe epidémica estacional es responsable de una elevada morbi-mortalidad cada año en el mundo especialmente en pacientes de edad avanzada. El objetivo del estudio fue presentar las características epidemiológicas, clínicas y pronósticas de la gripe estacional en octogenarios y nonagenarios ingresados en un hospital general y analizar los factores asociados con la mortalidad.

Material y métodos. Estudio descriptivo transversal retrospectivo de los pacientes ingresados con gripe diagnosticados por biología molecular en el Hospital General Universitario de Alicante desde el 1 de enero del 2015 hasta 31 de abril del 2015.

Resultados. En el periodo de estudio fueron diagnosticados 219 pacientes, de ellos 55 (25,1%) eran ≤ 64 años, 77 (35,2%) adultos de entre 65 y 79 años, 67 (30,6%) entre 80–89 años y 20 (9,1%) ≥ 90 años. La mayoría de los episodios fueron gripe causada por influenza A ($n=181$; 82,6%). Los pacientes ≥ 80 años tenían unos valores medios de un filtrado glomerular inferior (media: 49,7 mL/min vs. 62.2 mL/min; $p=0,006$), mayor requerimiento de ventilación mecánica no invasiva (22% vs 9,3%; $p=0,02$), una mayor comorbilidad por insuficiencia cardiaca (40,5% vs. 16,4%; $p<0,001$) y enfermedad renal crónica (32,9 vs. 20%, $p=0,03$), así como mayor mortalidad (19% vs. 2,9%; $p<0,001$). En el análisis multivariado, la mortalidad fue superior en los mayores de 80 años (odds ratio ajustada [ORa]: 9,2, intervalo de confianza [IC] del 95%: 1,65–51,1), con adquisición de la gripe en un centro socio sanitarios (ORa: 11,9, IC 95%: 1,06–134) y la hiperlactacidemia (ORa: 1,89, IC 95%: 1,20–3,00).

Correspondence:

José Manuel Ramos

Servicio de Medicina Interna. Hospital General Universitario de Alicante. C/ Pintor Baeza 12, 03010 Alicante. España.

E-mail: jramosrincon@yahoo.es

Conclusiones. La gripe es un grave problema con elevada mortalidad en pacientes octogenarios y nonagenarios ingresados en un hospital general.

Palabra clave: Gripe, virus de gripe A; cuidados del anciano; paciente frágil; paciente geriátrico.

INTRODUCTION

Influenza is a disease of the respiratory tract, caused by *Orthomyxovirus* types A or B, and it affects people of all ages. Influenza has a seasonal form, appearing each autumn and winter in countries of temperate climate in both hemispheres. The different clinical expression of influenza is related to prior exposure, natural or vaccine-induced, to antigens of the influenza virus^{1,2}. In addition, a pandemic flu appears more rarely, about every 40 years, and it is associated with higher morbidity and mortality. The last pandemic was influenza A subtype H1N1 in 2009¹.

Most people infected with the influenza virus exhibit self-limited, uncomplicated, acute febrile respiratory symptoms or are asymptomatic. However, severe disease and complications due to infection, including hospitalisation and death, may occur in the elderly³, in children, in people with underlying medical conditions (including pulmonary and cardiac disease, diabetes, and immunosuppression), and in some otherwise healthy people². Seasonal influenza is a serious infection, and frequently it is complicated with viral or bacterial pneumonia and other bacterial infections²⁻⁴.

The geriatric population, and especially those aged 80 or older, are among the patients most affected by seasonal influenza and those who suffer the greatest mortality and serious complications related to it^{2,5-7}. In recent years, there have been numerous scientific contributions related to the pandemic influenza A H1N1^{1,3,4}; however, no Spanish studies have been published on the relevance of seasonal influenza to hospital admissions in the advanced geriatric population.

The aim of our study was to analyse the epidemiological, clinical and prognostic features of influenza in octogenarians and nonagenarians admitted to a general hospital and risk factors associated with mortality.

MATERIAL AND METHODS

A retrospective, cross-sectional, descriptive study was carried out in patients with influenza admitted to the General University Hospital of Alicante, from 1 January to 31 April 2015. This centre is a tertiary hospital covering an area with 245,000 inhabitants. It has 765 beds and offers services of all medical and surgical specialties.

The health department also has a long-term care facility that admits patients with medical problems requiring longer stays.

We selected all patients admitted to hospital due to influenza virus using data collected from the Minimum Basic Data Set (MBDS) database. All patients had to be diagnosed from real-time polymerase chain reaction (qPCR) samples obtained by nasal lavage with the GeneXpert test, using the Xpert Flu[®] and Xpert Flu/RSV XC[®] (RS Cepheid) assays.

Nasal lavage was performed in all patients suspected of having influenza. Patients were placed in mandatory isolation until the microbiological results were available; confirmed cases remained in isolation, while those testing negative were de-isolated. All patients with a positive result received oral treatment with oseltamivir, with dosage varying according to their weight and renal function.

We reviewed patients' clinical records, collecting data on the following variables: age, sex, place of influenza acquisition, basic analytical and biochemical parameters, co-morbidities, number of co-morbidities, complications during hospital stay, treatment used, need for non-invasive mechanical ventilation (NIMV), virus type of the infecting influenza, clinical evolution, ward of hospitalisation and length of hospital stay.

Statistical analysis. The variables were exported from the MBDS database in the form of a spreadsheet and completed from clinical records, and they were then analysed using SPSS Statistics software, version 22 (IBM Corporation). The qualitative variables are presented as a number and percentage, and the quantitative variable as a mean and standard deviation (SD). The differences between episodes of influenza in patients aged ≥ 80 and < 80 and those related to clinical evolution were compared. Differences in qualitative variables were studied

	Total cases of influenza	Total admitted	%	OR (95% CI)
Total	219	9,650	2.3	
Month				
January	45	2,411	1.9	1
February	128	2,476	5.2	2.9 (2.0-4.0)
March	41	2,452	1.7	0.9 (5.6-1.4)
April	4	2,221	0.2	0.09 (0.03-0.3)
Sex				
Male	101	4,641	2.2	1
Female	118	4,919	2.4	1.1 (0.4-1.4)
Age group				
≤ 64 years	55	6,286	0.9	1
65-79 years	77	2,555	3.0	3.5 (2.5-5.0)
> 80 years	87	1,768	4.9	5.9 (4.1-8.2)

OR: odds ratio; CI: confidence interval.

Table 2 | Epidemiologic characteristics of influenza in octogenarians and nonagenarians.

	> 80 years (total=79) N (%)	< 80 years (total =140) N (%)	P value
Sex			0.07
Male	30 (38)	71 (50.7)	
Female	49 (62)	69 (49.3)	
Place of acquisition			
Community	59 (74.7)	109 (77.9)	0.8
Long-term care facility	6 (7.6)	3 (2.1)	0.6
Nosocomial	14 (17.7)	28 (20)	0.8
Ward of admittance			
Intensive care	3 (3.8)	8 (5.7)	0.5
Analytical and biochemical parameters			
Haemoglobin (g/L), mean \pm SD	11.9 \pm 1.9	12.5 \pm 2.3	0.05
Leucocytes ($\times 10^9$ /L), mean \pm SD	10.3 \pm 12.4	8.2 \pm 4.5	0.06
Neutrophils ($\times 10^9$ /L), mean \pm SD	7.0 \pm 4.0	6.3 \pm 4.1	0.2
CRP (mg/dL), mean \pm SD	8.6 \pm 8.3	7.9 \pm 9.2	0.6
Creatinine (mg/dL), mean \pm SD	1.5 \pm 1.4	1.5 \pm 1.8	0.2
Urea (mg/dL), mean \pm SD	65 \pm 35.9	53.6 \pm 37.5	0.9
Glomerular filtration (mL/min), mean \pm SD	49.7 \pm 22.7	62.2 \pm 30.9	0.006
pH, mean \pm SD (N=164)	7.4 \pm 0.8	7.4 \pm 0.7	0.7
Lactate (mmol/L), mean \pm SD (N=164)	2.1 \pm 0.8	2.2 \pm 1.5	0.3
Type of influenza			0.9
Influenza A*	64 (81.0)	117 (80)	
Influenza B	15 (19.0)	23 (20)	
Treatment			
NIMV	18 (22.8)	13 (9.3)	0.02
Antibiotic treatment	51 (64.6)	81 (67.9)	0.2
Steroid treatment	39 (40.6)	57 (59.3)	0.3
Forms of presentation			
Pneumonia	16 (20.3)	16 (11.4)	0.07
Co-morbidities			
Diabetes mellitus	19/79 (24.1)	27/140 (19.3)	0.4
Hypertension	34/79 (43.0)	58/140 (41)	0.8
Cardiac insufficiency	32/79 (40.5)	23/140 (16.4)	<0.001
Chronic renal diseases	26/79 (32.9)	28/140 (20)	0.03
Outcome			
Mortality	15 (19)	4(2.9)	<0.001
Length of hospital stay, mean \pm SD	10.4 \pm 11.2	9.9 \pm 9.3	0.7

CRP: C reactive protein; NIMV: non-invasive mechanical ventilation; SD: standard deviation.

* includes Influenza A H1N1

using the Chi-squared test, or alternatively Fisher's exact test when the number of expected cases was under five in one of the cells. Quantitative variables were analysed according to the Student's t-test if they followed a normal distribution; otherwise the U Mann Whitney test was used. Variables presenting a p value < 0.05 in the univariate study were included in the binary logistic regression multivariate analysis. The association was measured according to the adjusted odds ratio (ORa) and its 95% confidence interval (CI). The Institutional Ethics Committee of Hospital General Universitario de Alicante approved the study protocol.

RESULTS

During the study period, 9,560 patients over 15 years old were admitted, and 219 (2.3%) had a diagnosis of influenza by molecular biology. The risk of admission due to influenza was higher in February than in January (OR 2.9, 95% CI 2.0–4.0) (table 1). Of the 219 patients with influenza, 55 (25.1%) were \leq 64 years old, 77 (35.2%) were aged between 65–79 years old, 67 (30.6%) were aged 80–89, and 20 (9.1%) were aged \geq 90. Compared to patients aged \leq 64 years, the risk of admission due to influenza was greater in adults aged 65–79 years (OR 3.5, 95% CI 2.5–5.0) and especially in those aged \geq 80 years (OR 5.9, 95% CI 4.1–8.2) (table 1). Most patients with influenza (n=156, 71.2%) were admitted to the General Internal Medicine, Infectious Diseases, or Respiratory Medicine Departments, and only 11 (5.0%) patients were admitted into the Intensive Care Unit. Regarding the place of infection by influenza, 76.7% (n=168) of cases were community-acquired, 4.1% (n=9) were associated with long-term care facilities, and 19.2% (n=42) were nosocomial infections. Influenza virus type A produced most of the influenza cases (n=175, 79.9%), while influenza virus type B virus was identified in 38 (17.4%) patients, and pandemic

Table 3 Bivariate analysis of the risk factors for mortality associated with infection from the influenza virus.

	Dead (n=19) N (%)	Not dead (n=200) N (%)	OR (95% CI)	P value
Sex				0.7
Male	8 (42.1)	93 (46.5)	1	
Female	11 (57.9)	107 (53.5)	1.19 (0.46–3.09)	
Age				<0.001
< 80 years	4 (21.1)	136 (68.0)	1	
≥ 80 years	15 (78.9)	64 (32.0)	7.96 (2.54–24.9)	
Place of acquisition				
Community	11 (57.9)	157 (78.5)	0.37 (1.43–0.99)	0.04
Long-term care facility	3 (15.8)	6 (3.0)	6.06 (1.38–26.5)	0.007
Nosocomial	5 (26.3)	37 (18.5)	1.57 (0.53–4.64)	0.4
Co-morbidities				
Diabetes mellitus	4 (21.1)	42 (21)	0.99 (0.31–3.16)	0.9
Hypertension	9 (47.4)	83 (41.5)	1.26 (0.49–3.26)	0.6
Chronic cardiac insufficiency	8 (42.1)	47 (23.5)	2.36 (0.90–6.23)	0.07
Anaemia	4 (21.1)	38 (19)	1.13 (0.35–3.62)	0.8
Chronic renal disease	4 (21.1)	50 (25.0)	0.80 (0.25–2.52)	0.7
Chronic pulmonary disease	2 (10.5)	17 (8.5)	1.26 (0.27–5.95)	0.7
Haemogram and biochemistry				
Leucocytes (x10 ⁹ /L), mean ± SD	10.92 ± 5.3	8.8 ± 8.5	1.09 (0.92–1.32)	0.36
Neutrophils (x10 ⁹ /L), mean ± SD	8.7 ± 4.7	6.4 ± 4.0	1.11 (1.01–1.21)	0.03
CRP (mg/dL), mean ± SD	14.6 ± 12.7	7.6 ± 8.2	1.06 (1.02–1.11)	0.002
PH, mean ± SD (N=164)	7.3 ± 0.10	7.41 ± 0.8	0.007 (0.0–2.33)	0.09
Lactate (mmol/L), mean ± SD (N=164)	3.1 ± 3.0	2.1 ± 0.9	1.49 (1.05–2.14)	0.02
Creatinine (mg/dL), mean ± SD	1.44 ± 0.81	1.56 ± 1.7	0.93 (0.65–1.32)	0.7
Urea (mg/dL), mean ± SD	75.1 ± 34.8	56.1 ± 37.2	1.01 (1.00–1.02)	0.03
Glomerular filtration (mL/min), mean ± SD	45.1 ± 19.9	58.9 ± 29.2	0.98 (0.96–1.00)	0.08
Type of influenza				0.8
Influenza A	16 (84.2)	165 (82.5)	1	
Influenza B	3 (15.8)	35 (17.5)	1.13 (0.31–4.09)	
Requirements and complications				
NIMV	7 (36.8)	24 (12)	4.27 (1.5–11.9)	0.003
Pneumonia	8 (42.1)	24 (120)	5.33 (1.9–14.5)	0.001

CRP: C reactive protein; NIMV: non-invasive mechanical ventilation; SD: standard deviation.

subtype H1N1 was found in 6 (2.7%) cases.

The clinico-epidemiological characteristics of influenza episodes in octogenarians and nonagenarians are presented in table 2. There were some statistically significant differences between patients under 80 and those aged 80 years or older. The older patients had a lower glomerular filtration rate ($p=0.006$), a greater need for NIMV ($p=0.02$), and higher mortality ($p<0.001$). Pneumonia was also more common in this group, but the difference was not statistically significant (20.3% vs. 11.4%; $p=0.07$). The mean length of hospital stay was 10.4 (± 11.2) days in patients aged 80 or older, very similar to that registered in younger patients.

Nineteen (8.7%) patients died: 2 (3.6%) of the 55 patients aged 64 or under, 2 (2.6%) of the 77 patients aged 65 to 79, and 15 (17.2%) of the 87 patients aged 80 or older ($p=0.001$). Table 3 shows the factors related to mortality. In the multivariate analysis, mortality was higher among those aged 80 or older (ORa 9.2, 95% CI 1.65–51.35), those who had acquired influenza in a long-term care facility (ORa 11.9, 95% CI 1.06–134), and those with hyperlactataemia (ORa 1.89, 95% CI 1.20–3.00) (table 4).

DISCUSSION

In our study, the risk of hospitalisation for influenza was higher in geriatric patients aged 65 years or older and particularly in those aged 80 or older. During the study period, mortality in patients with influenza was positively associated with advanced age (≥ 80 years), presence of co-morbidities, infection by influenza virus in a long-term care facility and diagnosis of lactic acidosis during the course of the disease.

The most frequently observed co-morbidities in our patients were: diabetes mellitus, hypertension, chronic renal disease and cardiac in-

Table 4 Multivariate analysis of risk factors for mortality.

Variables	Adjusted OR (95% CI)	P value
Lactate (mmol/L)	1.89 (1.20–3.00)	0.006
Age \geq 80 years	9.2 (1.65–51.35)	0.01
Acquisition in long-term care facility	11.9 (1.06–134)	0.04
Pneumonia	3.7 (0.85–16.1)	0.08
CRP (mg/dL)	1.04 (0.97–1.11)	0.2
Community acquisition	0.45 (0.09–2.25)	0.3
Neutrophils ($\times 10^9/L$)	1.05 (0.98–1.22)	0.5
NIMV	1.89 (0.45–5.61)	0.4
Urea (mg/dL)	1.0 (0.97–1.02)	0.9

CI: confidence interval; CRP: C reactive protein; NIMV: non-invasive mechanical ventilation.

sufficiency. People at high risk of complications from influenza include patients with chronic obstructive pulmonary disease, cardiovascular disease, immunosuppressive disorders, chronic renal dysfunction, cancer, cognitive dysfunction, and diabetes mellitus, among other disorders, as well as residents of any age in long-term care institutions. These conditions are quite frequent in elderly people, who often require hospital admission and antiviral treatment².

Influenza is associated with heart failure and other cardiovascular disease, as found by a recent systematic review and meta-analysis⁸. In our study, the prevalence of heart failure in patients admitted with influenza was higher, but it was more common in people aged 80 or older. Moreover, in our study, renal insufficiency as evaluated by estimated glomerular filtration rate was lower in patients aged \geq 80 years than in younger patients. In addition to advanced age, obesity and pro-inflammatory mediators have also been associated with kidney failure in patients with influenza⁹; however, we did not analyse these features in our study. Pneumonia is a severe complication in patients aged over 65 years who are hospitalised with influenza¹⁰. In our study, this pathology was a more frequent complication in octogenarians and nonagenarians with influenza compared to younger patients, but the difference did not reach statistical significance.

The World Health Organization (WHO) and the US Centers for Disease Control and Prevention (CDC) recommend neuraminidase inhibitors such as oseltamivir and zanamivir as the first-line antiviral drugs for patients infected with influenza A and B^{11,12}. Current guidelines recommend antiviral treatment with oseltamivir within 48 h of symptom onset in all patients admitted with laboratory confirmed or highly suspected influenza². In our hospital, we followed these recommendations during the study period. All of patients received the treatment with oseltamivir 12 hours previously laboratory confirmed diagnosis or during the first 8 hours after that.

Seasonal influenza is a serious, potentially fatal entity¹³. Indeed, in a document published by the prestigious Statens Serum Institut in Copenhagen, the excess all-cause mortality registered between December 2014 and February 2015 was attributed to a rise in the number of influenza H3N2 cases in that time period¹⁴. It is well known that mortality due to the seasonal influenza virus is more frequent in those aged 65 or older^{5,6,15}, but in our study, we have demonstrated that mortality is particularly high in patients aged 80 years or older. Population ageing is a social reality, and we have shown that the advanced geriatric population (aged \geq 80) is at increased risk of dying due to influenza.

The severity of influenza in chronically ill and elderly populations (especially octogenarians and nonagenarians) strongly advises adherence to recommendations on influenza vaccination^{2,15}. Different epidemiological studies have demonstrated that the influenza vaccine reduces hospitalisations and mortality related to that cause^{16,17}. In our health department, influenza vaccination is free and easily accessible in primary healthcare centres and in hospital. However, during the 2014–15 influenza season, antigenic drift caused most of the influenza A (H3N2) viruses in circulation to be different from the influenza A (H3N2) component of the 2014–15 northern hemisphere seasonal vaccines, resulting in a reduction in vaccine effectiveness^{18,19}. The lack of protection from the flu vaccine during the study period probably had a negative influence on our patients' outcomes.

The limitations of this study include the fact that we only have information on patients admitted to hospital with influenza, not on the results for outpatients. Among the infected patients who do not require hospitalisation, mortality is lower.

Influenza in the advanced geriatric population is a serious infection. Patients over 80 have more cardiovascular disease and poorer renal function than younger patients with influenza. Advanced age, acquisition of the infection in a long-term care facility, and hyperlactaemia are associated with poor outcomes for seasonal influenza infection in admitted patients. Vaccine programmes, chemoprophylaxis during outbreaks in hospital or long-term care settings, antiviral agents, and treatment of co-morbidities can improve prognosis of elderly people with influenza.

ACKNOWLEDGEMENTS

We want to thank the entire staff at the Hospital General Universitario de Alicante for the care they provide daily to octogenarians and nonagenarian patients.

FUNDING

This study was funded by grant of II Grant of Fundació para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunidad Valenciana (FISABIO)-Alicante (2015) (Grant number: UGP 15-301)

CONFLICT OF INTEREST

On behalf of all authors, the corresponding author states that there is no conflict of interest

REFERENCES

1. Vaqué J. Epidemiology of influenza A (H1N1) worldwide and in Spain. *Arch Bronconeumol*. 2010; 46 Suppl 2:3-12.
2. Harper SA, Bradley JS, Englund JA, File TM, Gravenstein S, Hayden FG, et al.; Expert Panel of the Infectious Diseases Society of America. Seasonal influenza in adults and children--diagnosis, treatment, chemoprophylaxis, and institutional outbreak management: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2009; 48:1003-32.
3. Reina J, López C, Morales C, Busquets M. Age change in the influenza A (H1N1)pdm09 after the evolution from pandemic to seasonal epidemic. *Med Clin (Barc)* 2014; 143:468-70.
4. Thiberville SD, Gaudart J, Raoult D, Charrel RN. Influenza-attributable deaths in south-eastern France (1999 to 2010): mortality predictions were undependable. *BMC Public Health*. 2015; 15:539.
5. Matias G, Taylor R, Haguinet F, Schuck-Paim C, Lustig R, Shinde V. Estimates of mortality attributable to influenza and RSV in the United States during 1997-2009 by influenza type or subtype, age, cause of death, and risk status. *Influenza Other Respir Viruses* 2014; 8:507-15.
6. Thompson WW, Shay DK, Weintraub E, Brammer L, Cox N, Anderson LJ, et al. Mortality associated with influenza and respiratory syncytial virus in the United States. *JAMA* 2003; 289:179-86.
7. Reina J, López C, Morales C, Busquets M. Analysis of co-infections between influenza A and influenza B viruses and other respiratory viruses, 2012-2013. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2014; 32:693-5.
8. Kwok CS, Aslam S, Kontopantelis E, Myint PK, Zaman MJ, Buchan I, et al. Influenza, influenza-like symptoms and their association with cardiovascular risks: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Int J Clin Pract*. 2015; 69:928-37.
9. Cruz-Lagunas A, Jiménez-Alvarez L, Ramírez G, Mendoza-Milla C, García-Sancho MC, Avila-Moreno F, et al. Obesity and pro-inflammatory mediators are associated with acute kidney injury in patients with A/H1N1 influenza and acute respiratory distress syndrome. *Exp Mol Pathol*. 2014; 97 :453-7.
10. Chaves SS, Pérez A, Miller L, Bennett NM, Bandyopadhyay A, Farley MM, Fowler B et al. Impact of Prompt Influenza Antiviral Treatment on Extended Care Needs After Influenza Hospitalization Among Community-Dwelling Older Adults. *Clin Infect Dis*. 2015; 61:1807-14.
11. Nichol KL, Nordin JD, Nelson DB, Mullooly JP, Hak E. Effectiveness of influenza vaccine in the community-dwelling elderly. *N Engl J Med*. 2007; 357:1373-81.
12. Molbak K, Espenhain L, Nielsen J, Tersago K, Bossuyt N, Denissov G, et al. Excess mortality among the elderly in European countries, December 2014 to February 2015. *Euro Surveill*. 2015; 20. pii: 21065.
13. Muthuri SG, Venkatesan S, Myles PR, Leonardi-Bee J, Al Khuwaitir TS, Al Mamun A, et al. Effectiveness of neuraminidase inhibitors in reducing mortality in patients admitted to hospital with influenza A H1N1pdm09 virus infection: a meta-analysis of individual participant data. *Lancet Respir Med* 2014; 2:395-404.
14. Wang CB1, Chiu ML, Lin PC, Liang WM, Chen CY, Chang YJ, et al. Prompt Oseltamivir Therapy Reduces Medical Care and Mortality for Patients With Influenza Infection. An Asian Population Cohort Study. *Medicine* 2015; 94:e1070.
15. Cohen C, Moyes J, Tempia S, Groome M, Walaza S, Pretorius M, et al. Mortality amongst patients with influenza-associated severe acute respiratory illness, South Africa, 2009-2013. *PLoS One*. 2015; 10:e0118884.
16. Reed C, Kim IK, Singleton JA, Chaves SS, Flannery B, Finelli L, et al. Estimated influenza illnesses and hospitalizations averted by vaccination--United States, 2013-14 influenza season. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2014; 63:1151-4.
17. Castilla J, Guevara M, Martínez-Baz I, Ezpeleta C, Delgado J, Irisarri F, et al. Enhanced Estimates of the Influenza Vaccination Effect in Preventing Mortality: A Prospective Cohort Study. *Medicine (Baltimore)*. 2015; 94:e1240.
18. Appiah GD, Blanton L, D'Mello T, Kniss K, Smith S, Mustaqim D, et al.; Centers for Disease Control and Prevention. Influenza activity - United States, 2014-15 season and composition of the 2015-16 influenza vaccine. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2015; 64:583-90.
19. Pebody RG, Warburton F, Ellis J, Andrews N, Thompson C, von Wissmann B, et al. Low effectiveness of seasonal influenza vaccine in preventing laboratory-confirmed influenza in primary care in the United Kingdom: 2014/15 mid-season results. *Euro Surveill*. 2015; 20:21025.

Deyanira Carrillo-Quintero¹
Laura del Otero Sanz²
Sara Hernández-Egido³
Antonio Manuel Martín
Sánchez⁴

Características clínico-demográficas de la población del Sur de Gran Canaria con diagnóstico de enterobiasis: valoración de la toma de muestras

¹Servicio Canario de Salud.

²Servicio de Medicina Preventiva. Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno-Infantil de Gran Canaria. Servicio Canario de la Salud.

³Servicio de Microbiología y Parasitología. Complejo Asistencial Universitario de Salamanca.

⁴Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Insular de Gran Canaria. Servicio Canario de la Salud.

RESUMEN

Introducción. La enterobiasis, causada por *Enterobius vermicularis* es una de las parasitosis más prevalentes en población infantil, cuyo diagnóstico implica la demostración de los huevos o gusanos mediante el método de Graham. El objetivo del estudio es describir las características clínico-demográficas y microbiológicas de pacientes con sospecha de Enterobiasis en el área Sur de Gran Canaria.

Material y métodos. Estudio descriptivo y prospectivo de los resultados de muestras perianales evaluadas mediante el método de Graham por el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Insular de Gran Canaria entre Noviembre de 2014 y Noviembre de 2015. Se ha realizado un análisis descriptivo y de asociación de riesgo de las variables clínicas y demográficas y los resultados del Test de Graham.

Resultados. Se obtuvieron 1.128 muestras válidas. En el 11,4% se observaron huevos de *E. vermicularis*; el 88,4% de las muestras positivas en menores de 14 años y el 53,5% en género masculino. Dolor abdominal (18,6%), prurito anal (11,6%), eosinofilia (8,5%) y parasitosis intestinal (7,8%) fueron los motivos de solicitud en las muestras positivas. Predomina elevado sin diagnóstico de sospecha o diagnósticos no relacionados con enterobiasis.

Conclusiones. La enterobiasis es un motivo de consulta en atención primaria y una patología de interés en Gran Canaria. La calidad de recogida de muestras y el diagnóstico de sospecha es necesaria para realizar un buen análisis microbiológico.

Palabras clave: *Enterobius vermicularis*, técnica de Graham, toma de muestras, parasitosis intestinal, Gran Canaria.

Correspondencia:
Sara Hernández-Egido
Servicio de Microbiología y Parasitología. Complejo Asistencial Universitario de Salamanca. Paseo de San Vicente 58 CP 37007. Salamanca
E-mail: shegido@gmail.es

Demographic and clinical features of diagnosed individuals of enterobiasis in the southern Gran Canaria: sampling assessment

ABSTRACT

Introduction. *Enterobius vermicularis*, also known as pinworm, is the responsible agent for Human Enterobiasis. It is one of the most prevalent, but underrated, parasitic disease in children population. Diagnosis involves demonstration of either eggs or adult worms by Graham test. The aim of this study is to describe the clinical, demographic and microbiological features of patients with suspected diagnosis of Enterobiasis in southern Gran Canaria.

Material and methods. Descriptive and prospective study of perianal samples evaluated by Graham test in the Microbiology Department of 'Insular de Gran Canaria' University Hospital between November 2014 and November 2015. Descriptive analysis to evaluate the correlation between clinical and demographic variables and the results of Graham test microbiological observation.

Results. 1,128 samples were analyzed. *E. vermicularis* was found in 11.4% of the samples. Among the positives samples, 88.4% belonged to children under 14 years, and 53.5% were male. Abdominal pain (18.6%), anal itching (11.6%), eosinophilia (8.5%) and intestinal parasitosis suspicion (7.8%) were the reasons of parasitological investigation request in positive samples. Nevertheless, a high proportion of the requests was not founded in a suspicious diagnosis or was unrelated to Enterobiasis.

Conclusions. Enterobiasis is a common disease in primary health care and is of great importance in Gran Canaria. Quality in sample collection as well as diagnosis suspicious information are necessary for a good microbiological analysis.

Key words: *Enterobius vermicularis*, Graham test, samples collection, intestinal parasitosis, Gran Canaria.

INTRODUCCIÓN

Enterobius vermicularis es el agente causal de la oxiuriasis, enterobiasis u oxiuriasis humana. Helminto distribuido desde las zonas árticas hasta las regiones tropicales. Son redondos, filiformes; el macho mide de 2-5mm y la hembra 8-13 mm; de color blanco nacarado (figura 1)¹.

Se estima que entre el 20 y 30% de la población infantil en el mundo presenta enterobiasis², representando la helmintiasis más frecuente en EEUU, Europa Occidental y España³⁻⁷.

La transmisión está favorecida por hacinamiento o convivencias en grupos (familia, escuelas y asilos), siendo frecuente en niños de 5 a 10 años. También puede detectarse en adultos, en la mayoría de los casos asintomática, por lo que no debe subestimarse su presencia en esta etapa del desarrollo humano^{8,9}.

Este parásito no requiere huésped intermedio, ni prolongada incubación exógena para completar su ciclo, permitiendo la transmisión a través de varios mecanismos, lo que explica su elevada prevalencia mundial y diseminación². El primer mecanismo es la transmisión directa persona-persona, la hembra al oviponer en la región perianal secreta una sustancia pruriginosa, conllevando al rascado, transfiriéndose así los huevos a las manos y uñas. El segundo mecanismo, la diseminación de microaerosoles, en la que los huevos que son livianos, ayudados por corrientes de aire, penetran la mucosa nasal y son inhalados, contaminando también, superficies, alimentos y fómites. El tercero, la retroinfección, consiste en la capacidad de los huevos de eclosionar inmediatamente en la región perianal proporcionando la ventaja a las larvas recién eclosionadas de penetrar directamente dentro del hospedador humano¹.

La infección por *E. vermicularis* es generalmente asintomática. El síntoma más frecuente es el prurito anal, producido no solo por la acción mecánica del verme, sino también por la reacción de hipersensibilidad local ocasionada por las secreciones uterinas de la hembra en el margen perianal estimulada por el calor, más intenso en horas nocturnas y tras la defecación⁸. Otros síntomas asociados son pérdida de peso, irritabilidad, insomnio, falta de descanso y bruxismo. Cuando la carga de gusanos es muy alta puede provocar dolor abdominal, náuseas y vómitos^{8,10}.

El diagnóstico implica la demostración de los huevos o gusanos. Los métodos parasitológicos coproscópicos convencionales utilizados para otras helmintiasis intestinales, como el Kato-Katz, resultan poco sensibles para la detección de huevos, con una tasa de positividad del 1 al 5%^{1,8,11}. En 1941, Graham introdujo la cinta adhesiva como método diagnóstico y aunque ha sufrido algunas modificaciones, sigue siendo el método específico usado para diagnosticar *E. vermicularis* con una sensibilidad elevada¹².

Para la realización de la prueba de Graham se aconseja al

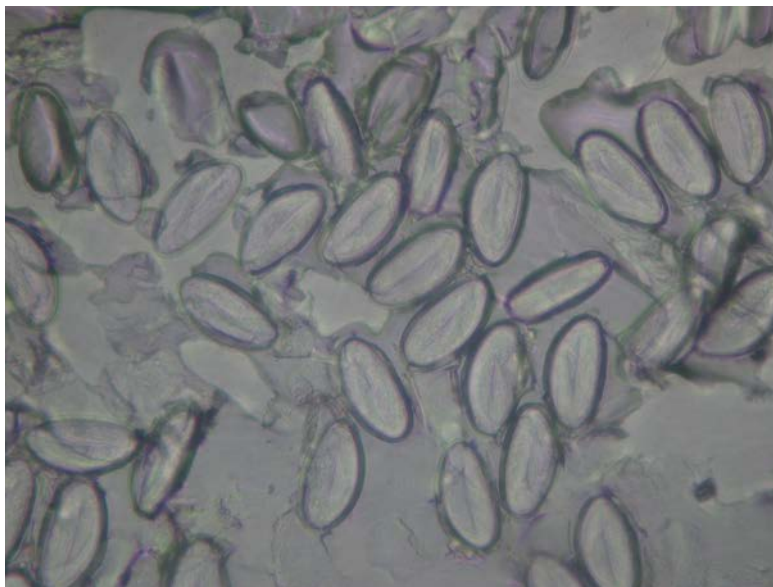


Figura 1 Fotografía a 400X de huevos de *Enterobius vermicularis* en la técnica de Graham.

paciente que no lave la zona perianal antes de la toma, pues los huevos se pueden detectar a primera hora de la mañana antes del aseo. Es recomendable realizar esta prueba de forma seriada debido a la irregularidad de las migraciones del parásito, aumentando de esta manera su sensibilidad.

La información disponible en España acerca de las infecciones parasitarias y especialmente de las producidas por nematodos es escasa y fragmentaria. Además muchas investigaciones presentan casos aislados, de pequeños grupos o sólo consideran determinados grupos etarios (series pediátricas). Por ello, el objetivo de este estudio es describir las características clínicas y demográficas de los pacientes con sospecha diagnóstica de enterobiasis, valorando la adecuada toma de muestras y la correlación con el diagnóstico de sospecha inicial del médico en Atención Primaria.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio descriptivo y prospectivo de los resultados de las muestras perianales evaluadas mediante el método de Graham, procedentes de los centros de salud del área Sur de Gran Canaria y procesadas por el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Insular de Gran Canaria en el periodo comprendido entre noviembre de 2014 y noviembre de 2015.

Criterios de inclusión. Todas las muestras recibidas en el Servicio de Microbiología en el periodo de estudio y procesadas como válidas por dicho servicio.

Criterios de exclusión. Muestras que fueron rechazadas y clasificadas como mal recogidas y no válidas para su procesamiento por traer cinta adhesiva opaca, cinta con heces, portaobjetos sin cinta o con cinta pegada por ambos lados del

portaobjetos y etiqueta identificativa del paciente colocada sobre la cinta.

Variabes recogidas. Edad, género, motivo de solicitud, recuento de eosinofilia periférica, centro de petición de la prueba, resultado de la prueba y número de portas que cumplieron con los requisitos adecuados para ser procesados en el laboratorio.

Variable resultado. Las 14 categorías de clasificación de los resultados de la observación microbiológica del Test de Graham fueron clasificadas en 2 (resultado positivo y negativo) para llevar a cabo los análisis estadísticos.

Método diagnóstico. Consiste en colocar sobre un depresor de madera una cinta adhesiva transparente con el lado adherente hacia afuera, haciendo presión sobre el margen perianal, permitiendo que los huevos se adhieran a la misma. La cinta se coloca sobre un portaobjetos y se visualiza al microscopio con el objetivo 10X. Es necesario recoger 3 muestras durante 3 días consecutivos, y transportarlas al laboratorio en sobre cerrado o frasco, nunca sueltos, ya que los huevos de *E. vermicularis* son infectivos durante las siguientes 4-6 horas^{13,14}.

Análisis estadístico. Revisión y valoración de las observaciones de la prueba de Graham por el Servicio de Microbiología. La información microbiológica y demográfica de las muestras seleccionadas se obtuvo mediante el sistema informático Modulab-Izasa. Los datos fueron migrados al programa estadístico informático SPSS 19.0 para su depuración y análisis estadístico.

Se realizó análisis descriptivo y univariado de cada una de las variables de interés; para las cuantitativas se expresó la media y la desviación estándar, y para las cualitativas se construyeron tablas de frecuencia. Se calculó la asociación con sus Intervalos de Confianza del 95% para resultado positivo en el Test de Graham. Se consideró significativo un valor de p menor de 0,05.

RESULTADOS

En el periodo de estudio se recibieron un total de 1.189 muestras de pacientes de las cuales el 5,1% fueron mal recogidas (61/1.189). Se observaron huevos de *E. vermicularis* en el 11,4% (129/1.128) de las muestras válidas. El 58,5% (660/1.128) correspondieron al género femenino y el 41,5% (468/1.128) al masculino. La edad media fue 12 años (DE=14,52), siendo el grupo etario más numeroso el comprendido entre 0 y 14 años (82%).

El motivo más frecuente de solicitud de la prueba fue el

dolor abdominal (19,9%), seguido por el prurito anal (10,4%), eosinofilia (5,6%) y parasitosis intestinal (5,1%). Predominó el elevado número de muestras donde no figuraba el diagnóstico de sospecha (8,9%) o donde existían diversos diagnósticos (31%) (amigdalitis, bronquitis aguda, bajo peso, líquido sinovial, dermatitis) agrupados como "otros diagnósticos" por no corresponder con el diagnóstico de enterobiasis o parasitosis. Las características demográficas y clínicas de los resultados de las muestras analizadas se presentan en la tabla 1. Se observaron diferencias significativas para las variables edad, motivo de petición y eosinofilia.

El 26% (293) tuvieron un recuento periférico elevado de eosinófilos en el hemograma, en los cuales se observaron huevos de *E. vermicularis* en el 42,6% (55). Así mismo, el 88,4% de las muestras positivas correspondieron a menores de 14 años y

Tabla 1	Descripción demográfica y clínica de resultados microbiológicos de enterobiasis en área Sur de Gran Canaria.				
	Resultados negativos		Resultados positivos		Valor de p
	N	%	N	%	
	999		129		
Género					0,43
Masculino	408	40,3	60	53,5	
Femenino	591	59,2	69	46,5	
Grupos de edad (años)					<0,05
Menor de 14	816	81,7	114	88,4	
14 - 25	41	4,1	9	7,0	
Mayor de 25	142	14,2	6	4,7	
Centro					<0,05
Atención Primaria	930	93,1	116	90,0	
CAE Telde	31	3,2	7	5,4	
CAE Vecindario	28	2,8	6	4,6	
Motivo de solicitud					<0,05
Dolor abdominal	201	20,1	24	18,6	
Eosinofilia	52	5,2	11	8,5	
Prurito anal	102	10,2	15	11,6	
Parasitosis intestinal	47	4,7	10	7,8	
Diarrea	42	4,2	3	2,3	
Vulvovaginitis y prurito genital	61	6,1	10	5,3	
Otros	315	31,5	35	27,1	
Sin diagnóstico	90	9,0	10	7,8	
Recuento de eosinófilos					<0,05
Positivo	238	23,8	55	42,8	
Normal	397	39,7	30	23,3	
No disponible	364	36,4	44	34,1	

el 53,5% al género masculino, mostrando un riesgo mayor de presentar enterobiasis tanto los menores de 14 años (RR: 3,3; IC95%: 1,4-7,6; $p < 0,05$) como los jóvenes entre 14 y 25 años (RR: 5,1; IC95%: 1,7-15,4; $p < 0,05$) con respecto a las personas de edad adulta.

Los motivos de solicitud más frecuentes encontrados en las muestras positivas fueron el dolor abdominal (18,6%), el prurito anal (11,6%), la eosinofilia (8,5%) y la parasitosis intestinal (7,8%).

Por otra parte, de las muestras que resultaron negativas para el Test de Graham se les realizó diagnóstico coproparatólogo al 88,6%, se observaron quistes de *Blastocystis hominis* (30) y de *Giardia intestinalis* (16) en el 4,6% de las muestras. El 68% del total de las muestras tenían solicitado ambos test diagnósticos.

DISCUSIÓN

El presente estudio ha puesto de manifiesto que la enterobiasis es motivo frecuente de consulta y de diagnóstico médico en la población del área Sur de Gran Canaria. Existen multitud de publicaciones sobre la prevalencia y características epidemiológicas de esta helmintiasis en países latinoamericanos y en otros países con importantes grupos de población rural¹⁻⁹, encontrándose en España escasos estudios recientemente publicados en relación con el objetivo del estudio. Además, ni el Sistema de Información Microbiológica ni el Sistema Nacional de Vigilancia de las Enfermedades de Declaración Obligatoria español informan específicamente de esta parasitosis¹⁵.

En nuestro estudio el porcentaje de muestras positivas para enterobiasis fue del 11,4%, inferior a las prevalencias encontradas en otras publicaciones nacionales, 20,44% y 21,5% en el Valle de Guadalquivir y Castellón^{16,17}, 36,7% en Gran Canaria⁶, pero similar a la encontrada en Valencia en población escolar (9,6%), grupo etario más frecuente en nuestro estudio¹⁸. Recientemente se ha publicado un artículo breve realizado en Zaragoza, con metodología y resultados similares al nuestro¹⁹.

Estos datos de infestación en España se encuentran entre las tasas descritas por autores internacionales como en Marruecos 25,8%²⁰, Venezuela 17,7-25,6%^{2,9,21}, Argentina 29,1%²², Corea 10,8%²³ o Tailandia 21,9%²⁴.

Según un estudio realizado en Dinamarca con motivo de un estudio de cohorte poblacional para la enfermedad inflamatoria intestinal²⁵, la tasa de enterobiasis calculada a través de los registros nacionales de prescripción de mebendazol fue del 14% en niños y la tasa de infestación de los convivientes de los niños del 25%. Esta metodología de cálculo de carga de enfermedad en la población nos puede servir para realizar futuras comparaciones conjuntamente con el análisis de prescripción de mebendazol en el sistema sanitario.

Por tanto, consideramos que nuestros resultados apoyan la evidencia de que la enterobiasis es una patología de interés en el ámbito de la Atención Primaria en Gran Canaria, por

su elevada distribución mundial, por ser la segunda parasitosis más frecuente encontrada en Gran Canaria⁶ y por la elevada población inmigrante residente en Gran Canaria (8,8%)²⁶.

Por otra parte, se observó un predominio no significativo de resultados positivos en el género masculino^{2,9,18,22}. Existen diferentes hipótesis para explicar estos resultados comentados en diferentes publicaciones^{1,2,22}.

A pesar de que nuestro estudio se realizó principalmente en el ámbito de Atención Primaria donde se encuentran representada población de todas las edades, los resultados obtenidos concuerdan con la evidencia disponible, pues la mayor parte de los estudios publicados sobre esta parasitosis fueron realizados en población infantil o escolar^{1,2,9,16-18,21,23,24}. Esta mayor afectación puede deberse a que en edades tempranas los hábitos higiénicos son inadecuados, propios de esta etapa de desarrollo como onicofagia, geofagia, rascado de región perianal, etc... llevando posteriormente las manos a la boca sin lavado adecuado, y a que existen más oportunidades de contacto con el parásito y un menor nivel inmunológico^{1,9,22}.

En relación a las características clínicas, los resultados de las muestras positivas concuerdan con algunos de los síntomas de sospecha descritos en la literatura (dolor abdominal, prurito, etc.)⁸. El 18,6% de las muestras positivas se relacionaron con dolor abdominal, el principal síntoma de sospecha en nuestra serie, lo que probablemente se deba a una elevada carga parasitaria. Sin embargo, si valoramos todas las muestras analizadas por el laboratorio nos encontramos con porcentaje importante (31%) con sospechas diagnósticas no relacionadas con enterobiasis como amigdalitis, bronquitis aguda, líquido sinovial, dermatitis, etc. Además, el 8,9% de las muestras son recibidas en el servicio sin diagnóstico de sospecha lo que complica la valoración diagnóstica del microbiólogo y limita la realización de otras pruebas microbiológicas complementarias que ayuden a optimizar el resultado.

Frente a una sintomatología de prurito anal siempre hay que sospechar *E. vermicularis*, sobre todo en niños; mientras que en los adultos, este prurito puede estar relacionado con causas como fisuras, hemorroides o alergias en varones y prurito genital, candidiasis o tricomoniasis en las mujeres^{8,10,27}. No debemos olvidar que puede haber casos de *E. vermicularis* asociados a infecciones en el tracto urinario y genital en niñas, debido a la migración errática de las hembras grávidas hacia la vagina y uretra²⁷.

Otras localizaciones ectópicas son: próstata, ovarios, trompas de Falopio, hígado y el apéndice en menor frecuencia^{2,4,8}, dando lugar a una clínica variada que puede despistarnos a la hora de realizar el diagnóstico¹. De manera que en situaciones en las cuáles no se sospecha una etología y hay afectación en estas localizaciones anatómicas, se debe tener en cuenta la posibilidad de incluir *E. vermicularis* en el diagnóstico diferencial.

En algunos casos se ha recurrido a la biología molecular para confirmar la presencia del parásito^{1,7,28} con nuevas técnicas como PCR directamente de la cinta adhesiva con resultados similares a la técnica de Graham y con una buena sensibilidad²⁹; el problema de estas técnicas es el elevado

coste, superior a la prueba Gold Standard, y que al tratarse de una patología relacionada con las condiciones socioeconómicas de la población es difícil su implantación como método de elección en determinadas regiones, y que el test de Graham tiene una sensibilidad aceptable^{1,12}. Todo esto hace que la biología molecular en la actualidad se utilice más con fines epidemiológicos que en la práctica diaria, pero podría tener gran utilidad dirigida a la población adulta por la mayor comodidad en la toma de muestra.

También es importante destacar el elevado porcentaje de muestras mal recogidas (5,1%); pocos estudios³⁰ señalan que uno de los factores que influye en la prevalencia de enterobiasis es el conocimiento de los padres sobre esta parasitosis, de manera que es complicado que la toma de muestras y las medidas de higiene se lleven a cabo de una forma adecuada. Consideramos que es necesario e importante enfatizar y realizar actividades de intervención educativa continuada dirigidas a familiares y a la comunidad, con el fin de prevenir y disminuir su transmisión¹. En relación a esto, algunos estudios recientes sugieren realizar tratamiento del grupo familiar una vez efectuada la detección del verme en algún miembro de la familia, basándose en la diseminación horizontal que posee este helminto^{9,25,31,32}.

Por otra parte, el 68% de la muestras del estudio, tenían solicitado también un test coproparasitológico lo que resulta de utilidad para el diagnóstico diferencial de la oxiuriasis con otras parasitosis, como la giardiasis.

Finalmente, entre las limitaciones del estudio, consideramos que puede existir sesgo de selección, ya que nuestro estudio se fundamenta en muestras solicitadas desde Atención Primaria; además puede haber sesgo de clasificación debido a la propia capacidad diagnóstica de la prueba de Graham y al estado de las muestras para su análisis microbiológico. Tampoco se realizó un seguimiento de pacientes para conocer la evolución sintomática posterior a la instauración del tratamiento. A pesar de ello, nuestro estudio aporta un importante tamaño muestral y alta representatividad de la población canaria, al incluirse todos los usuarios del sistema sanitario del área sur de Gran Canaria. Por tanto, en este artículo se ha evidenciado que la enterobiasis es una patología de interés en Gran Canaria, la importancia de la calidad de la recogida de muestras para el diagnóstico tanto clínico como microbiológico y la relación del grado de conocimiento de los padres con una tasa menor de muestras positivas.

FINANCIACIÓN

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

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe ningún tipo de conflicto de interés.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cazorla Perfetti D. Aspectos relevantes de la enterobiasis humana. Revisión crítica. *Saber* 2014; 26(3): 221-42.
2. Requena Certad I, Lizardi V, Mejía LM, Castillo H, Devera R. Infección por *Enterobius vermicularis* en niños preescolares de Ciudad Bolívar, Venezuela. *Rev Biomed* 2002; 13: 231-40.
3. Vázquez López S, Cenzual Álvarez G, Merino Fernández FJ. Epidemiología de las helmintiasis en una zona del sur de Madrid. *Rev Clin Esp* 2013; 213(2): 122-4.
4. Marín A, Heredero E, Sainz de Baranda C, Crespo MD, Sánchez V, Serrano M et al. Parasitosis intestinales en el Área Sanitaria de Al-Bacete. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004; 22 (Supl 1): 206.
5. Muñoz C, Pérez Arellano JL. Características generales de las Enfermedades parasitarias. Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología clínica. Madrid: Editorial Panamericana, 2006.
6. Novo Veleiro I, Martín Sánchez AM, Elcuaz Romano R, Muro A, Afonso Rodríguez O, García Bardeci D et al. Parasitosis en Gran Canaria (España). Estudio prospectivo multicéntrico durante un año. *Rev Ibero-Latinoam Parasitol* 2012; 71 (1): 34-41.
7. Liu D. Molecular detection of human parasitic pathogens. 1ª ed: Florida: Taylor & Francis CRC Press, Boca Raton, 2012.
8. Cano Timón I, Piñero Sáenz C, Sánchez Tejero EA, Navarro Martínez A. Geohelmintiasis y Nematodosis tisulares. *Medicine* 2014; 11(53): 3142-51.
9. Maniscalchi MT, Lemus Espinoza D, Kiriakos D, Pacheco F, Aponte C, Villarreal O et al. *Enterobius vermicularis* en niños del área rural del estado Anzoátegui, Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* 2010; 30: 128-33.
10. Zuccati G, Lotti T, Mastrolorenzo A, Tiradritti L. Pruritus ani. *Dermatol Ther* 2005; 18(4): 355-62.
11. Knopp S, Steinmann P, Keiser J, Utzinger J. Nematode Infections Soil-Transmitted Helminths and Trichinella. *Infect Dis Clin N Am* 2012; 26: 341-58.
12. Beltrán FM, T H, Tello CR. Evaluación de los métodos de Graham y pin tape en el diagnóstico de *Enterobius vermicularis*. *Rev. Peru Med Exp Salud Pública* 2005; 22(1): 76-8.
13. Cañavate C, Cuadros J, Martínez Ruiz R, Martín-Rabadán P. El laboratorio de microbiología ante las enfermedades parasitarias importadas. En: Cercenado E, Cantón R, editores. *Procedimientos en Microbiología Clínica. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC)*. Madrid, 2009; 1-35.
14. Graham C. A device for the diagnosis of *Enterobius* infection. *Am J Trop Med* 21(2): 159-61.
15. Instituto de Salud Carlos III [sede Web]. Madrid: Instituto de Salud Carlos III, 2016 [acceso 17 de mayo de 2016]. *Epidemiología*. Disponible en: <http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/vigilancias-alertas.shtml>
16. Pérez Armengol C, Ariza Astolfi C, Úbeda Ontiveros JM, Guevara A, Benítez DC, Rojas Álvarez M, et al. Epidemiología del parasitismo intestinal infantil en el Valle del Guadalquivir, España. *Rev Esp Salud Pública* 1997; 71: 547-52.
17. Catalán J, Ariza C, de Rojas M, L!beda JM, Guevara DC. Epidemiología del parasitismo intestinal infantil en la provincia de Castellón. *Rev Esp Microbiol Clin* 1992; 7:265-270.
18. Belda Rustarazo S, Morales Suárez-Varela M, Gracia Antequera M,

- Esteban Sanchis JG. Enteroparasitosis en población escolar de Valencia. *Aten Primaria* 2008; 40:641-5.
19. Báez López N, Pereira Boan J, Ruiz Aliende S, Marne Trapero C. Prueba de Graham y enterobiasis: resultados de 11 años. *Rev Pediatr Aten Primaria* 2013; 15 (57): 53e1-53e3.
 20. Tligui H, Agoumi A. Prévalence du portage parasitaire intestinal chez l'enfant scolarisé à Tiflet (Maroc). *Revue Francophone des Laboratoires* 2006; 386: 65-8.
 21. Cervantes J, Otazo G, Rojas M, Vivas F, Yousseph Y, Zechini V et al. Enteroparasitosis, enterobiasis y factores de riesgo en niños preescolares. *Arte y Cuidado* 2012; 5(1): 91-6.
 22. Pezzani BC, Minvielle MC, De Luca MM, Córdoba MA, Apezteguía MC, Basualdo JA. *Enterobius vermicularis* infection among population of General Mansilla, Argentina. *World J Gastroenterol* 2004; 10(17): 2535-39.
 23. Sung-Hee H, Young-Il J, Jin-Hee L, Shin-Hyeong Ch, Won-Ja Le, Sang-Eun. Prevalence of *Enterobius vermicularis* among Preschool Children in Muan-gun, Jeollanam-do, Korea. *Korean J Parasitol* 2012; 50(3): 259-262.
 24. Nithikathkul C, Changsap B, Wannapinyosheep S, Poister C, Boontan P. The prevalence of enterobiasis in children attending mobile health clinic of Huachiew Chalermprakiet University. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2001;32 (Suppl 2): 138-42.
 25. Bager P, Vinkel-Hansen A, Wohlfahrt J, Melbye M. Helminth infection does not reduce risk for chronic inflammatory disease in a population-based cohort study. *Gastroenterology* 2012; 142 (1): 55-62.
 26. INEbase [base de datos en Internet]. Madrid: Instituto Nacional de Estadística [actualizada en abril 2016; acceso 17 de mayo de 2016]. Disponible en: http://www.ine.es/inebaseDYN/cp30321/cp_resultados.htm
 27. López-Olmos J, Gasull J. *Enterobius vermicularis* (oxiuros) en la práctica ginecológica: clínica y citología. Experiencia de 3 casos. *Clin Invest Ginecol Obstet* 2011; 38 (5): 197-201.
 28. Elston, M. What's eating you? *Enterobius vermicularis* (pinworms, threadworms). *Cutis* 2003; 71 (4): 268-70.
 29. Zelck UE, Bialek R, Weiss M. Molecular phylogenetic analysis of *Enterobius vermicularis* and development of an 18S ribosomal DNA-targeted diagnostic PCR. *J Clin Microbiol* 2011; 49 (4): 1602-4.
 30. Don-Hee Kim et al.; Parents' Knowledge about Enterobiasis Might Be One of the Most Important Risk Factors for Enterobiasis in Children *Korean J Parasitol* 2010; 48 (2): 121-6.
 31. Mensa J, Gatell J, García Sánchez J. Guía de terapéutica antimicrobiana. 25 ed. Madrid: Antares Ediciones, 2015.
 32. Pérez-Molina J, Díaz-Menéndez M, Pérez-Ayala A, Ferrere F, Monge B, Norman F et al. Tratamiento de las enfermedades causadas por parásitos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2010; 28:44-59.

Lucía Yunquera-Romero¹
Rocío Asensi-Díez¹
Juan Carlos del Río-
Valencia¹
Isabel Muñoz-Castillo¹
Manuel Ángel Castaño-
Carracedo²

Monoterapia con darunavir/cobicistat. Experiencia en un hospital de tercer nivel

¹Servicio de Farmacia. Hospital Regional Universitario de Málaga.

²Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Regional Universitario de Málaga.

RESUMEN

Introducción. La monoterapia con inhibidores de la proteasa potenciados con ritonavir (IP/r): darunavir (DRV/r) o lopinavir (LPV/r), sólo está contemplada en las principales guías de tratamiento en pacientes pretratados para evitar toxicidad asociada a inhibidores de transcriptasa inversa análogos de nucleósidos/nucleótidos (ITIAN), reducir costes y simplificar el tratamiento antirretroviral (TAR). Para iniciar una monoterapia basada en IP/r según las guías GESIDA del año 2016, es necesario que el paciente cumpla los siguientes criterios: ausencia de hepatitis crónica B, carga viral plasmática (CVP) (<50 copias/mL) durante al menos 6 meses y ausencia de mutaciones en el gen de la proteasa o fracasos virológicos (FV) previos a IP/r. Actualmente no hay estudios que evalúen la eficacia y seguridad de una monoterapia con darunavir/cobicistat (DRV/COBI).

Material y Métodos. Se trata de un estudio prospectivo en el que se incluyeron pacientes VIH pretratados con DRV/r en monoterapia que cambiaron a una monoterapia con DRV/COBI. El objetivo de nuestro estudio es describir la efectividad y seguridad de la monoterapia con DRV/COBI.

Resultados. Se estudiaron 78 pacientes. Los pacientes tuvieron una mediana de 31,29 (6-74,82) meses de monoterapia con DRV/r previo al cambio a DRV/COBI en monoterapia. Nueve de los 78 pacientes desarrollaron "blips" (CVP: 50-200 copias/ml) y cuatro pacientes tuvieron CVP ≥ 200 copias/mL. Un 83,3% (65/78) se mantuvieron con CVP indetectable. En cuanto a la seguridad, no hubo diferencias importantes en el perfil lipídico, función hepática (transaminasas) y función renal entre DRV/r y DRV/COBI en monoterapia.

Conclusiones. DRV/COBI en monoterapia, parece ser

efectivo y seguro (perfil lipídico, hepático y renal). Sin embargo, deberían diseñarse estudios específicos que comparasen DRV/r vs. DRV/COBI en monoterapia para comprobar estos resultados.

Palabras clave: Monoterapia con inhibidores de la proteasa potenciados, darunavir/ritonavir, darunavir/cobicistat.

Darunavir/cobicistat monotherapy. Experience in a tertiary hospital

ABSTRACT

Introduction. Ritonavir-boosted protease inhibitor (IP/r) monotherapy: darunavir/ritonavir (DRV/r) or lopinavir/ritonavir (LPV/r) monotherapy is only provided in the major treatment guidelines in pretreated patients to prevent toxicity associated with nucleoside/nucleotide reverse transcriptase inhibitor (NRTI), reduce costs and simplify antiretroviral treatment. To start IP/r monotherapy, according to GESIDA guidelines 2016, patients need to meet the following criteria: absence of chronic hepatitis B, plasma viral load <50 copies/mL for at least 6 months and absence of protease inhibitors mutations or previous virologic failures to IP/r.

Currently, there are no studies that evaluate the efficacy and safety of darunavir/cobicistat (DRV/COBI) monotherapy.

Methods. This prospective study analyzed pretreated HIV patients with DRV/r monotherapy that were switched to DRV/COBI monotherapy. The aim of the study is to describe the effectiveness and safety of the DRV/COBI monotherapy.

Results. Seventy-eight patients were evaluated. Patients had a median of 31.29 months of DRV/r monotherapy before DRV/COBI monotherapy. Nine of the 78 patients developed "blips" (plasma viral load: 50-200 copies/ml) and four patients had plasma viral load ≥200 copies/mL. An 83.3% (65/78) of the patients remained with undetectable plasma viral load.

Correspondencia:
Rocío Asensi-Díez
Servicio de Farmacia. Hospital Regional Universitario de Málaga.
Avenida de Carlos Haya s/n. CP.29010. Málaga.
Tfno.: 951291435.
Fax: 951291493.
E-mail: rocio.asensi.sspa@juntadeandalucia.es

As for safety, there were no significant differences in lipid profile, liver function (transaminases) and renal function between DRV/r and DRV/COBI monotherapy.

Conclusions. DRV/COBI monotherapy seems to be effective and safe (lipid profile, liver and kidney function). However, it would be necessary to design specific studies comparing DRV/r vs DRV/COBI monotherapy to confirm these results.

Key words: Ritonavir-boosted protease inhibitor monotherapy, darunavir/ritonavir, darunavir/cobicistat.

INTRODUCCIÓN

La disponibilidad de tratamientos antirretrovirales (TAR) ha permitido considerar en la actualidad la infección por el VIH-1 como una patología crónica. Esto ha supuesto un cambio en los objetivos del TAR, adquiriendo una mayor importancia la mejora de la calidad de vida del paciente y una gestión más eficiente de los recursos, sin comprometer la efectividad de los tratamientos. Tanto en primera línea, en pacientes "naive", como en líneas sucesivas tras fracaso del TAR, los regímenes de tratamiento preferentes siguen siendo la combinación de tres principios activos frente al VIH: dos inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósido/nucleótido (ITIAN) con un inhibidor de la proteasa (IP) potenciado con ritonavir (RTV), un inhibidor de la integrasa (INI) o un inhibidor de la transcriptasa inversa no nucleósido (ITINN)¹⁻³.

Actualmente, la monoterapia con inhibidores de la proteasa potenciados con ritonavir (IP/r): darunavir/ritonavir (DRV/r) o lopinavir/ritonavir (LPV/r) sólo está contemplada en las principales guías de tratamiento en pacientes pretratados para evitar la toxicidad asociada a ITIAN, reducir costes y simplificar el TAR. La monoterapia con atazanavir/ritonavir (ATV/r) no se recomienda debido a los peores resultados obtenidos en ensayos clínicos. Para iniciar una monoterapia basada en IP/r es necesario que el paciente cumpla los siguientes criterios: ausencia de hepatitis crónica B, carga viral plasmática (CVP) <50 copias/mL durante al menos 6 meses y ausencia de mutaciones en el gen de la proteasa o fracasos virológicos (FV) previos a IP/r¹. Los IP/r son fármacos que poseen una elevada barrera genética y utilizados en monoterapia permiten mantener la supresión virológica en la mayoría de pacientes, pero con tasas inferiores a la triple terapia. El uso de monoterapia con lopinavir/ritonavir (LPV/r) y darunavir/ritonavir (DRV/r) está relacionado con mayor frecuencia de "blips", definidos como valores de CVP aislados y transitorios entre 50 y 200 copias/mL. Los "blips", aunque en la mayoría de los estudios no están relacionados con el aumento de riesgo de FV, sí hacen recomendable la reevaluación del TAR (grado de adherencia y la barrera genética) y en algunos pacientes pueden seleccionar mutantes resistentes¹. El FV ocurre cuando, en un paciente con adherencia estricta y óptima tolerabilidad al TAR, se dan cualesquiera de las dos situaciones siguientes: a) CVP detectable tras 24 semanas del inicio del TAR; b) si tras alcanzar la indetectabilidad, la CVP vuelve a ser >50 copias/mL en dos terminaciones consecutivas (separadas por 2-4 semanas), si se

excluyen vacunaciones o infecciones intercurrentes (pueden producir elevaciones transitorias de CVP). El FV generalmente se resuelve con la reintroducción de 2 ITIAN. Los factores que predicen el éxito de la monoterapia son: adherencia elevada, supresión virológica prolongada y profunda y cifra nadir de linfocitos CD4+ mayor de 100 células/ μ L¹⁻³. Actualmente no existen ensayos clínicos disponibles que comparen la eficacia de una monoterapia entre los diferentes IP/r².

Los potenciadores disponibles en la actualidad, RTV y cobicistat (COBI), actúan inhibiendo el metabolismo mediado por CYP3A que aumenta la exposición sistémica de la mayoría de IP y en el caso de COBI también de elvitegravir (EVG), un INI utilizado para el tratamiento del VIH². A pesar de tener una alta barrera genética y un buen perfil de tolerabilidad y seguridad, RTV está relacionado con la aparición de efectos adversos gastrointestinales, numerosas interacciones con otros fármacos, resistencia a la insulina, lipodistrofia e hiperlipidemia.^{4,5} Diferentes estudios han evaluado la eficacia de DRV/r una vez al día en combinación con otros TAR (Estudio ARTEMIS⁶, en pacientes "naive" y estudio ODIN⁷, en pacientes pretratados) o en monoterapia en pacientes pretratados (Estudios MONET, MONOI, Monarch y PROTEA)⁸⁻¹¹.

COBI ha demostrado en ensayos Fase III la no inferioridad y bioequivalencia con respecto a RTV, así como una buena tolerancia. COBI está relacionado con menores alteraciones lipídicas y menos interacciones con otros fármacos, aunque son imprescindibles más estudios que así lo demuestren. A diferencia de RTV, COBI no tiene actividad antirretroviral por lo que la aparición de resistencias al tratamiento no se presenta como un posible problema⁵. Por otra parte, se ha de considerar que COBI puede disminuir el filtrado glomerular estimado y aumentar los niveles de creatinina, atribuibles a una inhibición de la secreción tubular de la misma, pero sin alterar la función renal^{4,5}.

La autorización de la combinación a dosis fijas de darunavir/cobicistat (DRV/COBI) 800/150 mg se basa fundamentalmente en los resultados del ensayo GS-US-216-130¹², donde se evalúa la eficacia y seguridad de los componentes por separado, principalmente en pacientes "naive" a los que se les administró como TAR de inicio DRV/COBI + 2 ITIAN que resultó equivalente en eficacia virológica respecto a los estudios ARTEMIS⁶ y ODIN⁷. En un estudio Fase III en el que se estudió el grado de satisfacción de los pacientes en tratamiento con coformulaciones que contenían COBI en vez de RTV, así como la incidencia de efectos secundarios gastrointestinales, se observó un aumento de la satisfacción y una disminución de la intolerancia gastrointestinal desde la semana 4 de tratamiento¹³.

Hasta el momento, en los estudios publicados en los que se compara la seguridad y efectividad de DRV/COBI o EVG/COBI, los pacientes fueron tratados con una terapia triple con dos ITIAN^{12,14} siguiendo las recomendaciones de las guías de TAR actuales.

Actualmente, no se dispone de estudios que comparen la efectividad de una monoterapia con DRV/COBI (ni por separado, ni en coformulación) con otros TAR, pero su utilización en

pacientes seleccionados se ha planteado como una alternativa para evitar comorbilidades a largo plazo relacionada con el TAR, mejorar la satisfacción de los pacientes y la aumentar la adherencia, repercutiendo de forma directa en la efectividad de los tratamientos y disminución de la aparición de resistencias⁶.

El objetivo de nuestro estudio es describir la efectividad y seguridad que supone el cambio de DRV/r en monoterapia a DRV/COBI en monoterapia en pacientes VIH pretratados en un hospital de tercer nivel.

MATERIAL Y MÉTODOS

Selección de pacientes y búsqueda de datos. Estudio observacional, prospectivo llevado a cabo en un hospital de tercer nivel. Criterios de inclusión: todos los pacientes VIH adultos (≥ 18 años) pretratados con DRV/r y que cambiaron a un régimen de monoterapia con DRV/COBI. Periodo de inclusión: Septiembre de 2015 a Noviembre de 2015 ambos inclusive. Periodo de seguimiento: septiembre de 2015 a mayo de 2016. Los pacientes debían haber estado al menos 24 semanas en tratamiento con DRV/r en monoterapia. Se excluyeron del estudio aquellos pacientes de los que no se disponía información clínica y/o analítica suficiente para su posterior análisis y aquellos que no hubieran tenido una línea de tratamiento inmediatamente anterior con DRV/r en monoterapia.

La información se obtuvo de la base de datos AdvanCed HIV 2009 de la UGC de Enfermedades Infecciosas de nuestro hospital, de las historias clínicas electrónicas y de los registros de dispensaciones de los programas informáticos de pacientes externos (Cafydin® y ATHOS-Prisma®) del Servicio de Farmacia.

Variables empleadas. Para la recogida de datos se elaboró una base de datos en Excel que incluía:

- 1-. Variables demográficas: edad y sexo.
- 2-. Variables clínicas. A distinguir:

Tratamiento con DRV/r:

- Semanas de tratamiento con DRV/r previo al cambio.
- Nº de líneas y esquemas de TAR diferentes utilizados previo al cambio con DRV/r
- Respuesta virológica. Valores de CVP (copias/mL) justo antes del cambio.
- Respuesta inmunológica: Valores de linfocitos CD4 (células/ μ L) calculados por citometría de flujo antes del cambio.
- Perfil lipídico (colesterol, LDL-colesterol, HDL-colesterol, triglicéridos), hepático (GOT, GPT) y renal (creatinina y filtrado glomerular).

Tratamiento con DRV/COBI:

- Respuesta virológica. Valores de CVP (copias/mL) tras el cambio.
- Respuesta inmunológica: Valores de linfocitos CD4 (células/ μ L) calculados por citometría de flujo tras el cambio.
- Perfil lipídico (colesterol, LDL-colesterol, HDL-coles-

terol, triglicéridos), hepático (GOT, GPT) y renal (creatinina y filtrado glomerular).

Variable de adherencia. El cálculo se realizó con la siguiente fórmula:

% adherencia: Número de unidades de medicación ARV total dispensada/Número de unidades de medicación ARV prevista.

Se consideraron unidades previstas las necesarias para cumplir el tratamiento en los días incluidos desde la primera dispensación hasta la última en el periodo de tiempo considerado para el cálculo. Se calculó la adherencia en 2 periodos: 6 meses antes del cambio y posterior al cambio hasta la fecha de corte del estudio.

En el caso de que alguno de los pacientes tuviera un ingreso en nuestro hospital, el Servicio de Farmacia le facilita el TAR durante todo el periodo de hospitalización, por lo que para el cálculo de la adherencia también se tuvo en cuenta el registro de medicación dispensada en dosis unitaria a pacientes hospitalizados.

Análisis estadístico. El análisis de los datos fue descriptivo. Los valores de las variables fueron expresados como medias \pm desviación estándar (DE), medianas, rangos y porcentajes. Se consideró que no existían problemas éticos en la realización del estudio, ya que se trató de un trabajo observacional, en el que la información recopilada se consideró confidencial y se utilizó única y exclusivamente en el ámbito profesional.

RESULTADOS

Se incluyeron 82 pacientes que iniciaron tratamiento con DRV/COBI en monoterapia durante el periodo de inclusión. Los pacientes con DRV/COBI representaron un 5,25% del total de pacientes VIH activos tratados con TAR en el mismo periodo de tiempo en nuestro hospital (N=1.562). Se excluyó un paciente por no disponer de datos suficientes para su posterior análisis y tres pacientes más por no cumplir los criterios de inclusión.

El 100% de los pacientes tuvo una CVP < 50 copias/mL durante al menos 6 meses antes del cambio a DRV/r y cumplían además criterios según Guías GESIDA¹ para el cambio a una monoterapia. Antes del cambio a DRV/COBI en monoterapia todos los pacientes tenían CVP indetectable.

De los 78 pacientes evaluados, el 73,08 % eran varones y la media de edad fue de $49,09 \pm 9,58$ años. Los pacientes tuvieron una mediana de 31,29 (6-74,82) meses de monoterapia con DRV/r previo a la monoterapia con DRV/COBI (teniendo en cuenta que nuestros registros informáticos comenzaron en el año 2008).

El 100% de los pacientes (N=78) tuvo al menos un régimen de TAR diferente previo al cambio a la monoterapia con DRV/r, el 55,13% (N=43) dos regímenes de TAR previos y el 14,10% (N=11) tres regímenes de TAR previos diferentes (tabla 1).

El esquema de TAR más utilizado fue 2 ITIAN+IP/r en todas las líneas de tratamiento, en concreto, la triple terapia con tenofovir+emtricitabina (TDF+FTC) y un tercer fármaco

Esquemas de TAR previos a DRV/r	1 TAR previo	2 TAR previos	3 TAR previos
2 ITIAN+ IP/r	44	22	5
2 ITIAN+ ITINN	19	6	1
ITIAN+ IP/r + INI	6	2	1
2 ITIAN + INI	1	1	0
IP/r monoterapia	2	7	1
ICCR5 +INI+ IP/r	2	0	0
INI + IP/r	2	2	1
2 ITIAN+ IP/r + INI	1	0	0
ITIAN+ IP/r	1	2	0
ICCR5+ IP/r	0	0	1
ITINN + INI	0	0	1
ITINN+INI+IP/r		1	
TOTAL PACIENTES	78	43	11

ITIAN: Inhibidores de la transcriptasa análogos de nucleósidos/nucleótidos, IP/r: Inhibidores de la proteasa potenciados con ritonavir; ITINN: Inhibidor transcriptasa inversa no nucleósido; INI: Inhibidores de la integrasa; ICCR5: Antagonista del correceptor CCR5;

TDF+FTC+ 3º fármaco	1ª línea TAR	2ª línea TAR	3ª línea TAR
TDF+FTC+RPV	1		1
TDF+FTC+NVP	4		
TDF+FTC+LPV/r	11	4	
TDF+FTC+FPV/r	6		
TDF+FTC+EFV	9	1	
TDF+FTC+DRV/r	7	10	1
TDF+FTC+ATV/r	5		1
TDF+FTC+ETR		2	
TDF+FTC+FPV/r		2	
TOTAL PACIENTES	43	19	3

TDF: tenofovir; FTC: emtricitabina; RPV: rilpivirina; NVP: nevirapina; LPV/r: lopinavir/ritonavir; FPV/r: fosamprenavir/ritonavir; EFV: efavirenz; ATV/r: atazanavir/ritonavir; ETR: etravirina;

(tabla 2).

Podemos ver los esquemas de TAR inmediatamente anterior al cambio a la monoterapia con DRV/r en la figura 1.

La mediana de tiempo de tratamiento con DRV/COBI fue de 7,93 (6-9,61) meses. La primera analítica de control tras el cambio a DRV/COBI se obtuvo a las 24 semanas del cambio.

Tras el cambio a DRV/COBI, 9 de los 78 pacientes (11,53%) desarrollaron "blips" (figura 2). La mediana de CVP de estos 9 pacientes fue de 101,5 copias/mL (53-151 copias/mL). El 44,44% de los pacientes (N=4) había presentado 1 "blip" anterior durante el tratamiento con otro esquema de TAR previo a la monoterapia con DRV/COBI. No existe un consenso respecto al tratamiento óptimo de los pacientes con CVP detectable, pero con <200 copias/mL. Si el estudio genotípico no muestra MR, se recomienda mantener el mismo TAR, aunque el régimen ha de ser de alta barrera genética, según las Guías actuales de tratamiento de GESIDA¹. En nuestro estudio, el 33,34% (3/9) de los pacientes tuvo un cambio de tratamiento para asegurar la efectividad del TAR (tabla 3).

Por otro lado, el 5,12% (4/78) de los pacientes tuvo determinaciones de CVP \geq 200 copias/mL. Una CVP de entre 200-1.000 copias/mL, se asocia a un mayor riesgo de FV y de selección de MR. Se aconseja realizar una prueba de resistencia y elaborar una pauta de rescate teniendo en cuenta las MR, los FV previos, los problemas de adherencia, la toxicidad, el riesgo de interacciones y la comodidad de los fármacos, según las Guías GESIDA del año 2016¹ (figura 2). Las CVP de estos pacientes estuvieron comprendidas entre 200-43.210 copias/mL. En nuestro caso el 100% de los pacientes con CVP >200 copias/mL tuvo un cambio de tratamiento, por lo que no podemos asegurar si dichos pacientes hubieran tenido una segunda determinación consecutiva de CVP >50 copias/mL. Los pacientes cambiaron a otro régimen de TAR: 2 pacientes cambiaron a un régimen de triple terapia con TDF+FTC+EVG/COBI, un paciente a lamivudina+abacavir+dolutegravir (3TC+ABC+DTG) y otro a 3TC+ABC+ DRV/COBI (tabla 4).

A pesar de los "blips" y FV, un 83,3% (65/78) de los pacientes, se mantuvo con una CVP <37 copias/mL.

Con respecto al nivel de linfocitos CD4, expresados en células/μL, la mediana durante el tratamiento con DRV/r fue de 691 (119-1.722) y de 671 (4-1.492) con DRV/COBI.

Asimismo, analizamos el perfil lipídico, hepático y función renal de los pacientes previo y posterior al cambio. En cuanto al perfil lipídico, no hubo diferencias significativas en los niveles de colesterol, LDL colesterol, HDL colesterol y triglicéridos durante el tratamiento con DRV/r y tras el cambio a DRV/COBI (figura 3 y tabla 5).

En relación a los valores de creatinina de los pacientes los valores fueron de $0,92 \pm 0,64$ mg/dL durante el tratamiento con DRV/r y de $1,05 \pm 0,70$ mg/dL durante el tratamiento con DRV/COBI. Con respecto a la función renal, la media del filtrado glomerular estimado según la ecuación CKD-EPI de pacientes tratados con DRV/r y DRV/COBI fue de $84,75 \pm 13,57$ ml/min y de $79,65 \pm 16,05$ ml/min respectivamente (figura 4).

Para el estudio de la función hepática analizamos los niveles de transaminasas: GOT y GPT de los pacientes durante el tratamiento con DRV/r y con DRV/COBI. Se obtuvieron los siguientes valores: para GOT: $30,29 \pm 5,22$ UI/L y $26,31 \pm 11,47$ UI/L y para GPT de $34,76 \pm 37,44$ UI/L y $35,97 \pm 20,26$ respectivamente (figura 5).

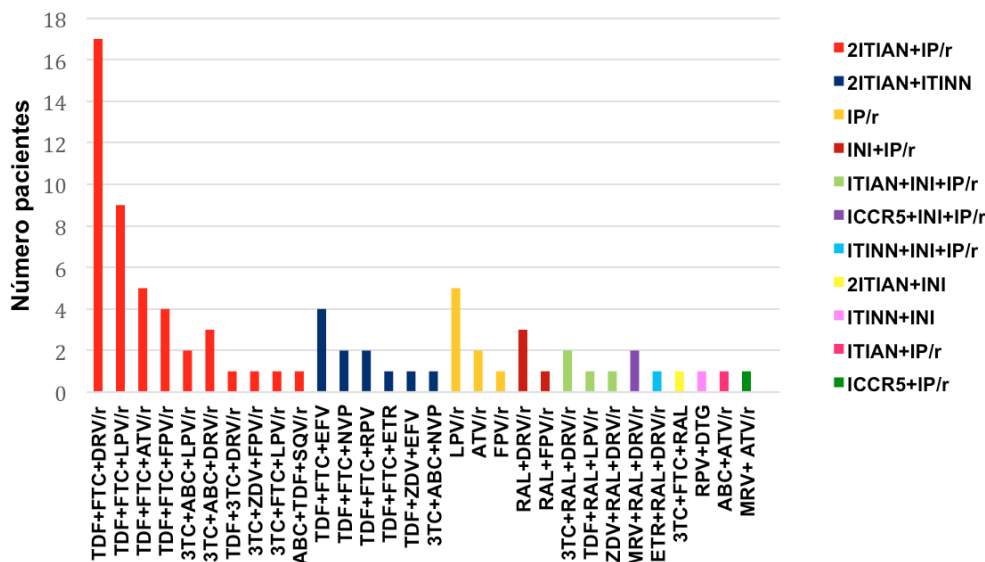


Figura 1 Esquemas de TAR inmediatamente anterior al cambio a la monoterapia con DRV/r.

Tabla 3 Pacientes con "blips" tras el cambio a DRV/COBI. Niveles de CVP y CD4 antes y tras el cambio a DRV/COBI.

PACIENTE	Nº de "blips" previos a DRV/COBI	CVP con DRV/r (copias/mL)	CD4 con DRV/r (células/ μ L)	CV con DRV/COBI (copias/mL)	CD4 con DRV/COBI (células/ μ L)	CAMBIO DE TAR
1	1	<37	1.204	151,3	1.469	
2	1	<37	1.001	101	1.381	
3	no	<37	469	65	454	
4	no	<37	644	101,5	817	
5	1	<37	386	119,7	4	TDF+FTC+DRV/COBI
6	no	<37	1.100	104	1.120	DTG+DRV/r
7	no	<37	1.145	110,6	963	
8	1	<37	894	80	534	
9	no	<37	691	53,34	562	ABC+3TC+DRV/COBI

TDF: tenofovir; FTC: emtricitabina; DRV: darunavir; COBI: cobicistat; DTG: dolutegravir; ABC: abacavir; 3TC: lamivudina.

En cuanto al coste, el cambio de DRV/r a DRV/COBI, no supuso un incremento del gasto por paciente, puesto que ambos eran equiparables en cuanto a coste en nuestro hospital. El estudio no reveló diferencias en la adherencia al tratamiento: $94 \pm 7,96\%$ para el tratamiento DRV/r antes del cambio y $94 \pm 7,40\%$ para DRV/COBI.

DISCUSIÓN

La monoterapia con IP/r no representa el *gold estándar* del TAR actual, pero está incluido en algunas guías de tratamiento como la *European AIDS Clinical Society (EACS)*³, como

opción de tratamiento en pacientes con CV suprimida durante al menos los 6 últimos meses, sin mutaciones de resistencia a IP/r y ausencia de infección crónica por VHB. La monoterapia con DRV/r o LPV/r puede representar una opción de tratamiento en personas con intolerancia a los ITIAN, como simplificación de tratamiento o en pacientes consumidores de drogas ilícitas y con frecuentes interrupciones del TAR. Ésta, se asocia con mayores rebotes virológicos que la terapia triple, sin embargo, las resistencias rara vez ocurren y la re-supresión se puede volver a conseguir con la reintroducción de ITIAN. En las recomendaciones de las guías GESIDA¹ del año 2016 consideran que no existe evidencia suficiente para recomendar el cambio proactivo a monoterapia con DRV/r o LPV/r en los pa-

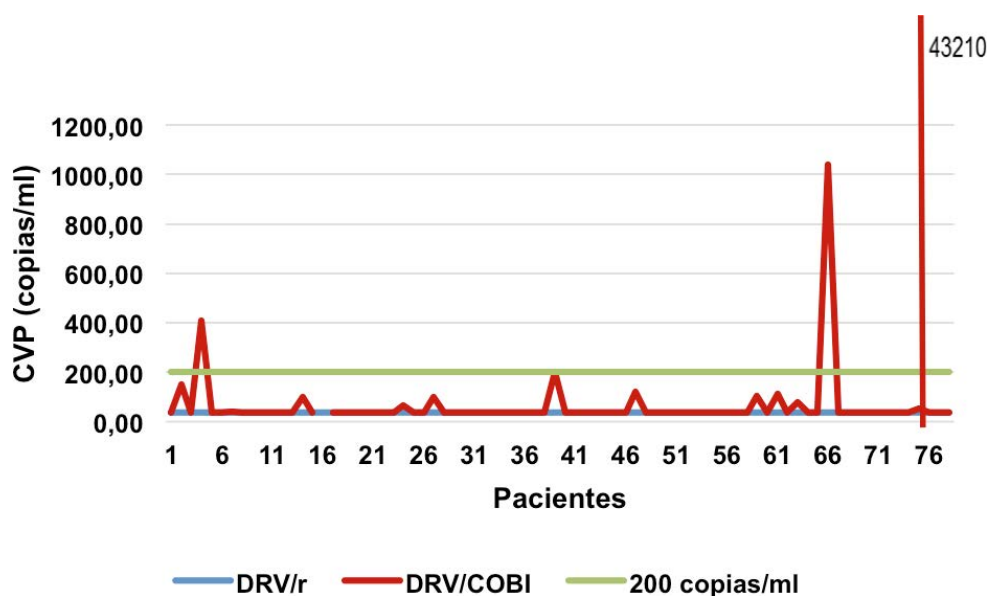


Figura 2 Valores de carga viral (copias/mL) previo y posteriores al cambio con DRV/COBI.

En el eje de ordenadas se representa la carga viral plasmática (CVP) y en el eje de abscisas el número de pacientes analizados. La línea azul representa la carga viral plasmática de los pacientes durante el tratamiento con DRV/r y la línea naranja la carga viral plasmática de los mismos pacientes una vez que modificaron tratamiento a DRV/COBI

PACIENTE	Nº de "blips" previos a DRV/COBI	CVP con DRV/r (copias/mL)	CD4 con DRV/R (células/ μ L)	CV con DRV/COBI (copias/mL)	CD4 con DRV/COBI (células/ μ L)	CAMBIO DE TRATAMIENTO
1	1	<37	784	43.210	479	3TC+ABC+DTG
2	no	<37	364	200	224	3TC+ABC+DRV/COBI
3	no	<37	897	1.039	710	TDF+FTC+EVG/COBI
4	1	<37	846	410,2	889	TDF+FTC+EVG/COBI

3TC: lamivudina; ABC: abacavir; DTG: dolutegravir; DRV: darunavir; COBI: cobicistat; TDF: tenofovir; FTC: emtricitabina; EVG: elvitegravir, COBI: cobicistat.

cientes que cumplan los criterios para el uso de esta estrategia. Sin embargo, el panel considera que tampoco existen evidencias para oponerse al uso de monoterapia con DRV/r o LPV/r si el clínico quiere evitar o prevenir los efectos adversos causados por los ITIAN. Los factores que predicen el éxito de la monoterapia son: adherencia elevada, supresión virológica prolongada y profunda y cifra nadir de linfocitos CD4>100 células/ μ L. Sitúan a la monoterapia en categoría B-I (DRV/r o LPV/r). La monoterapia con IP/r, sin embargo, no está recomendada en otras guías de tratamiento^{2,15,16}.

Recientemente se ha publicado un meta-análisis¹⁷ acerca de la eficacia de los IP/r en monoterapia vs. terapia triple en donde se incluyeron 2.303 pacientes de 13 ensayos clínicos aleatorizados diferentes; de DRV/r: MONET⁸, MONOI^{9,18}, Mo-

narch¹⁰ y PROTEA¹¹; de LPV/r: OK Pilot, OK-04, KalMo, KALE-SOLO, KRETA, MOST y DREAM; de ATV/r: MODAT o de los tres: PIVOT. Los autores concluyen que en pacientes con CV suprimida basal, la monoterapia con IP/r estuvo asociada con mayores elevaciones de RNA del VIH vs terapia triple. A pesar de esto, la mayoría de pacientes con elevaciones del RNA del VIH en las ramas de monoterapia con IP/r mostraron re-supresión tras la intensificación con ITIAN y en el análisis "switch included" (intercambio incluido), siendo la eficacia de la monoterapia comparable a la de la terapia triple. Destacan, sin embargo, importantes limitaciones al tratarse de estudios abiertos y sin rama de placebo. Los análisis puros por intención de tratar (ITT) o "switch included" fueron interpretados de manera diferente en los distintos estudios. El seguimiento a largo plazo tras el cambio de medicación es importante en este punto. Los resul-

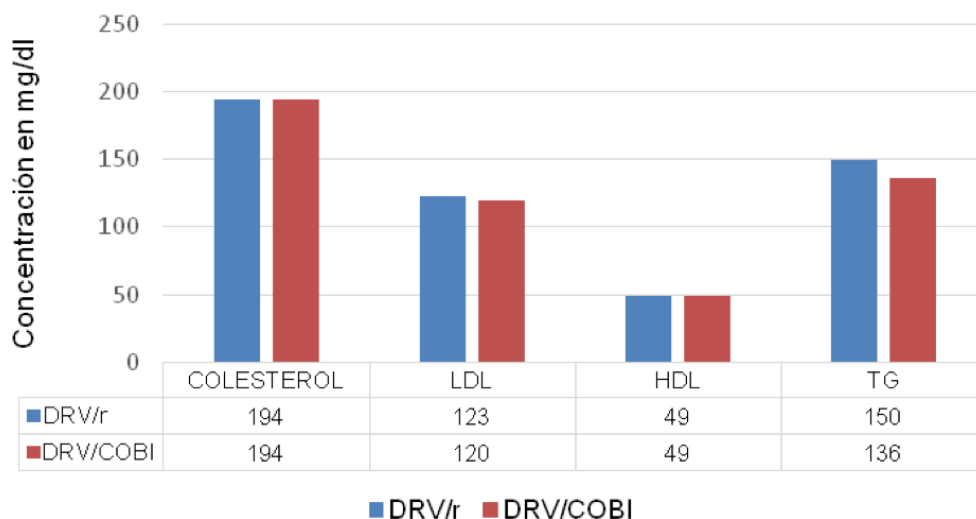


Figura 3 Perfil lipídico previo y posteriores al cambio con DRV/COBI.

En el eje de ordenadas se representa concentración plasmática en mg/dl. Las columnas azules corresponden a los pacientes tratados con DRV/r antes del cambio de tratamiento y las columnas marrones representan los perfiles lípidos posterior al cambio de tratamiento.

PERFIL LIPÍDICO	DRV/r	DRV/COBI
Colesterol (mg/dL)	194 ± 13	194 ± 14
LDL (mg/dL)	123 ± 6	120 ± 1,5
HDL (mg/dL)	49 ± 14	49 ± 19
Triglicéridos (mg/dL)	150 ± 77	136 ± 68

tados del estudio PIVOT^{19,20} no se incluyeron en el análisis de eficacia debido a que los datos se presentaron en curvas de Kaplan-Meier, lo cual no era compatible con los análisis del resto de estudios. Según este estudio, la monoterapia con IP/r con monitorización regular de la CV y rápida reintroducción de triple terapia si hay rebrote viral, preserva futuras opciones de tratamiento sin cambiar variables clínicas finales o frecuencia de aparición de efectos adversos, considerando la monoterapia con IP/r una alternativa aceptable para el manejo clínico de VIH a largo plazo.

Centrándonos en los ensayos clínicos llevados a cabo con DRV/r, se evaluaron 4 estudios que englobaban 784 pacientes: MONET, MONOI, Monarch y PROTEA. En todos ellos se estudió la monoterapia con DRV/r vs. 2 ITIAN+DRV/r. Para la variable principal de eficacia que fue la CV indetectable a la semana 48 se llevó a cabo un seguimiento de 144, 96, 48 y 96 semanas respectivamente en cada uno de los estudios. El último de los

estudios, publicado en 2016, el PROTEA¹¹, se trata de un estudio fase 3b, aleatorizado abierto y controlado para evaluar la eficacia y seguridad de la monoterapia con DRV/r como alternativa a la terapia triple. El porcentaje de pacientes con RNA-VIH <50 copias/mL fue inferior en la rama de DRV/r en monoterapia vs. terapia triple 75,2% vs 85,3% (RAR 10,1% IC95% -19,5%-0,7%). Sin embargo, en el análisis de los datos "switch included" en el que la reintroducción de los ITIAN estaba permitida se demostró que DRV/r era no inferior a la terapia triple. Estos hallazgos, están en consonancia con el meta-análisis de Arribas et al¹⁷, en el que se constataba que

había repuntes virológicos en las ramas de monoterapia con IP/r, sin embargo este rebrote desaparecía cuando se introducía la intensificación con ITIAN.

La monoterapia con DRV/r o con LPV/r no ha demostrado a largo plazo la no-inferioridad frente a la terapia triple en los análisis por ITT si se considera el cambio de terapia aleatorizada igual a fracaso¹. La no-inferioridad sí se ha demostrado en los análisis por ITT puros o "switch included" (ignorando los cambios de tratamiento, fundamentalmente las reinducciones con ITIAN). No existe acuerdo sobre cuál de estos análisis es más relevante clínicamente¹.

En pacientes tratados con monoterapia con DRV/r o LPV/r con seguimiento virológico adecuado no se ha demostrado un incremento en el riesgo de selección de MR a la proteasa. Comparada con la TAR triple, la monoterapia con DRV/r o LPV/r no ha demostrado beneficios a largo plazo aparte del ahorro económico. Sin embargo, tampoco hay datos empíricos que justifiquen que si un paciente es capaz de mantener la supresión virológica con DRV/r o LPV/r en monoterapia sea necesario utilizar además dos ITIAN¹.

En junio de 2015 se comercializa en España DRV/COBI co-formulado. Es una combinación de dosis fijas de DRV y COBI que actúa como potenciador farmacocinético. Hasta la fecha de aparición de COBI, DRV se utilizaba en combinación con RTV, utilizado como potenciador, a dosis bajas. Cuando RTV se utiliza a estas dosis, existe el riesgo potencial de que el virus VIH-1 desarrolle mecanismos de resistencia al ser un fármaco con actividad antirretroviral⁵. Por lo general, las mutaciones acumuladas asociadas con la resistencia a RTV, pueden disminuir la susceptibilidad a otros inhibidores de proteasa debido a la resistencia cruzada. COBI, por el contrario, no tiene actividad antiviral¹².

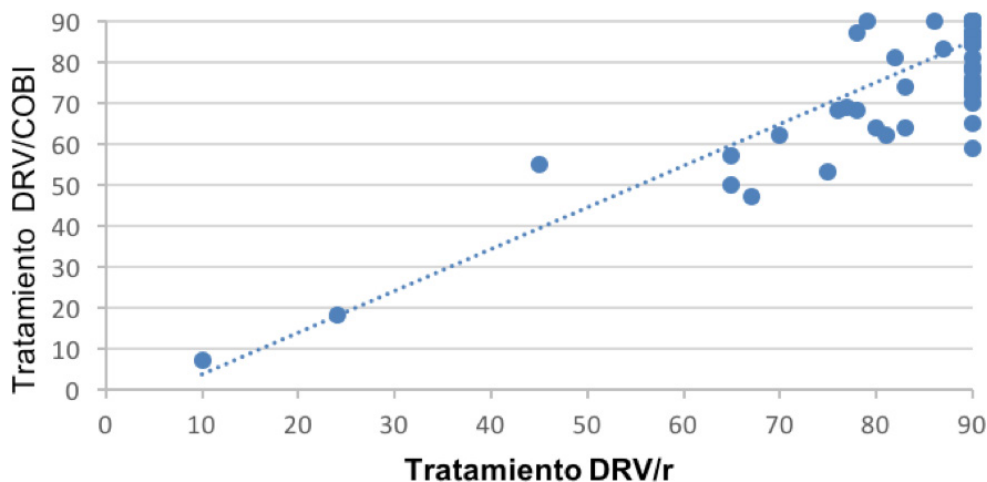


Figura 4 Valores de filtrado glomerular (ml/min) previo y posteriores al cambio con DRV/COBI.

En el eje de abscisas se representa el filtrado glomerular estimado de pacientes tratados con DRV/r y en el de ordenadas se representa el filtrado glomerular una vez que se tratan con DRV/COBI

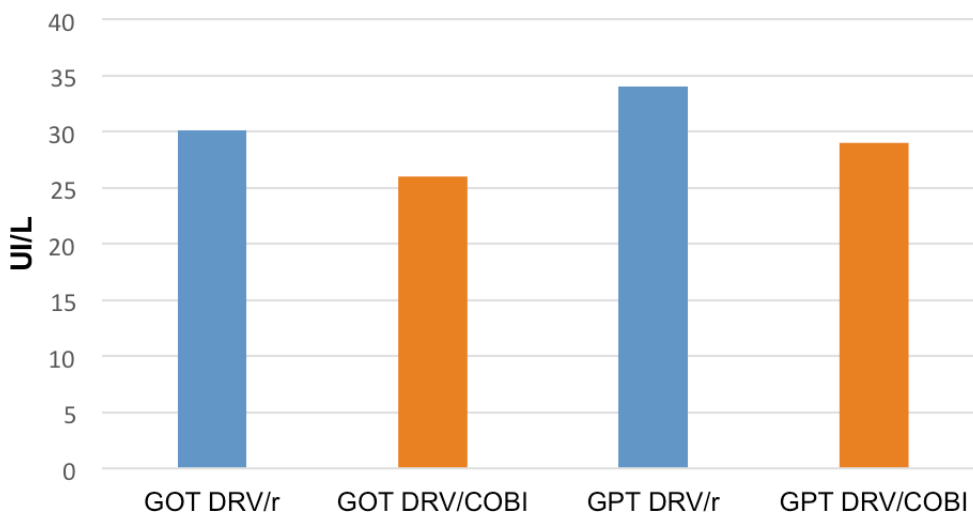


Figura 5 Niveles de transaminasas antes y después del cambio a DRV/COBI.

En el eje de ordenadas se representan los niveles de las transaminasas en UI/L y en el eje de abscisas las transaminasas (GOT y GPT) analizadas de los pacientes durante los tratamientos con DRV/r y DRV/COBI.

La eficacia de DRV/COBI se basa en el análisis de los datos a las 48 semanas obtenidas a partir del estudio GS-US-216-130¹² y los ensayos ARTEMIS⁶ y ODIN⁷ dos ensayos fase III de soporte. El primero, es un estudio de fase III, multicéntrico realizado con un único brazo y en régimen abierto para evaluar la farmacocinética, seguridad, tolerabilidad, y eficacia de DRV/COBI más 2 ITIAN en 313 pacientes adultos infectados por el VIH-1. La variable principal de eficacia fue la proporción de pacientes que alcanzaron una carga de ARN del VIH-1 <50 copias/mL en la semana 24 y 48, y el objetivo primario de seguridad

fueron los acontecimientos adversos y las pruebas de laboratorio clínico a las 24 semanas de tratamiento. Se exploró la farmacocinética poblacional de DVR y COBI y el análisis del desarrollo de resistencia genotípica y fenotípica en sujetos que experimentan fracaso virológico. La respuesta virológica a la semana 24 y 48 se logró en el 83% y 82,7% de los sujetos sin tratamiento previo respectivamente y en el 50% de los sujetos con TAR previo.

El estudio ARTEMIS es un estudio aleatorizado, controlado y abierto, para comparar la eficacia, seguridad y tolerabilidad de DVR/r en comparación con LPV/r, en pacientes "naive" con CV \geq 5.000 copias/mL. En los dos grupos se administró un régimen de dosis fija de TDF/FTC una vez al día.

Los resultados de eficacia obtenidos en los ensayos GS-US-216-130 y ARTEMIS a la semana 48 son similares: 82,7 % vs 83,7% respectivamente. Entre los pacientes pretratados, con fracaso previo, no resulta adecuado hacer esta comparación debido al escaso número de pacientes del ensayo GS-US-216-130 (N=18).

El estudio GS-US-216-130 es el único ensayo pivotal empleado para la aprobación de un fármaco con una metodología de ensayo clínico abierto

de una sola rama de tratamiento. Esta metodología presenta muchas limitaciones para realizar una valoración y posicionamiento con los fármacos empleados para la misma patología. No se dispone de estudios clínicos que comparen DRV/COBI con DRV/r o cualquier otro esquema de tratamiento.

Por todo esto, a pesar de que el tratamiento con DRV/COBI en monoterapia no aparece reflejado en las principales guías de tratamiento, en nuestro estudio todos los pacientes que se encontraban en tratamiento con DRV/r en monoterapia

cambiaron a DRV/COBI en monoterapia, simplificándose así la pauta posológica de dos comprimidos a uno lo que podría estar relacionado con una mejora de la calidad de vida en estos pacientes y un aumento de la adherencia con la consiguiente mejora del control del VIH.

En nuestro estudio, todos los pacientes habían sido previamente tratados con DRV/r en monoterapia, tenían CV<37 copias/mL y no presentaban mutaciones de resistencia a IP.

No obstante, no todos los pacientes mantuvieron CV indetectables tras el cambio a DRV/COBI: 9 pacientes presentaron "blips" y 4 pacientes FV. Los "blips" aislados no tienen repercusión clínica. Sin embargo, los "blips" frecuentes se han asociado a mayor riesgo de FV y aparición de MR. En presencia de "blips", se recomienda evaluar la adherencia y la barrera genética del TAR. De los pacientes con "blips", en un 55,5% (5/9) observamos que tenían una adherencia al tratamiento <90%, pero igual a la que tenían cuando se trataban con DRV/r y tenían CV <37 copias/mL, por lo que este hecho no explicaría este repunte virológico. No disponemos de los estudios de resistencias de los pacientes con FV, pero si sabemos que cuando estaban con DRV/r no presentaban MR a IP/r.

A pesar de ello, un 83,3% (65/78) de los pacientes, se mantienen con CV<37 copias/mL, lo que ha permitido simplificar su tratamiento antirretroviral a un único comprimido diario con la comodidad que esto representa para el paciente sin perder efectividad. Estos resultados están en consonancia con los obtenidos en otros estudios donde se ha estudiado la monoterapia con IP/r.

COBI tiene como especial peculiaridad inhibir a nivel renal transportadores de cationes orgánicos tubulares MATE 1 y en este caso, lo mismo que RTV, aniones orgánicos, lo que se traduce en una reducción de la secreción tubular de creatinina y por lo tanto en un incremento en torno al 15% de los valores de creatinina plasmática. Esto, sin embargo, no tiene por qué traducirse en una alteración del FG²⁰. En nuestro estudio, sin embargo, se observó un ligero descenso en ml/min del filtrado glomerular estimado durante el tratamiento con DRV/COBI. En el resto de parámetros de seguridad (perfil lipídico y hepático) DRV/COBI resulta ser similar a DRV/r.

Los FV podrían estar relacionados con las características farmacocinéticas de los fármacos potenciadores cobicistat y ritonavir. Los estudios farmacocinéticos de DRV/COBI han demostrado que hay una clara y repetida bioequivalencia demostrada en C_{max} y el AUC entre DRV/COBI y DRV/r, pero el parámetro de C_{min}/C_{0h} no ha llegado a demostrar la bioequivalencia según los criterios predefinidos por los investigadores en los estudios entre DRV/COBI y DRV/r²¹.

Lambert-Niclot et al²² intentan explicar los factores asociados con el fallo a la monoterapia con DRV/r. Concluyen diciendo que el riesgo de FV es mayor con la monoterapia con DRV/r que con la triple terapia, por lo que los pacientes han de ser seleccionados cuidadosamente. Los mejores candidatos a recibir monoterapia con DRV/r serían: pacientes con excelente adherencia y niveles de RNA-VIH <50 copias/mL. El riesgo de fracaso virológico resultaría menor entre los pacientes con regímenes de TAR

largos que hayan logrado la supresión virológica antes de pasar a un régimen de monoterapia. Los TAR de larga duración en los pacientes podrían resultar en niveles de viremia residual menores y menores niveles de DNA-VIH pro viral.

Recientemente se ha publicado un estudio retrospectivo por López-Cortés et al²³. Analizaron el cambio de tratamiento de triple terapia a monoterapia con DRV/r o LPV/r en 1.060 pacientes VIH adultos con CV indetectable, incluyendo 205 pacientes con FV previo en regímenes con monoterapia con IP. La variable principal de eficacia fue el porcentaje de pacientes con CV suprimida después de 96 semanas en un análisis por intención de tratar (datos no completos/perdidas=fallos). A la semana 96 la variable principal de eficacia fue 79,3% (IC95% 76,8-81,8). No hubo relación entre los FV previos y FV tempranos en regímenes basados en IP, la presencia de mutaciones a IP mayores o menores, tiempo previo con supresión viral, recuento de CD4 nadir y coinfección con VHC. El cambio a monoterapia con IP/r logró un control virológico de manera sostenida en la mayoría de pacientes, incluso en aquellos con FV previo en regímenes con IP siempre y cuando no hubiera presentes mutaciones mayores de resistencia para el fármaco administrado.

Por todo ello, a la vista de nuestros resultados, DRV/COBI en monoterapia, parece ser efectivo y seguro (perfil lipídico, hepático y renal). La principales limitaciones de nuestro estudio son, por un lado, el pequeño tamaño muestral, como para poder extraer conclusiones fiables en cuanto a qué régimen de monoterapia es el más eficaz y por otra, que se trata de un estudio observacional, por lo que deberían diseñarse estudios más específicos que comparasen DRV/r vs. DRV/COBI en monoterapia para comprobar estos resultados.

AGRADECIMIENTOS

Al servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital Regional Universitario de Málaga por la cesión de parte de los datos clínicos para la realización de este estudio.

FINANCIACIÓN

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

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. AIDS Study Group (GESIDA) of the Spanish Society of Infectious Diseases, Clinical Microbiology, the National AIDS Plan. Executive summary of the GESIDA/National AIDS Plan Consensus Document on Antiretroviral Therapy in Adults Infected by the Human Immunodeficiency Virus (Updated January 2016). *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2016;34(7):439-51-

2. US Department of Health and Human Services Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents (2016). [Acceso Junio 2016]. Disponible en: <http://aidsinfo.nih.gov/guidelines>
3. European AIDS Clinical Society (EACS) Guidelines. Clinical management and treatment of HIV infected adults in Europe, version 8.0 (2015). [Acceso Junio 2016]. Disponible en: <http://www.eacsociety.org/guidelines/eacs-guidelines/eacs-guidelines.html>.
4. Kakuda TN, Brochot A, Tomaka FL, Vangeneugden T, Van De Casteele T, Hoetelmans RM. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of boosted once-daily darunavir. *J Antimicrob Chemother* 2014; 69: 2591-605.
5. Puthcharoen O, Do T, Avhingsanon A, Ruxrungtham K. Rationale and clinical utility of the darunavir-cobicistat combination in the treatment of HIV/AIDS. *Drug Des, Devel Ther* 2015; 23(9): 5763-9.
6. Orkin C, DeJesus E, Khanlou H, Stoeckl A, Supparatpinyo K, Lathouwers E, et al. Final 192-week efficacy and safety of once-daily darunavir/ritonavir compared with lopinavir/ritonavir in HIV-1-infected treatment-naïve patients in the ARTEMIS trial. *HIV Med*. 2013; 14(1):49-59.
7. Cahn P, Fourie J, Grinsztejn B, Hodder S, Molina JM, Ruxrungtham K, et al. Week 48 analysis of once-daily vs. twice-daily darunavir/ritonavir in treatment-experienced HIV-1-infected patients. *AIDS*. 2011; 25(7):929-39.
8. 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(7):398-405.
9. Valantin MA, Lambert-Niclot S, Flandre P, Morand-Joubert L, Cabié A, Meynard JL, et al. MONOI ANRS 136 Study Group. 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(3):691-5.
10. Guaraldi G, Zona S, Cossarizza A, Vernacotola L, Carli F, Lattanzi A et al. Switching to darunavir/ritonavir monotherapy vs. triple-therapy on body fat redistribution and bone mass in HIV-infected adults: the Monarch randomized controlled trial. *Int J STD AIDS*. 2014; 25(3):207-12.
11. Girard PM, Antinori A, Arribas JR, Ripamonti D, Bicer C, Netzle-Sveine B et al. Week 96 efficacy and safety of darunavir/ritonavir monotherapy vs. darunavir/ritonavir with two nucleoside reverse transcriptase inhibitors in the PROTEA trial. *HIV Med*. 2016. *In press*.
12. Tashima K, Crofoot G, Tomaka FL, Kakuda TN, Brochot A, Van de Casteele T, et al. Cobicistat-boosted darunavir in HIV-1-infected adults: week 48 results of a Phase IIIb, open-label single-arm trial. *AIDS Res Ther*. 2014; 11:39.
13. Gathe J, Arribas JR, Van Lunzen J, Garner W, Speck RM, Bender R, et al. Patient-Reported Symptoms over 48 Weeks in a Randomized, Open-Label, Phase 3b Non-inferiority Trial of Adults with HIV Switching to Coformulated Elvitegravir, Cobicistat, Emtricitabine, and Tenofovir DF Versus Continuation of Ritonavir-Boosted Protease Inhibitor with Emtricitabine and Tenofovir DF. *Patient*. 2015; 8(5):445-54.
14. Arribas JR, Pialoux G, Gathe J, Di Perri G, Reynes J, Tebas P, et al. Simplification to coformulated elvitegravir, cobicistat, emtricitabine, and tenofovir versus continuation of ritonavir-boosted protease inhibitor with emtricitabine and tenofovir in adults with virologically suppressed HIV (STRATEGY-PI): 48 week results of a randomised, open-label, phase 3b, non-inferiority trial. *Lancet Infect Dis*. 2014; 14(7):581-9.
15. British HIV Association guidelines for the treatment of HIV-1-positive adults with antiretroviral therapy 2015. (acceso 19/06/2016). Disponible en: <http://www.bhiva.org/HIV-1-treatment-guidelines.aspx>.
16. 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 AIDS Society-USA Panel. *JAMA* 2014; 312 (4): 410-25.
17. Arribas JR, Girard PM, Paton N, Winston A, Marcelin AG, Elbirt D et al. Efficacy of protease inhibitor monotherapy vs triple therapy: meta-analysis of data from 2303 in 13 randomized trials. *HIV Medicine* 2016; 17(5): 358-67.
18. Katlama C, Valantin MA, Algarte-Genin M, Duvivier C, Lambert-Niclot S, Girard PM et al. Efficacy of darunavir/ritonavir maintenance monotherapy in patients with HIV-1 viral suppression: a randomized open-label, non inferiority trial. *MONOI ARS 136. AIDS* 2010; 24(15): 2365-74.
19. Paton NI, Stöhr W, Arenas-Pinto A, Fisher M, Williams I, Johnson M et al. Protease inhibitor monotherapy for long-term management of HIV infection: a randomised, controlled, open-label, non-inferiority trial. *Lancet HIV*. 2015; 2(10):e417-26.
20. Paton NI, Stöhr W, Oddershede L, Arenas-Pinto A, Walker S, Sculpher M, et al. The Protease Inhibitor Monotherapy Versus Ongoing Triple Therapy (PIVOT) trial: a randomised controlled trial of a protease inhibitor monotherapy strategy for long-term management of human immunodeficiency virus infection. *Health Technol Assess* 2016; 20 (21).
21. Blanco JL. Darunavir como tratamiento de inicio de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana y como estrategia de cambio no motivado por fracaso. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2016; 34 (Extraordinario 1): 3-11.
22. Lambert-Niclot S, Fladre 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.
23. López-Cortés LF, Castaño MA, López-Ruz M, Rios-Villegas MJ, Hernández-Quero M, Merino D et al. Effectiveness of Ritonavir-Boosted Protease Inhibitor Monotherapy in Clinical Practice Even with Previous Virological Failures to Protease Inhibitor-Based Regimens. *PLoS ONE* 2016; 11(2):e0148924. doi:10.1371/journal.pone.0148924.

Flavia Chiarella¹
Juan González-Del Castillo^{2,3}
Francisco Javier Candel^{1,3}
Eric Jorge García-Lamberechts^{2,3}
María José Núñez-Orantos⁴
Francisco Javier Martín-Sánchez^{2,3}
representing the Infectious Disease Group of Spanish Emergency Medicine Society (Addendum*).

Key issues in the infected patient care in the Emergency Department

¹Clinical Microbiology Department, Hospital Universitario Clínico San Carlos, Madrid, Spain.

²Emergency Department, Hospital Universitario Clínico San Carlos, Madrid, Spain.

³Health Research Institute, Hospital Universitario Clínico San Carlos, Madrid, Spain.

⁴Internal Medicine Department, Hospital Universitario Clínico San Carlos, Madrid, Spain.

ABSTRACT

Objective. To develop a set of recommendations, by consensus of Emergency Medicine experts, on key aspects related to the care of adult patients with acute infection attended in Spanish emergency departments (ED).

Methodology. The study was divided into three phases: 1) To design a questionnaire by a coordinating group; 2) To conduct a survey in ED physicians in order to know their opinion on the issues raised by the coordinating group; 3) To develop a number of recommendations based on the responses to the questionnaire and their subsequent discussion.

Results. A group of 28 experts from different Spanish ED, as well as 5 members of the coordinating group, with knowledge and experience in the management of infectious diseases in ED, conducted a round of voting to a questionnaire of 18 issues grouped into three sections: 1) identification and stratification of the severity; 2) diagnosis and treatment; 3) management.

Conclusions. A monitoring system and proper training of the entire healthcare team are required, as well as extensive knowledge on these issues, to ensure adequate and effective care for these patients. It is essential to educate and train all health staff, especially in the ED, because it is the initial point of contact for most patients with an infection. The experts established proposals based on survey questions and the discussion.

Key words: Infection, Sepsis, Emergency

Cuestiones claves en la atención del paciente infectado en Urgencias

RESUMEN

Objetivo. Elaborar un conjunto de recomendaciones basadas en la opinión de expertos en medicina de urgencias sobre aspectos claves relacionados con la atención del paciente con sospecha de infección en los servicios de urgencias.

Metodología. El estudio se desarrolló en tres fases: 1) Diseño de un cuestionario por un grupo coordinador; 2) Realización de una encuesta para conocer la opinión de los profesionales en urgencias y emergencias sobre las cuestiones formuladas por el grupo coordinador; 3) Elaboración de una serie de recomendaciones basadas en las respuestas al cuestionario y su posterior discusión.

Resultados. Un grupo de 28 expertos procedentes de distintos servicios de urgencias hospitalarios españoles, así como 5 miembros del grupo coordinador, formado por médicos con experiencia en urgencias y patología infecciosa, realizaron una ronda de votación a un cuestionario de 18 preguntas clasificadas en tres bloques: identificación y estratificación del paciente infectado, diagnóstico y tratamiento, y gestión hospitalaria.

Conclusiones. Para garantizar una atención adecuada y eficaz de estos pacientes se requiere una atención estructurada y un entrenamiento adecuado de todo el equipo sanitario, así como un amplio conocimiento en estos temas. Resulta fundamental educar y concienciar a todo el personal sanitario especialmente en los servicios de urgencias, punto de contacto inicial de la mayoría de los pacientes que padecen una infección. En base a las preguntas y su discusión, se consensuaron una serie de propuestas.

Palabras clave: Infección. Sepsis. Urgencias. Identificación precoz.

Correspondence:
Juan González del Castillo
Servicio de Urgencias. Hospital Universitario Clínico San Carlos.
Calle Profesor Martín-Lagos s/n, 28040 Madrid.
Phone: (34) 91.330.37.50
Fax: (34) 91.330.35.69
E-mail: jgonzalezcast@gmail.com

INTRODUCTION

Infectious diseases represent a major health problem in the world. They are associated with increased morbidity and mortality in all health settings. In Spain, they are one of the main causes of admission and mortality and represent 15% of hospital emergencies attended¹. It is important to highlight that there has been an increase in the prevalence of infections in the last years. Also, there has been a change in the infected patient profile showing an increase of age, number of comorbidities, and risk factors for multidrug-resistant microorganism (MDRO) and sepsis syndrome.

The new definitions of sepsis and septic shock reflect the importance of early recognition of patients with severe infection. The criteria for systemic inflammatory response syndrome (SIRS), although repeatedly challenged on its non-specificity, may guide physicians to identify an infectious process in progress. The concept of "severe sepsis" is no longer part of the new classification. Hypotension and serum lactate levels above 2 mmol/dl support the new criteria for septic shock, reflecting metabolic and cellular abnormalities of sepsis². The early prescription of antibiotic treatment and hemodynamic resuscitation, and proper monitoring are key to decrease mortality related to this process^{3,4}.

Moreover, inadequacy of antibiotic treatment in the infected patient may lead to an increase in the length of hospital stay, and therefore costs associated, and also in the mortality in critically ill patients^{5,6}.

Taking into account the above mentioned, objective was to establish a set of recommendations, by consensus of Emergency Medicine (EM) experts, on the identification, diagnosis, immediate treatment and management of adult patients with acute infection attended in Spanish emergency departments (EDs).

METHODOLOGY

The study was divided into three phases: 1) To design a questionnaire by a coordinating group; 2) To conduct a survey in ED physicians in order to know their opinion on the issues raised by the coordinating group; 3) To develop a number of recommendations based on the responses to the questionnaire and their subsequent discussion (figure 1).

In the first phase, a coordinating group of 5 members was formed. They met the following requirements: having more than 3 years of experience as ED physician, being member of an infectious diseases hospital commission, and having proven practice in non-invasive hemodynamic monitoring procedures. The tasks of the coordinating group were to prepare the questionnaire, select the expert group, set up the timetable, collect and analyse the results, and formulate the final recommendations. For the design of the survey questions, a literature search of the most relevant articles in the last 5 years on infectious diseases and ED topics was performed. After examining the selected publications, the coordinating group formulated

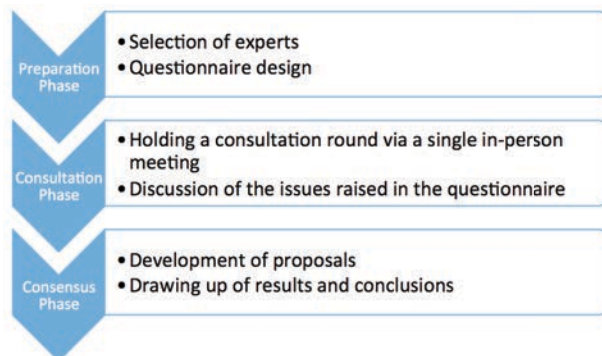


Figure 1 | Systematization of the Method Used

18 questions in 3 specific blocks in relation to acute infection process in the EDs: 1) identification and stratification of the severity; 2) diagnosis and treatment; 3) management.

Regarding the second phase, a group of 28 experts of EM physicians was formed, representing the vast majority of the Spanish Autonomous Communities, with knowledge and experience in the management of infectious diseases in ED. An expert meeting took place in April 2016, in which the survey was conducted through a closed anonymized electronic system. Subsequently, an open discussion was held regarding the responses.

Concerning the third phase, the coordinating group summarized the survey results and the discussion in a manuscript. Once the document was drafted, it was sent to all the experts for discussion and all participants approved the final version.

RESULTS

Table 1 shows questions and results of the survey conducted.

Block I. Identification and Stratification of Severely Infected Patients

With regard to the first question, the majority of experts said that the most vulnerable patients, who face the highest probability of error in identifying the symptoms associated with suspected infection, are the older patients. In relation to the second question, 90.9% of the experts believed that the new criteria should not replace the current ones until further evidence for the strategies are established in each centre. For the third question about classical criteria for sepsis, most of the consulted specialists argued that the use of such criteria is still useful in medical care, while 24.2% thought that they lack utility. Concerning the fourth question, 97.0% of the experts argued that it is necessary to adopt the sepsis code in EDs. Respect to triage systems, 60.6% affirmed that they are insufficient for proper stratification of infected patients. Lastly, 75.8% of the respondents use lactate as the primary prognostic biomarker of 30-day mortality.

Block II. Diagnosis and Treatment

Regarding empirical prescription of treatment against MDRO, 60.6% of the ED physicians argued that its coverage in community infections should only be considered in exceptional cases. For 54.5% of the experts, procalcitonin (PCT) is the most useful biomarker in the management of infected patients, and 97% of the total believed that it is necessary to have rapid etiological diagnostic techniques. In relation to the fourth question, 60.6% of the ED physicians would choose carbapenems, while 33.3% would prefer ceftolozane/tazobactam to treat a severe infection with suspected beta-lactamase producing Enterobacteriaceae in a setting with high resistance to carbapenems. In the fifth question, 78.8% of the experts suggested the need to administer, depending on the site of infection, the first dose of antibiotics intravenously prior to ED discharge.

With regard to delayed prescription, 21.2% stated that this may sometimes be useful in EDs. Respect to the infection site most benefited from new emerged antimicrobials, 45.5% of experts said it would be skin and soft tissue infections (SSTI), while a 42.4% of them considered the intra-abdominal infections. A 90.9% of the respondents suggested that it is necessary to assess the extension of antimicrobial spectrum in patients with severe comorbidity. About the peripheral use of norepinephrine, 78.8% of experts initially used it by peripheral access. Lastly, 66.7% monitored of hemodynamic response to therapy by measuring arterial pressure.

Block III. Infection Management

In the first question, there was controversy among respondents as to whether one should establish different circuits for the care of infected patients, even though 54.5% opted for the affirmative response. In reference to isolation circuits, 93.9% of the participants believed that it is necessary an isolation circuit in the EDs with a separate entrance to the centre. A 51.5% of the respondents affirmed that it is important the 24-hour presence of a microbiologist in the hospital. A 54.5% of experts said that hospitalization is the main cost associated element in the infection process, while a 45.5% of them considered it to be attributed to treatment failure. A 90.9% of the ED physicians found the short-stay units and outpatient parenteral antimicrobial therapy (OPAT) programs very useful and effective for the care of these patients.

DISCUSSION

Block I. Identification and Stratification of Severely Infected Patients

Advanced age is associated with an increased of the vulnerability to infection. Also, it is common in this age group to find an atypical clinical presentation that leads to an increased risk of delayed diagnosis and inadequate treatment, and therefore, worse short-term outcomes⁷. This aspect is interesting given that the vast majority of the experts thought that the older are a high-risk group of patients because they are frequently associated with significant comorbidity and age-related immune changes. Thus, they constitute the group

of patients with higher risk for errors during identification in EDs, followed by those with clinical or therapeutic immunosuppression.

The consensus document that establishes the new definitions of sepsis⁷ recognizes the need to modify the concept of sepsis, which is defined as an organic life-threatening dysfunction caused by a state of deregulation of the host response to infection. The new definitions of sepsis and septic shock reflect the importance of early recognition of patients with potentially fatal infection. The criteria for SIRS is considered to still be able to guide clinicians to identify a potential overall impact on an infection⁸. Despite the emergence of new definitions, experts believe that the SIRS should continue to be implemented in the nursing triage and the *Quick* SOFA (qSOFA) should be added to the first medical assessment. Also, they suggest that qSOFA should be validated in prospective studies and in special populations before eliminating the concept of SIRS. In addition, a specialized team, with skilled staff trained, is necessary in the triage when implementing the detection of sepsis.

The Sepsis Code project⁹ aims to improve patient care, optimizing the identification and action times to achieve a reduction in mortality associated with this process. Another objective is to improve the use of human and material resources, reducing hospital length of stay and associated costs. The majority of the participants said that it is necessary to adopt this Sepsis Code in emergency care, and that it should also be implemented in pre-hospital emergencies.

The majority of the experts said that early administration of intravenous broad-spectrum antibiotics would be crucial during the pre-hospital care. For this, it is necessary to provide the medical emergency system with the necessary tools to prescribe the antibiotic treatment, after taking microbiological cultures, in the first hour. This issue may become particularly important in septic shock patients with prolonged transport to the hospital. Therefore, it is still necessary to universalize criteria to ensure that the Sepsis Code is suitable in all settings. Furthermore, special emphasis was placed on the importance of the collaboration of all professionals involved in the management of sepsis in order to achieve its implementation in all levels of healthcare.

The majority of the participants stated that current triage systems are not good enough for the risk stratification of infected patients. This may be especially complex and less reliable in older patients with severe infection because this age group may present more atypical clinical signs and symptoms due to age-related physiological changes, comorbidity and polypharmacy^{10,11}. Thus, the importance of the measurement of respiratory rate to minimize the underestimation of patients with severe infection.

Lastly, it was pointed out that biomarkers of inflammatory response and infection have positioned themselves as helpful tools for ED physicians when making vital decisions. The most representative ones are PCT, C-reactive protein (CRP) and lactate¹². More than half of the respondents use lactate as the

Table 1		Survey Questions and Results	
Block 1. Identification and Risk Stratification of Severely Infected Patients		N (%)	
1. What is the most vulnerable population group that faces the highest probability of error during identification in the ED?			
	Patients with significant comorbidity	3	(9.1)
	Immunosuppressed patients	1	(3)
	Elderly patients	29	(87.9)
2. How will the new definitions of sepsis affect the management of patients?			
	We should forget the SIRS and use the SOFA	2	(6.1)
	No way, we must use only the SIRS criteria	1	(3)
	Continue using SIRS and add SOFA in the assessment	30	(90.9)
3. Are the classical criteria for sepsis useful?			
	Yes, except in elderly patients	5	(15.2)
	Yes, except in immunosuppressed patients	1	(3)
	Yes	19	(57.6)
	No	8	(24.2)
4. Is adopting a sepsis code necessary in emergencies?			
	Yes	32	(97)
	No	1	(3)
5. Are standardized triage systems useful in the risk stratification of infected patients?			
	Only Manchester	1	(3)
	None	20	(60.6)
	SET	0	(0)
	Both	12	(36.4)
6. What is the prognostic biomarker most widely used in routine clinical practice?			
	CRP	2	(6.1)
	PCT	6	(18.2)
	Lactate	25	(75.8)
Block 2. Diagnosis and Treatment			
1. Should we consider the etiologic diagnosis of multidrug-resistant microorganisms in community-acquired infections?			
	Yes, but only in some sites of infection	4	(12.1)
	Yes, but only regarding those that have received recent antibiotic therapy	7	(21.2)
	No, never	2	(6.1)
	As an exception, since it is very rare	20	(60.6)
2. What is the most useful biomarker in the management of infected patients?			
	CRP	6	(18.2)
	PCT	18	(54.5)
	Lactate	9	(27.3)
3. Do you consider it necessary to implement rapid etiologic diagnostic techniques?			
	Yes	32	(97)
	No	1	(3)

Table 1	Survey Questions and Results (cont.)
4. In an environment with high rate of resistance to carbapenems, would you modify your choice of antibiotherapy if you suspect an infection by extended spectrum beta-lactamases producing Enterobacteriaceae?	
Yes, I would change it to piperacillin-tazobactam	2 (6.1)
Yes, I would change it to ceftazoxime-tazobactam	11 (33.3)
No, I would keep the carbapenem	20 (60.6)
5. Is it necessary to administer the first dose of intravenous antibiotics before discharging infected patients from the emergency department?	
It is only necessary in some sites of infection	26 (78.8)
Yes, always	1 (3)
It is not necessary as the patient (getting discharged) is not in a serious condition	6 (18.2)
6. Is a deferred prescription suitable?	
Yes, though only on rare occasions	7 (21.2)
No, never	26 (78.8)
Yes	0 (0)
7. Which site of infection do you think will benefit the most from new antimicrobial agents against gram-positive and -negative bacteria?	
I don't see its place in emergencies	1 (3)
Skin and soft tissue infections	15 (45.5)
Pneumonia	1 (3)
Urinary tract infection	2 (6.1)
Abdominal infection	14 (42.4)
8. Is it necessary to assess the administration of a broad-spectrum antimicrobial in patients with severe comorbidity?	
Yes, because they are high-risk patients	30 (90.9)
Not only for that reason	1 (3)
No, but I would consider the potency	2 (6.1)
9. Can noradrenaline be administered peripherally?	
Yes	26 (78.8)
No	7 (21.2)
10. What do you use to monitor hemodynamic response to therapy?	
Arterial pressure	22 (66.7)
Lactate	9 (27.3)
Ultrasound	2 (6.1)
Block III. Infection Management	
1. Should different circuits be established for the care of infected patients?	
Yes	18 (54.5)
No	15 (45.5)
2. Do you think it is necessary for the isolation circuit to have a separate entrance to the centre?	
Yes	31 (93.9)
No	2 (6.1)
3. Is it necessary to have a 24-hour on-site microbiologist present in the hospital?	
Yes	17 (51.5)
No	16 (48.5)

Table 1	Survey Questions and Results (cont.)	
4. Which element leads to increased spending in the process of an infection?		
Hospitalization		18 (54.5)
Treatment failure		15 (45.5)
5. Do you believe that short-stay units and/or home care units are useful in the management of infected patients?		
Not very useful		1 (3)
Somewhat useful		2 (6.1)
Very useful		30 (90.9)

SIRS: Systemic Inflammatory Response Syndrome; SOFA: Sequential Organ Failure Assessment; CRP: C-Reactive Protein; PCT: Procalcitonin

primary biomarker for risk stratification of patients, due to its utility, accessibility and immediacy.

Block II. Diagnosis and Treatment

Bacterial resistance is a first magnitude problem. Despite the number of new antibiotic molecules available, MDRO are increasingly emerging. The production of extended spectrum beta-lactamases (ESBL) is currently the most important problem of resistance among Enterobacteriaceae. These microorganisms may cause nosocomial infections although they are also isolated in out-hospital patients¹³. The frequency of this situation may be higher in patients with serious infections who receive inappropriate empirical treatment. Therefore, the identification of the factors, which predict the presence of infections by MRDO, is important to offer early and appropriate antibiotic treatment¹⁴.

ED physicians argued that methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) empirical coverage should only be considered occasionally in community patients. However, it should not be forgotten that MRSA microorganisms are present in 20% of staphylococcal infections¹⁵. Furthermore, it has been documented gram-positive isolates, usually *Staphylococcus* spp. and *Enterococcus* spp., with elevated MICs to linezolid, in Spanish critical patients¹⁶.

Tedizolid is a new antibiotic from the family of oxazolidinones, indicated for SSTI treatment in adults, including those caused by MRSA. Tedizolid could be useful in SSTI instead of linezolid in patients with thrombocytopenia or in those who are at risk of developing it during treatment. This group includes those with vitamin B12 deficiency, myelodysplastic syndrome, expectation of prolonged duration of treatment, chronic liver disease, cancer, previous use of vancomycin, the presence of a low platelet count before the initiation of treatment, and low body mass index¹⁷. Another possible alternative would be ceftaroline, a fifth-generation cephalosporin with extraordinary affinity for PBP2a, which gives it high activity against MRSA, as well as all the safety-related advantages of being a beta-lactam¹⁸. Recently, dalbavancin has been launched on the Spanish market. This is an antibiotic also useful in SSTI, which belongs to the group of semisynthetic lipoglycopeptides structurally related to teicoplanin. It is an antimicrobial with a long

half-life that can be administered in a single dose of 1500 mg. It provides a dosage facility advantage that would potentially reduce the risk of complications associated with multiple-dose parenteral therapy and facilitate outpatient management^{19,20}.

Moreover, MRDO gram-negative bacteria are a serious health problem worldwide because of the severity infections that they can cause and the difficulties in establishing proper empirical treatment. ESBL production is the most important problem of resistance among Enterobacteriaceae, which cause nosocomial infections, but are also frequently isolated in community patients¹³. There are other therapeutic limitations against resistant gram-negative bacteria, such as carbapenemase-carrying Enterobacteriaceae or glucose-nonfermenting gram-negative bacilli, such as *Pseudomonas aeruginosa* or *Acinetobacter baumannii*.

A new beta-lactam, ceftolozane/tazobactam, has recently become available. This is a derivative of ceftazidime associated with a beta-lactamase inhibitor with higher activity against *P. aeruginosa*²¹. It is indicated for the treatment of adults with complicated intra-abdominal and complicated urinary tract infections, including pyelonephritis. It has in vitro activity against ESBL-producing microorganisms and against multi-drug resistance *P. aeruginosa*. ED physicians have considered that it could be useful against these pathogens in environments where there is a high rate of resistance of *Pseudomonas* to carbapenems, or where there is a high incidence of infections by carbapenemase-carrying strains, in order to reduce the use of carbapenems. In addition, there are other therapeutic alternatives against ESBL strains such as tigecycline or fosfomicin, and even the combination of penicillinase with penicillins (piperacillin/tazobactam or amoxicillin/clavulanate) in the treatment of urinary sepsis with low MIC.

The group of experts agreed that, in order to broaden the spectrum of antimicrobials and provide coverage against MDRO, the site of infection, risk factors, comorbidity and the severity of the process, as well as pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters (PK/PD), should always be considered. For the patients' severity assessment, the degree of comorbidity should be added to clinical and laboratory criteria. It has been published that patients with a Charlson index score higher than 2 have poorer short- and long-term prognosis²².

Therefore, an empirical treatment error in these patients could further worsen clinical outcomes. Most experts agreed that it would be necessary to assess and extend the antimicrobial spectrum or to use more powerful antibiotics in patients with significant comorbidity. This may be useful to achieve a greater log reduction in the shortest possible time and therefore an early defervescence of the episode, reducing the period in which the patient comorbidities are destabilized, and decreasing the risk of revisit to the ED²³. This is the main justification for using combination therapy in severe infections. This leads to reach antibiotic synergy, a greater spectrum, an early log reduction and prevention of MDRO emergence.

It is widespread that the best antibiotic prescription strategy is the obtainment of adequate samples for culture, especially when is necessary to use broad-spectrum antibiotics, and then the early deescalation in accordance with the results of the cultures taken in EDs. This attitude may protect both the patient and the community preserving the ecological niche.

The development of rapid microbiological tests could provide information in the first hours of attendance to help in decision-making²⁴. Currently, few centres have these techniques for rapid etiologic diagnosis available to determine the aetiology of the infection. The rapid flu test and urinary antigens against *Legionella pneumophila* and *Streptococcus pneumoniae* are the most widespread tests in EDs. The implementation of rapid diagnostic techniques will always take into account the cost-benefit factors. Also, it will be necessary to establish a protocol for the previously selected patients through an epidemiological survey, in order to reduce antibiotic selective pressure and unnecessary testing costs. As for taking blood cultures, the majority of the respondents answered that the extraction depends on the site of infection but above all they serve to determine the diagnostic and therapeutic decisions, especially in sepsis and septic shock patients. Therefore, the need to draw blood cultures in all sites of infection was considered, although it was recognized that probably a higher number of blood cultures than necessary are taken in the EDs.

It is well known the difficulty of finding a biomarker that allows early diagnosis of sepsis due to the complexity of the pathophysiology of this process^{25,26}. Sepsis diagnosis remains a challenge, mainly in special groups of patients. The majority of the participants stated that the most useful diagnostic biomarker is PCT because it is more sensitive than CRP, especially in bacterial infections. They considered it to be especially useful in patients with uncertain diagnosis, and for the monitoring of therapeutic response in critically ill patients. Some of the professionals supported the use of CRP and lactate due to the diagnostic limitations of their workplace.

There was a total agreement regarding the need to administer the first dose of antibiotics prior to discharge from ED, although this need will depend on the site of infection. Consequently, this was required in community-acquired pneumonia, where the guidelines clearly recognize this need²⁷.

Delayed antibiotic prescription entails providing a prescription for an antibiotic agent and instructing the patients

to take it only if their symptoms do not improve or worsen in the next days after the physician attendance. This is an administration regimen that may reduce unwarranted use of these drugs, contributing to their responsible use²⁸. The majority of the participants considered appropriate this strategy, mainly in outpatient. Although information regarding the initiation of antibiotic therapy must be previously provided to the patient.

Finally, there was a general agreement that crystalloids are the best choice for hemodynamic resuscitation, and furthermore, there are several studies that support their use²⁹. According to current guidelines, dopamine and noradrenaline should be the first-line vasopressors³⁰. However, there are observational studies that have associated a higher rate of arrhythmias³¹ and mortality in patients treated with dopamine than in those treated with norepinephrine³². Therefore, the latter is preferable as vasoactive treatment of choice. The majority ED physicians use norepinephrine through peripheral access although its peripheral administration increases the risk of adverse effects. However, the infusion through proximal peripheral line (antecubital fossa or external jugular vein) is unlikely to cause any problem during the first 4 hours in critically ill patients³³. Subsequently, it is possible to continue its infusion placing a central line.

In regard to monitoring the hemodynamic response to therapy, the majority of them said that they perform it through arterial pressure. There was little experience regarding control through non-invasive techniques such as ultrasound of the vena cava or the carotid artery, which tools that have proved to be useful in predicting response to volume overload or the need to initiate amine therapy³⁴.

Block III: Infection Management

Emergency care is based on the principle of giving priority to the most severely ill patients. Thus, some circuits of patients are defined in function of the risk stratification at ED arrival. These circuits have different diagnostic and therapeutic resources and therefore different established length of stays in the ED³⁵. There was controversy among the respondents regarding the circuits that there should be established for the care of infected patients. Most experts declared that both patients with sepsis and those with septic shock should be treated in a shock room, which would allow immediate and efficient care in EDs³⁶.

According to the need to establish isolation circuits differentiated from the rest of them, triage had a special relevance due to the infections transmitted by respiratory route. The entrance to this circuit should be separated from others, especially in cases of epidemics of serious infections³⁷.

Currently, few Spanish hospitals have a microbiologist and/or consultant for infectious diseases, either on-site or locally available, for 24 hours a day. The majority of the participants believed that a 24-hour on-call microbiologist is necessary, whereas only a minority believed it is necessary to have a 24-hour on-call infectious diseases consultant.

Another important aspect is the increase in healthcare

Table 2	Recommendations of the Working Group.
1	Special care should be taken in the care of elderly patients with severe comorbidity, since both are factors associated with an increased risk of poor results due to the difficulty of stratifying the risk for patients with this profile.
2	The new defining criteria of sepsis should be incorporated into routine clinical practice, but without eliminating the previously existing detection criteria. It is essential to develop a sepsis code as it has been shown to be a useful tool in improving the healthcare outcomes of patients with sepsis.
3	There is a growing problem of multidrug-resistant microorganisms infecting patients from the community, so the risk of infection by them should always be assessed when deciding on the initial empirical treatment.
4	In order to broaden the spectrum of antimicrobials, one should take into account the site of infection, risk factors, comorbidity and severity of the process, as well as pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters of the antibiotic.
5	It would be advisable to implement microbiological techniques for rapid diagnosis with regard to proper selection of the initial antibiotic. Given the current limited availability of these, the best strategy is obtaining adequate samples for culture, especially in patients with whom it is necessary to use broad-spectrum antibiotics, for then proceeding to early deescalation.
6	The most widely used biomarker in emergencies is lactate, which is considered the best for prognostic stratification of patients. PCT is the best biomarker from the diagnostic point of view.
7	The perfusion of norepinephrine may initially be administered peripherally, but for no more than 4 hours.
8	Hospitalization is the element that generates the most spending in the treatment of an infection, thus strategies should be established to reduce hospital stay.
9	Having isolation circuits differentiated from the rest of the emergency care circuits is essential.
10	Both Short-Stay Units and Home Care Units are alternatives to conventional hospitalization that are useful in managing infected patients and do not increase the risk of poor results.

costs in Western countries, which is a concern in terms of economic and health policy. Several studies describe the relationship between healthcare costs and their determinants such as the aging population, the adoption of new technologies and therapeutic improvements, among others^{38,39}. Most studies have argued that hospitalization is the main element associated with the costs related to infection treatment, because length of hospital stay, especially if prolonged, generating negative effects on the healthcare system. However, the majority agreed to take into account also the costs in the process of selecting antibiotics to treat a particular infection, but never to place the costs factor above their efficacy and benefits for the patient.

Finally, it should be pointed out that hospital EDs have demonstrated significant progress in the adoption of management measures to alleviate the problems of overcrowding, especially in relation to lack of available hospital beds. In this sense, alternatives have been developed to conventional hospital units, including short-stay units (SSUs) and home care units⁴⁰. The majority found that such units are very useful for the management of infected patients, taking into account that these patients will be rapid discharged with a specialized medical team.

CONCLUSIONS

The importance of correct knowledge and management of patients with suspected infection, sepsis or septic shock lies in

the high morbidity and mortality associated with these conditions. For this reason, a monitoring system and proper training of the entire healthcare team are required, as well as extensive knowledge on these issues to ensure adequate and effective care for patients. Finally, it is essential to educate and train all health staff, especially in the ED, because it is the initial point of contact for most patients with an infection. The experts established proposals based on survey questions and the discussion showing in the table 2.

*ADDENDUM

Others members of the Infectious Disease Group of the Spanish Emergency Medicine Society (INFURG-SEMES): Iria Gonzalez Marques (C.S. Aldea Moret), Eva Muro Fernández de Pinedo (Hospital 12 de Octubre), Luis Perez Ordoño (Hospital 12 de Octubre), Virginia Álvarez Rodríguez (Hospital de Getafe), María Angélica Rivera Núñez (Hospital La Paz), Ángel José Macías López (Hospital Ntra. Sra. de Sonsoles), Marta Taverner Aparicio (Hospital Arnau de Vilanova), Noemi Ruiz de Lobera Martínez (Complejo Hospitalario San Millán-San Pedro), Roberto Rodríguez Alonso (Hospital del Bierzo), Jorge García Criado (Hospital de Salamanca), Eva Rodríguez Gorriz (Hospital de Valencia), Marta Berned Sabater (Hospital Joan XXIII), María del Mar Portillo Cano (Hospital Virgen de la Macarena), Antonio Javier García Buigues (Hospital de la Marina Baixa), Iciar Huarte Sanz (Hospital de Donostia), Ainhoa González Querejeta (Hospital de Donostia), Julio Javier Gamazo del Río (Hospital de Galdakao), José Luis Omiste Martínez (Hospital Miguel Servet),

Juan Antonio Rivero Guerrero (Hospital Virgen de la Victoria), Marco Bustamante Araujo (Hospital de Granollers), Ferran Llopis Roca (Hospital de Bellvitge), José Manuel Pavon Monzo (Hospital de Gran Canaria), Sandra Bacca Camacho (Hospital de Mataró), Fernando Lamelo Alfonsin (Complejo Hospitalario de A Coruña), María Concepción Martí Navarro (Hospital de Son Espases), Esteban Gonzalo Llavador Ros (Complejo Hospitalario La Fe), José María Ferreras Amezcua (Hospital Royo Villanova), Esther Maldonado Pérez (Hospital Juan Ramón Jiménez).

ACKNOWLEDGMENTS

The authors wish to thank Silvia Borrás Carbajo for helping us with English text correction.

CONFLICTS OF INTEREST

None

REFERENCES

- Martínez Ortiz de Zárate M, González Del Castillo J, Julián Jiménez A, Piñera Salmerón P, Llopis Roca F, Guardiola Tey JM, et al. Epidemiology of infections treated in hospital emergency departments and changes since 12 years earlier: the INFURG study of the Spanish Society of Emergency Medicine (SEMES). *Emergencias*. 2013;25:368-78.
- Rodríguez A, Martín-Loeches I, Yébenes JC. New definition of sepsis and septic shock: What does it give us? *Med Intensiva* 2016. doi: 10.1016/j.medin.2016.03.008. PMID:27255771.
- Ferrer R, Martín-Loeches I, Phillips G, Osborn TM, Townsend S, Dellinger RP, et al. Empiric antibiotic treatment reduces mortality in severe sepsis and septic shock from the first hour: results from a guideline-based performance improvement program. *Crit Care Med*. 2014;42:1749-55.
- Almela Quilis A, Millán Soria J, Alonso Íñigo JM, García Bermejo P. Monitorización hemodinámica no invasiva o mínimamente invasiva en el paciente crítico en los servicios de urgencias y emergencias. *Emergencias*. 2015;27:386-95.
- Zilberberg MD, Shorr AF, Micek ST, Vazquez-Guillamet C, Kollef MH. Multi-drug resistance, inappropriate initial antibiotic therapy and mortality in Gram-negative severe sepsis and septic shock: a retrospective cohort study. *Crit Care*. 2014;18:596.
- González-Del Castillo J, Domínguez-Bernal C, Gutiérrez-Martín MC, Núñez-Orantos MJ, Candel FJ, Martín-Sánchez FJ. Effect of the inadequacy of antibiotic therapy in the Emergency Department on hospital stays. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2015. doi: 10.1016/j.eimc.2015.10.005.
- Martín-Sánchez FJ, González del Castillo J. Sepsis en el anciano: ¿están preparados los servicios de urgencias hospitalarios?. *Emergencias* 2015;27:73-4.
- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315:801-10.
- Borges M, Candel FJ, Ferrer R, Vidal P, Zaragoza R. Documento de Consenso Código Sepsis. Recomendaciones. IMC, 2014.
- Almela Quilis A, Millán Soria J, Sorando Serra R, Cano Cano MJ, Llorens Soriano P, Beltrán Sánchez A. Consensus-based recommendations and proposals for improving the management of elderly emergency patients with suspected infection in the Spanish autonomous community of Valencia: the PIPA project. *Emergencias*. 2015; 27:87-94.
- Fernández Alonso C, González Armengol JJ, Perdigonés J, Fuentes Ferrer ME, González Del Castillo J, Martín-Sánchez FJ. La utilidad de la escala Identification of Seniors at Risk (ISAR) para predecir los eventos adversos a corto plazo en los pacientes ancianos dados de alta desde una unidad de corta estancia. *Emergencias*. 2015;27:181-4.
- Hausfater P. Biomarkers and infection in the emergency unit. *Med Mal Infect*. 2014;44:139-45.
- Fariñas MC, Martínez-Martínez L. Fundamentos y actuación clínica Infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes: enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013; 31:402-9.
- Vella V, Moore LS, Robotham JV, Davies F, Birgand GJ, Otter JA, et al. Isolation demand from carbapenemase-producing Enterobacteriaceae screening strategies based on a West London hospital network. *J Hosp Infect*. 2016. doi: 10.1016/j.jhin.2016.04.011.
- Cercenado E, de Gopeguib ER. *Staphylococcus aureus resistente a la meticilina de origen comunitario*. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008;26:S19-24.
- Peñuelas M, Candel FJ, Lejarraaga C, López-González L, Viñuela-Prieto JM, López de Mendoza D. Activity of linezolid and tedizolid against clinical isolates of methicillin-resistant and methicillin and linezolid resistant *Staphylococcus aureus*: an in vitro comparison. *Rev Esp Quimioter*. 2016. pii: penuelas30jun2016.
- Fala L. Sivextro (Tedizolid Phosphate) Approved for the Treatment of Adults with Acute Bacterial Skin and Skin-Structure Infections. *Am Health Drug Benefits*. 2015; 8:S111-115.
- Garrison, M.W., N.M. Kawamura, and M.M. Wen. Ceftaroline fosamil: a new cephalosporin active against resistant Gram-positive organisms including MRSA. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2012; 10:1087-103.
- Boucher HW, Wilcox M, Talbot GH, Puttagunta S, Das AF, Dunne MW. Once-weekly dalbavancin versus daily conventional therapy for skin infection. *N Engl J Med*. 2014; 370:2169-79.
- Tomás Vecina S, Mozota Duarte J, Ortega Marcos M, Ruiz Navarro MG, Borillo V, San Juan Gago L, et al. Estudio sobre la reducción de eventos adversos en pacientes y problemas de bioseguridad de los profesionales derivados de la aplicación de catéteres vasculares en urgencias. *Emergencias*. 2016;28:89-96.
- Scott LJ. Ceftolozane/Tazobactam: A Review in Complicated Intra-Abdominal and Urinary Tract Infections. *Drugs*. 2016;76: 231-42.
- Quan H, Li B, Couris CM, Fushimi K, Graham P, Hider P, et al. Updating and validating the Charlson comorbidity index and score for

- risk adjustment in hospital discharge abstracts using data from 6 countries. *Am J Epidemiol*. 2011; 173:676-82.
23. Jiménez-Puente A, Del Río-Mata J, Arjona-Huertas JL, Mora-Ordóñez B, Nieto-de Haro L, Lara-Blanquer A, et al. Causas de los retornos durante las 72 horas siguientes al alta de urgencias. *Emergencias*. 2015;27:287-93.
24. Llor C, Hernández S, María Cots JM, Bjerrum L, González B, García G, et al. Los médicos que disponen de pruebas rápidas disminuyen significativamente la prescripción de antibióticos en el resfriado común. *Rev Esp Quimioter* 2013; 26:12-20.
25. Wiwatcharagoses K, Kingnakom A. Procalcitonin under Investigation as a Means of Detecting Severe Sepsis, Septic Shock and Bacteremia at Emergency Department, Rajavithi Hospital. *Med Assoc Thai*. 2016; 99:563-68.
26. Calvo-Rodríguez R, Gallardo-Valverde JM, Montero-Pérez FJ, Baena-Delgado E, Jiménez-Murillo L. Utilidad de los biomarcadores en el manejo del dolor abdominal. *Emergencias*. 2016;28:185-92.
27. Torres A, Barberán J, Falguera M, Menéndez R, Molina J, Olaechea P, et al. Multidisciplinary guidelines for the management of community-acquired pneumonia. *Med Clin (Barc)*. 2013; 140:223.e1-223.e19.
28. Murphy M, Bradley CP, Byrne S. Antibiotic prescribing in primary care, adherence to guidelines and unnecessary prescribing an Irish perspective. *BMC Fam Pract*. 2012; 13:43. doi: 10.1186/1471-2296-13-43.
29. Perel P, Roberts I, Ker K. Colloids versus crystalloids for fluid resuscitation in critically ill patients. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;(2):CD000567. doi: 10.1002/14651858.CD000567.pub6.
30. Consensus on circulatory shock and hemodynamic monitoring. Task force of the European Society of Intensive Care Medicine. Cecconi M, De Backer D, Antonelli M, Beale R, Bakker J, Hofer C, et al. *Intensive Care Med* 2014;40: 1795-815.
31. De Backer D, Biston P, Devriendt J, Madl C, Chochrad D, Aldecoa C, et al; SOAP II Investigators. Comparison of dopamine and norepinephrine in the treatment of shock. *N Engl J Med*. 2010; 362:779-89.
32. Boulain T, Runge I, Bercault N, Benzekri-Lefevre D, Wolf M, Fleury C. Dopamine therapy in septic shock: detrimental effect on survival? *J Crit Care*. 2009; 24:575-82.
33. Loubani OM, Green RS. A systematic review of extravasation and local tissue injury from administration of vasopressors through peripheral intravenous catheters and central venous catheters. *J Crit Care*. 2015; 30:653.e9-17. doi: 10.1016/j.jcrc.2015.01.014.
34. Stolz LA, Mosier JM, Gross AM, Douglas MJ, Blaivas M, Adhikari S. Can emergency physicians perform common carotid Doppler flow measurements to assess volume responsiveness? *West J Emerg Med*. 2015; 16:255-9.
35. Afilal M, Yalaoui F, Dugardin F, Amodeo L, Laplanche D, Blua P. Forecasting the Emergency Department Patients Flow. *J Med Syst*. 2016; 40:175. doi: 10.1007/s10916-016-0527-0.
36. Holder AL, Gupta N, Lulaj E, Furguele M, Hidalgo I, Jones MP, et al. Predictors of early progression to severe sepsis or shock among emergency department patients with nonsevere sepsis. *Int J Emerg Med*. 2016; 9:10. doi: 10.1186/s12245-016-0106-7.
37. Ortega M, Mensa J. Precauciones de aislamiento en el área de urgencias Hospital Clínic, Barcelona, España. *Emergencias* 2009; 21:36-41.
38. Urbanos-Garrido RM, López-Valcárcel BG. Sostenibilidad del sistema sanitario y contribución de los servicios de urgencias. *Emergencias*. 2015; 27:197-202.
39. Tudela P, Módol JM. La saturación en los servicios de urgencias hospitalarios. *Emergencias*. 2015;27:113-20.
40. Monclús Cols E, Capdevila Reniu A, Roedberg Ramos D, Pujol Fontrodona G, Ortega Romero M. Manejo de la sepsis grave y el shock séptico en un servicio de urgencias de un hospital urbano de tercer nivel. Oportunidades de mejora. *Emergencias*. 2016; 28:229-34.

Original breve

Alberto Tenorio-Abreu¹
José Antonio Gómez-
Fernández¹
Luis Arroyo-Pedrero²
Esmeralda Rodríguez-
Molins³

Evaluación de un nuevo dispositivo para la recogida de la muestra, transporte y detección del estreptococo del grupo B en mujeres embarazadas

¹UGC Microbiología Complejo Hospitalario Universitario de Huelva.

²Unidad de Microbiología Hospital Rafael Méndez, Lorca.

³UGC Farmacia Hospitalaria Complejo Hospitalario Universitario de Huelva.

RESUMEN

Se ha diseñado un dispositivo de nueva invención que combina recogida, transporte, cultivo y detección del estreptococo del grupo B (EGB) sin necesidad de procesamiento ni manipulaciones intermedias, de manera que simplifique todo el proceso. El objetivo ha sido evaluar el rendimiento y utilidad de dicho dispositivo en la detección del EGB en mujeres embarazadas. Se comparó el nuevo prototipo en paralelo con la siembra directa de las muestras vagino-rectales en el medio sólido Granada en placas tradicionales. Mediante la siembra directa se detectaron 124 muestras positivas de 600 (20,6%). Mediante el nuevo dispositivo se detectaron las mismas que en siembra directa y además 10 adicionales 134/600 (22,3%). La utilización del nuevo dispositivo podría ser considerada en la práctica clínica asistencial de rutina para el cribado del EGB mediante previo acuerdo de comercialización.

Palabras clave: Estreptococo del Grupo B; mujer embarazada; cribado.

Evaluation of a new device for sample collection, transport and detection of Group B *Streptococcus* in pregnant women

ABSTRACT

We have designed a new device that combines sample collection, transportation, culture and detection of Group B *Streptococcus* (GBS), requiring no additional processing in the clinical laboratory. The objective was to evaluate the performance of this device for GBS detection in pregnant women.

Correspondencia:
Dr. Alberto Tenorio Abreu.
Hospital Juan Ramón Jiménez, Ronda Exterior Norte s/n 21005 Huelva
Tfno: 657929483
E-mail: albeteno@hotmail.com

The new prototype was compared to direct plating of vaginal-rectal swabs onto Granada solid media plates. Direct plating method detected 124 positive samples out of 600 (20.6%) whereas the new device detected 10 additional positive samples (134/600, 22.3%). This new device (patent-protected) could be considered for routine GBS screening.

Keywords: Group B *Streptococcus*; pregnant woman; screening.

INTRODUCCIÓN

El estreptococo del grupo B (EGB) está considerado como una de las bacterias principales causantes de sepsis neonatal¹⁻³. Aunque la incidencia es relativamente baja, su alta mortalidad hace que se considere necesario consensuar estrategias de prevención para evitar graves o fatales episodios. Actualmente, para la profilaxis de la sepsis neonatal causada por el EGB se recomienda realizar un cribado en mujeres embarazadas entre la semana 35-37 de gestación para actuar con efectividad en la prevención intraparto, según las recomendaciones internacionales de los *Centers for Diseases Control and Prevention* (CDC)⁴. La muestra óptima sobre las cuales se debe realizar el cribado son frotis vagino-rectales obtenidos con torunda, primero por introducción vaginal, seguido de introducción anal con ligera rotación para mejorar el rendimiento. La torunda debe inocularse en medio de transporte Stuart-Amies hasta su procesamiento. La detección de laboratorio del EGB se puede realizar mediante método de cultivo o mediante técnicas moleculares. Los CDC recomiendan para la recuperación del EGB de las muestras, la utilización de caldos de enriquecimiento como el Todd Hewitt o el Lim, con o sin antibióticos que supriman parte de la flora acompañante, para posteriormente subcultivarlo en placas de agar sangre para detectar la beta hemólisis. También se utilizan con buen rendimiento medios cromógenos y medios con nutrientes que favorecen la producción de pigmentos de color naranja por los EGB como es el medio Granada. En el último documento consenso español⁵, también se contempla la posibilidad de inocular de forma directa la to-

runda en el medio sólido Granada sin necesidad de utilizar caldo de enriquecimiento previo. En cualquier caso, se necesita un dispositivo de toma y transporte de muestra y posteriormente un procesamiento en el laboratorio de microbiología que requieren de manipulación para la inoculación en caldo, en placa directa o ambas combinadas en secuencia temporal tras incubaciones anaerobias entre 24-48 horas. En el presente estudio, se ha diseñado un dispositivo prototipo casero de nueva invención que combina inoculación del medio, transporte, cultivo y detección del EGB sin necesidad de procesamiento ni manipulaciones intermedias, de forma que simplifique el proceso y elimine errores de etiquetado de muestra y manipulación. El objetivo ha sido evaluar el rendimiento y utilidad de dicho prototipo en la detección del EGB en mujeres embarazadas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se diseñó y patentó por los autores del presente estudio, un dispositivo casero a modo de prototipo consistente en un tubo cilíndrico de plástico con un lateral cubierto en lengüeta por medio sólido Granada (Becton Dickinson, USA) y conteniendo en el fondo 800 µl de caldo Todd Hewitt con antibióticos (Becton Dickinson, USA), respetando las condiciones de almacenaje y tiempo de caducidad del fabricante de ambos componentes (figura 1). El tapón del dispositivo disponía de rosca debidamente aflojada para permitir la entrada de la atmósfera anaerobia durante la incubación. Se diseñó para que en un solo dispositivo se pudiese inocular la muestra, transportar, enriquecer y detectar el EGB sin necesidad de manipulación y pasos intermedios. Se realizó un estudio piloto en el que se comparó la siembra directa de las muestras vagino-rectales en el medio sólido Granada en placas tradicionales (Becton Dickinson, USA), con la posterior inoculación del nuevo tubo con las mismas torundas usadas del paciente. El nuevo dispositivo fue sembrado del siguiente modo: primero se sembró la lengüeta y posteriormente se sumergió la torunda en el medio de enriquecimiento. Las placas y tubos se incubaron en vertical a 37°C durante 48 horas en atmósfera anaerobia (con el tapón ligeramente desenroscado). A las 24 horas se realizó una primera lectura y el nuevo dispositivo se inclinó lo suficiente como para bañar la superficie del agar de la lengüeta con el medio líquido enriquecido. El crecimiento de colonias de color naranja (de cualquier tonalidad: intensa, media o tenue) se consideró positivo según las instrucciones del fabricante (Becton Dickinson, USA), tanto en las placas como en el nuevo dispositivo. El límite de detección del nuevo dispositivo se determinó por inoculación en triplicado de diluciones seriadas de concentración conocida según la escala de MacFarland. Se realizaron inoculaciones seriadas por triplicado, de 1000, 100, 10 y 1 Unidades Formadoras de Colonia (UFC). La especificidad de las muestras consideradas positivas se determinó mediante la identificación de las colonias naranjas con el sistema de identificación API Rapid Strep (Biomérieux). Así mismo, también se probó con siembras de cepas control de la colección ATCC: *Streptococcus agalactiae* ATCC 12386, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylo-*

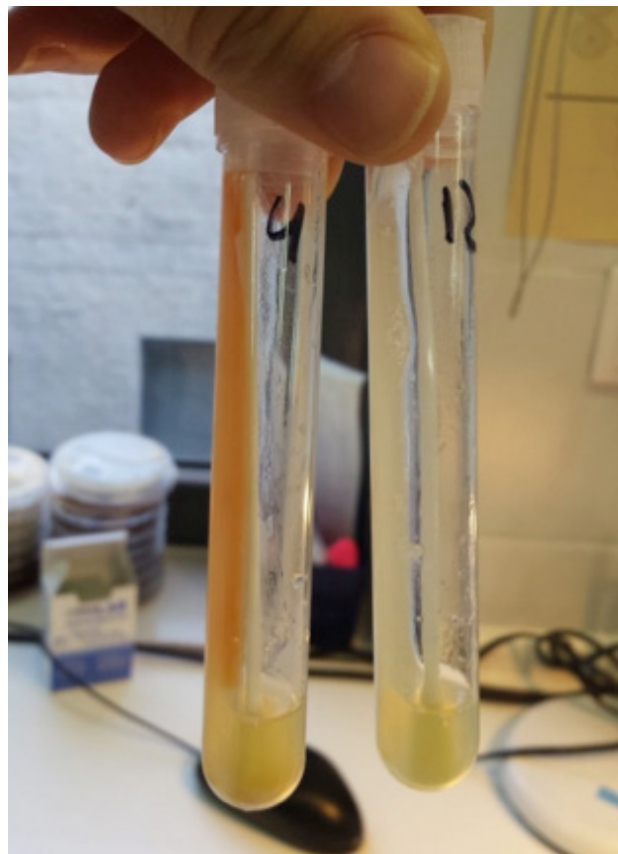


Figura 1 Dispositivo para transporte, cultivo y detección del EGB. Tubo de la izquierda: muestra positiva. Tubo de la derecha: muestra negativa.

coccus aureus ATCC 25923, *Bacteroides fragilis* ATCC 25285, *Proteus mirabilis* ATCC 43071 y *Escherichia coli* ATCC 25922. Todas las cepas control se probaron en dispositivos a los tres meses de su fabricación casera para verificar la estabilidad del producto.

RESULTADOS

El límite de detección del nuevo dispositivo fue de 1 UFC de EGB obteniéndose resultados positivos en todas las inoculaciones seriadas por triplicado. Para el estudio piloto se incluyeron un total de 600 muestras vagino-rectales. Mediante la siembra directa se detectaron 124 muestras positivas de 600 (20,6%). Mediante el nuevo dispositivo se detectaron, además de las mismas que en siembra directa, 10 adicionales con un resultados global de 134 muestras positivas de 600 (22,3%). Todas las muestras consideradas positivas de cualquier intensidad (fuerte, media o tenue) fueron confirmadas mediante el sistema de identificación API Rapid Strep (Biomérieux). Los resultados con las cepas control fueron los siguientes: *Streptococcus agalactiae* ATCC 12386: crecimiento de colonias de

color naranja; *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615: crecimiento de colonias pequeñas de color ligeramente grisáceo; *Enterococcus faecalis* ATCC 29212: crecimiento de colonias de tamaño mediano de color gris; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923: sin crecimiento; *Bacteroides fragilis* ATCC 25285: sin crecimiento; *Proteus mirabilis* ATCC 43071: sin crecimiento; *Escherichia coli* ATCC 25922: sin crecimiento. Los resultados de las cepas control testados en dispositivos a los tres meses de su fabricación fueron idénticos a los de reciente fabricación.

DISCUSIÓN

Tras revisión de la bibliografía relacionada, no se encontró ningún estudio que utilizara dispositivo similar ni para el transporte y detección del EGB ni para otros microorganismos, por lo que se decidió proteger la invención mediante patente con propiedad titular del Servicio Andaluz de Salud cuyo número de solicitud es P201530810. Si existe un medio Granada bifásico comercial con una utilidad similar al presente estudio pero con diseño y materiales diferentes, consistente en un tubo con un caldo y un fondo de medio sólido en polvo que pigmenta con la presencia de EGB tras 48 horas de incubación, pero con rendimientos que no han demostrado ser suficientemente aceptables^{6,7}. Aunque la siembra directa en medio granada aporta buenos resultados⁸ y está aceptada como método de cribado⁵, existen numerosos estudios que demuestran un mejor rendimiento para la detección del EGB con la utilización de un medio de enriquecimiento seguido de pase a medio sólido⁹⁻¹¹, bien agar sangre para observar la beta hemólisis o bien un medio cromógeno o medio granada para observar la pigmentación producida por la bacteria. Por eso se decidió unir ambos componentes, enriquecimiento y cultivo en medio granada en un mismo dispositivo, de manera que permitiera simplificar el proceso, evitando errores inherentes a la manipulación, y adecuarse a los mejores rendimientos reportados en la bibliografía para la recuperación del EGB en mujeres embarazadas y así evitar o prevenir en lo máximo posible la transmisión vertical y la aparición de sepsis neonatal por dicha bacteria patógena. Por tanto, el dispositivo realiza las funciones de transporte de muestra, cultivo y detección en un solo paso, evitando procesos y manipulaciones intermedias, simplificando de esta forma la detección de EGB y posibles errores en procesamiento, seguimiento y recepción de la muestra.

La sensibilidad del dispositivo determinada por el límite de detección por inóculo se ha mostrado con un nivel de recuperación excelente, detectándose inóculos de solo 1 UFC de EGB en las series realizadas en triplicado. Por otra parte, la especificidad de la detección mediante la pigmentación de cualquier intensidad del color naranja, también se mostró excelente, con un 100% de especificidad según la confirmación con la identificación mediante el sistema API Rapid Strep y con las cepas control de la colección ATCC probadas.

El estudio piloto realizado en comparación a la siembra directa, muestra resultados prometedores a favor del dispositivo prototipo de nueva invención, detectándose todos los positivos diagnosticados por siembra directa, además de detectar casi un 2% más de muestras positivas. Los resultados

preliminares, no solo mantiene, sino que mejora el rendimiento diagnóstico frente a la siembra directa. Este hecho, es especialmente relevante cuando en este ensayo se ha inoculado el nuevo dispositivo con las torundas previamente sembradas en placas de medio sólido Granada, con la consiguiente disminución del inóculo sembrado en el nuevo dispositivo. Por tanto, esta nueva combinación de medio sólido y de enriquecimiento en un solo dispositivo podría contribuir a disminuir la tasa de incidencia de sepsis neonatal causada por el EGB. De cualquier modo, sería necesario confirmar dichos resultados con estudios más extensos que permitan validar la técnica en centros externos, imprescindible para su posible comercialización.

En conclusión, el nuevo dispositivo, además de recuperar más muestras positivas que la siembra directa, podría ahorrar costes en medios de transporte y manipulaciones intermedias, haciendo más sencillo todo el proceso desde la toma de muestra hasta la lectura e interpretación. Su utilización en un futuro próximo podría ser considerada en la práctica clínica asistencial de rutina para el cribado del EGB mediante previo acuerdo de comercialización y validación externa.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ballard MS, Schönheyder HC, Knudsen JD, Lyytikäinen O, Dryden M et al. The changing epidemiology of group B *Streptococcus* bloodstream infection: A multi-national population-based assessment. *Infect Dis (Lond)*. 2016;12:1-6.
2. Musilova I, Pliskova L, Kutova R, Jacobsson B, Paterova P, Kacero-vsky M. *Streptococcus agalactiae* in pregnancies complicated by preterm prelabor rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2016;29(7):1036-40.
3. Shah BA, Padbury JF. Neonatal sepsis: an old problem with new insights. *Virulence*. 2014;5(1):170-8.
4. Verani JR, McGee L, Schrag SJ; Division of Bacterial Diseases, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of perinatal group B streptococcal disease--revised guidelines from CDC, 2010. *MMWR Recomm Rep* 2010;59(RR-10):1-36.
5. Alós Cortés JI, Andreu Domingo A, Arribas Mir L, Cabero Roura L, Cueto Lopez M, López Sastre J, et al. Prevention of perinatal group B Streptococcal disease. Updated Spanish recommendations 2012. *Rev Esp Quimioter* 2012; 25(1):79-88.
6. Tenorio-Abreu A, Gil-Tomás JJ. Diagnostic yield of instant liquid biphasic Granada medium for group B *Streptococcus* detection in pregnant women. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30(6):354-5.
7. Martinho F, Prieto E, Pinto D, Castro RM, Morais AM, Salgado L, et al. Evaluation of liquid biphasic Granada medium and instant liquid biphasic Granada medium for group B *Streptococcus* detection. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2008;26(2):69-71.
8. Tenorio-Abreu A, Arroyo LA, Gómez-Alonso B. Enhanced recovery of group B *Streptococcus* in pregnant women screening. *Rev Esp Quimioter*. 2015;28(6):328-9.
9. Romanik M, Nowosielski K, Martirosian G, Poręba R, Sioma-Markowska U. Identification of pregnant women at risk of

Streptococcus group B colonisation. Neuro Endocrinol Lett 2011;32(3):308-12.

10. El Aila NA, Tency I, Claeys G, Saerens B, Cools P, Verstraelen H, et al. Comparison of different sampling techniques and of different culture methods for detection of group B *Streptococcus* carriage in pregnant women. BMC Infect Dis 2010;10:285.
11. Pruss A, Galant K, Giedrys-Kalembe S. Analysis of screening tests for *Streptococcus agalactiae* in pregnant women from the West Pomeranian region. Ginekol Pol. 2015;86(8):616-21.

Brief report

José Antonio Carrillo-Ávila¹
Antonio Sorlózano-Puerto²
Mercedes Pérez-Ruiz³
José Gutiérrez-Fernández^{2,3}

Multilocus Sequence Typing analysis of human *Campylobacter coli* in Granada (Spain)

¹Biobanco del Sistema Sanitario Público Andaluz (BBSSPA). Granada.

²Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina. Universidad de Granada.

³Laboratorio de Microbiología Complejo Hospitalario Universitario de Granada (Hospital Virgen de las Nieves).

ABSTRACT

Introduction. Different subtypes of *Campylobacter* spp. have been associated with diarrhoea and a Multilocus Sequence Typing (MLST) method has been performed for subtyping. In the present work, MLST was used to analyse the genetic diversity of eight strains of *Campylobacter coli*.

Material and methods. Nineteen genetic markers were amplified for MLST analysis: *AnsB*, *DmsA*, *ggt*, *Cj1585c*, *CJ81176-1367/1371*, *Tlp7*, *cj1321-cj1326*, *fucP*, *cj0178*, *cj0755/cfrA*, *ceuE*, *pldA*, *cstII*, *cstIII*. After comparing the obtained sequences with the *Campylobacter* MLST database, the allele numbers, sequence types (STs) and clonal complexes (CCs) were assigned.

Results. The 8 *C. coli* isolates yielded 4 different STs belonging to 2 CCs. Seven isolates belong to ST-828 clonal complex and only one isolate belong to ST-21. Two samples came from the same patient, but were isolated in two different periods of time.

Conclusions. MLST can be useful for taxonomic characterization of *C. coli* isolates.

Key words: *Campylobacter coli*; typing methods; Sequence Typing; MLST; diarrhoea

Tipificación mediante secuencias multilocus de cepas humanas de *Campylobacter coli* en Granada (España)

RESUMEN

Introducción. Diferentes subtipos de *Campylobacter* spp. se han asociado con diarrea y la técnica de tipado mediante análisis de secuencias de múltiples locus (MLST) se ha empleado para la tipificación genética. En el presente trabajo, la técnica MLST se utilizó para analizar la diversidad genética de ocho cepas de *Campylobacter coli*.

Material y métodos. 19 marcadores genéticos fueron amplificados mediante el análisis MLST: *AnsB*, *DmsA*, *ggt*, *Cj1585c*, *CJ81176-1367/1371*, *Tlp7*, *cj1321-cj1326*, *fucP*, *cj0178*, *cj0755/cfrA*, *ceuE*, *pldA*, *cstII*, *cstIII*. Después de comparar las secuencias obtenidas con la base de datos MLST para *Campylobacter*, se asignaron el número de los alelos, los secuenciotipos (STs) y los complejos clonales (CCs).

Resultados. Las 8 cepas de *C. coli* aisladas mostraron 4 STs diferentes pertenecientes a 2 CCs. Siete aislamientos pertenecieron al complejo clonal ST-828 y sólo un aislado perteneció al ST-21. Dos aislados pertenecieron al mismo paciente, pero fueron obtenidos en diferentes periodos de tiempo.

Conclusiones. La técnica MLST puede ser útil para la caracterización taxonómica de aislados de *C. coli*.

Palabras clave: *Campylobacter coli*; métodos de tipificación; análisis de secuencias; MLST; diarrea.

INTRODUCTION

The Gram-negative bacterium *Campylobacter* spp. is a zoonotic pathogen which may be part of the gut microbiota of a range of wild and domesticated mammal and bird species¹. This bacterium is able to colonize the intestines of chicken, turkey and waterfowl and to be transmitted to human by faecal-oral

Correspondencia:
José Gutiérrez-Fernández
Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina. Avenida de la Investigación 11.
E-18016 Granada, Spain.
E-mail: josegf@go.ugr.es

route. Based on its frequency, *Campylobacter jejuni* is the most important causing diarrhoea in humans whereas *Campylobacter coli* is the most resistant to antibiotics, although is much less frequent causing disease in humans². *Campylobacter* infection in humans tends to be sporadic, and rarely manifests as outbreaks except when a single point source results in direct transmission to many people, for example, via contaminated drinking water³. Different subtypes of *Campylobacter* spp. have been associated with different manifestations of disease such as diarrhoea, and several subtyping methods have been established during the past years⁴. In the last years sequence-based methods, such as Multilocus Sequence Typing (MLST)⁵ and the sequencing of the short variable region of the *flagellin A* gene are widely used⁴. MLST has shown some advantages over other molecular methods because includes transferability, standardized nomenclature, free access to the database and direct comparability of results between different studies⁶. In the present work, MLST was performed to analyse the genetic diversity of eight strains of *C. coli* isolated in Granada (Spain) in a short period of time.

MATERIAL AND METHODS

Clinical samples. Eight faeces samples isolated in Granada (Spain) from seven patients with ages between 5 months and 38 years old were analysed for the presence of *Campylobacter* spp. All samples were cultured at the Microbiology Department of Virgen de las Nieves Hospital Complex, Granada, between August 19th, 2013 and October 21th, 2013. Samples were gathered in sterile containers with no transport media and delivered to our laboratory under refrigeration (4 °C), with a maximum delay of 2 hours before their processing. They were processed for coproculture immediately on their reception by culture in CampyBAP[®] medium with 10% blood (Becton Dickinson, BD, Franklin Lakes, NJ, USA) using a 30-µg cefoxitin disk (BD BBL[®]) and incubated for 48h at 42°C in microaerophilic atmosphere (Campygen[®], Oxoid, Basingstoke, UK). Suspicious colonies were identified by means of oxidase cytochrome tests (Difco, Detroit, MI, USA), Gram staining, and mass spectrometry using the Biotyper[®] system (Bruker Daltonics, Coventry, UK). The samples were also seeded in the usual culture media for enteropathogens for 48 h (XLD[®] agar [BD] at 37°C for recovery of *Salmonella*, *Shigella*, and *Plesiomonas*, and CIN[®] agar [BD] at 30°C for recovery of *Yersinia* and *Aeromonas*) or 24h (Selenito[®] broth [Difco] for recovery of *Salmonella*, followed by a subculture in Hektoen[®] agar [BD] at 37 °C). Colonies suspected of being enteropathogenic were identified by means of the Biotyper[®] system (Bruker Daltonics) and the usual biochemical tests (MicroScan; Siemens Healthcare, Rockville, MD, USA). Colonies identified as *Salmonella* were subjected to the agglutination test to determine the serogroup (Difco)⁷.

DNA extraction and quantification. DNA was extracted from chocolate agar plates cultures. One ml. of PBS pH 7.5 was added to each plate. *Campylobacter* were resuspended with an inoculating loop. Resuspended bacteria in PBS were recovered and added to a 1.5 ml Eppendorf tube. The Eppendorf tubes were centrifuged for 10 min at 5000 g. Pellet were resuspended in 180 µl Buffer ATL (Qiagen, CA, USA) and DNA was extracted using QiAamp DNA Mini kit (Qiagen, CA, USA) following manufacturer instructions. DNA concentration and purity (A_{260}/A_{280}) were measured using a Nanodrop (Thermo Scientific, USA).

MLST. Nineteen genetic markers were amplified for MLST analysis following Zautner et al. recommendation⁸: *AnsB*, *Dm-sA*, *ggt* (g-glutamyl transpeptidase), *Cj1585c* (oxidoreductase), *CJJ81176-1367/1371* (serin protease), *Tlp7*, *cj1321-cj1326*, *fucP*, *cj0178*, *cj0755/cfrA*, *ceuE*, *pldA*, *cstII*, *cstIII*. PCR products were purified using StrataPrep PCR Purification Kit (cat n° 400771, Agilent Technologies, CA, USA) and sequencing was carried out in an ABI PRISM 3100 genetic Analyzer (Applied Biosystem, CA, USA). After comparing the obtained sequences with the *Campylobacter* MLST database (<http://pubmlst.org/campylobacter>), the allele numbers, sequence types (STs) and clonal complexes (CCs) were assigned⁹.

Table 1

Results for the eight samples analysed. Clonal complex and sequence type for the eight strains analysed are indicated. The samples with *, 56758 and 64611, were isolated from the same patient 23 days apart. Age of patients is indicated in the table.

SAMPLE CODE	PATIENT AGE	CLONAL COMPLEX	SEQUENCE TYPE
56602	10 months	ST-21	1526
56628	10 years	ST-828	825
56758*	38 years	ST-828	825
57554	6 years	ST-828	825
64611*	38 years	ST-828	825
66537	2 years	ST-828	825
64642	5 months	ST-828	5755
70069	7 years	ST-828	464

RESULTS

The 8 *C. coli* isolates yielded 4 different STs belonging to 2 CCs. Seven isolates belonged to ST-828 clonal complex and only one isolate belonged to ST-21. Two samples came from the same patient, but were isolated 23 days apart (table 1).

DISCUSSION

Currently, phylogenetic methods like MLST are considered to be the standard typing methods for *Campylobacter* spp. isolates⁵. Many different host-adapted clonal complexes never or

only rarely cause disease in humans whereas others may be common human pathogens with different foodborne sources. In the present study one of the isolates belong to ST-21 and seven isolates to ST-828. This is consistent with previous reports by other authors as the ST-21, ST-45 and ST-828 are the most frequent CCs found in humans¹. These CCs, together with ST-353¹⁰, and ST-443, ST-574¹¹ are the most frequently isolated in poultry and cattle. A seasonal and geographical influence distribution for different STs have been described. In this sense, ST-828 is the most common CC found in sheep in Scotland although, it also has been found in swine production system¹². In USA, this ST-828 CC has been extensively found in chickens¹³ and pigs¹⁴. A different study has shown that ST-21, ST-45 and ST828 CCs were the most prevalent CCs in ducks from South Korea¹⁵. The different CCs described above are commonly isolated in multiple animal species and shown extraordinarily rapid rates of zoonotic transfer leading to little or no phylogenetic association with specific host species¹. Clonal complex shown differences in stress responses; this is probable the main reason for the presence of certain *Campylobacter* spp. subgroups in defined hosts, environments, and the spread over different transmission routes⁴.

Risk factors for *Campylobacter* infection, include eating or preparing raw or undercooked meat, especially chicken meat, drinking unpasteurized milk or untreated water, contact with domestic animals, foreign travel and swimming in natural bodies of water¹⁶. Molecular epidemiological investigations are critical to understand the sources and routes of transmission. More than 95% of human infections are attributable to animals farmed for meat and poultry. In a study investigating 291 broiler farms in Andalusia, the prevalence of *Campylobacter* spp. in individual animals was 38.1% and the flock prevalence was 62.9%¹⁷. One of the limitations of our study is that we do not have information regarding the source of transmission of the isolates to the patients of our study. One possibility is that they could have been infected with *C. coli* isolates derived from cattle or poultry as these reservoirs are the most frequent in the geographical area of the patients¹⁷.

In this study, seven from eight isolates belong to the same clonal complex (ST-828), and five from those seven isolates belong to the same Sequence Type (825). This fact together with the short period of time when the samples were collected in Granada, allow us to think of a high probability of a common origin of this outbreak, at least for these 5 samples. In conclusion, this method based on nineteen genes MLST analysis, can be useful for taxonomic characterization of *C. coli* isolates.

REFERENCES

1. Dearlove BL, Cody AJ, Pascoe B, Meric G, Wilson DJ, Shepard SK. Rapid host switching in generalist *Campylobacter* strains erodes the signal for tracing human infections. *ISME J*. 2016;10:721-9.
2. Sanchez-Capilla AD, Sorlozano-Puerto A, Rodriguez-Granger J, Martinez-Brocal A, Navarro-Mari JM, Gutierrez-Fernandez J. Infectious etiology of diarrheas studied in a third-level hospital during a five-year period. *Rev Esp Enferm Dig* 2015;107:89-97.
3. Ragimbeau C, Schneider F, Losch S, Even J, Mossong J. Multilocus sequence typing, pulsed-field gel electrophoresis, and fla short variable region typing of clonal complexes of *Campylobacter jejuni* strains of human, bovine, and poultry origins in Luxembourg. *Appl Environ Microbiol* 2008;74:7715-22.
4. Zautner AE, Masanta WO, Tareen AM, Weig M, Lugert R, Gross U, et al. Discrimination of multilocus sequence typing-based *Campylobacter jejuni* subgroups by MALDI-TOF mass spectrometry. *BMC Microbiol* 2013;13:247.
5. Dingle KE, Colles FM, Wareing DR, Ure R, Fox AJ, Bolton FE, et al. Multilocus sequence typing system for *Campylobacter jejuni*. *J Clin Microbiol* 2001;39:14-23.
6. Karenlampi R, Rautelin H, Schonberg-Norio D, Paulin L, Hanninen ML. Longitudinal study of Finnish *Campylobacter jejuni* and *C. coli* isolates from humans, using multilocus sequence typing, including comparison with epidemiological data and isolates from poultry and cattle. *Appl Environ Microbiol* 2007;73:148-55.
7. Gomez-Camarasa C, Gutierrez-Fernandez J, Rodriguez-Granger JM, Sampedro-Martinez A, Sorlozano-Puerto A, Navarro-Mari JM. Evaluation of the rapid RIDAQUICK *Campylobacter*(R) test in a general hospital. *Diag Microbiol Infect Disease*. 2014;78(2):101-4.
8. Zautner AE, Ohk C, Tareen AM, Lugert R, Gross U. Epidemiological association of *Campylobacter jejuni* groups with pathogenicity-associated genetic markers. *BMC Microbiol*. 2012;12:171.
9. Jolley KA, Chan MS, Maiden MC. mlstDBNet - distributed multi-locus sequence typing (MLST) databases. *BMC Bioinformatics*. 2004;5:86.
10. Vidal AB, Colles FM, Rodgers JD, McCarthy ND, Davies RH, Maiden MC, et al. Genetic diversity of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates from conventional broiler flocks and the impact of sampling strategy and laboratory method. *Appl Environ Microbiol* 2016; 82(8):2347-55.
11. Jorgensen F, Ellis-Iversen J, Rushton S, Bull SA, Harris SA, Bryan SJ, et al. Influence of season and geography on *Campylobacter jejuni* and *C. coli* subtypes in housed broiler flocks reared in Great Britain. *Appl Environ Microbiol* 2011;77:3741-8.
12. Rotariu O, Dallas JF, Ogden ID, MacRae M, Sheppard SK, Maiden MC, et al. Spatiotemporal homogeneity of *Campylobacter* subtypes from cattle and sheep across northeastern and southwestern Scotland. *Appl Environ Microbiol* 2009;75:6275-81.
13. Miller RS, Miller WG, Behringer M, Hariharan H, Matthew V, Oyarzabal OA. DNA identification and characterization of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from caecal samples of chickens in Grenada. *J Applied Microbiol* 2010;108:1041-9.
14. Quintana-Hayashi MP, Thakur S. Phylogenetic analysis reveals common antimicrobial resistant *Campylobacter coli* population in antimicrobial-free (ABF) and commercial swine systems. *PLoS one* 2012;7:e44662.

15. Wei B, Cha SY, Kang M, Roh JH, Seo HS, Yoon RH, et al. Antimicrobial susceptibility profiles and molecular typing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates from ducks in South Korea. *Appl Environ Microbiol.* 2014;80:7604-10.
16. Wingstrand A, Neimann J, Engberg J, Nielsen EM, Gerner-Smidt P, Wegener HC, et al. Fresh chicken as main risk factor for campylobacteriosis, Denmark. *Emerging Infect Dis.* 2006;12:280-5.
17. Torralbo A, Borge C, Allepuz A, Garcia-Bocanegra I, Sheppard SK, Perea A, et al. Prevalence and risk factors of *Campylobacter* infection in broiler flocks from southern Spain. *Preventive Vet Med.* 2014;114:106-13.

Carta al Director

Marina Peñuelas
Francisco Javier Candel
Avelina Suárez Moya

Controles interlaboratorio: algo más que un examen de conocimientos

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

Sr. Editor: la concentración mínima inhibitoria o CMI_{90} se define como la concentración mínima de antimicrobiano necesaria para inhibir el crecimiento del 90% de una población bacteriana en un medio de cultivo después de su incubación. Se establece en el laboratorio aplicando concentraciones conocidas crecientes de un determinado antimicrobiano a una dilución también conocida de población bacteriana ajustada a un coeficiente de turbidez, que denominamos índice de McFarland, y que se correlaciona con la cantidad de bacteria en ese medio de cultivo. Este coeficiente de turbidez se mide con aparatos denominados nefelómetros en un proceso ágil y rutinario en todos los laboratorios de Microbiología. Para poder extrapolar y reproducir de manera global los resultados sobre sensibilidad o resistencia a los antibióticos de los microorganismos, así como las circunstancias en que esto sucede, se necesitan estándares internacionales tanto de la especie bacteriana (cepas ATCC) como en la concentración en el medio (índice de McFarland). A partir de estos estándares, se marcan internacionalmente los puntos de corte de sensibilidad o resistencia, que se correlacionarán con el éxito o fracaso al emplear determinado antimicrobiano e incluso la dosis a la que éste se podría emplear. Estos puntos de corte se actualizan continuamente en función de parámetros farmacológicos, epidemiológicos y de respuesta clínica en comités internacionales, como el Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) o el European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), que todos los laboratorios siguen, garantizando la calidad y reproducibilidad de los resultados microbiológicos y clínicos.

La determinación de la CMI a antimicrobianos por medio de la difusión en gradiente, E-test, es una técnica

extensamente empleada en los laboratorios de Microbiología Clínica debido a su buena correlación con la microdilución en caldo¹ (técnica de referencia recomendada por los comités del CLSI o el EUCAST), siendo además, más fácil y rápida de realizar que ésta. En nuestro laboratorio empleamos el E-test tanto para verificar una CMI obtenida por un sistema automatizado como para testar antibióticos que no aparecen en los paneles de dichos sistemas. Al tratarse de una técnica manual es susceptible de incurrir en errores aleatorios, difíciles de evitar. Sin embargo, resulta de capital interés intentar detectar y evitar el error sistemático en su realización, pues podría repercutir en el manejo clínico y el pronóstico del paciente frente a microorganismos multirresistentes (aquellos con las CMI más elevadas a varios fármacos), al limitar alternativas terapéuticas. Esto, por ejemplo, resulta decisivo en el contexto de las infecciones causadas por enterobacterias portadoras de carbapenemasas (EPC), en las que es importante que la realización de la técnica de E-test sea fiable y reproducible.

La implantación de los programas de calidad en los laboratorios de bacteriología cuenta con trabas como la heterogeneidad y variabilidad de las muestras empleadas, el habitual empleo de técnicas manuales difíciles de controlar y el hecho de trabajar con organismos vivos, por ello susceptibles a cambios durante su manipulación. Sin embargo constituyen una herramienta necesaria cuyo objetivo es el de estandarizar y homogeneizar sistemas de trabajo para hacerlos reproducibles y seguros.

En octubre de 2015 participamos en un "Estudio multicéntrico para determinar la capacidad de los laboratorios españoles de identificar fenotipos de resistencia a los beta-lactámicos en enterobacterias" organizado por la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Participando en el mismo, tuvimos la oportunidad de descubrir un error sistemático en la realización de E-test que sobrevaloraba la CMI a los carbapenemes. Los resultados hacían difícil o imposible el empleo de esta familia de antimicrobianos frente a las EPC.

Correspondencia:
Marina Peñuelas
Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Clínico San Carlos. Universidad Complutense
Avda Dr Martín Lagos s/n
28040. Madrid. Spain.
Teléfono: +34 91 330 3486
E-mail: marinapenuelas03@gmail.com

Tabla 1 CMI a meropenem determinada por E-test frente a cepas de EPC remitidas del programa SEIMC y número de diluciones de diferencia respecto a la referencia.

CEPA	CMI Referencia (SEIMC)	Resultados obtenidos en nuestro laboratorio	Nefelómetro control		Nefelómetro HC	
			CMI	Nº diluciones	CMI	Nº diluciones
<i>E. coli</i>	0,5	>32	8	4 ^a	0,75	1
<i>E. cloacae</i>	4	>32	1,5	-1	0,38	-3 ^a
<i>K. pneumoniae</i>	8	>32	3	-1	3	-1
<i>K. pneumoniae</i>	>32	>32	>32	0	>32	0
<i>K. pneumoniae</i>	0,125	0,25	0,047	-1	0,094	0
<i>K. oxytoca</i>	1	1	0,5	-1	1	0
<i>K. pneumoniae</i>	2	>32	1,5	0	1,5	0
<i>R. ornithinolytica</i>	0,5	4	0,75	1	0,38	0
<i>E. coli</i>	0,25	16	0,75	2	0,25	0
<i>E. aerogenes</i>	0,125	3	0,125	0	0,125	0

Datos del estudio intercomparativo y de las comprobaciones realizadas con distintos nefelómetros siguiendo las normas de realización de E-test publicadas. ^aLos dos casos en los que se obtuvieron valores de CMI con una diferencia superior a dos diluciones respecto a la referencia correspondían a pruebas realizadas sobre cepas distintas con nefelómetros diferentes siendo en un caso un error por exceso y en otro por defecto, por lo que se consideraron errores aleatorios.

En esta situación se llevó a cabo un análisis de las posibles causas que comenzó por verificar la realización de todas las calibraciones de nefelómetros programadas desde antes de la realización de la prueba. A continuación se revisó la manera de realizar los E-test por parte del personal técnico descubriendo una falta de homogeneidad. En este punto y para eliminar variables interindividuales, una única persona repitió la técnica de E-test con 10 de las cepas de la prueba, empleando otro nefelómetro (denominado nefelómetro control) y siguiendo las indicaciones publicadas para la realización del McFarland según los protocolos de la SEIMC². Se consideraron aceptables los resultados dentro de un rango de dos diluciones por ambos extremos respecto a las enviadas por el grupo organizador del estudio. De esta manera se obtuvieron 9/10 resultados aceptables. A continuación se repitió la determinación con el mismo nefelómetro empleado en la realización de la prueba (denominado nefelómetro HC) y añadiendo a las cepas probadas una cepa ATCC de referencia (*E. coli* 25922), obteniendo también 9/10 resultados aceptables más el correspondiente a la cepa ATCC. Se consideró que las cepas que se salían de los criterios de aceptabilidad eran fruto de un error aleatorio no grave (tabla 1).

Con estos resultados se tomaron las siguientes medidas: 1) Implantación de una instrucción técnica de cómo realizar un E-test; 2) Introducción en el plan de formación continuada del personal técnico del laboratorio una sesión sobre dicha instrucción técnica haciendo especial hincapié en los fallos

detectados. 3) Introducción de un control interno mensual en cada laboratorio en los que se realiza dicha técnica con una cepa ATCC.

De esta experiencia quisiéramos destacar el papel relevante de la participación en ensayos de aptitud o pruebas de intercomparación en el establecimiento de políticas y procedimientos robustos que garanticen la fiabilidad de los resultados emitidos. Del mismo modo, quisiéramos remarcar la utilidad de los programas de calidad en los centros sanitarios, que nos permiten detectar errores e iniciar las acciones correctivas con objeto de mejorar la eficacia de nuestros laboratorios y la mejor asistencia a nuestros pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

- Gómez-Garcés JL, López-Faba IF, Burillo A, Yolanda Gil A. "Estudio comparativo de Wider, E-test y microdilución para la determinación de la sensibilidad a daptomicina y otros tres antimicrobianos de aislamientos clínicos de *Staphylococcus* spp. resistentes a meticilina y *Enterococcus* spp". Rev Esp Quimioter 2010; 23: 87-92.
- García-Rodríguez JA, Cantón R, García Sánchez JE, Gómez-Lus ML, Martínez-Martínez L, Rodríguez-Avial C, Vila J. 11. "Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos" en Picazo JJ, "Procedimientos en Microbiología Clínica". (<http://www.seimc.org/>) 1ª edición. 2000.

Carta al Director

Ana García-Cañas¹
Juana Cacho-Calvo²
Gabriel Gaspar Alonso-
Vega³
F. Javier Esteban-Fernández³
Sergio Julio Rodríguez-
Álvarez³
Gloria Pérez-Caballero³
Emilia Condés-Moreno¹

Coinfección por *Mycobacterium africanum* y *Mycobacterium avium* en una paciente con SIDA

¹Facultad de Ciencias Biomédicas y Salud. Universidad Europea de Madrid. Villaviciosa de Odón (Madrid).

²Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Getafe (Madrid).

³Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario de Getafe (Madrid).

Sr. Editor: las micobacterias no tuberculosas (MNT) son microorganismos de distribución ubicua en el medio ambiente que tradicionalmente han sido consideradas patógenos oportunistas. En la actualidad existe una preocupación creciente por el aislamiento de MNT en muestras clínicas. En pacientes inmunodeprimidos, tanto las micobacterias tuberculosas (MTC) como las MNT son patógenos oportunistas frecuentes. Un reto importante es la interpretación del significado clínico de los aislamientos mixtos de MTC y MNT.

Presentamos el caso de una paciente con aislamiento mixto de MTC y MNT.

Se trata de una mujer de 34 años de edad, natural de Nigeria que reside en España desde el año 2003. En el año 2005 es diagnosticada de infección por VIH con carga viral de 106.000 copias y cifra de linfocitos CD4 de 432, con un nadir a finales de ese mismo año de 187. Presentaba un Sarcoma de Kaposi de afectación cutánea que remitió tras tratamiento antirretroviral con efavirenz, emtricitabina y tenofovir. Posteriormente, en ese mismo año presentó sepsis de origen urinario por *Escherichia coli*. Durante este episodio se recogieron dos muestras de esputo y se realizó una punción medular. Las baciloscopias de ambos esputos fueron negativas y en uno de ellos se aisló *Mycobacterium tuberculosis complex*, hallazgo considerado como una posible contaminación cruzada. La paciente no presentaba síntomas, la radiografía de tórax era normal y no recibió tratamiento tuberculostático.

La paciente presentó buena tolerabilidad al tratamiento antirretroviral, manteniendo eficacia virológica, carga viral en plasma indetectable, y recuperación inmunológica, concentraciones de CD4 superiores a 800 hasta 2010.

En 2010 se introdujo en el Servicio de Microbiología de

nuestro hospital una técnica de diagnóstico molecular, el ensayo *Genotype MTBC* (Hain Lifescience, Nehren, Germany). Esta técnica consiste en una amplificación de ácido nucleico por PCR y posteriormente en una hibridación en fase sólida que diferencia las siguientes especies pertenecientes a *Mycobacterium tuberculosis complex*: *M. tuberculosis*/*M. canettii*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. bovis* subsp. *bovis*, *M. bovis* subsp. *caprae*, y *M. bovis* BCG. La utilización de este ensayo permitió identificar el aislamiento de *Mycobacterium tuberculosis complex* como *M. tuberculosis* y *M. africanum*. A la vista de estos resultados, se descartó la contaminación cruzada.

Durante este periodo la paciente continuó con el mismo tratamiento antirretroviral.

Posteriormente, en el año 2011, nuestra paciente fue ingresada de nuevo en el hospital por presentar un cuadro febril de 3 semanas de evolución. Había sido diagnosticada de amigdalitis y se pautó amoxicilina/ácido clavulánico, sin mejoría. Se palpaba una adenopatía laterocervical izquierda y refería tos productiva con expectoración parduzca y malestar general. Presentaba una carga viral de VIH inferior a 20 copias y cifra de CD4 de 499. La TAC de tórax no mostró datos de afectación pulmonar. Las muestras para estudio de micobacterias fueron: una punción de la adenopatía cervical que fue negativa, dos hemocultivos para micobacterias que fueron negativos y tres esputos todos ellos con baciloscopia negativa. En todos los esputos se aisló *M. avium* y en dos de ellos además *M. africanum*. La prueba de sensibilidad a fármacos de primera línea (isoniazida, rifampicina, pirazinamida, etambutol y estreptomycin) a la cepa de *M. africanum* realizada por el sistema BACTEC™ MGIT 960 system (Becton Dickinson, Maryland USA) mostró sensibilidad a todos los fármacos.

En la biopsia ganglionar realizada se aisló *M. avium* y *M. africanum*, se objetivó linfadenitis granulomatosa con granulomas necrotizantes y la tinción de Kinyoun fue positiva.

Inicialmente se pautó tratamiento con isoniazida, rifampicina, pirazinamida y etambutol pero la paciente desarrolló

Correspondencia:
Ana García Cañas
Facultad de Ciencias Biomédicas y Salud. Universidad Europea de Madrid. Villaviciosa de Odón (Madrid).
Tfno.: 912115309.
E-mail: ana.garcia4@universidadeuropea.es

hepatitis, eosinofilia, anemia hemolítica y toxicidad cutánea que hicieron sospechar de un cuadro de toxicidad por rifampicina. Se cambió el tratamiento a isoniazida, pirazinamida, etambutol y claritromicina durante 2 meses, seguido de isoniazida, etambutol y claritromicina 16 meses más para cubrir a los dos patógenos ante la sospecha de coinfección por *M. avium* y *M. africanum*. La evolución posterior fue buena considerando criterios clínicos y microbiológicos (el cultivo y la tinción para micobacterias de un exudado ganglionar que drenó espontáneamente fueron negativos).

El aislamiento de MNT en muestras respiratorias no es suficiente para establecer el diagnóstico de enfermedad, son necesarios criterios clínicos, microbiológicos y radiológicos¹. La interpretación de los aislamientos mixtos de MTC y MNT en muestras respiratorias plantea dificultades ya que puede tratarse de una colonización, o de una contaminación de la muestra, por parte de la MNT, o de una auténtica coinfección. En los últimos años son varios los estudios que resaltan la importancia de no ignorar la posible significación clínica de las MNT halladas en aislamientos mixtos en muestras respiratorias², y de realizar un seguimiento de los pacientes con tuberculosis pulmonar y aislamientos mixtos³.

El desarrollo de las técnicas moleculares para la identificación de micobacterias nos permite detectar cultivos con aislamientos múltiples con mayor facilidad y rapidez. Esto es esencial para poder establecer un diagnóstico y tratamiento adecuado en el caso de pacientes con SIDA^{4,5}. En el caso descrito, el aislamiento de *M. avium* y *M. africanum* se produjo en muestras respiratorias y ganglionares. Se interpretó como una coinfección y se realizó tratamiento para cubrir los dos patógenos. La evolución de la paciente fue favorable.

FINANCIACIÓN

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

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, Catanzaro A, Daley C, Gordin F, et al. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175: 367-416.
2. Hwang SM, Lim MS, Hong YJ, Kim TS, Park KU, Song J, et al. Simultaneous detection of *Mycobacterium tuberculosis complex* and nontuberculous mycobacteria in respiratory specimens. *Tuberculosis* 2013; 93: 642-646.
3. Damaraju D, Jamieson F, Chedore P, Marras T. Isolation of nontuberculous mycobacteria among patients with pulmonary tuberculosis in Ontario, Canada. *Int J Tuberc Lung Dis* 2013; 17: 676-681.
4. Sharma K, Sharma A, Modi M, Singh G, Kaur H, Varma S, et al. PCR detection of co-infection with *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium* in AIDS patients with meningitis. *J Med Microbiol* 2012; 61: 1789-91.
5. Sharma K, Mewara A, Gupta N, Sharma A, Varma S. Multiplex PCR in diagnosis of *M. tuberculosis* and *M. avium* co-infection from lymph node in an AIDS patient. *Indian J Med Microbiol* 2015; 33 Suppl: 151-153.

Carta al Director

Miguel López Gobernado
Alberto Pérez-Rubio
Agustín Mayo
José M^a Eiros

Pneumonia: burden of disease

Hospital Clínico Universitario y Facultad de Medicina de Valladolid, Spain

Sir,

The importance of determining disease burden for pneumonia is sufficiently proven. A large number of articles have been published in our country¹⁻³ and outside⁴⁻⁷ in this sense.

Aware of this, our group has set up a retrospective study in which have been revised 5,758 episodes of pneumonia admitted to the University Hospital of Valladolid, that serving a population of 275,000, for the period 2009-2014. The annual income range for this cause ranged from 1,029 (in 2009) and 907 (2014), with figures of 925, 979, 1002 and 916 for intermediate consecutive years. Hospitalization for pneumonia was higher in men than in women with a ratio of 1.78. The mean age of patients admitted for this reason was at 67.86 years with a standard deviation of 23.28 years. The age range in which more episodes documented was the 76-85 years with 1,844 patients (32.04% of total); the fewest episodes was detected in the range under 15 with 294 patients (5.10% of total). The rate of hospitalization for pneumonia in our study was 3.54 people per 1,000 population hospitalized; being to 23.66 per thousand inhabitants in those over 86 years. The hospitalization rate that we obtained in our study indicates that 38.88 per thousand incomes is a type of pneumonia. As for seasonal analysis in the first five weeks of the onset of winter in our latitude (end of year two and three of the beginning of the next) maximum input values are reached.

The female-male ratio of 0.58 published by Uematsu et al.⁷ in a multicenter study of 289 hospitals is particularly matched to that obtained in our work of 0.59 as is also the average age of both series. The burden of hospitalization for acute pneumonia Community described in a series published in 2011 by Gil-Prieto et al.⁸ increases to advance the age range and

is slightly higher than that documented for us. The difference between their studies and ours is that we have studied all ranks and not only those over 14 years as by Uematsu et al.⁷ or over 50 years in the case of Gil Prieto et al.⁸. In our experience, 75% of patients admitted for pneumonia at age 62 HCUV years.

The present contribution seeks to establish a single message: the burden of hospitalization for pneumonia from the eighth decade of life is very important in our environment. Concomitantly it should be noted that a strategy of vaccination against the agents mainly involved in the etiology of pneumonia, *Streptococcus pneumoniae* or *Haemophilus influenzae*, can be highly efficient in our environment. In this sense, the greater understanding of the epidemiology of pneumococcal disease is the key for setting public health policies. Our results are presented as a preliminary step to an economic assessment of the vaccination strategy against *S. pneumoniae* in our old population and determining risk conditions that provide more useful. These analyzes of efficiency are already being made recently by other authors in other contexts, presenting vaccination as a highly efficient tool^{9,10}.

REFERENCES

1. Vila-Córcoles A, Aguirre-Chavarría C, Ochoa-Gondar O, de Diego C, Rodríguez-Blanco T, Gómez F et al. Influence of chronic illnesses and underlying risk conditions on the incidence of pneumococcal pneumonia in older adults. *Infection* 2015; 43: 699-706.
2. Gil-Prieto R, Pascual-García R, Walter S, Álvaro-Meca A, Gil-De-Miguel Á. Risk of hospitalization due to pneumococcal disease in adults in Spain. The CORIENNE study. *Hum Vaccin Immunother* 2016; 12: 1900-5.
3. Calderón C, Dennis R. Economic cost of *Streptococcus pneumoniae* community-acquired pneumonia, meningitis and bacteremia in an adult population that required hospitalization in Bogotá, Colombia. *Biomedica* 2014; 34: 92-101.

Correspondence:
José M^a Eiros Bouza
Microbiología, 6^a Planta.
Facultad de Medicina. Avda Ramón y Cajal, 7. 47005 Valladolid.
Tfno.: 983-423063
Fax: 983-423022
E-mail: eiros@med.uva.es

4. Griffin MR, Zhu Y, Moore MR, Whitney CG, Grijalva CG. U.S. hospitalizations for pneumonia after a decade of pneumococcal vaccination. *N Engl J Med.* 2013 ; 369: 155-63.
5. Wu DB, Roberts CS, Huang YC, Chien L, Fang CH, Chang CJ. A retrospective study to assess the epidemiological and economic burden of pneumococcal diseases in adults aged 50 years and older in Taiwan. *J Med Econ* 2014; 17: 312-9.
6. Amodio E, Costantino C, Boccalini S, Tramuto F, Maida CM, Vitale F. Estimating the burden of hospitalization for pneumococcal pneumonia in a general population aged 50 years or older and implications for vaccination strategies. *Hum Vaccin Immunother* 2014; 10: 1337-42.
7. Uematsu H, Kunisawa S, Yamashita K, Imanaka Y. The Impact of Patient Profiles and Procedures on Hospitalization Costs through Length of Stay in Community-Acquired Pneumonia Patients Based on a Japanese Administrative Database. *PLoS One* 2015; 10: e0125284
8. Gil-Prieto R, García-García L, Alvaro-Meca A, Méndez C, García A, de Miguel AG. The burden of hospitalizations for community-acquired pneumonia (CAP) and pneumococcal pneumonia in adults in Spain (2003-2007). *Vaccine* 2011; 29: 412-6.
9. Lorente-Antoñanzas R, Varona Malumbres JL, Antoñanzas F, Rejas J. La vacunación anti-neumocócica con la vacuna conjugada 13-valente en población inmunocompetente de 65 años: análisis del impacto presupuestario en España implicando un modelo de transmisión dinámica. *Rev Esp Salud Pública.*2016; 90: 1-12.
10. Werkhoven C, Hollingsworth R, Huijts S, Bolkenbaas M, Webber C, Patterson S, Sanders E, Bonten M. Pneumococcal conjugate vaccine herd effects on non-invasive pneumococcal pneumonia in elderly. *Vaccine.* 2016; 34 :3275-82.

Carta al Director

Dolores Escudero¹
Santiago Melón²
Raquel Rodríguez-García¹
Lucía Viña¹
Iván Astola¹
Fernando Vázquez²

Varicela zóster con fallo multiorgánico fulminante tras altas dosis de corticoides

¹Servicio de Medicina Intensiva, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo. España.

²Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo. España.

Sr. Editor: la varicela es una enfermedad aguda extremadamente contagiosa, producida por el virus varicela-zóster (VVZ), que afecta fundamentalmente a niños y produce fiebre, síntomas generales y una erupción dérmica típica. El herpes zóster es la manifestación local de la reactivación de una infección latente por el VVZ, en los ganglios de las raíces dorsales o del trigémino, y que puede aparecer por estrés o en pacientes con disminución de la inmunidad celular de distinto origen. La varicela es generalmente una enfermedad benigna en la infancia y deja inmunidad duradera¹. En países desarrollados la presentación en adultos es rara, ya que supone menos del 5% de los casos de varicela, pero en los adultos es una enfermedad grave con un mayor número de complicaciones, pudiendo llegar a ser mortal debido a la aparición de neumonía, pericarditis, miocarditis, meningitis o encefalitis²⁻⁴. Las formas más graves con desenlace fatal se producen en pacientes severamente inmunodeprimidos^{5,6} por lo que en pacientes oncológicos, y con trasplantes tanto de órganos sólidos como de progenitores hematopoyéticos, se recomienda una vigilancia extrema y en ocasiones realizar tratamiento profiláctico. La complicación más frecuente y grave de la varicela en los adultos es la neumonía, que ocasiona fallo respiratorio severo precisando ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) y tratamiento con ventilación mecánica incluso en pacientes inmunocompetentes⁷. La afectación visceral masiva por el virus de la varicela zóster, acompañada o no de afectación cutánea, es una presentación poco habitual de la varicela en pacientes que no están gravemente inmunocomprometidos pero que han recibido algún tipo de fármaco inmunosupresor^{8,9}.

Igualmente se ha descrito un aumento de la gravedad de la varicela en niños con leucemia linfoblástica aguda que esta-

ban recibiendo corticoides durante el periodo de incubación de la varicela¹⁰.

Presentamos un caso de afectación visceral generalizada, que evolucionó rápidamente a fallo multiorgánico fulminante y muerte por varicela zóster, en un adulto que había recibido dosis altas de corticoides.

Mujer de 27 años, entre los antecedentes de interés destaca que tres semanas antes de su ingreso en UCI, la paciente estuvo ingresada en el Servicio de Neurología por cansancio, pérdida de fuerza y hormigueos en extremidades superiores, acompañada de alteraciones de la visión en forma de diplopía. Fue diagnosticada de esclerosis múltiple y tratada con corticoides recibiendo inicialmente una dosis de choque de 5,75 g intravenosos de metilprednisolona, continuando posteriormente con el tratamiento corticoideo en pauta descendente. Ante la buena evolución fue dada de alta a domicilio.

A las tres semanas de ser dada de alta, reingresa en el Servicio de Digestivo por fallo hepático y lesiones cutáneas de etiología no filiada. En las siguientes 48 horas presenta mala evolución clínica, con importante deterioro del nivel de conciencia secundario a encefalopatía hepática, e insuficiencia respiratoria, motivo por el que se solicita consulta a UCI procediéndose a ingreso urgente, intubación traqueal y ventilación mecánica. En la exploración, llamaba la atención la presencia de múltiples lesiones cutáneas vesiculares de contenido hemorrágico que se encontraban diseminadas por todo el cuerpo (figura 1 A y B). En la analítica destacaba una elevación importante de las transaminasas con aspartato aminotransferasa de 6.204 U/L, y alaninoaminotransferasa de 5.357 U/L. En el estudio de coagulación existían importantes alteraciones, con un tiempo de tromboplastina parcial muy alargado, superior a 250 segundos, tiempo de protrombina superior a 150 segundos, tasa de protrombina del 16% y dímero D de 5.881 ng/mL. La paciente presentaba una plaquetopenia de 59.000 y en el hemograma destacaba una leucocitosis de 28.000 con importante desviación izQUIERDA.

Correspondencia:
Dolores Escudero
Servicio de Medicina Intensiva. Hospital Universitario Central de Asturias.
Av. Roma s/n 33011 Oviedo
Tfno: 985108000 Extensión 38162.
Fax 985108777
E-mail: dolores.escudero@sespa.princast.es

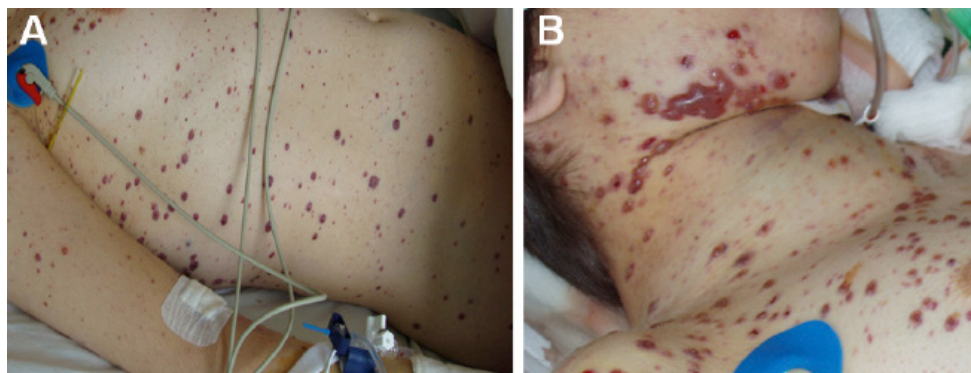


Figura 1 Lesiones cutáneas vesiculares hemorrágicas

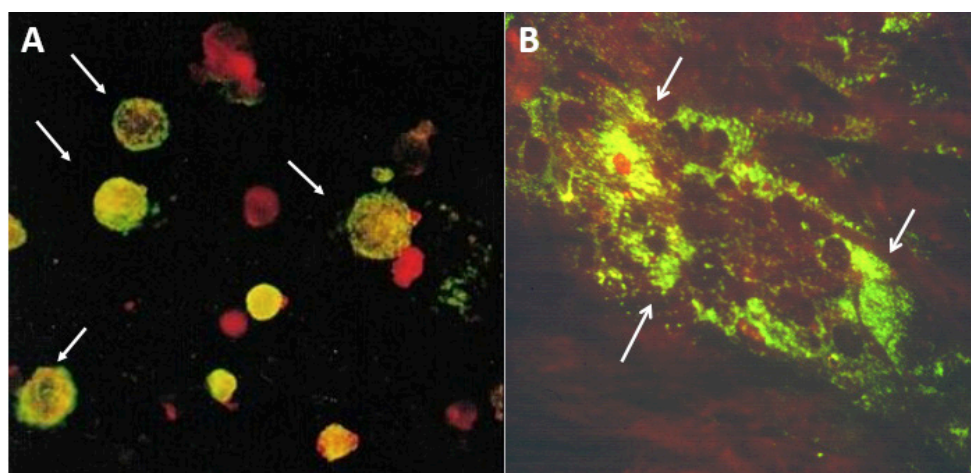


Figura 2 Lesiones A: Inmunofluorescencia directa de varicela-zóster sobre células de vesículas. Se observan las células verdes infectadas con el virus y teñidas con un anticuerpo monoclonal específico (flechas). B: Foco de infección del virus varicela zóster (tinción verde brillante) sobre monocapa celular de fibroblastos de pulmón fetal humano (MRC-5)

Con la sospecha clínica de varicela hemorrágica, por el aspecto de las lesiones cutáneas, y el fallo hepático masivo acompañante, se obtuvo mediante punción con aguja fina, líquido de las lesiones vesiculares cutáneas que se envió *en fresco* al Servicio de Microbiología. Tres horas después, Microbiología confirmó el diagnóstico de varicela mediante la realización de inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales sobre el líquido obtenido de las vesículas (figura 2A). Rehistoriada la familia, confirman que una niña del entorno familiar, había tenido la varicela aproximadamente unos diez días antes.

A pesar del tratamiento con aciclovir intravenoso y todo el tratamiento de sostén habitual de un paciente crítico, la paciente desarrolló un fallo multiorgánico con fallo hemodinámico, respiratorio, renal y hepático acompañado de una importante hemorragia alveolar y múltiples hemorragias por mucosas, orina, tubo digestivo y lugares de inserción de catéteres, secundarias a la coagulación intravascular diseminada.

El cuadro clínico progresó rápidamente y de forma fulminante, siendo exitus a las 28 horas de su ingreso en UCI.

Se le realizó estudio necrópsico que confirmó el diagnóstico clínico con importante afectación del esófago, pulmones, hígado y bazo, destacando entre todos los hallazgos una necrosis hepática masiva. Desde el punto de vista microbiológico se confirmó el diagnóstico de varicela-zóster mediante un cultivo rápido (Shell-vial, IF) a los 3 días del fallecimiento. El cultivo tras 15 días sobre monocapas celulares con fibroblastos de pulmón fetal humano (figura 2B), confirmó nuevamente el diagnóstico de varicela-zóster.

Este caso clínico nos recuerda, que la infección grave visceral por el virus de la varicela zóster, es una posibilidad que debe ser tenida en cuenta en pacientes que hayan recibido recientemente altas dosis de corticoides u otro tipo de fármacos inmunosupresores. En estos casos se podría considerar la profilaxis con gammaglobulinas. Como dato adicional a tener en

cuenta, recientemente, algunos autores, encuentran una alta prevalencia de varicela zóster en pacientes diagnosticados de esclerosis múltiple como era el caso aquí presentado¹¹.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

BIBLIOGRAFÍA

1. Sauerbrei A. Diagnosis, antiviral therapy, and prophylaxis of varicella-zoster virus infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2016; 35:723-34.
2. Blanquer J, Sole-Violán J, Carvajal J, Lucena F. Infecciones comunitarias que requieren ingreso en UCI. *Med Intensiva* 2010;34:388-96
3. Gómez R, González A, Bustillo M, Soto I, Fernández R. Miocarditis por virus varicela-zoster en el adulto. *An Med Interna*. 2007;24:307-8
4. Chamizo FJ, Gilarranz R, Hernández M, Ramos D, Pena MJ. Central nervous system infections caused by varicella-zoster virus. *J Neurovirol*. 2016; 22:529-32.
5. Ladrrière M, Bibes B, Rabaud C, Delaby P, May T, Canton P. Varicella zoster virus infection after bone marrow transplant. Unusual presentation and importance of prevention. *Presse Med*. 2001; 30:1151-4.
6. Salavert M, Granada R, Díaz A, Zaragoza R. Papel de las infecciones víricas en pacientes inmunodeprimidos. *Med Intensiva*. 2011;35:117-25
7. Díaz A, Zaragoza R, Granada R, Salavert M. Infecciones virales graves en pacientes inmunocompetentes. *Med Intensiva*. 2011;35:179-85
8. Akiyama M, Yoshifuji K, Fukuda T, Tohda S, Miki T, Miura O, et al. Fulminant visceral disseminated varicella-zoster virus infection without skin involvement in a patient with autoimmune hemolytic anemia on prednisolone therapy. *Rinsho Ketsueki*. 2016; 57: 467-71.
9. Tsuji H, Yoshifuji H, Fujii T, Matsuo T, Nakashima R, Imura Y, et al. Visceral disseminated varicella zoster virus infection after rituximab treatment for granulomatosis with polyangiitis. *Mod Rheumatol*. 2014; 27:1-7.
10. Hill G, Chauvenet AR, Lovato J, McLean TW. Recent steroid therapy increases severity of varicella infections in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatrics*. 2005; 116: e525-9.
11. Najafi S, Ghane M, Yousefzadeh-Chabok S, Amiri M. The high prevalence of the varicella zoster virus in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a case-control study in the north of Iran. *Jundishapur. J Microbiol*. 2016 12; 9: e34158.



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

