



REVISTA ESPAÑOLA DE  
Quimioterapia

SPANISH JOURNAL  
OF CHEMOTHERAPY

ISSN: 0214-3429

Volumen 31

Número 1

Febrero 2018

Páginas: 1 - 100



Publicación Oficial  
de la Sociedad Española  
de Quimioterapia

# 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](mailto:revista@seq.es)  
Disponible en Internet:  
[www.seq.es](http://www.seq.es)

© Copyright 2018  
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](mailto:info@seq.es)

Consulte nuestra página web  
[www.seq.es](http://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 Corcueria

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

L. Aguilar (Madrid)  
J. I. Alós (Madrid)  
J. R. Azanza (Pamplona)  
J. Aragón (Las Palmas de Gran Canaria)  
A. Artero (Valencia)  
V. Asensi (Oviedo)  
J. M. Barbero (Madrid)  
J. Campos (Madrid)  
F.J. Candel (Madrid)  
E. Cantón (Valencia)  
R. Cantón (Madrid)  
J. A. Capdevila Morell (Barcelona)  
M. Casal (Córdoba)  
J. Castillo (Zaragoza)  
J. Cobo Reinoso (Madrid)  
J. L. del Pozo (Navarra)  
R. De la Cámara (Madrid)  
C. De la Calle (Barcelona)  
M. Domínguez-Gil (Valladolid)  
J. Eiros (Valladolid)  
P. Escrivano (Madrid)  
M. C. Fariñas Álvarez (Santander)  
C. Fariñas (Santander)  
J. Fortún (Madrid)

E. García Sánchez (Salamanca)  
I. García García (Salamanca)  
J. E. García Sánchez (Salamanca)  
E. García Vázquez (Murcia)  
J. Gómez Gómez (Murcia)  
M. L. Gómez-Lus (Madrid)  
J. González del Castillo (Madrid)  
F. González Romo (Madrid)  
J. J. Granizo (Madrid)  
S. Grau (Barcelona)  
J. Guinea (Madrid)  
X. Guirao (Barcelona)  
J. Gutiérrez (Granada)  
J. B. Gutiérrez (Córdoba)  
B. Isidoro (Madrid)  
P. Llinares (La Coruña)  
J. E. Losa García (Madrid)  
J. R. Maestre Vera (Madrid)  
L. Martínez Martínez (Córdoba)  
E. Maseda (Madrid)  
R. Menéndez (Valencia)  
P. Merino (Madrid)  
P. Muñoz (Madrid)  
J. L. Muñoz Bellido (Salamanca)  
V. Navarro (Alicante)

J. A. Oteo (Logroño)  
E. Palencia Herrejón (Madrid)  
A. Pascual Hernández (Sevilla)  
J. Pasquau (Sevilla)  
J. Pemán (Valencia)  
J. L. Pérez-Arellano (Las Palmas)  
B. Pérez-Gorracho (Madrid)  
A. Ramos (Madrid)  
J. M. Ramos (Alicante)  
J. Reina (Palma de Mallorca)  
M. A. Ripoll (Ávila)  
I. Rodríguez-Avial (Madrid)  
M. Ruiz (Alicante)  
M. Sabriá (Barcelona)  
M. Salavert (Valencia)  
B. Sánchez Artola (Madrid)  
M. Segovia (Murcia)  
R. Serrano (Madrid)  
D. Sevillano (Madrid)  
A. Suárez (Madrid)  
A. Tenorio (Huelva)  
A. Torres (Murcia)  
C. Vallejo (Oviedo)  
J. Vila (Barcelona)  
J. Yuste (Madrid)

---

## Sumario

---



Volumen 31  
Número 1  
Febrero 2018

<b>Revisión</b>	<b>Difusión de los antibióticos en el sistema nervioso central</b>	1
	José María Cabrera-Maqueda, Luna Fuentes Rumí, Gabriel Valero López, Ana Esther Baidez Guerrero, Estefanía García Molina, José Díaz Pérez, Elisa García-Vázquez	
<b>Originales</b>	<b>Proyecto URISCAM: Evaluación multicéntrica del citómetro UF-Series en el despistaje de infecciones urinarias</b>	13
	María del Monte Jarabo, María Ángeles Asencio, Rafael Carranza, Óscar Herráez, María Huertas, Ángel Arias-Arias, Olga Redondo, María Ángeles Galán, María Soledad Illescas, Pilar Zamarrón, Sonia Solís, Silvia Jiménez-Alvarez	
	<b>Prevalencia y análisis filogenético de <i>Chlamydia trachomatis</i> en una población de mujeres de Posadas, Misiones</b>	21
	Graciela Beatriz-Jordá, Silvina Elizabeth Hanke, José Manuel Ramos-Rincón, Jessica Mosmann, María Lorena-López, Andrea Carolina Entrocassi, Cecilia Cuffini	
	<b>Análisis del uso ambulatorio de antibióticos en los hospitales generales de Asturias entre 2006 y 2015</b>	27
	María Luisa Sánchez-Núñez, Manuel Javier Vallina-Victorero, María Rosario Bachiller-Luque, José María Pinilla Sánchez, José María Eiros	
	<b>Tratamientos libres de interferon en pacientes con hepatitis C y genotipo 3 en un hospital terciario</b>	35
	Juan Carlos del Rio-Valencia, Rocío Asensi-Diez, Raquel Madera-Pajín, Lucía Yunquera-Romero, Isabel Muñoz-Castillo	
	<b>Impacto económico y sanitario de la utilización de vacuna antigripal adyuvada con MF59 en población mayor de 65 años en España</b>	43
	Alberto Pérez-Rubio, José María Eiros	
<b>Cartas al Director</b>	<b>Infección de prótesis de cadera causada por <i>Campylobacter fetus</i>: Descripción de un caso y revisión de la literatura</b>	53
	Mª José Zamora-López Patricia Álvarez-García Marta García-Campello	
	<b>Hipertensión arterial no diagnosticada en pacientes con infección por VIH que reciben tratamiento antirretroviral</b>	58
	Rafael León, Sergio Reus, Marcos Diez, Joaquín Portilla	
	<b>Meningitis postquirúrgica por <i>Gemella haemolysans</i></b>	60
	Marta Domínguez-Gil, José Mª Eiros, Christoph Klein, Javier Herrero, Luis Pastor, Rosario Sarabia	
	<b>Sensibilidad en enterobacterias uropatógenas productoras de BLEE versus no productoras, en pacientes pareados por edad, sexo y situación de ingreso hospitalario</b>	63
	Jerónimo Jaqueti-Aroca, Laura Molina-Esteban, Alicia Limón-Yelmo, Isabel García-Arata	
	<b>Parto prematuro y colonización por <i>Ureaplasma parvum</i></b>	66
	Helena Gil-Campesino, Berta Pino-Calm, Laia Ferré Moragues, Mónica Rivero Falero, Julia Alcoba-Flórez	
	<b>Osteomielitis vertebral por <i>Actinomyces</i>: reporte de un caso</b>	68
	Berenice Nayla Brizzi, Cesáreo Fernández Alonso, Ángel Nieto Sánchez, Juan González del Castillo	

---

## Sumario

---



---

<b>Cartas al Director</b>	<b><i>Capnocytophaga canimorsus</i> como causa de sepsis y meningitis en paciente inmunodeprimido</b>	70
	Fátima Abreu-Salinas, Cristian Castelló-Abietar, Elena Ameijide Sanluis, Jonathan Fernández-Suárez	
	<b>Efecto antipseudomónico de los macrólidos. Experiencia en un caso de neumonía nosocomial por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> multirresistente sin respuesta a antibioterapia</b>	72
	José Mª Barbero, Alberto Arranz Ángela Rebollar, Ana Culebras, Marta García, Rosa Agudo, Laura Pérez, Eduardo Montero	
	<b>Endocarditis infecciosa en un paciente con cáncer colorectal metastásico</b>	75
	Almudena Callejo-Goena, Itziar Rubio-Etxebarria, Aintzane Sancho-Gutiérrez, Josune Azkuna-Sagarduy, Ane Lopetegi-Aizpurua, Guillermo López-Vivanco	
<b>Documento de consenso</b>	<b>Elección del tratamiento antibiótico en la infección invasiva aguda por <i>Pseudomonas aeruginosa</i>: Guía de la Sociedad Española de Quimioterapia</b>	78
	José Mensa, José Barberán, Alex Soriano, Pedro Llinares, Francesc Marco, Rafael Cantón, German Bou, Juan González del Castillo, Emilio Maseda, José Ramón Azanza, Juan Pasquau, Carolina García-Vidal, José María Reguera, Dolores Sousa, Joaquín Gómez, Miguel Montejo, Marcio Borges, Antonio Torres, Francisco Alvarez-Lerma, Miguel Salavert, Rafael Zaragoza, Antonio Oliver	

---



# Advancing Therapeutics, Improving Lives.

Desde hace más de 25 años Gilead investiga, desarrolla y comercializa medicamentos innovadores en áreas de salud cuyas necesidades terapéuticas no están cubiertas.

Nuestros medicamentos, ya sean comercializados o en desarrollo, incluyen tratamientos para diferentes áreas terapéuticas: VIH/sida, enfermedades hepáticas, cáncer, enfermedades inflamatorias y respiratorias y afecciones cardiovasculares.

Cada día nos esforzamos en transformar, simplificar y mejorar la calidad de vida de personas con enfermedades graves.



---

## Contents

---



Volume 31  
Number 1  
February 2018

---

Review	<b>Antibiotic diffusion to central nervous system</b> José María Cabrera-Maqueda, Luna Fuentes Rumí, Gabriel Valero López, Ana Esther Baidez Guerrero, Estefanía García Molina, José Díaz Pérez, Elisa García-Vázquez	1
Originals	<b>URISCAM project: Multicenter evaluation of the UF-Series cytometer in the urinary tract infections screening</b> María del Monte Jarabo, María Ángeles Asencio, Rafael Carranza, Óscar Herráez, María Huertas, Ángel Arias-Arias, Olga Redondo, María Ángeles Galán, María Soledad Illescas, Pilar Zamarrón, Sonia Solís, Silvia Jiménez-Alvarez	13
	<b>Prevalence and phylogenetic analysis of <i>Chlamydia trachomatis</i> in a population of women in Posadas, Misiones</b> Graciela Beatriz-Jordá, Silvina Elizabeth Hanke, José Manuel Ramos-Rincón, Jessica Mosmann, María Lorena-López, Andrea Carolina Entrocassi, Cecilia Cuffini	21
	<b>Analysis on the ambulatory usage of antibiotics at general hospitals in Asturias (2006–2015)</b> María Luisa Sánchez-Núñez, Manuel Javier Vallina-Victorero, María Rosario Bachiller-Luque, José María Pinilla Sánchez, José María Eiros	27
	<b>Interferon-free treatments in patients with hepatitis C genotype 3 infection in a tertiary hospital</b> Juan Carlos del Rio-Valencia, Rocío Asensi-Diez, Raquel Madera-Pajín, Lucía Yunquera-Romero, Isabel Muñoz-Castillo	35
	<b>Economic and Health impact of influenza vaccination with adjuvant MF59 in population over 64 years in Spain</b> Alberto Pérez-Rubio, José María Eiros	43
Letters to the editor	<b>Prosthetic hip joint infection caused by <i>Campylobacter fetus</i>: A case report and literature review</b> Mª José Zamora-López Patricia Álvarez-García Marta García-Campello	53
	<b>Undiagnosed arterial hypertension in HIV-infected patients on antiretroviral therapy</b> Rafael León, Sergio Reus, Marcos Diez, Joaquín Portilla	58
	<b>Post-surgical meningitis by <i>Gemella haemolysans</i></b> Marta Domínguez-Gil, José Mª Eiros, Christoph Klein, Javier Herrero, Luis Pastor, Rosario Sarabia	60
	<b>Antimicrobial susceptibility in urinary tract infections caused by ESBL- and non-ESBL-producing Enterobacteriaceae in hospitalized/outpatient-, sex-, age-matched patients</b> Jerónimo Jaqueti-Aroca, Laura Molina-Esteban, Alicia Limón-Yelmo, Isabel García-Arata	63
	<b>Premature delivery and colonization associated with <i>Ureaplasma parvum</i></b> Helena Gil-Campesino, Berta Pino-Calm, Laia Ferré Moragues, Mónica Rivero Falero, Julia Alcoba-Flórez	66

---

---

## Contents

---



---

<b>Letters to the editor</b>	<b>Vertebral osteomyelitis due to <i>Actinomyces</i>: a case report</b>	<b>68</b>
	Berenice Nayla Brizzi, Cesáreo Fernández Alonso, Ángel Nieto Sánchez, Juan González del Castillo	
	<b><i>Capnocytophaga canimorsus</i> as a cause of sepsis and meningitis in immunosuppressed patient</b>	<b>70</b>
	Fátima Abreu-Salinas, Cristian Castelló-Abietar, Elena Ameijide Sanluis, Jonathan Fernández-Suárez	
	<b>Antipseudomonic effect of macrolides. Experience in a case of nosocomial pneumonia caused by multidrug-resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> without response to antibiotic therapy</b>	<b>72</b>
	José Mª Barbero, Alberto Arranz Ángela Rebollar, Ana Culebras, Marta García, Rosa Agudo, Laura Pérez, Eduardo Montero	
	<b>Infective endocarditis in a patient with metastatic colorectal cancer</b>	<b>75</b>
	Almudena Callejo-Goena, Itziar Rubio-Etxebarria, Aitzane Sancho-Gutiérrez, Josune Azkuna-Sagarduy, Ane Lopetegi-Aizpurua, Guillermo López-Vivanco	
<b>Consensus document</b>	<b>Antibiotic selection in the treatment of acute invasive infections by <i>Pseudomonas aeruginosa</i>: Guidelines by the Spanish Society of Chemotherapy</b>	<b>78</b>
	José Mensa, José Barberán, Alex Soriano, Pedro Llinares, Francesc Marco, Rafael Cantón, German Bou, Juan González del Castillo, Emilio Maseda, José Ramón Azanza, Juan Pasquau, Carolina García-Vidal, José María Reguera, Dolores Sousa, Joaquín Gómez, Miguel Montejo, Marcio Borges, Antonio Torres, Francisco Alvarez-Lerma, Miguel Salavert, Rafael Zaragoza, Antonio Oliver	

---

# Mycamine® erradica las principales especies de *Candida*<sup>1-3</sup>



**Mycamine® es igual de eficaz que caspofungina y anfotericina B liposomal<sup>4,5</sup> y menos nefrotóxico que anfotericina-B liposomal<sup>5\*</sup>**

**Mycamine® no requiere dosis de carga, alcanzando concentraciones terapéuticas desde la primera dosis<sup>6,7</sup>**

**Mycamine® ha demostrado un perfil de seguridad clínica favorable en el análisis conjunto de más de 3.000 pacientes incluidos en el desarrollo clínico<sup>8</sup>**

**Mycamine® es la única equinocandina con indicación en cualquier edad pediátrica, incluidos neonatos<sup>9-11</sup>**

**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: <https://www.aemps.gob.es/cima/inicial.do>. 10. Ficha técnica Candidas®. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/cima/inicial.do>. 11. Ficha técnica Ecalta®. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/cima/inicial.do>

\*p < 0,0001

**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 alógénico de células precursoras hematopoyéticas o en pacientes que se espera que puedan presentar neutropenia (recuento absoluto de neutrófilos < 500 células/microlitro(µl)) 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 alógénico de células precursoras hematopoyéticas o en pacientes que se espera que puedan presentar neutropenia (recuento absoluto de neutrófilos < 500 células/microlitro(µl)) 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 causante/s. 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 epidémica 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 precisan 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 período 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

**1. NOMBRE DEL MEDICAMENTO.** Mycamine 50 mg polvo para solución para perfusión. Mycamine 100 mg polvo para solución para perfusión. **2. COMPOSICIÓN, CALITATIVA 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 alógénico de células precursoras hematopoyéticas o en pacientes que se espera que puedan presentar neutropenia (recuento absoluto de neutrófilos < 500 células/microlitro(μl)) 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 alógénico de células precursoras hematopoyéticas o en pacientes que se espera que puedan presentar neutropenia (recuento absoluto de neutrófilos < 500 células/microlitro(μl)) 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 resulta 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 período 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 virica, 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 epidémica 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 anormales 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, flucanazol, ritonavir, rifampicina, itraconazol, voriconazol y anfotericina B. En estos estudios no se observaron alteraciones farmacocinéticas de micafungina. No se precisan 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 período de lactancia o de continuar o interrumpir el tratamiento con Mycamine debe de 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 refractorias) y 651 pacientes en profilaxis de infecciones fúngicas. Los pacientes tratados con micafungina en los ensayos clínicos representan una población crítica de pacientes con enfermedades graves, que requieren

## Revisión

José María Cabrera-Maqueda<sup>1</sup>  
Luna Fuentes Rumi<sup>1</sup>  
Gabriel Valero López<sup>1</sup>  
Ana Esther Baidez Guerrero<sup>1</sup>  
Estefanía García Molina<sup>1</sup>  
José Díaz Pérez<sup>1</sup>  
Elisa García-Vázquez<sup>2</sup>

# Difusión de los antibióticos en el sistema nervioso central

<sup>1</sup>Servicio de Neurología. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca de Murcia

<sup>2</sup>Servicio de Medicina Interna-Infecciosas. Facultad de Medicina. Universidad de Murcia. IMIB-Murcia

### Article history

Received: 20 July 2017; Revision Requested: 7 September 2017; Revision Received: 24 October 2017; Accepted: 24 October 2017

### RESUMEN

Las infecciones del sistema nervioso central (SNC) causadas por patógenos mutiresistentes suponen un reto terapéutico. El paso de fluidos y de solutos al SNC está estrechamente regulado a través de la barrera hematoencefálica (BHE). La penetración de cualquier fármaco, inclusive los antibióticos, en el líquido cefalorraquídeo (LCR) depende del tamaño molecular, la lipofilicidad, la unión a proteínas plasmáticas y su afinidad por transportadores de la BHE. La relación entre el área bajo la curva en el LCR y el suero AUC<sub>CSF</sub> (*Area Bajo la Curva en LCR*) / AUC<sub>S</sub> (*Area Bajo la Curva en suero*) de una sustancia es el parámetro más preciso para determinar su capacidad de difusión. Linezolid, algunas quinolonas y metronidazol consiguen altas concentraciones en LCR y son útiles para tratar microorganismos sensibles. Algunos antibióticos cuya permeabilidad a través de la BHE es baja pueden ser administrados directamente en el ventrículo a la vez que se realiza infusión intravenosa. El antibiótico ideal para tratar una infección del SNC es pequeño, no tiene alta tasa de unión a proteínas plasmáticas, es moderadamente lipofílico y no es un ligando de alta afinidad a bombas de expulsión de la BHE. Conocer la farmacocinética de los antibióticos y su interacción con la BHE permitirá mejorar el tratamiento de los pacientes con infecciones del SNC. En este artículo se exponen las propiedades físico-químicas de los principales grupos de antibióticos para evaluar cuáles son más prometedores en el tratamiento de las infecciones del SNC y cómo usarlos en la práctica clínica habitual.

**Palabras clave:** Antibióticos; Sistema Nervioso Central; Barrera hematoencefálica; Líquido cefalorraquídeo; Absceso; Meningitis.

### Antibiotic diffusion to central nervous system

### ABSTRACT

Central nervous system (CNS) infections caused by pathogens with a reduced sensitivity to drugs are a therapeutic challenge. Transport of fluid and solutes is tightly controlled within CNS, where vasculature exhibits a blood-brain barrier (BBB). The entry of drugs, including antibiotics, into the cerebro-spinal fluid (CSF) is governed by molecular size, lipophilicity, plasma protein binding and their affinity to transport systems at the BBB. The ratio of the AUC<sub>CSF</sub> (Area under the curve in CSF)/AUC<sub>S</sub> (Area under the curve in serum) is the most accurate parameter to characterize drug penetration into the CSF. Linezolid, some fluoroquinolones and metronidazole get high CSF concentrations and are useful for treating susceptible pathogens. Some highly active antibiotic compounds with low BBB permeability can be directly administered into the ventricles together with concomitant intravenous therapy. The ideal antibiotic to treat CNS infections should be that with a small moderately lipophilic molecule, low plasma protein binding and low affinity to efflux pumps at BBB. Knowledge of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of antibiotics at the BBB will assist to optimize antibiotic treatment in CNS infections. This article reviews the physicochemical properties of the main groups of antibiotics to assess which compounds are most promising for the treatment of CNS infections and how to use them in the daily clinical practice.

**Keywords:** Antibiotics; Central Nervous System; Blood-brain barrier; Cerebro-spinal fluid; Abscess; Meningitis.

### INTRODUCCIÓN

El descubrimiento de la penicilina y el posterior desarrollo de nuevas moléculas de antibióticos han representado uno de los grandes hitos en la historia de la Medicina. Sin embargo, las infecciones del sistema nervioso central (SNC) constituyen to-

#### Correspondencia:

José María Cabrera Maqueda  
Servicio de Neurología, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca de Murcia  
Ctra. Madrid-Cartagena, s/n, 30120, El Palmar (Murcia).  
Tlfno: 968 36 95 00  
Fax: 968 36 97 76  
E-mail: josemaria.olvera@gmail.com

davía una importante amenaza para la vida de aquellos que la padecen [1]. Las razones que justifican esta gravedad son múltiples, pero entre las más importantes se encuentran el relativo aislamiento del SNC del sistema inmunológico sistémico y la dificultad que los agentes antimicrobianos tienen para su difusión [2]. El tratamiento eficaz de las infecciones bacterianas del SNC depende en gran parte de la capacidad para alcanzar concentraciones antibióticas óptimas y de la resistencia de los microorganismos causantes (*Streptococcus pneumoniae* resistente a penicilina, *Staphylococcus* spp. resistente a meticilina, bacilos gramnegativos multirresistentes, etc.).

## LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA

El medio interno del SNC se encuentra aislado de la circulación sanguínea a través de la barrera hematoencefálica (BHE) [2]. La BHE puede definirse como una propiedad funcional de los vasos sanguíneos del SNC por la que se limita el intercambio libre de solutos entre el plasma sanguíneo y el tejido nervioso. Así pues, excepto el agua, gases solubles y pequeñas moléculas liposolubles (400-600 Da), el resto de moléculas orgánicas no pueden atravesar libremente el endotelio, sino a través de sistemas de transporte específicos. Las células endoteliales del cerebro y la médula espinal desempeñan un papel fundamental en esta BHE, pudiendo destacar varias características que diferencian esta estructura capilar de la existente en el resto del árbol vascular [3]:

1. La presencia de un sellado intercelular del endotelio a través de "*tight junctions*" que impiden cualquier comunicación directa entre los espacios intravascular y extracelular cerebral [4].
2. La ausencia de fenestraciones en las células endoteliales, excepto en los vasos de las áreas cerebrales sin BHE [5].
3. La carencia relativa de vesículas de endocitosis intraendoteliales para la internalización de moléculas solubles, en comparación con el elevado número de vesículas observable en el endotelio de otros órganos. No obstante, también se ha identificado una vía transcelular para las proteínas de mayor peso molecular.
4. El elevado número de mitocondrias por célula endotelial, como indicador de mayor actividad metabólica.
5. La existencia de una lámina basal simple y no doble como la de los capilares fenestrados [6].
6. La interacción con el astrocito y la implicación de éste en el acoplamiento entre la actividad sináptica y los requerimientos metabólicos a través de la BHE, constituyendo una unidad metabólico-funcional neurona-glía [7].

Además, dentro del concepto anatomofuncional, podemos diferenciar otras dos estructuras [8]:

- La barrera hematoliquoral, presente en los plexos coroideos, constituida por vasos fenestrados tapizados por un epitelio periendoelial para evitar el paso directo de moléculas desde los plexos al líquido cefalorraquídeo (LCR).
- BHE subaracnoidea, entre la pared de los vasos durales-arac-

noideas y el LCR, formada a expensas de células planas aracnoideas.

## ASPECTOS FARMACOLÓGICOS DEL SNC

Desde el punto de vista farmacodinámico, no podemos considerar el SNC como un espacio único. Desde un punto de vista teórico, debemos diferenciar el LCR del espacio intra y extracelular del cerebro y la médula espinal. Entre ellos, la barrera difusional más importante que existe es la que establece la BHE; es decir, una vez que la molécula se encuentra en LCR, puede difundir libremente hasta el espacio intersticial [8].

Además, la concentración que un fármaco puede alcanzar varía según el compartimento e incluso dentro del mismo; así por ejemplo, se ha comprobado que la mayoría de los fármacos, tras la infusión intravenosa, alcanzan mayores concentraciones en el LCR de la región lumbar espinal que en los ventrículos [9,10].

Aproximadamente dos tercios del LCR se producen por los plexos coroideos como un ultrafiltrado del plasma; el tercio restante se origina en el espacio intersticial del encéfalo y de la médula, pero se establece un flujo continuo entre ambos espacios que tenderán a igualar composición. Por lo tanto, a la hora de estudiar farmacológicamente la concentración de un fármaco en tejido nervioso, se considera que su concentración en el LCR está estrechamente relacionada con la que alcanza en líquido intersticial del parénquima cerebral, al no existir una barrera limitante entre ambas [11].

En infecciones de órganos con penetración limitada (SNC, ojo, hueso), la concentración del antimicrobiano en suero puede distar mucho de la alcanzada en el tejido a tratar por lo que las consideraciones farmacocinéticas y farmacodinámicas adquieren aún más relevancia. En el caso del SNC, podemos hacernos una idea sobre la penetración de un antibiótico al LCR describiendo la relación del área bajo la curva que alcanza un antimicrobiano en suero y en LCR tras su administración intravenosa ( $AUC_{LCR}/AUC_{SUERO}$ ), siendo este valor de 1 cuando la concentración es igual en ambos compartimentos y menor de 1 cuando es menor en LCR [12,13]. En la tabla 1 se recogen los datos de las dosis recomendadas de los distintos antibióticos de uso más común en infecciones del SNC, así como información sobre su difusión a tejido nervioso.

## PRINCIPIOS GENERALES DEL USO DE ANTIBIÓTICOS EN EL SNC

La concentración de un antibiótico medida en ausencia de inflamación meníngea representa la concentración mínima que podemos encontrar al inicio de la infección o durante su resolución. El objetivo será conseguir que esa concentración, independientemente del estado de las meninges, sea lo suficientemente elevada para destruir las bacterias causantes del proceso infeccioso en el SNC.

La entrada de cualquier fármaco al LCR y al espacio extracelular del cerebro está determinada por los siguientes factores:

ANTIBIÓTICO	DOSIS INTRAVENOSA (para adultos)	DOSIS INTRATECAL (dosis diaria en mg)	Concentración en LCR en relación con concentración sérica (%)
Amikacina	5 mg/kg/8 h	5-50	10
Ampicilina	2 g/4 h	--	10
Anfotericina B	1-3 mg/kg/día	0,1-0,5mg/día	<10
Aztreonom	2 g/6-8 h	--	5-10
Cefepima	2 g/8h	--	20
Cefotaxima	2 g/4-6 h	--	20
Ceftazidima	2 g/6-8 h	--	10
Ceftriaxona	2 g/12 h	--	10
Ciprofloxacino	400 mg/ 8-12 h	--	40
Cloranfenicol	1-2 g/6 h	--	50-80
Cloxacilina	2 g/4 h	--	<5
Colistina	1-2 mU/8 h	10-20	5-25
Cotrimoxazol	320/1600 mg/6-8 h	--	30-50
Etambutol	12-25mg/kg/día	--	25
Fosfomicina	100-300 mg/kg/día	--	25
Gentamicina	5 mg/kg/24 h	5 mg/día	10
Daptomicina	6 mg/kg/día	5-10 mg/3 días	<5
Isoniazida	5mg/kg/día	--	80
Levofloxacino	500 mg/12 h	--	80
Linezolid	600 mg/12 h	--	90
Metronidazol	500 mg/6-8 h	--	80
Meropenem	1-2 g/6-8 h	--	30
Moxifloxacino	400 mg/24 h	--	80
Penicilina G	4 mU/4 h	--	5-10
Pirazinamida	25-35 mg/kg/día		90
Rifampicina	600 mg/24 h	--	20
Teicoplanina	200 mg/12 h	5-40 mg/día	<5
Tobramicina	5 mg/kg/8 h	5-20 mg/día	10
Vancomicina	10-25 mg/kg/8-12h	5-20 mg/día	20

- Tamaño molecular: a menor masa molecular, mayor facilidad para la difusión [14].
- Unión a proteínas plasmáticas: en presencia de una barrera intacta, sólo la fracción plasmática de antibiótico no unido a proteínas plasmáticas (fundamentalmente, albúmina y globulina) atravesaría la BHE.
- Liposolubilidad: las moléculas liposolubles atraviesan las meninges por vía transcelular con mayor afinidad que las hidrosolubles [15,16]. Sin embargo, hay que tener en cuenta que:
  - Una liposolubilidad muy elevada suele acompañarse de un

alto grado de fijación proteica, que disminuirá la cantidad de fármaco libre, que es la que puede difundir al SNC.

- La liposolubilidad disminuye si el fármaco se ioniza por el pH del medio. Así pues, para aquellas moléculas que pueden estar tanto en su forma ionizada como no ionizada (ej. ácidos débiles como la penicilina o las cefalosporinas [17]), su penetración en el SNC es pH dependiente, de forma que penetran más fácilmente a través de las bicapas lipídicas en su forma no ionizada. En el contexto de una meningitis el pH puede descender a menos de 7, por lo que el fármaco se ionizará menos dentro de LCR y se creará un flujo reverso hacia la sangre [18].

- Transporte activo: la concentración que un antibiótico puede alcanzar en el SNC puede alterarse si actúa como ligando de un sistema de transporte que extraiga sustancias tóxicas del espacio intracraneal [19]. La glucoproteína P es un transportador proteico presente en toda la BHE y claro ejemplo del fuerte impacto que un sistema de bombeo puede tener en la concentración de un fármaco en el SNC [20,21]. Aunque la mayoría de los estudios publicados son *in vitro*, y es difícil predecir basándonos sólo en las propiedades fisicoquímicas qué fármacos serán un ligando potente para este sistema, se ha comprobado como el tratamiento con rifampicina o inhibidores de la proteasa origina una sobreexpresión de la glucoproteína-P que puede disminuir la concentración final de otros fármacos [22]. Otro ejemplo serían Oat3 y PEPT2, que se localizan principalmente en los plexos coroideos, y que funcionan como sistemas de expulsión de varias penicilinas y cefalosporinas de primera generación, pero que

tienen muy poca afinidad por las cefalosporinas de tercera generación y las carbapenemas [23].

**Difusión en inflamación meníngea.** Una infección del SNC supone un cuadro inflamatorio que favorece el incremento de la concentración de antibióticos en LCR [24]. Existen tres mecanismos fundamentales que contribuyen a ello y que dejan en un segundo plano la influencia en la difusión de las propiedades físico-químicas del antibiótico en ausencia de inflamación meníngea:

Tabla 2

**Propiedades físico-químicas de los principales grupos de antibióticos y su capacidad de difusión a través de la BHE.**

	Tamaño molecular	Unión a proteínas plasmáticas	Lipofilicidad	Transporte activo	Difusión global
Linezolid	++	+	+++	+	+++++
Fosfomicina	+	+	+	+	+++++
Trimetoprim y sulfametoxazol	++	++	+++++	+	++++
Quinolonas	++	+	+++	+	++++
Metronidazol	++	++	+++++	+	++++
β-lactámicos	++	++++	+	++	+++
Cloranfenicol	++	++	+	+	+++
Tetraciclinas	++	++++	+++	+	+++
Isoniacida	++	+	+++	+	+++
Pirazinamida	++	+	+++	+	+++
Rifampicina	+++	++++	++++	+	++
Etambutol	++++	+	+	+	++
Clindamicina	++	+++++	+++	+	++
Aminoglucósidos	++	++	+	+	++
Glucopéptidos	+++++	++++	+	+	++
Macrólidos	+++	+++	++++	+++++	++
Daptomicina	+++	+++++	++	+	++
Colistina	++++	++	++	+	++

- Borramiento de las *tight juctions* [24].
- Incremento de la resistencia al flujo de LCR, lo que conlleva una reducción moderada de la producción y la reabsorción del mismo [24].
- La actividad de la glucoproteína P puede quedar inhibida por el aumento en la concentración de citoquinas proinflamatorias disminuyendo así su actividad como bomba de eflujo [25].

En la tabla 2, se recogen las propiedades físico-químicas de los principales grupos de antibióticos y su capacidad de difusión a través de la BHE.

**β-lactámicos.** Por lo general, son moléculas de baja masa molecular (400 Da) con una unión variable a proteínas plasmáticas (0-95%), una liposolubilidad baja y con afinidad variable por las bombas de expulsión. En ausencia de inflamación meníngea su penetración es relativamente escasa [13,26]. Sin embargo, dado que la concentración que alcanzan en LCR es suficiente para superar la CMI de patógenos sensibles y que presentan una toxicidad relativamente baja, la dosis administrada se puede aumentar para garantizar concentraciones altas en LCR sin asumir un alto riesgo de efectos secundarios [27]. Dado que su administración intratecal favorece el desarrollo de crisis epilépticas no está indicada su administración por esta vía. Además, es necesario tener en cuenta que ciertas carbapenemas (sobre todo imipenem y ertapenem) disminuyen el umbral epiléptico también tras su administración por vía parenteral,

por lo que no se recomienda su uso en infecciones del SNC si existe otra alternativa [28]. El potencial epileptógeno de meropenem es menor y de hecho es el carbapenem recomendado, aunque también es capaz de favorecer el desarrollo de crisis, sobre todo en pacientes que toman ácido valproico, ya que disminuye los niveles plasmáticos de este antiepileptico. También cefepima, especialmente cuando se utiliza a dosis altas en pacientes con insuficiencia renal, puede producir convulsiones.

**Aminoglucósidos.** Presentan características bioquímicas similares a los β-lactámicos pero, al contrario de lo que ocurría con éstos [13], aparece la limitación de no poder aumentar las dosis debido a su nefro y ototoxicidad [29]. Su uso intratecal sería una alternativa terapéutica, rescatada recientemente en los pacientes con ventriculitis asociadas a sistemas de derivación ventricular y ocasionadas por bacterias gramnegativas multirresistentes (*Pseudomonas* spp., bacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido -BLEE-, *Acinetobacter* spp., etc.) [26,30].

**Trimetoprim y sulfametoxazol (cotrimoxazol).** Ambas moléculas son de pequeño tamaño y de carácter liposoluble [31], presentando buena difusión y siendo de elección en infecciones por *Nocardia* spp., una alternativa en el tratamiento de infecciones por *Listeria* spp. o en la toxoplasmosis. Asimismo, se consideran también una buena opción una vez conocemos los datos de sensibilidad en el antibiograma en caso de infecciones por *Staphylococcus* spp. y *Streptococcus pneumoniae* [26].

Tabla 3

Clasificación de los abscesos cerebrales según origen, localización, agentes etiológicos más frecuentes y tratamiento empírico.

ORIGEN	LOCALIZACIÓN	AGENTES ETIOLÓGICOS	TRATAMIENTO EMPÍRICO
<b>Por contingüedad (suelen ser únicos y de etiología polimicrobiana)</b>			
Otitis media crónica, otomastoiditis	Temporal Cerebeloso	Streptococcus spp. (aerobios y anaerobios), Anaerobios ( <i>Bacteroides</i> spp., <i>Prevotella</i> spp., <i>Fusobacterium</i> spp.), <i>Pseudomonas</i> spp., enterobacterias, <i>Haemophilus</i> spp.	Cefotaxima o ceftriaxona + metronidazol
Senos paranasales frontal, etmoidales maxilares esfenoidales	Frontal, parietal, esfenoidal	Streptococcus spp. (aerobios y anaerobios), anaerobios ( <i>Bacteroides</i> spp., <i>Prevotella</i> spp., <i>Fusobacterium</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., enterobacterias, <i>Haemophilus</i> spp.)	Cefotaxima o ceftriaxona + metronidazol
Cavidad oral	Frontal, temporal	Streptococcus spp. (aerobios y anaerobios), anaerobios ( <i>Bacteroides</i> spp., <i>Prevotella</i> spp., <i>Fusobacterium</i> spp.), <i>Pseudomonas</i> spp., enterobacterias, <i>Haemophilus</i> spp., <i>Actinomyces</i> .	Cefotaxima o ceftriaxona + metronidazol
Infección facial, osteomielitis craneal	Frontal o contigua a la infección	<i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., enterobacterias y <i>P. aeruginosa</i>	Linezolid/vancomicina + cefotaxima o ceftriaxona
Meningitis	Variable	Enterobacterias, L. monocytogenes, <i>Cryptococcus</i>	Consultar tratamiento específico según microorganismo
Por vía hematogena	[suelen ser múltiples y de etiología monomicrobiana; frecuentemente localizados en el territorio de la arteria cerebral media ACM]		
Origen pulmonar (ábsceso, empiema, bronquiectasias)	Territorio ACM	Streptococcus spp. (aerobios y anaerobios), Anaerobios ( <i>Bacteroides</i> spp., <i>Prevotella</i> spp., <i>Fusobacterium</i> spp.), <i>Pseudomonas</i> spp., enterobacterias, <i>Haemophilus</i> spp., <i>Actinomyces</i> spp., <i>Nocardia</i> spp., <i>Cryptococcus</i>	Cefotaxima o ceftriaxona + metronidazol (en inmunodeprimidos añadir cotrimoxazol para tratamiento de posible infección por <i>Nocardia</i> )
Endovascular, endocarditis		<i>S. aureus</i> <i>Streptococcus</i> del grupo viridans	Cloxacilina o vancomicina + gentamicina
Immunodepresión (inclusivo VIH)		<i>Nocardia</i> , <i>Toxoplasma gondii</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Cryptococcus</i> , <i>Candida</i> , <i>mucorales</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Scedosporium</i> , hongos dematiáceo, <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , enterobacterias, <i>Rhodococcus equi</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Acanthamoeba</i> , <i>Balamuthia</i> .	Consultar tratamiento específico según microorganismo
Áreas tropicales		<i>Schistosoma japonicum</i> , <i>Entamoeba histolytica</i> , <i>Paragonimus</i> , <i>Naegleria fowleri</i> , <i>Taenia solium</i> , <i>Echinococcus</i> .	Consultar tratamiento específico según microorganismo
<b>Inoculación directa</b>			
Posttraumáticos	Contiguo	<i>S. aureus</i> , enterobacterias, anaerobios, <i>Streptococcus</i> spp.	Linezolid/vancomicina + ceftazidima ± metronidazol
Postneurocirugía	Meningitis o absceso post-cirugía	Más frecuente: bacilos gramnegativos ( <i>Klebsiella</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Acinetobacter</i> ), <i>S. aureus</i> , ECN, <i>Enterococcus</i> .	Linezolid/vancomicina/Teicoplanina+ceftazidima/cefepima/metopenem
	Derivación de LCR	Más frecuente: ECN, <i>S. aureus</i> , bacilos gramnegativos, <i>Propionibacterium acnes</i> .	Linezolid/vancomicina/teicoplanina+ceftazidima/cefepima/metopenem + rifampicina
Sin foco aparente			
"Criptogénicos"	Territorio ACM	<i>Streptococcus</i> spp., anaerobios, <i>S. aureus</i> , enterobacterias, <i>L. monocytogenes</i> , <i>Actinomyces</i>	Cefotaxima o ceftriaxona + metronidazol ± linezolid/vancomicina (en inmunodeprimidos añadir ampicilina por posible infección por <i>L. monocytogenes</i> )

ACM: arteria cerebral media  
ECN: estafilococo coagulasa negativo

**Tabla 4****Agentes etiológicos y tratamiento empírico según edad y enfermedades concomitantes.**

EDAD	AGENTES ETIOLÓGICOS	TRATAMIENTO EMPÍRICO
Neonatos	<i>Streptococcus</i> spp. (grupo B) <i>Bacilos gramnegativos (E. coli)</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>N. meningitidis</i> <i>S. pneumoniae</i>	Ampicilina + cefotaxima
Menores de 6 años	<i>N. meningitidis</i> <i>S. pneumoniae</i> <i>H. influenzae</i> tipo b	Cefotaxima + vancomicina
Mayores de 6 años y adultos jóvenes	<i>N. meningitidis</i> <i>S. pneumoniae</i> <i>H. influenzae</i> tipo b	Cefalosporina 3º + vancomicina o linezolid
Mayores de 50 años	<i>S. pneumoniae</i> <i>N. meningitidis</i> <i>Bacilos gramnegativos</i> <i>L. monocytogenes</i>	Cefalosporina 3º+vancomicina o linezolid+ ampicilina
<b>ENFERMEDADES DEBILITANTES Y/O CONCOMITANTES</b>		
Neurocirugía y derivaciones de LCR	<i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i> Bacilos gramnegativos nosocomiales <i>P. acnes</i>	Ceftazidima o cefepima o meropenem + vancomicina o linezolid
Fistulas de LCR y TCE y fracturas craneales	<i>S. pneumoniae</i> <i>H. influenzae</i> tipo b <i>Enterobacterias</i> <i>Staphylococcus</i> spp.	Cefalosporina 3º o cefepima + vancomicina o linezolid
Neumonía, esplenectomía, alcoholismo, cirrosis	<i>S. pneumoniae</i> <i>H. influenzae</i> <i>N. meningitidis</i>	Cefalosporina 3º + vancomicina o linezolid
Diabetes mellitus y otras enfermedades debilitantes	<i>S. pneumoniae</i> <i>S. aureus</i> <i>Enterobacterias</i> <i>L. monocytogenes</i>	Cefepima o ceftazidima o meropenem +vancomicina o linezolid+ ampicilina
Inmunodeprimidos y pacientes oncológicos	<i>S. pneumoniae</i> <i>L. monocytogenes</i> Bacilos gramnegativos	Cefepima o ceftazidima o meropenem +vancomicina o linezolid+ ampicilina
Sinusitis, otomastoiditis	<i>S. pneumoniae</i> <i>H. influenzae</i> tipo b <i>N. meningitidis</i> Bacilos gramnegativos	Cefalosporina 3º + vancomicina o linezolid

TCE: traumatismo cráneo-encefálico.

Tabla 5 Tratamiento de la meningitis bacteriana aguda [10,19,20].

ETIOLOGÍA	DURACIÓN	TRATAMIENTO ALTERNATIVO	TRATAMIENTO DE ELECCIÓN
MAB por bacteria desconocida (Gram no disponible, ausencia lesiones cutáneas y/o foco primario)	14-21 días	Cefalosporina 3 <sup>a</sup> generación <sup>a</sup> + vancomicina o linezolid + ampicilina (si >50 años o inmunodéprimido)	Meropenem + ampicilina
MAB y tinción de Gram orientadora			
Diplococos grampositivos			Cefalosporina 3 <sup>a</sup> generación <sup>a</sup> ± vancomicina
Cocos grampositivos en racimo			Cloxacilina o vancomicina ± rifampicina
Cocobacilos gramnegativos			Cefalosporina 3 <sup>a</sup> generación <sup>a</sup>
Diplococos gramnegativos			Cefalosporina 3 <sup>a</sup> generación <sup>a</sup>
Bacilos gramnegativos			Cefalosporina 3 <sup>a</sup> generación <sup>a</sup> o meropenem
Bacilos grampositivos			Ampicilina ± gentamicina
<i>Streptococcus pneumoniae</i>			
CMI penicilina <0,1 mg/l			Penicilina G sódica o ampicilina
CMI penicilina 0,1-1 mg/l			Cefalosporina 3 <sup>a</sup> generación <sup>a</sup>
CMI penicilina ≥2 mg/l			Cefotaxima + vancomicina
CMI cefotaxima 0,5-1 mg/l			Cefotaxima + vancomicina
CMI cefotaxima ≥2 mg/l			Cefotaxima + vancomicina + rifampicina
<i>Neisseria meningitidis</i>			
CMI penicilina <0,1 mg/l			Penicilina G sódica o ampicilina
CMI penicilina 0,1-1 mg/l			Cefalosporina de 3 <sup>a</sup> generación <sup>a</sup>
<i>Haemophilus influenzae</i>			
No productor de β-lactamasas			Ampicilina
Productor de β-lactamasas			Cefalosporina 3 <sup>a</sup> generación <sup>a</sup>
<i>Streptococcus agalactiae</i>			Penicilina o ampicilina + gentamicina
<i>Listeria monocytogenes</i>			Ampicilina ± gentamicina
<i>Staphylococcus aureus</i>			Cloxacilina ± rifampicina
Sensible a cloxacilina			Vancomicina ± rifampicina
Resistente a cloxacilina			
<i>Enterococcus</i> spp.			
Sensible a ampicilina			Ampicilina + gentamicina
Resistente a ampicilina			Vancomicina + gentamicina
Resistente a ampicilina y vancomicina			Linezolid
<i>Staphylococcus epidermidis</i> y otros <i>Staphylococcus coagulasa negativos</i>			
Sensible a cloxacilina			Cloxacilina ± rifampicina
Resistente a cloxacilina			Vancomicina o linezolid ± rifampicina
<i>Bacilos gramnegativos</i>			
( <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , ...)			Cefalosporina de 3 <sup>a</sup> generación <sup>a</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			Ceftazidima o Cefepima + tobramicina ± intratecal
<i>Acinetobacter baumannii</i>			Meropenem o sulbactam ± rifampicina
<i>Proteobacterium acnes</i>			Penicilina G sódica + rifampicina
<i>Bacillus</i> spp.			Vancomicina + gentamicina
<i>MAB</i> : meningitis aguda bacteriana; <sup>a</sup> :cefotaxima o ceftriaxona			Meropenem o ciprofloxacino

**Glucopéptidos.** Se trata de grandes moléculas hidrosolubles con una considerable unión a proteínas. Por su elevado peso molecular, la penetración de los glucopéptidos al LCR está muy limitada cuando la BHE está intacta, consiguiendo una concentración en LCR por debajo o que escasamente llega a la CMI [13]. Incluso en presencia de inflamación meníngea, la concentración de vancomicina en LCR puede ser baja, por lo que será necesaria la administración inicialmente de altas dosis (60 µg/Kg/día) para luego ajustar y obtener un nivel valle de vancomicina de 15-20 µg/ml [32]. Debido a la fuerte unión a proteínas plasmáticas [33], la penetración de la teicoplanina en el SNC es aún más baja que vancomicina y queda relegado al uso intratecal [34].

**Quinolonas.** Se trata de pequeñas moléculas moderadamente liposoluble con baja unión a proteínas plasmáticas [13,35]. Su difusión es mayor que la de los β-lactámicos; sin embargo, su uso se ve reducido porque la actividad *in vitro* de la mayoría de las quinolonas es demasiado baja para tratar pacientes con meningitis por neumococo [36]. Son útiles para el tratamiento de infecciones del SNC producidas por bacilos gramnegativos aerobios (ciprofloxacino) una vez tenemos con los datos de sensibilidad en el antibiograma y como segunda línea en el tratamiento de la meningitis tuberculosa (moxifloxacino o levofloxacino) [37]. *Neisseria meningitidis* es muy sensible a ciprofloxacino y levofloxacino y constituyen una alternativa en pacientes alérgicos a betalactámicos. Su uso intratecal se considera innecesario dado el buen perfil de difusión.

**Macrólidos.** Los macrólidos presentan una liposolubilidad alta; sin embargo, en ausencia de inflamación meníngea, no alcanza suficiente nivel en LCR probablemente por su alta afinidad por la glucoproteína P [38,39]. Debido a esto y a los malos datos de sensibilidad *in vitro* en las infecciones neumocócicas, apenas se usan en infecciones del SNC [40]. Además, el perfil antimicrobiano puede ser superponible al de las quinolonas, cuya difusión a SNC es mucho mejor.

**Tetraciclinas.** La tetraciclina más usada en infecciones del SNC ha sido la doxiciclina, fármaco liposoluble con buena biodisponibilidad oral pero con alta unión a proteínas [41]. Se puede conseguir superar la CMI de patógenos sensibles con un incremento de dosis (400 mg/día) [42]. Tigeclicina, una glicilciclina, presenta una estructura similar a las tetraciclinas pero apenas alcanza en LCR el 10% de la concentración a la que llega en suero [13]. Solamente se han descrito casos aislados de tratamiento en infecciones del SNC y en general no está indicada su administración en infecciones del SNC excepto vía intratecal, con buenos resultados [43].

**Oxazolidinonas.** Las infecciones por cepas de microorganismos grampositivos resistentes a los antibacterianos de primera línea han motivado la búsqueda de nuevas moléculas antibacterianas. Entre ellas, cabe destacar linezolid por su efectividad frente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), *Enterococcus* spp., resistente a vancomicina y *S. pneumoniae* con sensibilidad disminuida a penicilina y ceftriaxona. La peculiaridad de esta molécula es su carácter anfipático, al

poseer un extremo polar o hidrofilico y otro apolar/hidrófobo, de forma que pueden adquirir una morfología estructural que facilita su difusión por la BHE, llegando a alcanzar relaciones  $AUC_{LCR}/AUC_{SUERO}$  cercanas a 1 [44,45]. Aunque se utiliza con éxito y son diversas las publicaciones en este sentido, tanto de casos como series de casos [46], no se reconoce como una indicación en ficha técnica pero ya aparece en alguna guía de meningitis [47]. Otra ventaja es que su biodisponibilidad por vía oral es cercana al 100%, por lo que esta propiedad permite plantear un tratamiento secuencial oral en pacientes estables, con la consiguiente reducción en las estancias hospitalarias y costes sanitarios, sobre todo en pacientes con infecciones que precisan tratamientos antibióticos prolongados (abscesos cerebrales) [48]. Tradicionalmente se ha criticado el uso de antibióticos bacteriostáticos, como linezolid, en infecciones graves, como las que puedan afectar al SNC, pero el concepto de bacteriostático y bactericida hace referencia a datos *in vitro* y no tiene en cuenta factores como la difusión a SNC.

Con tedizolid no hay experiencia y solo se dispone de una publicación que analiza las concentraciones alcanzadas en SNC [49]. Aunque su uso no está muy extendido [50], cabría esperar que sea superponible a linezolid, con potenciales ventajas en cuanto a toxicidad en tratamientos prolongados e interacciones con otros fármacos al ser un inhibidor de la MAO-A y B débil y reversible, por lo que en principio el desarrollo de síndrome serotoninérgico con la administración simultanea de inhibidores de la recaptación de serotonina sería menos probable que con linezolid.

**Metronidazol y clindamicina.** Agrupamos estos dos fármacos por su actividad frente a anaerobios. El metronidazol es una molécula pequeña y liposoluble con buena penetración en la mayoría de los tejidos, inclusive en el SNC, donde se utiliza en el tratamiento empírico de infecciones que pudieran tener en su etiología microrganismos anaerobios (abscesos de foco dental, pulmonar o sinusal) [13,51]. Por el contrario, la clindamicina no difunde de forma adecuada al SNC y requeriría una administración a dosis muy elevadas para alcanzar niveles terapéuticos en el SNC [52].

En las tablas 3 y 4 se resumen el tratamiento empírico de los pacientes con infecciones del SNC según origen y localización, así como el tratamiento dirigido según agentes etiológicos más frecuentes.

**Antimicrobianos con actividad frente a *Mycobacterium tuberculosis*.** El tratamiento de los pacientes con meningitis tuberculosa se basa en la combinación de 4 fármacos (3 si no hay datos de resistencia a isoniacida ni rifampicina) durante los 2 primeros meses (isoniacida, rifampicina, pirazinamida y etambutol) para continuar hasta completar el año con rifampicina e isoniazida. Algunos aspectos interesantes de estos fármacos son:

- Pirazinamida e isoniacida son moléculas pequeñas moderadamente lipofílicas, con buena difusión al SNC, por lo que siempre deberían estar incluidas en el esquema terapéutico, a menos que estemos ante una cepa resistente o haya que usar una cobertura de segunda línea por alguna otra razón (quinolonas y amikacina) [53,54].

- Etambutol es una molécula grande e hidrofílica y rifampicina presenta una alta tasa de unión proteínas en relación con su liposolubilidad por lo que ambas tienen una difusión más limitada al SNC [13].

**Cloranfenicol.** Es un fármaco de amplio espectro pero de uso muy limitado en los países desarrollados por su riesgo de inducción de anemia aplásica. Actualmente, en nuestro medio, se reserva para casos de pacientes con alergia a  $\beta$ -lactámicos o para patógenos multirresistentes sin muchas opciones terapéuticas [55]. En países subdesarrollados sigue utilizándose para el tratamiento de la meningitis meningocócica, en relación con su alta eficacia *in vitro* y buena difusión a SNC.

**Fosfomicina.** Es un antibiótico bactericida. A pesar de ser hidrofílico, al no unirse apenas a proteínas y ser de pequeño tamaño, su difusión en el SNC es mayor aún que la de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos por lo que podría ser una opción adecuada en el tratamiento de infecciones del SNC [56], aunque no hay estudios al respecto y solo se han publicado algunos casos de pacientes con buena respuesta [57].

**Daptomicina.** Se trata de una gran molécula cíclica peptídica (parte hidrofílica) a la que se une una cadena lateral de ácido graso (parte lipofílica) que posee una gran actividad frente a bacterias grampositivas, sobre todo ante SARM o *Enterococcus* spp., resistente a ampicilina. A pesar de que su difusión está teóricamente limitada por su gran tamaño, existen algunas publicaciones que analizan su uso, con resultados aceptables en infecciones por microorganismos multirresistentes, probablemente impregnadas de un sesgo de publicación de casos con buena respuesta [58].

**Colistina.** Se trata de un antibiótico bactericida cuyo papel fundamental en infecciones del SNC es su actividad frente a *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenemas [54]. Su difusión al SNC tras la administración intravenosa puede llegar a ser de hasta un 25%. Su elevada nefrotoxicidad, aunque teóricamente reversible, dificulta los incrementos de dosis necesarios para contrarrestar la limitación de una CMI elevada. Dado que *A. baumannii* normalmente se asocia a infecciones de drenajes ventriculares externos, se recomienda su administración por vía intratecal [59].

## ADMINISTRACIÓN DE ANTIBIÓTICOS POR VÍA INTRATECAL

La vía intratecal permite la administración directa en LCR de un antibiótico a través de un drenaje ventricular externo. Se considera una opción terapéutica en pacientes con meningitis o ventriculitis de carácter nosocomial y asociadas a procedimientos neuroquirúrgicos y/o derivaciones ventriculares externas (DVE) o internas, en las que los microrganismos presentan perfiles de multirresistencia a antibióticos y que precisan una DVE por alguna razón neuroquirúrgica (dilatación ventricular), aunque no está indicada ni contemplada por la FDA. Se debe administrar lentamente y con un volumen de líquido pequeño, y tras la infusión, es preciso cerrar el drenaje durante 30-60 minutos, algo que no todos los pacientes que precisan una DVE pueden tolerar. Por lo general, se

recomienda su administración simultánea por vía parenteral, para conseguir un "equilibrio" entre las concentraciones en LCR y en plasma que favorezca la entrada del antibiótico a través de la BHE. Algunos autores consideran que la administración de antibióticos por esta vía podría alterar la "compliance" ventricular como consecuencia de la manipulación frecuente de la DVE, ocasionando "ventrículos rígidos" o hidrocefalias complejas [60].

Los antimicrobianos que más se han usado han sido gentamicina, vancomicina, colistina y, recientemente, daptomicina. Las mayores concentraciones de estos antimicrobianos se obtienen al usar la vía intraventricular en comparación a la vía intralumbar. Su vida media prolongada en LCR permitiría una administración diaria. No hay consenso sobre la duración del tratamiento intratecal en una ventriculitis, aunque habitualmente se efectúa hasta obtener unos 3-4 cultivos consecutivos de LCR negativos [61].

En las tablas 4 y 5 se recogen los antibióticos recomendados en el tratamiento de las infecciones del SNC y otros aspectos relacionados con el tratamiento de los pacientes con meningitis bacterianas.

## 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. Erdem H, Inan A, Guven E, Hargreaves S, Larsen L, Shehata G, et al. The burden and epidemiology of community-acquired central nervous system infections: a multinational study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2017; 36(9):1595-611. DOI: 10.1007/s10096-017-2973-0.
2. Goldstein GW, Betz AL. The blood-brain barrier. Sci Am. 1986; 255(3):74-83. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3749857>
3. Pascual Garvi JM, González Llanos F, Prieto Arribas R, Cerdán S, Roda JM. Blood brain barrier: development of a structure which supports the functional heterogeneity of the central nervous system. Rev Neurol. 2004; 38(6):565-81. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15054722>
4. Reese TS, Karnovsky MJ. Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase. J Cell Biol. 1967; 34(1):207-17. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6033532>
5. Nabeshima S, Reese TS, Landis DM, Brightman MW. Junctions in the meninges and marginal glia. J Comp Neurol. 1975; 164(2):127-69. DOI: 10.1002/cne.901640202
6. Banerjee S, Bhat MA. Neuron-Glial Interactions in Blood-Brain Barrier Formation. Annu Rev Neurosci. 2007; 30:235-58. DOI: 10.1146/annurev.neuro.30.051606.094345

7. Magistretti PJ, Pellerin L. The astrocyte-mediated coupling between synaptic activity and energy metabolism operates through volume transmission. *Prog Brain Res.* 2000; 125:229–40. DOI: 10.1016/S0079-6123(00)25013-9
8. Liu X, Van Natta K, Yeo H, Vilenski O, Weller PE, Worboys PD, et al. Unbound drug concentration in brain homogenate and cerebral spinal fluid at steady state as a surrogate for unbound concentration in brain interstitial fluid. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem.* 2009; 37(4):787–93. DOI: 10.1124/dmd.108.024125
9. Shapiro WR, Young DF, Mehta BM. Methotrexate: distribution in cerebrospinal fluid after intravenous, ventricular and lumbar injections. *N Engl J Med.* 1975; 293(4):161–6. DOI: 10.1056/NEJM197507242930402
10. Kaiser AB, McGee ZA. Aminoglycoside therapy of gram-negative bacillary meningitis. *N Engl J Med.* 1975; 293(24):1215–20. DOI: 10.1056/NEJM197512112932401
11. Reese TS, Feder N, Brightman MW. Electron microscopic study of the blood-brain and blood-cerebrospinal fluid barriers with microperoxidase. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1971; 30(1):137–8. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5542523
12. Fenstermacher JD, Blasberg RG, Patlak CS. Methods for Quantifying the transport of drugs across brain barrier systems. *Pharmacol Ther.* 1981; 14(2):217–48. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7031708
13. Nau R, Sörgel F, Eiffert H. Penetration of drugs through the blood-cerebrospinal fluid/blood-brain barrier for treatment of central nervous system infections. *Clin Microbiol Rev.* 2010; 23(4):858–83. DOI: 10.1128/CMR.00007-10
14. Felgenhauer K. Protein filtration and secretion at human body fluid barriers. *Pflugers Arch.* 1980; 384(1):9–17. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7189872
15. Levin VA. Relationship of octanol/water partition coefficient and molecular weight to rat brain capillary permeability. *J Med Chem.* 1980; 23(6):682–4. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7392035
16. Ohno K, Pettigrew KD, Rapoport SI. Lower limits of cerebrovascular permeability to nonelectrolytes in the conscious rat. *Am J Physiol.* 1978; 235(3):H299–307. DOI: 10.1152/ajpheart.1978.235.3.H299
17. Radouane A, Péhourcq F, Tramu G, Creppy EE, Bannwarth B. Influence of lipophilicity on the diffusion of cephalosporins into the cerebrospinal fluid. *Fundam Clin Pharmacol.* 1996; 10(3):309–13. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8836706
18. van Bree JB, de Boer AG, Danhof M, Ginsel LA, Breimer DD. Characterization of an "in vitro" blood-brain barrier: effects of molecular size and lipophilicity on cerebrovascular endothelial transport rates of drugs. *J Pharmacol Exp Ther.* 1988; 247(3):1233–9. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3204515
19. Spector R. Nature and consequences of mammalian brain and CSF efflux transporters: four decades of progress. *J Neurochem.* 2010; 112(1):13–23. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2009.06451.x
20. Miller DS, Bauer B, Hartz AMS. Modulation of P-glycoprotein at the blood-brain barrier: opportunities to improve central nervous system pharmacotherapy. *Pharmacol Rev.* 2008; 60(2):196–209. DOI: 10.1124/pr.107.07109
21. Aller SG, Yu J, Ward A, Weng Y, Chittaboina S, Zhuo R, et al. Structure of P-glycoprotein reveals a molecular basis for poly-specific drug binding. *Science.* 2009; 323(5922):1718–22. DOI: 10.1126/science.1168750
22. Nagata Y, Kusuvara H, Endou H, Sugiyama Y. Expression and functional characterization of rat organic anion transporter 3 (rOat3) in the choroid plexus. *Mol Pharmacol.* 2002; 61(5):982–8. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11961115
23. Spector R. Ceftriaxone pharmacokinetics in the central nervous system. *J Pharmacol Exp Ther.* 1986; 236(2):380–3. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3080583
24. Scheld WM, Dacey RG, Winn HR, Welsh JE, Jane JA, Sande MA. Cerebrospinal fluid outflow resistance in rabbits with experimental meningitis. Alterations with penicillin and methylprednisolone. *J Clin Invest.* 1980; 66(2):243–53. DOI: 10.1172/JCI109850
25. von Wedel-Parlow M, Wölfe P, Galla H-J. Regulation of major efflux transporters under inflammatory conditions at the blood-brain barrier in vitro. *J Neurochem.* 2009; 111(1):111–8. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2009.06305.x
26. Mensa J, Gatell JM, García-Sánchez, J E, Letang E, López-Suñé E, Marco F. Guía de terapéutica antimicrobiana. 27th ed. Barcelona: Antares; 2017.
27. Viladrich PF, Cabellos C, Pallares R, Tubau F, Martínez-Lacasa J, Liñares J, et al. High doses of cefotaxime in treatment of adult meningitis due to *Streptococcus pneumoniae* with decreased susceptibilities to broad-spectrum cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996; 40(1):218–20. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8787909
28. Wong VK, Wright HT, Ross LA, Mason WH, Inderlied CB, Kim KS. Imipenem/cilastatin treatment of bacterial meningitis in children. *Pediatr Infect Dis J.* 1991; 10(2):122–5. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2062603
29. Nau R, Scholz P, Sharifi S, Rohde S, Kolenda H, Prange HW. Neftilmicin cerebrospinal fluid concentrations after an intravenous infusion of 400 mg in patients without meningeal inflammation. *J Antimicrob Chemother.* 1993; 32(6):893–6. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8144430
30. Mitjà O, Pigrau C, Ruiz I, Vidal X, Almirante B, Planes A-M, et al. Predictors of mortality and impact of aminoglycosides on outcome in listeriosis in a retrospective cohort study. *J Antimicrob Chemother.* 2009; 64(2):416–23. DOI: 10.1093/jac/dkp180
31. Wang EE, Prober CG. Ventricular cerebrospinal fluid concentrations of trimethoprim-sulphamethoxazole. *J Antimicrob Chemother.* 1983; 11(4):385–9. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6602124
32. Caricato A, Pennisi M, Mancino A, Vigna G, Sandroni C, Arcangeli A, et al. Levels of vancomycin in the cerebral interstitial fluid after severe head injury. *Intensive Care Med.* 2006; 32(2):325–8. DOI: 10.1007/s00134-005-0015-3
33. Stahl JP, Croize J, Wolff M, Garaud JJ, Leclercq P, Vachon F, et al. Poor penetration of teicoplanin into cerebrospinal fluid in patients with bacterial meningitis. *J Antimicrob Chemother.* 1987; 20(1):141–2. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2957347

34. Losonsky GA, Wolf A, Schwalbe RS, Nataro J, Gibson CB, Lewis EW. Successful treatment of meningitis due to multiply resistant *Enterococcus faecium* with a combination of intrathecal teicoplanin and intravenous antimicrobial agents. *Clin Infect Dis* 1994; 19(1):163–5. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7948523>
35. Bergogne-Béréniz E. Clinical role of protein binding of quinolones. *Clin Pharmacokinet*. 2002; 41(10):741–50. DOI: 10.2165/00003088-200241100-00004
36. Nau R, Schmidt T, Kaye K, Froula JL, Täuber MG. Quinolone antibiotics in therapy of experimental pneumococcal meningitis in rabbits. *Antimicrob Agents Chemother*. 1995; 39(3):593–7. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7793857>
37. Alffenaar JWC, van Altena R, Bökkerink HJ, Luijckx GJ, van Soolingen D, Aarnoutse RE, et al. Pharmacokinetics of moxifloxacin in cerebrospinal fluid and plasma in patients with tuberculous meningitis. *Clin Infect Dis* 2009; 49(7):1080–2. DOI: 10.1086/605576
38. Schinkel AH. P-Glycoprotein, a gatekeeper in the blood-brain barrier. *Adv Drug Deliv Rev*. 1999; 36(2–3):179–94. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10837715>
39. Periti P, Mazzei T, Mini E, Novelli A. Clinical pharmacokinetic properties of the macrolide antibiotics. Effects of age and various pathophysiological states (Part II). *Clin Pharmacokinet*. 1989; 16(5):261–82. DOI: 10.2165/00003088-198916050-00001
40. Schmidt T, Froula J, Täuber MG. Clarithromycin lacks bactericidal activity in cerebrospinal fluid in experimental pneumococcal meningitis. *J Antimicrob Chemother*. 1993; 32(4):627–32. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8288505>
41. Agwu KN, MacGowan A. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the tetracyclines including glycylcyclines. *J Antimicrob Chemother*. 2006; 58(2):256–65. DOI: 10.1093/jac/dkl224
42. Yim CW, Flynn NM, Fitzgerald FT. Penetration of oral doxycycline into the cerebrospinal fluid of patients with latent or neurosyphilis. *Antimicrob Agents Chemother*. 1985; 28(2):347–8. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3834836>
43. Rodvold KA, Gotfried MH, Cwik M, Korth-Bradley JM, Dukart G, Ellis-Grosse EJ. Serum, tissue and body fluid concentrations of tigecycline after a single 100 mg dose. *J Antimicrob Chemother*. 2006; 58(6):1221–9. DOI: 10.1093/jac/dkl403
44. Beer R, Engelhardt KW, Pfausler B, Broessner G, Helbok R, Lackner P, et al. Pharmacokinetics of intravenous linezolid in cerebrospinal fluid and plasma in neurointensive care patients with staphylococcal ventriculitis associated with external ventricular drains. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007; 51(1):379–82. DOI: 10.1128/AAC.00515-06
45. Villani P, Regazzi MB, Marubbi F, Viale P, Pagani L, Cristini F, et al. Cerebrospinal fluid linezolid concentrations in postneurosurgical central nervous system infections. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002; 46(3):936–7. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11850294>
46. Sousa D, Llinares P, Meijide H, Gutiérrez JM, Miguez E, Sánchez E, et al. Clinical experience with linezolid for the treatment of neurosurgical infections. *Rev Esp Quimioter*. 2011; 24(1):42–7. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21412669>
47. Van de Beek D, Cabellos C, Dzupova O, Esposito S, Klein M, Kloek AT, et al. ESCMID guideline: diagnosis and treatment of acute bacterial meningitis. *Clin Microbiol Infect*. 2016; 22 Suppl 3:S37–62. DOI: 10.1016/j.cmi.2016.01.007
48. Rupprecht TA, Pfister H-W. Clinical experience with linezolid for the treatment of central nervous system infections. *Eur J Neurol*. 2005; 12(7):536–42. DOI: 10.1111/j.1468-1331.2005.01001.x
49. Gómez J, García-Vázquez E, Martínez Pérez M, Martínez Lage JF, González Tortosa J, Pérez Espejo MA, et al. [Brain abscess. The experience of 30 years]. *Med Clin (Barc)*. 2008; 130(19):736–9. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18570799>
50. Cattaneo D, Alffenaar J-W, Neely M. Drug monitoring and individual dose optimization of antimicrobial drugs: oxazolidinones. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2016; 12(5):533–44. DOI: 10.1517/17425255.2016.1166204
51. Matin A, Sharma S, Mathur P, Apewokin SK. Myelosuppression-sparing treatment of central nervous system nocardiosis in a multiple myeloma patient utilizing a tedizolid-based regimen: a case report. *Int J Antimicrob Agents*. 2017; 49(4):488–92. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2016.11.032
52. Jokipii AM, Myllylä W, Hokkanen E, Jokipii L. Penetration of the blood brain barrier by metronidazole and tinidazole. *J Antimicrob Chemother*. 1977; 3(3):239–45. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/873873>
53. Gatti G, Malena M, Casazza R, Borin M, Bassetti M, Cruciani M. Penetration of clindamycin and its metabolite N-demethylclindamycin into cerebrospinal fluid following intravenous infusion of clindamycin phosphate in patients with AIDS. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998; 42(11):3014–7. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9797245>
54. Ellard GA, Humphries MJ, Allen BW. Cerebrospinal fluid drug concentrations and the treatment of tuberculous meningitis. *Am Rev Respir Dis*. 1993; 148(3):650–5. DOI: 10.1164/ajrccm/148.3.650
55. Jiménez-Mejías ME, Richardo-Guerrero C, Márquez-Rivas FJ, Martín-Lozano D, Prados T, Pachón J. Cerebrospinal fluid penetration and pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters of intravenously administered colistin in a case of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* meningitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2002; 21(3):212–4. DOI: 10.1007/s10096-001-0680-2
56. Yoge R, Kolling WM, Williams T. Pharmacokinetic comparison of intravenous and oral chloramphenicol in patients with *Haemophilus influenzae* meningitis. *Pediatrics*. 1981; 67(5):656–60. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6973130>
57. Kühnen E, Pfeifer G, Frenkel C. Penetration of fosfomycin into cerebrospinal fluid across non-inflamed and inflamed meninges. *Infection*. 1987; 15(6):422–4. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3436673>
58. Pfausler B, Spiss H, Dittrich P, Zeitlinger M, Schmutzhard E, Joukhadar C. Concentrations of fosfomycin in the cerebrospinal fluid of neurointensive care patients with ventriculostomy-associated ventriculitis. *J Antimicrob Chemother*. 2004; 53(5):848–52. DOI: 10.1093/jac/dkh158
59. Lee DH, Palermo B, Chowdhury M. Successful treatment of methi-

- cillin-resistant *staphylococcus aureus* meningitis with daptomycin.  
Clin Infect Dis. 2008; 47(4):588–90. DOI: 10.1086/590257
60. Markantonis SL, Markou N, Fousteri M, Sakellaridis N, Karatzas S, Alamanos I, et al. Penetration of colistin into cerebrospinal fluid. Antimicrob Agents Chemother. 2009; 53(11):4907–10. DOI: 10.1128/AAC.00345-09
61. Remeš F, Tomáš R, Jindrák V, Vaniš V, Setlík M. Intraventricular and lumbar intrathecal administration of antibiotics in post-neurosurgical patients with meningitis and/or ventriculitis in a serious clinical state. J Neurosurg. 2013; 119(6):1596–602. DOI: 10.3171/2013.6.JNS122126
62. Tunkel AR, Hasbun R, Bhimraj A, Byers K, Kaplan SL, Michael Scheld W, et al. 2017 Infectious Diseases Society of America's Clinical Practice Guidelines for Healthcare-Associated Ventriculitis and Meningitis. Clin Infect Dis. 2017 Feb 14; DOI: 10.1093/cid/ciw861

## Original

Maria del Monte Jarabo<sup>1</sup>

Maria Ángeles Asencio<sup>1</sup>

Rafael Carranza<sup>1</sup>

Óscar Herráez<sup>1</sup>

Maria Huertas<sup>1</sup>

Ángel Arias-Arias<sup>1</sup>

Olga Redondo<sup>1</sup>

Maria Ángeles Galán<sup>2</sup>

Maria Soledad Illescas<sup>3</sup>

Pilar Zamarrón<sup>4</sup>

Sonia Solís<sup>5</sup>

Silvia Jiménez-Alvarez<sup>6</sup>

# Proyecto URISCAM: Evaluación multicéntrica del citómetro UF-Series en el despistaje de infecciones urinarias

<sup>1</sup>Hospital General La Mancha Centro, Alcázar de San Juan, Ciudad Real.

<sup>2</sup>Hospital General Nuestra Señora del Prado, Talavera de la Reina, Toledo.

<sup>3</sup>Hospital General Universitario de Ciudad Real, Ciudad Real.

<sup>4</sup>Hospital Virgen de la Salud, Toledo.

<sup>5</sup>Hospital Universitario de Guadalajara, Guadalajara.

<sup>6</sup>Hospital Santa Bárbara, Puertollano, Ciudad Real.

### Article history

Received: 13 June 2017; Revision Requested: 5 July 2017; Revision Received: 12 September 2017; Accepted: 30 November 2017

## RESUMEN

**Introducción.** El urocultivo, prueba de referencia para confirmar la existencia de Infección del tracto urinario (ITU), es la solicitud más demandada a Microbiología. Nuestro objetivo fue determinar la rentabilidad diagnóstica del citómetro UF-Series como método de cribado en la detección de ITU.

**Material y métodos.** Se analizaron las orinas remitidas a los seis laboratorios de Microbiología participantes en un periodo de 5 días laborables. Se recogieron variables demográficas y de origen de la muestra, tipo de muestra (orina de media micción, sondaje, nefrostomía), recogida con/sin ácido bórico, lectura del citómetro (leucocituria, bacteriuria, morfología bacteriana y células epiteliales) y resultado del urocultivo. Para determinar la capacidad predictiva del citómetro se representaron las curvas ROC.

**Resultados.** Se procesaron 2.468 muestras de pacientes con edad media de 53 años (ratio mujeres:hombres 2:1). El urocultivo detectó un 23% de orinas positivas. Las variables predictoras de ITU fueron: lectura morfológica de bacilos, bacteriuria  $\geq 21$  bacterias/ $\mu\text{L}$ , edad  $\geq 65$  años, procedencia de las muestras recogidas en urgencias y hospitalización, y presencia de conservante. Con el punto de corte de 21 bacterias, obtuvimos una sensibilidad del 93,3% y un VPN del 94,5%, lo que permitiría dejar de sembrar el 28,9% de las orinas recibidas con 1,6% de falsos negativos.

**Conclusiones.** Consideramos que el UF-Series es una herramienta válida y precisa para la detección de ITU, por lo que podría utilizarse como cribado previo al urocultivo en la práctica clínica, reduciendo el número de orinas a sembrar en aproximadamente un 30% con una tasa baja de falsos negativos.

**PALABRAS CLAVE:** infección del tracto urinario, urocultivo, cribado, Sysmex UF-Series

Correspondencia:

Maria del Monte Jarabo Bueno

Servicio de Análisis Clínicos. Hospital General La Mancha Centro

Avenida de la Constitución 3. 13600 Alcázar de San Juan, Ciudad Real

Teléfono: 926 580966

Fax: 926 546882

E-mail: mdjarabo@sescam.jccm.es

## URISCAM project: Multicenter evaluation of the UF-Series cytometer in the urinary tract infections screening

**Introduction.** Urine culture, the gold standard to confirm the presence of urinary tract infection (UTI), is the most requested assay in the microbiology department. Our objective was to determine the diagnostic yield of the UF-Series cytometer as a screening method for UTI.

**Material and methods.** All the urine samples sent to the six Microbiology Laboratories participating in a period of 5 working days were analyzed. We collected demographic variables, apart from those variables related to urine samples: source and sample type (midstream, catheterized or nephrostomy urines), collection with/without boric acid, cytometer parameters (leukocyturia, bacteriuria, bacteria morphology and epithelial cells) and urine culture results. ROC curves were plotted to determine predictive capacity of the cytometer.

**Results.** A sample of 2,468 patients with average age of 53 years were processed (ratio women:men 2:1). Urine culture detected 23% of positive urine samples. The predictor variables of UTI were: morphology of bacilli, bacteriuria  $\geq 21$  bacteria/ $\mu\text{L}$ , age  $\geq 65$  years, samples collected in the emergency service and hospitalization and preserving conditions. With 21 bacteria/ $\mu\text{L}$  as a cut-off point, we obtained a sensitivity of 93.3% and 94.5% negative predictive value, then reducing the samples to be cultured by 28.9% with 1.6% false negatives.

**Conclusions.** We consider that the UF-Series is a valid and accurate tool for the detection of UTI. Therefore, it could be used as screening method in the clinical practice prior to the urine culture, reducing culture requirement by approximately 30%, with a low false negative rate.

**KEYWORDS:** urinary tract infection, urine culture, screening, Sysmex UF-Series

## INTRODUCCIÓN

Las infecciones del tracto urinario (ITU) son las más frecuentes después de las respiratorias. El urocultivo es la prueba diagnóstica de referencia para confirmar la existencia de una ITU, pero conlleva una demora en la emisión de un resultado definitivo de entre 24-48 horas en el mejor de los casos. Además, el número de solicitudes de urocultivo excede con mucho las recomendaciones de las guías clínicas [1], lo que unido al bajo rendimiento de los cultivos, incluso en pacientes con los síntomas típicos de ITU [1], supone una sobrecarga de trabajo injustificada para la plantilla del laboratorio de Microbiología.

La utilización de un sistema de cribado de orinas para cultivo con un elevado valor predictivo negativo (VPN) y una alta sensibilidad, rápido y eficaz, podría ser de gran utilidad para ofrecer un resultado negativo al clínico en un breve periodo de tiempo. Con ello, disminuiría la prescripción de antibióticos innecesarios y el volumen de urocultivos a procesar, con la consiguiente optimización de los recursos del laboratorio [2,3]. El método de cribado de orinas más comúnmente utilizado en los últimos años ha sido la citometría de flujo [1-12], con distintas versiones que incluyen o no fluorescencia para detectar los elementos formes encontrados en orina. Sin embargo, los resultados obtenidos son muy variables [3,4,9,14-16] y no hay consenso en cuanto a los parámetros a evaluar [6-8], ni sobre el punto óptimo de corte de dichos parámetros, con variaciones en función del tipo de estudio y la población seleccionada [13-16]. Las últimas versiones del citómetro UF-Series de Sysmex (UF-1000i o UF-500i), incorporan la detección de la morfología bacteriana al conjunto de parámetros analizados del resto de elementos celulares.

El objetivo de nuestro estudio fue determinar la validez y precisión del citómetro UF-Series en la detección de ITU y/o bacteriuria asintomática (BA) como método de cribado previo al urocultivo, en un grupo de pacientes representativos de las peticiones habituales que llegan al laboratorio de Microbiología de varios hospitales del Servicio de Salud de Castilla La Mancha (SESCAM).

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un estudio diagnóstico, observacional, prospectivo y multicéntrico, en un área sanitaria de Castilla La Mancha de 1.237.344 habitantes. Los centros participantes fueron 6 hospitales públicos del SESCAM: Hospital General La Mancha Centro, Alcázar de San Juan, Ciudad Real; Hospital Santa Bárbara, Puertollano, Ciudad Real; Hospital Virgen de La Salud, Toledo; Hospital Universitario de Guadalajara, Guadalajara; Hospital General Universitario de Ciudad Real, Ciudad Real y Hospital Nuestra Señora del Prado, Talavera de la Reina, Toledo.

Se analizaron las orinas remitidas a los distintos servicios de Microbiología para descartar la presencia de ITU y/o BA, procedentes de las plantas de Hospitalización, Urgencias, Con-

sultas externas y los distintos Centros de Salud pertenecientes al área sanitaria de cada hospital de referencia. Se procesaron todas las muestras recibidas en un periodo de 5 días laborables, entre las 8:00 y las 14:00 h. El criterio de recogida fue uniforme, según el Procedimiento de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) [16], en botes estériles refrigerados de 100 mL o en viales con/sin ácido bórico de 10 mL, dependiendo de la infraestructura de cada hospital. Se pretendió así reproducir los resultados según la forma de trabajo habitual. Únicamente se excluyeron las muestras intensamente hemáticas y las muy viscosas o turbias debido a su alta concentración leucocitaria, siguiendo las especificaciones técnicas del citómetro evaluado (Sysmex, Kobe, Japan). La persona encargada de procesar las muestras en el UF-Series fue formada previamente por especialistas de producto de Sysmex. En función del tipo de hospital participante las determinaciones fueron realizadas en un UF-1000i o bien un UF-500i, cuya única diferencia operacional es la velocidad de procesado de las muestras: 100 muestras/hora para el primero y 60 muestras/hora para el segundo, sin que esto afecte a la interpretación de resultados.

El transporte de las muestras desde los centros de extracción periféricos se realizó en neveras homologadas para tal efecto. El procesamiento de las muestras se hizo entre 2-4 horas desde su recogida, analizándose lo más rápido posible una vez en el laboratorio. En primer lugar, la orina fue sembrada para recuento de colonias con un asa calibrada de 10  $\mu$ L en agar sangre y en un medio selectivo de bacilos gramnegativos tipo Mac Conkey, según la rutina de cada laboratorio, incubándose a 35°C durante 18-24 horas. Posteriormente, la muestra se analizó en el UF-Series, de manera que la persona encargada del análisis en el citómetro era distinta de la que, al día siguiente, valoraba el resultado del cultivo.

Se recogieron las siguientes variables derivadas de:

1. Lecturas del citómetro: recuento de bacterias/ $\mu$ L, leucocitos/ $\mu$ L, células epiteliales y morfología bacteriana (bacilos/coco-mixto).

2. Resultado del urocultivo, definido siguiendo los criterios de la SEIMC [16]: especie de microorganismo aislada y recuento de colonias. Se consideraron positivos los cultivos con recuentos  $\geq 10^4$  unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL) de uno o dos microorganismos; contaminados, cuando crecieron más de dos microorganismos, y negativos cuando no hubo crecimiento o el recuento fue menor de  $10^4$  UFC/mL. El resultado del cultivo fue dicotomizado en negativo vs positivo, que incluye los positivos y contaminados, pues se va a comparar con los resultados del citómetro, que no es capaz de diferenciar ambos conceptos.

3. Variables demográficas y de origen de la muestra: sexo, edad, procedencia de la muestra, tipo de muestra (orina de media mición, orina de sondaje, orina de nefrostomía y post-masaje prostático) y recogida con/sin conservante.

El análisis estadístico realizado incluye la descripción de las variables cuantitativas con medidas de tendencia central y de dispersión, y de las variables cualitativas con

frecuencias absolutas y relativas. Se realizó también un estudio de validez diagnóstica mediante sensibilidad, especificidad, valores predictivos, índice de Chamberlain y coeficientes de probabilidad (likelihood ratios), así como una concordancia diagnóstica según el índice Kappa. Para comprobar la capacidad predictiva global del citómetro se representaron las curvas ROC para cada uno de los parámetros estudiados. Posteriormente, se realizó un análisis bivariante mediante regresión logística simple con las variables estudiadas, estimando la significación estadística de la asociación con ITU/BA (pruebas de Ji cuadrado o test exacto de Fisher si el número de efectivos esperados es inferior a 5) y una medida de la magnitud de la asociación en forma de Odds Ratio (OR) y su correspondiente intervalo de confianza (IC95%). Aquellas variables con significación  $p < 0,20$  formaron parte de un análisis multivariante o de regresión logística múltiple. Los cálculos se realizaron con el programa estadístico Stata 12 (StataCorp LP) 2009.

## RESULTADOS

Se procesaron un total de 2,468 muestras de orina procedentes de pacientes con una edad media de  $53,3 \pm 24,2$  años, siendo el ratio mujeres:hombres 2:1. El 51% de las muestras fueron recogidas con conservante, siendo el 89,7% orinas de media micción y el 60% procedentes de Atención Primaria. En la tabla 1 se detallan las características de las muestras analizadas.

Los resultados de las variables relevantes obtenidas por el UF-Series se muestran en la tabla 2. El porcentaje de orinas positivas detectadas por el citómetro, según punto de corte establecido para la detección de morfología bacteriana ( $> 30$  bacterias/ $\mu\text{L}$  y 1 leucocito/ $\mu\text{L}$ ) fue del 68,7% (1697/2468). Sin embargo, mediante urocultivo se detectó un 15,6% de orinas positivas, con un 7,3% de muestras contaminadas, lo que supone una incidencia de ITU/BA del 15,6%. La procedencia de las muestras positivas se muestra en la tabla 3, siendo la mayoría de residencias geriátricas.

El UF-Series proporciona información adicional sobre la morfología bacteriana cuando detecta más de 30 bacterias/ $\mu\text{L}$  y 1 leucocito/ $\mu\text{L}$ . Se obtuvo la morfología en todas las muestras que cumplían este criterio excepto en el 1,8% de las mismas. Según este punto de corte de detección morfológica, la sensibilidad y especificidad fueron del 91,9% y 38,2% respectivamente, con un VPP del 30,7% y un VPN del 94%.

En la figura 1 se muestra la curva ROC para bacterias detectadas por el UF-Series. El área bajo la curva fue de 0,819, identificando un punto de corte óptimo  $\geq 21$  bacterias/ $\mu\text{L}$ . En la figura 2 se muestra la curva ROC para los leucocitos medidos por el analizador. El área bajo la curva fue de 0,52, por lo que no permitió identificar un punto de corte óptimo para leucocituria, aunque para análisis posteriores se utilizó un punto de corte de 2 leucocitos/ $\mu\text{L}$ , que era el que ofrecía mejor rendimiento. De esta forma, si en lugar de los puntos de corte establecidos automáticamente por el analizador para

**Tabla 1** Características de las muestras analizadas

Características		% (N)
Media de edad (Desviación estándar; rango)		53,3 (24,0; 0-101)
Conservante	SI	51,4 (1.269)
	NO	48,5 (1.199)
Sexo	Hombres	32,5 (804)
	Mujeres	67,4 (1.664)
Hospitales	Toledo (primer nivel)	29 (718)
	Mancha Centro (segundo nivel)	22,4 (555)
	Guadalajara (primer nivel)	20,2 (499)
	Ciudad Real (primer nivel)	11,1 (276)
	Talavera (segundo nivel)	11,1 (274)
	Puertollano (tercer nivel)	5,9 (146)
Procedencia	Atención Primaria	60 (1.483)
	Consultas externas	22 (544)
	Hospitalización	8,1 (200)
	Urgencias	2,8 (71)
	Residencia de mayores	0,8 (20)
	Hospital de día	0,4 (11)
	Desconocido	5,6 (139)
Tipo de muestra	Orinas de media micción	89,7 (2.215)
	Orinas de sondaje	9,6 (238)
	Otras: nefrostomía, post-masaje prostático	0,6 (15)

**Tabla 2** Variables obtenidas por el UF-Series de las muestras analizadas

Bacterias (Media [Desviación estándar; Rango])	1.580,3 (5.398,1; 0-87.816)
Leucocitos (Media [Desviación estándar; Rango])	84,6 (273,3; 0-4.166)
Células Epiteliales (Media [Desviación estándar; Rango])	13,0 (21,4; 0-398)
Morfología (%)	
Cocos/Mixto	1.282 (58,1)
Bacilos	423 (19,2)
Negativa	503 (22,8)

la detección de morfología bacteriana utilizamos el punto de corte obtenido a través de las curvas ROC de 21 bacterias/ $\mu\text{L}$ , se obtiene una sensibilidad del 93,3% y un VPN del 94,5% (tabla 4). Por tanto, habríamos dejado de sembrar el 28,9% de las orinas recibidas, con una tasa de falsos negativos (FN) del 1,6%.

La concordancia entre la morfología leída por el UF-Series y la identificación del cultivo fue de 0,14, con un índice kappa

Tabla 3

**Porcentaje de orinas positivas y contaminadas según urocultivo por procedencia**

Procedencia muestras orina	Positivas % (N)	Contaminadas % (N)	Positivas más contaminadas
Geriátricos	35% (7)	25% (5)	60% (12/20)
Hospitalización	28% (56)	7,5% (15)	35,5% (71/200)
Urgencias	25,4% (18)	8,5% (6)	33,8% (24/71)
Hospital de día	27,3 (3)	0 (0)	27,3% (3/11)
Atención Primaria	13,1% (195)	7,9% (117)	21,0% (312/1.483)
Consultas externas	13,1% (71)	5,5% (30)	18,6% (101/544)
Sin identificar	25,9% (36)	5,8% (8)	31,6% (44/139)
Total	386	181	567

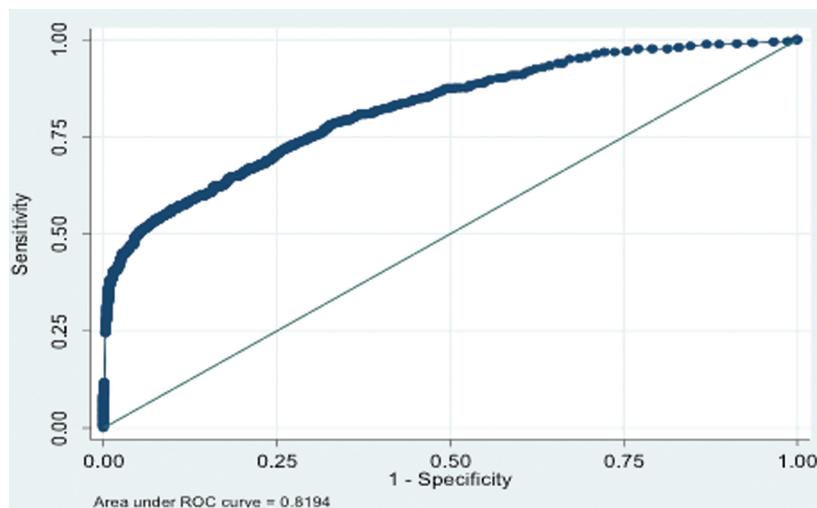


Figura 1

**Capacidad predictiva de ITU de la bacteriuria leída por el UF-Series**

de 0,177 (0,013-13,540 IC95%), lo que supone un acuerdo pobre. El grado de acuerdo positivo del diagnóstico microbiológico de ITU/BA a través del cultivo (bacilos o cocos) cuando el analizador identifica bacilos fue del 66% y del 17,8% cuando identifica cocos/mixto.

Se hizo un análisis bivariante con los resultados del cultivo y los parámetros bacteriuria, leucocituria, células epiteliales y morfología medidos por el autoanalizador, así como con las variables socio-demográficas (edad, sexo), procedencia de la muestra y con la presencia de conservante. Se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la bacteriuria y la morfología con el resultado del cultivo. La asociación entre variables socio-demográficas y cultivo fue positiva para la edad, sexo y procedencia de la muestra. Los datos se muestran en la tabla 5. Para el análisis multivariante se estudiaron todas las variables independientes que alcanzaron una  $p<0,20$  en el

análisis bivariante, incluyendo además leucocituria, por su relevancia clínica, aunque tampoco resultó significativa ( $p=0,170$ ). El modelo final muestra como variables predictoras de ITU/BA de mayor a menor relevancia: la lectura de morfología de bacilos, la bacteriuria  $\geq 21$  bacterias/ $\mu\text{L}$ , la edad  $\geq 65$  años, la procedencia de muestras recogidas en hospitalización, la presencia de conservante y la procedencia de muestras de urgencias (tabla 6).

Debido al escaso número de orinas de sondaje (6.6%), no se pudo realizar un estudio del rendimiento del analizador en los posibles subgrupos de difícil diagnóstico.

## DISCUSIÓN

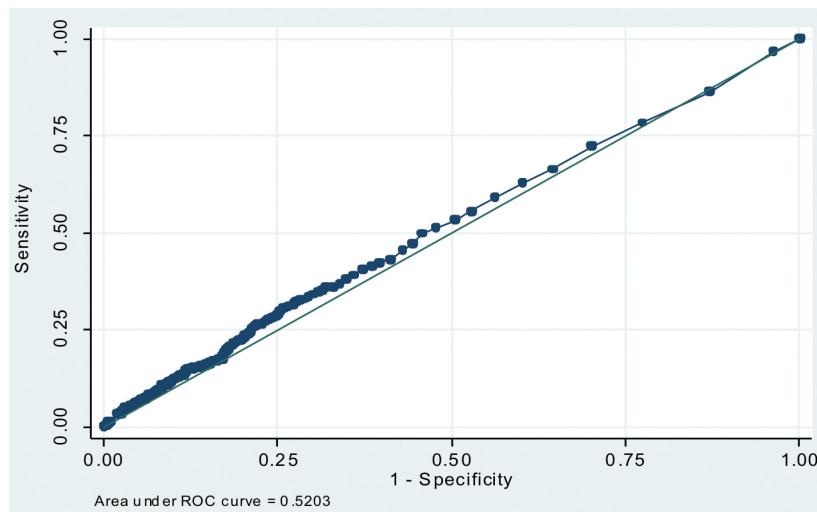
Hasta hace relativamente poco tiempo la automatización en el laboratorio de microbiología era puntual, excepto en el área de serología, pero poco a poco comienzan a incorporarse analizadores y técnicas que permiten optimizar y agilizar el trabajo rutinario. Dado que el número de urocultivos a procesar es muy importante, la racionalización de los recursos dedicados a ellos debe ser imperativa. Es por ello que la utilización de un método automatizado fiable de cribado para descartar las muestras negativas supondría una forma eficaz de agilizar los resultados y reducir costes.

En nuestro estudio evaluamos el rendimiento del citómetro UF-Series para detectar y tipificar ITUs/BAs, de forma que pueda ser utilizado como método de cribado, descartando a priori, las muestras con resultado negativo del cultivo. De esta forma podría incorporarse a la rutina del laboratorio sin cambios significativos en la forma de trabajo de los mismos. Para tal

propósito ha sido necesario demostrar una sensibilidad y VPN que se ajustaran a los requisitos establecidos para las técnicas de cribado.

Este trabajo se llevó a cabo incluyendo todas las muestras recibidas con solicitud de urocultivo en los distintos laboratorios de microbiología participantes. Esto supuso una mayoría de orinas de media micción, con predominio claro de pacientes de sexo femenino y con procedencia principalmente de atención primaria. Estas características son similares a muchos estudios en la literatura [2,3,5-7,17,18], aunque existen ligeras diferencias con otros debido a la selección de las muestras y/o el tipo de población [1,8,9,11-13,19-22], que también condicionan la menor incidencia de ITU/BA hallada en nuestro trabajo (15,6%).

Aunque en un principio la utilización del punto de corte establecido por el fabricante podría ser utilizado para



**Figura 2** Capacidad predictiva ITU/BA de la leucocituria detectada por el UF-Series.

**Tabla 4**

Validez de los puntos de corte elegidos para los principales parámetros medidos por el citómetro UF-Series

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	Índice de Chamberlain <sup>a</sup>
Bacterias ( $\geq 21$ )	93,3%	35,7%	30,2%	94,5%	48,9%
Leucocitos ( $\geq 2$ )	88,4%	15,8%	25,2%	63,0%	32,50%

<sup>a</sup>Porcentaje de concordancia positiva con el cultivo. VPP = valor predictivo positivo; VPN = valor predictivo negativo.

**Tabla 5**

Análisis bivariante entre variables del UF-Series y resultados del cultivo

	OR	p
Bacteriuria	7,74; IC95% 5,49-10,89	<0,0001
Leucocituria	0,94; IC95% 0,71-1,23	0,644
Células Epiteliales	1; IC 95% 0,994-1,007	0,916
Morfología bacilar	24,85; IC95% 16,70-36,97	<0,0001
Morfología coco-mixta	3,20; IC95% 2,20-4,64	<0,0001
Edad $\geq 65$ años	2,80; IC95% 2,31-3,40	<0,0001
Sexo masculino	0,77; IC95% 0,62-0,94	0,012
Conservante	1,14; IC95% 0,95-1,38	0,166
Procedencia		
Consultas Externas	OR 0,8; IC95% 0,6-1,01;	0,060
Hospital de día	OR 1,4; IC95% 0,4-5,2	0,648
Hospitalización	OR 1,9; IC95% 1,3-2,3	<0,001
Geriátricos	OR 4,7; IC95% 1,7-12,7	0,002
Urgencias	OR 1,9; IC95% 1,1-3,1	0,017

OR= Odds ratio; IC= intervalo de confianza.

el cribado de las muestras de orina, pues cumple con el criterio de sensibilidad establecido por la Oficina Europea de Directrices, que exige una sensibilidad del 90-95% [23], el limitado VPN nos impulsó a buscar otro punto de corte más adecuado a nuestro objetivo. De esta manera, el análisis de las curvas ROC permitió identificar el recuento de las bacterias leídas por el UF-Series como un buen método diagnóstico de ITU/BA, obteniendo un punto de corte óptimo para la mejora del VPN, con valores similares a los encontrados en la literatura revisada [2,10,11,13,14,24]. Por otra parte, diferimos con otros estudios publicados [1,4,9,16,18,25] que fueron realizados con distintos analizadores y un número sensiblemente inferior de muestras (VPN: 93,2-100%). Nuestro punto de corte óptimo para bacterias fue inferior al de la mayoría de los estudios realizados [1,2,4,9-11,14,16,22,24,25], probablemente debido a la utilización de distintas definiciones de cultivo positivo, que en algunas publicaciones varían en función del tipo de población [3-8,13,14], ya que o bien se disminuye el punto de corte para mantener la potencia de los estadísticos operacionales o bien se mantiene el punto de corte perdiendo potencia en los mismos.

En nuestro trabajo, sin embargo, el recuento de leucocitos no resultó un buen método diagnóstico de ITU/BA, estando en concordancia con otras publicaciones en las que no se tienen en cuenta los leucocitos para establecer un criterio para el cribado previo a la siembra de muestras [1,11,13,14,24,25]. No obstante, otros autores encontraron que el recuento de leucocitos mejoraba los parámetros de sensibilidad y especificidad [4-7]. Esta gran variabilidad podría deberse a la presencia de un conservante, el cual influye en el mantenimiento de la integridad de los elementos celulares. Nuestra serie incluyó muestras con y sin ácido bórico en porcentajes similares, por lo que el resultado obtenido para el conteo leucocitario podría estar infravalorado. Por último, existe algún estudio que revela que la piuria no es un buen marcador de ITU [26] puesto que esta podría deberse a otras causas. De manera análoga, no hemos podido demostrar la utilidad de las células epiteliales medidas mediante el UF-Series para el cribado de orinas para cultivo.

La morfología bacteriana leída por el citómetro UF-Series no resultó predictor de los resultados de identificación del cultivo debido al escaso acuerdo obtenido. La información proporcionada por el UF-Series logra un grado de acuerdo positivo discreto en el caso de morfología bacilar (66%), pero en el caso de coco/mixto el grado de acuerdo es muy limitado.

<b>Tabla 6 Análisis multivariante de variables predictoras de ITU/BA</b>					
Variables predictoras de ITU		OR	DE	IC 95%	P
Lecturas	Bacteriuria ≥21	4,55	1,66	2,23-9,31	<0,0001
UF-Series	Morfología coco-mixta <sup>a</sup>	1,37	0,43	0,73-2,55	0,326
	Morfología bacilos <sup>a</sup>	14,94	4,99	7,77-28,75	<0,0001
Edad	≥65 años	4,31	0,62	3,25-5,71	<0,0001
Sexo	Hombre	1,44	0,4	1,12-2,72	0,160
Conservante	Presencia	2,22	0,37	1,60-3,07	<0,0001
Procedencia <sup>b</sup>	Consultas externas	0,99	0,18	0,69-1,43	0,964
	Hospital de día	1,94	1,62	0,38-9,93	0,426
	Hospitalización	3,02	0,77	1,83- 4,98	<0,0001
	Geriatrónico	1,58	1,03	0,44-5,68	0,482
Urgencias <sup>b</sup>		2,05	0,69	1,06-3,98	0,034

OR= Odds ratio; DE= desviación estándar; IC= intervalo de confianza

<sup>a</sup>p morfología ≤0,0001 (Categoría de referencia: ausencia de morfología)

<sup>b</sup>p procedencia=0,0005 (Respecto de Atención Primaria como referencia)

Esta diferencia en la sensibilidad podría deberse a que las bacterias gram-positivas tienden a agregarse, suponiendo así contajes menores en el UF-Series que para las gram-negativas, de forma que la sensibilidad total podría estar sesgada [6,9,14]. Por tanto, consideramos que, a día de hoy, la información sobre la morfología bacteriana proporcionada por el UF-Series no es suficientemente discriminativa para orientar el resultado del urocultivo. Además, hay que recordar que en un pequeño porcentaje de las muestras el analizador no informó el resultado de la morfología, aunque cumplían el criterio para ello, probablemente por interferencias en la muestra. Existe algún estudio en el que la valoración de los diagramas de dispersión del UF-Series permite identificar el tipo de patógeno (grampositivo o gramnegativo), con resultados prometedores [6,9].

Mediante el análisis multivariante identificamos como variables predictoras de ITU/BA la morfología bacilar, la bacteriuria  $\geq 21$  bacterias/ $\mu\text{L}$ , la edad  $\geq 65$  años, la procedencia de las muestras recogidas en urgencias y hospitalización y la presencia de conservante, de forma que su utilización conjunta nos permitiría elegir con mejor criterio aquellas muestras más susceptibles de tener un cultivo positivo. La posible rentabilidad del citómetro para cribado previo al cultivo dependerá de las características de cada laboratorio, siendo mayor en los que reciben un gran volumen de muestras de Atención Primaria, procedentes de pacientes con menor complejidad y con un alto porcentaje de resultados negativos. Nuestros resultados sugieren que los puntos de corte elegidos deberían variar en función del tipo de población incluida o de forma automática a través del sistema de información del laboratorio en función de los parámetros de cada muestra (sexo, edad, procedencia),

estableciendo un algoritmo que permitiría un mejor aprovechamiento de los recursos disponibles. Con el punto de corte seleccionado para bacterias se dejarían de sembrar aproximadamente el 30% de las orinas, siendo inferior que otros datos publicados [1,2,4,9-11,13,14,16,18,24,25], aunque ello supone también una reducción en el porcentaje de falsos negativos.

Entre las ventajas del UF-Series cabe destacar que el resultado de una muestra estaría disponible en una hora desde la recepción de la misma en el laboratorio, mejorando la eficiencia y calidad de los diagnósticos microbiológicos, acercándose a la generación de resultados en tiempo real. Además, señalar que los procesos automáticos evitan errores humanos, en algunos casos tan importantes como errores en la identificación de las muestras.

Una posible limitación del UF-Series es la utilización de un volumen de muestra bastante elevado en comparación con el urocultivo, lo que puede dificultar la inclusión de cierto tipo de muestras como las recogidas con bolsa, donde el volumen remitido al laboratorio suele ser muy pequeño. Además, debido al escaso número de orinas de sondaje, a pesar de ser un estudio multicéntrico, no se pudo realizar un análisis del rendimiento del analizador en los posibles subgrupos de difícil diagnóstico. También se debe señalar que el análisis de una muestra de orina por el UF-Series supone un gasto mayor que la realización de un urocultivo, pero ese sobrecoste se compensaría con la reducción del número de orinas a sembrar, rentabilizando así los recursos disponibles. Hay que tener presente que siempre que se trabaja con una técnica de cribado habrá un porcentaje de falsos negativos; por ello, en aquellos casos en los que recuentos bajos pueden ser indicativos de infección y originar FN (pacientes inmunodeprimidos o niños con reflujo uretral), el médico solicitante debería especificar claramente la sospecha clínica de ITU. Los FN pueden deberse, entre otras causas, al uso previo de antibióticos, retraso en el procesamiento o diferencias en el mismo (distinto procedimiento de siembra o distintos medios de cultivo), o incluso a la presencia de otras infecciones sistémicas [7]. También hay que tener en cuenta que tanto al disminuir el punto de corte como al hacer más estricta la definición de urocultivo positivo se aumenta el porcentaje de falsos positivos, incrementándose el número de orinas a sembrar. Este sería el caso de mujeres cuya orina se contamina con flora vaginal, la cual no crecería en las condiciones aerobias del cultivo pero sí sería detectada mediante el citómetro [1].

Para reproducir de la mejor forma posible la rutina de trabajo de nuestros laboratorios no se limitó ni la población de estudio, el tipo de muestras, ni la procedencia, de forma que al incluir a los menores de 5 años y las orinas tomadas en ancianos en urgencias, resulta una tasa de contaminaciones elevada. Por otro lado, no todas las muestras remitidas con solicitud de urocultivo tienen una sospecha de ITU; se hacen peticiones de urocultivo con la finalidad de descartar esa localización como fuente de infección, o incluso para

comprobar que el tratamiento administrado ha sido efectivo, ya que en la mayoría de los casos en las solicitudes falta información relevante, como la posible toma previa de antibióticos que podría alterar el resultado del cultivo frente al del UF-Series.

Por tanto, puede existir un grupo específico de pacientes que debido a sus características clínicas no se beneficien tan ampliamente de este tipo de cribado y necesiten un estudio en mayor profundidad, un procesamiento especial o la utilización de distintos puntos de corte. Por esta razón, deberían establecerse puntos de corte de forma local que tendrían que ser revisados periódicamente por posibles variaciones en la población atendida. Estudios futuros deben dirigirse a aclarar estas situaciones, de forma que la implantación del UF-Series tenga lugar en las condiciones óptimas para cada centro. Con el fin de esclarecer el aumento de los costes por determinación realizada con el UF, sería interesante realizar un estudio de coste-efectividad.

En conclusión, consideramos que el citómetro UF-Series es una herramienta válida y precisa para la detección de ITU/BA y, por lo tanto, podría ser utilizado como método de cribado previo al urocultivo en la práctica clínica asistencial. De esta forma, se dejarían de sembrar un número importante de urocultivos, emitiendo informes en un tiempo reducido (una hora desde la recepción de la orina en el laboratorio), disminuyendo costes y permitiendo una optimización de los recursos disponibles, que en algunos estudios se ha estimado en medio día de trabajo a tiempo completo [6]. Además, podría evitarse la administración innecesaria de antibióticos que pudiera ocasionar efectos adversos y aumentar la aparición de resistencias. Por último, la exclusión de forma precoz de la posibilidad de una ITU mediante el informe del UF-Series favorecería la orientación del diagnóstico diferencial por parte del médico solicitante, mejorando la calidad asistencial al paciente.

## AGRADECIMIENTOS

Damos las gracias Sysmex por proporcionar los citómetros UF-Series utilizados en este estudio y por el apoyo técnico dado a los investigadores.

## 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

- Boonen KJM, Koldewijn EL, Arents NLA, Raaymakers PAM, Scharnhorst V. Urine flow cytometry as a primary screening method to exclude urinary tract infections. *World J Urol.* 2013; 31(3):547–51. DOI: 10.1007/s00345-012-0883-4
- Muñoz-Algarra M, Martínez-Ruiz R, Orden-Martínez B. Evaluación del sistema automatizado UF-1000i® en el diagnóstico de infección urinaria. *Enferm Infect Microbiol Clin.* 2013;31(1):29–31. DOI: 10.1016/j.eimc.2012.05.017
- de Frutos-Serna M, Asensio-Calle ML, Haro-Pérez AM, Blázquez-de Castro AM, Gutiérrez-Zufiurre MN, Iglesias-García J. Evaluación del citómetro UF-1000i como método de cribado en el diagnóstico de infecciones del tracto urinario. *Enferm Infect Microbiol Clin.* 2014;32(3):147–51. DOI: 10.1016/j.eimc.2013.02.015
- van der Zwet WC, Hessels J, Canbolat F, Deckers MML. Evaluation of the Sysmex UF-1000i® urine flow cytometer in the diagnostic work-up of suspected urinary tract infection in a Dutch general hospital. *Clin Chem Lab Med.* 2010;48(12):1765–71.
- Jolkonen S, Paattiniemi E-L, Karpanoja P, Sarkkinen H. Screening of Urine Samples by Flow Cytometry Reduces the Need for Culture. *J Clin Microbiol.* 2010;48(9):3117–21. DOI: 10.1128/JCM.00617-10
- De Rosa R, Grossi S, Bruschetta G, Avolio M, Stano P, Modolo ML, et al. Evaluation of the Sysmex UF1000i flow cytometer for ruling out bacterial urinary tract infection. *Clin Chim Acta.* 2010;411(15–16):1137–42. DOI: 10.1016/j.cca.2010.03.027
- Wang J, Zhang Y, Xu D, Shao W, Lu Y. Evaluation of the Sysmex UF-1000i for the Diagnosis of Urinary Tract Infection. *Am J Clin Pathol.* 2010;133(4):577–82. DOI: 10.1309/AJCP1GT2JXOCQBCZ
- Martín-Gutiérrez G, Porras-González A, Martín-Pérez C, Lepe JA, Aznar J. Evaluation and optimization of the Sysmex UF1000i system for the screening of urinary tract infection in primary health care elderly patients. *Enferm Infect Microbiol Clin.* 2015;33(5):320–3. DOI: 10.1016/j.eimc.2014.07.010
- Gessoni G, Saccani G, Valverde S, Manoni F, Caputo M. Does flow cytometry have a role in preliminary differentiation between urinary tract infections sustained by gram positive and gram negative bacteria? An Italian polycentric study. *Clin Chim Acta.* 2015;440:152–6. DOI: 10.1016/j.cca.2014.11.022
- Giesen CD, Greeno AM, Thompson K a, Patel R, Jenkins SM, Lieske JC. Performance of flow cytometry to screen urine for bacteria and white blood cells prior to urine culture. *Clin Biochem.* 2013;46(9):810–3. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2013.03.005
- Marschal M, Wienke M, Hoering S, Autenrieth IB, Frick J-S. Evaluation of 3 different rapid automated systems for diagnosis of urinary tract infections. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012;72(2):125–30. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2011.10.001
- Manoni F, Fornasiero L, Ercolin M, Tinello A, Ferrian M, Hoffer P, et al. Cutoff values for bacteria and leukocytes for urine flow cytometer Sysmex UF-1000i in urinary tract infections. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009;65(2):103–7. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2009.06.003
- Broeren M a. C, Bahcecı S, Vader HL, Arents NL a. Screening for Urinary Tract Infection with the Sysmex UF-1000i Urine Flow Cytometer. *J Clin Microbiol.* 2011;49(3):1025–9. DOI: 10.1128/JCM.01669-10

14. Kadkhoda K, Manickam K, DeGagne P, Sokolowski P, Pang P, Kontzie N, et al. UF-1000i™ flow cytometry is an effective screening method for urine specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;69(2):130–6. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2010.09.013
15. March-Rosselló GA, Gutiérrez-Rodríguez MP, Simarro-Grande M, Orduña-Domingo A, Bratos-Pérez MÁ. Evaluación del analizador de orinas Sysmex UF-1000i como método de cribado en el diagnóstico de la infección del tracto urinario. *Rev Lab Clin.* 2016;9(1):3–8. DOI: 10.1016/j.labcli.2015.12.001
16. Andreu A, Cacho J, Coira A, Lepe JA. Diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto urinario. Cercenado E, Catón R, editors. Procedimientos en Microbiología Clínica 14a. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2010. <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia14a.pdf>
17. Gutiérrez-Fernández J, Riazzo C, Sanbonmatsu S, de Dios Luna J, Sorlózano A, Miranda C, et al. Sysmex UF-1000i performance for screening yeasts in urine. *APMIS.* 2014;122(4):324–8. DOI: 10.1111/apm.12148
18. Sturenburg E, Kramer J, Schon G, Cachovan G, Sobottka I. Detection of Significant Bacteriuria by Use of the iQ200 Automated Urine Microscope. *J Clin Microbiol.* 2014;52(8):2855–60. DOI: 10.1111/apm.12148
19. Semeniuk H, Noonan J, Gill H, Church D. Evaluation of the Coral UTI Screen system for rapid automated screening of significant bacteriuria in a regional centralized laboratory. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2002;44(1):7–10. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12376024>
20. Arinzon Z, Peisakh A, Shuval I, Shabat S, Berner YN. Detection of urinary tract infection (UTI) in long-term care setting: Is the multireagent strip an adequate diagnostic tool? *Arch Gerontol Geriatr.* 2009;48(2):227–31. DOI: 10.1016/j.archger.2008.01.012
21. Le Z, Li F, Fei C, Ye A, Xie X, Zhang J. Performance of the Sysmex UF-1000i urine analyser in the rapid diagnosis of urinary tract infections in hospitalized patients. *J Infect Chemother.* 2016;22(6):377–82. DOI: 10.1016/j.jiac.2016.02.009
22. Pieretti B, Brunati P, Pini B, Colzani C, Congedo P, Rocchi M, et al. Diagnosis of bacteriuria and leukocyturia by automated flow cytometry compared with urine culture. *J Clin Microbiol.* 2010;48(11):3990–6. DOI: 10.1128/JCM.00975-10
23. Kouri TT, Gant V, Fogazzi G, Hoffmann W, Hallander H, Guder WG. Towards European urinalysis guidelines. Introduction of a project under European Confederation of Laboratory Medicine. *Clin Chim Acta.* 2000;297(1–2):305–11. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10841931>
24. Manoni F, Tinello A, Fornasiero L, Hoffer P, Temporin V, Valverde S, et al. Urine particle evaluation: A comparison between the UF-1000i and quantitative microscopy. *Clin Chem Lab Med.* 2010;48(8):1107–11. DOI: 10.1515/CCLM.2010.233
25. Pancholi P, Pavletich K, Della-Latta P. Rapid screening of urine specimens for bacteriuria by the cellenium system. *J Clin Microbiol.* 2005;43(10):5288–90. DOI: 10.1128/JCM.43.10.5288-5290.2005
26. Kupelian AS, Horsley H, Khasriya R, Amussah RT, Badiani R, Courtney AM, et al. Discrediting microscopic pyuria and leucocyte esterase as diagnostic surrogates for infection in patients with lower urinary tract symptoms: Results from a clinical and laboratory evaluation. *BJU Int.* 2013;112(2):231–8. DOI: 10.1111/j.1464-410X.2012.11694.x

## Original

Graciela Beatriz Jordá<sup>1,2</sup>  
Silvina Elizabeth Hanke<sup>1</sup>  
José Manuel Ramos-Rincón<sup>3</sup>  
Jessica Mosmann<sup>4</sup>  
María Lorena López<sup>2</sup>  
Andrea Carolina Entrocassi<sup>5</sup>  
Cecilia Cuffini<sup>4</sup>

# Prevalencia y análisis filogenético de *Chlamydia trachomatis* en una población de mujeres de Posadas, Misiones

<sup>1</sup>Cátedra de Virología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. Argentina

<sup>2</sup>Laboratorio Instituto de Previsión Social de Misiones. Argentina

<sup>3</sup>Servicio de Medicina Interna del Hospital General Universitario de Alicante, Alicante (España)

<sup>4</sup>Instituto de Virología, Universidad Nacional de Córdoba. Argentina

<sup>5</sup>Cátedra de Microbiología Clínica. Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Argentina.

### Article history

Received: 12 July 2017; Revision Requested: 27 July 2017; Revision Received: 28 July 2017; Accepted: 28 July 2017

## RESUMEN

**Introducción.** *Chlamydia trachomatis* es una de las bacterias más prevalentes en infecciones sexualmente transmisibles. En mujeres, la infección por *C. trachomatis* puede causar cervicitis y uretritis, aunque suele cursar en forma asintomática. El objetivo de este trabajo fue establecer la prevalencia de *C. trachomatis* y detectar los genotipos circulantes en mujeres que concurren al laboratorio del Instituto de Previsión Social.

**Material y métodos.** Se analizaron 505 muestras endocervicales de mujeres sintomáticas y asintomáticas. Se determinó la presencia de *C. trachomatis* por PCR, mediante la amplificación de un fragmento del plásmido críptico. Las muestras positivas fueron genotipificadas mediante la amplificación parcial del gen *ompA* y se analizaron filogenéticamente.

**Resultados.** Se detectaron 43 muestras positivas a la infección por *C. trachomatis*, obteniéndose una prevalencia de 8,5% [IC 95%: 6,4–11,3%]. La prevalencia de *C. trachomatis* fue superior en las mujeres con sintomatología vaginal [11,3% (30/265) vs. 5,4% (13/240)] ( $p=0,018$ ), así como en las mujeres menores de 26 años [11,5% (28/244) vs. 6,1% (15/246)] ( $p=0,021$ ). A partir del análisis filogenético, se observó que el 62% de las muestras positivas para el gen *ompA* pertenecieron al genotipo E, 15% al genotipo J, 15% al genotipo D y 8% al F.

**Conclusiones.** Este trabajo es el primer aporte sobre la epidemiología molecular de *C. trachomatis* en la provincia de Misiones, Argentina, que muestra la tasa de prevalencia de esta bacteria y ofrece información de genotipos circulantes.

**Palabras clave:** *Chlamydia trachomatis*, PCR, diagnóstico, genotipos, prevalencia.

## Prevalence and phylogenetic analysis of *Chlamydia trachomatis* in a population of women in Posadas, Misiones

### ABSTRACT

**Background.** *Chlamydia trachomatis* is the most prevalent bacteria causing sexually transmitted infections. In women, this infection can cause cervicitis and urethritis, although it's usually asymptomatic. The aim of this study was to investigate the prevalence of *C. trachomatis* in women attending the lab Instituto de Previsión Social and detect the genotypes.

**Material and methods.** Endocervical samples from 505 symptomatic and asymptomatic women were assayed. It was determined the presence of *C. trachomatis* by PCR through amplification of a fragment of the cryptic plasmid. Positive samples were genotyped by the partial amplification of the *ompA* gene and analyzed phylogenetically.

**Results.** Forty-three positive samples were detected to infection with *C. trachomatis*, obtaining a prevalence of 8.5% [IC 95%: 6.4–11.3%]. The prevalence of *C. trachomatis* was higher in women with vaginal symptoms [11.3% (30/265) vs. 5.4% (13/240)] ( $p = 0.018$ ), as well as in women under 26 year-old [11.5% (28/244) vs. 6.2% (15/246)] ( $p = 0.021$ ). Based on phylogenetic analysis, it was observed that 62% of the samples were genotype E, 15% genotype J, 15% genotype D, and 8% genotype F.

**Conclusions.** This work is the first contribution on the molecular epidemiology of *C. trachomatis* in the Misiones province, Argentina, which shows the rate of prevalence of this bacterium and offers information on circulating genotypes.

**Keywords:** *Chlamydia trachomatis*, PCR, diagnostic, genotypes, prevalence.

Correspondencia:  
Graciela Beatriz Jordá  
Cátedra de Virología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. Argentina  
Luis Pasteur 1551. Posadas Misiones Argentina. CP: 3300  
Tel/Fax: 543764435118  
E-mail: graciela.jorda@hotmail.com

## INTRODUCCIÓN

*Chlamydia trachomatis* es una bacteria intracelular obligada, y el agente bacteriano responsable de las infecciones sexualmente transmisibles más frecuentemente encontrado en todo el mundo. En las mujeres, la infección por *C. trachomatis* puede manifestarse como cervicitis o uretritis, aunque una gran proporción desarrolla la infección de manera asintomática. En algunos casos, la infección puede ocasionar infertilidad, embarazos ectópicos y dolor pélvico crónico. También ha sido asociada con abortos, aumento de la mortalidad neonatal, y rotura prematura de membranas. Debido a la transmisión perinatal, el recién nacido puede tener bajo peso conjuntivitis, y neumonía [1, 2].

*C. trachomatis*, posee un plásmido críptico, sin embargo, existen cepas que carecen del mismo. Por otra parte, presenta en su membrana externa la proteína principal (MOMP), la cual presenta cuatro regiones variables expuestas en la superficie celular, donde se encuentran epitopes específicos de género, especie y genotipo [3].

En la actualidad los métodos más comúnmente empleados para el diagnóstico de las infecciones por *C. trachomatis* se basan en técnicas de amplificación de ácidos nucleicos. Se han desarrollado reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) con blanco de amplificación en el plásmido críptico, en el gen *ompA* que codifica para la proteína principal de membrana externa (MOMP) y en las subunidades ribosómicas (rRNA). La técnica de PCR tiene una excelente sensibilidad, superior al cultivo y los métodos inmunológicos [2].

La especie *C. trachomatis* ha sido subclasificada en serotipos, sobre la base de la seroespecificidad de la MOMP. Los serotipos A, B y C están asociados con tracoma, del D al K son patógenos urogenitales y oculares en adultos, asociados también a la conjuntivitis neonatal. Mientras que L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>2a</sub> y L<sub>3</sub>, producen el linfogranuloma venéreo. Existe un nivel muy alto de identidad entre los genomas de los serotipos, ya que incluso los genomas más divergentes, son más de 99% idénticos en la secuencia [3].

No hay datos acerca de la prevalencia de la infección por *C. trachomatis*, en la Provincia de Misiones, ni de los genotipos circulantes. Este trabajo propone realizar el diagnóstico mediante técnicas de biología molecular, para avanzar en el conocimiento de la epidemiología de dicha infección.

El objetivo de este estudio fue detectar las infecciones por *C. trachomatis* en mujeres sintomáticas y asintomáticas de una población de la ciudad de Posadas, Misiones y caracterizar los genotipos presentes.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 505 muestras tomadas del cuello de útero de mujeres que concurrieron al laboratorio del Instituto de Previsión Social (IPS) de la provincia de Misiones, Argentina, con una solicitud de estudio de exudado vaginal, durante el período comprendido entre enero de 2012 y junio de 2013.

En el momento de la toma de la muestra se obtuvo el consentimiento informado de la paciente y se completó una ficha con datos personales y clínico-epidemiológicos.

Este trabajo contó con la aprobación del Comité de Investigación y el Comité de Bioética de la Unidad Académica del Parque de la Salud.

Las muestras fueron obtenidas con hisopo de dacrón y colocadas en 2 ml de PBS, pH 7,2.

La extracción de ADN se realizó con el equipo comercial NucleoSpin® Tissue de Macherey-Nagel, según protocolo del fabricante. Para la detección del plásmido críptico de *C. trachomatis*: se utilizó el protocolo de Mahony et al [4] utilizando los primers KL1: 5' TCCGGAGCGAGTTACGAAGA 3' y KL2: 5' AATCA-ATGCCGGGATTGGT 3' obteniéndose un amplicón de 241 pb.

A partir del ADN extraído, mediante una PCR anidada, se amplificó un fragmento de 576 pb del gen *ompA* que permite detectar todas las especies de clamidias conocidas, usando los primers CHOMP 191: (5' GCIYTITGGGARTGYGGITGYGCIAC3') y CHOMP 371: (5' TTAGAAICKGAATTGIGCRTTIAYGTGIGCIGC 3') [5]. En la nested PCR, el fragmento amplificado fue de 420 pb, utilizando los primers CHOMP 20: (5' GGIGCWGMITTCCAATAYGCI-CARTC3') y CHOMP 336: (5' CCRCAAGMTTTCTRGAYTTCAWYTT-GTRAT 3') [5].

Como control negativo de todas las reacciones se utilizó la mezcla de reacción sometida a las mismas condiciones pero sin ADN blanco. Como control positivo se utilizó ADN purificado de *C. trachomatis* de la cepa patrón L2 434 Bu.

El análisis de los productos obtenidos se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa. La aparición de bandas del tamaño del fragmento amplificado se observó al exponerlo a luz ultravioleta. Para determinar el tamaño del producto de amplificación, se utilizó un marcador de peso molecular de 100 pb. Los productos de PCR amplificados fueron secuenciados en ambas direcciones por la empresa Macrogen Inc. de Geumcheon-gu Korea.

Previo al análisis filogenético se corroboraron los resultados de la secuenciación a través de BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). Las secuencias amplificadas fueron alineadas utilizando el programa MEGA 5 [6].

Para el análisis filogenético se estimó el modelo apropiado por jModel Test 0.1.1 [7]; se construyó un árbol filogenético por máxima Verosimilitud utilizando el software PhyML 3.0 [8] y se evaluó mediante el procedimiento de Bootstrap con 1000 pseudoréplicas.

Los números de acceso a GenBank de las secuencias patrón para la realización del árbol filogenético son: JN795446 (genotipo D), JN795448 (genotipo J) [9], FJ261931 (genotipo E), FJ261947 (genotipo F), FJ261928 (genotipo G), FJ261940 (genotipo Ia), FJ261925 (genotipo B); DQ064279 (genotipo A), DQ064289 (genotipo H), DQ064293 (genotipo K), DQ064294 (genotipo L1), DQ064295 (genotipo L2), DQ064296 (genotipo L3) [10]. Para enraizar el árbol filogenético se utilizó como extragrupo la especie *Chlamydia muridarum* cepa Nigg, número de acceso L19221.

**Análisis estadístico.** El análisis estadístico se efectuó con la prueba de Chi-cuadrado, con el programa SPSS versión 21.0. Se consideraron estadísticamente significativos los valores con  $p < 0,05$ . Los resultados de prevalencia se mostraron con un intervalo de confianza (IC) del 95%. La asociación entre variables se midió mediante el cálculo de Odds ratio (OR) con un IC del 95%.

## RESULTADOS

Se analizaron 505 pacientes, de las cuales 265 presentaron sintomatología y 240 eran asintomáticas. El rango de edad estuvo comprendido entre 14 y 52 años, con una media de 28,4 años (desviación estándar de 8,2). Se detectó infección por *C. trachomatis* en 43 de ellas, obteniéndose una prevalencia de 8,5 % (IC 95%: 6,4-11,3%). 30 referían síntomas, tales como secreción vaginal, prurito, dolor pélvano, etc. Así la prevalencia de *C. trachomatis* en las pacientes con síntomas fue de 11,3%, en cambio la mujeres asintomáticas fue del 5,4% ( $p=0,018$  (tabla 1).

La edad media de las pacientes con infección por *C. trachomatis* fue de 25,6 años ( $\pm 6,9$ ). El 60,5% de las mujeres infectadas pertenecían a la franja etaria comprendida entre los 14 y 25 años. En este grupo la prevalencia fue de 11,5%, significativamente superior al de las mujeres mayores de 25 años (6,2%) ( $p=0,021$ ). Entre las mujeres que tenía una respuesta inflamatoria vaginal, la prevalencia de *C. trachomatis* fue superior a las mujeres sin la misma (12% vs. 6,8%) ( $p=0,05$ ) (tabla 1). Se consideraron otros factores tales como número de parejas sexuales, edad de inicio de las relaciones sexuales, embarazo, uso de anticonceptivos, uso de profilácticos; en ningún caso se encontró diferencia estadísticamente significativa.

De las 43 muestras positivas 40 fueron seleccionadas para la amplificación del gen *ompA*, de acuerdo al volumen remanente de ADN extraído. De estas 40 muestras estudiadas, se

obtuvo un producto de amplificación en cantidad y calidad suficiente para secuenciar en 13 de ellas. El resto de las muestras no se consiguió amplificar, debido posiblemente a bajos niveles de ADN bacteriano y/o falta de suficiente volumen de muestra.

El análisis por BLAST de la región secuenciada corroboró que pertenecían a *C. trachomatis*. Las secuencias fueron cargadas a la base de datos GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (tabla 2). El análisis por jModel Test determinó como modelo apropiado para la región analizada a TPM1uf+G. En el árbol filogenético, se observó que el 62% de las secuencias pertenecen al genotipo E, 15% al genotipo J, 15% al genotipo D y 8% al F (figura 1).

## DISCUSIÓN

*C. trachomatis* es actualmente la bacteria más prevalente en infecciones de transmisión sexual. Sin embargo, esta prevalencia presenta una amplia variación, debida principalmente a la metodología empleada para la detección y al tipo de población analizada [2].

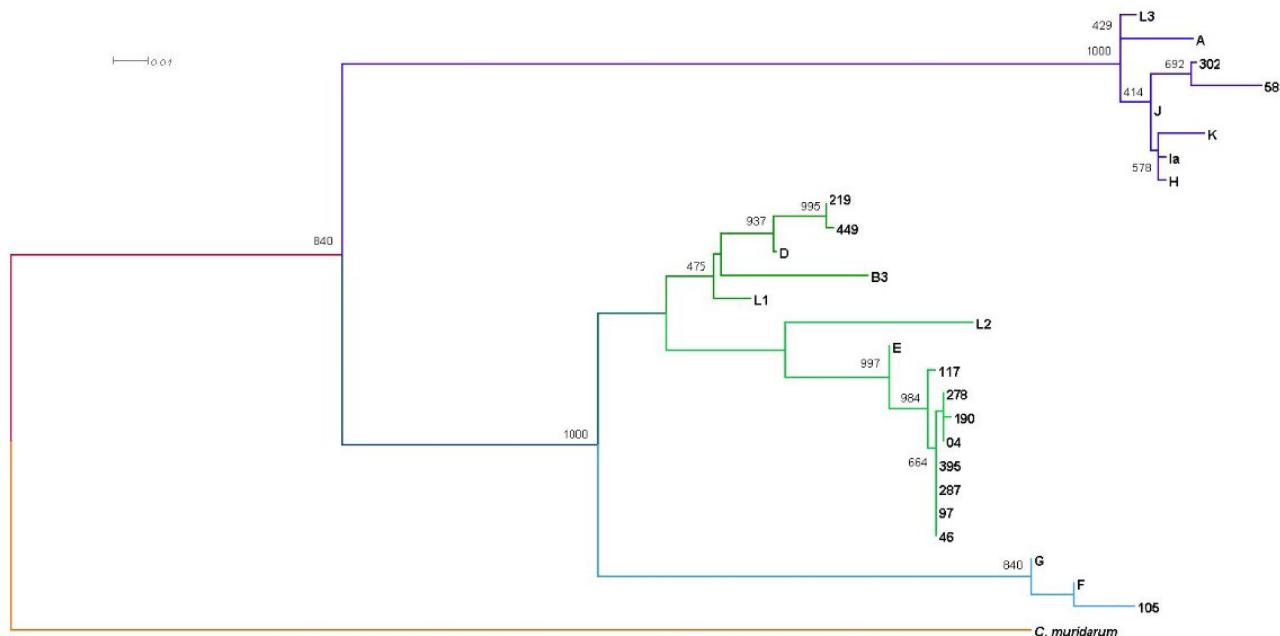
En este estudio se obtuvo una prevalencia del 8,5% mediante la amplificación del plásmido críptico. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Monetti et al [11] en un trabajo realizado en 2013 en la provincia de Córdoba, donde se obtuvo una prevalencia de 7,3%. Otro estudio realizado por Cuffini et al [12] en la ciudad de Córdoba para una población de mujeres asintomáticas, mostró una prevalencia de 13,7% para *C. trachomatis* mediante PCR para plásmido críptico. Sin embargo, este porcentaje hace referencia a un rango de edades entre 18 y 24 años. En nuestro estudio se encontró una prevalencia de 10,1% en este rango etario. Por otra parte, una prevalencia mayor, del 20,4%, fue reportada en 2009 por Sánchez Monroy et al [2], quienes estudiaron una población abierta de mujeres en la Ciudad de México, con una edad media de 34,2 años.

**Tabla 1** Relación entre infección por *C. trachomatis* y presencia de síntomas, edad, edad de inicio de relaciones sexuales y respuesta inflamatoria vaginal.

Síntomas	Sintomáticas (n = 265)	Asintomáticas (n = 240)	P	OR	IC 95%
<i>C. trachomatis</i> (+)	30 (11,3)	13 (5,4)	0,018	2,23	1,13-4,38
<i>C. trachomatis</i> (-)	235 (88,7)	227 (94,6)			
Rango de edad	15-26 años (n=244)	27-49 años (n=261)	P	OR	IC 95%
<i>C. trachomatis</i> (+)	28 (11,5)	15 (6,2)	0,021	2,12	1,10-4,08
<i>C. trachomatis</i> (-)	216 (88,5)	246 (94,2)			
Rango de edad de inicio de relaciones sexuales	13-18 años (n=365)	19-33 años (n=148)	P	OR	IC 95%
<i>C. trachomatis</i> (+)	34 (9,3)	9 (7,0)	0,754	1,25	0,82-3,22
<i>C. trachomatis</i> (-)	331 (90,7)	139 (93,0)			
Respuesta inflamatoria vaginal	Positiva (n=167)	Negativa (n=338)	P	OR	IC 95%
<i>C. trachomatis</i> (+)	20 (12)	23 (6,8)	0,05	1,86	0,98-3,5
<i>C. trachomatis</i> (-)	147 (88)	315 (93,2)			

**Tabla 2** Distribución de los genotipos de *C. trachomatis* según síntomas y edad.

Cepa	Gen Bank Nº de acceso	Genotipo	Síntomas	Edad (años)
ARG 04G	KM191149	E	SI	31
ARG 46G	KM191150	E	SI	20
ARG 97G	KM191151	E	NO	21
ARG 117G	KM191152	E	SI	23
ARG 190G	KM191153	E	SI	22
ARG 219G	KM191154	D	SI	29
ARG 278G	KM191155	E	SI	25
ARG 287G	KM191156	E	SI	26
ARG 395G	KM191157	E	SI	17
ARG 449G	KM191158	D	NO	18
ARG 58G	KM191159	J	SI	33
ARG 105G	KM191160	F	SI	18
ARG 302G	KM191161	J	SI	22



**Figura 1** Análisis Filogenético de una región del gen *ompA* de *C. trachomatis* (576 pb), construido por Maximum Likelihood usando TPM1uf+G como modelo. Los bootstraps están indicados en los nodos externos.

En un trabajo realizado en una población del noreste argentino por Deluca et al [13] donde analizaron 189 muestras de cepillado endocervical correspondiente a mujeres sexualmente activas, con un rango de edad entre 16 y 58 años, la prevalencia de *C. trachomatis*, obtenida mediante amplifica-

ción del plásmido críptico, fue del 24,9% pero cabe aclarar que todas las muestras analizadas correspondieron a mujeres en las que previamente se observaron alteraciones en el epitelio cervical.

Algunos autores [12,13] afirman que existe mayor preva-

lencia de *C. trachomatis* en jóvenes menores de 25 años de edadEn este estudio se observó que hubo una mayor prevalencia de la infección por *C. trachomatis* en el rango de edad comprendido entre los 14 y 25 años, constituyendo el 60,5% del total de mujeres infectadas.

Los resultados obtenidos del análisis filogenético indican que el genotipo E fue el más frecuente (61,5%), seguido por los genotipos D (15,4%), J (15,4%) y por último el F (7,7%). En la ciudad de Córdoba, Argentina, en la genotipificación de muestras provenientes de pacientes asintomáticas y sexualmente activas, se observó que el genotipo E era el más frecuente (73%), seguido del genotipo D (16,2%), y con menor frecuencia los genotipos F y G (5,4%) [3]. Gallo Vaulet et al [14] informó los genotipos E, D y F en un estudio de mujeres sintomáticas en la ciudad de Buenos Aires, con una frecuencia de 46,9%, 21% y 16,1% respectivamente.

En Sfax, Túnez, Gharsallah et al [15] se reportó una prevalencia de *C. trachomatis* del 4,2% ( $n= 4067$ ) en mujeres y hombres; en la genotipificación estuvieron presentes todos los genotipos para infecciones urogenitales (D-K) excepto el J, con una mayor prevalencia del genotipo E, que se encontró en el 90,6% de pacientes infectados.

En líneas generales, nuestros resultados de frecuencia de genotipos coinciden con lo reportado en la mayoría de los estudios publicados, tanto en Argentina [11,14] como en otros países [15], en los cuales se detecta una mayor prevalencia de los genotipos E, D y F en infecciones genitales. No obstante, es importante destacar que en la población analizada se observó un 15% del genotipo J a expensas del genotipo F, situación que no se observa en otros trabajos.

En relación al análisis filogenético, el árbol construido mostró tres grandes subdivisiones. Se obtuvo una distribución de genotipos similar a lo descripto por Brunelle et al [10], en la caracterización filogenética del gen *ompA*, donde proponen que existe una tendencia marcada en la agrupación de los serovares, que no está relacionado con el tropismo tisular.

Como ya se ha mencionado, *C. trachomatis* produce una infección de transmisión sexual frecuente que puede conducir a graves problemas reproductivos. La detección rutinaria de *C. trachomatis* y su tratamiento específico son importantes y necesarios, principalmente por la presentación mayormente asintomática de esta infección.

Este trabajo es el primer aporte sobre la epidemiología molecular de *C. trachomatis* en la provincia de Misiones, Argentina, con información de genotipos circulantes. Aproximadamente una de cada 10 mujeres tienen infección por *C. trachomatis* siendo más frecuente entre las mujeres con sintomatología vaginal y más jóvenes. El principal genotipo identificado fue el E, presente en tres de cada cinco mujeres. Estos resultados evidencian la importancia de realizar diagnósticos con métodos de elevada sensibilidad favoreciendo tratamientos tempranos, reduciendo riesgo de diseminación del agente y evitando complicaciones graves.

## AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales (UNaM) y al Instituto de Previsión Social Misiones por el uso de las instalaciones y los servicios prestados.

## 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. Mackern- Oberti JP, Motrich RD, Breser ML, Sánchez LR, Cuffini C, Rivero V. *Chlamydia trachomatis* infection of the male genital tract: An update. *J Reprod Immunol.* 2013; 100: 37-53. DOI: 10.1016/j.jri.2013.05.002
2. Sánchez Monroy V, Torres Mata AE, Villalba Magdaleno J. Diagnóstico de infección por *Chlamydia trachomatis* mediante PCR en pacientes que acuden a la Clínica de Especialidades de la Mujer de la Secretaría de la Defensa Nacional. *Ginecol Obstet Mex.* 2009; 77: 13-18. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19365957>
3. Brunelle BW, Sensabaugh GF. Nucleotide and phylogenetic analyses of the *Chlamydia trachomatis* *ompA* gene indicates it is a hot-spot for mutation. *BioMed Central Research Notes* 2012; 5:53 DOI: 10.1186/1756-0500-5-53.
4. Mahony JB, Luijstra KE, Tyndall M, Sellors JW, Krepel, Chernesky MA. Multiplex PCR for Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in Genitourinary Specimens n. *J Clin Microbiol.* 1995; 3049-3053. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8576375>
5. Sachse K, Hotzel H. Detection and differentiation of *Chlamydia* by nested-PCR. *Methods Mol Biol.* 2003; 216:123-36. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12512360>
6. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA 5: Molecular evolutionary genetics analysis using Maximum likelihood, evolutionary distance and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol.* 2011; 28: 2731-2739. DOI: 10.1093/molbev/mst012
7. Posada D. jModelTest: Phylogenetic model averaging. *Mol Biol Evol.* 2008; 25: 1253-1256. DOI: 10.1093/molbev/msn083
8. Guindon S, Gascuel O. A simple, fast and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Syst Biol.* 2003 52: 696-704. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14530136>
9. Srinivasan T, Bruno W, Wan R, Yen A, Duong J. In Vitro Recombinants of Antibiotic-Resistant *Chlamydia trachomatis* Strains Have Statistically More Breakpoints than Clinical Recombinants for the Same Sequenced Loci and Exhibit. *J Bacteriol.* 2012; 194: 617-26. DOI: 10.1128/JB.06268-11

10. Brunelle BW, Sensabaugh GF. The *ompA* gene in *Chlamydia trachomatis* differs in Phylogeny and Rate of Evolution from Other Regions of the Genome. *Infect Immun.* 2006; 74: 578-85. DOI: 10.1128/IAI.74.1.578-585.2006
11. Monetti MS, Molina R, Estofan P, Frutos MC, Kiguen AX, Venezuela RF, et al.. Distribution of *Chlamydia trachomatis* Genotypes in Infertile Patients of Córdoba, Argentina. *Int J Virol Mol Biol.* 2013; 2: 1-6. DOI:10.5923/j.ijvmb.20130201.01
12. Cuffini C, Bottiglieri M, Kiguen X, Alonso CE, Valdes Deimundo R, Isa MB, et al.. Molecular Epidemiology of Genital *Chlamydia trachomatis* Infection in Asymptomatic Adolescent-Young People. *J Microbiol Research.* 2012; 2: 114-17. DOI: 10.5923/j.microbiology.20120204.09.pdf
13. Deluca G, Marin H, Schelover E, Chamorro E, Vicente L, Albhom M., Alonso J.M. Infección por *C. trachomatis* y Papilomavirus en mujeres con alteraciones citohistológicas del cuello uterino. *Medicina (Buenos Aires).* 2006; 66: 303-06.
14. Gallo Vaulet L, Entrocassi C, Corominas Al, Rodríguez Fermepin M. Distribution study of *Chlamydia trachomatis* genotypes in symptomatic patients in Buenos Aires, Argentina: association between genotype E and neonatal conjunctivitis. *BMC ResNotes* 2010; 3:34. DOI: 10.1186/1756-0500-3-34
15. Gharsallah H, Frikha-Gargouri O, Sellami H, Besbes F, Znasen A, Hammami A. *Chlamydia trachomatis* genovar distribution in clinical urogenital specimens from Tunisian patients: high prevalence of *C. trachomatis* genovar E and mixed infections. *BMC Infect Dis.* 2012; 12: 333. DOI: 10.1186/1471-2334-12-333

## Original

Maria Luisa Sánchez-Núñez<sup>1</sup>  
Manuel Javier Vallina-Victorero<sup>2</sup>  
María Rosario Bachiller-Luque<sup>3</sup>  
José María Pinilla Sánchez<sup>4</sup>  
José María Eiros<sup>5</sup>

# Análisis del uso ambulatorio de antibióticos en los hospitales generales de Asturias entre 2006 y 2015

<sup>1</sup>Servicio de Gestión de Prestaciones Sanitarias. Servicio de Salud del Principado de Asturias. Oviedo. España

<sup>2</sup>Servicio de Angiología y Cirugía Vascular. Hospital de Cabueñas .Gijón. España.

<sup>3</sup>Facultad de Medicina. Universidad de Valladolid. España.

<sup>4</sup>Centro de Salud Portillo. Valladolid. España.

<sup>5</sup>Departamento de Microbiología. Hospital universitario "Rio Hortega". Valladolid. España.

### Article history

Received: 28 July 2017; Revision Requested: 1 August 2017; Revision Received: 22 August 2017; Accepted: 23 August 2017

## RESUMEN

**Introducción.** La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) señala, en su informe sobre políticas de salud de 2017 que, España es uno de los países con mayor consumo en antibióticos, 21,6 DHD (dosis diaria definida por 1000 habitantes y día) en 2014 superior a los 20,5 DHD de media en sus países, situándose según el European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) en el puesto 11 de 30 países europeos en 2016. La prescripción ambulatoria de atención especializada se analiza con menor frecuencia, debido a la mayor contribución en consumo y gasto de la atención primaria.

**Material y métodos.** Estudio descriptivo, observacional, y retrospectivo del consumo y gasto del grupo J01 derivado de la prescripción ambulatoria (consulta externa y urgencias) de los hospitales públicos generales de Asturias, en una década (2006-2015). Se estudió el consumo a través de la base de datos de facturación de receta del Servicio de Salud del Principado de Asturias, los datos demográficos se obtuvieron del Instituto Nacional de Estadística. El consumo se expresó en DHD y el gasto: en gasto por habitante e importe por dosis diaria definida.

**Resultados.** El consumo medio ambulatorio global del periodo fue de 23,4 DHD, correspondiendo el 11,5% (2,7 DHD) a la receta ambulatoria de atención especializada. En términos de gasto, supuso el 13,6% del gasto global ambulatorio en antibióticos.

**Conclusiones.** Gasto y consumo tuvieron tendencias opuestas, las medidas de control del gasto no tuvieron, o tuvieron poco impacto en consumo, por tanto, se precisan en este ámbito medidas de racionalización independientes y específicas.

**Palabras clave:** Pacientes ambulatorios. Uso antibióticos. Gasto farmaceútico. Hospital general. Dosis diaria definida.

Correspondencia:  
Mª Luisa Sánchez Núñez  
Servicio de Gestión de Prestaciones Sanitarias  
Servicio de Salud del Principado de Asturias  
Pz Carbayón, 1-2 33204 Oviedo  
Email: luisasn@gmail.com

## Analysis on the ambulatory usage of antibiotics at general hospitals in Asturias (2006-2015)

### ABSTRACT

**Introduction.** The Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) emphasize, in its report on health policies from 2017 that, Spain is one of the countries with largest consumption of antibiotics, 21.6 DHD (defined daily dose per 1000 inhabitants per day) in 2014 greater than the average 20.5 DHD in their countries, ranking according to the European Center for Disease Prevention and Control (ECDC) in the 11th place out of 30 European countries in 2016. The outpatient prescription of specialized care is analyzed less frequently, due to the greater contribution in consumption and expenditure of primary care.

**Material and methods.** A descriptive, observational, and retrospective study of the consumption and expenditure of the J01 group derived from outpatient prescription (outpatient and urgent care) of public hospitals in Asturias, in a period of ten years (2006-2015). Consumption data were obtained using the database of prescription billing of the Health Service of the Principality of Asturias, demographic data were provided by the National Institute of Statistics. Consumption was expressed in DHD and antibiotics expenditure in: expenditure per capita and expenditure in euros per defined daily dose.

**Results.** The average global ambulatory consumption for the period was 23.4 DHD, corresponding 11.5% (2.7 DHD) to the ambulatory specialty care prescription. In terms of expenditure, it accounted for 13.6% of overall outpatient spending on antibiotics.

**Conclusions.** Outlay and consumption had opposite tendencies, the expenditure control measures did not have or had little impact on consumption, therefore, independent and specific rationalization measures are required in this area.

**Keywords:** Ambulatory patients. Antibiotics usage. Pharmaceutical expenditure. General hospital. Daily dose defined.

## INTRODUCCIÓN

La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) señala, en su informe de marzo de 2017 relativo a las políticas de salud en España que, las prácticas de prescripción deben utilizarse como indicadores de la calidad de la atención y pone como ejemplo, los antibióticos. España, es uno de los países de la Unión Europea con las cifras más altas de consumo, 21,6 DHD en 2014 frente a los 20,5 DHD de media en sus países [1]. En este sentido, los datos facilitados por el European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) en 2016 [2], nos sitúan en el puesto 11 de 30 países. Comparada la evolución de nuestro país con la de dos países como Suecia o Reino Unido, que disponen un SNS (Sistema Nacional de Salud) como proveedor principal de asistencia sanitaria, mantenemos cifras de consumo evolutivamente más elevadas.

Organismos internacionales, sociedades científicas y administraciones sanitarias de todo el mundo centran sus actuaciones en vigilar el consumo como primera medida en la prevención de la aparición de resistencias, debido al enorme impacto que representa en términos de salud y económicos. En este sentido, nuestro país ha diseñado el Plan estratégico y de acción para reducir el riesgo de selección y diseminación de resistencias a los antibióticos del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad [3], que establece como primera medida, la monitorización del consumo.

La mayor parte de los estudios que analizan consumo y gasto de antibióticos en el ámbito extra hospitalario, toman como referencia los dos niveles asistenciales de forma global o circunscrita a la atención primaria, debido a que la prescripción ambulatoria en nuestros hospitales es menor. Sin embargo, el análisis del mismo puede ser interesante ya que puede diferir, y en algún ámbito influir, en la prescripción en atención primaria. En nuestro trabajo analizamos la aportación por parte de atención especializada, al consumo y gasto en el uso de los antibacterianos para uso sistémico del grupo J01 de la ATC en Asturias, en el ámbito extra hospitalario, durante una década (años 2006-2015).

## MATERIAL Y MÉTODOS

Hemos realizado un estudio descriptivo, observacional, longitudinal y retrospectivo, en el ámbito de la Comunidad Autónoma del Principado de Asturias, en las ocho áreas sanitarias: I (Jarrio), II (Cangas del Narcea), III (Avilés), IV (Oviedo), V (Gijón), VI (Arriondas), VII (Mieres) y VIII (Langreo). Atendiendo a los factores geográficos, socioeconómicos, demográficos, laborales, epidemiológicos, culturales, climatológicos y de accesibilidad, así como la tipología de las zonas básicas de salud y zonas especiales de salud y la clasificación del hospital general de referencia, hemos tipificado a las áreas sanitarias de Asturias en rurales (I, II y VI), semiurbanas (VII y VIII) y urbanas (III, IV y V).

El periodo de estudio comprende desde el 1 de enero de 2015 al 31 de diciembre de 2016.

Se ha utilizando la metodología que utiliza la AEMPS (Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios) en los informes técnicos del Observatorio de Uso de Medicamentos [4] para el estudio del consumo y las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud sobre Estudios de Utilización de Medicamentos [5] expresando los consumos de las especialidades farmacéuticas en dosis diaria definida por habitante y día, (DHD). Como indicador de gasto, del mismo modo que la OMS [5], se ha utilizado el importe por dosis diaria definida (DDD) expresado en euros/DDD. En el análisis del gasto, hemos asociado también, el indicador gasto por habitante, expresado en €/hbt (euros/habitante), ya que es un indicador que utiliza de forma habitual la OCDE [2] y también la OMS [5], para expresar y comparar gasto farmacéutico.

Los datos de consumo y gasto, se han obtenido a través del sistema de información de facturación de la prestación farmacéutica del SESPA, que permite la obtención datos a nivel de especialidades farmacéuticas, principios activos, colegiados, gerencias, pacientes, laboratorios o farmacias. De esta forma se han obtenido los datos de consumo y gasto globales, relativos a la facturación de la receta ambulatoria (atención primaria y consulta externa y urgencias de atención especializada) a nivel área sanitaria, de forma conjunta y desagregados por nivel asistencial. Los datos los datos demográficos se obtuvieron del Instituto Nacional de Estadística [6].

Se calculó el consumo y el gasto medio anual en su conjunto y desagregado por nivel asistencial en cada área sanitaria, a nivel de grupo, subgrupo terapéutico y principio activo.

El análisis se realizó en el programa Excel 2010 (v14.0) y en el software estadístico R. En el mismo se utilizó el análisis de la varianza. Posteriormente aplicamos el test de Tukey que se utiliza en ANOVA para crear intervalos de confianza, en este caso del 95%, para todas las diferencias en parejas entre las medias de las distintas áreas.

## RESULTADOS

Se ha registrado, para el periodo de estudio, a nivel extra hospitalario, una consumo medio de 23,4 DHD (DE: 1,3), correspondiendo a la prescripción de atención especializada una media de 2,7 DHD (DE: 0,3), el 11,5%. La evolución a lo largo del decenio ha experimentado una tendencia fluctuante, al alza, especialmente en los dos últimos años del periodo; se observa, un mayor consumo en las áreas con estructuras semiurbanas (VII y VIII), seguidas de las rurales (I y II) y ambas superiores a las de tipología urbana (IV y V) (figura 1).

Encontramos que a nivel de subgrupo terapéutico, las responsables del mayor consumo fueron las penicilinas, que representaron el 54,4% del mismo (un 62,1% en el ámbito comunitario y un 61,2% a nivel global), seguido de quinolonas con un 17,6% (cuarto puesto en la prescripción comunitaria con una representación del 8,07%, segundo en la global con un 11,7%). Las cefalosporinas ocuparon el tercer lugar con un 8,7% de distribución, muy similar en porcentaje al global de la Comunidad que fue del 8,2%, ambos inferiores al 10,9% de prescripción

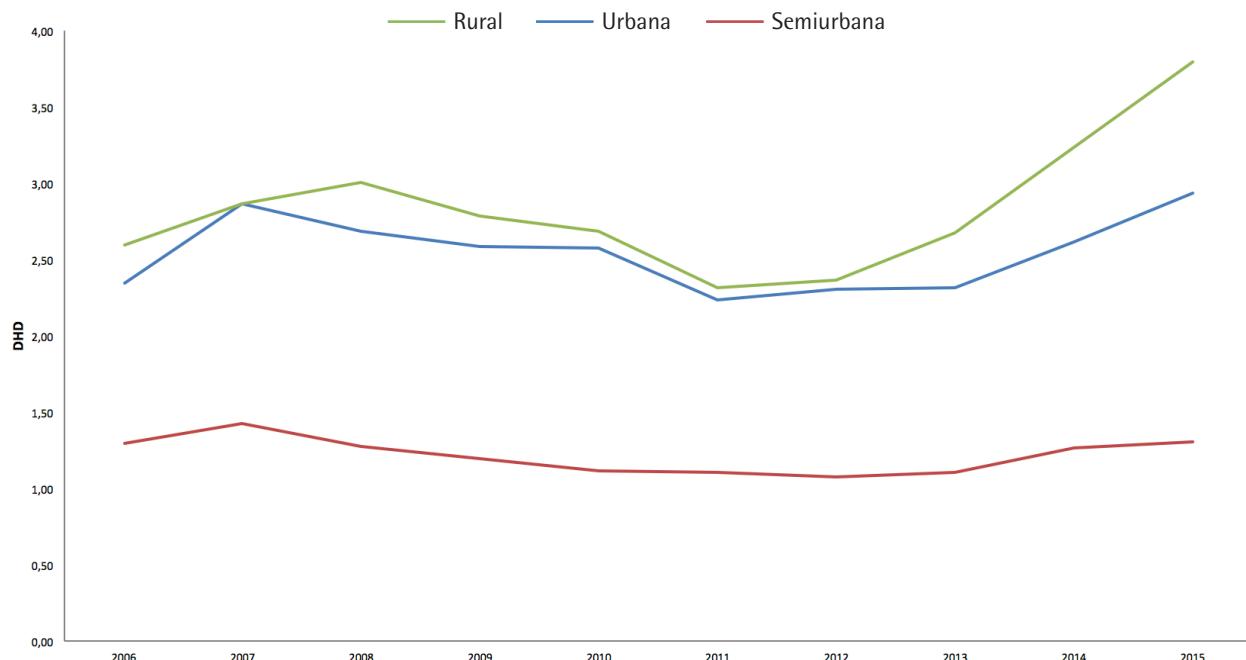


Figura 1 Evolución del consumo de antimicrobianos en atención especializada (AE) por tipo de área sanitaria

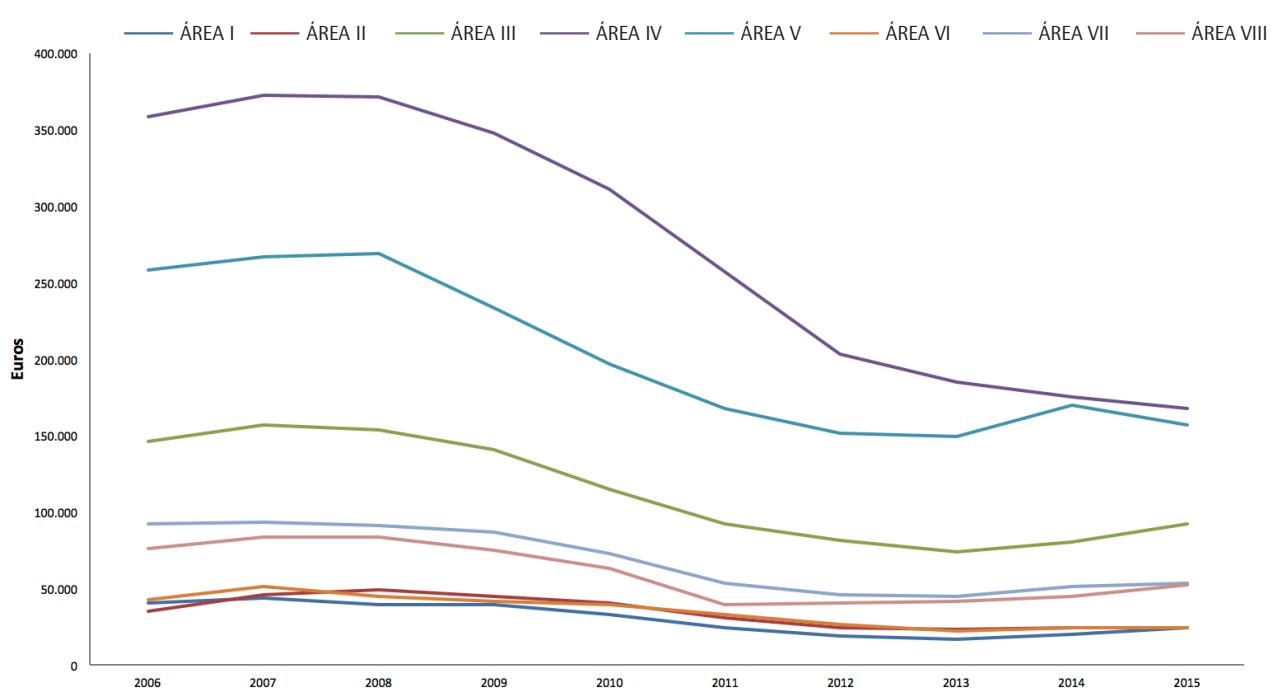


Figura 2 Evolución del gasto ambulatorio en atención especializada (AE) J01 2006-2015 por área sanitaria

**Tabla 1****Gasto por habitante por subgrupo terapéutico y área sanitaria en atención primaria y especializada.**

Gasto/Habitante Subgrupo terapéutico	AREA I	AREA II	AREA III	AREA IV	AREA V	AREA VI	AREA VII	AREA VIII
Atención Especializada	0,61	1,13	0,73	0,81	0,67	0,64	1,00	0,75
Tetraciclinas	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01
Penicilinas	0,17	0,29	0,20	0,22	0,20	0,19	0,21	0,18
Otros antibacterianos betalactámicos	0,10	0,22	0,11	0,15	0,13	0,09	0,16	0,12
Sulfonamidas y trimetoprim	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Macrólidos y lincosamidas	0,06	0,10	0,08	0,10	0,08	0,05	0,12	0,10
Quinolonas	0,24	0,44	0,28	0,27	0,22	0,26	0,43	0,29
Otros antibacterianos	0,02	0,07	0,03	0,04	0,02	0,04	0,06	0,04
Atención Primaria	5,73	6,13	5,08	4,70	4,13	5,46	6,04	5,16
Tetraciclinas	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03
Penicilinas	1,54	1,59	1,59	1,26	1,40	1,58	1,86	1,69
Otros antibacterianos betalactámicos	0,87	1,25	0,76	0,83	0,62	0,83	0,93	0,58
Sulfonamidas y trimetoprim	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04
Macrólidos y lincosamidas	1,14	1,25	1,12	0,90	0,67	0,84	1,18	1,18
Quinolonas	1,63	1,55	1,09	1,22	1,01	1,57	1,32	1,15
Otros antibacterianos (sistémicos)	0,44	0,39	0,40	0,38	0,33	0,55	0,64	0,41

**Tabla 2****Principios activos de mayor importe/dosis diaria definida (DDD) en atención especializada**

Importe/DDD Atención Especializada	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	Media	DE
J01MA14 Moxifloxacino	4,17	4,13	4,00	4,06	3,96	4,02	3,93	3,61	2,46	2,19	3,65	0,72
J01DD16 Cefditoren	3,59	3,53	3,46	3,45	3,51	3,55	3,45	3,19	3,19	3,20	3,41	0,16
J01XX01 Fosfomicina	3,67	3,68	3,48	3,65	3,73	3,41	2,89	2,60	2,42	2,43	3,20	0,55
J01MA12 Levofloxacino	3,77	3,72	3,04	2,97	2,43	1,84	1,75	1,64	1,59	1,56	2,43	0,89
J01FA10 Azitromicina	2,04	1,67	1,56	1,44	1,28	0,96	0,90	0,87	0,86	0,86	1,25	0,42
J01DD08 Cefixima	1,75	1,45	1,32	1,26	1,20	0,93	0,88	0,85	0,83	0,89	1,14	0,31
J01DC02 Cefuroxima	1,74	1,60	1,36	1,25	1,04	0,84	0,79	0,76	0,76	0,75	1,09	0,38
J01CE02 Fenoximetilpenicilina	0,83	0,98	0,98	1,04	1,03	1,10	1,12	1,12	1,18	1,15	1,05	0,10
J01FA09 Claritromicina	1,37	1,30	1,30	1,23	1,13	0,86	0,72	0,65	0,65	0,63	0,98	0,31
J01CF02 Cloxacilina	0,99	0,91	0,89	1,02	1,04	1,07	0,84	0,80	0,78	0,75	0,91	0,12
J01DC04 Cefaclor	1,20	0,92	0,96	0,88	0,87	0,84	0,84	0,68	0,75	0,74	0,87	0,15

en atención primaria. En último lugar se encontrarían los macrólidos, con un 7,7% de representación, cifra sensiblemente inferior a la observada a nivel global, un 11% y a la de atención primaria que con un 11,5% los situaba en el segundo subgrupo en prescripción.

El gasto medio anual a lo largo del período fue de 818.223 € ( DE: 234.433 € ), con una tendencia evolutiva decreciente,

experimentando un decremento entre el 2006 y el 2015 del 43% observándose la caída máxima interanual en 2011, con un repunte del mismo en los dos últimos años, en todas las áreas sanitarias, a excepción del área IV (figura 2 ).

Cuando analizamos la evolución del gasto referida a población, en términos de gasto por habitante para el grupo J01, se obtuvo una media a lo largo de periodo de 5,6 €/

habitante (DE: 1,1), experimentando una evolución fluctuante y decreciente, contribuyendo la prescripción ambulatoria en atención especializada, a ese gasto en un 13,8%. Por subgrupo terapéutico, el mayor gasto lo encontramos en las quinolonas con 0,3 €/habitante, seguido de las penicilinas con 0,2 €/habitante, y en tercer lugar, las cefalosporinas con un gasto de 0,1 € (tabla 1).

Amoxicilina-clavulánico, como principio activo, se situó en primer lugar en la estructura de gasto siendo responsable del 26,4%, levofloxacino en segundo lugar con un 19% de representatividad, seguido de moxifloxacino con un 12,9% y cefuroxima ocupando el cuarto lugar con un 9%.

El importe medio, para el conjunto de los antibacterianos durante el periodo de estudio fue de 1,1 € (DE: 0,2), siendo la media en atención especializada de 1€ (DE: 0,2), un 11% inferior al observado en atención primaria. Las áreas dónde se ha observado mayor importe fueron la II y la VII. Los cuatro primeros principios activos con mayor importe fueron: moxifloxacino, cefditoren, fosfomicina, y levofloxacino (tabla 2), con un importe medio inferior para esos cuatro principios a los obtenidos en atención primaria, que varía entre el 1,6% de moxifloxacino, y el 0,2% de fosfomicina.

## DISCUSIÓN

Resulta imprescindible, definir y concretar, en este tipo de estudios, de forma precisa el concepto de "ámbito ambulatorio", y concretamente "extra hospitalario", puesto que éste supone el 92% del consumo de antibióticos en España y el 80% en el ámbito internacional [7-8].

Una reciente revisión de la Cochrane de 221 estudios relativos a distintas técnicas (facilitadoras y restrictivas) de intervención de mejora de calidad de prescripción y racionalización del uso de antibióticos en los hospitales, considera que las intervenciones reducen de forma segura del uso innecesario de antibióticos, e indican que este tipo de medidas deberían tener una repercusión considerable en las políticas sanitarias y en los servicios de salud [9], reflexión que nosotros también apuntábamos en nuestra serie realizada en el Hospital Clínico de Valladolid [10]. En este sentido, se impone la necesidad de realizar análisis de la utilización de los antimicrobianos en el ámbito ambulatorio, en todos los niveles asistenciales de prescripción.

Hasta dónde hemos podido revisar, el análisis del consumo y gasto de la prescripción extra hospitalaria de atención especializada, tanto en su consulta externa como en los servicios de urgencia, ambos con alta tasa de frequentación y por tanto de prescripción de antibioterapia, no es objeto de análisis de forma detallada en la mayor parte de los estudios de consumo de antibióticos realizados en nuestro país. Es posible encontrar estudios que analizan la calidad o la adecuación de la prescripción [11-14], o incluso desde la publicación del documento de consenso PROA de 2011 [15], una mayor concienciación en el entorno sanitario sobre los problemas del uso creciente de tratamientos antimicrobianos

y el aumento paralelo de las resistencias, generando, múltiples iniciativas de optimización de antimicrobianos en diferentes hospitales españoles, con la monitorización en los mismos del consumo y gasto intrahospitalario [10,16]. En algunos estudios, incluso en alguna serie realizada por nosotros hace años, se extrapolaba al consumo del área sanitaria, la provincia o la Comunidad Autónoma el originado en atención primaria [17-19], ya que como hemos señalado anteriormente, a este nivel se le imputaba más del 90% del consumo extra hospitalario. Por otra parte, en estudios de relevancia realizados a nivel de SNS o de Comunidad Autónoma en los que se analizaba la evolución del consumo de antibióticos en el ámbito extra hospitalario, este no se analizaba, de forma diferenciada por nivel asistencial, ni cualitativa ni cuantitativamente [20-25]:

La necesidad de cuantificar la contribución de la atención especializada al consumo ambulatorio de antibacterianos se impone, en aquellos estudios en los que se desea establecer comparaciones con los datos que proporciona el ECDC, que diferencia para la mayor parte de los países ambos niveles, si bien en estos datos, tal y como aclara el propio ECDC, las cifras en atención total incluyen datos tanto del sector hospitalario como de la comunidad (sector de atención primaria) pero sobreestima las cifras cuando se utilizan para la elaboración de informes para el sector comunitario. Además de las dificultades anteriormente mencionadas, algunos países presentan datos de reembolso que no incluyen el consumo de antimicrobianos obtenidos sin receta y otros no reembolsados con lo que a la hora de establecer comparaciones de datos, tampoco con este organismo están exentas de dificultades [2].

Desde el punto de vista global, las cifras de consumo de Asturias se encuentran en el entorno de otras CCAA, así nuestras cifras (23,4 DHD) son similares a las publicadas para el 2015 por la comunidad Autónoma Andaluza (23,6 DHD), y a la Gallega (23,5 DHD) si bien los datos no son comparables con exactitud con la primera comunidad, ya que utiliza como denominador la población de tarjeta sanitaria [26] si pueden ser orientativos.

La atención especializada aportó al global del consumo extra hospitalario, 2,7 DHD que representa en términos de porcentaje el 11,50%. Hasta dónde hemos sido capaces de revisar, nos permite aproximarnos al enfoque otorgado en nuestro trabajo, los que aporta la Subdirección de Farmacia y Prestaciones del Servicio Andaluz de salud en 2015 [27], donde atribuye a la receta de atención primaria el 86% del consumo extra hospitalario, siendo en principio nuestro consumo inferior a ese 14% que Andalucía le imputa en sus datos. Comparativamente con los datos que el ECDC proporciona para países de nuestro entorno, nos sitúa para el mismo periodo en cifras similares ligeramente superiores a Francia, que lo sitúa en 2,2 DHD y sensiblemente superiores a los países nórdicos, que muestran cifras de consumo de 1,4 DHD en el caso de Noruega y 1,5 DHD de Suecia.

La tendencia evolutiva del consumo, tuvo varias fases durante estos años, una primera con un consumo creciente a partir del 2006, seguida de una segunda fase decreciente entre

2009-2012, finalizando posteriormente con tendencia al alza en los tres últimos años, presentado en el 2015 los niveles de prescripción más altos del período, comportamiento similar al conjunto del SNS. Dependiendo de la tipología de área, se observa un mayor consumo en los hospitales generales de referencia de las áreas con estructura semiurbana, seguidas de las rurales y ambas diferenciadas del menor en las de tipología urbana, en el mismo sentido de lo descrito por otros autores en otras comunidades para la atención primaria [18].

Respecto al perfil de utilización por subgrupos terapéuticos, destacamos en primer lugar que la distribución varía en función del nivel asistencial de prescripción. Así, mientras que en atención primaria el orden de mayor a menor consumo fue penicilinas, macrólidos, cefalosporinas y quinolonas, en atención especializada el después de las penicilinas que también ocuparon el primer lugar, las quinolonas fueron el segundo grupo más utilizado con un porcentaje superior al 17% del consumo, seguido de las cefalosporinas y por último los macrólidos, lo que da idea de la relevancia que este subgrupo tiene en la receta ambulatoria de este nivel, no sólo en porcentaje sino en representatividad.

El perfil de prescripción por principio activo varía significativamente dependiendo del nivel, la amoxicilina-clavulánico se mantiene como el principio activo más utilizado a nivel global, concordante con los datos de otras comunidades y el conjunto del SNS [22,24,26,27]. En atención primaria le sigue la amoxicilina, cefuroxima, azitromicina y ciprofloxacino. En especializada, el segundo principio activo más prescrito fue el ciprofloxacino, seguido de la amoxicilina, doxiciclina, cefuroxima y levofloxacino. Para amoxicilina-clavulánico y ciprofloxacino, coincidimos con los datos aportados por el estudio de Ramos Martínez [12] en 2004 en el ámbito de la urgencia, que sin embargo, difiere de los resultados de Vergeles [11] para ese mismo ámbito en 1998. Estas diferencias entre los resultados anteriores, entre sí y con los nuestros, se podrían explicar quizás por la diferencia cronológica temporal, y puede ser un indicador de la variación del perfil prescriptor en estos años. En nuestro caso, se suma la influencia de la prescripción de la consulta externa del hospital.

El porcentaje de gasto atribuible a la prescripción en atención primaria es del 86,4%, del resto, un 13,6% es responsable la prescripción ambulatoria de atención especializada (urgencias y consultas externas).

Cuando se comparan los datos de Asturias con los que proporciona para el mismo período la OCDE, vemos que la comunidad autónoma presenta en todo el período cifras muy por debajo del conjunto del SNS e incluso inferiores a las del sistema sanitario sueco, con un gasto medio para España de 6,5 €/habitante, y 10,3 €/habitante en Suecia, lo que lo sitúa a Asturias en un gasto medio un 46 % inferior al sueco y un -14% al del conjunto del país, posiblemente estas diferencias se deban a que los datos que proporciona la OCDE [1] proceden de las ventas.

En nuestro estudio encontramos una tendencia decreciente a lo largo del período que coincide con la tendencia que Colomina [23] describe para el conjunto de la Comunidad

Valenciana en periodo 2006-2011, sin embargo nuestras cifras de gasto por habitante son inferiores, mientras que en esta CCAA en el año 2006 ascendía a 10 €/habitante, y finalizaba el 2011 con 6,9 €/habitante y 5,2 €/habitante, sensiblemente inferiores. Del mismo modo que Colomina apuntamos que, el control del gasto no supone control del consumo, ya que al igual que él observa en Valencia, en los últimos años, el gasto farmacéutico de los antibacterianos para uso sistémico en Asturias ha disminuido considerablemente, pero su consumo se ha incrementado de forma muy llamativa, especialmente cuando se compara con otros países europeos.

El importe por DDD es un indicador que da idea del valor económico a que puede ascender el tratamiento de este grupo terapéutico, si comparamos nuestros datos con los facilitados por el Instituto de Información Sanitaria del Ministerio de Sanidad y Consumo para el año 2005, el importe/DDD del grupo J01 era de 1,5 €/habitante, en nuestro estudio para el año siguiente fue de 1,5 €/habitante cifra similar, también en línea con las cifras del realizado por Pastor et al [28], en el período 1996-2000, estos autores encontraron un gasto por DDD que osciló entre 1,7 € de máximo y 1,55 € de mínimo, para la población general de la provincia de Valladolid, siendo los de Vázquez M.E de 1,15 €/DDD en la población pediátrica de Castilla y León en el período 2001-2010 [19]. En nuestro estudio encontramos cifras similares a este último trabajo con un Importe/DDD medio para el conjunto de Asturias durante el período de estudio de 1,08 €, es decir, sensiblemente inferior al registrado para el conjunto del SNS al inicio de la serie. La tendencia fue fluctuante, partiendo del importe máximo en 2006 de 1,48€ con el valle en 2013 con 0,8€, repuntando desde entonces con tendencia creciente en los dos últimos años del período de estudio finalizando en 2015 con 0,9€. Encontramos diferencia entre los dos niveles de atención, siendo el importe medio en AP de 1,1€ y en especializada del 1,01€ un 11% inferior.

A nivel de área sanitaria existen importantes diferencias derivadas fundamentalmente de la prescripción y del nivel de atención, no encontrando uniformidad en la utilización de los principios activos de mayor utilización, tanto en consumo como en gasto. Sin embargo, hemos podido constatar que, la prescripción de antimicrobianos fue mayor en las áreas semiurbanas que en las urbanas.

Consideramos importante la diferenciación del consumo por niveles asistenciales, que debe ser analizada en todo estudio de consumo ambulatorio extra hospitalario, puesto que la aportación de la prescripción ambulatoria de nuestros hospitales en el consumo, no sólo es significativa desde el punto de vista cuantitativo, sino cualitativo.

La evolución descendente del gasto ha sido más intensa a partir del año 2010, con un ligero repunte a partir del 2013 evolucionando de la misma forma que el gasto farmacéutico por receta del conjunto del SNS, lo que apunta a que han incidido sobre el mismo los mismos factores, es decir, las medidas legislativas dirigidas a la racionalización del gasto farmacéutico

implantadas en este período, han sido efectivas a la hora de racionalizar gasto pero no ha modificado la tendencia alcista de consumo.

Los datos apoyan la necesidad de seguir trabajando en los dos niveles asistenciales para reducir la variabilidad de prescripción, incidiendo, en la formación y en la implantación por parte de las autoridades sanitarias, de herramientas de ayuda a la prescripción a los profesionales.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a D. Evaristo Bayón, técnico del área de sistemas del SESPA su colaboración en la obtención de los datos.

## 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. OECD. Health at a Glance 2015: OECD Indicators, OECD Publishing. Disponible en: <https://www.oecd.org/els/health-systems/Health-Policy-in-Spain-March-2017.pdf> [consultado el 25 de julio de 2017].
2. Summary of the latest data on antibiotic consumption in the European Union. ESAC-Net Surveillance data. November2016. Disponible en: [https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/antibiotics-ESAC-Net%20Summary%202016\\_0.pdf](https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/antibiotics-ESAC-Net%20Summary%202016_0.pdf) [consultado el 31 de diciembre de 2017.]
3. Plan estratégico y de acción para reducir el riesgo de selección y diseminación de la resistencia a los antibióticos. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/publicaciones/publica/plan-estrategico-antibioticos/v2/docs/plan-estrategico-antimicrobianos-AEMPS.pdf> [consultado el 25 de julio de 2017]
4. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios - Medicamentos de Uso Humano - Observatorio del Uso de Medicamentos de la AEMPS - Metodología utilizada. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/medicamentosUsoHumano/observatorio/metodologia.htm> [consultado el 25 de julio de 2017]
5. WHO. DDD Indicators. Disponible en: [http://www.who.int/medicines/regulation/medicines-safety/toolkit\\_indicators/en/index1.html](http://www.who.int/medicines/regulation/medicines-safety/toolkit_indicators/en/index1.html) [consultado el 31 de diciembre de 2017]
6. Instituto Nacional de Estadística. Proyecciones de población a 31 de diciembre. Disponible en: [Http://www.ine.es/dyngs/INEbase/es/categoria.htm?c=Estadistica\\_](Http://www.ine.es/dyngs/INEbase/es/categoria.htm?c=Estadistica_) [consultado el 1 de julio de 2016]
7. Wise R, Hart T, Cars O, Streulens M, Helmuth R, Huovinen P, et al. Antimicrobial resistance. Is a major threat to public health. BMJ. 1998; 317:609-10. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9727981>
8. Baquero Mochales F, Baraibar Castelló R, Campos Marqués J, Domínguez Rodríguez L, Garau Alemany X, García Rodríguez JA, et al. Resistencia microbiana: ¿Qué hacer? Informe del panel de expertos. Rev Esp Salud Pública. 2008; 69:445-61. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8789357>
9. Davey P, Marwick CA, Scott CL, Charani E, McNeil K, Brown E, et al. Interventions to improve antibiotic prescribing practices for hospital inpatients. Cochrane Database Syst Rev. 2017 Feb 9;2:CD003543. DOI: 10.1002/14651858.CD003543.pub4
10. March Rosselló GA, Mora AA, Pérez Rubio A, Eiros Bouza JM. Anti-infectives for systemic use prescribed in a Spanish hospital between 2009-2013. Infez Med. 2016; 24:18-23. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27031892>
11. Vergeles-Blanca JM, Fernández de Aguilar JA, Horméno Bermejo R, Elías Retamoso F, Cordero Torres JA, Buitrago F. Quality and characteristics of antibiotics prescriptions in an emergency hospital service. Rev Esp Salud Pública. 1998; 72:111-8. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9643066>
12. Ramos Martínez A, Cornide Santos I, Marcos García R, Calvo Corbella E. Calidad de la prescripción de antibióticos en un servicio de urgencia hospitalario. An Med Interna 2005; 22: 266-70. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16011404>
13. Ochoa C, Inglada L, Eiros JM, Solís G, Vallano A, Guerra L et al. Appropriateness of antibiotic prescriptions in community-acquired acute pediatric respiratory infections in spanish emergency rooms. Pediatr Infect Dis J 2001; 20: 751- 58. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11734736>
14. Elviro Llorens M. (2016). Estudio de la calidad de la prescripción hospitalaria de antibioterapia en la población pediátrica y propuesta de mejora con la colaboración de un farmacéutico en el equipo asistencial. Tesis doctoral. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense. Madrid. <http://eprints.ucm.es/40130/1/T38033.pdf>
15. Rodríguez-Baño J, Paño-Pardo JR, Alvarez-Rocha L, Asensio A, Calbo E, Cercenado E, et al. Programas de optimización de uso de antimicrobianos (PROA) en hospitales españoles: documento de consenso GEIH-SEIMC, SEFH y SEMPSPH. Enferm Infec Microbiol Clin 2012; 30: 22.e1-22.e23. DOI: 10.1016/j.eimc.2011.09.018
16. Aparici Bolufer JV, Taboada Montero C. Estudio de la utilización de antibióticos de un hospital comarcal. Años 1998-2002. Farm Hosp 2004; 28: 410-18. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15628943>
17. Ripoll Lozano MA, Jimenez Arce JI, Pedraza Dueñas A. Variabilidad en la prescripción de antibióticos en la provincia de Ávila. Rev Esp Quimioter. 2007; 20:44-50. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17530035>
18. Pinilla Sánchez JM, Eiros Bouza JM, Arahuetes Benito F, Vega Quiroga S, Moreno Sánchez E. Consumption of antibiotics of the general population of Segovia area during the period between 1999 to 2007. Rev Esp Quimioter 2011; 24:99-106. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21667003>

19. Vázquez Fernández ME, Bachiller Luque MR, Vázquez Fernández MJ, Pastor García E, Eiros Bouza JM. Variabilidad de la prescripción de antibióticos en la población pediátrica de Castilla y León durante los años 2001 a 2005 en el medio urbano o rural. *An Pediatr* 2007; 67:139-44. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17692259>
20. Álvarez M, Eiros JM, Pastor E, Sierra E. Consumo de antibióticos de uso sistémico en la comunidad de Castilla y León. *Semergen* 2011;37:534-9.
21. Lázaro Bengoa E, Madurga Sanz M, de Abajo Iglesias FJ. Trends in antibiotic consumption in Spain, 1985-2000. *Med Clin (Barc)*. 2002; 118:561-8. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12015944>
22. Lázaro-Bengoa E, de Abajo Iglesias FJ, López-Navas A, Fernández-Cortizo MJ. Uso de antibióticos en España y marco regulador para su desarrollo clínico en la Unión Europea. *Enferm Infect Microbiol Clin.* 2010;28 Suppl 4:10-6. DOI: 10.1016/S0213-005X(10)70036-7.
23. Colomina-Rodríguez, J; Gil-Tomás, JJ.; Pérez-Doñate, V; Borrás-Máñez, M. Antibióticos en la Comunidad Valenciana: controlando el gasto pero no el consumo. *Rev Esp Quimioter.* 2014, 27: 227-29. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25229382>
24. Uso ambulatorio de antibióticos en Galicia de 2007 a 2015. BEG 2016; 23: 18-31. Boletín epidemiológico de Galicia BEG, 2016, Vol. 28, Nº. 5, pp. 18-34
25. Díaz A, Ochoa C, Brezmes MF, López-Urrutia L, Rivas N. Correlación entre la prescripción de antibióticos y el descenso de las resistencias a antimicrobianos en el área de salud de Zamora. *Enferm Infect Microbiol Clin.* 2009 ;27(3):153-9. DOI: 10.1016/j.eimc.2008.03.003.
26. Actualización de los mapas de consumo de antibióticos en Andalucía. Disponible en: [http://www.juntadeandalucia.es/servicioandaluzdesalud/principal/documentosacc.asp?pagina=gr\\_mapamedicamento\\_antib\\_j01](http://www.juntadeandalucia.es/servicioandaluzdesalud/principal/documentosacc.asp?pagina=gr_mapamedicamento_antib_j01) [consultado el 3 de agosto de 2017]
27. Consumo de Antimicrobianos en Andalucía. Jornada PIRASOA. 2015. Disponible en: [http://pirasoaiavante.es/pluginfile.php/333/mod\\_resource/content/18/Consumo%20de%20antimicrobianos%20en%20Andaluc%C3%ADa.pdf](http://pirasoaiavante.es/pluginfile.php/333/mod_resource/content/18/Consumo%20de%20antimicrobianos%20en%20Andaluc%C3%ADa.pdf) [consultado el 3 de agosto de 2017]
28. Pastor García E, Eiros Bouza JM, Mayo Iscar A. Análisis comparativo de indicadores en los estudios de utilización de medicamentos. MEDIFAM 2002; 12: 7-12. [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1131-57682002000100002&lng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1131-57682002000100002&lng=es).

## Original

Juan Carlos del Rio-  
Valencia  
Rocio Asensi-Diez  
Raquel Madera-Pajin  
Lucía Yunquera-Romero  
Isabel Muñoz-Castillo

# Interferon-free treatments in patients with hepatitis C genotype 3 infection in a tertiary hospital

Hospital Regional Universitario de Málaga.

#### Article history

Received: 1 August 2017; Accepted: 25 October 2017

## ABSTRACT

**Introduction.** Hepatitis C virus genotype 3 represents a unique entity within HCV treatment and multiple studies have documented that HCV genotype 3 infection is associated with more rapid disease progression than other genotypes, resulting in increased risk of cirrhosis, hepatocellular carcinoma, and all-cause mortality. In the current study, we further evaluated the real-world effectiveness of 12 weeks of ledipasvir/sofosbuvir ± ribavirin (LDV/SOF ± RBV) and sofosbuvir + daclatasvir (SOF + DCV) for treatment-naïve or treatment-experienced patients infected with HCV genotype 3, with or without cirrhosis.

**Material and methods.** Retrospective and observational study carried out in a third level hospital. Study period: April 2015 to January 2016. Inclusion criteria: Patients with HCV genotype-3 infection treated either with LDV/SOF ± RBV or with SOF + DCV during study period treated for 12 weeks. The patients that were treated during 24 weeks were excluded and those treated with peg-interferon. The main endpoint measured was the sustained virologic response (SVR) at 12 weeks (SVR12) and the secondary endpoint was SVR at 24 weeks (SVR24).

**Results.** During the study period, 603 patients were treated in our hospital: 71 with genotype 3. We included 46 patients who were treated with LDV/SOF ± RBV or SOF + DCV for 12 weeks. A 43.75% (7/16) of all patients treated with LDV/SOF achieved SVR12, 90% (9/10) of the patients treated with LDV/SOF+RBV achieved SVR12 and 95% (19/20) of the patients treated with SOF+DCV achieved SVR12. There was statistically significant difference ( $p=0.001$ ) between LDV/SOF respect to SOF+DCV and between LDV/SOF with regard to LDV/SOF +RBV ( $p=0.018$ ) used to treat HCV genotype 3 infection.

Correspondencia:  
Rocio Asensi-Diez  
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.

**Conclusions.** In conclusion, in our cohort of patients, the combination of SOF + DCV followed by LDV/SOF + RBV 12 weeks were the most effective in patients with HCV genotype 3 and with cirrhosis (SVR12 90% and 80%, respectively) and in those without cirrhosis (SVR12 100% in both combinations). All patients who achieved SVR12 also achieved SVR24, regardless of the regimen received.

**Keywords:** HCV; genotype 3 ; Interferon-free treatments

## Tratamientos libres de interferon en pacientes con hepatitis C y genotipo 3 en un hospital terciario

## RESUMEN

**Introducción.** El virus de la hepatitis C (VHC) genotipo 3 representa una entidad única dentro del tratamiento de la hepatitis C y múltiples estudios sugieren que la infección del VHC genotipo 3 está asociada a una progresión más rápida de la enfermedad comparado con otros genotipos, resultando en un mayor riesgo de cirrosis, carcinoma hepatocelular y mortalidad. En el presente estudio se evaluó la efectividad del tratamiento ledipasvir/sofosbuvir ± ribavirina (LDV/SOF ± RBV) y sofosbuvir + daclatasvir (SOF + DCV) durante 12 semanas en pacientes con VHC genotipo 3 naïve o pre-tratados, con o sin cirrosis.

**Material y métodos.** Se realizó un estudio observacional, retrospectivo en un hospital de tercer nivel. El periodo de estudio comprendió 9 meses (abril 2015-enero 2016). Criterios de inclusión: pacientes con hepatitis C y genotipo 3 que fueron tratados con LDV/SOF ± RBV o con SOF + DCV durante 12 semanas. Los pacientes que fueron tratados durante 24 semanas fueron excluidos así como aquellos que se trataron con peg-interferon. La variable principal fue la respuesta viral sostenida (RVS) a semana 12 (RVS12) y la variable secundaria fue RVS24.

**Resultados.** En el periodo de estudio se trataron en nues-

tro hospital 603 pacientes: 71 con genotipo 3. Se incluyeron en el análisis 46 pacientes, que fueron tratados con LDV/SOF ± RBV o SOF + DCV durante 12 semanas. El 43,75% (7/16) de todos los pacientes tratados con LDV/SOF alcanzaron RVS12, el 90% (9/10) de los pacientes tratados con LDV/SOF + RBV consiguieron RVS12 y el 95% (19/20) de los pacientes tratados con SOF + DCV. Se obtuvieron diferencias significativas ( $p=0,001$ ) entre LDV/SOF y SOF + DCV y entre LDV/SOF + RBV y LDV/SOF ( $p=0,018$ ).

**Conclusiones.** En nuestra cohorte de pacientes, las combinaciones de SOF + DCV y LDV/SOF + RBV, administrados durante 12 semanas, fueron las más efectivas tanto en pacientes con cirrosis (RVS12 90% y 80%, respectivamente), como en pacientes sin cirrosis (RVS12 100% en ambos casos). Todos los pacientes que alcanzaron RVS12, también alcanzaron RVS24 independientemente del tratamiento recibido.

**Palabras clave:** VHC; genotipo 3 ; tratamiento libre interferón

## INTRODUCTION

Chronic hepatitis C (CHC) is a worldwide cause of liver-related morbidity and mortality. It affects over 185 million people, approximately 2–3% of the world's population. While a prevalence of 2–3% may be relatively low overall, prevalence varies by age group and is typically much higher in cohorts between the ages of 45 and 75. For example, in Central and East Asia, the prevalence peaks at 8.8–8.9% for those aged 55–64 [1].

Over the last several years, the management of CHC has been revolutionized by the development of cell-mediated targeted therapies [direct-acting antiviral agents (DAAs)] against hepatitis C virus (HCV). Indeed, we are at the beginning of a new era of HCV management, which is a boon to patients and clinicians alike. Left behind is a treatment regimen fraught with side effects, quality of life (QOL) impairment and high treatment failure rates. The new regimens are simple, safe, effective regimens of short duration with minimal side effects [2].

Six different genotypes of hepatitis C virus HCV (genotypes 1, 2, 3, 4, 5, 6) have been identified [3]. Genotype 1, specifically 1b, is the most common subtype worldwide affecting 42% of HCV-infected individuals [3]. This is followed by genotype 3 (26%), most commonly found in Pakistan and India, and genotype 4 (14%) which is most common in North Africa and the Middle East. In the US, genotype 1a is the most common, accounting for 58% of HCV infected individuals. Genotype 1b accounts for 21%, genotype 2 accounts for 15% and genotype 3 accounts for 5% [3]. The genotype is clinically relevant given that the majority of current DAAs do not have pangenotypic efficacy. In addition, each genotype is associated with a different sustained virologic response (SVR) rate [2].

With respect to genotype 3, it represents a unique entity within HCV treatment and multiple studies have documented that HCV genotype 3 infection is associated with more rapid disease progression than other genotypes, resulting in incre-

ased risk of cirrhosis, hepatocellular carcinoma, and all-cause mortality [4]. Also, it is remarkable that rates of cure have lagged behind for HCV-3 in the modern DAA era and new therapies are being developed in order to close this treatment gap [5].

In 2015, the Ministry of Health, Equality and Social Policy set out a therapeutic strategy for treatment of CHC [6]. It pointed out that the available treatments for genotype 3 were sofosbuvir + daclatasvir (SOF + DCV) with or without ribavirin (RBV), a fixed-dose combination (FDC) tablet of ledipasvir and sofosbuvir (LDV/SOF) or sofosbuvir + peg-interferon/ribavirin (SOF + Peg-IFN + RBV) which were clearly suboptimal for cirrhotic patients with HCV genotype 3 infection with SVR between 58–69%.

Recommended regimens for treating HCV genotype 3 include DCV, an NS5A inhibitor, in combination with SOF, with or without RBV depending on the presence of cirrhosis. DCV has a reported EC<sub>50</sub> (50% effective concentration) against genotype 3 HCV replicons ranging from 0.004 nM to 0.52 nM. ALLY-3 study [7] evaluated 12-week regimen of SOF+DCV in genotype 3 infection achieving SVR12 rates of 90% in treatment-naïve patients and 86% in treatment-experienced patients, with an overall SVR12 rate of 89% [4].

In the ELECTRON-2 study [8], treatment-naïve patients with genotype 3 infection were randomized to receive 12 weeks of LDV/SOF with or without RBV. In the arm without RBV, 16 of 25 (64%) achieved SVR12 whereas all 26 patients randomized to receive therapy with RBV achieved SVR12, including 6 patients with compensated cirrhosis. Also, 50 treatment-experienced patients with HCV genotype 3 received 12 weeks of LDV/SOF + RBV, only 41 (82%) of them achieved SVR12. The rate of SVR12 was 73% and 89% in those with and without cirrhosis, respectively. SOF is a pangenotypic nucleotide polymerase inhibitor with potent activity against all 6 HCV genotypes in both in vitro replicon assays and extensive clinical use. LDV is a potent and well-tolerated NS5A inhibitor with activity against replicons of genotypes 1a, 1b, 4, 5, and 6, with EC<sub>50</sub> values ranging from 0.006 nM (genotype 1b) to 1.1 nM (genotype 6a). However, LDV is much less active against HCV genotype 3a in vitro, with an average EC<sub>50</sub> of 168 nM against wild-type virus, although LDV seems to be more active against HCV genotype 3 than predicted based on the replicon data alone [4].

In the current study, we further evaluated the effectiveness of 12 weeks of LDV/SOF ± RBV and SOF + DCV for treatment-naïve or treatment-experienced patients infected with HCV genotype 3, with or without cirrhosis.

## MATERIAL AND METHODS

Retrospective and observational study carried out in a third level hospital. Study period: April 2015 to January 2016. Inclusion criteria: Patients with HCV genotype-3 infection treated either with LDV/SOF ± RBV or with SOF + DCV during study period treated for 12 weeks. This variety of treatment regimens used reflects the evolution of HCV therapy in clinical practice.

The choice of treatment and the use or not of concomitant RBV was entirely at the discretion of the treating physician. It was made in accordance, of the majority of the cases, with the product label, the European Association for the Study of the Liver clinical practice guidelines and the National Hepatitis C Plan developed by the Spanish Ministry of Health, giving priority to the treatment of patients with significant liver fibrosis (F2-F4) [9,10].

**Exclusion Criteria:** patients from whom adequate clinical and/or analytical information was not available for further analysis. The patients that were treated during 24 weeks were excluded and those treated with peg-interferon.

The information was obtained from the electronic clinical/medical records and dispensing records from outpatient software (Cafydim® and ATHOS-Prisma®) Pharmacy Service.

**Outcomes collected:** Demographic variables: age and sex. Clinical data: basal viral load (VL), SVR at week 12 (SVR12), defined as HCV RNA titres less than 15 IU/mL 12 weeks after stopping study drug, SVR at week 24 (SVR24), defined as HCV RNA titres lower than 15 IU/mL 24 weeks after stopping study drug. HCV-RNA levels were measured by the COBAS TaqMan HCV Test v2.0 (RCTM) (Roche Molecular Diagnostics) with lower limit quantification (LLOQ) of 15 IU/ml. Respect to fibrosis grade, patients were categorized depending on the fibrosis grade according to METAVIR scale (F0-F4). F4 patients were considered as cirrhotic. Fibrosis stage was determined by non-invasive device: Fibroscan®. Other variables picked up were: platelet levels (cel/μL), albumin concentration (g/dl), transaminases hepatic levels (IU/L): aspartate transaminase (AST) and alanine transaminase (ALT) and bilirubin concentration (mg/dl). We also have assessed whether patients had had liver transplant, had HIV co-infection or had been treated previously for HCV.

The main endpoint measured was the SVR12 and the secondary endpoint was SVR24.

**Adherence variable:** The calculation was made with the following formula:

Percentage of adherence= number of units of total DAA agents medication dispensed/number of units of planned DAA agents medication.

Planned units were considered necessary to comply with the treatment on the days included from the first dispensation to the last in the period of time considered for the calculation.

In the event that one of the patients had an admission to our hospital, the Pharmacy Service provided the DAA agents during the entire hospitalization period. According to this, the adherence calculation also took into account the registration of dispensed medication by unit dose to hospitalized patients.

**Statistical analysis.** All statistical analysis was performed using SPSS, version 17. Shapiro Wilk test was used to assess whether data were likely from a normal distribution. We used one way ANOVA or Kruskal Wallis test to compare means depending on whether data were from a normal distribution or not. Categorical data were compared by chi-square tests. Here p values < 0.05 were considered statistically significant.

## RESULTS

In the study period, in our hospital, were treated 603 HCV patients. We have genotype data of 97.18% (N=586). The genotypic distribution of all patients is summarised in table 1.

Forty-six patients genotype 3 were included: 20 treated with SOF+DCV, 16 with LDV/SOF and 10 with LDV/SOF+RBV. All were treated during 12 weeks.

### Baseline characteristics

#### a) Patients treated with ledipasvir/sofosbuvir (n=16).

Demographic variables: Age:  $53.05 \pm 9.05$  and 12/16 (75%) were males. One patient had received liver transplant, four patients had been treated with RBV + Peg-IFN previously but they

**Table 1** Genotypic distribution of different patients treated from April 2015 to January 2016.

Genotypic distribution	Number of patients
Genotype 1	431 (73.54%)
Genotype 2	10 (1.7%)
Genotype 3	71 (12.11%)
Genotype 4	74 (12.62%)
Total	586

did not achieve SVR12 and only one was VIH co-infected being treated with boosted protease inhibitor such as darunavir plus ritonavir tablets (800/100 mg) once daily. Regarding to fibrosis stage, seven patients had F4 fibrosis, 6 patients were F3, 2 of them F2 and only one F1 and six patients with baseline viral load exceeding 800,000 IU/mL. A further point is that, we have measured other serum biomarkers (mean  $\pm$  standard deviation) related to stage of liver fibrosis and liver function such as platelet, albumin, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and also bilirubin [8]. The mean platelet count was  $135,571 \pm 50,554$  cel/μL, the mean albumin was  $3.91 \pm 0.47$  g/dL. The mean AST, ALT and total bilirubin were  $107.64 \pm 70.66$  IU/L,  $115 \pm 126$  IU/L and  $0.93 \pm 0.53$  mg/dL, respectively.

#### b) Patients treated with ledipasvir/sofosbuvir plus ribavirin (n=10)

Demographic variables: mean age:  $55.83 \pm 6.7$  years; 8/10 males (80%). One had liver transplantation before starting their treatment regimens. Two patients were treated with RBV + Peg-IFN, formerly, without achieving SVR12. Also, two patients were VIH co-infected being treated one of them with two nucleoside reverse-transcriptase inhibitors (NRTIs) plus non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitor (NNRTI) (abacavir/lamivudina/rilpivirina) and other patient with one NRTI plus boosted protease inhibitor (lamivudine/danavir/cobicistat). Regarding to fibrosis stage, five patients had F4, four patients had F3 and only 1 patient underwent from fibrosis F2. Three

**Table 2****The characteristics of all enrolled patients**

	Patients treated with sofosbuvir/ ledipasvir (n=16)	Patients treated with sofosbuvir/ ledipasvir+ribavirin (n=10)	Patients treated with sofosbuvir+daclatasvir (n=20)	P value
Age (years)	53.05 ± 9.05	55.83 ± 6.70	55.78±10.21	
Sex				0.648
Male	12	8	13	
Female	4	2	7	
Stage of fibrosis				0.853
F4	7	5	10	
F3	6	4	4	
F2	2	1	4	
F1	1	-	2	
Liver transplant	1	1	0	0.234
Previously treated	4	2	5	0.917
VIH co-infected	1	2	4	0.324
Basal viral load > 800,000 U/ml	6	3	7	0.389
Platelet	135,571 ± 50,554 cel/µl	132,000 ± 69,739 cel/µl	148,850 ± 61,816 cel/µl	0.742
Albumin	3.91 ± 0.47 g/dL	3.9 ± 0.55g/dL	4.10 ± 0.43g/dL	0.416
AST	107.64 ± 70.66 IU/L	126.16 ± 53.73 IU/L	107.40 ± 68.71 IU/L	0.960
ALT	115 ± 126 IU/L	146.16 ± 82.11 IU/L	139.9 ± 87.46 IU/L	0.9
Bilirubin	0.93 ± 0.53 mg/dL	0.77 ± 0.28mg/dL	0.62 ± 0.23mg/dL	0.065

patients had basal viral load (BVL) upper than 800,000 UI/ml. Measured serum biomarkers, expressed as mean±standard deviation, were: platelets ( $132,000 \pm 69,739$  cel/µl), albumin ( $3.9 \pm 0.55$ g/dL), bilirubin ( $0.77 \pm 0.28$ mg/dL), AST ( $126.16 \pm 53.73$  IU/L), ALT ( $146.16 \pm 82.11$  IU/L).

### c) Patients treated with daclatasvir plus sofosbuvir (n=20).

Demographic variables: mean age:  $55.78 \pm 10.21$ ; 7/20 were females (35%). Nobody had received liver transplant, however, five were treated with RBV +Peg-IFN previously, without achieving SVR12. Four patients were VIH co-infected. Three of them were treated with two NRTIs plus NNRTIs or an integrase strand transfer inhibitor (INSTI): abacavir/lamivudine+rilpivirin or raltegravir respectively. One patient was treated with two NRTIs plus boosted protease inhibitor (emtricitabine/tenofovir/fosamprenavir/ritonavir).

Regarding to fibrosis stage, 10 were F4 (50%), four F3, four F2 and only two were F1. Seven patients had a basal viral load upper than 800,000 IU/ml. Measured serum biomarkers: platelets ( $148,850 \pm 61,816$  cel/µl), albumin ( $4.10 \pm 0.43$ g/dL), bilirubin ( $0.62 \pm 0.23$ mg/dL), AST ( $107.40 \pm 68.71$  IU/L), ALT ( $139.9 \pm 87.46$  IU/L).

In all groups 100% of patients were adherent to therapy.

There were no statistically significant differences among

the different variables analysed ( $p>0.05$ ). Therefore, there were no important clinical differences respects to baseline characteristics of the patients included. The characteristics of all enrolled patients are summarised in table 2.

### Sustained virologic response (SVR)

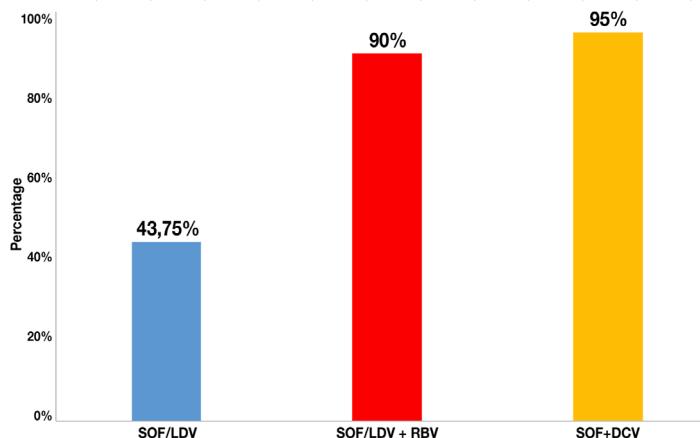
Only 43.75% (7/16) of all patients treated with LDV/SOF achieved SVR12, 90% (9/10) of the patients treated with LDV/SOF + RBV achieved SVR12 and 95% (19/20) of the patients treated with SOF + DCV achieved SVR12. Therefore, there was statistically significant difference ( $p=0.001$ ) between LDV/SOF respect to SOF+DCV and between LDV/SOF with regard to LDV/SOF + RBV ( $p=0.018$ ) used to treat HCV genotype 3 infection (figure 1).

#### a) Ledipasvir/sofosbuvir (n=16)

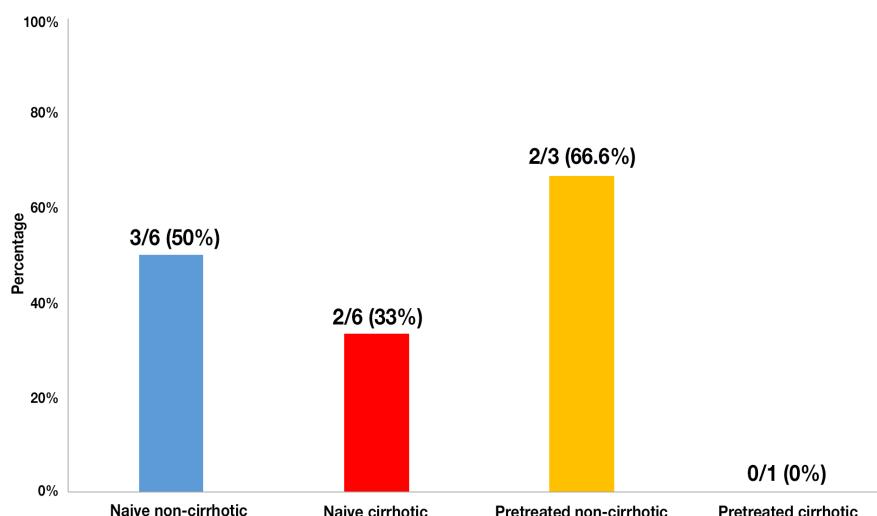
If we analyze the different subgroups of patients we observe that: 50% (n=3) naive-non cirrhotic patients achieved SVR12; 33.33% (n=2) of naive cirrhotic achieved SVR12; 66.66% (n=2) of pre-treated-non cirrhotic patients achieved SVR12 and nobody of pre-treated cirrhotic patients achieved SVR12 (figure 2).

#### b) Ledipasvir/sofosbuvir plus ribavirina (n=10).

All naive non-cirrhotic patients (n=5) and naive cirrhotic patients (n=3) achieved SVR12. However, respect to pre-treated cirrhotic patients only 50% achieved SVR12 (figure 3).



**Figure 1** Percentage of patients who have achieved SVR12 with the different treatments analysed.



**Figure 2** Percentage of different subgroups of patients ( $n = 16$ ) who have achieved SVR12 with sofosbuvir/ledipasvir (SOF/LDV).

### c) Sofosbuvir plus daclatasvir ( $n=20$ ).

All patients: non-cirrhotic naive ( $n=9$ ), naive cirrhotic ( $n=6$ ) and pre-treated non-cirrhotic patients ( $n=1$ ) achieved SVR12. Only 75% ( $n=3$ ) pre-treated cirrhotic patients achieved SVR12 (figure 4).

Therefore, the most effective therapies to treat HCV genotype 3 infection seem to be SOF + DCV and LDV/SOF + RBV. The sub-group of patients who responded better regardless of the therapy was the naive-non cirrhotic patients (85% achieved SVR12) and the worst group was pre-treated cirrhotic patients (57.14% achieved SVR12). Also it is remarkable that all patients who achieved SVR12 also achieved SVR24, regardless of the regimen received.

## DISCUSSION

In this study, we have investigated the real-world effectiveness of various regimens of interferon-free treatments: LDV/SOF, LDV/SOF + RBV and SOF + DCV administered during 12 weeks in patients infected with HCV genotype 3 who met inclusion criteria, explained previously in materials and methods.

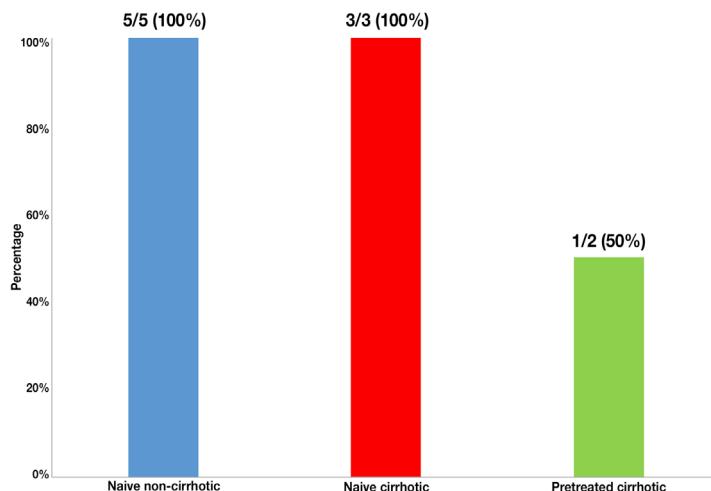
Our starting population was 586, whose genotypic distribution was similar to that one published by Ramos et al [11], concretely, the percentage of genotype 1 of our patients was 73.54% vs. 78.4%, genotype 2 of our patients was 1.7% vs. 2.4%, genotype 3 was 12.11% vs. 9.7% and genotype 4 was 12.62% vs. 9.5%.

Patients with HCV genotype 3 are at a higher risk of liver disease progression and hepatocellular carcinoma development [12,13]. However, compared with other HCV genotypes, DAAs combinations have

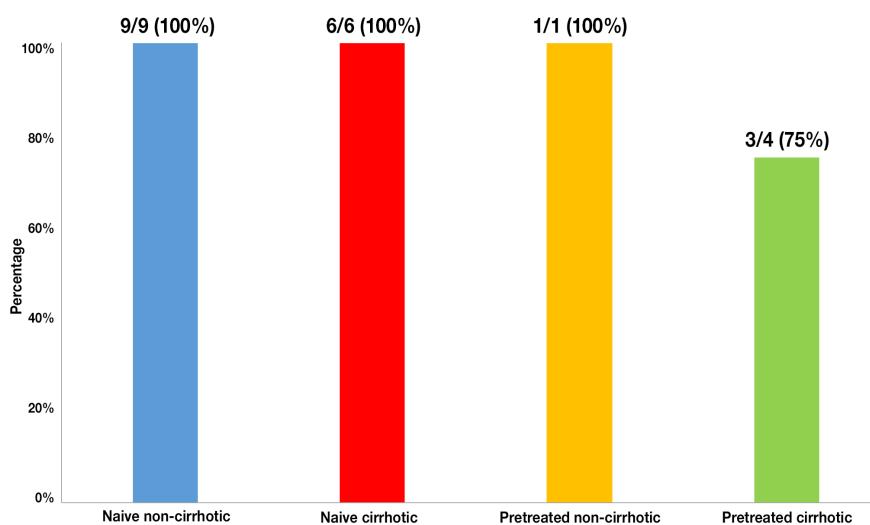
lower efficacy against genotype 3 in patients with liver cirrhosis. In our study, the global SVR12 in patients with HCV genotype 3 infection was 76.08% (35/46). In Ramos et al [11], the global SVR12 in patients with HCV genotype 3 infection was 93.3% (42/45). This difference may be due in part to the fact that in the Ramos et al study, 82.2% of the patients were treated with SOF + DCV, 6.7% with LDV/SOF and 11.1% with SOF unlike our study where 43.47% of patients were treated with SOF + DCV, 34.78% of them with LDV/SOF and 21.73% of total with LDV/SOF + RBV. It should be noted that all patients had 12 weeks of treatments in our study, however it is not known the percentage of patients treated during 12 or 24 weeks in the study made by Ramos et al [11].

In our cohort, 43.47% (20/46) of patients with this genotype were treated with SOF + DCV. In patients with liver cirrhosis we obtained a global SVR12 rate of 90% and 100% without. These results are in line with those obtained by Ramos et al: 82.2% (37/45) of patients with genotype 3 treated with SOF + DCV, with a global SRV12 rate of 90.3%-91.9% in patients with liver cirrhosis and 100% without, although our percentage of patients treated with SOF+DCV was lower than Ramos et al [11].

In others studies, in real-world settings, a global SVR12 of 60%-70% was achieved in genotype 3 infection with SOF + RBV [14,15]. All these studies had a remarkably low rate, which was likely related to the use of combinations that are currently not recommended because of their low efficacy [11]. Unlike our study where 43.47% of patients were treated with SOF + DCV,



**Figure 3** Percentage of different subgroups of patients ( $n = 10$ ) who have achieved SVR12 with sofosbuvir/ledipasvir + rivabirin (SOF/LDV + RBV).



**Figure 4** Percentage of different groups of patients ( $n = 20$ ) who have achieved SVR12 with sofosbuvir plus daclatasvir (SOF + DCV).

therapy of choice for non cirrhotic patients and alternative to SOF/velpatasvir (VEL) for cirrhotic patients [16].

On the other hand, if we analyzed every regimen used to treat HCV genotype 3 infection, it is essential to remark that 95% of the patients treated with SOF+DCV achieved SVR12, 90% of the patients treated with LDV/SOF + RBV achieved SVR12 and 43.75% of the patients treated with LDV/SOF achieved SVR12.

In the case of SOF+DCV regimen used to treat HCV genotype 3 infection, it is important to point out that ALLY-3 clinical trial [7] supports the use of SOF + DCV during 12 weeks

in patients infected with genotype 3. Patients were either treatment naive ( $n=101$ ) or treatment experienced ( $n=51$ ). SVR12 rates were 90% (91 of 101) and 86% (44 of 51) in treatment-naive and treatment-experienced patients, respectively. Concretely, in patients without cirrhosis SOF + DCV for 12 weeks achieved SVR12 rates of 97% (73/75) in treatment-naive patients and 94% (32/34) in treatment-experienced patients with genotype 3 infection, while in our study we got SVR12 rates of 100% in both cases, but our sample ( $n=10$ ) was smaller than in the ALLY-3 study. However, lower rates were obtained for cirrhotic patients in the ALLY-3 study, exactly 63% (20/32) achieved SVR12, while in our cohort 90% (9/10).

ELECTRON-2 study [8], evaluated LDV/SOF for genotype 3. Of the 51 naive patients included, 100% (26/26) achieved SVR12 in the treatment arm with LDV/SOF + RBV 12 weeks. These results are in line with those obtained in our study: 100% (8/8). In the treatment arm with LDV/SOF 12 weeks, only 64% (16/25) of them achieved SVR12 vs. 41.66% (5/12) in our cohort.

Moreover, in ELECTRON-2 study [8], SVR12 data from 50 more patients were reported, in this case pre-treated and all of them were treated with LDV/SOF + RBV for 12 weeks, and were divided into cirrhotic ( $n= 22$ ) and non-cirrhotic ( $n=28$ ). Overall SVR12 in pre-treated patients was 82% (41/50), 89% in non-cirrhotic (25/28) and 73% in cirrhotic (16/22). In our study only 2 pre-treated and cirrhotic patients were included with LDV/SOF + RBV for 12 weeks and 50% of them achieved SVR12.

In addition, if we disaggregate our patients in cirrhotic or non-cirrhotic patients, those treated with LDV/SOF + RBV 12 weeks (21.73%) achieved a global SVR12 rate of 80% in patients with liver cirrhosis and 100% without. Those treated with LDV/SOF 12 weeks (34.78%) achieved a global SVR12 rate of 28.57% in patients with liver cirrhosis and 55.55% without.

These results are aligned with the treatment regimens as valuable options for genotype 3 recommended by European Association for the Study of the Liver (EASL) (guideline 2016) [17]. EASL establishes that in patients infected with HCV genotype 3, the combination of LDV/SOF is not recommended because LDV is considerably less potent against genotype 3 than VEL or DCV.

This difference between LDV and DCV may be due to

DCV's higher potency in replicons containing HCV genotype 3a which is 0.003-1.25 nM [EC50] (50% effective concentration). Less clear is the benefit LDV adds to the efficacy of SOF with or without RBV. LDV's lower potency in replicons containing HCV genotype 3a ([EC50] = 168 nM) as compared with those containing genotype 1a (EC50 = 0.031 nM) or 1b (EC50 = 0.004 nM) suggest that it would have minimal activity against HCV genotype 3 [8].

In addition to EC50, another important factor that we should keep in mind is the resistance-associated substitution (RAS). The clinical relevance of resistance testing has been limited to RASs in the NS5A gene. Two RASs in particular, Y93H and A30K, have emerged as the most clinically relevant polymorphisms in HCV-3 with the currently approved regimens [5]. It is important to highlight that Y93H RAS in a genotype 1a virus results in an EC50 of approximately 6 nM for LDV, therefore its activity is reduced clinically significant. Hence, one might expect that even at baseline the genotype 3 virus is effectively resistant to LDV [4]. However, in the ELECTRON-2 study, 6 patients with compensated cirrhosis treated with LDV/SOF + RBV achieved SVR12. These results clearly show that RBV is important but also suggest that LDV is more active against HCV genotype 3 than predicted based on the replicon data alone. It is also possible that RBV and/or SOF increase the sensitivity of HCV genotype 3 to LDV [4].

This study has the usual limitations related to its observational and retrospective design, electronic data collection and the small number of patients included in each arm of treatment. Resistance testing was not performed; thus, we were unable to assess the impact of this factor. The lack of randomization limited the ability to directly compare treatment groups, which is further compounded by the small number of patients in certain subgroups.

Subsequent to the period of inclusion of our study, other active DDAs against HCV genotype 3 have appeared more effective: SOF/VEL with SVR12 rates of 98% and 93% in naive patients and 91% y 89% in experienced patients with and without cirrhosis (ASTRAL-3) [18]. It would be desirable to confirm these results in patients with HCV in the real world.

In conclusion, in our cohort of patients, the combination of SOF + DCV followed by LDV/SOF + RBV 12 weeks were the most effective in patients with HCV genotype 3 and with cirrhosis (SVR12 90% and 80%, respectively) and in those without cirrhosis (SVR12 100% in both combinations). All patients who achieved SVR12 also achieved SVR24, regardless of the regimen received.

## FUNDING

None to declare

## CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that they have no conflicts of interest

## REFERENCES

- Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology*. 2013; 57(4):1333-42. DOI: 10.1002/hep.26141
- Lam BP, Jeffers T, Younoszai Z, Fazel Y, Younossi ZM. The changing landscape of hepatitis C virus therapy: focus on interferon-free treatment. *Therap Adv Gastroenterol*. 2015; 8(5):298-312. DOI: 10.1177/1756283X15587481
- Messina JP, Humphreys I, Flaxman A, Brown A, Cooke GS, Pybus OG, et al. Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*. 2015; 61(1):77-87. DOI: 10.1002/hep.27259
- Feld JJ, Ramji A, Shafran SD, Willems B, Marotta P, Huchet E, et al. Ledipasvir-Sofosbuvir Plus Ribavirin in Treatment-Naive Patients With Hepatitis C Virus Genotype 3 Infection: An Open-Label Study. *Clin Infect Dis*. 2017. 65(1): 13-19. DOI: 10.1093/cid/cix289
- Chan A, Patel K, Naggie S. Genotype 3 Infection: The Last Stand of Hepatitis C Virus. *Drugs*. 2017;77(2):131-144. DOI: 10.1007/s40265-016-0685-x
- Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Estrategia terapéutica para la hepatitis crónica causada por el virus de hepatitis C en el Sistema Nacional de Salud. Recomendaciones generales y pautas actuales de tratamiento.2015. [Cited 2017 July 10]. Available at: [http://www.plataformadeafectadosporhepatitis.org/sites/default/files/plan\\_estrategico\\_nacional\\_definitivo.pdf](http://www.plataformadeafectadosporhepatitis.org/sites/default/files/plan_estrategico_nacional_definitivo.pdf).
- Nelson DR, Cooper JN, Lalezari JP, Lawitz E, Pockros PJ, Gitlin N, et al. All-oral 12-week treatment with daclatasvir plus sofosbuvir in patients with hepatitis C virus genotype 3 infection: ALLY-3 phase III study. *Hepatology*. 2015; 61(4):1127-35. DOI: 10.1002/hep.27726
- Gane EJ, Hyland RH, An D, Svarovskaia E, Pang PS, Brainard D, et al. Efficacy of ledipasvir and sofosbuvir, with or without ribavirin, for 12 weeks in patients with HCV genotype 3 or 6 infection. *Gastroenterology*. 2015; 149(6):1454-1461.e1. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.07.063
- European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2015. *J Hepatol* 2015; 63(1): 199-236. DOI: 10.1016/j.jhep.2015.03.025.
- Bang CS, Kang HY, Choi GH, Kim SB, Lee W, Song IH. The Performance of Serum Biomarkers for Predicting Fibrosis in Patients with Chronic Viral Hepatitis. *Korean J Gastroenterol*. 2017;69(5):298-307. DOI: 10.4166/kjg.2017.69.5.298
- Ramos H, Linares P, Badia E, Martin I, Gomez J, Almohalla C, et al. Interferon-free treatments in patients with hepatitis C genotype 1-4 infections in a real-world setting. *World J Gastrointest Pharmacol Ther*. 2017;8(2):137-146. DOI: 10.4292/wjgpt.v8.12.137
- Bochud P-Y, Cai T, Overbeck K, Bochud M, Dufour J-F, Mullhaupt B, et al. Genotype 3 is associated with accelerated fibrosis progression in chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2009; 51(4):655-66. DOI: 10.1016/j.jhep.2009.05.016
- Nkongchou G, Zioli M, Aout M, Lhabadie M, Baazia Y, Mahmoudi A, et al. HCV genotype 3 is associated with a higher hepatocellular carcinoma incidence in patients with ongoing viral C cir-

- hosis. *J Viral Hepat.* 2011; 18(10):e516-22. DOI: 10.1111/j.1365-2893.2011.01441.x
14. Ioannou GN, Beste LA, Chang MF, Green PK, Lowy E, Tsui JI, et al. Effectiveness of Sofosbuvir, Ledipasvir/Sofosbuvir, or Paritaprevir/Ritonavir/Ombitasvir and Dasabuvir Regimens for Treatment of Patients With Hepatitis C in the Veterans Affairs National Health Care System. *Gastroenterology.* 2016; 151(3):457-471.e5. DOI: 10.1053/j.gastro.2016.05.049
  15. Feld JJ, Maan R, Zeuzem S, Kuo A, Nelson DR, Di Bisceglie AM, et al. Effectiveness and Safety of Sofosbuvir-Based Regimens for Chronic HCV Genotype 3 Infection: Results of the HCV-TARGET Study. *Clin Infect Dis.* 2016; 63(6):776-83. *Clin Infect Dis.* 2016;63(6):776-783. DOI: 10.1093/cid/ciw387
  16. Guías AEEH / SEIMC de manejo de la Hepatitis C. [Cited 2017 june 17] Available at:[https://www.seimc.org/contenidos/documentos-cientificos/guiasclinicas/seimc-clinicasclinicas-2016-Manejo\\_HepatitisC.pdf](https://www.seimc.org/contenidos/documentos-cientificos/guiasclinicas/seimc-clinicasclinicas-2016-Manejo_HepatitisC.pdf).
  17. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2016. *J. Hepatol.* 2017;66(1):153-194. DOI: 10.1016/j.jhep.2016.09.001
  18. Graham R, Foster, Ph.D., Nezam Afdhal, M.D., Stuart K. Roberts, M.D., Norbert Bräu, M.D., M.B.A., Edward J. Gane, M.D. et al. Sofosbuvir and Velpatasvir for HCV Genotype 2 and 3 Infection. *N Engl J Med.* 2015; 373:2608-2617. DOI: 10.1056/NEJMoa1512612

## Original

Alberto Pérez-Rubio<sup>1</sup>  
José María Eiros<sup>2</sup>

# Impacto económico y sanitario de la utilización de vacuna antigripal adyuvada con MF59 en población mayor de 65 años en España

<sup>1</sup>Hospital Clínico Universitario de Valladolid

<sup>2</sup>Hospital Universitario "Rio Hortega". Valladolid

### Article history

Received: 29 May 2017; Revision Requested: 26 December 2017; Revision Received: 02 January 2018; Accepted: 03 January 2018.

## RESUMEN

**Introducción.** La gripe es un importante problema de salud, tanto por la mortalidad que puede provocar directa o indirectamente como por las complicaciones que ocasiona y los costes económicos y sociales que origina. Las epidemias de gripe se tratan de paliar mediante campañas de vacunación con el objetivo de prevenir casos y complicaciones, y la vacuna es recomendada oficialmente, como en el caso de España, para determinados grupos de riesgo, tales como personas de mayor edad, pacientes con enfermedades crónicas y población institucionalizada. La vacuna antigripal adyuvada con MF59, indicada para población mayor de 65 años, ha mostrado ser más inmunógena que las vacunas antigripales convencionales. El objetivo de este estudio es valorar el impacto en el presupuesto tanto regional como nacional de las campañas de vacunación estacionales llevadas a cabo en España utilizando la vacuna adyuvada con MF59 comparada con una vacuna convencional en población mayor de 65 años.

**Material y métodos.** Se ha analizado el impacto presupuestario que supone la utilización de la vacuna adyuvada con MF59 en el territorio nacional y por CCAA mediante una modelización de dos alternativas, vacunación convencional versus vacuna adyuvada con MF59 en población mayor de 65 años. Se han calculado los casos de gripe evitadas, complicaciones evitadas y costes evitados, así como el rendimiento económico del programa de vacunación.

**Resultados.** Con la información disponible, el impacto presupuestario de utilizar la vacuna antigripal con MF59 en todos los mayores de 65 años, asciende a 6.967.288,10 €, evitando para el conjunto nacional un coste de 89,5 millones de

euros, lo que supone un ahorro potencial de 82 millones de euros y un índice coste beneficio de 12,83.

**Conclusión.** El uso de la vacuna antigripal con el adyuvante MF59 a todos los mayores de 65 años supondría un incremento de la eficiencia de los programas de vacunación actualmente planteados en todas las CCAA y en el conjunto del estado español.

Palabras clave: Gripe. Vacunación. Eficiencia.

## Economic and Health impact of influenza vaccination with adjuvant MF59 in population over 64 years in Spain

## ABSTRACT

**Introduction.** Influenza is an important health problem due to the mortality it can cause directly or indirectly as well as the complications and the economic and social costs it produces. Influenza epidemics are being addressed through vaccination campaigns aimed at preventing cases and complications, and the vaccine is officially recommended, as in the case of Spain, for certain risk groups, such as older people, chronic diseases and institutionalized population. The adjuvanted influenza vaccine with MF59, indicated for population over 65 years, has been shown to be more immunogenic than conventional influenza vaccines. The objective of this study is to assess the impact on the national and regional budget of the seasonal vaccination campaigns carried out in Spain using the MF59 adjuvanted vaccine compared to a conventional vaccine in a population older than 65 years.

**Material and methods.** We analyzed the budgetary impact of the use of the MF59-adjuvanted vaccine in the national territory and by Autonomous Communities through a modeling of two alternatives, conventional vaccination versus adjuvant vaccination with MF59 in a population older than 65 years. The cases of avoided influenza, avoided complications

Correspondencia:  
José María Eiros Bouza.  
Área de Microbiología. Sexta planta. Facultad de Medicina.  
Avda Ramón y Cajal 7. 47005. Valladolid.  
Tfno 983 423063.  
Fax 983 423022  
E-mail eiros@med.uva.es

and avoided costs, as well as the economic impact of the vaccination program have been calculated.

**Results.** With the available information, the budgetary impact of using the influenza vaccine with MF59 in all the over 65 years, amounts to 6,967,288.10 €, avoiding for the national set a cost of 89.5 million Euros, which represents a potential savings of 82 million Euros and a cost-benefit ratio of 12.83.

**Conclusion.** The use of the influenza vaccine with the MF59 adjuvant to all those over 65 years would mean an increase in the efficiency of the vaccination programs currently proposed in all the Autonomous Communities and in the Spanish state.

**Key words:** Influenza, Vaccination, Efficiency

## INTRODUCCIÓN

La gripe se caracteriza por una gran tendencia a sufrir mutaciones en el genoma de los virus responsables que les capacita para evadir la respuesta inmune, originando brotes estacionales cada año [1]. Globalmente la infección por gripe constituye la mayor causa de morbilidad estacional, con un alto impacto social y sanitario, representando uno de los mayores motivos de hospitalizaciones y mortalidad, sobre todo en población mayor [2]. Sobre el 90% de las muertes relacionadas con la gripe ocurren en personas de más de 65 años [3]. En consecuencia, la gripe es un importante problema de salud, tanto por la mortalidad que puede provocar directa o indirectamente como por las complicaciones que ocasiona y los costes económicos y sociales que origina [4]. La proporción de población afectada durante las epidemias anuales oscila entre el 5-15% en comunidades grandes, y es superior al 50% en grupos de población cerrados, como centros residenciales [4].

En muchos países, las epidemias de gripe se tratan de paliar mediante campañas de vacunación con el objetivo de prevenir casos y complicaciones, y la vacuna es recomendada oficialmente, como en el caso de España [4], para determinados grupos de riesgo, tales como personas de mayor edad, pacientes con enfermedades crónicas y población institucionalizada [5].

Se acepta que la vacunación es el método más efectivo para prevenir la infección por el virus gripe y sus secuelas [6]. Sin embargo, la efectividad vacunal puede ser sólo del 40-60% en adultos sanos [7,8] e incluso decrecer con la edad debido a la inmunosenescencia. Por ello la vacunación en edad avanzada presenta cierta controversia, debido al descenso gradual de la competencia inmunológica que se produce con la edad [9-11], que origina una respuesta subóptima a la vacuna. Este hecho genera la necesidad de protecciones más adecuadas en estas poblaciones, sobre todo en temporadas con escasa concordancia de cepas con las utilizadas en la vacuna [12] y más sabiendo que el grupo de los casos graves hospitalizados confirmados de gripe mayores de 65 años representan el porcentaje más elevado del total [13].

Diferentes estudios observacionales que comparan cohortes de población vacunada con poblaciones no vacunadas han

encontrado que la vacunación convencional tiene modestos efectos en la prevención de la hospitalización y mortalidad durante la temporada gripe [14], así mismo existen aportaciones que reflejan una estimación de la efectividad global de la vacuna gripe del 40% [8].

La vacuna antigripal adyuvada con MF59, indicada para población mayor de 65 años, ha mostrado ser más inmunógena que las vacunas antigripales convencionales, particularmente en pacientes de alto riesgo - personas afectadas de enfermedades degenerativas y crónicas [15-17] y presenta además reactividad cruzada frente a cepas heterólogas [17,18], y así han sido utilizadas por diversas comunidades autónomas en España, para grupos específicos, junto con vacunas antigripales convencionales para el resto de la población. Muchos estudios postulan que la utilización de estas vacunas adyuvadas en esta población de riesgo, aparte de prevenir casos de gripe, disminuiría el número de hospitalizaciones por la enfermedad, así como las complicaciones derivadas de la misma, tales como problemas respiratorios graves e incluso fallecimientos en individuos con una patología de base ya establecida, en la que el riesgo de sufrir complicaciones como consecuencia de la gripe es mayor [5,19,20]. Así se ha evidenciado que el riesgo de hospitalización por gripe o neumonía es un 25 % menor en el caso de la vacuna adyuvada con MF59 que en el de la vacuna sin adyuvante (riesgo relativo = 0,75, intervalo de confianza del 95 %: 0,57, 0,98) [17]. La vacuna antigripal adyuvada con MF59 (Chironas®/Fluad®) está autorizada en países europeos desde 1997. El adyuvante MF59 es una emulsión oleosa que contiene escualeno, un metabolito intermedio de la síntesis del colesterol, el cual está presente en la membrana plasmática, y que provoca una mayor respuesta inmune [1].

En los últimos años el análisis del componente presupuestario se ha convertido en una parte esencial de las evaluaciones económicas de intervenciones sanitarias [1]. El objetivo de un análisis económico es evaluar el impacto de una medida y su viabilidad por parte del financiador con respecto a otras alternativas. El uso de modelos analíticos que simulan resultados en salud y costes permiten dar información sobre la eficiencia de las medidas a adoptar a los decisores [21]. Los brotes anuales de gripe generan aumentos relevantes de demanda asistencial, con el consecuente incremento de costes económicos, tanto sanitarios como sociales [12,22], por lo que la aplicación de estos estudios analíticos se presenta como fundamental en la correcta toma de decisiones.

El objetivo de este estudio es valorar el impacto en el presupuesto tanto regional como nacional de las campañas de vacunación estacionales llevadas a cabo en España utilizando la vacuna adyuvada con MF59 comparada con una vacuna convencional en población mayor de 65 años.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha analizado el impacto en costes que supone la utilización de la vacuna adyuvada con MF59 en el territorio nacional y en cada una de las regiones que conforman España.

**Tabla 1****Distribución de la población y cobertura de la vacuna antigripal en función de las diferentes CCAA.**

	Población [23]	Cobertura vacunación antigripal [24]
ESPAÑA	8.657.705	55,5
ANDALUCÍA	1.369.259	56,5
ARAGÓN	278.361	57,5
ASTURIAS	254.575	55
BALEARS, ILLES	168.457	47,3
CANARIAS	316.808	57,5
CANTABRIA	120.355	58,1
CASTILLA Y LEÓN	598.328	61,4
CASTILLA LA MANCHA	378.271	57,5
CATALUÑA	1.379.277	54,3
COMUNITAT VALENCIANA	918.061	49,8
EXTREMADURA	216.918	55,1
GALICIA	661.310	56
MADRID, COMUNIDAD DE	1.102.806	57,1
MURCIA, REGIÓN DE	221.141	47,1
NAVARRA, COMUNIDAD FORAL DE	122.926	57
PAÍS VASCO	469.466	57,9
RIOJA, LA	63.603	64
CEUTA	9.445	26,5
MELILLA	8.338	33,4

**Tabla 2****Relación de los datos clínicos introducidos en el análisis económico**

Evento	Sin vacuna. Tasa por 100 personas	Vacuna Antigripal Riesgo relativo	Vacuna Adyuvada MF59 Riesgo relativo
Infeción gripeal	16,8	0,59	0,45
Hospitalización Gripe y Neumonía	0,32	0,74	0,57
Hospitalización por Complicación respiratoria	1,08	0,85	0,65
Hospitalización por ICC	0,23	0,92	0,7
Hospitalización por SCA	0,33	0,94	0,72
Hospitalización por ACV	0,51	0,71	0,7
Mortalidad	0,24	0,39	0,27

ACV: accidente cerebrovascular; ICC: Insuficiencia cardíaca congestiva; SCA: síndrome coronario agudo.

Fuentes: Iannazzo [1] y Ruiz-Aragón et al [25]

**Tabla 3A****Principales costes usados en el análisis económico**

Variable	Coste medio en euros
Coste vacuna antigripal [26]	2,90
Coste vacuna antigripal con adyuvante MF59 [26]	4,30
Coste consulta médica Atención Primaria por caso [25]	43,5
Coste terapia farmacológica por caso [1,25]	3,21

Para ello se ha utilizado los datos de población en España y por CCAA, mayor o igual a 65 años, según los datos publicados en el Instituto Nacional de Estadística [23], y los resultados de cobertura vacunal para la temporada 2016-17 [24] (tabla 1).

Se ha realizado un análisis del impacto presupuestario similar a los publicados por Iannazzo [1] en el año 2011 en Italia y por Ruiz-Aragón et al [25] en 2015 en España.

Este estudio se basa en el análisis de dos alternativas: la primera, donde se suministraría la vacuna sin adyuvante a toda la población diana, y la segunda donde se suministraría a toda la población diana la vacuna adyuvada con MF59. La perspectiva del análisis ha sido la del Sistema Sanitario, por lo tanto, no se han considerado costes indirectos ni pérdidas de productividad, fundamentalmente debido a que la población afectada está potencialmente jubilada, y con un horizonte temporal de un año, dado que las campañas de vacunación se realizan anualmente. El precio de las vacunas se basa en el precio unitario de licitación para la temporada 2016-2017 [26], sin considerar las posibles disminuciones en las ofertas adjudicatarias. No se han considerado los costes de administración de la vacuna, puesto que son iguales en ambas vacunas, y por lo tanto, no aportan diferencias incrementales.

Se han valorado comparativamente los casos de gripe, consultas médicas y complicaciones asociadas basadas en datos de la literatura [1,25], según la efectividad de las vacunas en función de la alternativa comparada [1,17,25]. En la tabla 2 se presentan las variables clínicas, con sus respectivos valores, utilizados en el modelo. Se han utilizado estimaciones de casos de infecciones gripeales y hospitalizaciones por complicaciones de distintos tipos en tasa por 100 personas y los riesgos relativos de la vacunación, tanto con la vacuna antigripal como con la vacuna antigripal adyuvada, que en todos los eventos reduce el riesgo [1,17,25]. Se ha utilizado el coste de la consulta

Tabla 3B Principales costes usados en el análisis económico

Coste ponderado de las variables clínicas contempladas según Norma AP GRD27 2014. SNS [26,27]

Cód. GRD AP	Descripción GRD AP			Coste/ Tarifa	Coste Ponderado
			Num Altas		
Hospitalización por gripe y neumonía (GRD:68,69,79,80,89,90,421) 7,89,90,92,93,94,95,96,97,101,102)	68 OTITIS MEDIA & ITRS EDAD>17 CON CC 69 OTITIS MEDIA & ITRS EDAD>17 SIN CC 79 INFECCIONES & INFILTRACIONES RESPIRATORIAS EXCEPTO NEUMONÍA SIMPLE EDAD>17 CON CC 80 INFECCIONES & INFILTRACIONES RESPIRATORIAS EXCEPTO NEUMONÍA SIMPLE EDAD>17 SIN CC 89 NEUMONIA SIMPLE & PLEURITIS EDAD>17 CON CC 90 NEUMONIA SIMPLE & PLEURITIS EDAD>17 SIN CC 421 ENFERMEDAD VIRICA EDAD>17		2.509 5.777 6.629 3.083 29.914 13.863 2.766	2.579,18 1.826,51 4.912,36 4.056,21 3.862,44 3.033,69 3.282,03	3.544,53
Hospitalización por complicaciones respiratorias (GRD: 68,69,79,80,8 7,89,90,92,93,94,95,96,97,101,102)	68 OTITIS MEDIA & ITRS EDAD>17 CON CC 69 OTITIS MEDIA & ITRS EDAD>17 SIN CC 79 INFECCIONES & INFILTRACIONES RESPIRATORIAS EXCEPTO NEUMONÍA SIMPLE EDAD>17 CON CC 80 INFECCIONES & INFILTRACIONES RESPIRATORIAS EXCEPTO NEUMONÍA SIMPLE EDAD>17 SIN CC 87 EDEMA PULMONAR & INSUFICIENCIA RESPIRATORIA 89 NEUMONIA SIMPLE & PLEURITIS EDAD>17 CON CC 90 NEUMONIA SIMPLE & PLEURITIS EDAD>17 SIN CC 92 NEUMOPATIA INTERSTICIAL CON CC 93 NEUMOPATIA INTERSTICIAL SIN CC 94 NEUMOTORAX CON CC 95 NEUMOTORAX SIN CC 96 BRONQUITIS & ASMA EDAD>17 CON CC 97 BRONQUITIS & ASMA EDAD>17 SIN CC 101 OTROS DIAGNÓSTICOS DE APARATO RESPIRATORIO CON CC 102 OTROS DIAGNÓSTICOS DE APARATO RESPIRATORIO SIN CC		2.509 5.777 6.629 3.083 30.145 29.914 13.863 1.560 1.271 1.667 3.844 11.139 9.221 29.447 14.462	2.579,18 1.826,51 4.912,36 4.056,21 3.716,85 3.862,44 3.033,69 4.977,14 3.846,43 4.017,38 3.397,07 2.885,45 2.359,73 3.352,99 2.633,98	3.372,44
Hospitalización por Insuficiencia Cardíaca Congestiva (GRD: 127)	127 INSUFICIENCIA CARDIACA & SHOCK		64.978	3.391,67	3.391,67
Hospitalización por Síndrome Coronario Agudo (GRD: 121,122,123,140,144,145)	121 TRAST.CIRCULATORIOS CON IAM & COMPL.MAYORES, ALTA CON VIDA 122 TRAST.CIRCULATORIOS CON IAM SIN COMPL.MAYORES ALTA CON VIDA 123 TRAST.CIRCULATORIOS CON IAM, EXITUS 140 ANGINA DE PECHO 144 OTROS DIAGNÓSTICOS DE APARATO CIRCULATORIO CON CC 145 OTROS DIAGNÓSTICOS DE APARATO CIRCULATORIO SIN CC		9.073 10.793 2.637 10.998 4.217 3.961	4.461,23 3.420,21 3.847,97 2.647,28 4.198,94 3.150,29	
Hospitalización por Accidente Cerebrovascular (GRD: 14,15)	14 ICTUS CON INFARTO 15 ACCIDENTE CEREBROVASCULAR NO ESPECIFICO & OCCLUSIÓN PRECEREBRAL SIN INFARTO		38.589 4.021	4.351,42 3.181,04	4.240,97

Tabla 4 | Eventos evitados y beneficio neto obtenido por la utilización de vacuna adyuvada con MF59 en mayores de 65 años

	Beneficio Neto (€)	Inversión por utilización de Vacuna adyuvada con MF59 (€)	Casos totales de gripe	Hospitalización por complicaciones respiratorias	Casos gripe evitados (número de casos)	Hospitalización por gripe y neumonía	Hospitalización por insuficiencia cardíaca congestiva	Hospitalización por síndrome coronario agudo	Accidente cerebro vascular	Defunción
ESPAÑA	82481.949	6.967.288	113.014	10.379	2.614	2.431	3.488	5.146	1.384	
ANDALUCÍA	13.326.982	1.121.765	18.196	1.671	421	391	562	829	223	
ARAGÓN	2.747.511	232.083	3.765	346	87	81	116	171	46	
ASTURIAS, PRINCIPADO DE	2.403.486	203.024	3.293	302	76	71	102	150	40	
BALEARS, ILLES	1.367.771	115.536	1.874	172	43	40	58	85	23	
CANARIAS	3.126.995	264.139	4.285	393	99	92	132	195	52	
CANTABRIA	1.200.338	101.393	1.645	151	38	35	51	75	20	
CASTILLA Y LEÓN	6.306.245	532.691	8.641	794	200	186	267	393	106	
CASTILLA LA MANCHA	3.733.654	315.383	5.116	470	118	110	158	233	63	
CATALUÑA	12.856.255	1.085.974	17.615	1.618	407	379	544	802	216	
COMUNITAT VALENCIANA	7.848.091	662.932	10.753	988	249	231	332	490	132	
EXTREMADURA	2.051.683	173.307	2.811	258	65	60	87	128	34	
GALICIA	6.357.059	536.984	8.710	800	201	187	269	397	107	
MADRID, COMUNIDAD DE	10.809.320	913.068	14.811	1.360	343	319	457	674	181	
MURCIA, REGIÓN DE	1.787.942	151.028	2.450	225	57	53	76	112	30	
NAVARRA, COMUNIDAD FORAL DE	1.202.768	101.598	1.648	151	38	35	51	75	20	
PAÍS VASCO	4.666.012	394.140	6.393	587	148	138	197	291	78	
RIOJA, LA	698.748	59.024	957	88	22	21	30	44		
CEUTA	42.965	3.629	59	5	1	1	2	3	1	
MEJILLA	47.805	4.038	65	6	2	1	2	3	1	

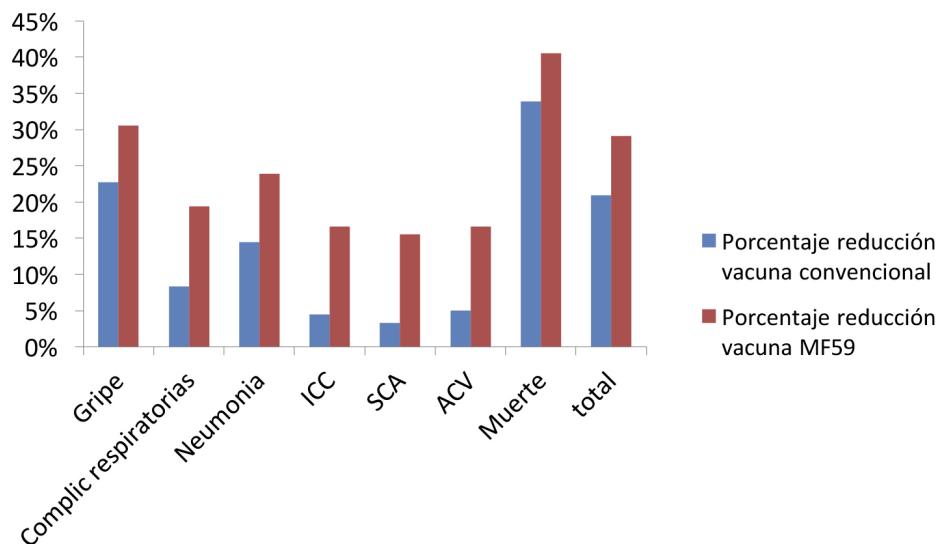


Figura 1

Diferencia de reducción del número de casos de gripe y complicaciones obtenido a través de la simulación del caso base entre la utilización de la vacuna convencional o la vacuna adyuvada con MF59 frente a la no vacunación. ACV: accidente cerebrovascular; ICC: Insuficiencia Cardíaca Congestiva; SCA: síndrome Coronario Agudo.

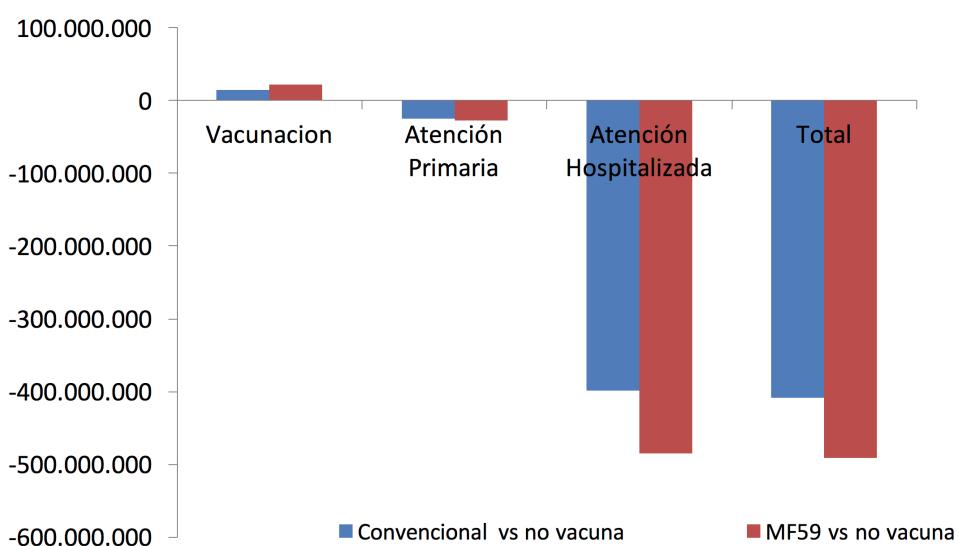


Figura 2

Diferencia en el total de costes de vacunación y de atención de enfermos con gripe tanto en atención primaria como especializada obtenido a través de la simulación del caso base entre la utilización de la vacuna convencional o la vacuna adyuvada con MF59 frente a la no vacunación

médica en centro de salud de Atención Primaria obtenido de las tarifas publicadas en una CCAA [25]. Se han considerado los costes de complicaciones por grupos relacionados de diagnóstico (GRDs) asociados a trastornos respiratorios utilizando la tarifa AP27 del Ministerio de Sanidad, Servi-

cios Sociales e Igualdad [27], utilizando los mismos GRDs en la agrupaciones de las complicaciones como Ianzazzo [1] y Ruiz-Aragón et al [25], pero calculando la media ponderada de los costes según el número de altas por GRD en el contexto nacional [28]. En la tabla 3A y B se presentan todos

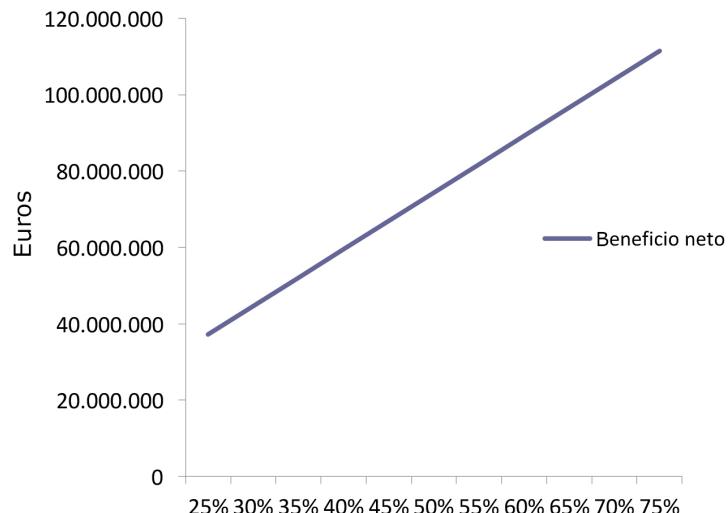


Figura 3 | Análisis de sensibilidad. Variación de los resultados de vacunación en el caso base

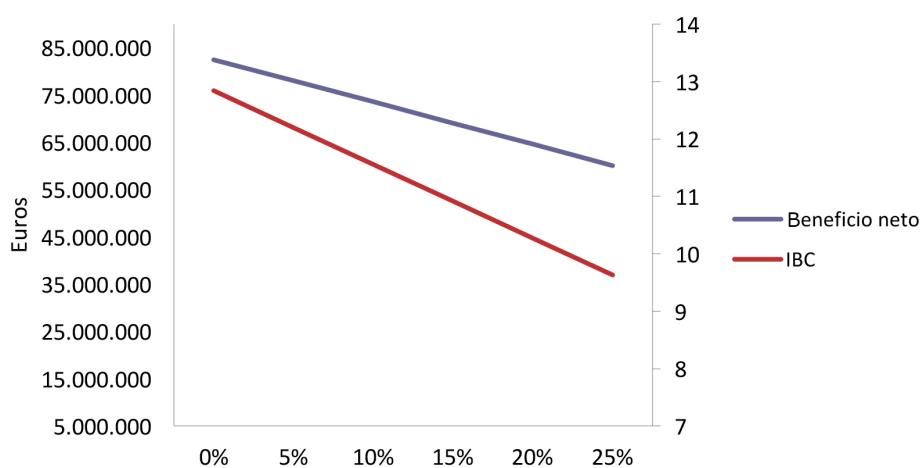


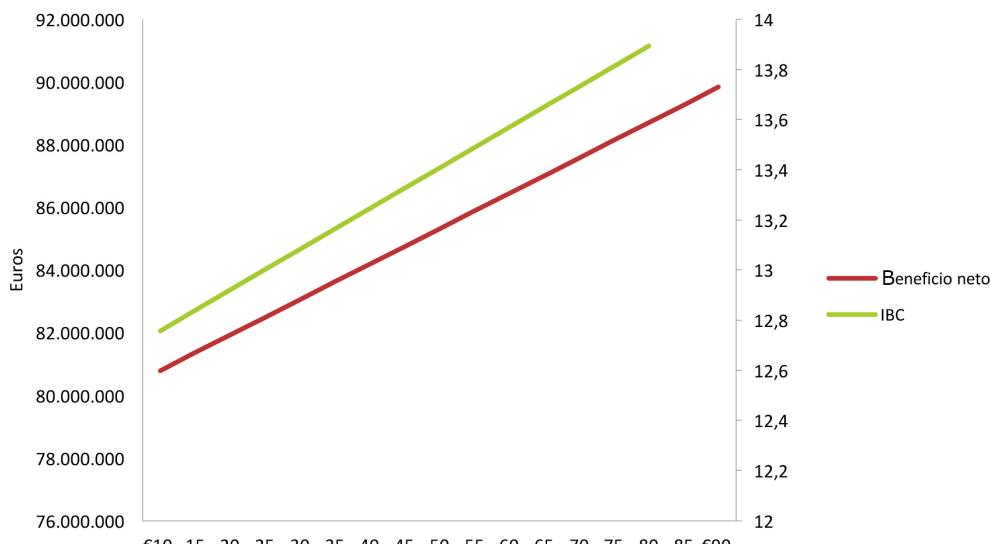
Figura 4 | Análisis de sensibilidad. Porcentaje de reducción de los costes sanitarios contemplados tanto de Atención Primaria como de Atención Especializada. IBC (índice beneficio coste)

los costes contemplados en el modelo. Para la valoración económica de los casos de gripe evitados, se ha supuesto que un 50% de los casos acuden a consulta médica en un centro de salud [1,25].

Para analizar la variabilidad en los cálculos estimados se ha realizado un análisis de sensibilidad univariante en donde se han variado los resultados según la cobertura vacunal y los costes contemplados [1,25].

## RESULTADOS

Se ha calculado el coste de la vacunación de las dos alternativas y el beneficio neto obtenido mediante la vacunación con el adyuvante MF59, según la cobertura media de la vacunación antigripal, tanto en España como en cada región estudiada, que se presentan en la tabla 4. Así mismo se presentan en la misma tabla la estimación de los casos de gripe evitados, y las compli-



**Figura 5** | Análisis de sensibilidad. Variación en el precio de la consulta médica de Atención Primaria. IBC (índice beneficio coste)

caciones evitadas para cada grupo de población analizado. En la figura 1 se refleja el porcentaje de disminución de casos de gripe y complicaciones, en el contexto nacional -caso base-, utilizando una vacuna adyuvada respecto a la convencional.

Con la información disponible, el impacto presupuestario de utilizar la vacuna antigripal con MF59 en todos los mayores de 65 años, asciende a 6.967.288,10 €, evitando para el conjunto nacional un coste de 89,5 millones de euros, lo que supone un ahorro potencial de 82 millones de euros y un índice coste beneficio de 12,83. En la figura 2 se refleja la diferencia en el total de costes de vacunación y de atención de enfermos con gripe tanto en atención primaria como especializada obtenido a través de la simulación del "caso base" entre la utilización de la vacuna convencional o la vacuna adyuvada con MF59 frente a la no vacunación, originando unos ahorros de más de 490 millones de euros por la implementación de la vacunación.

A continuación se describen los resultados del análisis de sensibilidad univariante sobre algunas variables del modelo aplicado al ámbito nacional. En cuanto a la tasa de cobertura vacunal, se utilizó en el caso base un 55,5%, cobertura media nacional en la temporada 2016-2017, y se ha variado los resultados desde un 25 a un 75%, representándose en la figura 3, variando el beneficio neto desde los 37 millones de euros hasta los 111 millones de euros. Los costes contemplados en el modelo se han reducido desde un 5% a un 25%. El beneficio neto se redujo hasta los 60 millones de euros con un índice Beneficio coste de 9,6 como se aprecia en la figura 4.

## DISCUSIÓN

El análisis económico realizado ha mostrado una gran re-

percusión de la vacunación antigripal en la población estudiada utilizando la vacuna adyuvada con MF59, tanto en la disminución en la carga de enfermedad, evitando más de 113.000 casos de gripe, de los cuales más de 25.000 necesitarían ingreso hospitalario y 1.384 fallecerían, como en los ahorros producidos en el sistema público, siendo superiores a los 82 millones de euros.

Con una inversión, en el conjunto del estado Nacional, que no alcanza los 7 millones de euros, se consigue un índice beneficio coste de 12,83, es decir se consiguen casi 13 euros de ahorro por cada euro invertido. Se observa cómo, a través del análisis de sensibilidad realizado sobre variables de especial relevancia, que el signo del análisis económico efectuado no varía y únicamente repercute en el impacto de los ahorros obtenidos, no siendo éstos nunca inferiores a los 35 millones de euros ni en la peor de las opciones analizadas. No obstante, al interpretar los resultados, debe tenerse en consideración que los escenarios planteados parten del empleo de una vacuna antigripal frente a otra, cuando la realidad actual de utilización vacunal es distinta, con un uso combinado de ambas vacunas, por lo tanto se podrían estar sobreestimando los ahorros sobre el escenario real. Del mismo modo, dado que existe un programa de vacunación estacional desde hace años, tampoco es posible determinar la situación de partida sobre casos evitados y complicaciones prevenidas en caso de no vacunar.

En el trabajo realizado para el sistema italiano de salud [1] la utilización de la vacunación con adyuvante MF59 obtuvo ahorros de 72 millones de euros, y el desarrollado por Ruiz-Aragón et al [25] en España de 76 millones. En nuestro estudio se han obtenido superiores ahorros, principalmente motivados por una actualización en los costes utilizados y una

ponderación de los GRDs analizados, por número de altas, en la agrupación de las complicaciones por gripe analizadas. De cualquier forma, la disminución de hasta un 25% de los costes empleados aporta robustez al modelo. Igualmente, la gran heterogeneidad en el coste de la consulta médica de atención primaria documentada en la literatura, desde los 12 euros [1], hasta los 89 euros [28], ha obligado a analizar la repercusión de esta variable por separado, observando cómo el caso base puede variar hasta un 10% -figura 5- en función del precio de la consulta médica, pero sin condicionar los resultados obtenidos.

Como comentan Ruiz-Aragón et al [25], los datos de incidencia y los riesgos relativos empleados en el modelo determinan en gran medida el análisis realizado y sería necesario un metaanálisis específico para estimar cada dato, no obstante las estimaciones utilizadas están en consonancia con otros estudios publicados [22] y la eficiencia de la vacunación ha sido altamente evidenciada [1,25,30,31].

Para la valoración económica de los casos de gripe evitados, se ha supuesto que un 50% de los casos acuden a consulta médica en un centro de salud, no considerando la consulta domiciliaria, que tendría un coste superior. Se ha contemplado que únicamente estos pacientes que acuden a consulta generan un coste de fármacos de 3,21 € por paciente, una estimación conservadora pues otros estudios en España utilizan hasta 6 € por paciente entre analgésicos y antibióticos [32].

Finalmente, con la información obtenida puede decirse que extender el uso de la vacuna antigripal con el adyuvante MF59 a todos los mayores de 65 años supondría un incremento en el coste del programa de vacunación, que sería compensado por los importantes ahorros que se obtienen gracias a los casos y complicaciones evitadas. La reducción de un 5% de los costes asistenciales producidos por casos de gripe compensaría el coste incremental de utilizar la vacuna con adyuvante MF59 para toda la población mayor de 65 años, por lo que esta medida se presenta como una alternativa altamente eficiente y por lo tanto debe tenerse en cuenta en el desarrollo de los programas de vacunación antigripales.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el soporte realizado por la Compañía Seqirus para la elaboración del presente trabajo.

## 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

- Iannazzo S. Pharmacoeconomic evaluation of the MF59-adjuvanted influenza vaccine in the elderly population in Italy. *J Prev Med Hyg*. 2011;52:1-8. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21710816>
- Van Buynnder PG, Konrad S, Van Buynnder JL, Brodin E, Krajden M. The comparative effectiveness of adjuvanted and unadjuvanted trivalent inactivated influenza vaccine (TIV) in the elderly. *Vaccine*. 2013;31:6122-28. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23933368>
- Statistics Canada. Selected leading causes of death by sex. Canada. 2009. Ottawa: Statistics Canada. Health Statistics Division; 2012
- Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Vacunación frente a la gripe. [consultado sep 2017]. Disponible en [https://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/Vacunacion\\_Gripe.htm](https://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/Vacunacion_Gripe.htm)
- Mannino S, Villa M, Apolone G, Weiss NS, Groth N, Aquino I, et al. Effectiveness of adjuvanted influenza vaccination in elderly subjects in northern Italy. *Am J Epidemiol*. 2012;176:527-33. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22940713>
- Govaert TM, Thijis CT, Masurel N, Sprenger MJ, Dinant GK, Knottnerus JA. The effectiveness of influenza vaccination in elderly individuals: a randomized double-blind placebo controlled trial. *Journal of the american medical association*. 1994;272:1661-5. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7966893>
- Osterholm MT, Kelley NS, Sommer A, Belongia EA. Efficacy and effectiveness of influenza vaccines: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2012;12:36-44. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22032844>
- Domínguez A, Soldevila N, Toledo D, Godoy P, Espejo E, Fernandez MA, Mayoral JM, et al. The effectiveness of influenza vaccination in preventing hospitalisations of elderly individuals in two influenza seasons: a multicentre case-control study, Spain, 2013/14 and 2014/15. *Eurosurveillance*, Volume 22, Issue 34. [Consultado sep 2017]. Disponible en <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=22863>
- Amstrong BG, Mangtani P, Fletcher A, Kovats S, McMichael A, Pat-tenden S. Effect of influenza vaccination on excess deaths occurring during periods of high circulation of influenza: cohort study in elderly people. *BMJ*. 2004;329:660. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15313884>
- Goodwin K, Viboud C, Simonsen L. Antibody response to influenza vaccination in the elderly: a quantitative review. *Vaccine*. 2006;24:1159-69. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16213065>
- McElhaney JE. The unmet need in the elderly: designing new influenza vaccines for older adults. *Vaccine*. 2005;23:s10-25. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15908062>
- Della Cioppa G, Nicolay U, Lindert K, Leroux-Roels G, Clement F, Castellino F, et al. Superior immunogenicity of seasonal influenza vaccines containing full dose of MF59®-adjuvant: Results from a dose-finding clinical trial in older adults. *Hum Vaccin Immunother*. 2012;8:216-27. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22426371>

13. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Evolución de los 20 GRD más frecuentes. Explotación del registro de altas CMBD del Sistema Nacional de Salud [consultado Jul 2017]. Disponible en: <http://www.msssi.gob.es/estadEstudios/estadisticas/inforRecopilaciones/anaDesarrolloGDR.htm26>
14. Jefferson T, Di Pietrantonj C, Al-Ansary LA, Ferroni E, Thorning S, Thomas RE. Vaccines for preventing influenza in the elderly. Cochrane database Syst Rev. 2010;(2)CD004876. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20166072>
15. Podda A. The adjuvanted influenza vaccines with novel adjuvants: experience with the MF59-adjuvanted vaccine. Vaccine. 2001;19:2673-80. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1125740816>.-Banzhoff A, Nacci P, Podda A. A new MF59-adjuvanted influenza vaccine enhances the immune response in the elderly with chronic diseases: results from an immunogenicity meta-analysis. Gerontology. 2003;49:177-84. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12679609>
16. Ficha técnica Chiromas. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. [Consultado agosto 2017] Disponible en: [https://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/63566/FT\\_63566.pdf](https://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/63566/FT_63566.pdf)
17. Durango P, Icardi G, Ansaldi F. MF59-adjuvanted vaccine:a safe and useful tool to enhance and broaden protection against seasonal influenza viruses in subjetes at risk. Expert Opin Biol Ther. 2010;10:639-51. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20218923>
18. Song JY, Cheong HJ, Noh JY, Seo YB, Choi WS, Cho GJ, et al. Long-term and cross-reactive immunogenicity of inactivated trivalent influenza vaccine in the elderly: MF59-adjuvanted vaccine versus unadjuvanted vaccine. J Med Virol. 2013;85: 1591-7. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23852684>
19. Villa M, Black S, Groth N, Rothman KJ, Apolone G, Weiss NS, et al. Safety of MF59-adjuvanted influenza vaccination in the elderly: Results of a comparative study of MF59-adjuvanted vaccine versus nonadjuvanted influenza vaccine in northern Italy. Am J Epidemiol. 2013;178:1139-45. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23863759>
20. Mauskopf J, Sullivan S, Annemans L, et al. Principles of good practice for Budget impact analysis: report of the ISPOR Task Force on good research practices-budget impact analysis. Value Health. 2007;10:336-47. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17888098>
21. Puig-Barberà J, Diez-Domingo J, Varea AB, Chavarri GS, Rodrigo JA, Hoyos SP, et al. Effectiveness of MF59-adjuvanted subunit influenza vaccine in preventing hospitalisations for cardiovascular disease, cerebrovascular disease and pneumonia in the elderly. Vaccine. 2007;25:7313-21. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17889411>
22. INE. Estadística del Padrón Continuo a 1 de enero de 2016. Datos a nivel nacional, comunidad autónoma y provincia [consultado sep 2017] Disponible en: <http://www.ine.es/jaxi/Datos.htm?path=/t20/e245/p04/a2016/l0&tfile=Ocaa007.px>
23. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Cobertura de vacunación antigripal en ≥ 65 años. Comunidades Autónomas. Temporada estacional 2016-2017. [consultado sep 2017] Disponible en: <https://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/docs/CoberturasVacunacion/Tabla9.pdf>
24. Ruiz-Aragón J, Grande Tejada AM, Márquez-Peláez C, García-Cenoz M. Estimación del impacto de la vacunación antigripal con adyuvante MF59 en población mayor de 64 años para el Sistema Nacional de Salud: efectos y costes. Vacunas. 2015;16: 6-11. [consultado jul 2017] Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vacun.2015.02.002>
25. Anuncio de licitación de: Subsecretaría de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Objeto: acuerdo marco de selección de suministradores de vacunas gripe estacional para determinados órganos de contratación de AGE, INGESA, y las ciudades de Ceuta y Melilla y varias Comunidades Autónomas. Expediente:201701AM0001. [consultado sep 2017] Disponible en: [http://www.boe.es/diario\\_boe/txt.php?id=BOE-B-2017-36807](http://www.boe.es/diario_boe/txt.php?id=BOE-B-2017-36807)
26. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Costes hospitalarios - Contabilidad Analítica. 2014. Resultados según la versión 27 de los AP\_GRD. [consultado sep 2017] Disponible en: <https://www.msssi.gob.es/estadEstudios/estadisticas/inforRecopilaciones/anaDesarrolloGDR.htm>
27. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Registro de Altas de los Hospitales Generales del Sistema Nacional de Salud. CMBD. Norma Estatal de Años Anteriores. 2014. Resultados según la versión 27 de los AP\_GRD. [consultado sep 2017] Disponible en: <http://www.msssi.gob.es/estadEstudios/estadisticas/cmbdAnteriores.htm>
28. Resolución de 19 de julio de 2013, del Instituto Nacional de Gestión Sanitaria, sobre revisión de precios a aplicar por los centros sanitarios del Instituto Nacional de Gestión Sanitaria en Ceuta y Melilla, por las asistencias prestadas en los supuestos cuyo importe ha de reclamarse a los terceros obligados al pago o a los usuarios sin derecho a la asistencia sanitaria de la Seguridad Social, así como por los servicios prestados por el Centro Nacional de Dosimetría y por la reproducción de documentos de la biblioteca de la entidad gestora. [consultado sep 2017] Disponible en: <https://www.boe.es/boe/dias/2013/07/29/pdfs/BOE-A-2013-8240.pdf>
29. Pradas R, Antoñanzas F, Zoellner Y. Evaluación económica de la vacunación antigripal por los servicios médicos de empresa: una perspectiva sanitaria. Pharmacocon Span ResArtic. 2005;2:55-63.
30. Piercy J, Ryan J, Megas F. Economic evaluation of MF59 adjuvanted vaccine against influenza in the high-risk elderly population in France. J Med Econ. 2004;7:1-18.
31. Badía X, Roset M, Francés JM, Álvarez C, Rubio C. Estudio de costes de la gripe. Aten Primaria. 2006;38:260-7. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17020710>

## Letter to the Editor

Mª José Zamora-López  
Patricia Álvarez-García  
Marta García-Campello

# Prosthetic hip joint infection caused by *Campylobacter fetus*: A case report and literature review

Microbiología y Parasitología, Hospital de Pontevedra

### Article history

Received: 8 March 2017; Revision Requested: 4 September 2017; Revision Received: 5 September December 2017; Accepted: 6 September 2017

Sir,

*Campylobacter* spp usually causes gastrointestinal illness and occasionally severe systemic infections. Most cases of intestinal campylobacteriosis are caused by *Campylobacter jejuni* or *Campylobacter coli* [1] but *Campylobacter fetus* is the most commonly detected pathogen causing *Campylobacter* bacteraemia [2,3]. Septic arthritis caused by this microorganism have been reported previously and are likely to become more common given the increased numbers of devices implanted and widespread use of immunosuppressive therapy.

These microorganisms are fastidious and require microaerobic growth conditions and appropriate culture methods. It is a microaerophilic, Gram-negative, spiral-shaped bacterium that grows between 25°C and 37°C. The incubation temperature of 42°C, which is often routinely used to isolate *Campylobacter* spp, precludes the recovery of at least 20% of *C. fetus* isolates that do not grow at this temperature. On the other hand, use of cephalothin containing media, for the selective isolation of *C. jejuni* and *C. coli*, inhibits growth of *C. fetus*. It is also remarkable that microorganisms associated with prosthetic joint infections (PJI) are found in biofilms; thus, methods such as implant vortexing and sonication, which sample the prosthesis surface, provide improved sensitivity for PJI diagnosis compared to conventional periprosthetic tissue cultures [4].

Moreover, it is described the use of extraintestinal samples as blood or cerebrospinal fluid, which have less contaminating organisms and allow detection without the use of selective media [5]. Once a suspected *C. fetus* isolate is obtained, phenotypic or molecular methods can be used to confirm the species. In many cases, phenotypic methods have limitations and genotypic identification of the species has been recommended.

Subspecies differentiation has no direct clinical relevance but might support a better understanding of epidemiology.

Infections mainly affect persons at higher risk, including elderly and immunocompromised individuals [5]. Septicaemia, with fever but without apparent localized infection, is reported in most of cases [3,6]. Other manifestations may be the result of neurological infections, osteomyelitis, lung abscesses, arthritis, perinatal infections and vascular pathology [7,8,9]. Predisposing factors for *C. fetus* infection include conditions that result in immunosuppression, cardiovascular disease with valve abnormalities, liver disease, diabetes mellitus and medical device implants. Elderly people and pregnant women, without any underlying disease are also at risk [3,7]. In healthy young are rarely reported and such infections, are generally associated with occupational contact with animals [5]. In relation to the pathogenesis, the isolation or detection of DNA of *C. fetus* from stools of healthy people indicates that intestinal colonization may also occur without diarrhoea [10]. The limited ability of these microorganisms to breach the host defenses in otherwise healthy individuals may explain why dissemination of infections is mainly observed in immunocompromised individuals [6,11]. It has been demonstrated for this pathogen the preference for endovascular surfaces and a genomic variation that contributes to differences in the clinical infections and virulence [12].

We report a case of *C. fetus* infection involving a prosthetic hip joint. We considered immunocompromised patients to be those receiving chemotherapy, radiotherapy, or immunosuppressors. Blood cultures were processed using the BD BACTEC FX (Becton Dickinson, Sparks, MD) and microbiological cultures were realized by standard procedures. Identification and determination of antibiotic susceptibility were performed using Phoenix Automated Microbiology System (BD Diagnostic Systems) and Epsilon Test (BioMérieux, France). EUCAST breakpoints were applied (EUCAST 2014). We reviewed the literature regarding *Campylobacter* PJI.

Correspondencia:  
Mª José Zamora-López  
Microbiología y Parasitología.  
C/ Princesa de Éboli 100, 1ºB  
28050, Madrid  
Telf: 627 52 61 74  
E-mail: mjzamoralopez@hotmail.com

The case was a 60-year-old male with severe pain in left hip joint. Nonspecific febrile was the main symptom. He had undergone a left total hip replacement 10 years earlier. Associated risk factors were: elderly, diabetes mellitus, immunosuppressive disease, vascular pathology and prosthetic hip joint. Clinical signs were lumbar and thoracic pain, anorexia, nausea, crampy lower abdominal pain, pleural effusion, chronic obstructive pulmonary disease and heart failure.

Biochemical and blood parameters were: haemoglobin concentration 9.7 g/dl (normal range: 13.5-17.5 g/dl), neutrophil count  $13.1 \times 10^9/L$  (normal range:  $1.8-8 \times 10^9/L$ ), erythrocyte sedimentation rate 65 mm/h (normal range: 0-10 mm/h), C-reactive protein 14.45 mg/dL (positive > 1 mg/dL), glutamate pyruvate transaminase 64 U/L (normal range 7-40 U/L) and gamma-glutamyl-transpeptidase 265 U/L (normal range 10-50 U/L).

The fluid obtained from hip aspirate contained numerous white blood cells and was positive for *C. fetus* after 48 h of incubation. The same organism was grown from blood cultures and tissue taken from around the prosthesis. Interestingly, he did not have gastrointestinal or systemic symptoms and signs preceding or during the hip joint infection.

The infection required total removal of the prosthesis and the treatment in the first period of their income was imipenem associated with azithromycin for 6 weeks. In the second half, after 15 days without antibiotics new samples were microbiologically negatives. The absence of microorganisms was demonstrated and held on prosthetic replacement removing the spacer. The clinical course was favourable.

Twenty one cases (including our case) have been reported (table 1). Fourteen patients were infected with *C. fetus*, three with *C. jejuni* and one with *C. coli*, *C. gracilis*, *C. lari* or *C. upsaliensis*. The average age of *C. fetus* infection was 70.79 years (SD = 10.44). The antimicrobial therapy used was variable employing imipenem, gentamicin, amoxicillin, azithromycin, chloramphenicol, tetracycline, erythromycin, ceftriaxone or roxithromycin. The duration of treatment was very different, from 3 days to 3 months for patients with *C. fetus* infections.

*C. fetus* is a pathogen affecting almost exclusively patients with immunosuppression and chronic debilitating diseases. The patients with joint replacements are a target to consider too. Recent literature insured that yearly number of combined knee and hip arthroplasties are increasing [13]. The infection of prosthetic devices is rare but it is possible that other cases go unrecognized as *Campylobacter* spp may require prolonged incubation on media routinely used for suspected prosthetic joint infection.

This microorganism has a protein surface layer which provides resistance to opsonization, easily form an extraintestinal infectious focus [14] and can cause systemic infections and others (lung abscess, urinary infection, meningitis, subdural abscess, arthritis, peritonitis and cholecystitis). Furthermore, *C. fetus* shows a special tropism for the human vascular endothelium via bacteria surface receptors [15,16], be an added risk factor in these complicated patients [9].

We report here one case of infection caused by *C. fetus* in a patient with vascular pathology and prosthetic hip joint. In our study we highlight various aspects. On the one hand the diagnosis in our patients was made by blood cultures, fluid obtained from hip aspirate and tissue taken from around the prosthesis. Furthermore this case occurred without diarrhoea, as the least of the cases described in the series. Finally antimicrobial therapy was carried out by azithromycin and imipenem for 6 weeks and the infection required total removal of the prosthesis. The duration of treatment in cases of table 1 with *C. fetus* infection was very different, from 3 days with gentamicin and azithromycin to 3 months with ceftriaxone and roxithromycin.

Addition, we report here 20 *Campylobacter* PJs by others authors where fourteen patients were infected with *C. fetus* (table 1) [17-28]. The predominance of *C. fetus* is in keeping with its propensity to cause bacteraemia, possibly related to its relative resistance to the bactericidal activity of serum [29]. The therapeutic regimens and the treatment duration were quite different. Most patients were elderly and immunocompromised, were elderly where its shows the difference in the mean age of infected patients, 28.6 years for *C. Jejuni* /*C. coli* versus 68.4 years for *C. fetus* described previously by other authors [30].

All patients had risk factors such as chronic lymphocytic leukaemia, heart failure, diabetes mellitus, immunosuppressive therapy, liver cirrhosis, lung cancer, renal transplant and rheumatoid arthritis being susceptibility to infection by this organism and others.

Our patient demonstrates the typical features of patients with campylobacter joint prosthesis infection as most are elderly, immunocompromised and nonspecific febrile illness. In contrast to most cases reported, this case was diagnosed without diarrhoea in a patient with vascular pathology, in addition to being a carrier of a prosthetic hip joint.

The therapeutic regimens, duration and surgical strategies (one or two stage resection arthroplasties, implant retention or debridement) of these patients were quite different. The most cases of *C. fetus* and *C. jejuni* PJ were treated with a combination of antimicrobials. Our patient was successfully treated consisting of removal of the prosthesis, surgical washout and debridement. The antimicrobial therapy was included carbapenems associated with macrolides in the first time. It is possible that the early removal and treatment contributed to the favourable outcome of case. It is not clear what the most effective antimicrobial therapy was or its duration, but from the cases reported long-term suppression appears unnecessary. The choice of antibiotics for treatment is controversial; some authors advocate the use of imipenem since *C. fetus* infections in immunocompromised patients are very serious. Ciprofloxacin and macrolides were an adequate choice for other cases described [31,32]. Antimicrobial regimens for the management of *Campylobacter* PJs included  $\beta$ -lactams, aminoglycosides, macrolides, fluoroquinolones, clindamycin and tetracyclines in other cases.

**Table 1*****Campylobacter* prosthetic joint infections reported in the literature**

Species	Nº of cases	Age range	Male patients (%)	Prosthetic hip joint infection (Nº)	Prosthetic knee joint infection (Nº)	Underlying disease or relevant exposure
<i>C. fetus</i>	14	52-88	57	8	4	
David et al	a	72	Male	-	Knee	Cattle Farmer
Yao et al	b	75	Male	Hip	-	Chronic Lymphocytic Leukemia, Prednisone
Bates et al	c	68	Female	Hip	-	Rheumatoid Arthritis, Prednisolone
Chambers et al	d	72	Male	Hip	-	Alcohol Abuse, Chronic Granulocytic Leukemia, Hypertension
Joly et al	e	70	Male	Hip	-	Liver Cirrhosis, Alcohol Abuse
Meyer et al	f	71	Female	-	Knee	Diabetes Mellitus Chronic Obstructive Pulmonary Disease Rheumatoid Arthritis,
	g	53	Male	*	*	Diabetes Mellitus Hypertensive Cardiomyopathy Rheumatoid Arthritis
	h	80	Female	**	**	Diabetes Mellitus Hypertensive Cardiomyopathy Rheumatoid Arthritis
Prendki et al	i	88	Male	Hip	-	Lung Cancer
	j	70	Female	-	Knee	Liver Cirrhosis
	k	85	Female	Hip	-	Liver Cirrhosis
	l	52	Female	-	Knee	-
	m	75	Male	Hip	-	Renal Transplant
Current	n	60	Male	Hip	-	Diabetes Mellitus Immunosuppressive Disease, Vascular Pathology
<i>C. jejuni</i>	3	60-77	100	1	2	
Peterson et al	a	60	Male	Hip	-	AIDS, B Cell Lymphoma, Haemophilia
Shawn et al	b	75	Male	-	Knee	Cattle farmer
Prendki et al	c	77	Male	-	Knee	Immunosuppressive Disease
<i>C. coli</i>	1	60	100	1	0	
Sharp et al	a	60	Male	Hip	-	Obesity, Hypertension Ingestion of contaminated raw oysters
<i>C. gracilis</i>	1	74	100	0	1	
Almeida et al	a	74	Male	-	Knee	Cattle Farmer
<i>C. lari</i>	1	81	100	1	0	
Werno et al	a	81	Male	Hip	-	Tibial Osteoblastic Osteosarcoma
<i>C. upsaliensis</i>	1	24	100	0	1	
Issartel et al	a	24	Male	-	Knee	Osteoblastic Osteosarcoma

\*Cellulitis of the right leg; \*\*Septic arthritis of the right shoulder.

*C. fetus* infection is rare, but can have important implications for patients with prosthetic joints. This infection should be suspected particularly in those patients with nonspecific febrile illness, acute gastroenteritis and immunosuppressive dis-

eases, furthermore, this infection can be related to prosthetic devices in hospitalized patients being an important systemic disease. Most of cases occurring after recent gastroenteritis, consideration should be given to postponing elective arthro-

plasty surgery in patients who have had a recent episode of bacterial gastroenteritis.

*Campylobacter* infections of prosthetic devices are likely to become more common given the increased numbers of devices implanted and widespread use of immunosuppressive therapy.

Finally, based on our review of the literature, we concluded that it is important for clinicians should alert the clinical microbiology laboratory to the possibility of *C. fetus* infection when there is a compatible clinical syndrome, so that appropriate culture media and incubation conditions are used.

## FUNDING

None to declare

## CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that they have no conflicts of interest

## REFERENCES

- Gillespie IA, O'Brien SJ, Frost JA, Adak GK, Horby P, Swan AV, et al. A case-case comparison of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* infection: a tool for generating hypotheses. *Emerg Infect Dis* 2002; 8:937-42. DOI: 10.3201/eid0809.010187
- Fernandez-Cruz A, Munoz P, Mohedano R, Valerio M, Marin M, Alcalá L, et al. *Campylobacter* bacteremia: clinical characteristics, incidence, and outcome over 23 years. *Medicine (Baltimore)* 2010;89:319-30. DOI: 10.1097/MD.0b013e3181f2638d
- Pacanowski J, Lalande V, Lacombe K, Boudraa C, Lesprit P, Legrand P, et al. *Campylobacter* bacteremia: clinical features and factors associated with fatal outcome. *Clin Infect Dis* 2008;47:790-6. DOI: 10.1086/591530
- Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ, Hanssen AD, Unni KK, Osmon DR, et al. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. *N Engl J Med*. 2007;357(7):654-63. DOI: 10.1056/NEJMoa061588
- Wagenaar JA, van Bergen MA, Blaser MJ, Tauxe RV, Newell DG, van Putten JP. *Campylobacter fetus* Infections in Humans: Exposure and Disease. *Clin Infect Dis*. 2014;58(11):1579-86. DOI: 10.1093/cid/ciu085
- Gazaigne L, Legrand P, Renaud B, Bourra B, Taillandier E, Brun-Buisson C, et al. *Campylobacter fetus* blood-stream infections: risk factors and clinical features. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008;27:185-9. DOI: 10.1007/s10096-007-0415-0
- Man SM. The clinical importance of emerging *Campylobacter* species. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2011;8:669-85. DOI: 10.1038/nrgastro.2011.191
- Fujihara N, Takakura S, Saito T, Iinuma S. A case of perinatal sepsis by *Campylobacter fetus* susp. Fetus infection successfully treated with carbapenem-case report and literature review. *J Infect* 2006;53:e199-202. DOI: 10.1016/j.jinf.2006.01.009
- Hideharu H, Mitsuaki M, Hiroshi F, et al. Mycotic Abdominal Aortic Aneurysm Caused by *Campylobacter fetus*: A Case Report and Literature Review. *Ann Vasc Surg*. 2014 S0890-5096(14)00436-1. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3595778/>
- Rennie RP, Strong D, Taylor DE, Salama SM, Davidson C, Tabor H. *Campylobacter fetus* diarrhea in a Hutterite colony: epidemiological observations and typing of the causative organism. *J Clin Microbiol*. 1994;32(3):721-4. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7910829>
- Brah S, Chiche L, Brun M, Schleinitz N, Harle JR, Durand JM. *Campylobacter fetus* Bacteremia Revealed by Cellulitis without Gastrointestinal Symptoms in the Context of Acquired Hypogammaglobulinemia: A Report of Three Cases. *Case Rep Gastrointest Med*. 2011;2011:628902. DOI: 10.1155/2011/628902
- Van der Graaf-van Bloois L, Miller WG, Yee E, Duim B, Wagenaar JA. Whole genome sequencing of *Campylobacter fetus* subspecies. In: American Society for Microbiology General Meeting, San Francisco, CA, 16-19 June 2012.
- Vasoo S, Schwab JJ, Cunningham SA, Robinson TJ, Cass JR, Berbari EF, et al. *Campylobacter* prosthetic joint infection. *J Clin Microbiol*. 2014;52(5):1771-4. DOI: 10.1128/JCM.03572-13
- Blaser MJ, Smith PF, Repine JE, Joiner KA. Pathogenesis of *Campylobacter fetus* infections. Failure of encapsulated *Campylobacter fetus* to bind C3b explains serum and phagocytosis resistance. *J Clin Invest*. 1988;81(5):1434-44. DOI: 10.1172/JCI113474
- Morrison VA, Lloyd BK, Chia JK, Tuazon CU. Cardiovascular and bacteremic manifestations of *Campylobacter fetus* infection: case report and review. *Rev Infect Dis*. 1990;12(3):387-92. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2193344>
- Melendez BA, Hollis HW Jr, Rehring TF. Mycotic popliteal aneurysm rupture secondary to *Campylobacter fetus*. *Ann Vasc Surg*. 2015;29(1):122. e9-11. DOI: 10.1016/j.avsg.2014.05.021
- Prendki V, Marmor S, Zeller V, Lhotellier L, Mégraud F, Desplaces N. *Campylobacter* infection after prosthetic joint surgery. *Scand J Infect Dis*. 2013;45(9):706-10. DOI: 10.3109/00365548.2013.800225
- David J, Nasser RM, Goldberg JW, Reed KD, Earll MD. Bilateral prosthetic knee infection by *Campylobacter fetus*. *J Arthroplasty*. 2005;20(3):401-5. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15809962>
- Yao JD, Ng HM, Campbell I. Prosthetic hip joint infection due to *Campylobacter fetus*. *J Clin Microbiol*. 1993;31(12):3323-4. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8308129>
- Bates CJ, Clarke TC, Spencer RC. Prosthetic hip joint infection due to *Campylobacter fetus*. Bates CJ, Clarke TC, Spencer RC. *J Clin Microbiol*. 1994;32(8):2037. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7989567>
- Chambers ST, Morpeth SC, Laird HM. *Campylobacter fetus* prosthetic hip joint infection: successful management with device retention and review. *J Infect*. 2005;50(3):258-61. DOI: 10.1016/j.jinf.2004.03.017
- Joly P, Boissonnas A, Fournier R, Khalifa P, Vedel G, Cremer GA, et al. Septic arthritis caused by *Campylobacter fetus*. *Rev Rhum Mal Osteoartic*. 1986;53(4):223-6. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3738380>

23. Meyer A, Theulin A, Chatelus E, Argemi X, Sordet C, Javier RM, et al. *Campylobacter fetus* infection in three rheumatoid arthritis patients treated with rituximab. Ann Rheum Dis. 2012;71(6):1094-5. DOI: 10.1136/annrheumdis-2011-200719
24. Peterson MC, Farr RW, Castiglia M. Prosthetic hip infection and bacteremia due to *Campylobacter jejuni* in a patient with AIDS. Clin Infect Dis. 1993;16(3):439-40. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8452956>
25. Sharp SE. *Campylobacter coli* prosthetic hip infection associated with ingestion of contaminated oysters. J Clin Microbiol. 2009;47(10):3370-1. DOI: 10.1128/JCM.00417-09
26. Almeida NJ, Murthy MH, Preheim LC. Prosthetic Knee joint infection caused by *Campylobacter gracilis*. Infect Dis Pract. 2009;17:118-119. [https://journals.lww.com/infectdis/Abstract/2009/03000/Prosthetic\\_Knee\\_Joint\\_Infection\\_Caused\\_by.13.aspx](https://journals.lww.com/infectdis/Abstract/2009/03000/Prosthetic_Knee_Joint_Infection_Caused_by.13.aspx)
27. Werno AM, Klena JD, Shaw GM, Murdoch DR. Fatal case of *Campylobacter lari* prosthetic joint infection and bacteremia in an immunocompetent patient. J Clin Microbiol. 2002;40(3):1053-5. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11880437>
28. Issartel B1, Pariset C, Roure C, Boibieux A, Peyramond D. Successful treatment of prosthetic knee infection due to *Campylobacter upsaliensis*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2002;21(3):234-5. DOI: 10.1007/s10096-001-0693-x
29. Blaser MJ, Smith PF, Kohler PF. Susceptibility of Campylobacter isolates to the bactericidal activity of human serum. J Infect Dis. 1985;151(2):227-35. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3968449/>
30. Bessède E, Lehours P, Labadi L, Bakiri S, Méraud F. Comparison of characteristics of patients infected by *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and *Campylobacter fetus*. J Clin Microbiol. 2014;52(1):328-30. DOI: 10.1128/JCM.03029-13
31. Martínez-Balzano C, Kohlitz PJ, Chaudhary P, Hegazy H. *Campylobacter fetus* bacteremia in a young healthy adult transmitted by khat chewing. J Infect. 2013;66(2):184-6. DOI: 10.1016/j.jinf.2011.11.020
32. Tremblay C, Gaudreau C, Lorange M. Epidemiology and antimicrobial susceptibilities of 111 *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* strains isolated in Quebec, Canada, from 1983 to 2000. J Clin Microbiol. 2003;41:463-6. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12517895>

## Carta al Director

Rafael León  
Sergio Reus  
Marcos Díez  
Joaquín Portilla

# Hipertensión arterial no diagnosticada en pacientes con infección por VIH que reciben tratamiento antirretroviral

Unidad de Enfermedades Infecciosas. Servicio de Medicina Interna. Hospital General Universitario de Alicante. Alicante, España.

### Article history

Received: 29 May 2017; Revision Requested: 10 July 2017; Revision Received: 28 September 2017; Accepted: 28 September 2017

Sr Editor: La hipertensión arterial (HTA) es un factor de riesgo cardiovascular que parece ser más frecuente en los pacientes con infección por VIH que en la población general [1].

Su monitorización, junto a la de otros factores de riesgo cardiovascular, forma parte de la evaluación global del riesgo cardiovascular (RCV) [2]. Los niveles de lípidos y de glucemia en sangre se monitorizan sistemáticamente en todas las revisiones de los pacientes con infección por VIH, pero no ocurre lo mismo con la tensión arterial (TA), y con frecuencia se delega su control a los médicos de Atención Primaria (AP). Sin embargo, muchos pacientes con infección por VIH no suelen acudir a los centros de AP, y confían sus cuidados de salud a los médicos que controlan su infección por VIH. El objetivo de nuestro estudio fue analizar la prevalencia de HTA no conocida en pacientes con infección por VIH que acuden regularmente a revisión a una Unidad de Infecciosas en la que no se toma sistemáticamente la TA.

Entre enero y marzo de 2016 se ofreció medir la TA a los pacientes con infección por VIH en tratamiento antirretroviral, que de forma consecutiva acudían a revisión a la consulta y que no estaban diagnosticados de HTA. Se excluyeron aquellos con diabetes mellitus o en tratamiento con estatinas. Se utilizó un esfigmomanómetro automático oscilométrico, se realizaron 2 determinaciones separadas unos minutos, en reposo, y se calculó la media.

Se incluyeron 93 pacientes (77% varones) con edad media  $\pm$  desviación estándar (DE):  $45 \pm 8$  años. La infección por VIH estaba en estadio C en 20 pacientes (22%) y la media de linfocitos CD4+ era de  $648/\text{mm}^3$  (DE: 216). La prevalencia de tabaquismo (actual o pasado) y dislipemia era del 55% y

32%, respectivamente. Veinticuatro pacientes presentaron TA sistólica  $\geq 130$  y/o TA diastólica  $\geq 80$  mmHg y 16 pacientes TA sistólica  $\geq 140$  y/o TA diastólica  $\geq 90$  mmHg. Todos ellos fueron remitidos a sus Centros de Salud para nuevos controles de TA. Seis meses después se revisó la historia clínica electrónica (que en la Comunidad Valenciana está informatizada) y se observó que 5 pacientes (6%, IC95% 2.3-12%) habían sido diagnosticados de HTA en Atención Primaria.

Nuestro estudio muestra varios datos de interés. En primer lugar, que hay un porcentaje pequeño pero significativo de pacientes con infección por VIH que acuden regularmente a revisión a una Unidad de VIH que presentan HTA no diagnosticada. Estos pacientes acuden con regularidad a las Unidades de VIH para el control de su infección y tienen la percepción de que sus médicos infectólogos controlan la mayoría de sus problemas médicos, evitando con ello acudir a sus médicos de AP. Este hecho puede repercutir negativamente sobre sus cuidados de salud y en especial sobre el RCV, aumentado en pacientes con infección por VIH respecto a población general. Nuestro estudio enfatiza la importancia de controlar la TA en estos pacientes siguiendo las recomendaciones de GeSIDA [2], especialmente en aquellos pacientes con edad  $> 50$  años donde se ha demostrado una mayor prevalencia de HTA que en población general pareada por edad y género [1]. En nuestro estudio la edad media fue 45 años, cercana a la edad de riesgo observada por Guaraldi en su estudio de casos-control. En estudios de cohortes, la incidencia de HTA en pacientes con infección por VIH en tratamiento es del 2.5% personas-año [3].

Otro hecho destacable es el elevado número de pacientes que presentaban TA en el límite algo de la normalidad o incluso por encima de 140/90 mmHg, probablemente en relación con el efecto de "bata blanca" [4]. En la mayoría de ellos no se confirmó posteriormente el diagnóstico de HTA. Es por ello que este diagnóstico debe basarse en varias determinaciones separadas en el tiempo y preferiblemente en un ambiente tranquilo, de forma que la consulta de VIH

Correspondencia:  
Rafael León Allocsa  
Calle Pintor Baeza, 11, 03010. Alicante, España  
Tfn: 965933000  
E-mail: leonr86@hotmail.com

podría no ser el lugar idóneo para realizarlo y sería preferible la medición ambulatoria [5]. Se necesitan estudios con una mayor muestra para determinar la prevalencia real de HTA en pacientes con infección por VIH y sobre todo estimar si la prevalencia encontrada es mayor que en población general sin VIH.

## 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. Guaraldi G, Orlando G, Zona S, Menozzi M, Carli F, Garlassi E et al. Premature age-related comorbidities among HIV-infected persons compared with the general population. *Clin Infect Dis*. 2011;53(11):1120-6. DOI: 10.1093/cid/cir627
2. Grupo de expertos del Grupo de Estudio sobre Alteraciones Metabólicas (GEAM), de la Secretaría del Plan Nacional sobre el Sida (SPNS) y del Grupo de Estudio de Sida (GeSIDA). Documento de consenso sobre alteraciones metabólicas y riesgo cardiovascular en pacientes con infección por el VIH. *Enferm Infect Microbiol Clin* 2015;33:40.e1-40.e16. DOI: 10.1016/j.eimc.2014.06.006
3. Wong C, Gange SJ, Buchacz K, Moore RD, Justice AC, Horberg MA, et al. First occurrence of diabetes, chronic kidney disease and hypertension among north american HIV-infected adults, 2000-2013. *Clin Infect Dis*. 2017;64(4):459-467. DOI: 10.1093/cid/ciw804
4. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redon J, Zanchetti A, Böhm M et al. Guía de práctica clínica de la ESH/ESC 2013 para el manejo de la hipertensión arterial. *Rev Esp Cardiol* 2013; 66: 880e1-880.e64. DOI: 10.1016/j.recesp.2013.07.016
5. Kent ST, Bromfield SG, Burkholder GA, Falzon L, Oparil S, Overton ET et al. Ambulatory Blood Pressure Monitoring in Individuals with HIV: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 2016;11(2):e0148920. DOI: 10.1371/journal.pone.0148920

## Carta al Director

Marta Domínguez-Gil<sup>1</sup>  
José M<sup>o</sup> Eiros<sup>1</sup>  
Christoph Klein<sup>2</sup>  
Javier Herrero<sup>3</sup>  
Luis Pastor<sup>4</sup>  
Rosario Sarabia<sup>2</sup>

# Meningitis postquirúrgica por *Gemella haemolysans*

<sup>1</sup>Servicio de Microbiología, Hospital Universitario "Río Hortega". Valladolid

<sup>2</sup>Servicio de Neurocirugía, Hospital Universitario "Río Hortega". Valladolid

<sup>3</sup>Servicio de Otorrinolaringología, Hospital Universitario "Río Hortega". Valladolid

<sup>4</sup>Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario "Río Hortega". Valladolid

### Article history

Received: 29 May 2017; Revision Requested: 3 July 2017; Revision Received: 27 July 2017; Accepted: 27 November 2017

Sr. Editor: *Gemella* constituye un género de cocos gram-positivos anaerobios facultativos que agrupa hasta el momento siete especies, *G. morbillorum*, *G. haemolysans*, *G. asaccharolytica*, *G. parahaemolysans*, *G. taiwanensis*, *G. bergeri* y *G. sanguinis*. *G. haemolysans* es un microorganismo residente del tracto respiratorio superior que fue descrito por primera vez por Thjötta y Böe en 1938 como *Neisseria haemolysans* y reclasificado por Berger en 1960 dentro del nuevo género denominado *Gemella* [1].

Si bien se considera como integrante de la microbiota respiratoria, se han descrito cuadros con entidad clínica relevante como los que originan afectación pleural [2], ósea [3], y endocarditis [4] y en el ámbito neurológico como agente implicado en la etiología de abscesos cerebrales y meningitis [5,6].

Nuestro objetivo es comunicar un caso de meningitis por *G. haemolysans* tras intervención neuroquirúrgica en un paciente con macroadenoma hipofisario con afectación visual.

Varón de 57 años de edad de origen español, sin antecedentes patológicos de interés ni alergias medicamentosas conocidas. Fue admitido en nuestro hospital para cirugía programada de macroadenoma hipofisario. El paciente presentó en el momento del ingreso alteración visual progresiva desde hace dos años. Se realizó resonancia magnética nuclear (RMN) cerebral en la que se objetivó macroadenoma hipofisario con afectación y desplazamiento del quiasma óptico.

En la intervención se realizó abordaje endoscópico endonasal transesfenoidal con resección de un macroadenoma hipofisario. Se realizó profilaxis quirúrgica con cefazolina. Al segundo día del posoperatorio se confirmó fistula de líquido cefalorraquídeo (LCR). La fistula de LCR se solventó con medidas conservadoras (taponamiento con sellador de fibrina).

En los siguientes días el paciente desarrolló un cuadro febril asociado a rigidez de nuca, por lo que se realizó punción lumbar, ante la sospecha diagnóstica de meningitis postoperatoria. El estudio citobioquímico de LCR mostró aspecto hemorrágico; proteínas 163 mg/dL, glucosa 17 mg/dL, leucocitos 5685 (PMN 87%, mononucleares 13%). Se pautó un tratamiento empírico con vancomicina y ceftazidima con buena evolución. En el cultivo del LCR se aisló *G. haemolysans* y se modificó el tratamiento a ceftriaxona 2g/12h IV. Al no existir métodos de sensibilidad antibiótica estandarizados, los resultados se interpretaron con los criterios existentes para los estreptococos del *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) [7]. En la tinción de Gram urgente del LCR no se visualizaron bacterias, pero a las 48 horas de incubación de las placas de cultivo se observó crecimiento bacteriano, identificándose el agente causal como *Gemella haemolysans* mediante sistema automatizado VITEK-2® (BioMerieux) [8].

La etiología bacteriana más probable de una meningitis postquirúrgica está condicionada por el mecanismo patogénico responsable. En aquellos casos en los que el foco sea de origen sinusal por posible fistula de LCR, como el que presentamos, los microorganismos implicados son clásicamente *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus* beta-hemolíticos del grupo A, *Haemophilus influenzae* tipo b, Enterobacterias y *Staphylococcus* spp. [9] En el paciente expuesto el microorganismo responsable fue *G. haemolysans*. Se ha descrito en ocasiones como agente etiológico de meningitis purulenta, así como en el ámbito de la traumatología y ortopedia en cuadros de infección asociada a prótesis [10].

Otras especies de *Gemella*, como *G. morbillorum*, se han incluido recientemente en la etiología del absceso cerebral [11]. En la tabla 1 se muestran diferentes series que presentan cuadros de meningitis ocasionados por *G. haemolysans* y *G. morbillorum* [12-14]. En nuestra experiencia la administración de antibióticos por vía intravenosa resultó concluyente para lograr la curación del paciente.

### Correspondencia:

Marta Domínguez-Gil González.  
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario "Río Hortega".  
C/ Dulzaina, 2. 47002 Valladolid.  
Tfno 983 420400.  
Fax 983 423022.  
E-mail: mdominguezgilgo@saludcastillayleon.es

Tabla 1	Diferentes series que describen cuadros de meningitis ocasionados por <i>Gemella</i> spp.				
Referencia	Microrganismo aislado	Diagnóstico	Comorbilidad	Resultado	Tratamiento
Villegas et al [12]	<i>G. morbillorum</i>	Meningitis, apoplejía pituitaria	Pansinusitis	Curación	Benzilpenicilina y gentamicina IV
Benedetti et al [13]	<i>G. morbillorum</i>	Meningitis, absceso cerebeloso, múltiples abscesos cerebrales	Ninguna	Muerte	Penicilina IV y cefotaxima
Anil et al [14]	<i>G. haemolysans</i>	Meningitis	Cardiopatía congénita	Curación	Linezolid y cloranfenicol
Galen et al [5]	<i>G. haemolysans</i>	Meningoencefalitis	EPOC	Curación	Vancomicina, ceftriaxona y ampicilina
Caso actual	<i>G. haemolysans</i>	Meningitis postquirúrgica	Macroadenoma hipofisario	Curación	Ceftriaxona

En ocasiones la identificación fenotípica se torna complicada y precisa la identificación por biología molecular. En una reciente revisión de infecciones por *G. morbillorum* con análisis de ARN 16S mediante secuenciación se han podido establecer su árbol filogenético [15]. Esta aportación resulta determinante para afianzar su patogenicidad, habida cuenta de que en ocasiones puede residir como integrante de ecosistemas de microbiota mixta. Los antibióticos betalactámicos constituyen el tratamiento de elección y el especialista en neurocirugía en consonancia con el microbiólogo clínico debe valorar su significado mediante nuevas tecnologías de diagnóstico [16] y establecer una terapia exitosa.

## 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. <http://rd.springer.com/article/10.1007/BF02162778> [consultado 6 de febrero de 2017]
2. Aibar-Arregui MÁ, De Escalante-Yangüela B, Garrido-Buenache A, Navarro-Aguilar ME, Montoya-Arenas J, Rodero-Roldán M del M. Pleural empyema due to *Gemella* spp: report of 12 cases. Rev Med Chil 2012; 140: 1544-7. DOI: 10.4067/S0034-98872012001200004
3. Fangous MS, Hémon F, Graf P, Samier-Guérin A, Alavi Z, Le Bars H, et al. Bone infections caused by *Gemella haemolysans*. Med Mal Infect. 2016; 46: 449-52. DOI: 10.1016/j.medmal.2016.06.005
4. Ando A, Kagihara J, Chung H, Bolger DT Jr. Native bivalvular endocarditis by *Gemella haemolysans* requiring venovenous extracorporeal membrane oxygenation. BMJ Case Rep 2016; Aug 18;2016. DOI: 10.1136/bcr-2016-216029
5. Galen BT, Banach DB, Gitman MR, Trow TK. Meningoencephalitis due to *Gemella haemolysans*. J Med Microbiol 2014; 63(Pt 1): 138-9. DOI: 10.1099/jmm.0.063347-0
6. Chinbo M, Addebbous A, Moutachakkir M, Rada N, Bouskraoui M, Chabaa L, Soraan. *Gemella haemolysans* brain abscess in a child with complex congenital heart disease. Ann Biol Clin (Paris) 2014; 72: 487-90. DOI: 10.1684/abc.2014.0976
7. <https://www.ihs.com/products/clsi-standards.html> [consultado 10 de febrero de 2017]
8. [http://www.biomerieux.es/servlet/srt/bio/spain/dynPage?doc=SPN\\_IND\\_FDA\\_PRD\\_G\\_PRD\\_NDY\\_7](http://www.biomerieux.es/servlet/srt/bio/spain/dynPage?doc=SPN_IND_FDA_PRD_G_PRD_NDY_7) [consultado 10 de febrero de 2017]
9. Kaufman BA, Tunkel AR, Pryor JC, Dacey RG Jr. Meningitis in the neurosurgical patient. Infect Dis Clin North Am 1990; 4 : 677-701. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2277195>
10. Rose B, Jeer PJ, Spriggins AJ. *Gemella haemolysans* Infection in Total Hip Arthroplasty. Case Rep Orthop. 2012;2012:691703. DOI: 10.1155/2012/691703
11. Gioffrè G, Denaro L, Volpin F, d'Avella D. Chronic sinus disease and epidural abscess: *Gemella morbillorum* as emerging cause of central nervous system infections. Acta Neurochir (Wien). 2012; 154: 2123-5. DOI: 10.1007/s00701-012-1489-8
12. Villegas E, Valldeoriola F, de Otero J, Ferrer L, Oms B, Vila L, et al. Meningitis by *Gemella morbillorum* with associated pituitary apoplexy: a case report. Eur J Intern Med. 2008;19(8):e101-2. DOI: 10.1016/j.ejim.2008.07.003
13. Benedetti P, Russi M, Branscombe M, Sefton A, Pellizzer G. *Gemella morbillorum*: an underestimated aetiology of central nervous system infection? J Med Microbiol. 2009 ;58(Pt 12):1652-6. DOI: 10.1099/jmm.0.013367-0

14. Anil M, Ozkalay N, Helvacı M, Agus N, Guler O, Dikerler A, et al. Meningitis due to *Gemella haemolysans* in a pediatric case. J Clin Microbiol. 2007;45(7):2337-9. DOI: 10.1128/JCM.00208-07
15. Yamakawa H, Hayashi M, Tanaka K, Kuwano K. Empyema due to *Gemella morbillorum* is Diagnosed by 16S Ribosomal RNA Gene Sequencing and a Phylogenetic Tree Analysis: A Case Report and Literature Review. Intern Med. 2015; 54: 2231-4. DOI: 10.2169/internalmedicine.54.4950
16. Pumarola T. Influence of new technologies in modern microbiology. Enferm Infect Microbiol Clin. 2010; 28 Suppl 3:59-62. DOI: 10.1016/S0213-005X(10)70021-5

## Carta al Director

Jerónimo Jaqueti-Aroca  
Laura Molina-Esteban  
Alicia Limón-Yelmo  
Isabel García-Arata

# Sensibilidad en enterobacterias uropatógenas productoras de BLEE versus no productoras, en pacientes pareados por edad, sexo y situación de ingreso hospitalario

Área de Microbiología, Laboratorio Clínico, Hospital Universitario de Fuenlabrada. Madrid.

### Article history

Received: 29 May 2017; Revision Requested: 7 July 2017; Revision Received: 26 July 2017; Accepted: 4 September 2017

Sr. Editor: Las bacterias que producen betalactamasas de espectro extendido (BLEE) presentan resistencia frente a cefalosporinas y aztreonam, siendo sensibles frente a cefamecinas y carbapenémicos. Además, esta resistencia se asocia más frecuentemente a resistencia frente a otros antimicrobianos [1].

La producción de BLEE es más frecuente en pacientes mayores [1], y se debe tener en cuenta que la sensibilidad frente a antimicrobianos puede variar en función de diversos factores, como la edad [1-4], el sexo [3-5] y la hospitalización de los pacientes [6]; principalmente frente a quinolonas, pero también frente a otros antimicrobianos [4,5,7].

Se ha realizado un estudio retrospectivo para comparar los patrones de sensibilidad de *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. productoras de BLEE y no productoras en urocultivos de nuestro hospital desde Julio de 2013 a Junio de 2015, en pacientes pareados por situación de ingreso hospitalario, sexo y edad, por este orden. Si no existía un paciente con aislamiento no productor de la misma edad, se eligió el inmediatamente anterior o posterior que cumplía las otras dos condiciones.

A efectos del estudio, se han considerado cepas diferentes cuando transcurrió más de un mes entre aislamientos.

La identificación y el antibiograma se realizaron mediante MICROSCAN WalkAway 96 Plus (Siemens Diagnostics) y MALDI-TOF (Bruker). La sensibilidad se interpretó según criterios del *Clinical and Laboratory Standards Institute* [8]. La producción de BLEE se determinó comparando las CMI de ceftazidima y cefotaxima frente a ceftazidima-clavulánico y cefotaxima-clavulánico, considerándose positiva cuando existe una disminución de 3 ó más diluciones en la CMI del antimicrobiano + ácido clavulánico con respecto a la del

antimicrobiano solo.

Se ha comparado la sensibilidad frente a gentamicina, tobramicina, amikacina, ciprofloxacino, levofloxacino, fosfomicina, nitrofurantoína y cotrimoxazol, mediante la prueba de la  $\chi^2$ .

Se aislaron 174 *E. coli* y 175 *Klebsiella* spp. Los pacientes con *E. coli* tenían una mediana de edad de 76 años (límites: 0,75 y 99 años), 73 (42%) estaban hospitalizados y 132 (75,9%) eran mujeres. En los pacientes con *Klebsiella*, la mediana de edad era de 80 años (límites: 15 y 97), 99 (56,6%) eran mujeres y 104 (59,4%) estaban hospitalizados. La sensibilidad antimicrobiana se describe en la tabla 1.

Al comparar la sensibilidad de los cuatro grupos en función de la hospitalización de los pacientes, sólo se observan una disminución significativa ( $p<0,05$ ) en *Klebsiella* frente a gentamicina, tanto en cepas productoras de BLEE como en las no productoras.

Los aislamientos fueron más frecuentes en mujeres (66,2%), principalmente en el grupo con *E. coli* (75,9%). El grupo con *Klebsiella* presentó una edad un poco más elevada (mediana de 80 versus 76 años). Al igual que han descrito otros autores [9,10], *Klebsiella* productora de BLEE se ha observado más en medio hospitalario que *E. coli*.

Se aprecia un aumento general de la resistencia frente a los antimicrobianos estudiados de las cepas productoras de BLEE versus las no productoras en ambas enterobacterias, lo que dificulta aún más el tratamiento de las infecciones. Las diferencias son significativas en todos los casos excepto en *Klebsiella* frente a amikacina.

Fosfomicina y nitrofurantoína presentan la sensibilidad más elevada en *E. coli* productoras de BLEE. La sensibilidad de nitrofurantoína es similar a las de otros autores [1,9,11], pero la de fosfomicina es algo más baja [1,9], y más parecida a la descrita por Rodríguez-Avial et al [11] en 2011, una fecha más cercana a la de nuestro estudio. Esta disminución podría deberse a un incremento del uso de fosfomicina en pacientes

Correspondencia:  
Jerónimo Jaqueti Aroca.  
Laboratorio Clínico, Hospital Universitario de Fuenlabrada.  
Camiño del Molino, 2. 28942-Madrid  
Tfno.: 91 6006419/21.  
E-mail: jeronimo.jaqueti@salud.madrid.org

Antimicrobiano	<i>Escherichia coli</i>		p	<i>Klebsiella</i>		p
	con BLEE	sin BLEE		con BLEE	sin BLEE	
Gentamicina	66,7	89,7	<0,001	29,7	93,1	<0,001
Tobramicina	48,3	89,6	<0,001	18,8	86,0	<0,001
Amikacina	74,6	96,1	<0,001	84,4	91,7	0,130 <sup>a</sup>
Ciprofloxacino	20,1	71,8	<0,001	5,7	78,0	<0,001
Levofloxacino	20	68,0	<0,001	10,8	80,3	<0,001
Fosfomicina	82,1	98,8	<0,001	54,2	70,9	<0,01
Nitrofurantoína	93	99,4	<0,01	13,9	57,3	<0,001
Cotrimoxazol	39,1	70,7	<0,001	45,1	84,4	<0,001

<sup>a</sup>Sólo en 109 pacientes.

ambulatorios. Las quinolonas se sitúan en torno al 20%, cifra también similar a la de Rodríguez-Avial et al [11], e inferior a las de otros [1,9].

En *Klebsiella* productora de BLEE, sólo fosfomicina y amikacina presentan una sensibilidad por encima del 50%, mientras que la de las quinolonas está por debajo del 11%. Las sensibilidades frente a fosfomicina y ciprofloxacino son mucho más bajas (54,2% frente a 92,8% y 5,7% frente a 64,5%, respectivamente) que las descritas por De Cueto et al [9], aunque las cepas estudiadas en este trabajo proceden de hace unos quince años, y el uso creciente de quinolonas y fosfomicina podría justificar en parte esta disminución.

La sensibilidad frente a cotrimoxazol es inferior al 50% en ambas bacterias, y las cifras son similares a las de los autores citados previamente [1,9,11].

Conviene recordar que las tasas de sensibilidad de las enterobacterias no productoras de BLEE no corresponden al total de las infecciones urinarias causadas por estas enterobacterias, sino a una muestra seleccionada a efectos de comparación con las cepas productoras de BLEE.

En función de nuestros datos, nitrofurantoína y fosfomicina siguen siendo una buena alternativa en los pacientes con *E. coli* productora de BLEE incluso en el tratamiento empírico. En *Klebsiella* productora de BLEE, sólo amikacina presenta una buena sensibilidad, quedando muy restringido el uso de antimicrobianos por vía oral.

## 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

- Andreu A, Planells I, y Grupo Cooperativo Español para el Estudio de la Sensibilidad Antimicrobiana de los Patógenos Urinarios. Etiología de la infección urinaria baja adquirida en la comunidad y resistencia de *Escherichia coli* a los antimicrobianos de primera línea. Estudio nacional multicéntrico. Med Clin (Barc) 2008; 130: 481-6. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18423165>
- Gobernado M, Valdés L, Alós JI, García-Rey C, Dal-Ré R, García-de-Lomas J, and the Spanish Surveillance Group for Urinary Pathogens. Antimicrobial susceptibility of clinical *Escherichia coli* isolates from uncomplicated cystitis in women over a 1-year period in Spain. Rev Esp Quimioter 2007; 20: 68-76. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17530038>
- Alós JI, Serrano MG, Gómez-Garcés JL, Perianes J. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* from community-acquired urinary tract infections in relation to demographic and clinical data. Clin Microbiol Infect 2005; 11: 199-203. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2004.01057.x
- Sanchez GV, Babiker A, Master RN, Luu T, Mathur A, Bordon J. Antibiotic resistance among urinary isolates from female outpatients in the United States in 2003 and 2012. Antimicrob Agents Chemother 2016; 60: 2680-3. DOI: 10.1128/AAC.02897-15
- Linhares I, Raposo T, Rodrigues A, Almeida A. Frequency and antimicrobial resistance patterns of bacteria implicated in community urinary tract infections: a ten-year surveillance study (2000-2009). BMC Infectious Diseases 2013, 13: 19. DOI: 10.1186/1471-2334-13-19
- Cullen IM, Manecksha RP, McCullagh E, Ahmad S, O'Kelly F, Flynn RJ, et al. The changing pattern of antimicrobial resistance within 42,033 *Escherichia coli* isolates from nosocomial, community and urology patient-specific urinary tract infections, Dublin, 1999 - 2009. BJU International 2011; 109: 1198-206. DOI: 10.1111/j.1464-410X.2011.10528.x
- Peixoto de Miranda EJ, Salvador de Oliveira GS, Roque FL, Dos Santos SR, Olmos RD, Lotufo PA. Susceptibility to antibiotics in urinary tract infections in a secondary care setting from 2005-2006 and 2010-2011, in São Paulo, Brazil: data from 11,943 urine cultures. Rev Inst Med Trop São Paulo 2014; 56: 313-24. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25076433>
- CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI M-100-S-22. Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.
- De Cueto M, Hernández JR, López-Cerezo L, Morillo C, Pascual A. Actividad de fosfomicina sobre cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido. Enferm Infec Microbiol Clin 2006; 24: 613-6. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17194386>

10. Díaz MÁ, Hernández JR, Martínez-Martínez L, Rodríguez-Baño J, Pascual Á y Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria (GEIH). *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido en hospitales españoles: segundo estudio multicéntrico ( proyecto GEIH-BLEE 2006). Enferm Infect Microbiol Clin 2009; 27: 503-10. DOI: 10.1016/j.eimc.2008.09.006
11. Rodríguez-Aval C, Rodríguez-Aval I, Hernández E, Picazo JJ. Aumento significativo de la resistencia a fosfomicina en cepas de *Escherichia coli* productoras de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) aisladas de urocultivos (2005-2009-2011). Rev Esp Quimioter 2013; 26: 43-6. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23546462>

## Carta al Director

Helena Gil-Campesino<sup>1</sup>  
Berta Pino-Calm<sup>1</sup>  
Laia Ferré Moragues<sup>2</sup>  
Mónica Rivero Falero<sup>2</sup>  
Julia Alcoba-Flórez<sup>1</sup>

## Parto prematuro y colonización por *Ureaplasma parvum*

<sup>1</sup>Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria, Santa Cruz de Tenerife.

<sup>2</sup>Servicio de Pediatría. Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria, Santa Cruz de Tenerife.

### Article history

Received: 20 June 2017; Revision Requested: 12 December 2017; Revision Received: 15 December 2017; Accepted: 20 December 2017

Sr. Editor: La corioamnionitis es una inflamación de origen infeccioso de las membranas placentarias que puede extenderse al contenido amniótico (líquido amniótico, feto y cordón). En ocasiones da lugar a complicaciones maternas como sepsis, hemorragia post-parto por atonía uterina y endometritis. En el feto se traducen en hemorragia intraventricular, asfixia, muerte perinatal o sepsis neonatal precoz, que pueden generar afectaciones neurológicas a largo plazo [1]. *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma* spp. son bacterias exentas de pared celular exigentes nutricionalmente por lo que requieren medios de cultivo específicos. Ambos forman parte de la flora vaginal normal de personas sexualmente activas [2]. Estas dos especies se han asociado entre otras, a infecciones neonatales como bacteriemia, neumonía congénita, desarrollo de broncodisplasia [3], meningitis y abscesos; aumento de la incidencia en el parto prematuro, enfermedad pélvica inflamatoria y corioamnionitis aunque su papel patógeno no está claro.

Mujer gestante de 24+5 semanas que acude al Hospital por expulsión de líquido amniótico. Sin antecedentes personales de interés. Embarazo controlado con cribaje de *Streptococcus agalactiae* y urinocultivo negativos. A su llegada se encuentra afebril y normotensa. En la exploración física destaca vagina con leucorrea, cérvix cerrado y expulsión de líquido amniótico claro. Ingresó para control de su embarazo iniciándose antibioticoterapia empírica i.v. con ampicilina y gentamicina que se suspende al tercer día al no confirmarse infección. La paciente se mantiene estable hasta la semana 28+4 cuando inicia dinámica uterina persistente a pesar de tocolisis intravenosa. En la analítica destaca leucocitosis de 19.000/mm<sup>3</sup> con 92% neutrófilos, por lo que ante la sospecha

de corioamnionitis se pauta tratamiento con clindamicina y gentamicina e.v.. Tras el parto se recogen muestras de placenta para cultivo microbiológico y se siembran, según protocolo normalizado de trabajo, en los siguientes medios de cultivo: caldo de tioglicolato, agar sangre, MacConkey, chocolate, y en medios selectivos para *S. agalactiae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis* y *Candida* spp. Al no aislarse ningún microorganismo, se aumentó el estudio con la siembra en caldo urea arginina LY 2 y placas de agar A7 (BioMérieux®) para detección de *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma* spp. Además, se realiza una PCR multiplex (Anyplex™ IISTI-7 Detection Segeene®) para detección de microorganismos de transmisión sexual (*Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* y *Mycoplasma genitalium*, *N. gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Ureaplasma parvum* y *Ureaplasma urealyticum*).

*Ureaplasma* spp. se aisló en medio de cultivo y mediante PCR se determinó la especie identificándose *U. parvum*. A las 29 semanas de gestación se produce parto eutóxico. Presenta problemas típicos de la prematuridad como enfermedad de membrana hialina (requiriendo ventilación no invasiva y una dosis de surfactante pulmonar), apneas e ictericia. Con los resultados obtenidos en la placenta, se estudia probable colonización del recién nacido. Se obtiene resultado positivo para *U. parvum* en exudado faríngeo por lo que se inicia tratamiento dirigido con azitromicina i.v. durante 72 horas. La niña presenta buena evolución, y tras 52 días de ingreso se da de alta.

Cada vez existen más estudios que relacionan la corioamnionitis y el parto prematuro con infecciones por *Ureaplasma* spp. y *M. hominis* [4,5]. Ante la sospecha clínica de corioamnionitis con cultivos negativos deberíamos incluir el estudio microbiológico de estos patógenos para descartar el papel de los mismos en la infección. Las técnicas moleculares, a diferencia del cultivo, permiten identificar las especies de *Ureaplasma*, observándose en diversos estudios una alta prevalencia de *U. parvum*, superior a *U. urealyticum* [4]. No debemos olvidar que estos microorganismos pueden formar parte de la flora bacteriana urogenital sin causar clínica. Son

Correspondencia:  
Helena Gil Campesino  
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria, Ctra. del Rosario, 145, 38010, Santa Cruz de Tenerife.  
Tfno.: 922 602 239  
E-mail: helegc@hotmail.com

necesarios estudios que permitan identificar marcadores predictivos de invasividad y patogenicidad de *Ureaplasma* spp. y *Mycoplasma* spp., para diferenciar el papel entre colonización e infección y así prevenir el desarrollo de enfermedades con comorbilidad importante como la broncodisplasia en neonatos. Otro aspecto importante es el tratamiento empírico. Ampicilina más gentamicina es el tratamiento empírico de elección ante una corioamnionitis [6], no siendo efectivo ante una infección por *Ureaplasma* spp. y *Mycoplasma* spp., por lo que deberíamos plantear la inclusión de búsqueda de estos patógenos en los protocolos de trabajo con sospecha de corioamnionitis para poder administrar el tratamiento adecuado lo antes posible.

## 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. Tita, A. and Andrews, W. Diagnosis and Management of Clinical Chorioamnionitis. Clin Perinatol. 2010;37(2):339-54. DOI: 10.1016/j.clp.2010.02.003.
2. Baum, SG. Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum infections. In: UpToDate, Sexton, DJ, Edwards, MS and Bloom, A (Ed), UpToDate, Waltham, MA. 2017. [online] Available at: [https://www.uptodate.com/contents/mycoplasma-hominis-and-ureaplasma-urealyticum-infections?source=search\\_result&search=mycoplasma%20hominis%20ureaplasma&selectedTitle=1~46](https://www.uptodate.com/contents/mycoplasma-hominis-and-ureaplasma-urealyticum-infections?source=search_result&search=mycoplasma%20hominis%20ureaplasma&selectedTitle=1~46) [Accessed 17 Apr. 2017].
3. Sánchez Luna M. Displasia broncopulmonar y azitromicina, ¿una solución o un nuevo problema? Evid Pediatr. 2015;11:32.
4. Cox C, Saxena N, Watt AP, Gannon C, McKenna JP, Fairley DJ, et al. The common vaginal commensal bacterium *Ureaplasma parvum* is associated with chorioamnionitis in extreme preterm labor. J Matern Fetal Neonatal Med. 2016;29(22):3646-51. DOI: 10.3109/14767058.2016.1140734
5. Murtha, A. and Edwards, J. The Role of Mycoplasma and Ureaplasma in Adverse Pregnancy Outcomes. Obstet Gynecol Clin North Am. 2014;41(4):615-27. DOI: 10.1016/j.ogc.2014.08.010
6. Mensa Pueyo, J., Gatell Artigas, J. and García Sánchez, J. Guía de terapéutica antimicrobiana. 2017. 1st ed. Barcelona: Antares.
7. Acosta Boga, B., Codina Grau, M., Matas Andreu, Land Meseguer Peinado, M. Diagnóstico microbiológico de las infecciones por *Mycoplasma* spp. y *Ureaplasma* spp. Procedimientos en Microbiología Clínica. 2011 [online] Available at: <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia40.pdf> [Accessed 16 Jun. 2017].
8. Trujillo Soto T, Arca Suárez J, Tello Nieto S, Broullón Molanes J, Fernández Gutiérrez del Álamo C, Rodríguez Iglesias, M. *Ureaplasma parvum* detectado con igual frecuencia en embarazada con y sin patología presuntamente asociada. Enferm Infect Microbiol Clin 2017; 35(Espec Cong 1):13-439, pp.256-257. [online] Available at: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-sumario-vol-35-num-se1-X0213005X17X42007> [Accessed 16 Jun. 2017].

## Carta al Director

Berenice Nayla Brizzi<sup>1</sup>  
Cesáreo Fernández Alonso<sup>1,2</sup>  
Ángel Nieto Sánchez<sup>3</sup>  
Juan González del Castillo<sup>1,2</sup>

# Osteomielitis vertebral por *Actinomyces*: reporte de un caso

<sup>1</sup>Servicio de Urgencias, Hospital Clínico San Carlos, Madrid.

<sup>2</sup>Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital San Carlos, Madrid.

<sup>3</sup>Medicina Interna, Hospital Clínico San Carlos, Madrid.

### Article history

Received: 14 June 2017; Revision Requested: 4 September 2017; Revision Received: 5 September 2017; Accepted: 6 September 2017

Sr. Editor: El género *Actinomyces* integra bacilos grampospositivos anaerobios no productores de esporas, cuyas colonias conforman estructuras similares a las hifas de los hongos. Suelen ser patógenos oportunistas de la cavidad oral. La actinomicosis es una entidad infrecuente donde el hueso suele afectarse como progresión local desde una infección de partes blandas típicamente en el área maxilofacial, siendo excepcional la afectación vertebral [1]. A continuación presentamos un caso de una osteomielitis lumbar causada por *Actinomyces* spp.

Varón de 66 años indigente, hipertenso y bebedor. Acudió a Urgencias por dolor lumbosacro derecho irradiado a miembro inferior de características mecánicas de semanas de evolución. Estaba afebril, hemodinámicamente estable y a la exploración física destacaba puñopercusión derecha positiva con apofisalgias lumbares y contractura de la musculatura paravertebral derecha. Analíticamente presentaba leucocitosis con neutrofilia y una proteína C reactiva (PCR) de 17 mg/dL. En el urinoanálisis se observó piuria intensa, por lo que se solicitó un urocultivo donde posteriormente se aisló *Escherichia coli* multisensible. El la radiografía de columna lumbosacra practicada presentaba escoliosis lumbar izquierda y cambios degenerativos.

El diagnóstico inicial establecido fue de pielonefritis insaurándose tratamiento analgésico y antibiótico con ceftriaxona y tobramicina. Tras 24 horas de observación en urgencias, debido a la persistencia de dolor refractario a opioides en apófisis lumbares, impotencia funcional y la presencia de tumefacción junto con la aparición de fiebre, se extrajeron hemocultivos y se solicitó una resonancia magnética nuclear urgente donde se objetivó una extensa afectación inflamatoria-infecciosa retroperitoneal de los cuerpos L3-L4 y del disco, sin

colecciones definidas ni compromiso medular que sin embargo no mostraba un comportamiento típico de espondilodiscitis.

Desestimada la intervención quirúrgica urgente se decidió hospitalización e inicio de tratamiento antibiótico empírico con meropenem y daptomicina. De forma programada se realizó biopsia con aguja gruesa en cuyo cultivo se aisló *Actinomyces* spp multisensible. Los hemocultivos resultaron negativos. El paciente presentó buena evolución tras cuatro semanas de tratamiento intravenoso, siendo dado de alta con amoxicilina/clavulánico y seguimiento en consultas externas.

La actinomicosis tiene una incidencia estimada entre 0,3-1 episodios anuales/100.000 habitantes [2]. Se presenta como una infección insidiosa y lentamente progresiva causada por bacterias anaerobias o microaerófilas del género *Actinomyces* que colonizan la boca, el colon y la vagina. Suele afectar a varones (3:1) de edad media, dando lugar generalmente a procesos locales tras la disrupción de la mucosa, siendo las presentaciones más típicas el absceso buocervical, tras una infección dentaria o en relación con bisfosfonatos [3], la actinomicosis pulmonar en fumadores con una pobre higiene dental [4] y la actinomicosis pélvica en mujeres portadoras de DIU prolongado [5]. Sin embargo, existen cuadros descritos en múltiples localizaciones, confundiéndose frecuentemente con neoplasias debido a su comportamiento crónico y capacidad de invasión tisular [1,2].

La presentación osteoarticular extrafacial es muy rara, recogiéndose en la literatura infecciones de huesos largos de origen postraumático, a nivel torácico por progresión local a partir de un foco pulmonar y recientemente a nivel espondiloarticular por diseminación hematogena [6]. La presentación clínica de la espondilodiscitis es habitualmente subaguda, con dolor inflamatorio como síntoma guía, lo que condiciona un gran retraso diagnóstico [7,8]. Solo si la infección se extiende al canal medular puede aparecer dolor radicular o clínica neurológica.

Clásicamente en el estudio de la etiología de la osteo-

Correspondencia:  
Cesáreo Fernández Alonso  
Servicio de Urgencias, Hospital Clínico San Carlos  
Calle Profesor Martín-Lagos s/n, 28040, Madrid, España  
E-mail: cesareo@hotmail.com

mielitis vertebral se distinguen procesos piógenos, donde el microorganismo más frecuentemente responsable es *Staphylococcus aureus* seguido por bacilos gramnegativos y estreptococos, y no piógenos, debiendo considerar brucelosis y tuberculosis principalmente. La forma de diseminación más frecuente es la hematógena, por lo que ante la sospecha deben obtenerse hemocultivos, reservando la biopsia para cuando estos sean negativos. La prueba de imagen de elección es la resonancia, muy sensible y específica.

La identificación microscópica de los característicos gránulos de azufre en la muestra confirma el diagnóstico de actinomicosis, si bien el aislamiento del microorganismo sólo se consigue en una minoría de los casos, generalmente debido a la administración previa de antibióticos o al procesamiento inadecuado. La muestra debe ser obtenida del pus o por biopsia, transportarse y cultivarse en medios enriquecidos para anaerobios, sabiendo que el crecimiento es lento y puede necesitar incubación de hasta 15-20 días [5]. La tinción de gram es más sensible que el cultivo, demostrando microorganismos baciliformes grampositivos filamentosos con cuentas.

La actinomicosis suele presentar una evolución favorable con tratamiento antibiótico, reservando la cirugía para el manejo de las complicaciones locales. Dada la extremada sensibilidad de *Actinomyces* spp a betalactámicos, se consideran de elección penicilina G o amoxicilina, siendo también eficaces por su amplia experiencia clínica eritromicina, tetraciclina o clindamicina. Conviene destacar que no se recomienda el uso de metronidazol o aminoglucósidos dado que no presentan actividad *in vitro* frente al microorganismo [4]. En cuanto a la duración del tratamiento, en caso de infecciones graves o enfermedad voluminosa se recomienda tratamiento intravenoso a dosis máximas de dos a seis semanas y continuación oral de seis a 12 meses. En estos casos se podrá valorar terapia secuencial según criterios de estabilidad clínica habituales [9,10].

Como conclusión, la actinomicosis es una entidad rara donde además de las formas de presentación típicas, es necesario conocer que existen casos por diseminación hematógena como la osteomielitis vertebral que presentamos. Esta posibilidad etiológica habría que considerarla junto a la brucelosis y tuberculosis en aquellos casos de presentación subagudo-crónica sobre todo si presenta un comportamiento atípico en las pruebas de imagen, siendo necesaria de cara al estudio microbiológico una incubación prolongada en medio para anaerobios. Tras tratamiento antibiótico prolongado presenta un excelente pronóstico.

## 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

- Pizzo K, Arnold C, Wispelwey B. *Actinomyces neuii* causing vertebral osteomyelitis. Am J Med Sci. 2017;353(4):407-410. DOI:10.1016/j.amjms.2016.08.017
- Agustín Cembellín F, Pardo Rojas P, Fernández Souto P. Abscessos hepáticos por actinomicosis. Emergencias 2005;17:228-30. <http://emergencias.portalsemes.org/numeros-anteriores/volumen-17/numero-5/abscesos-hepaticos-por-actinomicosis/>
- Arranz Caso JA, Flores Ballester E, Ngo Pombe S, López Pizarro V, Dominguez-Mompello JL, Restoy Lozano A. Osteonecrosis maxilar asociada a bisfosfonatos e infección por *Actinomyces*. Med Clin (Barc) 2012;139(15):676-680. DOI: 10.1016/j.medcli.2012.05.039
- Ferreiro L, Pérez Del Molino ML, Rábade C, Valdés L. Empieza por *Actinomyces meyeri*. Arch Bronconeumol. 2017;53(5):274-276. DOI: 10.1016/j.arbres.2016.09.016
- Valour F, Sénéchal A, Dupieux C, Karsenty J, Lustig S, Breton P et al. Actinomycosis: etiology, clinical features, diagnosis, treatment, and management. Infect Drug Resist. 2014; 7:183-197. DOI: 10.2147/IDR.S39601
- Valero R, Rodrigo E, Ruiz JC, González-Cotorruelo J, Lastra P, López-Rasines G et al. Diverticulitis abscesificante por *Actinomyces israelii* en un transplante renal. Nefrología. 2007;27(4):511-513. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17944591>
- Guillén Astete CA, Boteanu A, Luque Alarcón M, Carballo Cardona C, Roldán Moll F, Fernández Pérez C. Demanda asistencial urgente en pacientes con fracturas vertebrales en función de la administración de buprenorfina transdérmica u otros tratamientos analgésicos. Emergencias. 2016;28:97-102. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29105430>
- Fernández Alonso C, Romero Pareja R, Rivas García A, Jiménez Gallego R, Majo Carbajo J, Aguilar Mulet JM. Proyecto FIDUR: pacientes hiperfrecuentadores fidelizados en servicios de urgencias hospitalarios. Emergencias. 2016;28:16-20. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29094821>
- Ruiz-Campuzano M, García-Vázquez E, Hernández-Roca JJ, Gómez-Gómez J, Canteras-Jordana M, Mené-Fenor E, et al. Design and implementation of an outpatient antimicrobial therapy program in primary care; the experience at a second level hospital. Rev Esp Quimioter. 2017;30:19-27. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27898208>
- Gómez J, Bonillo C, Navarro LH, Hernández A, García Vázquez E. Strategies to optimize the use of antibiotics in hospitals. Rev Esp Quimioter. 2017;30:169-176. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28276228>

## Carta al Director

Fátima Abreu-Salinas<sup>1</sup>  
Cristian Castelló-Abietar<sup>1</sup>  
Elena Ameijide Sanluis<sup>2</sup>  
Jonathan Fernández-Suárez<sup>1</sup>

# *Capnocytophaga canimorsus* como causa de sepsis y meningitis en paciente inmunodeprimido

<sup>1</sup>Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Central de Asturias.

<sup>2</sup>Servicio de Neurología. Hospital Universitario Central de Asturias.

### Article history

Received: 14 June 2017; Accepted: 10 October 2017

Sr. Editor: El género *Capnocytophaga* se designó por primera vez en 1979 por Leadbetter et al. [1] tras aislar un bacilo gramnegativo (BGN). Actualmente consta de 9 especies; 7 de ellas (*C. gingivalis*, *C. granulosa*, *C. haemolytica*, *C. leadbitteri*, *C. ochracea*, *C. sputigena* y *Capnocytophaga* genoespecies AHN8471) son flora comensal de la cavidad oral humana, se relacionan con infección periodontal y excepcionalmente causan septicemia en inmunodeprimidos. Otras dos especies, *C. canimorsus* y *C. cynodegmi*, forman parte de la microbiota oral de perros y en menor medida de gatos [2] y, a diferencia de las otras especies, son catalasa y oxidasa positivas.

En contraste con las otras especies, *C. canimorsus* puede causar una amplia variedad de trastornos: abscesos, bacteriemia y, de forma inusual, sepsis fulminante, endocarditis y meningitis. Se transmite mediante mordedura o contacto directo con el animal. Fue aislada por primera vez en 1976 de sangre y líquido cefalorraquídeo de un paciente que había recibido una mordedura de perro [3].

Una mujer de 79 años con antecedente de arteritis de la temporal, en tratamiento con prednisona 60 mg/día, acudió a Urgencias con cefalea, deterioro del nivel de conciencia y dificultad para la marcha, sin fiebre. Al examen físico se encontraba estuporosa, con fotofobia, rigidez nucal y eritema no papuloso que afectaba a extremidades y tronco; no se observaron signos de mordeduras ni arañazos. Se obtuvieron hemocultivos, se realizó una punción lumbar (tras TAC craneal) y se comenzó tratamiento empírico con ceftriaxona, ampicilina y vancomicina.

El LCR mostró glucorraquia de 62 mg/dL (glucemia 137 mg/dL), proteínas 162 mg/dL, 808 leucocitos/ $\mu$ L (neutrófilos: 83 %, linfocitos: 17 %) y lactato elevado (8,5 mmol/L). En la

tinción de Gram se observaron BGNs fusiformes; la muestra se inoculó en agar sangre, agar chocolate y caldo tioglicolato a 37°C en atmósfera con 5% de CO<sub>2</sub>. Se realizó una PCR múltiple (FilmArray® Meningitis/encefalitis) con resultado negativo. El hemograma mostró leucocitosis (17,89x10<sup>3</sup>/ $\mu$ L), neutrofilia (89,7%), procalcitonina 1,07 ng/ml (n=0-0,5) y proteína C reactiva 24,4 mg/dL (n= 0-0,5).

Al 5º día de incubación se aislaron en el LCR, BGNs que se identificaron mediante MALDI-TOF como *C. canimorsus*. Tras 4 días de incubación en los hemocultivos crecieron BGNs con la misma identificación. Mediante posterior secuenciación del gen ARNr 16S en la muestra directa de LCR se confirmó el microorganismo. Se estudió la sensibilidad a antimicrobianos (SensititreTM ANAERO3; Trek Diagnostics Systems), siendo sensible a todos los antimicrobianos testados excepto metronidazol.

Se modificó la terapia antibiótica a meropenem. La evolución fue satisfactoria y, tras 15 días de tratamiento, una nueva punción lumbar mostró la normalización del líquido cefalorraquídeo. Los familiares confirmaron el antecedente de exposición a mordedura de perro. La paciente fue dada de alta. Dos meses después acudió a control, manteniéndose asintomática.

En la literatura anglosajona sólo se han descrito 34 casos de meningitis por *C. canimorsus* [4,5]. En una revisión reciente, van Samkar et al. mencionan 33 casos, de los cuales el 42% eran inmunodeprimidos, el 93% habían tenido contacto con animales y el 76% había sufrido mordeduras de perro.

La posibilidad de infección por *C. canimorsus* se debe considerar ante la presencia de un cuadro infeccioso grave en un paciente que ha sido mordido por un perro y obliga a tomar medidas urgentes, especialmente en individuos esplenectomizados, alcohólicos, cirróticos o en tratamiento inmunosupresor, ya que pueden presentar una evolución rápidamente fatal [6]. La septicemia se asocia a mal pronóstico y alrededor de un 30% de los casos pueden acabar en muerte [7]. El antibiótico de elección es la penicilina, pero debido a la aparición de ce-

Correspondencia:  
Fátima Abreu-Salinas  
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Central de Asturias.  
Av. Roma, s/n C.P. 33011. Oviedo, Principado de Asturias. España.  
Tfno: 985 108000.  
E-mail: fatimabreu2688@gmail.com

<b>Tabla 1</b>	<b>Sensibilidad a los antimicrobianos de la cepa de <i>C. canimorsus</i>.</b>
Antimicrobiano	CMI (mg/L)
Amoxicilina	≤ 0,25
Moxifloxacino	0,5
Piperacilina	≤ 16
Metronidazol	>32
Amoxicilina/clavulánico	≤ 0,25
Piperacilina/tazobactam	≤ 16
Penicilina	0,25
Cefoxitina	≤ 0,5
Imipenem	≤ 0,06
Tetraciclina	4
Cloranfenicol	≤ 2
Clindamicina	≤ 0,5

pas productoras de  $\beta$ -lactamasas y a que las infecciones por mordeduras de animales suelen ser polimicrobianas, se aconseja amoxicilina-clavulánico o cefalosporinas de 3<sup>a</sup> generación. Otros antibióticos, como imipenem, clindamicina y doxiciclina, también han demostrado eficacia clínica [8].

En consecuencia, ante la presencia de sepsis y clínica meníngea en paciente inmunodeprimido, se debe considerar la posibilidad de infección por *C. canimorsus*, para lo que se deberá insistir en la presencia de antecedentes de mordedura de animales. Ante una clínica de meningitis, bioquímica del LCR patológica y métodos moleculares urgentes, como *FilmArray*, negativos, la realización rápida de la secuenciación del gen ARNr 16S representa una herramienta útil que mejora la terapéutica dirigida [9].

## 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

- Leadbetter ER, Holt SC, Socransky SS. *Capnocytophaga*: new genus of gram-negative gliding bacteria. General characteristics, taxonomic considerations and significance. Arch Microbiol 1979;122:9-16. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/518239>
- Brenner DJ, Hollis DG, Fanning JR, Weaver RE. *Capnocytophaga canimorsus* sp. nov. (formerly CDC group DF-2), a cause of septicemia following dog bite, and *C. cynodegmi* sp. nov., a cause of localized wound infection following dog bite. J Clin Microbiol 1989;27:231-235. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2915017/>
- Bobo R, Newton E. A previously undescribed gram-negative bacillus causing septicemia and meningitis. Am J Clin Pathol 1976;65:564-569. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2915017/>
- van Samkar A, Brouwer MC, Schultsz C, van der Ende A, van de Beek D. *Capnocytophaga canimorsus* Meningitis: Three Cases and a Review of the Literature. Zoonoses Public Health 2016;63:442-448. DOI: 10.1111/zph.12248
- Beltramone M, Moreau N, Martinez-Almoyna L. *Capnocytophaga canimorsus*, a rare cause of bacterial meningitis. Rev Neurol (Paris) 2017;173:74-75. DOI: 10.1016/j.neuro.2016.11.005
- Le Moal G, Landron C, Grollier G, Robert R, Buruoa C. Meningitis due to *Capnocytophaga canimorsus* after receipt of a dog bite: case report and review of the literature. Clin Infect Dis 2003;36:e42-46. DOI: 10.1086/345477
- Pers C, Gahrn-Hansen B, Frederiksen W. *Capnocytophaga canimorsus* Septicemia in Denmark, 1982-1995: Review of 39 Cases. Clin Infect Dis 1996;23:71-75. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2915017/>
- Dorronsoro I. Revisión: Género *Capnocytophaga*. Control de calidad de la SEIMC 2001. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/Capno.pdf>
- Beernink TM, Wever PC, Hermans MH, Bartholomeus MGJ. *Capnocytophaga canimorsus* meningitis diagnosed by 16S rRNA PCR. Pract Neurol 2016;16(2):136-138. DOI: 10.1136/practneurol-2015-001166

## Carta al Director

José M<sup>a</sup> Barbero<sup>1,2</sup>  
Alberto Arranz<sup>1,2</sup>  
Ángela Rebollar<sup>1</sup>  
Ana Culebras<sup>1</sup>  
Marta García<sup>1</sup>  
Rosa Agudo<sup>1</sup>  
Laura Pérez<sup>1</sup>  
Eduardo Montero<sup>1</sup>

# Efecto antipseudomónico de los macrólidos. Experiencia en un caso de neumonía nosocomial por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente sin respuesta a antibioterapia

<sup>1</sup>Servicio de Medicina Interna. Hospital Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares, Madrid.

<sup>2</sup>Departamento de Medicina y Especialidades Médicas. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares, Madrid.

### Article history

Received: 13 September 2017; Revision Requested: 31 October 2017; Revision Received: 2 November 2017; Accepted: 10 November 2017

Sr. Editor: *Pseudomonas aeruginosa* es un bacilo gramnegativo caracterizado por provocar diferentes infecciones nosocomiales, gran facilidad para generar resistencia a los antibióticos por diversos mecanismos y una alta capacidad para colonizar la vía aérea en pacientes que presentan daño previo en la misma, por ejemplo en la fibrosis quística, donde es el principal patógeno aislado [1]. Diversos estudios realizados con macrólidos en pacientes con fibrosis quística colonizados por *P. aeruginosa* han demostrado disminuir el número de exacerbaciones de estos pacientes y mejorar la función pulmonar [2]. Se ha especulado con una posible actividad antiinflamatoria de los macrólidos añadida a su acción antibiótica, pero también se ha demostrado su capacidad para actuar sobre diversos mecanismos patogénicos de *P. aeruginosa* [3].

Presentamos el caso de un paciente con una neumonía nosocomial con aislamiento de *P. aeruginosa* multirresistente con fracaso de varios tratamientos antibióticos en el que la utilización de macrólidos tuvo un claro impacto positivo en su evolución. Se trata de un paciente varón de 42 años, que ingresa en nuestro centro por politraumatismo grave tras accidente de motocicleta con traumatismo craneal severo, contusión pulmonar, hemotórax, rotura diafragmática derecha y fracturas múltiples (costales, pélvicas, fémur...). El paciente permanece 2 meses en UCI con múltiples complicaciones cardiovasculares, respiratorias, renales e infecciosas, incluido neumonía asociada a ventilación mecánica. Desde el punto de vista neurológico el paciente presenta una lesión axonal difusa y se mantiene en situación de coma vigil, recibe nutrición por sonda de gastrostomía y mantiene traqueostomía.

En planta de hospitalización desarrolla nuevamente



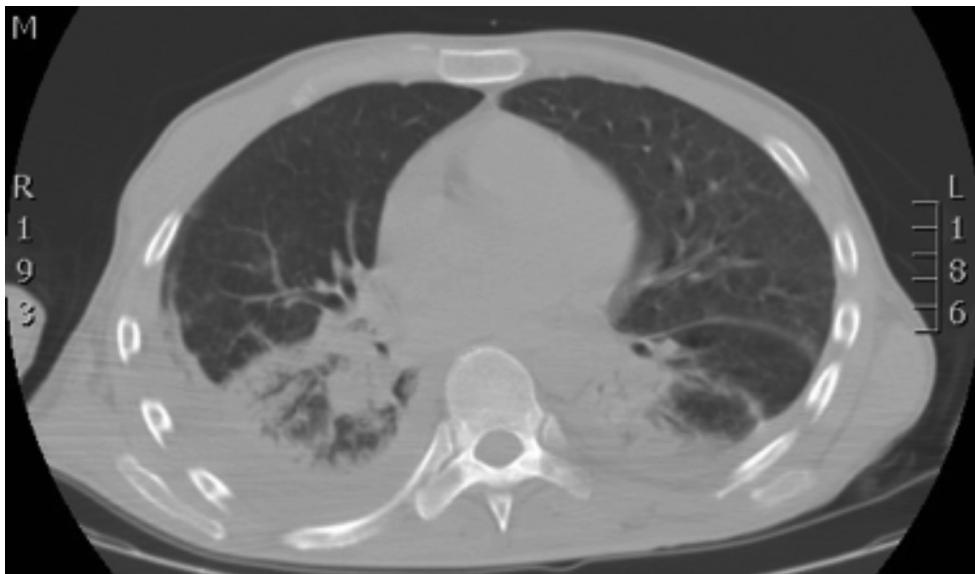
Figura 1

Radiografía de tórax (13/11/2013). Se aprecia infiltrado alveolar en base pulmonar derecha no presente en radiografías previas

fiebre, acompañada de abundante broncorrea a través de traqueostomía que precisa aspiraciones repetidas, y nuevo infiltrado en base pulmonar derecha (figura 1), con aislamiento en esputo de *P. aeruginosa* que se trata con ceftazidima y ciprofloxacino. Sin embargo, se mantienen la fiebre y el infiltrado radiológico, con persistencia de *P. aeruginosa* en los cultivos de esputo y gran broncorrea. Se realiza broncoscopia donde no se aprecian lesiones endobronquiales pero los árboles bronquiales aparecen "inundados" por secreciones mucopurulentas. El paciente recibe varios tratamientos antibióticos combinados de forma sucesiva con carbapenems, ceftazidima en perfusión continua, aminoglucósidos y colistina vía parenteral e inhalada, sin respuesta y con progresión

### Correspondencia:

José M<sup>a</sup> Barbero Allende.  
Hospital Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares (España). Servicio de Medicina Interna.  
C/ Fray Luis de León 5A, 3<sup>o</sup>C, 28012, Madrid.  
Tfno.: 664487902.  
E-mail: j\_m\_barbero@yahoo.es



**Figura 2** TC de tórax donde se aprecian consolidaciones parenquimatosas con broncograma aéreo en ambos lóbulos inferiores, mayor en lado derecho, con derrame pleural asociado.

radiológica de la neumonía que se hace bilateral (figura 2).

Tras 4 meses de tratamiento, sin resultado, finalmente se añade azitromicina 500 mg, 3 veces por semana, a un régimen que incluye imipenem y colistina, a partir de la cual el paciente presenta una lenta pero progresiva mejoría clínica, con desaparición paulatina de la fiebre y resolución casi en su totalidad de los infiltrados pulmonares al cabo de 8 semanas de tratamiento. Sin embargo, posteriormente el paciente presentó nuevas complicaciones infecciosas por otras bacterias nosocomiales (*Achromobacter* spp., *Clostridium difficile*, *Enterococcus faecium* y *S. aureus*) y finalmente falleció, 13 meses después de la salida de la UCI.

Los macrólidos son un grupo de antibióticos que inhiben la síntesis proteica de los ribosomas bacterianos, pero que también han demostrado tener propiedades antiinflamatorias e inmunomoduladoras, pues actúan directamente sobre distintas células del sistema inmunitario, tanto del sistema innato como adquirido [3,4]. Interfieren en la acción tanto de neutrófilos y macrófagos como de linfocitos, disminuyendo su proliferación, quimiotaxis y producción de diversas citoquinas y, además, parece que actúan sobre las células epiteliales de la vía aérea, disminuyendo la producción de moco (los macrólidos bloquean los canales de cloro), al estimular el aclaramiento mucociliar, lo cual explicaría su eficacia en diferentes enfermedades respiratorias, tanto de origen infeccioso como inflamatorio (por ejemplo, el asma, la rinitis crónica o la bronquiolitis obliterante) [3-5]. A concentraciones terapéuticas son bacteriostáticos, pues no lisán la pared celular, por lo que, a diferencia de los antibióticos que sí lo hacen, previene la liberación de moléculas proinflamatorias, lo cual añade otro efecto modulador de la respuesta inmune del huésped, que

puede ser tan dañina como la infección en sí [6]. Además, a dosis sub-inhibitorias son capaces de impedir la síntesis de diferentes factores de virulencia, tanto en bacterias grampositivas como gramnegativas, y este fenómeno ocurre incluso en bacterias que son resistentes a la acción de los macrólidos [7]. Este efecto antitoxigénico podría explicar su eficacia en modelos experimentales de sepsis [8].

Los macrólidos no tienen acción antibacteriana sobre *P. aeruginosa* y su uso no está aprobado en las infecciones causadas por ésta. *P. aeruginosa* es una bacteria oportunista que, entre otras características,

tiene una gran capacidad para colonizar la vía aérea en pacientes con daño previo de la misma, típicamente la fibrosis quística [1-5]. Por el mismo mecanismo, es uno de los principales agentes productores de la neumonía asociada a ventilación mecánica donde provoca una elevada mortalidad<sup>9</sup>. Entre sus numerosos factores de virulencia posee la capacidad de formar biopelículas, polímeros protectores compuestos por cilios, proteínas y exopolisacáridos que lo mantienen aislado del sistema inmunológico y dificultan la acción de los antibióticos. Para su producción, las bacterias desarrollan un sistema de comunicación intercelular a través de una serie de moléculas autoinductoras denominado *quorum sensing*. Se ha demostrado la capacidad de los macrólidos para alterar la producción del *quorum sensing* por las bacterias, incluso a dosis sub-inhibitorias, y con ello la formación del biofilm y otros factores de virulencia, lo cual ejerce un efecto facilitador para la acción de otros antibióticos [10].

Los macrólidos demostraron su eficacia en los años 80 en Japón en una rara entidad pulmonar, la panbronquiolitis difusa, donde *P. aeruginosa* condicionaba un factor crítico en el pronóstico de los enfermos. Ante las numerosas similitudes de esta entidad con la fibrosis quística, en los años 90 se empezaron a utilizar los macrólidos en esta enfermedad y se demostró que disminuían las exacerbaciones y mejoraban la función pulmonar, hasta el punto que sacaba pacientes de la lista de espera de transplante pulmonar, de tal manera que los macrólidos ya se han incorporado plenamente al arsenal terapéutico de esta enfermedad [2,5].

Azitromicina es un macrólido que tiene una gran difusión tisular (particularmente en el pulmón), alcanza muy elevadas concentraciones a nivel intracelular (hasta 800 veces la

concentración sérica) y tiene una farmacocinética con una larga vida media que permite pautas muy cortas de una dosis única diaria en infecciones agudas. Existe una fuerte evidencia de sus propiedades antiinflamatorias (con y sin infección por *P. aeruginosa*) y, a dosis subCMI, de su capacidad para inhibir la producción de factores de virulencia de *P. aeruginosa* interfiriendo en la producción de proteínas de sus ribosomas, incluido el *quorum sensing*, la producción de *biofilm* y el aumento de sensibilidad a la acción de los antibióticos bactericidas por fenómenos de *down regulation* de las bombas de extracción de antibióticos [4].

Azitromicina ha demostrado su utilidad en la panbronquiolitis difusa y la fibrosis quística [2-5]. El caso del paciente presentado tiene muchas similitudes con ambas, como por ejemplo, la muy llamativa broncorea del paciente, probablemente causado por numerosos factores como polineuropatía del paciente crítico, la severa atrofia muscular y la lesión diafragmática derecha postraumática que condicionaban un defecto en el aclaramiento mucociliar.

Es posible que los efectos antibroncorea, antiinflamatorio, antitoxina y antibiofilm, que permiten hacer más sensible a las bacterias a la acción del resto de antibióticos, de azitromicina contribuyeran a la curación de la neumonía, aunque *in vivo* es difícil deslindar qué efecto tiene mayor peso. Sería interesante realizar estudios controlados para valorar si la adición de macrólidos al tratamiento convencional anti-*Pseudomonas* podría mejorar el pronóstico de las infecciones respiratorias causadas por esta.

## 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. Sanders DB, Fink AK. Background and Epidemiology. *Pediatr Clin North Am* 2016;63(4):567-84. PMID 27469176.
2. Saiman L, Marshall BC, Mayer-Hamblett N, Burns JL, Quittner AL, Cibene DA et al; Macrolide Study Group. Azithromycin in patients with cystic fibrosis chronically infected with *Pseudomonas aeruginosa*: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003;290(13):1749-56. PMID 14519709.
3. Steel H, Theron A, Cockeran R, Anderson R, Feldman C. Pathogen- and host-directed anti-inflammatory activities of macrolide antibiotics. *Mediators Inflamm* 2012;2012:584262. PMID 22778497.
4. Imperi F, Leoni L, Visca P. Antivirulence activity of azithromycin in *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Microbiol* 2014;5:178. PMID: 24795709.
5. Amsden GW. Anti-inflammatory effects of macrolides - an underappreciated benefit in the treatment of community-acquired respiratory tract infections and chronic inflammatory pulmonary conditions? *J Antimicrob Chemother* 2005;55(1):10-21. PMID: 15590715.
6. Spreer A, Kerstan H, Böttcher T, Gerber J, Siemer A, Zysk G, et al. Reduced release of pneumolysin by *Streptococcus pneumoniae* in vitro and in vivo after treatment with nonbacteriolytic antibiotics in comparison to ceftriaxone. *Antimicrob Agents Chemother* 47(8):2649-54. PMID: 12878534.
7. Lagrou K, Peetersmans WE, Jorissen M, Verhaegen J, Van Damme J, Van Eldere J. Subinhibitory concentrations of erythromycin reduce pneumococcal adherence to respiratory epithelial cells in vitro. *J Antimicrob Chemother* 2000;46(5):717-23. PMID: 11062190.
8. Giambarellou-Bourboulis EJ, Adamis T, Laoutaris G, Sabracos L, Kousoulas V, Mouktaroudi M, et al. Immunomodulatory clarithromycin treatment of experimental sepsis and acute pyelonephritis caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48(1):93-9. PMID: 14693524.
9. Aloush V, Navon-Venezia S, Seigman-Igra Y, Cabili S, Carmeli Y. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(1):43-8. PMID: 16377665.
10. Tateda K, Standiford TJ, Pechere JC, Yamaguchi K. Regulatory effects of macrolides on bacterial virulence: potential role as quorum-sensing inhibitors. *Curr Pharm Des* 2004;10(25):3055-65. PMID: 15544497.

## Letter to the Editor

Almudena Callejo-Goena  
Itziar Rubio-Etxebarria  
Aintzane Sancho-Gutiérrez  
Josune Azkuna-Sagarduy  
Ane Lopetegi-Aizpurua  
Guillermo López-Vivanco

# Infective endocarditis in a patient with metastatic colorectal cancer

Departamento de Oncología Médica, Hospital Universitario de Cruces, Baracaldo, Vizcaya, España.

### Article history

Received: 8 October 2017; Revision Requested: 12 December 2017; Revision Received: 14 December 2017; Accepted: 19 December 2017

Sir,

Infective endocarditis (IE) is defined as a microbial infection of the endocardial surface, either on native valve (NVE) or prosthetic valve (PVE). It is a rare disease (incidence about 3–10 per 100,000 people) but with greater associated challenges than ever, considering that affected patients are older and have many comorbidities. Despite the classical risk factor for developing an IE (the rheumatic heart disease), other comorbidities, such as degenerative valve disease, diabetes, intravenous drug use or cancer, have also been well defined [1]. There is a decreasing proportion of native NVE, and occurs mainly in patients with no previously known heart disease, in whom degenerative changes are thought to be the predisposing condition. The most frequently affected valve is the mitral valve, involving 50% of the cases, followed by the aortic valve (39%) and the tricuspid valve (19%).

We describe a case of a patient with a history of native prolapsed mitral valve and a concomitant neoplastic process, who presented an IE caused by *Streptococcus gordonii*. We take advantage of this atypical circumstance to make a review of the management of IE.

A 60-year-old man with a history of native prolapsed mitral valve and severe mitral regurgitation was diagnosed with advanced colorectal cancer (hepatic metastases) in January of 2014. Until November of 2015, he received different regimens of chemotherapy, with satisfactory tolerance and quality of life, alternating radiological response with pulmonary and hepatic disease progression.

With a stable and controlled tumoral disease, in February of 2016 he started presenting mild fever (38.5°C), with an initial positive blood culture for *S. gordonii*, but with a negative

transthoracic echocardiography. Nevertheless, because of the persistence of repeated positive blood cultures for the same pathogen, we conducted another transthoracic echocardiography, without evidence of vegetation but showing a major mitral regurgitation.

In April of 2016, he presented dermatological purpuric lesions in lower extremities, another positive blood culture for *S. gordonii*, and fever, so a transesophageal echocardiography was conducted, showing a filiform image compatible with IE (figure 1).

A CT scan taken for evaluating the extension of the tumoral disease showed hepatic and pulmonary progression, the patient remaining absolutely asymptomatic. In a multidisciplinary committee, we decided to conservatively treat the IE with ceftriaxone 4g daily for three months, starting in March 24th. Once we started, the culture bloods became negative, the dermatological lesions disappeared and the patient continued asymptomatic, even being able to make significant physical activity.

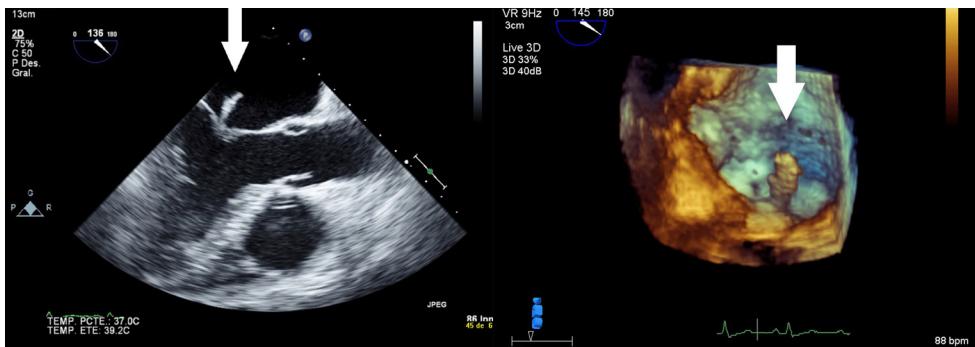
In a next echocardiographic control in July of 2016, the vegetation had disappeared (figure 2), the mitral regurgitation was moderate and the blood cultures remained negative.

Once the resolution of the IE was confirmed, in September of 2016 we started a chemotherapeutic retreatment, which the patient continues at the present moment.

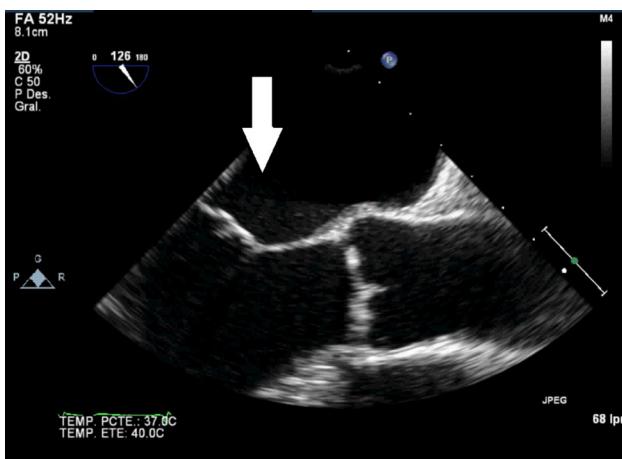
The microbiology of an IE depends on whether it occurs on a native (NVE) or prosthetic (PVE) valve, and whether the disease is hospital or community acquired, being the *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp and *Enterococcus* spp responsible for >80% of all cases. The portal of entry of most pathogens is more often cutaneous than dental. In our case report, the portal of entry was not clarified. In numerous occasions, we tried to obtain blood cultures from the venous central catheter, without success; however, it never showed inflammatory or infectious signs, so we did not remove it.

Regarding the diagnosis of IE, it involves an integration of

Correspondence:  
Almudena Callejo-Goena  
Departamento de Oncología Médica, Hospital Universitario de Cruces Plaza de Cruces, S/N,  
48903 Baracaldo, Vizcaya, España.  
E-mail: almudenacallejo@gmail.com



**Figure 1** Vegetation image (arrows) by transesophageal echocardiography bicommissural and 3-dimensional atrial.



**Figure 2** Transesophageal echocardiography without vegetation.

clinical, laboratory and echocardiographic data. The modified Duke clinical criteria [2] have been shown to be highly specific for ruling out IE in patients with acute fever or fever of unknown origin, being the positive blood culture the cornerstone of microbiological diagnosis and the echocardiography the cornerstone of imaging. Recent guidelines suggest that transesophageal echocardiography is the preferred initial diagnostic test for patients in whom IE is suspected on the basis of clinical criteria, with suspected complicated IE, and with suspected PVE [3]. In our patient, a definite diagnosis was achieved because of the echocardiographic image, the repetitive positive blood cultures for *Streptococcus gordoni*, the deterioration of the mitral regurgitation and the fever.

In terms of treatment of IE, it ranges from medical treatment to surgery. Long-term parenteral bactericidal antibiotics in high concentrations are the main treatment. Indications for and the timing of surgery are still a matter of debate. Decisions on surgical intervention are complex and depend on many clinical and prognostic factors that vary among patients, including infecting organism, vegetation

size, age, non-cardiac and cardiac comorbidities such as the presence of perivalvular infection, embolism or heart failure, as well as available surgical expertise. Therefore, decisions should be determined by a multidisciplinary team with expertise in cardiology, imaging, cardiothoracic surgery, infectious diseases, and, in this case, oncology.

Our patient never showed signs of significant cardiac or neurological events, but our main concern was the deterioration of his mitral valve regurgitation. The main decision was whether to operate early to limit the risk of severe cardiac insufficiency, or, considering the surgical mortality and the comorbidities of patient (presence of an active cancer), to start the management conservatively. Also, the life expectancy of our patient was taken into account. The metastatic colorectal cancer is almost always an incurable disease, but, at the same time, has changed drastically within the last years in terms of prognosis. Nowadays, the median overall survival (OS) for patients with mCRC being treated both in phase III trials and in large observational series is about 30 months (more than double that of 20 years ago), leading to what we could call a "chronic disease" [4]. Hence, why not consider the possibility of a surgery? Considering that our patient remained hemodynamically stable, that he responded quickly and well to the antibiotic therapy and that suffered a slow progressive tumour disease, the course of action was undoubtedly right, as further demonstrated by the subsequent evolution.

Despite the prevention, the noticeable progress in diagnosis and aggressive treatments of IE, its management remains complex, not only because of the optimal therapeutic approach but also because of the patients' comorbidities. Therefore, coordinated and sustained action taken in multidisciplinary teams is necessary to achieve the better approach.

## FUNDING

None to declare

## CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that they have no conflicts of interest

## REFERENCES

1. Cahill TJ, Prendergast BD. Infective Endocarditis. Lancet. 2016; 387:882-93. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26341945>

2. Li JS, Sexton DJ, Mick N et al. Proposed modifications to the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis. *Clin Infect Dis.* 2000; 30: 633-638. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10770721/>
3. Horstkotte D, Follath F, Gutschik F et al. Guidelines on prevention, diagnosis and treatment of infective endocarditis – executive summary. *Eur Heart J.* 2004; 25: 267-276. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC14972429/>
4. Van Cutsem E, Cervantes A, Adam R et al. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol.* 2016; 27:1386-1422. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC27380959/>

## Consensus Document

José Mensa<sup>1</sup>  
José Barberán<sup>2</sup>  
Alex Soriano<sup>1</sup>  
Pedro Llinares<sup>3</sup>  
Francesc Marco<sup>4</sup>  
Rafael Cantón<sup>5</sup>  
German Bou<sup>6</sup>  
Juan González del Castillo<sup>7</sup>  
Emilio Maseda<sup>8</sup>  
José Ramón Azanza<sup>9</sup>  
Juan Pasquau<sup>10</sup>  
Carolina García-Vidal<sup>11</sup>  
José María Reguera<sup>11</sup>  
Dolores Sousa<sup>3</sup>  
Joaquín Gómez<sup>12</sup>  
Miguel Montejo<sup>13</sup>  
Marcio Borges<sup>14</sup>  
Antonio Torres<sup>15</sup>  
Francisco Alvarez-Lerma<sup>16</sup>  
Miguel Salavert<sup>17</sup>  
Rafael Zaragoza<sup>18</sup>  
Antonio Oliver<sup>19</sup>

# Antibiotic selection in the treatment of acute invasive infections by *Pseudomonas aeruginosa*: Guidelines by the Spanish Society of Chemotherapy

<sup>1</sup>Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Clinic, Barcelona, Spain

<sup>2</sup>Servicio de Medicina Enfermedades infecciosas, Hospital Universitario HM Montepíncipe, Universidad San Pablo CEU, Madrid, Spain

<sup>3</sup>Unidad de Enfermedades Infecciosas, Complejo Hospitalario Universitario A Coruña, Spain.

<sup>4</sup>Servicio de Microbiología, Hospital Clinic, Barcelona, Spain

<sup>5</sup>Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Ramón y Cajal and Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), Madrid, Spain

<sup>6</sup>Servicio de Microbiología, Complejo Hospitalario Universitario A Coruña, Spain

<sup>7</sup>Servicio de Urgencias, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, Spain

<sup>8</sup>Servicio de Anestesiología, Hospital Universitario La Paz, Madrid, Spain

<sup>9</sup>Servicio de Farmacología, Clínica Universitaria de Navarra, Pamplona, Spain

<sup>10</sup>Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Virgen de la Nieves, Granada, Spain

<sup>11</sup>Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Carlos Haya, Málaga, Spain

<sup>12</sup>Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, Spain

<sup>13</sup>Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Cruces, Bilbao, Spain

<sup>14</sup>Servicio de Medicina Intensiva, Hospital Son Llátzer, Palma de Mallorca, Spain

<sup>15</sup>Departamento de Neumología, Hospital Clinic, Barcelona, Spain

<sup>16</sup>Servicio de Medicina Intensiva, Hospital del Mar, Barcelona, Spain

<sup>17</sup>Unidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario la Fe, Valencia, Spain

<sup>18</sup>Servicio de Medicina Intensiva, Hospital Universitario Dr. Peset, Valencia, Spain

<sup>19</sup>Servicio de Microbiología, Hospital Universitari Son Espases, Instituto de Investigación Sanitaria Illes Balears (idISBa), Palma de Mallorca, Spain

## ABSTRACT

*Pseudomonas aeruginosa* is characterized by a notable intrinsic resistance to antibiotics, mainly mediated by the expression of inducible chromosomal  $\beta$ -lactamases and the production of constitutive or inducible efflux pumps. Apart from this intrinsic resistance, *P. aeruginosa* possess an extraordinary ability to develop resistance to nearly all available antimicrobials through selection of mutations. The progressive increase in resistance rates in *P. aeruginosa* has led to the emergence of strains which, based on their degree of resistance to common antibiotics, have been defined as multidrug resistant, extended-resistant and panresistant strains. These strains are increasingly disseminated worldwide, progressively complicating the treatment of *P. aeruginosa* infections. In this scenario, the objective of the present guidelines was to review and update published evidence for the treatment of patients with acute, invasive and severe infections caused by *P. aeruginosa*. To this end, mechanisms of intrinsic resistance, factors favoring development of resistance during antibiotic exposure, prevalence of resistance in Spain, classical and recently appeared new antibiotics active against *P. aeruginosa*, pharmacodynamic principles predicting efficacy, clinical experience with monotherapy and combination therapy, and principles for antibiotic treatment were reviewed to elaborate recommendations by the panel of experts for empirical and directed treatment of *P. aeruginosa* invasive infections.

**Key words:** *Pseudomonas aeruginosa*, treatment, guidelines

Correspondence:

José Mensa  
Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Clinic, Barcelona, Spain  
E-mail: jmensa@clinic.cat

## Elección del tratamiento antibiótico en la infección invasiva aguda por *Pseudomonas aeruginosa*: Guía de la Sociedad Española de Quimioterapia

## RESUMEN

*Pseudomonas aeruginosa* se caracteriza por una notable resistencia intrínseca a los antibióticos mediada fundamentalmente por la expresión de  $\beta$ -lactamasas cromosómicas inducibles y la producción constitutiva o inducible de bombas de expulsión. Además de esta resistencia intrínseca, *P. aeruginosa* posee una extraordinaria capacidad para desarrollar resistencia a prácticamente todos los antimicrobianos disponibles a través de la selección de mutaciones. El aumento progresivo de la resistencia en *P. aeruginosa* ha llevado a la aparición de cepas que, de acuerdo con el grado de resistencia frente a los antibióticos habituales, se han definido como multirresistentes, extensamente resistentes y panresistentes. Estas cepas se están diseminando mundialmente, complicando progresivamente el tratamiento de las infecciones por *P. aeruginosa*. En este escenario, el objetivo de las presentes recomendaciones es la revisión y puesta al día de la evidencia publicada para el tratamiento de pacientes con infección aguda, invasiva y grave por *P. aeruginosa*. Con este fin, se han revisado los mecanismos de resistencia intrínseca, factores que favorecen el desarrollo de resistencia durante la exposición a antibióticos, prevalencia de la resistencia en España, antibióticos clásicos así como los de reciente introducción activos frente a *P. aeruginosa*, principios farmacodinámicos predictores de eficacia, experiencia clínica con tratamientos en monoterapia o terapia combinada y principios del tratamiento antibiótico para elaborar por un panel de expertos recomendaciones para el tratamiento empírico o dirigido de infecciones invasivas por *P. aeruginosa*.

**Palabras clave:** *Pseudomonas aeruginosa*, tratamiento, recomendaciones

*Pseudomonas aeruginosa* is not part of normal microbiota in healthy humans [1]. Significant and/or prolonged colonization by *P. aeruginosa* occurs following loss of resistance to colonization due to changes in the composition of normal microbiota as consequence of antibiotic treatment and/or pre-existence of severe disease. Clinical and experimental observations indicate that, in both cases, colonization occurs within the first 3–5 days of exposure to an environment with high exposure pressure, as in hospitals, mainly in Intensive Care Units (ICUs). In the 2016 ENVIN study, *P. aeruginosa* was the second most frequent isolated microorganism, just behind *Escherichia coli*, as cause of nosocomial infections in ICUs, and the third most frequent (after *E. coli* and *Staphylococcus aureus*) in community-acquired infections requiring ICU admission. Mortality of bacteremia by *P. aeruginosa* is 20–39% [2–11], values similar to or greater than those for bacteremia by *S. aureus* and candidemia episodes. In ventilator associated pneumonia (VAP), mortality is even higher, reaching 44% [12,13].

The progressive increase in resistance rates in *P. aeruginosa* has led to the emergence of strains which, based on their degree of resistance to common antibiotics, have been defined as multidrug resistant (MDR), extended-drug-resistant (XDR) and pan-drug-resistant (PDR) strains [14]. However, two new antibiotics active against *P. aeruginosa* have been introduced in the therapeutic armamentarium recently: 1) a new cephalosporin, ceftolozane, associated with tazobactam, active against most of the strains resistant to the remaining  $\beta$ -lactams [15,16], and 2) ceftazidime associated with a new  $\beta$ -lactamase inhibitor, avibactam, able to block AmpC  $\beta$ -lactamases, including those produced by *P. aeruginosa* [17,18]. Selection of the most appropriate antibiotic, dose, and route of administration, as well as potential association with other antibiotics, are critical decisions to obtain optimal clinical efficacy with the lowest risk of resistance increase and development of toxicity.

From the clinical point of view, infections caused by *P. aeruginosa* can be classified as: 1) acute superficial, noninvasive, infections in immunocompetent patients, 2) acute invasive infections in patients with significant comorbidities or immunodepression, and 3) chronic infections. The first group includes the following entities: external otitis (swimmer's ear), perichondritis, queratitis associated with the use of contact lens, hydromassage-associated folliculitis, paronychia (green nail syndrome), palmoplantar hidradenitis, foot bones osteomyelitis (secondary to puncture wounds by objects penetrating sport shoes), and interdigital intertrigo. In all these cases, the infection that follows the exposure to a high *P. aeruginosa* inocula could be self-limited or respond to topical or oral ciprofloxacin treatment, and only exceptionally could pose problems in relation to the presence or development of resistance. The second group includes, among others, bacteremia, nosocomial pneumonia or VAP, endocarditis in parenteral drug users, pacemaker infections, necrotizing enterocolitis in the neutropenic patient, post-surgical meningitis, cerebrospinal fluid shunt infection, necrotizing fasciitis, gangrenous ecthyma, tertiary peritonitis or peritonitis associated with ambulatory peritoneal dialysis, malignant external otitis, central

venous catheter infection, burn wound infection, and urinary tract infection (pyelonephritis or prostatitis) in patients with vesical catheters. In all these circumstances, the severity of the infection and the risk of resistance in the infecting strain and of the empirical treatment resulting inadequate or generating higher degree of resistance, make important the knowledge of criteria guiding most appropriate treatment selection. The objective of the present guidelines is the treatment of this group of patients with acute, invasive, and usually severe infections by *P. aeruginosa*. In the third group, chronic infections are included. Usually, isolates of *P. aeruginosa* from patients with cystic fibrosis produce an extracellular polysaccharide, alginate, conferring mucoid-type colonies. The same phenotype could be observed in bronchial infections in patients with bronchiectasis, advanced COPD (GOLD IV) or panbronchiolitis. These strains are usually less virulent and rarely produce bacteremia or extend beyond the lung. However, growth within biofilms makes difficult its eradication, and in advanced stages it is not possible with current treatments.

The present document does not address the treatment of chronic infections observed in patients with cystic fibrosis or bronchiectasis since it was subject of two recently published consensus [19,20]. We have reviewed the mechanisms of intrinsic and acquired resistance in *P. aeruginosa*, and their prevalence in Spain, to review afterwards the principles of treatment, basis for the further analysis of the main antibiotics with activity against *P. aeruginosa*. Lastly, recommendations for empirical and directed treatments are formulated.

## MECHANISMS OF INTRINSIC RESISTANCE IN *P. aeruginosa* AND RESISTANCE DEVELOPMENT DURING TREATMENT

*P. aeruginosa* is characterized by its notable intrinsic resistance to antibiotics, mainly determined by the expression of inducible chromosomal AmpC  $\beta$ -lactamase and the production of constitutive (MexAB-OprM) or inducible (MexXY) efflux pumps [21]. The expression of inducible AmpC is determinant in the natural resistance of *P. aeruginosa* to most penicillins and cephalosporins [22]. Besides, the constitutive expression of MexAB-OprM contributes to the reduced susceptibility of *P. aeruginosa* to all  $\beta$ -lactams (except imipenem) and fluoroquinolones [23]. In addition, the inducible expression of MexXY has a major role in the lower basal activity and adaptive (inducible) resistance to aminoglycosides in *P. aeruginosa* [24]. Similarly, the inducible expression of operon *arnBCADTEF*, responsible for the addition of a 4-aminoarabinose residual to lipid A of the lipopolysaccharide, is critical for the development of inducible/adaptive resistance to polymyxins [25].

Apart from its notable intrinsic resistance, *P. aeruginosa* possess an extraordinary ability to develop resistance to nearly all available antimicrobials, through the selection of mutations in a complex network of genes implicated in resistance and their regulation [21,26]. This fact has major consequences for the efficacy of treatments for *P. aeruginosa* infections, mainly among critical patients at the ICU or

those with chronic infections where the problem is magnified due to the high frequency of hypermutator strains, which present a spontaneous mutation rate up to 1000 times higher than normal [27]. The rate of spontaneous mutation for development of resistance usually ranges from  $10^{-6}$  (1 mutant per million bacteria) to  $10^{-8}$  (1 mutant per 100 millions) for most antibiotics. Therefore, in those infections linked to high bacterial load (as respiratory infections) the probability of resistance development is elevated for most classical antipseudomonal compounds, even for strains with normal rate of spontaneous mutation (non hypermutator strains). In fact, for most antipseudomonal mutant prevention concentrations (MPCs) [28] are frequently above concentrations achieved by systemic administration; colistin and ceftolozane/tazobactam being among the few exceptions [29]. Table 1 summarizes the characteristics of resistance development for the main antipseudominals, including: a) main mechanisms of resistance developed through exposure to each antibiotic, b) the relatively frequency of spontaneous occurrence, c) the baseline minimal inhibitory concentrations (MICs) and MPCs, and d) development of cross-resistance to other antipseudominals.

The main mechanism of development of resistance to penicillins (ticarcillin, piperacillin, piperacillin-tazobactam) and cephalosporins (ceftazidime and cefepime) active against

*P. aeruginosa*, is the selection of mutants with constitutive hyperproduction (derepression) of inducible AmpC chromosomal cephalosporinase [30]. Although AmpC derepression also increases MIC of ceftolozane-tazobactam, clinical resistance to this new combination requires an additional structural modification of AmpC, thus explaining the lower development of resistance [31]. The new combination of ceftazidime with the  $\beta$ -lactamase inhibitor avibactam, equally preserves activity against AmpC hyperproducer strains [32]. Among the great number of mutational resistance mechanisms stand out the repression or inactivation of the OprD porine which, together with the inducible expression of AmpC, confers resistance to imipenem and reduced susceptibility to meropenem [22]. Frequently, inactivation of OprD also synergically acts with derepression of AmpC, conferring resistance to all available  $\beta$ -lactams except ceftolozane/tazobactam [33] and ceftazidime/avibactam [32]. Finally, the hyperexpression of any of the multiple efflux pumps, mainly MexAB-OprM and MexXY-OprM and to a lesser extent MexEF-OprN and MexCD-OprJ, significantly contributes to the resistance phenotypes [23]. MexAB-OprM is the efflux pump presenting the larger substrate profile. Its constitutive expression plays an important role in intrinsic resistance and its hyperexpression by chromosomal mutations affects all classical  $\beta$ -lactams (except imipenem) and fluoroquinolones. Hyperexpression of MexAB-OprM plus OprD inactivation is one

**Table 1** Activity and frequency of individual and cross-resistance resistance development for the different antipseudominals, according to mechanisms implicated

Antimicrobial <sup>a</sup>	PIP-TZ	CAZ	FEP	TOL-TZ	ATM	IMP	MER	FQ	AMG	COL	FOS	MIC (mg/L)	MPC (mg/L)	Primary R MEC	Secondary R MEC
PIP/TZ	+++	+++	++	-	++	-	+	-/+	-	-	-	2	>32	$\uparrow$ AmpC	$\uparrow$ MexAB
CAZ	+++	+++	++	-/+	++	-	+	-/+	-	-	-	1	>32	$\uparrow$ AmpC	$\uparrow$ MexAB
FEP	++	++	+++	-/+	+++	-	++	+	+	-	-	1	>32	$\uparrow$ MexAB/XY	$\uparrow$ AmpC
TOL/TZ	-/+	+	+	+	-/+	-	-/+	-	-	-	-	0.5	2	$\uparrow$ AmpC+mut AmpC	PBP3
ATM	++	++	+++	-/+	+++	-	++	+	-	-	-	4	>32	$\uparrow$ MexAB/XY	$\uparrow$ AmpC
IMP	-/+	-/+	-/+	-	-/+	+++	++	-/+	-	-	-	1	>32	OprD	MexST ( $\uparrow$ MexEF $\downarrow$ OprD)
MER	+	+	+	-	+	++	++	+	-	-	-	0.5	8	OprD	$\uparrow$ MexAB, PBP3
FQ <sup>b</sup>	+	+	++	-	++	-/+	+	+++	+	-	-	0.12	2	QRDR	$\uparrow$ MexAB/XY/CD/EF
AMG <sup>c</sup>	-	-	+	-	-	-	-	+	++	-	-	1	8	$\uparrow$ MexXY	FusA
COL	-	-	-/+	-	-	-/+	-/+	-/+	-	+	-	0.5	2	<i>pmrAB/phoPO</i>	<i>parRS</i>
FOS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++++	64	>1,024	GlpT	

PIP-TZ: piperacillin-tazobactam; CAZ: ceftazidime; FEP: cefepime; TOL-TZ: ceftolozane-tazobactam; ATM: aztreonam; IMP: imipenem; MER: meropenem; FQ: Fluoroquinolones; AMG: aminoglycosides; COL: colistin; FOS: fosfomycin. MIC: minimum inhibitory concentration. MPC: mutant prevention concentration (concentration preventing selection of resistant mutants). R MEC: resistance mechanism

<sup>a</sup>Frequency of spontaneous development of clinical resistance (EUCAST resistance breakpoints) to antibiotics in columns by exposure to antibiotics in rows. (++++) Extremely elevated resistance development, (+++) Very elevated resistance development, (++) Elevated resistance development, (+) Moderate resistance development, (-/+ Low or improbable resistance development, (-) Non expected resistance development. Data shown in the Table refer to wild-type strains without acquired mechanisms of resistance, using as reference strain PAO1 (28;236; A. Oliver data non published). <sup>b</sup>FQ resistance development: levofloxacin > ciprofloxacin (pumps hyperexpression). Data shown in the Table refer to ciprofloxacin. <sup>c</sup>Resistance development aminoglycosides: gentamicin > amikacin > tobramycin. Data shown in the Table refer to tobramycin.

of the most frequent causes of clinical resistance to meropenem [34]. The expression of inducible MexXY plays an important role in the intrinsic resistance to aminoglycosides, and its mutational hyperexpression in the acquired resistance to ceftazidime. Hyperexpression of MexEF-OprN and MexCD-OprJ is less frequent and mainly affects quinolones. However, mutations (*mexT/mexS*) leading to hyperexpression of MexEF-OprN also confer decreased susceptibility to carbapenems through repression of *oprD*. Quinolone resistance is frequently produced by mutations in topoisomerases including ADN gyrase (*GyrA/GyrB*) and type IV topoisomerases (*ParC/ParE*). Lastly, development of resistance to polymyxins generally implies the modification of lipopolysaccharide mediated by mutations in the two-component systems involving *PmrAB*, *PhoPQ* or *ParRS* [35]. Interactions between all these mutations are complex, but it should be taken into account that in many cases the selection of a first mutation facilitates the subsequent selection of others, frequently resulting in MDR/XDR phenotypes close to panresistance.

## PREVALENCE AND MECHANISMS OF PRIMARY RESISTANCE IN SPAIN

Although there are local important differences that should be analyzed and considered at each institution, table

2 shows the estimated prevalence and resistance mechanisms in *P. aeruginosa* that could be expected in Spanish hospitals. Overall, resistance rates are over 20% for most antipseudomonal antibiotics, including penicillins (piperacillin, piperacillin-tazobactam), cephalosporins (ceftazidime, ceftazidime), monobactams (aztreonam), carbapenems (imipenem, meropenem), fluoroquinolones (ciprofloxacin, levofloxacin) and aminoglycosides (gentamicin and tobramycin). Among the available antipseudomonal antibiotics, only colistin, amikacin and the recently introduced combination ceftolozane-tazobactam exhibit an activity close to 95%. The prevalence of MDR strains is already above 30% worldwide, including Spanish hospitals; approximately half of MDR strains would be also XDR [9]. The increasing prevalence of MDR/XDR phenotypes results from the combination of the extraordinary ability of *P. aeruginosa* to develop resistance against nearly all available antimicrobials through selection of chromosomal mutations, together with the increasing frequency of exogenous resistance determinants, generally localized in integrons codified in transferable genetic elements (plasmids or transposons) [21]. Among these determinants, due to its clinical importance, the genes of  $\beta$ -lactamases with higher hydrolytic profile, class B carbapenemases (metallo- $\beta$ -lactamases, MBLs) and extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs), usually associated with determinants of aminoglycoside resistance should be highlighted [36]. No doubt that intra-hospital dissemination, originating epidemic/endemic situations of MDR/XDR strains, plays an important role in the increasing magnitude of this problem. Even more important if possible is the alarming evidence of epidemic MDR/XDR strains widely disseminated worldwide, the so-called *high-risk clones*, mainly ST111, ST175 and ST235 [37]. A recent Spanish multicenter study (2015) showed that the most prevalent clone was by far ST175, being responsible for 68% cases of XDR *P. aeruginosa* in our country [38]. This study also showed that 20% of XDR strains were carbapenemase-producers (mainly VIM-type MBLs), while in the remaining 80%  $\beta$ -lactam resistance was mediated by chromosomal mutations (*OprD* inactivation + *AmpC* hyperproduction). It should be highlighted that although all XDR strains were resistant to all classical antipseudomonal  $\beta$ -lactams, only those carbapenemase-producing strains were highly resistant ( $MIC > 8 \text{ mg/L}$ ) to ceftolozane-tazobactam. In fact, 68% of XDR strains were susceptible to this combination, although in many cases MICs were close to EUCAST and CLSI breakpoints (4  $\text{mg/L}$ ) [38].

**Table 2** Prevalence and primary resistance mechanisms expected in *P. aeruginosa* in Spain.

Antimicrobials	% I+R (R) <sup>a</sup>	In order of frequency implicated mechanisms of resistance <sup>b</sup>
PIP-TZ	20-30	$\uparrow$ AmpC (++), $\uparrow$ MexAB (+), MBL (+), OXAs and other ESBL (+)
CAZ	20-30	$\uparrow$ AmpC (++), $\uparrow$ MexAB (+), MBL (+), OXAs and other ESBL (+)
FEP	20-30	$\uparrow$ MexAB/XY (++), $\uparrow$ AmpC (++), MBL (+), OXAs and other ESBL (+)
TOL-TZ	1-5	MBL (+), OXAs and other ESBL (+) $\uparrow$ AmpC+mut AmpC (-/+)
ATM	>50 (20-30)	$\uparrow$ MexAB/XY (+++) $\uparrow$ AmpC (++), OXAs and other ESBL (+)
IMP	20-30 (20-30)	OprD (+++), MBL (+)
MER	20-30 (5-20)	OprD (+++), $\uparrow$ MexAB (++), MBL (+)
CIP	30-50	QRDR (+++), $\uparrow$ MexAB/XY (++), $\uparrow$ MexCD/EF (+)
TOB	20-30	Modified enzyme AMG (+) $\uparrow$ MexXY (+)
AMK	5-20 (1-5)	$\uparrow$ MexXY (++), modified enzyme AMG (+)
COL	1-2	<i>pmrAB/phoPQ/parRS</i> (-/+)

PIP-TZ: piperacillin-tazobactam; CAZ: ceftazidime; FEP: ceftazidime; TOL-TZ: ceftolozane-tazobactam; ATM: aztreonam; IMP: imipenem; MER: meropenem; CIP: ciprofloxacin; TOB: tobramycin; AMK: amikacin; COL: colistin

<sup>a</sup>Prevalence of primary resistance expected in Spain, according to 2017 EUCAST breakpoints. When there is an intermediate susceptibility category, prevalence of non-susceptible strains (I+R) is shown and prevalence of resistant strains are in parenthesis. Data estimated using available information from EARS-Net (<https://ecdc.europa.eu/en/about-us/partnerships-and-networks/disease-and-laboratory-networks/ears-net>), multicenter studies (29;33;101;237) and microbiology department in several Spanish hospitals (H. Son Espases, Palma de Mallorca; H. Clinic, Barcelona; H. A Coruña, A Coruña).

<sup>b</sup>Relative frequency of resistance mechanisms: +++ (20-30%), ++ (5-20%), + (1-5%), -/+ (<1%).

## PRINCIPLES FOR THE TREATMENT OF INFECTIONS CAUSED BY *P. aeruginosa*

Principles guiding election of antibiotic treatment, whether empirical or directed treatment, in case of suspected or confirmed *P. aeruginosa* infections, are those also applying to any severe infection, but with some peculiarities as follows:

**1) MIC of main antibiotics active against *P. aeruginosa*.** The breakpoint used to categorize *P. aeruginosa* as resistant to one  $\beta$ -lactam or aminoglycoside is from 2-times (piperacillin-tazobactam, imipenem, tobramycin, gentamicin) to 8-times (ceftazidime, cefepime) higher than the one used to consider resistant an enterobacteria. Against most clinical isolates of *P. aeruginosa* susceptible to  $\beta$ -lactams, the MIC of an antibiotic is usually at or close to its breakpoint value (2-8 mg/L). For this reason, high doses of  $\beta$ -lactams are recommended, even if the strain has been categorized as susceptible in *in vitro* susceptibility tests.

Clinical and/or bacteriological efficacy of  $\beta$ -lactams is related with the time of exposure of the microorganism to the antibiotic or the percentage of time that the free fraction of the antibiotic exceeds the MIC (%  $fT > CMI$ ). In the treatment of infections by Gram-negative bacilli, including *P. aeruginosa*, ceftazidime and cefepime exhibits bactericidal effect (reduction of 2-3  $\log_{10}$  CFU) when serum concentrations exceed the MIC for more than 60% of the dosing interval [39]. Clinical cure, especially in severe infections, has been related with exposure to antibiotic concentrations 4-times higher than the MIC for 100% of the dosing interval [40,41]. In an *in vitro* *P. aeruginosa* growth model, the PK/PD index predicting efficacy for piperacillin-tazobactam was a maintained antibiotic concentration 5-times above the MIC [42]. In another similar study performed with a *P. aeruginosa* inocula of  $10^8$  CFU/mL, the consecution of a  $C_{min}/MIC$  index  $\geq 3.8$  avoided emergence of resistance [43].

Elimination half-lives for most  $\beta$ -lactams are 1-2 hours. After 30-minutes administration of standard doses at 8-hour intervals, serum concentrations decrease below 4-8 mg/L before the 4<sup>th</sup>-6<sup>th</sup> hours from administration, especially in septic patients with a volume of distribution ( $V_d$ ) and renal clearance presumably elevated. For the treatment of severe or high bacterial load infections, produced by microorganisms exhibiting  $MIC \geq 4$  mg/L of the  $\beta$ -lactam, only elevated doses administered by continuous or extended infusion reach free antibiotic concentrations exceeding 4-times the MIC [44-46]. Nevertheless, serum antibiotic concentrations in the first hours (until the steady state is reached) are noticeably lower after continuous infusion than with a 30-min dose administration. Consequences of the delay may be important for critically ill patients or patients with severe immunodepression or severe infection. In these circumstances it is necessary to start antibiotic treatment with an additional loading dose, by bolus infusion, followed by the total daily dose administered as continuous infusion. The initial dose by bolus infusion allows early achievement of an elevated  $C_{max}$ , favoring diffusion of the free fraction of the antibiotic to the infectious foci, on one

side, and on the other, to relatively compensate the increased  $V_d$  and renal clearance in early phases of sepsis.

Several studies performed in patients with *P. aeruginosa* infections analyzed the potential advantages of maintaining serum  $\beta$ -lactam concentrations over MIC values for the maximum possible time through iv continuous or extended infusion administration. In a retrospective study including 87 patients with bacteremia and/or pneumonia by *P. aeruginosa*, the extended infusion of cefepime ( $MIC_{50} = 4$  mg/L) significantly decrease mortality and days in the ICU compared with the standard intermittent administration [47]. In other study, piperacillin-tazobactam was administered as intermittent doses or 4-hour extended infusion in the treatment of 194 patients with infections by *P. aeruginosa* [48]. For the extended infusion, doses were lower than those used for intermittent administration; however, both mortality was lower and mean hospital stay was shorter in the group of patients receiving extended infusion. The difference was significant only in the subgroup of more severe patients (APACHE II  $\geq 17$ ) [48]. In cystic fibrosis patients with acute exacerbations of *P. aeruginosa* infection, extended or continuous infusion of a  $\beta$ -lactam (generally ceftazidime) has shown to be better than intermittent dose administration, with respect to improvement of FEV1, forced vital capacity and extension of exacerbation-free intervals [49]. The potential greater efficacy of continuous infusion has also been shown in Montecarlo simulations with patients treated with meropenem [50] or piperacillin-tazobactam [51] and in one case of carbapenem-resistant *P. aeruginosa* infection well controlled by 12g of meropenem extended infusion [52]. In rabbit models of infectious endocarditis caused by *P. aeruginosa*, maintained ceftazidime concentrations 4-5 times over the MIC provided optimal clinical efficacy [53,54]. *In vitro* models of *P. aeruginosa* infection also indicate that continuous infusion is the most efficient administration for  $\beta$ -lactams [55-57].

In most clinical studies [58-66] but not in all [67-69], continuous or extended infusion of piperacillin-tazobactam, cefepime, ceftazidime or meropenem, for the treatment of infections by Gram-negative bacilli (including *P. aeruginosa*) was more efficacious than intermittent administration with respect to the one or more following parameters: clinical cure rate, microbiological eradication, days with fever, length of ICU or hospital stay and decrease in severity (measured by APACHE II) and/or mortality. Negative or non-conclusive results in some studies might be explained by one or more of these facts: 1) the infecting microorganism was highly susceptible to the antibiotic used (very low MIC) and the antibiotic administration as intermittent doses was enough to maintain a serum concentration over the MIC for most of the dosing interval [67], 2) patients were not critically ill and/or did not suffer a severe infection [69], 3) the dose used for intermittent administration was frequently higher than the dose used for continuous infusion [63,69], 4) a significant number of patients was treated with a concomitant antibiotic (aminoglycoside or fluoroquinolone) [69], and 5) other factors that might have attenuated potential advantages of continuous infusion

were absence of an initial loading dose, lack of consideration of the favorable effect of renal function impairment on the intermittent dosification and the recruitment of an insufficient number of patients to obtain significant differences [70]. The conclusion of three meta-analyses [71-73] including most of the above referred studies, was favorable to the use of extended or continuous infusion with respect to the risk of death. On the contrary, a third meta-analysis [74] including, among others, studies carried out in patients with COPD exacerbations, did not show differences in outcome in relation to ways of antibiotic administration.

A recent study [75] showed that in septic patients attended at the Emergency department, a first-to-second antibiotic dose delay of near 4h (for 6-hour dosing intervals) was seen in >50% patients. The delay in the second dose administration was associated with a significant increase in mortality. Antibiotic continuous infusion can preclude the risk of an eventual prolongation of the dosing interval.

The main determinant for clinical response to an aminoglycoside treatment is the Cmax/MIC value [76]. For the reasons exposed below, the greatest efficacy for a treatment is obtained when Cmax/MIC  $\geq 10$ . For a MIC value for *P. aeruginosa* of 2-4 mg/L of tobramycin and gentamicin, the recommended Cmax is 30-40 mg/L and for amikacin MIC of 8 mg/L, Cmax should be between 60 and 80 mg/L [77]. As later commented, usually these values are not achieved with standard doses.

**2) Importance of the bacterial load in the infectious foci.** In *P. aeruginosa* infectious foci as pneumonia, purulent tracheobronchitis in the intubated patient, secondary peritonitis, neutropenic colitis and skin and soft tissue infections (gangrenous ecthyma, cellulitis in a diabetic foot wound or wound infection in severely burned patients), the bacterial load at antibiotic treatment initiation is usually high ( $\geq 10^7$ - $10^8$  CFU). This bacterial inocula is between 100 and 1000 higher than standard inocula used in *in vitro* susceptibility tests. The intrinsic activity of most antibiotics decreases when bacterial load is high. In the case of  $\beta$ -lactams, this effect could be due to a reduced growth rate and/or expression of different PBPs with reduced affinity to  $\beta$ -lactams in the stationary phase of growth or the increase of  $\beta$ -lactamase concentrations due to bacterial lysis. Piperacillin and piperacillin-tazobactam seems the most affected by the inoculum size followed by ceftazidime, with meropenem in the third place [78]. For  $\beta$ -lactams, time over MIC is the most important factor for low bacterial inocula or very susceptible microorganisms. However, when the microorganism is less susceptible or the inoculum is high, the  $\beta$ -lactam activity shows certain dependence of the antibiotic concentration [40].

The ability of granulocytes to eradicate microorganisms is saturable [79]. In rat models of pneumonia by *P. aeruginosa*, when the bacterial load was close to or higher than  $2.5 \times 10^6$  CFU/g of tissue, the bacteriolytic ability of granulocytes was surpassed and bacterial growth occurred [80,81]. The authors of these studies suggested that in infections with high bacte-

rial load, as VAP, an early and rapid  $\geq 2 \log_{10}$  CFU/mL decrease produced by the antibiotic treatment might decrease bacterial density below the cut-off level of granulocyte activity saturation, allowing an optimal contribution for microorganism eradication.

Another important consequence of the presence of a high bacterial load is the increased risk of selection of resistant mutants.

**3) Mutation ability and development of resistance in *P. aeruginosa*.** Frequency of emergence of resistant mutants within *P. aeruginosa* populations ranges from  $10^{-6}$  to  $10^{-8}$  depending on the antibiotic [82]. In the presence of agents damaging DNA (fluoroquinolones) and in biofilm-embedded bacterial growth, the basal rate of emergence of resistant mutants can be around 100 times increased. These are strains with mutations in genes involved in repair mechanisms of DNA replication errors. These hypermutants strains are usually seen in the mucoid phenotype present in patients with cystic fibrosis and other situations as chronic bronchial infections [83-87].

A bacterial density  $\geq 10^7$ - $10^8$  CFU at treatment initiation involves high risk of selection and amplification of the resistant subpopulation under the selective antibiotic pressure. Measures to counter this risk include: a) reduction of the bacterial load through the control of the infectious foci (drainage, debridement, de-obstruction or removal of catheter or infected foreign body), b) initiation of treatment with associations of antibiotics not sharing the main resistance mechanism [88], and c) use of doses and/or routes of administration able to generate an antibiotic concentration higher than MIC for potential resistant mutants in the infectious foci.

If the *P. aeruginosa* infecting strain is susceptible to the antibiotics used and the dose and the administration schedule are appropriate, after 48-72 hours of treatment, the residual bacterial load in the infectious foci would presumably be lower to the one needed to generate a significant number of resistant mutants, i.e., lower than the inferior limit of the spontaneous mutation rate ( $10^{-6}$ ). From then, the risk of development of resistance in the infectious foci could be considered as negligible and, if there are no other reasons justifying the association (see below), treatment can be continued as monotherapy with the  $\beta$ -lactam chosen based on the antibiogram.

Antibiotics (aminoglycoside, ciprofloxacin or levofloxacin) associated with the  $\beta$ -lactam during the first 48-72 h, among other purposes to avoid selection of resistant mutants, should be administered at doses achieving concentrations over the corresponding MPCs. Although MPCs are unknown and could not be predicted from MIC values, generally for these antibiotics they are from 8 to 12 times higher than the MIC. In any case, the activity of these antibiotics is concentration-dependent and, higher the concentration in the infection foci, higher the bactericidal effect and lower the number of resistant mutants surviving antibiotic exposure. *In vitro* studies carried out with *P. aeruginosa* strains have shown that exposure to high tobramycin concentrations for 1-4 h [89] and to high ciprofloxacin

concentrations along 1 and 10h [90] widely reduce bacterial population without selection/amplification of resistant mutants. However, in both experiments the addition of a second antibiotic was needed to prevent regrowth of the residual bacterial population that remained susceptible.

At the 2<sup>nd</sup>-3<sup>rd</sup> day of treatment, when deescalation to monotherapy is considered, most patients remain colonized by *P. aeruginosa* in mucosa and bronchial secretion (in case of pneumonia, tracheal intubation or previous bronchial pathology), especially if no inhaled antibiotic treatment with tobramycin, colistin or aztreonam had been administered. Persistence of bronchial colonization does not justify by itself prolongation of iv administration of the aminoglycoside more than 3-5 days. Despite reaching a Cmax in serum  $\geq 10$  times the MIC, there is a low probability that the concentration and the activity of the aminoglycoside in bronchial secretion exceeds the MPC, thus hardly precluding development of resistance at the expense of a higher risk of renal toxicity secondary to treatment prolongation. The same concept could be applied to colistin administered by systemic route, but not to ciprofloxacin and levofloxacin with better diffusion to bronchial secretion.

#### 4) Importance of an appropriate empirical treatment.

Studies performed in patients with VAP [13,91] or bacteremia [2-4,8,11,92-94] caused by *P. aeruginosa* showed high mortality rates if the initial empirical antibiotic treatment is not appropriate. Non appropriate antibiotics are those for which the microorganism shows resistance in *in vitro* susceptibility tests. Early administration of an appropriate antibiotic treatment has special relevance when the infection presents clinical or biological severity criteria, the patient suffers important immunodepression or comorbidities or has advanced age. These are particularly frequent clinical situations in patients with *P. aeruginosa* infections [3,95-97]. Given the current high prevalence of *P. aeruginosa* strains resistant to  $\beta$ -lactams, treatment initiation with a  $\beta$ -lactam associated with amikacin, ciprofloxacin or colistin (chosen based on local resistance rates) increases the probability of the appropriateness of the initial empirical schedule, that is, the *P. aeruginosa* strain is at least susceptible to one of the two antibiotics administered [91,93,94,98,99].

#### 5) Value of antibiotic associations.

Usually, the association of a  $\beta$ -lactam and an aminoglycoside shows *in vitro* synergistic activity. However, in clinical practice, the potential synergy of the association does not seem to turn into a tangible improvement of prognosis estimated as survival rate. Most studies carried out in patients with bacteremia [5,92,94,100-104] or VAP [91,105,106] by *P. aeruginosa*, as well as several meta-analyses [98,99,107], did not find significant differences in mortality rates between patients receiving  $\beta$ -lactam monotherapy and those receiving a  $\beta$ -lactam and aminoglycoside association. Nevertheless, there are several aspects raising doubts with respect to the strength of these results. Most studies were retrospective analyses, treatments were not ran-

domized, the most severe patients tended to be treated with antibiotic associations [107] and analyses were not adjusted by possible confounding factors. In a significant number of patients, the origin of bacteremia was an urinary tract infection or venous catheter removal, thus, non-severe infections and low bacterial load. In addition, in the aminoglycoside arm nephrotoxicity masking the benefits of the association could not be ruled out since renal failure is an important prognostic factor in critically ill patients. On the other hand, in other studies, a favorable effect of the association versus monotherapy has been reported in the treatment of bacteremia caused by *P. aeruginosa* [2,108], particularly in neutropenic patients [109-111], in cystic fibrosis exacerbations [112] and in a meta-analysis of studies on bacteremia by Gram-negative bacilli [113]. However, these results are neither conclusive because in the monotherapy arm patients treated with aminoglycosides were often included [110,113]. The efficacy of aminoglycosides is lower than that of  $\beta$ -lactams [92,111] except in urinary tract infections [114].

The results of all these so far published studies on *P. aeruginosa* infections comparing monotherapy of a  $\beta$ -lactam with combinations of  $\beta$ -lactams and aminoglycosides, are at least questionable since the aminoglycoside concentration in serum was never optimized in the first 24-48 hours. This could be a critical issue explaining the apparent lack of *in vivo* synergy and other possible favorable effects of the combination, particularly in the case of *P. aeruginosa* infection for two reasons: the first one in relation to the mechanism of synergy and the second one related to the adaptive resistance phenomenon. At low or intermediate tobramycin concentrations ( $<4$  mg/L) the main mechanism of bacterial lysis is the block of protein synthesis at the ribosome, while at more elevated concentrations ( $\geq 8$  mg/L), the main lytic mechanism is the aminoglycoside interaction with divalent cations stabilizing lipopolysaccharide molecules of the outer membrane. Since aminoglycosides molecules are bigger than  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Mg}^{2+}$  ions, their substitution by the aminoglycoside causes the disruption of the external membrane, with the subsequent increase in permeability [115]. In Gram-negative bacilli, and specially in *P. aeruginosa*, the outer membrane constitutes the main barrier for penetration of many antibiotics. The achievement of a high aminoglycoside concentration in the infectious foci is, probably, an important target if synergistic activity is to be obtained.

The result of *P. aeruginosa* exposure to aminoglycosides is an early and rapid concentration-dependant bacterial lysis followed by a refractory phase characterized by a low and concentration-independant bacterial destruction known as adaptive resistance [24]. This phenotype of partial and transitory resistance is due to the fact that the aminoglycoside, even at subinhibitory concentrations, induces the expression of genes codifying the MexXY efflux pump [116]. A similar phenomenon is observed in anaerobic or hyperosmolar media, at acidic pH and in the presence of elevated concentrations of divalent ions ( $\text{Ca}^{2+}$  or  $\text{Mg}^{2+}$ ) [117]. This effect is more pronounced against *P. aeruginosa*. Several of these conditions are present in urine and bronchial secretion. Adaptive resistance justifies, among

others, the administration of aminoglycosides as single daily doses. If after the first aminoglycoside dose, a Cmax approximately 10 times the MIC is not reached, the intrinsic bactericidal activity of the antibiotic is lower than optimal, not surpassing the MPC and reduces the possibility and/or the degree of  $\beta$ -lactam synergy. This decrease in efficacy precisely occurs during the first 24–48 hours of treatment, when there is a need for a rapid elimination of the high bacterial load and for countering selection of resistant mutants, this justifying the  $\beta$ -lactam and aminoglycoside association. Clinical experience supports the importance of optimizing the aminoglycoside PK/PD parameters from the beginning. A published study [118] analyzed outcome in 78 patients with pneumonia treated with antibiotic regimens including aminoglycosides with the aim of determining if optimization of PK/PD parameters result in more rapid therapeutic responses (defined as days until fever and leukocytosis resolution). The logistic regression analysis predicted 90% probability of fever and leukocytosis resolution after 7 days if during the first 48h treatment with the aminoglycoside a Cmax/MIC >10 ratio was reached [118]. In another study including 38 patients with bacteremia by *P. aeruginosa*, the probability of clinical cure was  $\geq 90\%$  when the Cmax/MIC ratio was at least 8 [119].

Until mid 90's, aminoglycosides (gentamicin, netilmicin and tobramycin) were used at doses of 3 to 5 mg/kg/day with bid or tid schedules. These regimens reached a Cmax of approximately 5 mg/L from day 2-3 on [106,120,121]. The potential effects on outcome when aminoglycosides are administered at suboptimal doses are hardly favorable in infections by *P. aeruginosa* (tobramycin MIC are usually 2 mg/L). From 1990's on, schedules progressively changed to single daily doses of 5-7 mg/kg/day (gentamicin and tobramycin) and of 15-20 mg/kg/day for amikacin [122]. Nevertheless, even with these doses, often Cmax continues to be suboptimal (especially for the treatment of *P. aeruginosa* infections) due to the elevated  $V_d$  and/or increase of renal clearance normally present in patients with severe sepsis or septic shock, mechanical ventilation, neutropenia, polytraumatism, severely burn, cystic fibrosis or morbid obesity (if doses are calculated for the lean body mass) [123-126]. In an ICU study, septic patients were treated with a mean gentamicin dose of  $6.6 \pm 2.3$  mg/kg and only 1 out of 24 patients (4%) reached the desired Cmax  $\geq 30$  mg/L [127]. In another study carried out in patients with severe sepsis or septic shock treated with an amikacin initial dose of 25 mg/kg, the desired Cmax of at least 60 mg/L was not reached in up to 30% of cases [128]. Other authors have reported similar results [129-133]. In a 2013-14 French study, two years after the implementation of a guideline for aminoglycoside administration [77], 37% prescriptions were not in line with the recommendations [134]. With the aminoglycoside once daily administration the risk of renal toxicity is reduced through the reduction in the time that the proximal tubule is exposed to the antibiotic. Treatment duration for the aminoglycoside in the combined therapy with a  $\beta$ -lactam should be limited to the first 3-5 days [135].

In VAP patients, a low aminoglycoside Cmax might be primarily unfavorable due to its limited diffusion to the alve-

olar space and specially to the bronchial secretion [136-141] and the potential loss of activity in both sites. A reduction in the activity of tobramycin has been observed in the presence of pulmonary surfactant, particularly at low concentrations (0.25-1 x MIC) [142], probably due to its linkage to surfactant phospholipid proteins. In bronchial secretion, aminoglycosides are partially inactivated, mainly if the sputum is purulent, due to the electrostatic binding to mucin polysaccharides and to the DNA, to the presence of divalent cations and to pH  $\leq 7$  [143]. Concentrations up to 25 times higher the MIC of tobramycin are required to achieve bactericidal activity in sputum [144,145].

Even though clinical experience does not permit to firmly rule out the existence of a favorable result when associating a  $\beta$ -lactam and an aminoglycoside, if a benefit exists, it does not imply a significant improvement in the prognosis and it does not justify the risk of the aminoglycoside nephrotoxicity. In most clinical situations, the treatment of choice for a  $\beta$ -lactam susceptible *P. aeruginosa* infection is  $\beta$ -lactam monotherapy except in the following cases: 1) during the first 72 hours if the infection presents criteria of severe sepsis or septic shock, 2) in the neutropenic patient, and 3) in nervous central system (meningitis, abscess) or endovascular (endocarditis) infections. Use of associations including a  $\beta$ -lactam should be considered even for the treatment of infections caused by  $\beta$ -lactam resistant pathogens, especially if the resistance level is moderate (MIC 2-4 times higher than the breakpoint value). In this situation, the potential synergy with the second antibiotic could revert  $\beta$ -lactam non-susceptibility, if succeed in lowering the MIC below the resistance level.

**6) Clinical efficacy of different antibiotics as monotherapy.** Clinical experience evidences that monotherapy with  $\beta$ -lactams shows higher efficacy and/or lower toxicity than monotherapy with aminoglycosides [92,111,114] or colistin [146-148] and similar to monotherapy with a fluoroquinolone (ciprofloxacin) [149-151] in the treatment of gramnegative infections, including those by *P. aeruginosa*. However, in some infection sites, as in external malignant otitis, prostatitis, or cystic fibrosis bronchial infections, the use of ciprofloxacin may have advantages over a  $\beta$ -lactam, based on the possibility of oral administration, better penetration in the infectious foci and the probable greater activity in biofilms.

**7) Measures to increase antibiotic concentrations in the infectious foci.** As mentioned in points 1 and 2, to optimize the PK/PD index and to avoid selection/amplification of resistant subpopulations, high (aminoglycosides, fluoroquinolones) and maintained ( $\beta$ -lactams) antibiotic concentrations are required in the infectious foci. Nevertheless, in certain infection sites (as in pneumonia in the intubated patient, ventriculitis, meningitis), even with the maximum tolerated dose, MPCs are not exceeded or the associated toxicity is unacceptably high. In these cases, the possibility of directly introducing the antibiotic into the infectious foci using

**Table 3****Recommendations for antibiotic treatment of acute invasive infection produced by *P. aeruginosa***

1. Consider surgical control of the foci (drainage, debridement) and removal of any infected foreign body (catheter u others).
2. Include a -lactam with activity against *P. aeruginosa*.
3. Choose the -lactam having: a) the highest probability to achieve the optimal value of the adequate pharmacokinetic/pharmacodynamic index, and b) the lowest risk of selection/amplification of the resistant subpopulation.
4. For empirical treatment schedules, consider possible antibiotics associations during the first 48-72 h, in order to: rapidly decrease the bacterial population, avoid selection of resistant mutants (or resistant subpopulations in heteroresistant strains) and to increase the probability of the strain to be susceptible at least to one of the two antibiotics.
5. For directed treatment schedules, consider possible antibiotics associations if the infection presents criteria for severe sepsis or septic shock, in central nervous system infections, in endocarditis, in case of neutropenia ( $< 500/\text{cells/mm}^3$ ) and when *P. aeruginosa* is resistant to -lactams.
6. Whatever antibiotic is chosen, it is essential to optimize the dose, route and way of administration. Consider the use of the inhalatory route in case of a severe respiratory tract infection or caused by a multidrug resistant strain.

the inhalatory, intrathecal or other routes (depending on the infection site) should be considered. Antibiotic administration by the inhalatory route allows concentrations in bronchial mucous and the epithelial lining fluid around 100 times higher than those obtained with the same dose by iv route. This result in a higher probability of bacteriological eradication, even for microorganisms considered as resistant in *in vitro* susceptibility tests together with a reduction in the risk of selection and growth of the resistant population.

The review of clinical experience on the treatment of *P. aeruginosa* respiratory infections using inhaled antibiotics surpasses the extension limit of the present document. In chronic respiratory infections by *P. aeruginosa* in cystic fibrosis patients, inhaled tobramycin, colistin or aztreonam are considered treatments of choice, from the first exacerbation by *P. aeruginosa*, even in case of strains susceptible to  $\beta$ -lactams [19,152]. Studies performed in VAP patients [153-164], and several meta-analyses on VAP [165-167] or bronchiectasis infections [168], indicate that the addition of inhaled antibiotics improves clinical success and bacteriological eradication, especially when causal microorganisms harbour resistance mechanisms. In a study on patients with VAP by *P. aeruginosa*, the administration of inhaled antibiotics was compared with the administration of the same compounds by iv route, randomly assigning patients to receive ceftazidime and amikacin as treatments [169]. In the inhaled treatment arm, several patients were infected by strains exhibiting intermediate resistance to the antibiotics used, while in the iv treatment arm, in case of intermediate resistance to amikacin, this drug was changed to ciprofloxacin. No statistically significant differences in clinical outcome were observed. Resistances only emerged in the iv treatment arm [169]. In the respiratory infection by *P. aeruginosa*, if the infection presents severity

criteria, the radiologic image is extensive or shows cavitations, or the isolated strain is multidrug resistant, inhaled treatment administration of tobramycin, colistin or aztreonam through a vibrating-membrane nebulizer should be considered. Presence of severe hypoxia ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 200$ ) might contraindicate the use of inhalatory route.

Table 3 shows main recommendations in relation to antibiotic treatment for acute invasive infections by *P. aeruginosa*.

### **ANTIBIOTICS ACTIVE AGAINST *P. aeruginosa***

$\beta$ -lactams. Nowadays, in most Spanish hospitals resistance rates in *P. aeruginosa* to piperacillin-tazobactam, ceftazidime, cefepime, aztreonam, imipenem or meropenem are  $\geq 20\%$  (table 2). Ceftolozane-tazobactam is active against nearly 95% isolates and the ceftazidime-avibactam

association restores ceftazidime susceptibility in nearly 80% resistant strains. With the exception of imipenem, poorly stable at room temperature, all other  $\beta$ -lactams active against *P. aeruginosa* should be administered at high doses and using extended or continuous infusion after an initial loading dose. This recommendation is based on: their time-dependant bactericidal activity, the possible inoculum effect of a high bacterial load (present at treatment initiation), the need for optimization of the PK/PD parameter for the high MIC against *P. aeruginosa*, the increase in  $V_d$  and/or renal clearance [170] and the need to exceed the MPC. In relation to the latter, table 1 shows MPC values for different  $\beta$ -lactams against a *P. aeruginosa* strains not harboring additional resistance determinants. Several studies have reported for ceftazidime and meropenem values similar to those shown in table 1 [171-173]. With a MPC value  $> 32 \text{ mg/L}$  of ceftazidime, cefepime, aztreonam, piperacillin-tazobactam and imipenem, the probability that concentrations of these antibiotics in serum are within the mutant selection window is very high, even when administered at maximum doses by extended/continuous infusion. The risk is especially high if the infection involves a bacterial load equal to or higher than the spontaneous mutation rate ( $10^{-6}\text{-}10^{-8} \text{ CFU}$ ). The risk is moderate for meropenem (MPC of 8 mg/L) administered at 6 g daily dose by extended infusion, and very low for ceftolozane-tazobactam (MPC of 2 mg/L) at 1.5-3 g dose by 3-4 hours infusion every 8 hours. In an *in vitro* study using one wild-type and one hypermutant *P. aeruginosa* strains exposed to ceftazidime, meropenem and ceftolozane-tazobactam, high-level resistance first to ceftazidime and after to meropenem was rapidly developed in both strains [31]. None of the selected mutants showed cross-resistance with ceftolozane-tazobactam. Development of resistance to ceftolozane-tazobactam was slower and only was of high-level in the hypermutant strain [31]. Other studies have confirmed the

greater ability of ceftazidime versus meropenem in selecting *P. aeruginosa* resistant mutants both from wild-type and hyper-mutant strains [174].

In clinical practice, most isolates of *P. aeruginosa* harbors one or more resistance mechanisms and MPC values are higher than those for fully susceptible strains. In these cases, failure and/or resistance development may occur with meropenem and, eventually, with ceftolozane-tazobactam monotherapies, even at high doses.

The main side effect with the use of a  $\beta$ -lactam high dose is neurotoxicity produced by inhibition of GABA-GABA<sub>A</sub> receptors binding, characterized by a slow and progressive appearance of somnolence, confusion, disorientation, agitation, myoclonus, asterixis, seizures, non-convulsive epileptic status and coma. The electroencephalogram shows a diffuse slow wave activity with triphasic waves, suggestive of toxic encephalopathy. Neurotoxicity is more frequent with cefepime, followed by ceftazidime, cefazoline and the remaining  $\beta$ -lactams. Patients with pathologies involving the central nervous system, with renal impairment and advanced age are especially vulnerable [175,176]. Some authors consider that steady state concentrations should not exceed the 100 mg/L threshold to avoid neurological toxicity with piperacillin, aztreonam or ceftazidime [177,178].

Piperacillin-tazobactam has been identified as a factor responsible for the delay in renal function restoration in the critically ill patient [179].

The review of the resistance mechanisms to different  $\beta$ -lactams in table 1 shows that ceftazidime and piperacillin share the same primary resistance mechanism, as well as occurs for cefepime and aztreonam and for meropenem and imipenem. Resistance to any of these antibiotics makes probable (but not certain) the resistance to its couple [180].

High number of *in vitro* studies on the association of two  $\beta$ -lactams or one  $\beta$ -lactam with other antibiotics, mainly aminoglycosides and fluoroquinolones, has been published. Chromosomal cephalosporinases (AmpC) of the species *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia* and *Pseudomonas* hydrolyze aztreonam, but the half-life of this reaction is long enough to maintain the enzyme inactivated along several generations of bacterial growth. In this way aztreonam can protect ceftazidime, and specially cefepime, from hydrolysis by AmpC in *P. aeruginosa* strains resistant by derepressed production of the enzyme [181-185]. The benefit is higher in the case of cefepime due to its more rapid cross of the external bacterial membrane. However, clinical experience is limited to a study including 13 patients with infection by *P. aeruginosa* resistant to all  $\beta$ -lactams treated with the association of cefepime plus aztreonam. Outcome was favorable for 69% of cases. Nevertheless, 11 out of 13 patients additionally received an aminoglycoside and 5 inhaled colistin. Aztreonam is resistant to hydrolysis by MBLs. It could be associated with ceftazidime-avibactam for the treatment of infections caused by *P. aeruginosa* strains producing a MBL plus derepressed AmpC. In a *Galleria mellonella* larvae model of *P. aeruginosa* infection, several  $\beta$ -lactam associations (not

including aztreonam) showed *in vivo* synergism, which was bad correlated with *in vitro* interaction results [186]. Another possible synergistic mechanism for  $\beta$ -lactam combinations is the complementarity of PBPs inhibition profiles. In a recently published study [187], the association of cefepime, piperacillin or meropenem with zidebactam, a non-  $\beta$ -lactam PBP2 specific inhibitor, was synergistic against MDR and MBL-producing *P. aeruginosa* strains. However, there are not clinical experience, not even in infection animal models, supporting the potential advantage of the combination of a potent PBP2 inhibitor (carbapenem) with a potent PBP3 inhibitor (ceftazidime, cefepime or aztreonam).

**Aminoglycosides.** Tobramycin is the aminoglycoside showing the highest intrinsic activity against *P. aeruginosa*, being two-times more active than gentamicin and from 3 to 4 times than amikacin. Nevertheless, amikacin is susceptible to inactivation by a lower number of enzymes, thus being active against a higher percentage of *P. aeruginosa* isolates (90-95%) compared to tobramycin (80%).

The concentration-dependent bactericidal activity of aminoglycosides reaches its optimal efficacy in the treatment of *P. aeruginosa* infection when a Cmax/CMI  $\geq 10$  ratio is obtained in the first 24-48 hours of treatment initiation [118,119]. Aminoglycosides, due its hydrophilic nature, are distributed in the interstitial space and really eliminated. The increase in V<sub>d</sub> and in renal clearance, observed in critically ill patients with an important systemic inflammatory response, significantly reduces the aminoglycoside concentration in serum after the first dose. The recommended dose in the first 48-72 h of treatment, in patients with normal renal function and severe *P. aeruginosa* infection, is up to 8 mg/kg for gentamicin or tobramycin and of 20-30 mg/kg for amikacin [77].

The combination of an aminoglycoside and a  $\beta$ -lactam might be *in vitro* synergistic against gramnegative bacilli by means of the increase in the permeability of the external membrane, as previously commented. Another mechanism that could contribute, at least in part, to the synergy is the one observed in AmpC-producing *P. aeruginosa* resistant to cefepime. The addition of tobramycin at 7 mg/kg/day doses suppress protein synthesis, and with that,  $\beta$ -lactamase expression, facilitating the cephalosporin activity [188].

**Fluoroquinolones.** The current resistance rate to ciprofloxacin and levofloxacin in *P. aeruginosa*, in most Spanish hospitals, exceeds 30% (table 2). Ciprofloxacin is intrinsically more active than levofloxacin (MIC 2-4 dilutions lower).

The concentration-dependent bactericidal activity of fluoroquinolones reaches an optimal efficacy with Cmax/MIC  $> 8$ . Nevertheless, the bactericidal effect of fluoroquinolones is slower than that of aminoglycosides and lysis of resistant mutants requires longer exposures. Bacteriological eradication without resistance development has been related with AUC<sub>24h</sub>/MIC  $> 100$  [189,190]. The combination of both indexes minimizes resistance emergence [90]. MPC of ciprofloxacin and levofloxacin is 2 and 8 mg/L, respectively [191]. Diffusion of fluoroquinolones (especially levofloxacin) to cerebrospinal flu-

id, lung parenchyma, bronchial secretion and prostate is superior to that of  $\beta$ -lactams, aminoglycosides and colistin.

In *in vitro* studies carried out with *P. aeruginosa*, the association of levofloxacin and imipenem precluded emergence of resistance, even when strains exhibiting intermediate resistance to one or both antibiotics due to loss of OprD or efflux pumps overexpression were used [192,193]. In several studies, the association of levofloxacin with meropenem had more rapid bactericidal effect and resulted in resistance suppression [194] or meropenem MPC decrease [195], even when the strain was resistant to levofloxacin [196]. Levofloxacin and meropenem are eliminated by MexAB and the overexpression of this pump should affect both. The authors suggest that the  $\beta$ -lactam access to the pump through the periplasmic space could saturate its ability to extract levofloxacin from the cytoplasm [194]. The association of ceftazidime or cefepime with a fluoroquinolone (ciprofloxacin, levofloxacin or moxifloxacin) at 0.5 x MIC concentrations was synergistic for more than 50% *P. aeruginosa* strains [197]. However, in another study, the association of ceftazidime with ciprofloxacin led to emergence of resistance due to overexpression of MexAB [198].

Clinical experience indicates that ciprofloxacin is similar to [151] or better than imipenem [149] in the treatment of severe nosocomial pneumonia. Ciprofloxacin associated to metronidazole was similar to imipenem in intraabdominal infections [199] and equivalent to the association of ceftazidime and amikacin in febrile episodes in neutropenic patients [150]. In a study including 740 patients with VAP, treatment with meropenem monotherapy (1 g every 8 hours) was compared with meropenem associated with ciprofloxacin (400 mg/12 hours), in both cases by iv route. Treatment allocation was randomized. No differences in mortality, days in the ICU or hospital, clinical or microbiological response or emergence of resistance were observed. Nevertheless, in the analysis of the subgroup of 56 patients who had infection due to *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., and multidrug-resistant Gram-negative bacilli, the combined initial treatment was appropriate in 84% patients (versus 18.8%;  $p < 0.001$ ) and the response was favorable for the association in microbiological eradication (64% versus 29.4%;  $p = 0.05$ ) and favorable but non-significant in 28-days clinical resolution rates, days in the ICU and days with mechanical ventilation [200]. In the analysis of a series of 235 episodes of bacteremia by *P. aeruginosa*, definitive treatments with associations including ciprofloxacin showed a significantly lower 30-days mortality if the strain was susceptible. On the contrary, the association with tobramycin did not modify the prognosis [2]. A similar result was reported in another study on patients with bacteremia by gramnegative bacilli and Pittsburgh score <4 [201].

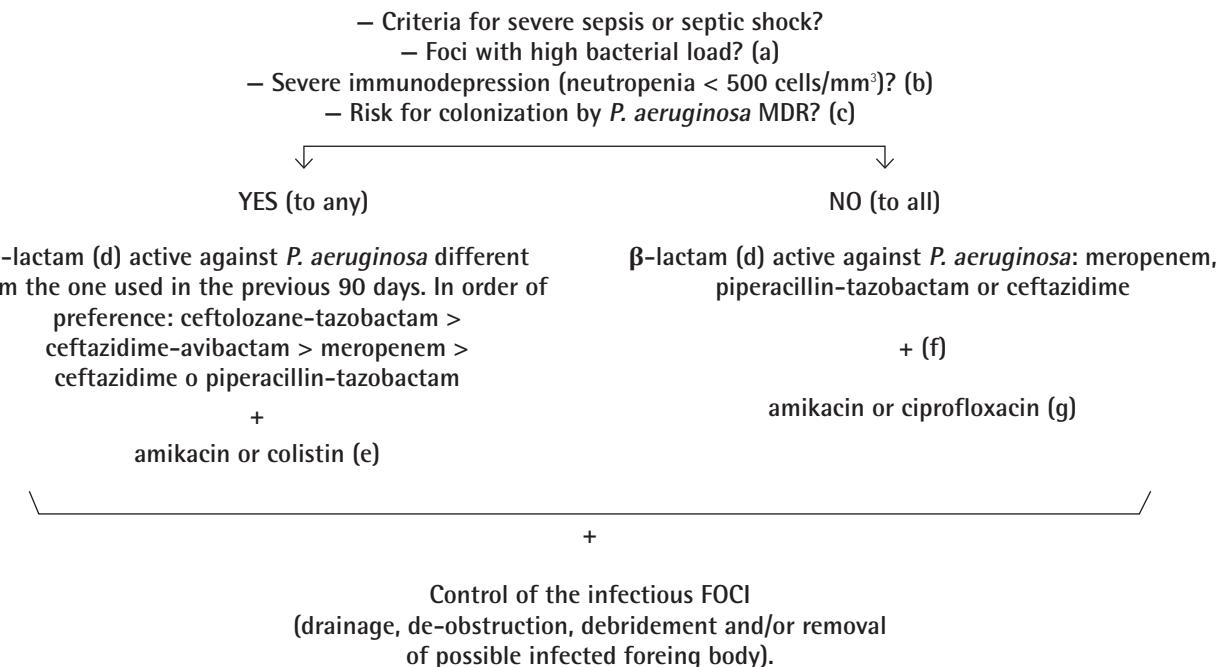
The use of high fluoroquinolone doses, exceptionally might produce confusion, orofacial dyskinesias, myoclonus, psychosis and non-convulsive epileptic status [175] by GABA<sub>A</sub> inhibition or NMDA receptor activation.

**Colistin.** Around 98% *P. aeruginosa* strains are colistin susceptible with MICs of 0.5-1 mg/L (table 2). Colistin Cmax

after standard doses does not exceed 2-3 mg/L. Although its bactericidal activity is concentration-dependent, the therapeutic margin is very narrow and the increase in serum concentrations is not possible due to the risk of renal toxicity. The activity decreases in the presence of high inocula [202,203]. In *P. aeruginosa* rat models of pneumonia, a fAUC<sub>0-24</sub> /MIC of 40 predicted a bacterial reduction  $\geq 2 \log_{10}$  [204]. Some *P. aeruginosa* strains, apparently susceptible to colistin, presented heteroresistance [205] with the MIC of the resistant subpopulation far above the achievable maximum concentration in serum. Colistin should not be used as monotherapy, especially if the MIC is  $> 1$  mg/L, the bacterial load is high or in the case of low accessible foci (lung, CNS). The association with a  $\beta$ -lactam (cefazidime or meropenem), a fluoroquinolone (ciprofloxacin or levofloxacin) or rifampicin can exert synergistic effects [206-211]. It is recommended to start treatment with a 6-9 MU iv loading dose to avoid the delay of 48-72 hours needed to reach the stationary state [212,213], followed by iv 4.5 MU/12 hours. Nevertheless, in a recent study [214] no relation between 28-days mortality and administration of a loading dose followed by high doses (9 MU/day) was observed when compared with the use of lower doses (4-6 MU/day) without loading dose. On the contrary, renal toxicity and appearance of seizures were significantly more frequent with the use of high doses. The most frequently isolated microorganisms were *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae*, and against both, colistin MIC was low (MIC<sub>90</sub> 0.5 mg/L). Thus, probably, an optimal exposure was achieved with both doses [215]. Until more experience in the treatment of infections caused by microorganisms exhibiting MIC  $\geq 2$  mg/L is available, the administration of a loading dose followed by high doses should be considered.

Diffusion of colistin in the alveolar space and the bronchial secretion is limited [216], and its activity significantly decreases in the presence of mucus [217]. As well, concentration in cerebrospinal fluid is only 5% of the serum concentration [218].

**Fosfomycin.** Against nearly 33% *P. aeruginosa* strains, MIC of fosfomycin is  $\leq 64$  mg/L. Its time-dependent bacteriostatic activity is highly influenced by the inoculum size [219]. Heteroresistance is frequent among susceptible strains, and for this reason monotherapy is not recommended. The association with tobramycin [220,221], amikacin [222,223], ciprofloxacin [224,225] and different  $\beta$ -lactams [226-229] is frequently synergistic and decreases emergence of resistance [220-222]. Clinical experience is limited to the treatment of MDR *P. aeruginosa* exacerbations of cystic fibrosis. In the largest published study, 30 exacerbations in 15 patients treated with iv 5 g/8h fosfomycin associated with tobramycin, colistin or a  $\beta$ -lactam were analyzed [230]. The authors considered that treatment outcome was favorable. In a literature review analyzing 6 studies, including 33 patients treated with fosfomycin (associated with other antibiotic in 25 cases), 91% patients had a favorable outcome [231]. Optimal efficacy against *P. aeruginosa* is obtained with 16-24 g/day continuous infusion [226]. The disodium salt for iv administration contains 13.5 mEq of sodium per gram; caution is needed when



**Figure 1** | Election of empirical antibiotic treatment active against *P. aeruginosa*

- a) High bacterial load not surgically correctable (extensive pneumonia or pneumonia with necrosis/cavitation)
- b) Includes neutropenia < 500 cells/mm<sup>3</sup> and treatment with corticoid doses > 20 mg/kg during > 3 weeks
- c) Treatment within the last 30-90 days with a β-lactam active against *P. aeruginosa*, admission during > 3-5 days in an hospitalization unit with a prevalence of MDR *P. aeruginosa* > 10-20% or previous history of colonization/infection by MDR *P. aeruginosa*
- d) Initial loading dose followed by high doses administered as continuous (or extended) infusion during the first 48-72 h
- e) According to local epidemiology and susceptibility of possible previous isolates
- f) Monotherapy in case of urinary tract infection or venous catheter infection. Association with amikacin or fluoroquinolone (levofloxacin or ciprofloxacin) in situations with high bacterial load (pneumonia)
- g) Ciprofloxacin as treatment of choice for malignant external otitis, prostatitis and bronchial infection in patients with cystic fibrosis

administered to patients with heart insufficiency or under hemodialysis. Rapid high doses administration may produce hypototassemia.

## ANTIBIOTICS OF CHOICE FOR THE TREATMENT OF INFECTIONS CAUSED BY *P. aeruginosa*

**Empirical treatment** (figure 1). Empirical selection of the most appropriate antibiotic treatment for a possible infection by *P. aeruginosa* is based on: a) presence of severity criteria and b) presence of risk factors for infection by a strains harboring resistance mechanisms. Severity criteria include criteria of severe sepsis or septic shock, severe immunodepression (especially neutropenia < 500 cells/mm<sup>3</sup>), and infections involving high bacterial load, being not surgically controllable, as extensive pneumonia or pneumonia with cavitations/necrosis. The possibility of infection by a MDR strain should be considered in patients treated with a β-lactam active against *P. aeruginosa*.

within the previous 30-90 days, and in hospitalized patients admitted to units with a prevalence of MDR/XDR *P. aeruginosa* ≥ 10-20% for > 3-5 days or which have history of previous colonization/infection by MDR/XDR *P. aeruginosa*. Among risk factors for selection of MDR/XDR strains we do not include exposure to β-lactams not active against *P. aeruginosa*, fluoroquinolones or aminoglycosides, since, under these conditions, the probability of colonization by strains resistant to antipseudomonal β-lactams is lower.

If the patient fulfills any of the above criteria, treatment with a β-lactam different from the one received within the previous 90 days should be used. By order, preference should be given to 1.5-3 g/8 h iv ceftolozane-tazobactam, 2 g/8 h iv meropenem and 2 g/8 h iv ceftazidima or 4.5 g/6 h iv piperacillin-tazobactam. They should be administered as extended infusion (ceftolozane-tazobactam, meropenem) or continuous infusion with a loading dose (ceftazidime, piperacillin-tazobactam), together with a second antibiotic as 25 mg/kg/día iv ami-

kacin as single daily dose or colistin (loading dose of 6-9 MU iv followed by 4.5 MU/12 h iv). For the election of the second antibiotic, it should be taken into account the epidemiology of the unit or hospital, and in the case of previous colonization/infection by *P. aeruginosa*, the susceptibility of the isolate.

If the patient does not fulfill severity criteria and has not risk factors for infection by a MDR/XDR *P. aeruginosa* strain, treatment could be initiated with a  $\beta$ -lactam (meropenem, ceftazidime or piperacillin-tazobactam) alone (urinary tract infection or venous catheter infection) or associated with amikacin or a fluoroquinolone (levofloxacin or ciprofloxacin) when bacterial load is higher (pneumonia).

In any of the previous situations, adequate surgical control of the infectious foci (drainage, de-obstruction, debridement) and/or removal of the infected foreign body (catheter or others) is critical.

Once culture results and antibiogram are available, treatment should be adjusted to the susceptibility of the isolated microorganism. If *P. aeruginosa* infection is confirmed and clinical evolution is favorable, from the 3<sup>rd</sup> day on treatment can be continued as monotherapy with a  $\beta$ -lactam chosen in accordance with the antibiogram. If all cultures are negative and clinical evolution is favorable, from the 3<sup>rd</sup> day on treatment can be continued as monotherapy with the initial  $\beta$ -lactam. If a rectal swab is available, and the patient is not colonized by *P. aeruginosa*, treatment continuation with a  $\beta$ -lactam not active against this microorganism can be considered.

**Directed treatment.** Election of antibiotic treatment when the susceptibility profile of the isolated *P. aeruginosa* strain is known, can be made according to the following recommendations:

a) *Strain resistant to meropenem, ceftazidime and piperacillin-tazobactam, but susceptible to ceftolozane-tazobactam and ceftazidime-avibactam.*

Against these strains, MIC of ceftolozane is often 2-4 mg/L. A possible treatment is 3 g/8 h iv ceftolozane-tazobactam. ESBL- or class A carbapenemase (GES o KPC)- producing *P. aeruginosa* strains can be resistant to ceftolozane-tazobactam, maintaining susceptibility to ceftazidime-avibactam that can be used at 2.5 g/8 h iv doses. If the strain produces a MBL-type carbapenemase, therapeutic options are limited to the use of associations of aztreonam with ceftazidime-avibactam with or without colistin.

b) *Strain resistant to one of the  $\beta$ -lactams active against *P. aeruginosa*.*

In case of resistance to ceftazidime and/or piperacillin-tazobactam, treatment can be ceftolozane-tazobactam, ceftazidime-avibactam or meropenem. The election depends on the risk of emergence of resistance, which in turn is related with the expected size of the bacterial load in the infectious foci. If the infection involves a high bacterial load (pneumonia), it is advised to give priority to the antibiotic having the greatest probability to surpass the MPC, in this case, ceftolozane-tazobactam. Meropenem can be used for urinary tract infections, venous catheter infections or other infections with low bacte-

**Table 4** Initial posology of antibiotics with activity against *P. aeruginosa* for the treatment of severe infections

Antibiotic	Posology
Ceftazidime	1-2 g loading dose + 6 g/24 h CI
Ceftazidime-avibactam	2/0.5 g/8 h EI
Piperacillin-tazobactam	2/0.25 g loading dose + 16/2 g/24 h CI
Ceftolozane-tazobactam	1/0.5 or 2/1 g/8 h EI
Aztreonam	1-2 g loading dose + 6 g/24 h CI
Meropenem	1-2 g loading dose + 2 g/8 h EI
Fosfomycin	2-4 g loading dose + 16-24 g/24 h CI
Colistin	6-9 MU loading dose + 4.5 MU/12 h
Ciprofloxacin	400 mg/8 h in 30-60 minutes
Levofloxacin	500 mg/12 h in 30-60 minutes
Tobramycin	8 mg/kg/24 h in 60 minutes
Amikacin	25 mg/kg/24 h in 60 minutes

CI: continuous infusion; EI: extended infusion (3-4 h); MU: million units

rial load. In case of resistance to meropenem, treatment can be ceftolozane-tazobactam, ceftazidime or piperacillin-tazobactam. Again, the decision should be taken based on the bacterial inoculum size.

c) *Strain susceptible to all  $\beta$ -lactams.*

In this case, treatment options can be meropenem, ceftazidime or piperacillin-tazobactam. However, in VAP, severe pneumonia in COPD patients or in patients with bronchiectasis, and pneumonia with cavitation/necrosis, treatment with ceftolozane-tazobactam at 3 g/8 hours should be considered due to the high risk of resistance emergence.

In any of the three previous situations, in case of septic shock and in neutropenic patients, along the first 48-72 hours of directed treatment, an additional antibiotic (chosen according to the strain susceptibility) can be added: 400 mg/8 h ciprofloxacin or 8 mg/kg/day iv tobramycin (25-30 mg/kg/day amikacin in case of resistance to tobramycin). Occasionally, the resistance pattern makes necessary associations with colistin 4.5 MU/12 h or fosfomycin at 16-24 g/day iv dose administered as continuous infusion. Inhaled antibiotics (tobramycin, colistin or aztreonam) are reserved for cases of severe pneumonia or pneumonia caused by MDR *P. aeruginosa* strains. Nevertheless, their use should also be considered for infections caused by strains not harboring resistance mechanisms when the patient is intubated or suffers a relevant chronic bronchial pathology (GOLD-4 COPD, cystic fibrosis, bronchiectasis, bronchiolitis), circumstances in which the high bacterial load together with the limited antibiotic diffusion to bronchial secretions drives to an important risk for treatment failure and/or resistance emergence.

The treatment of CNS infections by *P. aeruginosa* poses two additional problems: antibiotic diffusion through the

meninges and the risk of encephalopathy (seizures) associated with elevated doses of  $\beta$ -lactams (cefepime, ceftazidime or imipenem) and to lesser extent with fluoroquinolones. Treatment can be 2 g/8 h iv meropenem or ceftazidime [232], associated or not (according to the strain susceptibility) with 400 mg/8 h iv ciprofloxacin. Among other potentially efficacious antibiotics, if the strain is susceptible, they should be considered 16-24 g/day fosfomycin and intratecal or intraventricular administration [233,234] of 5-20 mg/day tobramycin, 30 mg/day amikacin or 10-20 mg/day colistin as colistimethate (1 mg of colistimethate = 12,500 UI) [235]. Up to now, no experience with the use of ceftolozane-tazobactam is available.

Table 4 shows initial doses of antibiotics active against *P. aeruginosa* for severe infections.

## REFERENCES

- Segata N, Haake SK, Mannon P et al. Composition of the adult digestive tract bacterial microbiome based on seven mouth surfaces, tonsils, throat and stool samples. *Genome Biol* 2012; 13 (6):R42. DOI: 10.1186/gb-2012-13-6-r42
- Paulsson M, Granrot A, Ahl J et al. Antimicrobial combination treatment including ciprofloxacin decreased the mortality rate of *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia: a retrospective cohort study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017;36:1187-1196. DOI: 10.1007/s10096-017-2907-x
- Cheong HS, Kang CI, Wi YM et al. Clinical Significance and Predictors of Community-Onset *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia. *Am J Med* 2008; 121(8):709-714. DOI: 10.1016/j.amjmed.2008.03.034
- Kang C, Kim S, Kim H et al. *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia: Risk Factors for Mortality and Influence of Delayed Receipt of Effective Antimicrobial Therapy on Clinical Outcome. *Clin Infect Dis* 2003; 37(6):745-751. DOI: 10.1086/377200
- Siegan-Igra Y, Ravona R, Primerman H, Giladi M. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: an analysis of 123 episodes, with particular emphasis on the effect of antibiotic therapy. *Int J Infect Dis* 1998; 2(4):211-215. PMID: 9763504
- Suarez C, Pena C, Gavalda L et al. Influence of carbapenem resistance on mortality and the dynamics of mortality in *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infection. *Int J Infect Dis* 2010; 14 Suppl 3:e73-e78. DOI: 10.1016/j.ijid.2009.11.019
- Pena C, Suarez C, Gozalo M et al. Prospective multicenter study of the impact of carbapenem resistance on mortality in *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56(3):1265-1272. DOI: 10.1128/AAC.05991-11
- Morata L, Cobos-Trigueros N, Martínez JA et al. Influence of Multi-drug Resistance and Appropriate Empirical Therapy on the 30-Day Mortality Rate of *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56(9):4833-4837. DOI: 10.1128/AAC.00750-12
- Pena C, Cabot G, Gomez-Zorrilla S et al. Influence of virulence genotype and resistance profile in the mortality of *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections. *Clin Infect Dis* 2015; 60(4):539-548. DOI: 10.1093/cid/ciu866
- Thaden JT, Park LP, Maskarinec SA, Ruffin F, Fowler VG, Jr., van DD. Increased mortality associated with bloodstream infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* as compared to other bacteria: Results of a 13-year prospective cohort study. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61(6). pii: e02671-16. DOI: 10.1128/AAC.02671-16.
- Tumbarello M, Repetto E, Trecarichi EM et al. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections: risk factors and mortality. *Epidemiol Infect* 2011; 139(11):1740-1749. DOI: 10.1017/S0950268810003055
- Micek ST, Wunderink RG, Kollef MH et al. An international multicenter retrospective study of *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial pneumonia: impact of multidrug resistance. *Crit Care* 2015; 19:219. DOI: 10.1186/s13054-015-0926-5
- Tumbarello M, De Pascale G, Trecarichi EM et al. Clinical outcomes of *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia in intensive care unit patients. *Intensive Care Med* 2013; 39(4):682-692. DOI: 10.1007/s00134-013-2828-9
- Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18(3):268-281. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x
- Juan C, Zamorano L, Perez JL, Ge Y, Oliver A. Activity of a new antipseudomonal cephalosporin, CXA-101 (FR264205), against carbapenem-resistant and multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54(2):846-851. DOI: 10.1128/AAC.00834-09
- Sader HS, Farrell DJ, Castanheira M, Flamm RK, Jones RN. Antimicrobial activity of ceftolozane/tazobactam tested against *Pseudomonas aeruginosa* and Enterobacteriaceae with various resistance patterns isolated in European hospitals (2011-2012). *J Antimicrob Chemother* 2014; 69(10):2713-2722. DOI: 10.1093/jac/dku184
- Nichols WW, de Jonge BL, Kazmierczak KM, Karlowsky JA, Sahm DF. In Vitro Susceptibility of Global Surveillance Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* to Ceftazidime-Avibactam (INFORM 2012 to 2014). *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60(8):4743-4749. DOI: 10.1128/AAC.00220-16
- Huband MD, Castanheira M, Flamm RK, Farrell DJ, Jones RN, Sader HS. In vitro activity of ceftazidime-avibactam against contemporary *Pseudomonas aeruginosa* isolates from United States medical centers by Census region (2014). *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60(4):2537-2541. DOI: 10.1128/AAC.03056-15
- Canton R, Maiz L, Escribano A et al. Spanish consensus on the prevention and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* bronchial infections in cystic fibrosis patients. *Arch Bronconeumol* 2015; 51(3):140-150. DOI: 10.1016/j.arbres.2014.09.021
- Polverino E, Goeminne PC, McDonnell MJ et al. European Respiratory Society guidelines for the management of adult bronchiectasis. *Eur Respir J* 2017; 50(3). DOI: 10.1183/13993003.50017-2017
- Lister PD, Wolter DJ, Hanson ND. Antibacterial-Resistant *Pseu-*

- Pseudomonas aeruginosa*: Clinical Impact and Complex Regulation of Chromosomally Encoded Resistance Mechanisms. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22(4):582-610. DOI: 10.1128/CMR.00040-09
22. Livermore DM. Interplay of impermeability and chromosomal beta-lactamase activity in imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36(9):2046-2048. PMID: 1329641
23. Li XZ, Plésiat P, Nikaido H. The Challenge of Efflux-Mediated Antibiotic Resistance in Gram-Negative Bacteria. *Clin Microbiol Rev* 2015; 28(2):337-418. DOI: 10.1128/CMR.00117-14
24. Hocquet D, Vogne C, El GF et al. MexXY-OprM efflux pump is necessary for adaptive resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycosides. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47(4):1371-1375. PMID: 12654672
25. Skiada A, Markogiannakis A, Plachouras D, Daikos GL. Adaptive resistance to cationic compounds in *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents* 2011; 37(3):187-193. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2010.11.019
26. Poole K. *Pseudomonas aeruginosa*: resistance to the max. *Front Microbiol* 2011; 2:65. DOI: 10.3389/fmicb.2011.00065
27. Lopez-Causape C, Rojo-Molinero E, Macia MD, Oliver A. The problems of antibiotic resistance in cystic fibrosis and solutions. *Expert Rev Respir Med* 2015; 9(1):73-88. DOI: 10.1586/17476348.2015.995640
28. Zhao X, Drlica K. Restricting the selection of antibiotic-resistant mutant bacteria: measurement and potential use of the mutant selection window. *J Infect Dis* 2002; 185(4):561-565. DOI: 10.1086/338571
29. Riera E, Macia MD, Mena A et al. Anti-biofilm and resistance suppression activities of CXA-101 against chronic respiratory infection phenotypes of *Pseudomonas aeruginosa* strain PAO1. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65(7):1399-1404. DOI: 10.1093/jac/dkq143
30. Cabot G, Ocampo-Sosa AA, Tubau F et al. Overexpression of AmpC and Efflux Pumps in *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Bloodstream Infections: Prevalence and Impact on Resistance in a Spanish Multicenter Study. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55(5):1906-1911. DOI: 10.1128/AAC.01645-10
31. Cabot G, Bruchmann S, Mulet X et al. *Pseudomonas aeruginosa* ceftolozane-tazobactam resistance development requires multiple mutations leading to overexpression and structural modification of AmpC. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58(6):3091-3099. DOI: 10.1128/AAC.02462-13
32. Torrens G, Cabot G, Ocampo-Sosa AA et al. Activity of Ceftazidime-Avibactam against Clinical and Isogenic Laboratory *Pseudomonas aeruginosa* Isolates Expressing Combinations of Most Relevant beta-Lactam Resistance Mechanisms. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60(10):6407-6410. DOI: 10.1128/AAC.01282-16
33. Moya B, Zamorano L, Juan C, Perez JL, Ge Y, Oliver A. Activity of a new cephalosporin, CXA-101 (FR264205), against beta-lactam-resistant *Pseudomonas aeruginosa* mutants selected in vitro and after antipseudomonal treatment of intensive care unit patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54(3):1213-1217. DOI: 10.1128/AAC.01104-09
34. Riera E, Cabot G, Mulet X et al. *Pseudomonas aeruginosa* carbapenem resistance mechanisms in Spain: impact on the activity of imipenem, meropenem and doripenem. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66(9):2022-2027. DOI: 10.1093/jac/dkr232
35. Olaitan AO, Morand S, Rolain JM. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Front Microbiol* 2014; 5:643. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00643
36. Patel G, Bonomo RA. Status report on carbapenemases: challenges and prospects. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2011; 9(5):555-570. DOI: 10.1586/eri.11.28
37. Oliver A, Mulet X, Lopez-Causape C, Juan C. The increasing threat of *Pseudomonas aeruginosa* high-risk clones. *Drug Resist Updat* 2015; 21-22:41-59. DOI: 10.1016/j.drup.2015.08.002
38. Del Barrio-Tofino E, Lopez-Causape C, Cabot G et al. Genomics and Susceptibility Profiles of Extensively Drug-Resistant (XDR) *Pseudomonas aeruginosa* from Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61(11). pii: e01589-17. DOI: 10.1128/AAC.01589-17
39. MacVane SH, Kuti JL, Nicolau DP. Clinical Pharmacodynamics of Antipseudomonal Cephalosporins in Patients with Ventilator-Associated Pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58(3):1359-1364. DOI: 10.1128/AAC.01463-13
40. McKinnon PS, Paladino JA, Schentag JJ. Evaluation of area under the inhibitory curve (AUIC) and time above the minimum inhibitory concentration (T>MIC) as predictors of outcome for cefepime and ceftazidime in serious bacterial infections. *Int J Antimicrob Agents* 2008; 31(4):345-351. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2007.12.009
41. Tam VH, McKinnon PS, Akins RL, Rybak MJ, Drusano GL. Pharmacodynamics of cefepime in patients with Gram-negative infections. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50(3):425-428. PMID: 12205070
42. Bergen PJ, Bulitta JB, Kirkpatrick CM et al. Effect of different renal function on antibacterial effects of piperacillin against *Pseudomonas aeruginosa* evaluated via the hollow-fibre infection model and mechanism-based modelling. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71(9):2509-2520. DOI: 10.1093/jac/dkw153
43. Tam VH, Chang KT, Zhou J et al. Determining beta-lactam exposure threshold to suppress resistance development in Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother* 2017; 72(5):1421-1428. DOI: 10.1093/jac/dkx001
44. Nicasio AM, Ariano RE, Zelenitsky SA et al. Population Pharmacokinetics of High-Dose, Prolonged-Infusion Cefepime in Adult Critically Ill Patients with Ventilator-Associated Pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53(4):1476-1481. DOI: 10.1128/AAC.01141-08
45. Buijk SL, Gyssens IC, Mouton JW, Van Vliet A, Verbrugh HA, Bruining HA. Pharmacokinetics of ceftazidime in serum and peritoneal exudate during continuous versus intermittent administration to patients with severe intra-abdominal infections. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49(1):121-128. PMID: 11751775
46. Boselli EM, Breihl DP, Rimmele TM et al. Alveolar concentrations of piperacillin/tazobactam administered in continuous infusion to patients with ventilator-associated pneumonia. *Crit Care Med* 2008; 36(5):1500-1506. DOI: 10.1097/CCM.0b013e318170ba21
47. Bauer KA, West JE, O'Brien JM, Goff DA. Extended-Infusion Cefepime Reduces Mortality in Patients with *Pseudomonas aeruginosa*

- inosa* Infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57(7):2907-2912. DOI: 10.1128/AAC.02365-12
48. Lodise TP, Jr., Lomaestro B, Drusano GL. Piperacillin-Tazobactam for *Pseudomonas aeruginosa* Infection: Clinical Implications of an Extended-Infusion Dosing Strategy. *Clin Infect Dis* 2007; 44(3):357-363. DOI: 10.1086/510590
49. Prescott WA, Jr., Gentile AE, Nagel JL, Pettit RS. Continuous-infusion antipseudomonal Beta-lactam therapy in patients with cystic fibrosis. *P & T* 2011; 36(11):723-763. PMID: 22346306
50. Roberts JA, Kirkpatrick CMJ, Roberts MS, Robertson TA, Dalley AJ, Lipman J. Meropenem dosing in critically ill patients with sepsis and without renal dysfunction: intermittent bolus versus continuous administration? Monte Carlo dosing simulations and subcutaneous tissue distribution. *J Antimicrob Chemother* 2009; 64(1):142-150. DOI: 10.1093/jac/dkp139
51. Felton TW, Hope WW, Lomaestro BM et al. Population Pharmacokinetics of Extended-Infusion Piperacillin-Tazobactam in Hospitalized Patients with Nosocomial Infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56(8):4087-4094. DOI: 10.1128/AAC.00521-12
52. Taccone FS, Cotton Fdr, Roisin S, Vincent JL, Jacobs Fdr. Optimal Meropenem Concentrations To Treat Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Septic Shock. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56(4):2129-2131. DOI: 10.1128/AAC.06389-11
53. Robaux MA, Dube L, Caillou J et al. In vivo efficacy of continuous infusion versus intermittent dosing of ceftazidime alone or in combination with amikacin relative to human kinetic profiles in a *Pseudomonas aeruginosa* rabbit endocarditis model. *J Antimicrob Chemother* 2001; 47(5):617-622. PMID: 11328773
54. Navas D, Caillou J, Gras-Le Guen C et al. Comparison of in vivo intrinsic activity of cefepime and imipenem in a *Pseudomonas aeruginosa* rabbit endocarditis model: effect of combination with tobramycin simulating human serum pharmacokinetics. *J Antimicrob Chemother* 2004; 54(4):767-771. DOI: 10.1093/jac/dkh381
55. Alou L, Aguilar L, Sevillano D et al. Is there a pharmacodynamic need for the use of continuous versus intermittent infusion with ceftazidime against *Pseudomonas aeruginosa*? An in vitro pharmacodynamic model. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55(2):209-213. DOI: 10.1093/jac/dkh536
56. Tam VH, Schilling AN, Neshat S, Poole K, Melnick DA, Coyle EA. Optimization of meropenem minimum concentration/MIC ratio to suppress in vitro resistance of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(12):4920-4927. DOI: 10.1128/AAC.49.12.4920-4927.2005
57. Tessier PR, Nicolau DP, Onyeji CO, Nightingale CH. Pharmacodynamics of intermittent- and continuous-infusion cefepime alone and in combination with once-daily tobramycin against *Pseudomonas aeruginosa* in an in vitro infection model. *Chemotherapy* 1999; 45(4):284-295. DOI: 10.1159/000007198
58. Dulhunty JM, Roberts JA, Davis JS et al. Continuous infusion of Beta-lactam antibiotics in severe sepsis: a multicenter double-blind, randomized controlled trial. *Clin Infect Dis* 2013; 56(2):236-244. DOI: 10.1093/cid/cis856
59. Chytra I, Stepan M, Benes J et al. Clinical and microbiological efficacy of continuous versus intermittent application of meropenem in critically ill patients: a randomized open-label controlled trial. *Crit Care* 2012; 16(3):R113. DOI: 10.1186/cc11405
60. Nicasio AM, Eagey KJ, Nicolau DP et al. Pharmacodynamic-based clinical pathway for empiric antibiotic choice in patients with ventilator-associated pneumonia. *J Crit Care* 2010; 25(1):69-77. DOI: 10.1016/j.jcrc.2009.02.014
61. Paterson DL. Resistance in gram-negative bacteria: enterobacteriaceae. *Am J Med* 2006; 119(6 Suppl 1):S62-S70. DOI: 10.1016/j.amjmed.2006.03.013
62. Lorente L, Jiménez A, Martín MM, Iribarren JL, Jiménez JJ, Mora ML. Clinical cure of ventilator-associated pneumonia treated with piperacillin/tazobactam administered by continuous or intermittent infusion. *Int J Antimicrob Agents* 2009; 33(5):464-468. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2008.10.025
63. Rafati MR, Rouini MR, Mojtabahzadeh M et al. Clinical efficacy of continuous infusion of piperacillin compared with intermittent dosing in septic critically ill patients. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 28(2):122-127. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2006.02.020
64. Yost RJ, Cappelletty DM. The Retrospective Cohort of Extended-Infusion Piperacillin-Tazobactam (RECEIPT) study: a multicenter study. *Pharmacotherapy* 2011; 31(8):767-775. DOI: 10.1592/phco.31.8.767
65. Grant EM, Kuti JL, Nicolau DP, Nightingale C, Quintiliani R. Clinical efficacy and pharmacoeconomics of a continuous-infusion piperacillin-tazobactam program in a large community teaching hospital. *Pharmacotherapy* 2002; 22(4):471-483. PMID: 11939682
66. Lorente L, Lorenzo L, Martin MM, Jimenez A, Mora ML. Meropenem by continuous versus intermittent infusion in ventilator-associated pneumonia due to gram-negative bacilli. *Ann Pharmacother* 2006; 40(2):219-223. DOI: 10.1345/aph.1G467
67. Hanes SD, Wood GC, Herring V et al. Intermittent and continuous ceftazidime infusion for critically ill trauma patients. *Am J Surg* 2000; 179(6):436-440. PMID: 11004326
68. Dulhunty JM, Roberts JA, Davis JS et al. A Multicenter Randomized Trial of Continuous versus Intermittent beta-Lactam Infusion in Severe Sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2015; 192(11):1298-1305. DOI: 10.1164/rccm.201505-0857OC
69. Patel GW, Patel N, Lat A et al. Outcomes of extended infusion piperacillin/tazobactam for documented Gram-negative infections. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; 64(2):236-240. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2009.03.002
70. Abdul-Aziz MH, Dulhunty JM, Bellomo R, Lipman J, Roberts JA. Continuous beta-lactam infusion in critically ill patients: the clinical evidence. *Ann Intensive Care* 2012; 2(1):37. DOI: 10.1186/2110-5820-2-37
71. Falagas ME, Tansarli GS, Ikawa K, Vardakas KZ. Clinical Outcomes With Extended or Continuous Versus Short-term Intravenous Infusion of Carbapenems and Piperacillin/Tazobactam: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2013; 56(2):272-282. DOI: 10.1093/cid/cis857
72. Roberts JA, Abdul-Aziz MH, Davis JS et al. Continuous versus Intermittent beta-Lactam Infusion in Severe Sepsis. A Meta-anal-

- ysis of Individual Patient Data from Randomized Trials. *Am J Respir Crit Care Med* 2016; 194(6):681-691. DOI: 10.1164/rccm.201601-0024OC
73. Teo J, Liew Y, Lee W, Kwa AL. Prolonged infusion versus intermittent boluses of beta-lactam antibiotics for treatment of acute infections: a meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents* 2014; 43(5):403-411. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2014.01.027
74. Tammaro PD, Putcha N, Suh YD, Van Arendonk KJ, Rinke ML. Does prolonged beta-lactam infusions improve clinical outcomes compared to intermittent infusions? A meta-analysis and systematic review of randomized, controlled trials. *BMC Infect Dis* 2011; 11:181. DOI: 10.1186/1471-2334-11-181
75. Leisman D, Huang V, Zhou Q et al. Delayed Second Dose Antibiotics for Patients Admitted From the Emergency Department With Sepsis: Prevalence, Risk Factors, and Outcomes. *Crit Care Med* 2017; 45(6):956-965. DOI: 10.1097/CCM.0000000000002377
76. Moore RD, Lietman PS, Smith CR. Clinical response to aminoglycoside therapy: importance of the ratio of peak concentration to minimal inhibitory concentration. *J Infect Dis* 1987; 155(1):93-99. PMID: 3540140
77. Update on good use of injectable aminoglycosides, gentamicin, tobramycin, netilmycin, amikacin. Pharmacological properties, indications, dosage, and mode of administration, treatment monitoring. *Med Mal Infect* 2012; 42(7):301-308. DOI: 10.1016/j.medmal.2011.07.007
78. Tam VH, Schilling AN, Melnick DA, Coyle EA. Comparison of  $\beta$ -lactams in counter-selecting resistance of *Pseudomonas aeruginosa*. *Diag Microbiol Infect Dis* 2005; 52(2):145-151. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2005.02.010
79. Drusano GL, Fregeau C, Liu W, Brown DL, Louie A. Impact of Burden on Granulocyte Clearance of Bacteria in a Mouse Thigh Infection Model. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54(10):4368-4372. DOI: 10.1128/AAC.00133-10
80. Drusano GL, VanScyoc B, Liu W, Fikes S, Brown D, Louie A. Saturation of Granulocyte Kill of *Pseudomonas aeruginosa* in a Murine Model of Pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55(6):2693-2695. DOI: 10.1128/AAC.01687-10
81. Drusano GL, Liu W, Fikes S et al. Interaction of drug- and granulocyte-mediated killing of *Pseudomonas aeruginosa* in a murine pneumonia model. *J Infect Dis* 2014; 210(8):1319-1324. DOI: 10.1093/infdis/jiu237
82. Breidenstein EB, de IF-N, Hancock RE. *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. *Trends Microbiol* 2011; 19(8):419-426. DOI: 10.1016/j.tim.2011.04.005
83. Oliver A, Canton R, Campo P, Baquero F, Blazquez J. High frequency of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infection. *Science* 2000; 288(5469):1251-1254. PMID: 10818002
84. Hogardt M, Hoboth C, Schmoldt S, Henke C, Bader L, Heesemann J. Stage-Specific Adaptation of Hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* Isolates during Chronic Pulmonary Infection in Patients with Cystic Fibrosis. *J Infect Dis* 2007; 195(1):70-80. DOI: 10.1086/509821
85. Oliver A. Clinical relevance of *Pseudomonas aeruginosa* hypermu-
- tation in cystic fibrosis chronic respiratory infection. *J Cyst Fibros* 2015; 14(4):e1-e2. DOI: 10.1016/j.jcf.2014.12.009
86. Cabot G, Zamorano L, Moyà B et al. Evolution of *Pseudomonas aeruginosa* Antimicrobial Resistance and Fitness under Low and High Mutation Rates. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60(3):1767-1778. DOI: 10.1128/AAC.02676-15
87. Waine DJ, Honeybourne D, Smith EG, Whitehouse JL, Dowson CG. Association between Hypermutator Phenotype, Clinical Variables, Mucoid Phenotype, and Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol* 2008; 46(10):3491-3493. DOI: 10.1128/JCM.00357-08
88. Mouton JW. Combination therapy as a tool to prevent emergence of bacterial resistance. *Infection* 1999; 27 Suppl 2:S24-S28. PMID: 10885823
89. Rees VE, Bulitta JB, Oliver A et al. Resistance suppression by high-intensity, short-duration aminoglycoside exposure against hypermutable and non-hypermutable *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71(11):3157-3167. DOI: 10.1093/jac/dkw297
90. Rees VE, Bulitta JB, Nation RL, Tsuji BT, Sörgel F, Landersdorfer CB. Shape does matter: short high-concentration exposure minimizes resistance emergence for fluoroquinolones in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 2015; 70(3):818-826. DOI: 10.1093/jac/dku437
91. Garnacho-Montero J, Sa-Borges M, Sole-Violan J et al. Optimal management therapy for *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia: an observational, multicenter study comparing monotherapy with combination antibiotic therapy. *Crit Care Med* 2007; 35(8):1888-1895. DOI: 10.1097/CCM.00000275389.31974.22
92. Bodey GP, Jadeja L, Elting L. *Pseudomonas* bacteremia. Retrospective analysis of 410 episodes. *Arch Intern Med* 1985; 145(9):1621-1629. PMID: 3927867
93. Micek ST, Lloyd AE, Ritchie DJ, Reichley RM, Fraser VJ, Kollef MH. *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infection: importance of appropriate initial antimicrobial treatment. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(4):1306-1311. DOI: 10.1128/AAC.49.4.1306-1311.2005
94. Yoon YK, Kim HA, Ryu SY et al. Tree-structured survival analysis of patients with *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: A multi-center observational cohort study. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2017; 87(2):180-187. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2016.10.008
95. Al Hasan MN, Wilson JW, Lahr BD, Eckel-Passow JE, Baddour LM. Incidence of *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia: A Population-Based Study. *Am J Med* 2008; 121(8):702-708. DOI: 10.1016/j.amjmed.2008.03.029
96. Schechner V, Nobre V, Kaye K et al. Gram-Negative Bacteremia upon Hospital Admission: When Should *Pseudomonas aeruginosa* Be Suspected? *Clin Infect Dis* 2009; 48(5):580-586. DOI: 10.1086/596709
97. Vidal F, Mensa J, Almela M et al. Bacteraemia in adults due to glucose non-fermentative Gram-negative bacilli other than *P. aeruginosa*. *OJM* 2003; 96(3):227-234. PMID: 12615987

98. Paul M, Leibovici L. Editorial Commentary: Combination Therapy for *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia: Where Do We Stand? *Clin Infect Dis* 2013; 57(2):217-220. DOI: 10.1093/cid/cit220
99. Vardakas KZ, Tansarli GS, Bliziotis IA, Falagas ME. beta-Lactam plus aminoglycoside or fluoroquinolone combination versus beta-lactam monotherapy for *Pseudomonas aeruginosa* infections: a meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents* 2013; 41(4):301-310. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2012.12.006
100. Vidal F, Mensa J, Almela M et al. Epidemiology and outcome of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia, with special emphasis on the influence of antibiotic treatment. Analysis of 189 episodes. *Arch Intern Med* 1996; 156(18):2121-2126. PMID: 8862105
101. Chatzinikolaou I, Abi-Said D, Bodey GP, Rolston KV, Tarrand JJ, Samonis G. Recent experience with *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in patients with cancer: Retrospective analysis of 245 episodes. *Arch Intern Med* 2000; 160(4):501-509. PMID: 10695690
102. Bliziotis IA, Petrosillo N, Michalopoulos A, Samonis G, Falagas ME. Impact of definitive therapy with beta-lactam monotherapy or combination with an aminoglycoside or a quinolone for *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. *PLoS ONE* 2011; 6(10):e26470. DOI: 10.1371/journal.pone.0026470
103. Pena C, Suarez C, Ocampo-Sosa A et al. Effect of Adequate Single-Drug vs Combination Antimicrobial Therapy on Mortality in *Pseudomonas aeruginosa* Bloodstream Infections: A Post Hoc Analysis of a Prospective Cohort. *Clin Infect Dis* 2013; 57(2):208-216. DOI: 10.1093/cid/cit223
104. Bowers DR, Liew YX, Lye DC, Kwa AL, Hsu LY, Tam VH. Outcomes of Appropriate Empiric Combination versus Monotherapy for *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57(3):1270-1274. DOI: 10.1128/AAC.02235-12
105. Planquette B, Timsit JF, Misset BY et al. *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia. predictive factors of treatment failure. *Am J Respir Crit Care Med* 2013; 188(1):69-76. DOI: 10.1164/rccm.201210-1897OC
106. Cometta A, Baumgartner JD, Lew D et al. Prospective randomized comparison of imipenem monotherapy with imipenem plus netilmicin for treatment of severe infections in nonneutropenic patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38(6):1309-1313. PMID: 8092830
107. Hu Y, Li L, Li W et al. Combination antibiotic therapy versus monotherapy for *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia: A meta-analysis of retrospective and prospective studies. *Int J Antimicrob Agents* 2013; 42(6):492-496. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2013.09.002
108. Park SY, Park HJ, Moon SM et al. Impact of adequate empirical combination therapy on mortality from bacteremic *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *BMC Infect Dis* 2012; 12:308. DOI: 10.1186/1471-2334-12-308
109. Kim YJ, Jun YH, Kim YR et al. Risk factors for mortality in patients with *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia; retrospective study of impact of combination antimicrobial therapy. *BMC Infect Dis* 2014; 14:161. DOI: 10.1186/1471-2334-14-161
110. Hilf M, Yu VL, Sharp J, Zuravleff JJ, Korvick JA, Muder RR. Antibiotic therapy for *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia: outcome correlations in a prospective study of 200 patients. *Am J Med* 1989; 87(5):540-546. PMID: 2816969
111. Leibovici L, Paul M, Poznanski O et al. Monotherapy versus beta-lactam-aminoglycoside combination treatment for gram-negative bacteraemia: a prospective, observational study. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41(5):1127-1133. PMID: 9145881
112. Smith AL, Doershuk C, Goldmann D et al. Comparison of a beta-lactam alone versus beta-lactam and an aminoglycoside for pulmonary exacerbation in cystic fibrosis. *J Pediatr* 1999; 134(4):413-421. PMID: 10190914
113. Safdar N, Handelsman J, Maki DG. Does combination antimicrobial therapy reduce mortality in Gram-negative bacteraemia? A meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2004; 4(8):519-527. DOI: 10.1016/S1473-3099(04)01108-9
114. Vidal L, Gafter-Gvili A, Borok S, Fraser A, Leibovici L, Paul M. Efficacy and safety of aminoglycoside monotherapy: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60(2):247-257. DOI: 10.1093/jac/dkm193
115. Bulitta JB, Ly NS, Landersdorfer CB et al. Two mechanisms of killing of *Pseudomonas aeruginosa* by tobramycin assessed at multiple inocula via mechanism-based modeling. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59(4):2315-2327. DOI: 10.1128/AAC.04099-14
116. Fernández La, Hancock REW. Adaptive and Mutational Resistance: Role of Porins and Efflux Pumps in Drug Resistance. *Clin Microbiol Rev* 2012; 25(4):661-681. DOI: 10.1128/CMR.00043-12
117. Fernandez L, Breidenstein EB, Hancock RE. Creeping baselines and adaptive resistance to antibiotics. *Drug Resist Updat* 2011; 14(1):1-21. DOI: 10.1016/j.drup.2011.01.001
118. Kashuba AD, Nafziger AN, Drusano GL, Bertino JS, Jr. Optimizing Aminoglycoside Therapy for Nosocomial Pneumonia Caused by Gram-Negative Bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43(3):623-629. PMID: 10049277
119. Zelenitsky SA, Harding GK, Sun S, Ubhi K, Ariano RE. Treatment and outcome of *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia: an antibiotic pharmacodynamic analysis. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52(4):668-674. DOI: 10.1093/jac/dkg403
120. Triginer C, Izquierdo I, Fernandez R et al. Gentamicin volume of distribution in critically ill septic patients. *Intensive Care Med* 1990; 16(5):303-306. PMID: 2212254
121. Triginer C, Izquierdo I, Fernandez R et al. Changes in gentamicin pharmacokinetic profiles induced by mechanical ventilation. *Eur J Clin Pharmacol* 1991; 40(3):297-302. PMID: 2060568
122. Nicolau DP, Freeman CD, Belliveau PP, Nightingale CH, Ross JW, Quintiliani R. Experience with a once-daily aminoglycoside program administered to 2,184 adult patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39(3):650-655. PMID: 7793867
123. Udy AA, Varghese JM, Altukroni M et al. Sub-therapeutic initial beta-lactam concentrations in select critically ill patients: association between augmented renal clearance and low trough drug concentrations. *Chest* 2012; 142(1):30-39. DOI: 10.1378/chest.11-1671
124. Udy AA, Roberts JA, Lipman J. Implications of augmented renal clearance in critically ill patients. *Nat Rev Nephrol* 2011; 7(9):539-543. DOI: 10.1038/nrneph.2011.92

125. Taccone FS, Laterre PF, Dugernier T et al. Insufficient beta-lactam concentrations in the early phase of severe sepsis and septic shock. Crit Care 2010; 14(4):R126. DOI: 10.1186/cc9091
126. Roberts JA, Ullidemolins M, Roberts MS et al. Therapeutic drug monitoring of [beta]-lactams in critically ill patients: proof of concept. Int J Antimicrobial Agents 2010; 36(4):332-339. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2010.06.008
127. Roger C, Nucci B, Molinari N et al. Standard dosing of amikacin and gentamicin in critically ill patients results in variable and subtherapeutic concentrations. Int J Antimicrob Agents 2015; 46(1):21-27. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2015.02.009
128. Taccone FS, Laterre PF, Spapen H et al. Revisiting the loading dose of amikacin for patients with severe sepsis and septic shock. Crit Care 2010; 14(2):R53. DOI: 10.1186/cc8945
129. Blackburn LM, Tverdek FP, Hernandez M, Bruno JJ. First-dose pharmacokinetics of aminoglycosides in critically ill haematological malignancy patients. Int J Antimicrob Agents 2015; 45(1):46-53. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2014.09.006
130. Zeitany RG, El Saghir NS, Santhosh-Kumar CR, Sigmon MA. Increased aminoglycoside dosage requirements in hematologic malignancy. Antimicrob Agents Chemother 1990; 34(5):702-708. PMID: 2360811
131. de Montmollin E, Bouadma L, Gault N et al. Predictors of insufficient amikacin peak concentration in critically ill patients receiving a 25 mg/kg total body weight regimen. Intensive Care Med 2014; 40(7):998-1005. DOI: 10.1007/s00134-014-3276-x
132. Hodiamont CJ, Juffermans NP, Bouman CS, de J, Mathot RA, van Hest RM. Determinants of gentamicin concentrations in critically ill patients: a population pharmacokinetic analysis. Int J Antimicrob Agents 2017; 49(2):204-211. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2016.10.022
133. Bracco D, Landry C, Dubois MJ, Eggimann P. Pharmacokinetic variability of extended interval tobramycin in burn patients. Burns 2008; 34(6):791-796. DOI: 10.1016/j.burns.2007.11.003
134. Robert J, Pean Y, Alfandari S et al. Application of guidelines for aminoglycosides use in French hospitals in 2013-2014. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2017; 36:1083-1090. DOI: 10.1007/s10096-016-2892-5
135. Drusano GL, Ambrose PG, Bhavnani SM, Bertino JS, Nafziger AN, Louie A. Back to the Future: Using Aminoglycosides Again and How to Dose Them Optimally. Clin Infect Dis 2007; 45(6):753-760. DOI: 10.1086/520991
136. Mombelli G, Coppens L, Thys JP, Klastersky J. Anti-Pseudomonas activity in bronchial secretions of patients receiving amikacin or tobramycin as a continuous infusion. Antimicrob Agents Chemother 1981; 19(1):72-75. PMID: 7247362
137. Rodvold KA, George JM, Yoo L. Penetration of anti-infective agents into pulmonary epithelial lining fluid: focus on antibacterial agents. Clin Pharmacokinet 2011; 50(10):637-664. DOI: 10.2165/11594090-000000000-00000
138. Boselli E, Breilh D, Djabarouti S et al. Reliability of mini-bronchoalveolar lavage for the measurement of epithelial lining fluid concentrations of tobramycin in critically ill patients. Intensive Care Med 2007; 33(9):1519-1523. DOI: 10.1007/s00134-007-0688-x
139. Carcas AJ, Garcia-Satue JL, Zapater P, Frias-Iniesta J. Tobramycin penetration into epithelial lining fluid of patients with pneumonia. Clin Pharmacol Ther 1999; 65(3):245-250. DOI: 10.1016/S0009-9236(99)70103-7
140. Panidis D, Markantonis SL, Boutzouka E, Karatzas S, Baltopoulos G. Penetration of gentamicin into the alveolar lining fluid of critically ill patients with ventilator-associated pneumonia. Chest 2005; 128(2):545-552. DOI: 10.1378/chest.128.2.545
141. Sulaiman H, Abdul-Aziz MH, Roberts JA. Pharmacokinetic/Pharmacodynamics-Optimized Antimicrobial Therapy in Patients with Hospital-Acquired Pneumonia/Ventilator-Associated Pneumonia. Semin Respir Crit Care Med 2017; 38(3):271-286. DOI: 10.1055/s-0037-1602716
142. van 't Veen A, Mouton JW, Gommers D, Kluytmans JA, Dekkers P, Lachmann B. Influence of pulmonary surfactant on in vitro bactericidal activities of amoxicillin, ceftazidime, and tobramycin. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39(2):329-333. PMID: 7726491
143. Konig C, Simmen HP, Blaser J. Effect of pathological changes of pH, pO<sub>2</sub> and pCO<sub>2</sub> on the activity of antimicrobial agents in vitro. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1993; 12(7):519-526. PMID: 8404912
144. Mendelman PM, Smith AL, Levy J, Weber A, Ramsey B, Davis RL. Aminoglycoside penetration, inactivation, and efficacy in cystic fibrosis sputum. Am Rev Respir Dis 1985; 132(4):761-765. DOI: 10.1164/arrd.1985.132.4.761
145. Levy J, Smith AL, Kenny MA, Ramsey B, Schoenknecht FD. Bioactivity of gentamicin in purulent sputum from patients with cystic fibrosis or bronchiectasis: comparison with activity in serum. J Infect Dis 1983; 148(6):1069-1076. PMID: 6418829
146. de Oliveira MS, de Assis DB, Freire MP et al. Treatment of KPC-producing Enterobacteriaceae: suboptimal efficacy of polymyxins. Clin Microbiol Infect 2015; 21(2):179.e1-7. DOI: 10.1016/j.cmi.2014.07.010
147. Kvittko CH, Rigatto MH, Moro AL, Zavascki AP. Polymyxin B versus other antimicrobials for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia. J Antimicrob Chemother 2011; 66(1):175-179. DOI: 10.1093/jac/dkq390
148. Paul M, Bishara J, Levcovich A et al. Effectiveness and safety of colistin: prospective comparative cohort study. J Antimicrob Chemother 2010; 65(5):1019-1027. DOI: 10.1093/jac/dkq069
149. Fink MP, Snydman DR, Niederman MS et al. Treatment of severe pneumonia in hospitalized patients: results of a multicenter, randomized, double-blind trial comparing intravenous ciprofloxacin with imipenem-cilastatin. The Severe Pneumonia Study Group. Antimicrob Agents Chemother 1994; 38(3):547-557. PMID: 8203853
150. Gimarellou H, Bassaris HP, Petrikos G et al. Monotherapy with intravenous followed by oral high-dose ciprofloxacin versus combination therapy with ceftazidime plus amikacin as initial empiric therapy for granulocytopenic patients with fever. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44(12):3264-3271. PMID: 11083625
151. Torres A, Bauer TT, Leon-Gil C et al. Treatment of severe nosocomial pneumonia: a prospective randomised comparison of intravenous ciprofloxacin with imipenem/cilastatin. Thorax 2000; 55(12):1033-

1039. PMID: 11083889
152. Mogayzel PJ, Jr., Naureckas ET, Robinson KA et al. Cystic Fibrosis Foundation pulmonary guideline. pharmacologic approaches to prevention and eradication of initial *Pseudomonas aeruginosa* infection. Ann Am Thorac Soc 2014; 11(10):1640-1650. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201404-1660C
153. Arnold HM, Sawyer AM, Kollef MH. Use of adjunctive aerosolized antimicrobial therapy in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia. Respir Care 2012; 57(8):1226-1233. DOI: 10.4187/respcare.01556
154. Rattanaumpawan P, Lorsutthitham J, Ungprasert P, Angkasekwinai N, Thamlikitkul V. Randomized controlled trial of nebulized colistimethate sodium as adjunctive therapy of ventilator-associated pneumonia caused by Gram-negative bacteria. J Antimicrob Chemother 2010; 65(12):2645-2649. DOI: 10.1093/jac/dkq360
155. Doshi NM, Cook CH, Mount KL et al. Adjunctive aerosolized colistin for multi-drug resistant gram-negative pneumonia in the critically ill: a retrospective study. BMC Anesthesiol 2013; 13(1):45. DOI: 10.1186/1471-2253-13-45
156. Hallal A, Cohn SM, Namias N et al. Aerosolized tobramycin in the treatment of ventilator-associated pneumonia: a pilot study. Surg Infect (Larchmt ) 2007; 8(1):73-82. DOI: 10.1089/sur.2006.051
157. Ghannam DE, Rodriguez GH, Raad II, Safdar A. Inhaled aminoglycosides in cancer patients with ventilator-associated Gram-negative bacterial pneumonia: safety and feasibility in the era of escalating drug resistance. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2009; 28(3):253-259. DOI: 10.1007/s10096-008-0620-5
158. Tumbarello MM, De Pascale GMP, Trecarichi EMM et al. Effect of Aerosolized Colistin as Adjunctive Treatment on the Outcomes of Microbiologically Documented Ventilator-Associated Pneumonia Caused by Colistin-Only Susceptible Gram-Negative Bacteria. Chest 2013; 144(6):1768-1775. DOI: 10.1378/chest.13-1018
159. Kofteridis D, Alexopoulou C, Valachis A et al. Aerosolized plus Intravenous Colistin versus Intravenous Colistin Alone for the Treatment of Ventilator-Associated Pneumonia: A Matched Case-Control Study. Clin Infect Dis 2010; 51(11):1238-1244. DOI: 10.1086/657242
160. Horianopoulou M, Kanellopoulou M, Paraskevopoulos I, Kyriakidis A, Legakis NJ, Lambropoulos S. Use of inhaled ampicillin-sulbactam against multiresistant *Acinetobacter baumannii* in bronchial secretions of intensive care unit patients. Clin Microbiol Infect 2004; 10(1):85-86. PMID: 14706094
161. Naesens R, Vlieghe E, Verbrugge W, Jorens P, leven M. A retrospective observational study on the efficacy of colistin by inhalation as compared to parenteral administration for the treatment of nosocomial pneumonia associated with multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. BMC Infect Dis 2011; 11:317. DOI: 10.1186/1471-2334-11-317
162. Korbila IP, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Nikita D, Samonis G, Falagas ME. Inhaled colistin as adjunctive therapy to intravenous colistin for the treatment of microbiologically documented ventilator-associated pneumonia: a comparative cohort study. Clin Microbiol Infect 2010; 16(8):1230-1236. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.03040.x
163. Abdellatif S, Trifi A, Daly F, Mahjoub K, Nasri R, Ben LS. Efficacy and toxicity of aerosolised colistin in ventilator-associated pneumonia: a prospective, randomised trial. Ann Intensive Care 2016; 6(1):26. DOI: 10.1186/s13613-016-0127-7
164. Brown RB, Kruse JA, Counts GW, Russell JA, Christou NV, Sands ML. Double-blind study of endotracheal tobramycin in the treatment of gram-negative bacterial pneumonia. The Endotracheal Tobramycin Study Group. Antimicrob Agents Chemother 1990; 34(2):269-272. PMID: 2183716
165. Ioannidou E, Siempos II, Falagas ME. Administration of antimicrobials via the respiratory tract for the treatment of patients with nosocomial pneumonia: a meta-analysis. J Antimicrob Chemother 2007; 60(6):1216-1226. DOI: 10.1093/jac/dkm385
166. Valachis A, Samonis G, Kofteridis DP. The Role of Aerosolized Colistin in the Treatment of Ventilator-Associated Pneumonia: A Systematic Review and Metaanalysis. Crit Care Med 2015; 43(3):527-533. DOI: 10.1097/CCM.0000000000000771
167. Sole-Lleonart C, Rouby JJ, Blot S et al. Nebulization of Antiinfective Agents in Invasively Mechanically Ventilated Adults: A Systematic Review and Meta-analysis. Anesthesiology 2017; 126(5):890-908. DOI: 10.1097/ALN.0000000000001570
168. Brodt AM, Stovold E, Zhang L. Inhaled antibiotics for stable non-cystic fibrosis bronchiectasis: a systematic review. Eur Respir J 2014; 44(2):382-393. DOI: 10.1183/09031936.00018414
169. Lu Q, Yang J, Liu Z et al. Nebulized Ceftazidime and Amikacin in Ventilator-associated Pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa*. Am J Respir Crit Care Med 2011; 184(1):106-115. DOI: 10.1164/rccm.201011-1894OC
170. Goncalves-Pereira J, Povoa P. Antibiotics in critically ill patients: a systematic review of the pharmacokinetics of beta-lactams. Crit Care 2011; 15(5):R206. DOI: 10.1186/cc10441
171. Feng Y, Hodiamont CJ, van Hest RM, Brul S, Schultsz C, Ter Kuile BH. Development of Antibiotic Resistance during Simulated Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* in Chemostats. PLoS ONE 2016; 11(2):e0149310. DOI: 10.1371/journal.pone.0149310
172. Dahdouh E, Shoucair SH, Salem SE, Daoud Z. Mutant prevention concentrations of imipenem and meropenem against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. Scientific World Journal 2014; 2014:979648. DOI: 10.1155/2014/979648
173. Credito K, Kosowska-Shick K, Appelbaum PC. Mutant prevention concentrations of four carbapenems against gram-negative rods. Antimicrob Agents Chemother 2010; 54(6):2692-2695. DOI: 10.1128/AAC.00033-10
174. Henrichfreise B, Wiegand I, Luhmer-Becker I, Wiedemann B. Development of Resistance in Wild-Type and Hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* Strains Exposed to Clinical Pharmacokinetic Profiles of Meropenem and Ceftazidime Simulated In Vitro. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51(10):3642-3649. DOI: 10.1128/AAC.00160-07
175. Grill MF, Maganti RK. Neurotoxic effects associated with antibiotic use: management considerations. Br J Clin Pharmacol 2011; 72(3):381-393. DOI: 10.1111/j.1365-2125.2011.03991.x

176. Chow KM, Hui AC, Szeto CC. Neurotoxicity induced by beta-lactam antibiotics: from bench to bedside. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24(10):649-653. DOI: 10.1007/s10096-005-0021-y
177. Moriyama B, Henning SA, Childs R et al. High-dose continuous infusion beta-lactam antibiotics for the treatment of resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections in immunocompromised patients. *Ann Pharmacother* 2010; 44(5):929-935. DOI: 10.1345/aph.1M717
178. Moriyama B, Henning SA, Neuhauser MM, Danner RL, Walsh TJ. Continuous-infusion beta-lactam antibiotics during continuous venovenous hemofiltration for the treatment of resistant gram-negative bacteria. *Ann Pharmacother* 2009; 43(7):1324-1337. DOI: 10.1345/aph.1L638
179. Jensen JU, Hein L, Lundgren B et al. Kidney failure related to broad-spectrum antibiotics in critically ill patients: secondary end point results from a 1200 patient randomised trial. *BMJ Open* 2012; 2(2):e000635. PMID: 23590085
180. Mustafa MH, Chalhoub H, Denis O et al. Antimicrobial Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Cystic Fibrosis Patients in Northern Europe. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60(11):6735-6741. DOI: 10.1128/AAC.01046-16
181. Sader HS, Rhomberg PR, Jones RN. In vitro activity of beta-lactam antimicrobial agents in combination with aztreonam tested against metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *J Chemother* 2005; 17(6):622-627. DOI: 10.1179/joc.2005.17.6.622
182. Bosso JA, Saxon BA, Matsen JM. In vitro activities of combinations of aztreonam, ciprofloxacin, and ceftazidime against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas cepacia* from patients with cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34(3):487-488. PMID: 2110438
183. Sader HS, Huynh HK, Jones RN. Contemporary in vitro synergy rates for aztreonam combined with newer fluoroquinolones and beta-lactams tested against gram-negative bacilli. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003; 47(3):547-550. PMID: 14596974
184. Sader HS, Jones RN. Comprehensive in vitro evaluation of cefepime combined with aztreonam or ampicillin/sulbactam against multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 25(5):380-384. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2005.01.011
185. Lister PD, Sanders WE, Jr., Sanders CC. Cefepime-Aztreonam: a Unique Double beta -Lactam Combination for *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42(7):1610-1619. PMID: 9660993
186. Krezdorn J, Adams S, Coote PJ. A *Galleria mellonella* infection model reveals double and triple antibiotic combination therapies with enhanced efficacy versus a multidrug-resistant strain of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Med Microbiol* 2014; 63(Pt 7):945-955. DOI: 10.1099/jmm.0.074245-0
187. Moya B, Barcelo IM, Bhagwat S et al. WCK 5107 (Zidebactam) and WCK 5153 Are Novel Inhibitors of PBP2 Showing Potent "beta-Lactam Enhancer" Activity against *Pseudomonas aeruginosa*, Including Multidrug-Resistant Metallo-beta-Lactamase-Producing High-Risk Clones. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61(6):e02529-16. DOI: 10.1128/AAC.02529-16
188. Drusano GL, Bonomo RA, Bahniuk N et al. Resistance emergence mechanism and mechanism of resistance suppression by tobramycin for cefepime for *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56(1):231-242. DOI: 10.1128/AAC.05252-11
189. Thomas JK, Forrest A, Bhavnani SM et al. Pharmacodynamic Evaluation of Factors Associated with the Development of Bacterial Resistance in Acutely Ill Patients during Therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42(3):521-527. PMID: 9517926
190. Drusano GL, Preston SL, Fowler C, Corrado M, Weisinger B, Kahn J. Relationship between fluoroquinolone area under the curve: minimum inhibitory concentration ratio and the probability of eradication of the infecting pathogen, in patients with nosocomial pneumonia. *J Infect Dis* 2004; 189(9):1590-1597. DOI: 10.1086/383320
191. Hansen GT, Zhao X, Drlica K, Blondeau JM. Mutant prevention concentration for ciprofloxacin and levofloxacin with *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 27(2):120-124. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2005.10.005
192. Lister PD, Wolter DJ, Wickman PA, Reisbig MD. Levofloxacin/imipenem prevents the emergence of high-level resistance among *Pseudomonas aeruginosa* strains already lacking susceptibility to one or both drugs. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57(5):999-1003. DOI: 10.1093/jac/dkl063
193. Lister PD, Wolter DJ. Levofloxacin-imipenem combination prevents the emergence of resistance among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 2005; 40 Suppl 2:S105-S114. DOI: 10.1086/426190
194. Louie A, Bied A, Fregeau C et al. Impact of different carbapenems and regimens of administration on resistance emergence for three isogenic *Pseudomonas aeruginosa* strains with differing mechanisms of resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54(6):2638-2645. DOI: 10.1128/AAC.01721-09
195. Zhanel GG, Mayer M, Laing N, Adam HJ. Mutant Prevention Concentrations of Levofloxacin Alone and in Combination with Azithromycin, Ceftazidime, Colistin (Polymyxin E), Meropenem, Piperacillín-Tazobactam, and Tobramycin against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(6):2228-2230. DOI: 10.1128/AAC.01620-05
196. Zhanel GG, Vashisht V, Tam ED, Hoban DJ, Karlowsky JA. Mutant prevention concentrations of doripenem and meropenem alone and in combination with colistin (polimixin E), levofloxacin and tobramycin in *Pseudomonas aeruginosa*. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2009;20(suppl-A): 67A-71A.
197. Fish DN, Choi MK, Jung R. Synergic activity of cephalosporins plus fluoroquinolones against *Pseudomonas aeruginosa* with resistance to one or both drugs. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50(6):1045-1049. PMID: 12461031
198. Vestergaard M, Paulander W, Marvig RL et al. Antibiotic combination therapy can select for broad-spectrum multidrug resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents* 2016; 47(1):48-55. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2015.09.014
199. Solomkin JS, Reinhart HH, Dellinger EP et al. Results of a rand-

- omized trial comparing sequential intravenous/oral treatment with ciprofloxacin plus metronidazole to imipenem/cilastatin for intra-abdominal infections. The Intra-Abdominal Infection Study Group. Ann Surg 1996; 223(3):303-315. PMID: 8604912
200. Heyland DK, Dodek P, Muscedere J, Day A, Cook D. Randomized trial of combination versus monotherapy for the empiric treatment of suspected ventilator-associated pneumonia. Crit Care Med 2008; 36(3):737-744. DOI: 10.1097/01.CCM.0B013E31816203D6
201. Al-Hasan MN, Wilson JW, Lahr BD et al. Beta-lactam and fluoroquinolone combination antibiotic therapy for bacteremia caused by gram-negative bacilli. Antimicrob Agents Chemother 2009; 53(4):1386-1394. DOI: 10.1128/AAC.01231-08
202. Bulitta JB, Yang JC, Yohonn L et al. Attenuation of Colistin Bactericidal Activity by High Inoculum of *Pseudomonas aeruginosa* Characterized by a New Mechanism-Based Population Pharmacodynamic Model. Antimicrob Agents Chemother 2010; 54(5):2051-2062. DOI: 10.1128/AAC.00881-09
203. Tam VH, Schilling AN, Vo G et al. Pharmacodynamics of polymyxin B against *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49(9):3624-3630. DOI: 10.1128/AAC.49.9.3624-3630.2005
204. Dudhani RV, Turnidge JD, Coulthard K et al. Elucidation of the Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Determinant of Colistin Activity against *Pseudomonas aeruginosa* in Murine Thigh and Lung Infection Models. Antimicrob Agents Chemother 2010; 54(3):1117-1124. DOI: 10.1128/AAC.01114-09
205. Ly NS, Bulitta JB, Rao GG et al. Colistin and doripenem combinations against *Pseudomonas aeruginosa*: profiling the time course of synergistic killing and prevention of resistance. J Antimicrob Chemother 2015; 70(5):1434-1442. DOI: 10.1093/jac/dku567
206. Aoki N, Tateda K, Kikuchi Y et al. Efficacy of colistin combination therapy in a mouse model of pneumonia caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. J Antimicrob Chemother 2009; 63(3):534-542. DOI: 10.1093/jac/dkn530
207. Gunderson BW, Ibrahim KH, Hovde LB, Fromm TL, Reed MD, Rotschafer JC. Synergistic activity of colistin and ceftazidime against multiantibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an in vitro pharmacodynamic model. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47(3):905-909. PMID:12604520
208. Rynn C, Wootton M, Bowker KE, Alan HH, Reeves DS. In vitro assessment of colistin's antipseudomonal antimicrobial interactions with other antibiotics. Clin Microbiol Infect 1999; 5(1):32-36. PMID: 11856210
209. Gimarellos-Bourboulis EJ, Sambatakou H, Galani I, Gimarellou H. In vitro interaction of colistin and rifampin on multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. J Chemother 2003; 15(3):235-238. DOI: 10.1179/joc.2003.15.3.235
210. Zusman O, Avni T, Leibovici L et al. Systematic Review and Meta-Analysis of In Vitro Synergy of Polymyxins and Carbapenems. Antimicrob Agents Chemother 2013; 57(10):5104-5111. DOI: 10.1128/AAC.01230-13
211. Lenhard JR, Nation RL, Tsuji BT. Synergistic combinations of polymyxins. Int J Antimicrob Agents 2016; 48(6):607-613. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2016.09.014
212. Sandri AM, Landersdorfer CB, Jacob J et al. Population Pharmacokinetics of Intravenous Polymyxin B in Critically Ill Patients: Implications for Selection of Dosage Regimens. Clin Infect Dis 2013; 57(4):524-531. DOI: 10.1093/cid/cit334
213. Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V et al. Population Pharmacokinetics of Colistin Methanesulfonate and Formed Colistin in Critically Ill Patients from a Multicenter Study Provide Dosing Suggestions for Various Categories of Patients. Antimicrob Agents Chemother 2011; 55(7):3284-3294. DOI: 10.1128/AAC.01733-10
214. Benattar YD, Omar M, Zusman O et al. The Effectiveness and Safety of High-Dose Colistin: Prospective Cohort Study. Clin Infect Dis 2016; 63(12):1605-1612. DOI: 10.1093/cid/ciw684
215. Pogue JM, Ortwin JK, Kaye KS. Editorial Commentary: Colistin Dosing: Does the Fun Ever Start? Clin Infect Dis 2016; 63(12):1613-1614. DOI: 10.1093/cid/ciw685
216. Imberti RM, Cusato MP, Villani PB et al. Steady-State Pharmacokinetics and BAL Concentration of Colistin in Critically Ill Patients After IV Colistin Methanesulfonate Administration. Chest 2010; 138(6):1333-1339. DOI: 10.1378/chest.10-0463
217. Huang JX, Blaskovich MAT, Pelingon R et al. Mucin Binding Reduces Colistin Antimicrobial Activity. Antimicrob Agents Chemother 2015; 59(10):5925-5931. DOI: 10.1128/AAC.00808-15
218. Markantonis SL, Markou N, Fousteri M et al. Penetration of Colistin into Cerebrospinal Fluid. Antimicrob Agents Chemother 2009; 53(11):4907-4910. DOI: 10.1128/AAC.00345-09
219. Walsh CC, McIntosh MP, Peleg AY, Kirkpatrick CM, Bergen PJ. In vitro pharmacodynamics of fosfomycin against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. J Antimicrob Chemother 2015; 70(11):3042-3050. DOI: 10.1093/jac/dkv221
220. Rodriguez-Rojas A, Couce A, Blazquez J. Frequency of spontaneous resistance to fosfomycin combined with different antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 2010; 54(11):4948-4949. DOI: 10.1128/AAC.00415-10
221. Diez-Aguilar M, Morosini MA, Tedim AP, Rodriguez I, Aktas, Cantón R. Antimicrobial Activity of Fosfomycin-Tobramycin Combination against *Pseudomonas aeruginosa* Isolates Assessed by Time-Kill Assays and Mutant Prevention Concentrations. Antimicrob Agents Chemother 2015; 59(10):6039-6045. DOI: 10.1128/AAC.00822-15
222. Montgomery AB, Rhomberg PR, Abuan T, Walters KA, Flamm RK. Amikacin-Fosfomycin at a Five-to-Two Ratio: Characterization of Mutation Rates in Microbial Strains Causing Ventilator-Associated Pneumonia and Interactions with Commonly Used Antibiotics. Antimicrob Agents Chemother 2014; 58(7):3708-3713. DOI: 10.1128/AAC.02779-13
223. Montgomery AB, Rhomberg PR, Abuan T, Walters KA, Flamm RK. Potentiation Effects of Amikacin and Fosfomycin against Selected Amikacin-Nonsusceptible Gram-Negative Respiratory Tract Pathogens. Antimicrob Agents Chemother 2014; 58(7):3714-3719. DOI: 10.1128/AAC.02780-13
224. Gómez-Garcés JL, Gil-Romero Y, Sanz-Rodríguez N, Muñoz-Paráiso C, Regodón-Domínguez M. Actividad in-vitro de fosfomicina, sola o en combinaciones, frente a aislamientos clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos. Enf Infect Mi

- crobol Clín 2016; 34(4):228-231. DOI: 10.1016/j.eimc.2015.06.016
225. Yamada S, Hyo Y, Ohmori S, Ohuchi M. Role of ciprofloxacin in its synergistic effect with fosfomycin on drug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*. Chemotherapy 2007; 53(3):202-209. DOI: 10.1159/000100811
226. Asuphon O, Montakantikul P, Houngsaitong J, Kiratisin P, Sonthisombat P. Optimizing intravenous fosfomycin dosing in combination with carbapenems for treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections in critically ill patients based on pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) simulation. Int J Infect Dis 2016; 50:23-29. DOI: 10.1016/j.ijid.2016.06.017
227. Chin NX, Neu NM, Neu HC. Synergy of fosfomycin with beta-lactam antibiotics against staphylococci and aerobic gram-negative bacilli. Drugs Exp Clin Res 1986; 12(12):943-947. PMID: 3569007
228. Zeitlinger MA, Marsik C, Georgopoulos A, Mäller M, Heinz G, Joukhadar C. Target site bacterial killing of ceftazidime and fosfomycin in critically ill patients. Int J Antimicrob Agents 2003; 21(6):562-567. PMID: 12791470
229. Okazaki M, Suzuki K, Asano N et al. Effectiveness of fosfomycin combined with other antimicrobial agents against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates using the efficacy time index assay. J Infect Chemother 2002; 8(1):37-42. DOI: 10.1007/s101560200004
230. Mirakhur A, Gallagher MJ, Ledson MJ, Hart CA, Walshaw MJ. Fosfomycin therapy for multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. J Cyst Fibros 2003; 2(1):19-24. DOI: 10.1016/S1569-1993(02)00143-1
231. Falagas ME, Kastoris AC, Karageorgopoulos DE, Rafailidis PI. Fosfomycin for the treatment of infections caused by multidrug-resistant non-fermenting Gram-negative bacilli: a systematic review of microbiological, animal and clinical studies. Int J Antimicrob Agents 2009; 34(2):111-120. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2009.03.009
232. Tunkel AR, Hasbun R, Bhimraj A et al. 2017 Infectious Diseases Society of America's Clinical Practice Guidelines for Healthcare-Associated Ventriculitis and Meningitis. Clin Infect Dis 2017;64:e34-e65. DOI: 10.1093/cid/ciw861
233. Remes F, Tomas R, Jindrak V, Vanis V, Setlik M. Intraventricular and lumbar intrathecal administration of antibiotics in post-neurosurgical patients with meningitis and/or ventriculitis in a serious clinical state. J Neurosurg 2013; 119(6):1596-1602. DOI: 10.3171/2013.6.JNS122126
234. Pai S, Bedford L, Ruramayi R et al. *Pseudomonas aeruginosa* meningitis/ventriculitis in a UK tertiary referral hospital. QJM 2016; 109(2):85-89. DOI: 10.1093/qjmed/hcv094
235. Gilbert B, Morrison C. Evaluation of intraventricular colistin utilization: A case series. J Crit Care 2017; 40:161-163. DOI: 10.1016/j.jcrc.2017.04.010
236. Plasencia V, Borrell N, Macia MD, Moya B, Perez JL, Oliver A. Influence of High Mutation Rates on the Mechanisms and Dynamics of In Vitro and In Vivo Resistance Development to Single or Combined Antipseudomonal Agents. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51(7):2574-2581. DOI: 10.1128/AAC.00174-07
237. Tato M, Garcia-Castillo M, Bofarull AM, Canton R. In vitro activity of ceftolozane/tazobactam against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and Enterobacteriaceae recovered in Spanish medical centres: Results of the CENIT study. Int J Antimicrob Agents 2015;46:502-510. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2015.07.004