



REVISTA ESPAÑOLA DE Quimioterapia

SPANISH JOURNAL
OF CHEMOTHERAPY

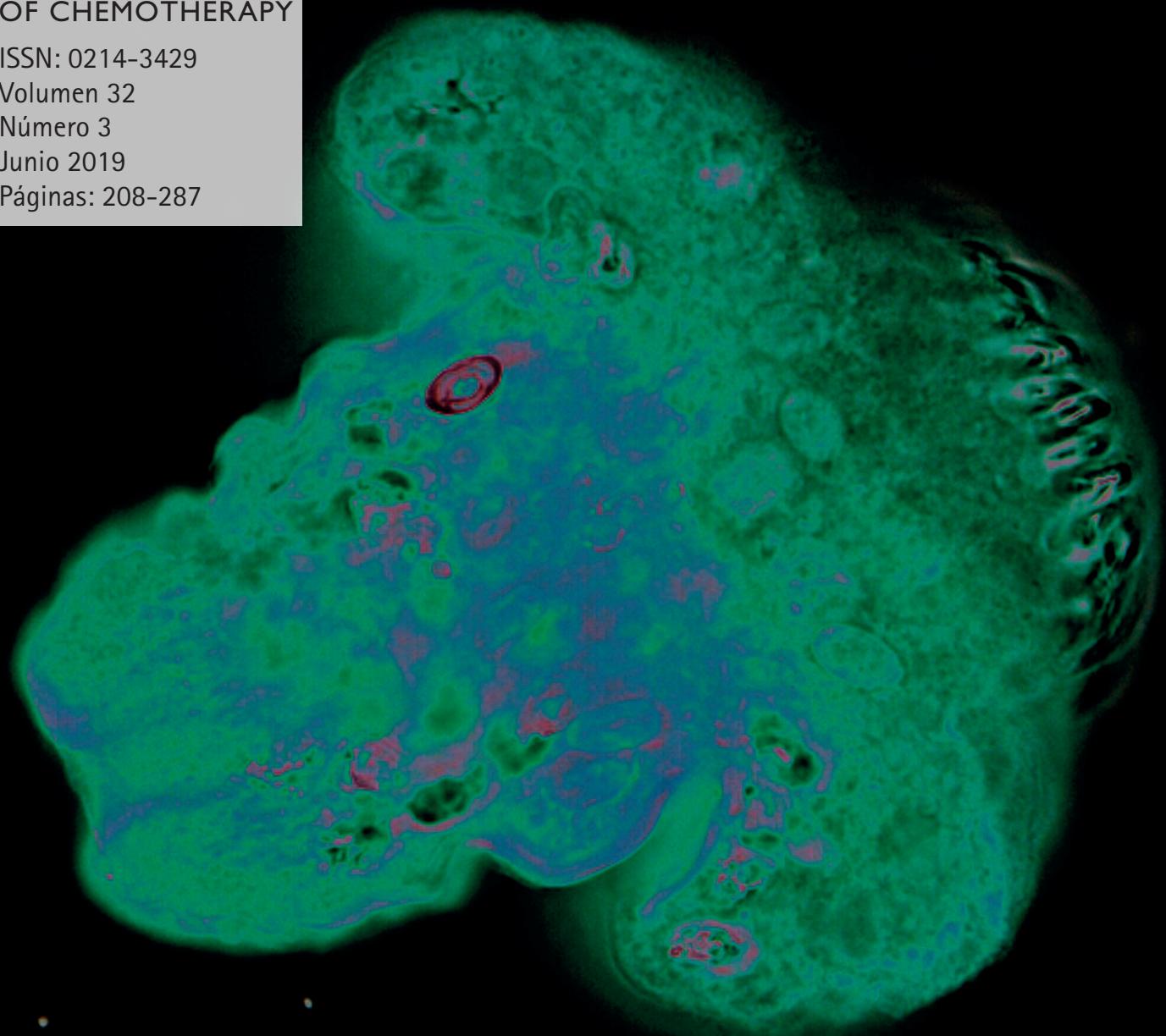
ISSN: 0214-3429

Volumen 32

Número 3

Junio 2019

Páginas: 208-287



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
Disponible en Internet:
www.seq.es

© Copyright 2019
Sociedad Española de Quimioterapia

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



Sociedad Española de Quimioterapia

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

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

Consulte nuestra página web
www.seq.es

Publicación que cumple los requisitos de soporte válido

ISSN
0214-3429

e-ISSN
1988-9518

Depósito Legal
M-32320-2012

Maquetación
Kumisai

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 lo previsto en el Reglamento General de Protección de Datos (RGPD) 2016/679 del Parlamento Europeo, 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 e-mail a la Sociedad Española de Quimioterapia (info@seq.es)

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)
G. Barbeito (Santiago de Compostela)
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)
F. Cobo (Granada)
J. Cobo Reinoso (Madrid)
N. Cobos (Madrid)
J. L. del Pozo (Navarra)
R. De la Cámara (Madrid)
C. De la Calle (Barcelona)
M. Domínguez-Gil (Valladolid)
J. Eiros (Valladolid)
P. Escribano (Madrid)
A. Estella (Cádiz)
M. C. Fariñas Álvarez (Santander)
C. Fariñas (Santander)

J. Fortún (Madrid)
J. J. Gamazo (Vizcaya)
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.M. Guardiola (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)

M. Ortega (Barcelona)
J. Oteo (Madrid)
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-Aval (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 32
Número 3
Junio 2019

Revisión	Del genoma de un patógeno a una vacuna efectiva: la vacuna de cuatro componentes frente a los meningococos del serogrupo B	208
	Raquel Abad, Federico Martínón-Torres, María Elena Santolaya, Angelika Banzhoff, Carmen González-Inchausti, María Gabriela Graña, Julio A. Vázquez	
Originales	Experiencia con colistina nebulizada en pacientes con bronquiectasias no fibrosis quística colonizadas por <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	217
	María del Mar López-Gil Otero, Elena Yaiza Romero-Ventosa, Débora Feijoo-Meléndez, Cristina Casanova-Martínez, Luis Otero-Millán, Guadalupe Piñeiro-Corrales	
	Episodios de salmonelosis no tifoidea en pacientes adultos del Área Valladolid Oeste en 2017: Evaluación de la idoneidad de la petición del cultivo microbiológico y del tratamiento pautado	224
	Mónica de Frutos, Ricardo Medina, Rosa Aragó, Luis López-Urrutia, Manuel González-Sagrado, Carmen Ramos, Marta Domínguez-Gil, Sonsoles Garcinuño, Lourdes Viñuela, José María Eiros	
	Adherencia a la higiene de manos con soluciones hidroalcohólicas en estudiantes de medicina. Estudio descriptivo transversal	232
	Diego Rodríguez-Villar, Juan Antonio Del-Moral-Luque, Jesús San-Román-Montero, Angel Gil-de-Miguel, Gil Rodríguez-Caravaca, Manuel Durán-Poveda	
	Resultados clínicos iniciales y variables pronósticas en la implementación de un Código Sepsis en un Hospital Universitario de alta complejidad	238
	Fernando Ramasco, Angels Figuerola, Rosa Méndez, Diego Rodríguez Serrano, Andrés von Wernitz, Ana Hernández-Aceituno, Carmen Sáez, Laura Cardeñoso, Elena Martín, Nieves García-Vázquez, Carmen de las Cuevas, Natalia Pascual, Azucena Bautista, David Jiménez, Guillermo Fernández, Ana Leal, Mercedes Vinuesa, Alberto Pizarro, Marcello di Martino, Lourdes Del Campo, Iñigo García Sanz, Marta Chicot, Ana Barrios, María José Rubio, the members of de Code Sepsis H.U de La Princesa	
	Diagnóstico de meningitis/encefalitis en UCI con sistema de PCR múltiple. ¿Es tiempo de cambio?	246
	Lucía López-Amor, Dolores Escudero, Javier Fernández, Lorena Martín-Iglesias, Lucía Viña, Jonathan Fernández-Suárez, Álvaro Leal-Negredo, Blanca Leoz, Laura Álvarez-García, Cristian Castelló-Abietar, José Antonio Boga, Fernando Vázquez	
	Descripción de los aislamientos de enterobacterias productoras de carbapenemasa en un hospital terciario. Análisis epidemiológico e impacto clínico	254
	Laura López-González, José Manuel Viñuela-Prieto, Icíar Rodríguez-Avial, Rocío Manzano, Francisco Javier Candel	
Original Breve	Resistencia a inhibidores de la integrasa en Argentina: primera encuesta interina	263
	Diego M. Cecchini, Sonia Castillo, Gastón Copertari, Verónica Lacal, Claudia G. Rodríguez, Isabel Cassetti	
	Efecto de la administración de un probiótico con lactobacilos y bifidobacterias en la diarrea asociada a antibióticos	268
	Olivia García Trallero, Luis Herrera Serrano, Montse Bibián Inglés, David Roche Vallés, Ana María Rodríguez	

Sumario



Volumen 32
Número 3
Junio 2019

Cartas al Director	Aspergilosis diseminada en una paciente inmunocompetente en tratamiento con corticoides: valor de la PCR en el diagnóstico	273
	Emilio Guirao-Arrabal, César García-López, Francisco Anguita-Santos, Javier de la Cruz-Sabido, Natalia Chueca, Elena Ruiz-Escalano, Luis Aliaga-Martínez, Pilar Giner-Escobar, Ángel Ceballos-Torres	
	Tratamiento con dalbavancina de un caso de piomisitis con evolución tórpida por <i>Staphylococcus aureus</i> sensible a meticilina	276
	Judith Álvarez Otero, Ana Sanjurjo Rivo, José Luis Lamas Ferreiro, Javier de la Fuente Aguado	
	Balanopostitis por <i>Facklamia hominis</i> en Pediatría	278
	José María Gómez-Luque, Carla Foronda-García-Hidalgo, José Gutiérrez-Fernández	
	El nuevo calendario vacunal oficial del adulto no contempla la prevención de la neumonía neumocócica	281
	Esther Redondo, Irene Rivero-Calle, Enrique Mascarós, José Luis Díaz-Maroto, Manuel Linares, Ángel Gil, Jesús Molina, Isabel Jimeno, Daniel Ocaña, José Enrique Yuste, Federico Martínón-Torres y en nombre del grupo de Neumoexpertos en Prevención	
	Conjuntivitis por <i>Capnocytophaga ochracea</i> en un neonato de dos semanas	284
	Margarita Bolaños Rivero, María Aroca Ferri, Beatriz Ruiz Derlinchan, Antonio Manuel Martín Sánchez	
	A propósito de dos casos de thelaziosis ocular humana	286
	Jorge Gutiérrez Deltell, Sofía Rodríguez Calderón, María Isabel Paz Vidal, Margarita de La Fuente Iglesias	



GILEAD

Advancing Therapeutics. Improving Lives.



Advancing Therapeutics, Improving Lives.

Desde hace más de 30 años Gilead investiga, desarrolla y comercializa medicamentos innovadores en áreas de salud cuyas necesidades terapéuticas no están cubiertas.

Nuestros medicamentos y líneas de investigación incluyen tratamientos para diferentes áreas terapéuticas: VIH/sida, enfermedades hepáticas, hematológicas y oncológicas, 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 32
Number 3
June 2019

Review	From a pathogen's genome to an effective vaccine: the four-component meningococcal serogroup B vaccine	208
	Raquel Abad, Federico Martínón-Torres, María Elena Santolaya, Angelika Banzhoff, Carmen González-Inchausti, María Gabriela Graña, Julio A. Vázquez	
Originals	Experience with nebulised colistin in patients with non-cystic fibrosis bronchiectasis colonised with <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	217
	María del Mar López-Gil Otero, Elena Yaiza Romero-Ventosa, Débora Feijoo-Meléndez, Cristina Casanova-Martínez, Luis Otero-Millán, Guadalupe Piñeiro-Corrales	
	Episodes of nontyphoidal salmonellosis in adult patients of the Valladolid West Area in 2017: Evaluation of the suitability of the microbiological culture request and the prescribed treatment	224
	Mónica de Frutos, Ricardo Medina, Rosa Aragó, Luis López-Urrutia, Manuel González-Sagrado, Carmen Ramos, Marta Domínguez-Gil, Sonsoles Garcinuño, Lourdes Viñuela, José María Eiros	
	Hand hygiene compliance with hydroalcoholic solutions in medical students. Cross-sectional study	232
	Diego Rodríguez-Villar, Juan Antonio Del-Moral-Luque, Jesús San-Román-Montero, Ángel Gil-de-Miguel, Gil Rodríguez-Caravaca, Manuel Durán-Poveda	
	Initial clinical outcomes and prognostic variables in the implementation of a Code Sepsis in a high complexity University Hospital	238
	Fernando Ramasco, Angels Figuerola, Rosa Méndez, Diego Rodríguez Serrano, Andrés von Wernitz, Ana Hernández-Aceituno, Carmen Sáez, Laura Cardeñoso, Elena Martín, Nieves García-Vázquez, Carmen de las Cuevas, Natalia Pascual, Azucena Bautista, David Jiménez, Guillermo Fernández, Ana Leal, Mercedes Vinuesa, Alberto Pizarro, Marcello di Martino, Lourdes Del Campo, Iñigo García Sanz, Marta Chicot, Ana Barrios, María José Rubio, the members of de Code Sepsis H.U de La Princesa	
	Meningitis/Encephalitis diagnosis in ICU using Multiplex PCR system: Is it time of change?	246
	Lucía López-Amor, Dolores Escudero, Javier Fernández, Lorena Martín-Iglesias, Lucía Viña, Jonathan Fernández-Suárez, Alvaro Leal-Negredo, Blanca Leoz, Laura Alvarez-García, Cristian Castelló-Abietar, José Antonio Boga, Fernando Vázquez	
	Description of carbapenemase-producing <i>Enterobacteriaceae</i> isolates in a Spanish tertiary hospital. Epidemiological analysis and clinical impact	254
	Laura López-González, José Manuel Viñuela-Prieto, Icíar Rodríguez-Avial, Rocío Manzano, Francisco Javier Candel	
Brief Report	Resistance to HIV integrase strand transfer inhibitors in Argentina: first interim survey	263
	Diego M. Cecchini, Sonia Castillo, Gastón Copertari, Verónica Lacal, Claudia G. Rodriguez, Isabel Cassetti	
	Effect of the administration of a probiotic with a combination of <i>Lactobacillus</i> and <i>Bifidobacterium</i> strains on antibiotic-associated diarrhea	268
	Olivia García Trallero, Luis Herrera Serrano, Montse Bibián Inglés, David Roche Vallés, Ana María Rodríguez	

Contents



Volume 32
Number 3
June 2019

Letters to the editor	Disseminated aspergillosis in an immunocompetent patient treated with corticosteroids: value of PCR for diagnosis	273
	Emilio Guirao-Arrabal, César García-López, Francisco Anguita-Santos, Javier de la Cruz-Sabido, Natalia Chueca, Elena Ruiz-Escalano, Luis Aliaga-Martínez, Pilar Giner-Escobar, Ángel Ceballos-Torres	
	Dalbavancin treatment of methicillin-susceptible <i>Staphylococcus aureus</i> pyomyositis with torpid evolution: a case report	276
	Judith Álvarez Otero, Ana Sanjurjo Rivo, José Luis Lamas Ferreiro, Javier de la Fuente Aguado	
	Balanopostitis by <i>Facklamia hominis</i> in pediatrics	278
	José María Goméz-Luque, Carla Foronda-García-Hidalgo, José Gutiérrez-Fernández	
	The new official vaccine calendar for adults does not include the prevention of pneumococcal pneumonia	281
	Esther Redondo, Irene Rivero-Calle, Enrique Mascarós, José Luis Díaz-Maroto, Manuel Linares, Ángel Gil, Jesús Molina, Isabel Jimeno, Daniel Ocaña, José Enrique Yuste, Federico Martínón-Torres y en nombre del grupo de Neumoexpertos en Prevención	
	Conjunctivitis by <i>Capnocytophaga ochracea</i> in a two weeks newborn	284
	Margarita Bolaños Rivero, María Aroca Ferri, Beatriz Ruiz Derlinchan, Antonio Manuel Martín Sánchez	
	About two cases of human ocular thelaziosis	286
	Jorge Gutián Deltell, Sofía Rodríguez Calderón, María Isabel Paz Vidal, Margarita de La Fuente Iglesias	



Revisión

Raquel Abad¹
Federico Martín-Torres^{2,3}
María Elena Santolaya⁴
Angelika Banzhoff⁵
Carmen González-Inchausti⁶
María Gabriela Graña⁷
Julio A. Vázquez¹

Del genoma de un patógeno a una vacuna efectiva: la vacuna de cuatro componentes frente a los meningococos del serogrupo B

¹Laboratorio de Referencia para Meningococos, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Ctra. Majadahonda-Pozuelo Km. 2,200, 28220 Majadahonda, Madrid, España

²Hospital Clínico Universitario de Santiago, Pediatría Traslacional y Enfermedades Infecciosas, Rúa da Choupana s/n, 15706 Santiago de Compostela, A Coruña, España

³Grupo de investigación sobre Genética, Vacunas, Infecciones y Pediatría (GENVIP), Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago, Universidad de Santiago, Praza do Obradoiro 0, 15705 Santiago de Compostela, A Coruña, España

⁴Hospital Dr Luis Calvo Mackenna, Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Antonio Varas 360, 7500539 Providencia, Santiago, Chile

⁵GSK, Departamento Médico Global, Emil-von-Behring-Strasse 76, 35041 Marburgo, Alemania

⁶GSK, Departamento Médico, C/ Severo Ochoa 2, 28760 Tres Cantos, Madrid, España

⁷GSK, Departamento Médico, Avenue Andrés Bello 2687, floor 19, 7550000 Las Condes, Santiago, Chile

Article history

Received: 5 April 2019; Accepted: 22 May 2019

RESUMEN

La enfermedad meningocócica invasiva (EMI), causada por la bacteria *Neisseria meningitidis*, supone una mortalidad y morbilidad significativas. La incidencia de la enfermedad alcanza el máximo entre lactantes <1 año y niños pequeños en todo el mundo. En Europa, el serogrupo B de *N. meningitidis* es responsable de más del 50 % de todos los casos de EMI, mientras que en Latinoamérica la mayoría de los casos de EMI se deben a los serogrupos B o C. El desarrollo de una vacuna efectiva frente al serogrupo B ha supuesto un reto para los investigadores a lo largo de más de medio siglo. Los polisacáridos capsulares del serogrupo B no eran antígenos vacunales apropiados, y el éxito de las vacunas de vesículas de la membrana externa (OMV) se limitaba a las cepas bacterianas homólogas. La vacunología inversa permitió desarrollar una vacuna meningocócica de 4 componentes que incluía tres antígenos novedosos y las OMVs (4CMenB). Cada componente de la vacuna posee una diana distinta. La vacuna 4CMenB ha sido autorizada basándose en datos de inmunogenicidad y seguridad, debido a que la baja incidencia de la enfermedad impide la realización de estudios de eficacia clínica. El análisis de anticuerpos bactericidas en suero con complemento humano (hSBA) mide los anticuerpos funcionales del suero de los sujetos vacunados (es decir, la inmunogenicidad vacunal) y constituye un correlato de protección aceptado. La cobertura de cepas vacunales se ha evaluado tanto mediante el análisis de la hSBA, como mediante otro método más conservador denominado Sistema de Tipificación de Antígenos Meningocócicos (MATS). Desde 2013, se han recogido datos de

efectividad en vida real de 4CMenB. La vacuna resultó efectiva en el control de brotes de Norteamérica y los datos recientes de introducción de la vacuna en el programa nacional de vacunación de lactantes del Reino Unido, han revelado una efectividad vacunal del 82,9 % tras las dos primeras dosis, junto a un perfil de seguridad aceptable.

PALABRAS CLAVE : 4CMenB; anticuerpos bactericidas; Bexsero; inmunogenicidad; enfermedad meningocócica invasiva; *Neisseria meningitidis*; vacunología inversa; seguridad; Meningococo serogrupo B; vacuna

From a pathogen's genome to an effective vaccine: the four-component meningococcal serogroup B vaccine

ABSTRACT

Invasive meningococcal disease (IMD), caused by the bacterium *Neisseria meningitidis*, entails significant mortality and morbidity. Disease incidence is highest in infants <1 year and young children globally. In Europe, *N. meningitidis* serogroup B is responsible for over 50% of overall IMD cases, whereas the majority of IMD cases in Latin America is caused either by serogroup B or C. The development of an effective vaccine against serogroup B has challenged the researchers for over half a century. Serogroup B capsular polysaccharide was an inappropriate vaccine antigen, and the success of outer membrane vesicle (OMV) vaccines was restricted to homologous bacterial strains. Reverse vaccinology led to the development of a 4-component meningococcal vaccine including three novel antigens, and OMVs (4CMenB). Each vaccine component has a different target. 4CMenB has been authorised based on its immunogenicity and safety data because the low disease incidence precluded formal clinical efficacy studies. Human serum bactericidal antibody (hSBA) assay tests functional antibodies in the serum of vaccinated individuals (i.e. the

Correspondencia:

Raquel Abad, Laboratorio de Referencia para Meningococos, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Ctra. Majadahonda-Pozuelo Km. 2,200, 28220 Majadahonda, Madrid, España
Tfno.: +34 918223617
Fax: +34 915097901
E-mail: rabad@isciii.es

vaccine immunogenicity), and is the accepted correlate of protection. Vaccine strain coverage has been assessed both through hSBA assays and a more conservative method named Meningococcal Antigen Typing System (MATS). Effectiveness data of 4CMenB have been collected in the field since 2013. The vaccine proved effective in outbreak control in North America, and recent data from the introduction of the vaccine in the United Kingdom infant national immunisation programme reveal a vaccine effectiveness of 82.9% for the first two doses, with an acceptable safety profile.

KEYWORDS: 4CMenB; bactericidal antibody; Bexsero; immunogenicity; invasive meningococcal disease; *Neisseria meningitidis*; reverse vaccinology; safety; serogroup B meningococcus; vaccine



ACceso a la Vídeo Presentación

Del genoma de un patógeno a una vacuna efectiva: la vacuna de cuatro componentes frente a los meningococos del serogrupo B

INTRODUCCIÓN

La meningitis y la septicemia son las presentaciones clínicas más habituales de la enfermedad meningocócica invasiva (EMI). La EMI produce una mortalidad significativa y las tasas de letalidad varían entre el 8 y el 15 % si la enfermedad es tratada, llegando hasta el 50 % si no se trata [1]. Entre los supervivientes de la EMI, del 10 al 20 % sufren secuelas a largo plazo, que pueden ser físicas (p. ej., amputaciones, cicatrices), neurológicas (p. ej., alteraciones de la audición/visión, convulsiones, trastornos cognitivos, déficits motores) o relacionadas con la salud mental (p. ej., ansiedad) y la conducta [1-4].

La EMI es producida por la bacteria *Neisseria meningitidis*, que es transmitida persona a persona mediante secreciones respiratorias y saliva [1]. Los serogrupos A, B, C, W, X e Y son responsables de la mayoría de los casos de EMI [1, 5].

La incidencia de EMI varía según el grupo etario y la región geográfica [6]. La prevalencia de los serogrupos patógenos también difiere según la región. La incidencia de EMI suele ser más alta en lactantes y niños pequeños, con picos secundarios en la adolescencia y en las personas mayores de 65 años en algunos lugares [6, 7].

En Europa, los serogrupos meningocócicos B (MenB) y C (MenC), son los responsables de la mayoría de los casos de enfermedad [6]. Desde 2012 hasta 2016, las tasas de notificación de MenB y MenC descendieron en Europa. En 2016, la tasa global de notificaciones de EMI llegó a 0,6 casos por 100.000 habitantes y el 54 % de los casos confirmados de EMI se debieron a MenB [8].

En España, la incidencia de EMI alcanzó 0,58 por 100.000 habitantes en la temporada de 2016-2017. La incidencia máxima ocurrió entre lactantes menores de un año y niños pequeños (de 1-4 años): 7,89 y 3,13 casos confirmados por 100.000 habitantes, respectivamente. La mayoría de los casos (51,5 %) se produjeron por MenB [9].

En Latinoamérica, la incidencia notificada de EMI ha

oscilado entre 0,1 y 1,8 por 100.000 habitantes [10, 11]. En países como Brasil, tras la introducción de la vacuna conjugada frente a MenC, la prevalencia de este serogrupo disminuyó hasta el 59 % en 2017, mientras que MenB fue responsable del 21 % de todos los casos en ese mismo año [12, 13]. En Argentina y Chile, el serogrupo W (MenW) ha emergido en los dos últimos decenios como una causa importante de EMI en ambos países [14, 15]. En 2017, la mayoría (59 %) de los casos de EMI de Chile fueron causados por MenW y el 33 % por MenB [16]. En Argentina, MenB y MenW provocaron el 59% y el 24% de todos los casos de EMI, respectivamente [17]. La mayor incidencia de EMI se dio en los lactantes menores de un año [11, 14].

DESARROLLO E HISTORIA DE LAS VACUNAS MENINGOCÓCICAS

La tabla 1 muestra los distintos tipos de vacunas frente a *N. meningitidis* según la naturaleza química de los antígenos y resume sus características principales.

La primera vacuna meningocócica fue desarrollada con éxito en respuesta a una epidemia de EMI por MenC en los reclutas del ejército de los Estados Unidos entre 1969 a 1971 [2]: como antígeno se utilizó un polisacárido capsular purificado específico de MenC [18].

Las vacunas de polisacáridos bivalentes y tetravalentes que cubrían los serogrupos A y C, ó A, C, W e Y, respectivamente, han estado disponibles desde la década de los 70 [19] y se han mostrado eficaces para el control de brotes [20]. Sin embargo, estas vacunas de primera generación tienen algunos inconvenientes graves como consecuencia de su incapacidad para inducir una respuesta dependiente de linfocitos T [21].

Las vacunas de polisacáridos conjugados supusieron un avance importante; el polisacárido capsular está unido por enlace covalente a una proteína muy inmunógena. De esta manera, se aumentó la inmunogenicidad en los niños menores de 2 años [22, 23], se indujo memoria inmune [24], se observó una reducción en la portación y un efecto rebaño [25, 26].

Desafortunadamente, este método no funcionó con MenB [27]. El polisacárido capsular de MenB es idéntico al ácido N-acetilneuramínico, ampliamente presente en humanos y que como autoantígeno, resulta poco inmunógeno en la especie humana. Además, el uso de este polisacárido en una vacuna podría desencadenar autoanticuerpos [28, 29].

Otra alternativa es el uso de vacunas de vesículas de la membrana externa (OMV), que contienen proteínas expuestas en la superficie en su conformación nativa. Se ha demostrado que las vacunas OMV inducen una respuesta de anticuerpos bactericidas del suero y han protegido frente al desarrollo de la enfermedad meningocócica en distintos entornos (Chile, Noruega, Cuba y Nueva Zelanda). Sin embargo, las proteínas antigenicas principales poseen una gran variabilidad en su secuencia, por lo que las vacunas OMV frente a MenB no inducen anticuerpos protectores frente a las cepas heterólogas [30].

Tabla 1

Tipos de vacunas frente a *Neisseria meningitidis* y características principales

Tipo de vacuna	Antígenos principales	Serogrupos diana	Uso	Mejoras principales	Limitaciones
Vacunas de polisacáridos	Polisacáridos capsulares	A, C, W, Y	respuesta a brotes	N/D	- poca inmunogenicidad para niños <2 años - ninguna memoria inmunitaria - hiporrespuesta - técnica no adecuada para el serogrupo B
Vacunas conjugadas	Polisacáridos capsulares + proteína transportadora (DT, TT, CRM ₁₉₇)	A, C, W, Y	prevención y respuesta a brotes	- mayor inmunogenicidad para niños <2 años - memoria inmunitaria - protección directa e indirecta - reducción de la portación	- técnica no adecuada para el serogrupo B
Vacunas OMV	PorA	B	respuesta a brotes	N/D	- no induce protección frente a cepas heterólogas debido a la alta variabilidad genética de la proteína antigénica (PorA)
Vacuna basada en proteínas	Dos variantes de fHbp	B	prevención y respuesta a brotes	- Intervalo de cepas	N/D
	PorA + 3 antígenos de <i>Neisseria</i> derivados del genoma	B	prevención y respuesta a brotes	- Buena inmunogenicidad - Buena efectividad - Amplio intervalo de cepas	N/D

CRM₁₉₇: material de reacción cruzada 197; DT: toxoide diftérico; fHbp: proteína de unión al factor H; N/D: no determinado; TT: toxoide tetánico; OMV: vesícula de membrana externa. CRM₁₉₇ es un derivado atóxico del toxoide diftérico.

DESARROLLO, MEDIANTE VACUNOLOGÍA INVERSA, DE UNA VACUNA MENINGOCÓCICA CON UNA AMPLIA COBERTURA FRENTE A MenB (4CMenB)

Identificación de proteínas candidatas idóneas para el desarrollo de 4CMenB. La perspectiva de una vacuna universal frente a MenB parecía remota hasta finales de la década de 1990, momento en que los investigadores presentaron un nuevo método para el desarrollo de vacunas, la vacunología inversa.

La vacunología inversa comienza con la secuenciación de todo el genoma del patógeno, para acabar identificando proteínas antigenicas capaces de inducir protección con un espectro amplio de cobertura [31, 32].

La secuenciación del genoma completo de la cepa MC58, una cepa virulenta de *N. meningitidis*, permitió la identificación de 2.158 genes (*predicted genes*, en inglés). Posteriormente, durante los ensayos *in silico* este número se redujo hasta 570:

el objetivo de esta etapa era seleccionar genes que codificaran proteínas accesibles al sistema inmunitario, es decir, que se localizaran en la membrana externa o que fueran secretadas. Estos genes se expresaron después en *Escherichia coli* y en total, se produjeron y purificaron 350 proteínas recombinantes [31].

A continuación, se utilizaron esas proteínas recombinantes purificadas (es decir, los antígenos candidatos) para inmunizar a ratones. La localización en la membrana externa de los antígenos candidatos se comprobó mediante inmunoprecipitación de extractos celulares totales y de proteínas purificadas de la membrana externa con sueros de ratones inmunes [32, 33]. Los inmunosueros también se analizaron mediante inmunoadsorción ligada a enzimas (ELISA), citometría de flujo activada por fluorescencia (FACS) y análisis de la actividad bactericida del suero (SBA). Con las pruebas ELISA y FACS se comprobó la localización en la superficie de los antígenos candidatos y se evaluó cuantitativamente la respuesta de anticuerpos antes y después de la inmunización

[33]. El objetivo del análisis SBA era medir la capacidad de los antígenos candidatos para inducir una actividad bactericida mediada por complemento [33], utilizado como correlato de protección de eficacia de la vacuna en humanos [34, 35]. De los 350 antígenos candidatos analizados, 91 fueron positivos de una manera robusta en al menos una de las pruebas (ELISA, FACS o SBA) [33]. Aún más importante, 28 de los 350 antígenos candidatos indujeron SBA en ratones [33, 36].

En esta etapa, se examinó la capacidad de los antígenos candidatos para inducir una protección pasiva en ensayos de protección murina o en ensayos SBA. Para los análisis SBA se emplearon sets de bacterias que contenían cepas patógenas de MenB, aisladas en todo el mundo, a lo largo de muchos años, y representativas de la diversidad natural de este serogrupo. El objetivo era seleccionar antígenos que proporcionaran la máxima cobertura de cepas posible, es decir, que incluyeran cepas homólogas y heterólogas [31, 36].

Las proteínas candidatas finalmente elegidas se denominaron antígenos de *Neisseria* derivados del genoma (GNA): GNA2132 (antígeno de unión a la heparina de *Neisseria* o NHBA), GNA1870 (proteína de unión al factor H o fHbp) y GNA1994 (adhesina A de *Neisseria* o NadA) [33]. El NHBA y la fHBP se incluyeron en la vacuna como proteínas de fusión con GNA1030 y GNA2091, respectivamente [33, 35].

Vacuna meningocócica 4CMenB de 4 componentes frente a MenB. La formulación final de 4CMenB (Bexsero, GSK) contiene 50 µg de cada una de las tres proteínas recombinantes identificadas por medio de vacunología inversa y 25 µg de las OMVs de la cepa NZ98/254 de MenB. Esta última contiene PorA P1.4 [33], que es el antígeno inmunodominante de la vacuna basada en OMV utilizada en el control del brote de Nueva Zelanda (vacuna MeNZB) [37, 38] y se añadió para proporcionar una cobertura más amplia de cepas y porque reforzaba la inmunogenicidad de las proteínas recombinantes incluidas en la vacuna [33, 39].

Los cuatro antígenos vacunales cumplen funciones biológicas diversas en *N. meningitidis*: fHbp se une al factor H humano y, en consecuencia, facilita la supervivencia bacteriana en la sangre; NadA facilita la adhesión y la invasión de las células epiteliales humanas; NHBA se une a la heparina, que fomenta la supervivencia bacteriana en la sangre; y la PorA P1.4 favorece la evasión inmunitaria (tabla 1) [30].

Los cuatro componentes implicados en los distintos mecanismos de supervivencia bacteriana se combinaron para conferir un espectro más amplio de cobertura vacunal y reducir las posibilidades de evasión de la bacteria [33].

CORRELACIÓN ENTRE LA PROTECCIÓN Y EL SISTEMA DE TIPIFICACIÓN DE ANTÍGENOS MENINGOCÓCICOS (MATS)

Los estudios de eficacia clínica constituyen el "gold standard" para demostrar la eficacia vacunal y, por eso, son los más recomendados para el registro de vacunas. Sin embargo, estos estudios no se pueden efectuar con las

vacunas meningocócicas debido a la escasa incidencia de la enfermedad. En su lugar, las vacunas meningocócicas glicoconjugadas se han registrado en base a datos de inmunogenicidad y seguridad sin ningún estudio formal de eficacia [40]. Los datos de inmunogenicidad se recogen mediante un análisis de anticuerpos funcionales, el análisis SBA con complemento humano (hSBA). De acuerdo con la serie de estudios de Goldschneider et al. de la década de 1960 y otros análisis [41], los análisis hSBA se han aceptado como correlato de protección [34, 35]. En los primeros estudios clínicos se aplicaron umbrales $\geq 1:4$ para los títulos hSBA pero, en estudios posteriores, se adoptó un valor más conservador $\geq 1:5$, pues el límite inferior del intervalo bilateral de confianza (IC) del 95 % para un título de 1:5 es un título de 1:4 [38].

Con las vacunas que utilizan polisacáridos capsulares como antígenos diana, se cubren todas las cepas que expresan esa cápsula. En cambio, 4CMenB se dirige a proteínas subcapsulares de la superficie de la bacteria, que pueden variar en su secuencia y nivel de expresión de una cepa a otra, lo cual influye en su capacidad de ser atacadas por los anticuerpos bactericidas [35]. Además del análisis de inmunogenicidad, la evaluación de la eficacia vacunal exige, por lo tanto, una evaluación del número de cepas MenB circulantes que serían destruidas por los anticuerpos inducidos con la vacuna, lo cual permite estimar la cobertura de cepas. Preferentemente, la cobertura de cepas se debería medir con análisis hSBA, donde la cepa testada, si es susceptible, es destruida. Sin embargo, la realización del análisis hSBA, teniendo en cuenta el elevado número de cepas MenB circulantes diversas (más de 8000 cepas) [42], ofrece dificultades logísticas y éticas porque se necesitarían grandes volúmenes de suero [30, 35, 43].

En este contexto, se desarrolló un método nuevo conocido como MATS, que permite calcular la cobertura de cepas con 4CMenB. El MATS es un análisis tipo ELISA de las proteínas recombinantes de 4CMenB combinado con la genotipificación convencional de PorA. El MATS se diseñó en base a una correlación con la destrucción inducida en hSBA. Predice el porcentaje de cepas de MenB que podría cubrir la vacuna en una región geográfica, por medio del cálculo de la expresión y de la reactividad cruzada de las variantes antigenicas incluidas en la vacuna, tomando una colección de aislados bacterianos representativos de esa región geográfica [43]. Sin embargo, MATS es muy conservador y subestima la cobertura real de las cepas. De hecho, algunas cepas que, según MATS, no estarían cubiertas por la vacuna, fueron destruidas en los análisis hSBA [35, 44]. No se tienen en cuenta los efectos sinérgicos de los diversos componentes de la vacuna, ni los efectos complementarios de los anticuerpos no bactericidas y constituyentes menores de OMV [45, 46]. Además, la expresión de las proteínas puede ser diferente en los aislados cultivados *in vitro* vs. la expresión en la bacteria durante una infección natural. Así, la expresión de NadA está reprimida en las condiciones de cultivo empleadas en MATS. Por último, la expresión de NHBA está regulada por la temperatura y se reduce a 37°C, temperatura a la que se efectúa el MATS [43, 47].

EXPERIENCIA CON 4CMenB EN EL MUNDO REAL

Pauta recomendada. Los estudios clínicos se han ejecutado con sujetos de distintos grupos etarios (lactantes, niños, adolescentes y adultos). La respuesta inmunitaria obtenida ha variado en función de la edad del sujeto y del antígeno vacunal pero, al menos, el 95 % de los lactantes que recibieron una pauta 3+1 (2, 4, 6 y 12 meses) presentaron títulos hSBA $\geq 1:5$ frente a los 4 antígenos vacunales (1 mes después de la dosis del mes 12) [48] y el 99-100 % de adolescentes que recibieron pautas diferentes de dos dosis (administradas al cabo de 1 y 2 ó 6 meses) presentaron títulos hSBA $\geq 1:4$ frente a los 3 antígenos vacunales examinados (1 mes después de la segunda dosis) [49].

La Comisión Europea aprobó hace poco una nueva pauta reducida (2+1) de 4CMenB para lactantes. Esta pauta está indicada a partir de los 3 meses de edad y supone 2 dosis primarias más un recuerdo entre los 12 y 15 meses de edad. La aprobación de esta pauta se apoya en los estudios de Martinón et al., en los que se demostró que la inmunogenicidad de 4CMenB es similar con las pautas 2+1 y 3+1 [7, 50]. En los lactantes vacunados con una pauta de 3,5, 5 y 11 meses, entre el 88 y el 100 % presentaron títulos hSBA $\geq 1:4$ frente a los 4 antígenos contenidos en la vacuna 1 mes después de la dosis de recuerdo [7].

Datos de uso de 4CMenB en programas de vacunación en el mundo real. 4CMenB se registró por primera vez en Europa en 2013 [51]. Hoy se encuentra registrada en 42 países y ya se han distribuido más de 30 millones de dosis en todo el mundo (datos GSK noviembre de 2018).

4CMenB se ha administrado en respuesta a brotes en universidades estadounidenses. El primer brote tuvo lugar en la Universidad de Princeton, donde se diagnosticaron nueve casos de EMI por MenB (un caso en una universidad cercana) y se administraron 13.775 dosis de la vacuna en respuesta a ese brote: 7.143 jóvenes adultos recibieron la primera dosis y 6.632 la segunda. El segundo brote sucedió en la Universidad de California, Santa Bárbara (UCSB): 5 casos y alrededor de 17.500 dosis administradas (dosis 1: 9.831; dosis 2: 7.707) [52]. Para detener los dos brotes se introdujo 4CMenB en este país, antes de su registro, en base a la solicitud de aplicación de un nuevo medicamento en investigación de la Food and Drug Administration (FDA) [53, 54]. Tras la obtención de la autorización de comercialización para su administración a sujetos de 10-25 años en Estados Unidos, 4CMenB se utilizó en otros brotes como el de la Universidad Santa Clara (3 casos y aproximadamente 9.600 dosis de 4CMenB administradas: dosis 1: 4.921 y dosis 2: 4.731) [55] y el de la Universidad de Massachusetts Amherst (2 casos y más de 11.000 dosis administradas de la vacuna MenB; los servicios de salud universitaria administraron fundamentalmente 4CMenB) [56]. Tras implementar los programas de vacunación no surgieron nuevos casos de EMI entre las personas vacunadas [54, 55]. Los datos de seguridad de los dos primeros brotes (Princeton y UCSB) están publicados y se corresponden con las observaciones previas de los estudios clínicos [52].

En Quebec, Canadá, en mayo de 2014 se puso en marcha una campaña masiva de vacunación de corta duración en la región de Saguenay-Lac-Saint-Jean en respuesta al incremento prolongado en la incidencia de MenB. El programa se dirigía a sujetos con una edad de entre 2 meses y 20 años. Desde entonces y hasta diciembre de 2016 no se declaró ningún caso de EMI entre los cerca de 49.000 sujetos vacunados. Además, el riesgo de enfermedad disminuyó de manera significativa (razón entre tasas: 0,22, IC del 95 %: 0,05-0,92, P=0,04) y no se detectó ninguna reacción adversa (RA) grave o inesperada relacionada con la vacuna [57].

La vacuna 4CMenB se introdujo en septiembre de 2015 en el programa de vacunación de lactantes del Reino Unido con una pauta reducida (2+1) a los 2, 4 y 12 meses de edad [58]. 4CMenB se coadministra junto al resto de vacunas sistemáticas de la lactancia y se aconseja a los padres que administren paracetamol de forma profiláctica con las dos primeras dosis de la lactancia [58]. Diez meses después de iniciar el programa, la efectividad de las dos primeras dosis vacunales alcanzó el 82,9 % con unos altos niveles de cobertura vacunal (95,5 % para una dosis y 88,6 % para dos dosis antes de los 6 meses de edad) [59]. Hace poco, el *Joint Committee on Vaccination and Immunisation* (JCVI) publicó resultados preliminares tras dos años del comienzo del programa de vacunación, el número de casos de EMI por MenB sigue descendiendo entre los lactantes candidatos a la vacuna, con independencia de la cobertura vacunal. De manera curiosa, también se señala que ciertos casos de EMI por MenB evolucionaron de forma más leve como posible efecto de la vacunación [60].

En línea con la implementación del programa de vacunación, *Public Health England* ha efectuado una revisión de la seguridad de la vacuna: tras la distribución de 3 millones de dosis a 1,29 millones de lactantes a lo largo de 21 meses, y no se detectó ninguna RA significativa nueva. El perfil de seguridad se ajustó a los parámetros esperados y conocidos durante los estudios clínicos. La reactogenicidad de la vacuna no afectó al cumplimiento de la pauta vacunal ni de 4CMenB ni de otras vacunas sistemáticas [61]. Sin embargo, en un estudio reciente de Reino Unido se señaló un incremento significativo de las visitas a servicios de urgencias y de los ingresos hospitalarios tras la inclusión de 4CMenB como parte de las vacunas sistemáticas de la infancia [62]. Sin embargo, también se señaló que no había aumentado ningún otro marcador de la posible gravedad de las RA y de los ingresos tras la vacunación con 4CMenB (p. ej., convulsiones, duración de la estancia hospitalaria) [63]. El JCVI recomienda la profilaxis con paracetamol con las dos primeras dosis de 4CMenB [58]. Se ignora la adherencia a esta recomendación [63]. Aunque la fiebre es una RA conocida tras la vacunación con 4CMenB, las directrices nacionales en Reino Unido, en las que se recomienda un estudio a fondo de la fiebre de los lactantes, implicarían pruebas, tratamientos antibióticos e ingresos innecesarios. Este sería el precio a pagar para prevenir la meningitis, si bien esas las directrices nacionales probablemente deban revisarse [62, 64, 65].

Foco en el Paciente

¿Cuál es el contexto?

La enfermedad meningocócica invasiva es una enfermedad poco frecuente pero grave con una mortalidad y morbilidad significativas. Del 8 al 15 % de los pacientes muere y del 10 al 20 % sufren secuelas a largo plazo. En Europa, la enfermedad está causada sobre todo por el serogrupo B; los grupos etarios más afectados son los lactantes y niños pequeños. El desarrollo de una vacuna contra la enfermedad causada por el serogrupo B del meningococo (MenB) ha resultado complicado. Después de más de 20 años de investigación se desarrolló una vacuna MenB llamada *Bexsero* a través de una innovadora técnica conocida como "vacunología inversa". Esta vacuna combina cuatro componentes, cada uno de ellos con una diana distinta, que impactan en los diversos mecanismos de supervivencia de la bacteria.

¿Cuál es la novedad?

Aquí se resumen los aspectos esenciales del desarrollo de *Bexsero*, sus características y su impacto en la vida real. A lo largo de su desarrollo, esta vacuna ha mostrado una buena inmunogenicidad y una alta cobertura de cepas por lo que se previó de forma lógica una efectividad adecuada en la vida real. Hoy, la efectividad de la vacuna se ha confirmado tras campañas de vacunación que se han llevado a cabo en Estados Unidos, Canadá y sobre todo Reino Unido mediante el programa nacional de vacunación de lactantes.

¿Cuál es el impacto?

Teniendo en cuenta la evidencia creciente en cuanto a su efectividad y a un perfil de seguridad aceptable, esta nueva vacuna frente a MenB se ha introducido en los programas nacionales de vacunación de lactantes en países, como Irlanda, Italia, Andorra y Lituania.

Figura 1 | Foco en el paciente

CONCLUSIONES

4CMenB combina cuatro componentes, cada uno de ellos con una diana diferente, que influyen en los diversos mecanismos de supervivencia bacteriana. Prácticamente todas las cepas invasivas de MenB contienen genes para, al menos, un componente y la mayoría de las cepas invasivas de MenB contienen genes para más de un componente, lo que brinda múltiples dianas potenciales para los anticuerpos inducidos por la vacuna, aun cuando la expresión de un antígeno resulte baja o fenotípicamente distinta [30].

4CMenB ha demostrado un buen perfil de inmunogenicidad junto con una alta cobertura de cepas, lo que hizo prever una buena efectividad en vida real así como un perfil aceptable de seguridad. Esto ha sido ahora confirmado tras las campañas de vacunación llevadas a cabo en Estados Unidos, Canadá y, sobre todo, en Reino Unido, a través de su programa nacional de vacunación de lactantes. En la figura 1 se resumen el contexto, los resultados y el impacto de esta revisión para los profesionales sanitarios.

DECLARACIÓN DE MARCA COMERCIAL

Bexsero es una marca comercial del grupo de compañías GSK.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a la plataforma Business & Decision Life Sciences por el soporte editorial y en la coordinación de manuscritos, así como en el diseño de las animaciones digitales, en nombre de GSK. Grégory Leroux coordinó el desarrollo del manuscrito y el apoyo editorial, y Valerie Lafontaine proporcionó apoyo en el diseño. Los autores también agradecen el apoyo para la redacción médica de Marie Cloes (Business & Decision Life Sciences, en nombre de GSK).

FINANCIACIÓN

GlaxoSmithKline Biologicals SA financió la revisión bibliográfica, así como la elaboración y publicación del manuscrito.

CONFLICTOS DE INTERÉS

FMT refiere haber recibido honorarios de Astra Zeneca, Janssen and Merck Sharp & Dohme; honorarios personales de Merck Sharp & Dohme, Pfizer y Sanofi Pasteur; apoyo no económico del grupo de compañías GSK; y honorarios por

ensayos remitidos a su institución por Ablynx, Astra Zeneca, el grupo de compañías GSK, Janssen, MedImmune, Merck Sharp & Dohme, Novartis, Novavax, Pfizer, Regeneron y Sanofi Pasteur, fuera de la publicación enviada. MES refiere haber recibido honorarios de Novartis, el grupo de compañías GSK y Pfizer fuera de la publicación enviada. AB, CGI y MGG son empleados del grupo de compañías GSK. CGI posee acciones del grupo de compañías GSK. JAV refiere haber recibido honorarios de Pfizer, Novartis y Sanofi Pasteur; honorarios personales de Novartis, el grupo de compañías GSK, Pfizer y Sanofi Pasteur fuera de la publicación enviada. RA no declara ningún conflicto de interés.

CONTRIBUCIONES

RA, MES, AB, CGI, MGG y JAV concibieron la idea de este artículo y ejecutaron la búsqueda bibliográfica. Todos los autores analizaron e interpretaron la bibliografía publicada y participaron en la elaboración del manuscrito. Todos los autores tuvieron acceso pleno a los datos y aprobaron el manuscrito final. Todos los autores se hicieron responsables de todos los aspectos del trabajo y se ocuparon de investigar y resolver adecuadamente las cuestiones relacionadas con la exactitud e integridad de cualquier apartado del mismo. La investigación descrita se efectuó de acuerdo con las recomendaciones del ICMJE para la ejecución, notificación, edición y publicación de trabajos académicos en revistas médicas. El autor, al que se dirige la correspondencia, asumió la responsabilidad de enviar el manuscrito final para su publicación.

REFERENCIAS

- World Health Organization. Meningococcal meningitis. [cited 27 August 2018]. Available from: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/meningococcal-meningitis>.
- Dretler AW, Roushaw NG, Stephens DS. Progress toward the global control of *Neisseria meningitidis*: 21st century vaccines, current guidelines, and challenges for future vaccine development. *Hum Vaccin Immunother*. 2018;14(5):1146-60. doi: 10.1080/21645515.2018.1451810.
- Olbrich KJ, Müller D, Schumacher S, Beck E, Meszaros K, Koerber F. Systematic Review of Invasive Meningococcal Disease: Sequelae and Quality of Life Impact on Patients and Their Caregivers. *Infect Dis Ther*. 2018;7(4):421-38. doi: 10.1007/s40121-018-0213-2.
- Martinón-Torres F. Deciphering the Burden of Meningococcal Disease: Conventional and Under-recognized Elements. *J Adolesc Health*. 2016;59(2 Suppl):S12-20. doi: 10.1016/j.jadohealth.2016.03.041.
- Roushaw NG, Stephens DS. *Neisseria meningitidis*: biology, microbiology, and epidemiology. *Methods Mol Biol*. 2012;799:1-20. doi: 10.1007/978-1-61779-346-2_1.
- Jafri RZ, Ali A, Messonnier NE, Tevi-Benissan C, Durrheim D, Eskola J, et al. Global epidemiology of invasive meningococcal disease. *Popul Health Metr*. 2013;11(1):17. doi: 10.1186/1478-7954-11-17.
- Martinón-Torres F, Safadi MAP, Martínez AC, Marquez PI, Torres JCT, Weckx LY, et al. Reduced schedules of 4CMenB vaccine in infants and catch-up series in children: Immunogenicity and safety results from a randomised open-label phase 3b trial. *Vaccine*. 2017;35(28):3548-57. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.05.023.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Invasive meningococcal disease [cited 22 November 2018]. Available from: https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/AER_for_2016-invasive-meningococcal-disease_1.pdf.
- Centro Nacional de Epidemiología. Enfermedad meningocócica en España. Análisis de la temporada 2016-2017 [cited 17 July 2018]. Available from: http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-enfermedades/fd-enfermedades-prevenibles-vacunacion/pdf_2018/RENAVE-mng_2016-2017.pdf.
- Sáfadi MAP, Valenzuela MT, Carvalho AF, De Oliveira LH, Salisbury DM, Andrus JK. Knowing the scope of meningococcal disease in Latin America. *Rev Panam Salud Pública*. 2018;41:e118. doi: 10.26633/RPSP.2017.118.
- Harrison LH, Pelton SI, Wilder-Smith A, Holst J, Safadi MA, Vazquez JA, et al. The Global Meningococcal Initiative: recommendations for reducing the global burden of meningococcal disease. *Vaccine*. 2011;29(18):3363-71. doi: 10.1016/j.vaccine.2011.02.058.
- Sáfadi MA, Berezin EN, Arlant LH. Meningococcal Disease: Epidemiology and Early Effects of Immunization Programs. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2014;3(2):91-3. doi: 10.1093/jpids/piu027.
- Secretaria de Estado da Saúde - Coordenadoria de Controle de Doenças - Instituto Adolfo Lutz. Informação da vigilância das pneumonias e meningites bacterianas - Brasil [cited 2 November 2018]. Available from: http://www.ial.sp.gov.br/resources/instituto-adolfo-lutz/publicacoes/sireva_2017_2.pdf.
- Borrow R, Alarcón P, Carlos J, Caugant DA, Christensen H, Debbag R, et al. The Global Meningococcal Initiative: global epidemiology, the impact of vaccines on meningococcal disease and the importance of herd protection. *Expert Rev Vaccines*. 2017;16(4):313-28. doi: 10.1080/14760584.2017.1258308.
- Sáfadi MA, O'Ryan M, Valenzuela Bravo MT, Brandileone MC, Gorla MC, de Lemos AP, et al. The current situation of meningococcal disease in Latin America and updated Global Meningococcal Initiative (GMI) recommendations. *Vaccine*. 2015;33(48):6529-36. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.10.055.
- Instituto de Salud Pública de Chile. Informe de Resultados de Vigilancia de Laboratorio, Enfermedad Invasora *Neisseria meningitidis* 2017 [cited 1 November 2018]. Available from: <http://www.ispch.cl/sites/default/files/Informe%20Neisseria%20meningitidis%20%20SE%202015-2016.pdf>.
- INEI-ANLIS. Información sobre la vigilancia de las neumonías y meningitis bacterianas. SIREVA II. OPS. 2017 - *Neisseria meningitidis* [cited 29 October 2018]. Available from: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2018/07/Tablas-vigilancia-SIREVA-II-Nm-2017.pdf>.
- Gotschlich EC, Liu TY, Artenstein MS. Human immunity to the meningococcus. 3. Preparation and immunochemical properties of the group A, group B, and group C meningococcal polysaccharides. *J*

- Exp Med. 1969;129(6):1349-65. PMID: 4977282.
19. Trotter CL, Maiden MC. Meningococcal vaccines and herd immunity: lessons learned from serogroup C conjugate vaccination programs. *Expert Rev Vaccines*. 2009;8(7):851-61. doi: 10.1586/erv.09.48.
 20. Rosenstein N, Levine O, Taylor JP, Evans D, Plikaytis BD, Wenger JD, et al. Efficacy of meningococcal vaccine and barriers to vaccination. *JAMA*. 1998;279(6):435-9. doi: 10.1001/jama.279.6.435.
 21. Stein KE. Thymus-independent and thymus-dependent responses to polysaccharide antigens. *J Infect Dis*. 1992;165 Suppl 1:S49-52. doi: 10.1093/infdis/165-Supplement_1-S49.
 22. Lieberman JM, Chiu SS, Wong VK, Partridge S, Chang SJ, Chiu CY, et al. Safety and immunogenicity of a serogroups A/C *Neisseria meningitidis* oligosaccharide-protein conjugate vaccine in young children. A randomized controlled trial. *JAMA*. 1996;275(19):1499-503. doi: 10.1001/jama.1996.03530430043037.
 23. Twumasi PA, Jr., Kumah S, Leach A, O'Dempsey TJ, Ceesay SJ, Todd J, et al. A trial of a group A plus group C meningococcal polysaccharide-protein conjugate vaccine in African infants. *J Infect Dis*. 1995;171(3):632-8. doi: 10.1093/infdis/171.3.632.
 24. Borrow R, Goldblatt D, Andrews N, Southern J, Ashton L, Deane S, et al. Antibody persistence and immunological memory at age 4 years after meningococcal group C conjugate vaccination in children in the United Kingdom. *J Infect Dis*. 2002;186(9):1353-7. doi: 10.1086/344324.
 25. Maiden MC, Ibarz-Pavón AB, Urwin R, Gray SJ, Andrews NJ, Clarke SC, et al. Impact of meningococcal serogroup C conjugate vaccines on carriage and herd immunity. *J Infect Dis*. 2008;197(5):737-43. doi: 10.1086/527401.
 26. Ramsay ME, Andrews NJ, Trotter CL, Kaczmarski EB, Miller E. Herd immunity from meningococcal serogroup C conjugate vaccination in England: database analysis. *BMJ*. 2003;326(7385):365-6. doi: 10.1136/bmj.326.7385.365.
 27. Wyle FA, Artenstein MS, Brandt BL, Tramont EC, Kasper DL, Altieri PL, et al. Immunologic response of man to group B meningococcal polysaccharide vaccines. *J Infect Dis*. 1972;126(5):514-21. doi: 10.1093/infdis/126.5.514.
 28. Finne J, Leinonen M, Mäkelä PH. Antigenic similarities between brain components and bacteria causing meningitis. Implications for vaccine development and pathogenesis. *Lancet*. 1983;2(8346):355-7. doi: 10.1016/S0140-6736(83)90340-9.
 29. Häyrynen J, Jennings H, Raff HV, Rougon G, Hanai N, Gerardy-Schahn R, et al. Antibodies to polysialic acid and its N-propyl derivative: binding properties and interaction with human embryonal brain glycoproteins. *J Infect Dis*. 1995;171(6):1481-90. doi: 10.1093/infdis/171.6.1481.
 30. Toneatto D, Pizza M, Masignani V, Rappuoli R. Emerging experience with meningococcal serogroup B protein vaccines. *Expert Rev Vaccines*. 2017;16(5):433-51. doi: 10.1080/14760584.2017.1308828.
 31. Pizza M, Scarlato V, Masignani V, Giuliani MM, Aricò B, Comanducci M, et al. Identification of vaccine candidates against serogroup B meningococcus by whole-genome sequencing. *Science*. 2000;287(5459):1816-20. doi: 10.1126/science.287.5459.1816.
 32. Rappuoli R. Reverse vaccinology, a genome-based approach to vaccine development. *Vaccine*. 2001;19(17-19):2688-91. doi: 10.1016/S0264-410X(00)00554-5.
 33. Serruto D, Bottomley MJ, Ram S, Giuliani MM, Rappuoli R. The new multicomponent vaccine against meningococcal serogroup B, 4CMenB: immunological, functional and structural characterization of the antigens. *Vaccine*. 2012;30 Suppl 2:B87-97. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.01.033.
 34. Goldschneider I, Gotschlich EC, Artenstein MS. Human immunity to the meningococcus. I. The role of humoral antibodies. *J Exp Med*. 1969;129(6):1307-26. doi: 10.1084/jem.129.6.1307.
 35. Donnelly J, Medini D, Boccadifuccio G, Biolchi A, Ward J, Frasch C, et al. Qualitative and quantitative assessment of meningococcal antigens to evaluate the potential strain coverage of protein-based vaccines. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(45):19490-5. doi: 10.1073/pnas.1013758107.
 36. Giuliani MM, Adu-Bobie J, Comanducci M, Aricò B, Savino S, Santini L, et al. A universal vaccine for serogroup B meningococcus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(29):10834-9. doi: 10.1073/pnas.0603940103.
 37. Oster P, Lennon D, O'Hallahan J, Mulholland K, Reid S, Martin D. MeNZB: a safe and highly immunogenic tailor-made vaccine against the New Zealand *Neisseria meningitidis* serogroup B disease epidemic strain. *Vaccine*. 2005;23(17-18):2191-6. doi: 10.1016/j.vaccine.2005.01.063.
 38. European Medicines Agency. Bexsero. Product information. Annex I - Summary of product characteristics [cited 29 August 2018]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/medicines/human/EPAR/bexsero/#product-information-section>.
 39. Toneatto D, Ismaili S, Ypma E, Vienken K, Oster P, Dull P. The first use of an investigational multicomponent meningococcal serogroup B vaccine (4CMenB) in humans. *Human Vaccin*. 2011;7(6):646-53. doi: 10.4161/hv.7.6.15482.
 40. Miller E, Salisbury D, Ramsay M. Planning, registration, and implementation of an immunisation campaign against meningococcal serogroup C disease in the UK: a success story. *Vaccine*. 2001;20 Suppl 1:S58-67. doi: 10.1016/S0264-410X(01)00299-7.
 41. Andrews N, Borrow R, Miller E. Validation of serological correlate of protection for meningococcal C conjugate vaccine by using efficacy estimates from postlicensure surveillance in England. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2003;10(5):780-6. doi: 10.1128/CDLI.10.5.780-786.2003.
 42. Jolley K. Neisseria Multi Locus Sequence Typing website. University of Oxford [cited 4 December 2018]. Available from: <https://pubmlst.org/neisseria/>.
 43. Medini D, Stella M, Wassil J. MATS: Global coverage estimates for 4CMenB, a novel multicomponent meningococcal B vaccine. *Vaccine*. 2015;33(23):2629-36. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.04.015.
 44. Frosi G, Biolchi A, Lo Sapiò M, Rigat F, Gilchrist S, Lucidarme J, et al. Bactericidal antibody against a representative epidemiological meningococcal serogroup B panel confirms that MATS underestimates 4CMenB vaccine strain coverage. *Vaccine*. 2013;31(23):4968-74. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.08.006.
 45. Sanders H, Feavers IM. Adjuvant properties of meningococcal outer

- membrane vesicles and the use of adjuvants in *Neisseria meningitidis* protein vaccines. *Expert Rev Vaccines*. 2011;10(3):323-34. doi: 10.1586/erv.11.10.
46. Vu DM, Wong TT, Granoff DM. Cooperative serum bactericidal activity between human antibodies to meningococcal factor H binding protein and neisserial heparin binding antigen. *Vaccine*. 2011;29(10):1968-73. doi: 10.1016/j.vaccine.2010.12.075.
47. Fagnocchi L, Biolchi A, Ferlicca F, Boccadifuccio G, Brunelli B, Brier S, et al. Transcriptional regulation of the nadA gene in *Neisseria meningitidis* impacts the prediction of coverage of a multi-component meningococcal serogroup B vaccine. *Infect Immun*. 2013;81(2):560-9. doi: 10.1128/IAI.01085-12.
48. Vesikari T, Esposito S, Prymula R, Ypma E, Kohl I, Toneatto D, et al. Immunogenicity and safety of an investigational multicomponent, recombinant, meningococcal serogroup B vaccine (4CMenB) administered concomitantly with routine infant and child vaccinations: results of two randomised trials. *Lancet*. 2013;381(9869):825-35. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61961-8.
49. Santolaya ME, O'Ryan ML, Valenzuela MT, Prado V, Vergara R, Muñoz A, et al. Immunogenicity and tolerability of a multicomponent meningococcal serogroup B (4CMenB) vaccine in healthy adolescents in Chile: a phase 2b/3 randomised, observer-blind, placebo-controlled study. *Lancet*. 2012;379(9816):617-24. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61713-3.
50. Martinón-Torres F, Carmona Martínez A, Simkó R, Infante Marquez P, Arimany JL, Giménez-Sánchez F, et al. Antibody persistence and booster responses 24-36 months after different 4CMenB vaccination schedules in infants and children: A randomised trial. *J Infect*. 2018;76(3):258-69. doi: 10.1016/j.jinf.2017.12.005.
51. European Medicines Agency. Bexsero. Authorisation details [cited 30 August 2018]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/medicines/human/EPAR/bexsero#authorisation-details-section>.
52. Duffy J, Johnsen P, Ferris M, Miller M, Leighton K, McGilvray M, et al. Safety of a meningococcal group B vaccine used in response to two university outbreaks. *J Am Coll Health*. 2017;65(6):380-8. doi: 10.1080/07448481.2017.1312418.
53. U.S. Food and Drug Administration. January 23, 2015 Approval Letter - BEXSERO [cited 30 August 2018]. Available from: <https://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/ucm431446.htm>.
54. McNamara LA, Shumate AM, Johnsen P, MacNeil JR, Patel M, Bhavsar T, et al. First Use of a Serogroup B Meningococcal Vaccine in the US in Response to a University Outbreak. *Pediatrics*. 2015;135(5):798-804. doi: 10.1542/peds.2014-4015.
55. Biswas HH, Han GS, Wendorf K, Winter K, Zipprich J, Perti T, et al. Notes from the Field: Outbreak of Serogroup B Meningococcal Disease at a University – California, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016;65(20):520-1. doi: 10.15585/mmwr.mm6520a3.
56. University of Massachusetts Amherst. 2018 Update on Meningitis B. [cited 30 August 2018]. Available from: <https://www.umass.edu/gateway/meningitis>.
57. De Wals P, Deceuninck G, Lefebvre B, Tsang R, Law D, De Serres G, et al. Impact of an Immunization Campaign to Control an Increased Incidence of Serogroup B Meningococcal Disease in One Region of Quebec, Canada. *Clin Infect Dis*. 2017;64(9):1263-7. doi: 10.1093/cid/cix154.
58. Public Health England. MenB vaccination: introduction from September 2015 – Correspondence [cited 30 August 2018]. Available from: <https://www.gov.uk/government/publications/menb-vaccination-introduction-from-1-september-2015>.
59. Parikh SR, Andrews NJ, Beebejaun K, Campbell H, Ribeiro S, Ward C, et al. Effectiveness and impact of a reduced infant schedule of 4CMenB vaccine against group B meningococcal disease in England: a national observational cohort study. *Lancet*. 2016;388(10061):2775-82. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31921-3.
60. Joint Committee on Vaccination and Immunisation. Minute of the meeting on 07 February 2018 [cited 30 August 2018]. Available from: <https://app.box.com/s/iddfb4ppwkmtjusir2tc/file/284102495624>.
61. Bryan P, Seabroke S, Wong J, Donegan K, Webb E, Goldsmith C, et al. Safety of multicomponent meningococcal group B vaccine (4CMenB) in routine infant immunisation in the UK: a prospective surveillance study. *Lancet Child Adolesc Health*. 2018;2(6):395-403. doi: 10.1016/S2352-4642(18)30103-2.
62. Nainani V, Galal U, Buttery J, Snape MD. An increase in accident and emergency presentations for adverse events following immunisation after introduction of the group B meningococcal vaccine: an observational study. *Arch Dis Child*. 2017. doi: 10.1136/archdischild-2017-312941.
63. Murdoch H, Wallace L, Bishop J, Robertson C, Claire Cameron J. Risk of hospitalisation with fever following MenB vaccination: self-controlled case series analysis. *Arch Dis Child*. 2017;102(10):894-8. doi: 10.1136/archdischild-2017-313079.
64. Kapur S, Bourke T, Maney JA, Moriarty P. Emergency department attendance following 4-component meningococcal B vaccination in infants. *Arch Dis Child*. 2017;102(10):899-902. doi: 10.1136/archdischild-2016-311020.
65. Ladhani SN, Riordan A. The yin and yang of fever after meningococcal B vaccination. *Arch Dis Child*. 2017;102(10):881-2. doi: 10.1136/archdischild-2017-313419.



Original

Maria del Mar López-Gil Otero
Elena Yaiza Romero-Ventosa
Débora Feijoo-Meléndez
Cristina Casanova-Martínez
Luis Otero-Millán
Guadalupe Piñeiro-Corrales

Experiencia con colistina nebulizada en pacientes con bronquiectasias no fibrosis quística colonizadas por *Pseudomonas aeruginosa*

Servicio de Farmacia Hospitalaria del Hospital Álvaro Cunqueiro, Vigo, Pontevedra. Spain.

Article history

Received: 25 April 2018; Revision Requested: 24 January 2019; Revision Received: 4 February 2019; Accepted: 13 March 2019

RESUMEN

Introducción. La colonización/infección crónica por *Pseudomonas aeruginosa* de las bronquiectasias se relaciona con daño anatómico, deterioro más rápido de la función pulmonar, aumento del número de exacerbaciones y mayor morbi-mortalidad. La colistina nebulizada disminuye la carga bacteriana, esperándose una reducción en número y gravedad de las exacerbaciones y retraso del deterioro pulmonar. El objetivo principal fue valorar si el tratamiento con colistina nebulizada, durante al menos 6 meses, reduce el número de ingresos y visitas a urgencias.

Material y métodos. Estudio observacional, retrospectivo y no intervencionista llevado a cabo en una estructura organizativa de gestión integrada. Se seleccionaron pacientes con bronquiectasias no fibrosis quística, mayores de 18 años, colonizados / infectados por *P. aeruginosa* que recibieron al menos 6 meses colistina nebulizada. De la historia clínica informatizada (IANUS® v.04.20.0503) y de la receta electrónica del SERGAS, se recogieron datos clínicos, microbiológicos y de tratamiento de los pacientes, que fueron divididos en dos períodos de tiempo: 1) 6 meses pretratamiento y durante el tratamiento y 2) 12 meses pretratamiento y durante el tratamiento, en aquellos pacientes que completaron 1 año de tratamiento.

Resultados. Se incluyeron 44 pacientes y de ellos, 29 (65,9%) tuvieron un seguimiento de 12 meses. El uso de colistina nebulizada disminuyó de forma significativa el número de visitas a urgencias (a los 6 meses), la frecuencia y duración de las hospitalizaciones (a los 6 y 12 meses), el consumo de antibióticos (a los 6 y 12 meses) y los cultivos positivos para *P. aeruginosa*. El tratamiento fue bien tolerado en casi todos los pacientes.

Conclusiones. El tratamiento con colistina nebulizada durante 6 y 12 meses de bronquiectasias no fibrosis quística, colonizadas / infectadas por *P. aeruginosa*, parece beneficioso para el paciente desde el punto de vista clínico y de calidad de vida y podría reducir el coste económico del proceso.

Palabras clave: colistina nebulizada, bronquiectasias, *Pseudomonas aeruginosa*.

Experience with nebulised colistin in patients with non-cystic fibrosis bronchiectasis colonised with *Pseudomonas aeruginosa*

ABSTRACT

Introduction. Chronic colonisation/infection by *Pseudomonas aeruginosa* of the bronchiectasis is related to a faster deterioration of lung function, an increase in the number of exacerbations and a higher morbidity and mortality. Nebulised colistin decreases bacteria load. Therefore, a reduction in the number and in the severity of exacerbations and a delay of pulmonary decline is expected. The main objective is to evaluate if the treatment with nebulised colistin, for at least 6 months reduces the number of admissions and visits to the emergency department.

Material and methods. Observational, retrospective and non-interventionist study carried out in an organizational structure with an integrated management. Patients with non-cystic fibrosis bronchiectasis colonised / infected by *P. aeruginosa*, older than 18 years, were selected. Patients must have received nebulized colistin during at least 6 months. Clinical, microbiological and therapeutic data from the patients were collected from the SERGAS computerized clinical history (IANUS® v.4.20.0503) and the electronic prescription, which were divided into two time periods: 1) 6 months pre-treatment and during the treatment and 2) 12 months pre-treatment and during the treatment, in those who completed 1 year of treatment.

Correspondencia:
Maria del Mar López-Gil Otero
Servicio de Farmacia Hospitalaria del Hospital Álvaro Cunqueiro. Planta -1. Vela F. Estrada de Clara Campoamor, 341, 36312 Vigo, Pontevedra. Spain.
Teléfono: +34 986 82 59 33.
E-mail: maria.del.mar.lopez-gil.otero@sergas.es

Results. Forty-four patients were included and of these, 29 (65.9%) had a follow-up of 12 months. The use of nebulized colistin decreased significantly the number of visits to the emergency (at 6 months), the frequency and duration of hospitalizations admissions (at 6 and 12 months), the antibiotic consumption (at 6 and 12 months) and the positive cultures. The treatment was well tolerated in almost all patients.

Conclusions. The treatment with nebulised colistin during 6 and 12 months of non-cystic fibrosis bronchiectasis, colonised/infected by *P. aeruginosa*, seems beneficial for the patient, from the clinical and quality of life point of view, and could reduce the economic cost of the process.

Key words: nebulized colistin, bronchiectasis, *Pseudomonas aeruginosa*.

INTRODUCCIÓN

Las bronquiectasias (BQ) son dilataciones anormales e irreversibles de los bronquios y bronquiolos debidas a una destrucción de tejido muscular y elástico de soporte, como resultado de un círculo vicioso de infección e inflamación, propiciado por la colonización bacteriana. Clínicamente se caracterizan por tos crónica, expectoración abundante y frecuentes exacerbaciones, que conducen a un deterioro progresivo de la función pulmonar. Aparecen en el seno de la fibrosis quística (FQ) que representa sólo el 1-3%, o fuera de ella, BQ no FQ, como el asma, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) u otras [1]. La colonización por *Pseudomonas aeruginosa* (PA) se produce en el 13-31% de las BQ no FQ [2] y se relaciona con daño anatómico, deterioro más rápido de la función pulmonar, aumento del número de exacerbaciones, incremento del número de ciclos de tratamiento antibiótico, extensión de la multirresistencia y selección de patógenos oportunistas multirresistentes [3-6].

La administración de antibióticos por vía nebulizada, tanto en erradicación inicial como en el control de la colonización/infección crónica por PA, está avalada en FQ [7], pero aún no hay evidencias concluyentes en BQ no FQ [8]. De hecho, la ficha técnica de colistina solo contempla la nebulización para el tratamiento de infecciones pulmonares crónicas causadas por PA, en pacientes con FQ [9]. La nebulización de antibióticos produce concentraciones muy elevadas en el lugar de acción, con un perfil de seguridad aceptable [10-11]. Reduce la carga bacteriana, con la consiguiente disminución de la infección e inflamación crónicas y de las agudizaciones; además, se espera una ralentización en el deterioro respiratorio. En España, los antibióticos disponibles para nebulizar son tobramicina y colistina en solución y en polvo seco y aztreonan lisina, siendo colistina en solución el más utilizado por su eficacia bactericida, tolerancia, bajo desarrollo de resistencias y fácil administración.

La reciente guía de práctica clínica de la Sociedad Europea de Neumología [12] sobre el tratamiento de las bronquiectasias en adultos propone un tratamiento a largo plazo con un antibiótico inhalado en los casos de infección crónica por PA que sufren 3 o más exacerbaciones al año (recomendación condicional, datos de calidad moderada).

La Comisión de Farmacia y Terapéutica de la Estructura Organizativa de Gestión Integrada (EOXI) de Vigo desarrolló un protocolo de indicaciones de tratamiento antibiótico por vía inhalatoria en enfermos con BQ no FQ con colonización inicial y colonización/infección crónica por PA, que se aprobó en Enero de 2012 [13], donde ya se recoge la necesidad de realizar una supervisión y control de este tratamiento, de forma individualizada, para determinar si se han conseguido los objetivos clínicos y bacteriológicos.

El objetivo principal del estudio es valorar si la introducción del tratamiento con colistina nebulizada en pacientes con BQ no FQ colonizados por PA, reduce el número de visitas a urgencias y las hospitalizaciones. Como objetivos secundarios se analizan los cambios en los cultivos de esputo tras el tratamiento con colistina, el consumo de antibióticos orales pautados en atención primaria y la tolerancia al tratamiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio observacional, descriptivo y retrospectivo en una EOXI del Servicio Gallego de Salud (SERGAS), con un área de influencia de 500.000 habitantes. Este área cuenta con un complejo hospitalario de 1.250 camas en el que trabajan 24 farmacéuticos especialistas en el servicio de farmacia, 4 de ellos dedicados a consultas externas. En una de estas consultas se dispensó colistina (Promixin®; suministrada por laboratorios Zambon, que se inhala a dosis de 1 millón de Unidades Internacionales cada 12 horas, mediante el nebulizador I-neb®). A través del registro de dispensaciones del servicio de farmacia se localizó a los pacientes tratados con colistina nebulizada desde el 1 de enero del 2012 (protocolo de uso antibióticos inhalados para BQ no FQ) hasta el 31 de mayo de 2017. Se seleccionaron aquéllos con BQ no FQ, mayores de 18 años, colonizados / infectados por PA y que recibieron al menos 6 meses de tratamiento. Los pacientes incluidos podían estar a tratamiento con azitromicina 500 mg 3 veces por semana asociado a colistina. Se excluyeron pacientes con trasplante pulmonar y/o enfermedad pulmonar intersticial difusa (fibrosis pulmonar idiopática, silicosis). De la historia clínica informatizada (IANUS® v.04.20.0503) y de la receta electrónica del SERGAS, en una hoja de cálculo Excel® se recogieron, de forma consecutiva, datos clínicos, microbiológicos y terapéuticos de los pacientes incluidos, que fueron divididos en dos períodos de tiempo: 1) 6 meses pretratamiento y durante el tratamiento y 2) 12 meses pretratamiento y durante el tratamiento, en aquellos pacientes que completaron 1 año de tratamiento. La fecha fin de recogida de datos fue el 30 de septiembre de 2017.

Variables. Las variables estudiadas incluyeron: 1) datos demográficos: fecha de nacimiento, sexo y origen de las BQ; 2) datos del tratamiento: fecha de inicio y fin, uso de corticoides inhalados y/o broncodilatadores inhalados concomitantes, azitromicina a dosis inmunomoduladoras, ciclo inicial con ciprofloxacino cada 12 h o levofloxacino cada 24 h durante 21 días (asociado al inicio de la colistina inhalada), consumo de ciclos de antibióticos orales y utilización de suero salino hipertónico nebulizado; 3) datos microbiológicos: cultivos ordinarios de

esputo en los 12 meses previos y posteriores al tratamiento inhalado y cultivos durante las agudizaciones (microorganismos aislados y sensibilidad según antibiograma) y 4) datos de la espirometría: volumen espiratorio forzado en 1^{er} segundo (FEV1) (valor absoluto en litros y porcentaje medido sobre teórico) antes y después de iniciar el tratamiento. Las medidas disponibles se registraron por orden cronológico.

Se definieron 4 variables de resultado: 1) reducción del número de agudizaciones (medidas como reducción del número de ingresos hospitalarios y/o visitas a urgencias) con el inicio del tratamiento; 2) persistencia de cultivos positivos para PA en esputo tras inicio de tratamiento y comprobación de cambios en el patógeno aislado en esputo (aparición de PA resistente o de otros microorganismos diferentes a PA); 3) reducción del consumo de antibióticos; y 4) porcentaje de pacientes que presentaron reacciones adversas de cualquier grado al tratamiento con colistina: tos persistente, sibilancias y disnea.

Análisis estadístico. Las variables cuantitativas con distribución normal se expresaron como la media y la desviación estándar (DE) y se usaron pruebas paramétricas. En caso de no seguir una distribución normal, se expresaron como mediana (m) y rango intercuartílico (Q3, Q1) y se usaron pruebas no paramétricas. Las variables cualitativas se expresaron con el cálculo de frecuencias y porcentajes. Si el número de datos en cada grupo era inferior a 30, también se emplearon pruebas no paramétricas. Para comparar el rango medio de dos muestras relacionadas o pareadas (pre y post-tratamiento) y ver si existieron diferencias entre ellas, se empleó la prueba de los rangos con signo de Wilcoxon (no paramétrica). Se consideró estadísticamente significativo el valor de p<0,05.

Aspectos éticos y legales. Todo el personal que intervino en el tratamiento de datos de carácter personal estuvo obligado al secreto profesional y confidencialidad respecto de los mismos. Todos los datos recogidos para el estudio, procedentes de la historia clínica electrónica de los pacientes, fueron tratados en cumplimiento de la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de carácter personal. El registro de los mismos se realizó en un cuaderno de recogida de datos encriptado, que estuvo albergado en la infraestructura de la EOXI.

Este estudio ha sido clasificado por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios como "Estudio Postautorización con Otros Diseños diferentes al de seguimiento prospectivo (EPA-OD)" y está aprobado por el Comité Autonómico de Ética de Investigación de Galicia (Código de Registro 2017/403). Se solicitó el consentimiento informado (CI) a los pacientes que continuaban a tratamiento con colistina en el periodo en el que se recogieron los datos.

RESULTADOS

Se seleccionaron 103 pacientes, de los cuales 44 habían recibido al menos 6 meses de tratamiento y 29 cumplieron un año de seguimiento. Las características de los pacientes se describen en la tabla 1. De los pacientes analizados, la mediana de duración del tratamiento con colistina nebulizada fue de 18,27 meses.

Se registraron 184 cultivos de esputo (ambulatorios e ingresados) en el año pretratamiento y 127 cultivos en el año post-inicio tratamiento.

Estudio microbiológico. Los microorganismos aislados en dichos cultivos se recogen en la tabla 2. La colistina sólo se testó en el 16,7% de los antibiogramas, sin observar resistencias. Antes del inicio de la colistina todos los pacientes tuvieron al menos un cultivo de esputo positivo para PA y más de uno el 79%. Tras el inicio del tratamiento, el 47,73% de los pacientes tenían al menos un cultivo positivo para PA y más de uno el 36,3%. Por tanto, en el 52,27% de los pacientes no se detectó PA en los esputos de 12 meses tras el inicio de colistina.

La media de cultivos positivos de esputos ambulatorios positivos para PA pretratamiento por paciente fue de 2,88 frente a 1,47 en el tiempo de seguimiento microbiológico de 12 meses tras iniciar tratamiento (IC95%: 0,53-2,30; p=0,002). Cuando se analizaron la totalidad de los cultivos de esputo (ambulatorios e ingresados), la reducción de la media de cultivos positivos para PA por paciente también fue significativa tras recibir el tratamiento (3,37 vs 1,47, IC95%: 1,26-2,57; p<0,0001).

Alrededor de un 10% de los pacientes tenían una infección polimicrobiana, incluida PA. También se observó una ligera tendencia al aislamiento de microorganismos distintos a PA con el tratamiento (Tabla 2). *Staphylococcus aureus* se halló en 4 esputos en el grupo pretratamiento (en 3 de ellos asociado a otra bacteria), mientras que durante el tratamiento apareció en 8 esputos (4 solitario).

Función pulmonar. En el seguimiento de 6 meses, se dispone del FEV1 (L) y de la FEV1 (%) en 19 casos durante el periodo pretratamiento y en 10 durante el tratamiento. En el seguimiento de 12 meses, había 16 y 11 casos, respectivamente. En ninguno de los grupos de seguimiento se observaron diferencias significativas por razón de tratamiento.

Consumo de antibióticos. En el grupo de 6 meses de seguimiento con el uso de colistina nebulizada se redujo la mediana del número de ciclos de antibióticos (Wilcoxon p<0,001), así como la mediana del número de días de tratamiento que pasó de 14 a 5,5 (Wilcoxon p<0,001). Lo mismo sucedió en el grupo de pacientes seguidos durante 12 meses, la mediana del número de ciclos de antibióticos fue de 4 antes del tratamiento y de 2 ciclos después del mismo (Wilcoxon p=0,001). La mediana de los días de tratamiento con antibiótico fue de 39 días pre-colistina y de 15 días durante el tratamiento (Wilcoxon p<0,001). Un 90,9% de los pacientes no presentó ningún efecto adverso atribuible a la colistina nebulizada.

Ingresos y visitas a urgencias. Se compararon los ingresos y visitas a urgencias de los pacientes antes y durante el tratamiento con colistina nebulizada, a los 6 meses y a los 12 meses. En el grupo de 6 meses de seguimiento el uso de colistina conllevo una reducción significativa del número de visitas a urgencias, los ingresos y los días de hospitalización. En el grupo de 12 meses de seguimiento, no se encontraron diferencias significativas en el número de visitas a urgencias, pero si en la reducción de ingresos y días de hospitalización (tablas 3 y 4).

Tabla 1

Características generales de los pacientes del estudio

Variables	Grupo de seguimiento de 6 meses	Grupo de seguimiento de 12 meses
Edad (Media ± DE)	71,36 ± 11,27	69,23 ± 12,27
Sexo, N (%)		
Mujeres	20 (45,5%)	18 (62,1%)
Hombres	24 (54,5%)	11 (37,9%)
Origen bronquiectasias, N (%)		
Asociadas a EPOC	20 (45,6%)	12 (41,5%)
Asociada a asma	4 (9,1%)	3 (10,3%)
Postinfecciosas	6 (13,6%)	5 (17,2%)
Otros	6 (13,6%)	3 (10,3%)
Idiopática	6 (13,6%)	5 (17,2%)
Varias causas	2 (4,5%)	1 (3,5%)
Tipo de infección, N (%)		
Primo infección	11 (25,0%)	4 (13,8%)
No primo infección	33 (75,0%)	25 (86,2%)
Colistina nebulizada previa, N (%)		
Sí	6 (13,6%)	5 (17,2%)
No	38 (86,4%)	24 (82,8%)
Ciprofloxacino cada 12 h o levofloxacino cada 24 h 21 días, N (%)		
Sí	14 (31,8%)	6 (20,7%)
No	30 (68,2%)	23 (79,3%)
Azitromicina a dosis inmunomoduladora (3 días a la semana), N (%)		
Sí	15 (34,1%)	12 (41,4%)
No	29 (65,9%)	17 (58,6%)
Boncodilatadores, N (%)		
Sí	40 (90,9%)	27 (93,1%)
No	4 (9,1%)	2 (6,9%)
Corticoides inhalados, N (%)		
Sí	34 (77,3%)	24 (82,8%)
No	10 (22,7%)	5 (17,2%)
Suero hipertónico nebulizado (cloruro sódico al 5,8% o al 7%), N (%)		
Sí	4 (9,1%)	4 (13,8%)
No	40 (90,9%)	25 (86,2%)
FEV1 (L) basal (Media ± DE)	1,10 ± 0,49	1,22 ± 0,53
FEV% basal (Media ± DE)	49,11 ± 23,06	56,69 ± 21,38

EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; FEV: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; N: número de pacientes; DE: desviación estándar.

DISCUSIÓN

La decisión de prescribir colistina nebulizada correspondía al neumólogo, bien en consulta de neumología o durante una hospitalización y fue a partir del 2013 cuando se hizo rutinaria

la aplicación del protocolo durante largos períodos (> 3 meses) en BQ no FQ, colonizadas/infectadas por PA. Pero como en cualquier otra intervención es necesario saber sus resultados para continuar, mejorar o corregir.

En este trabajo el origen más frecuente de las BQ fue la

Tabla 2	Microorganismos aislados en los cultivos de esputo de los pacientes 12 meses antes y 12 meses post-inicio del tratamiento con colistina nebulizada.	
Microorganismos	Cultivos pretratamiento N (%)	Cultivos post-inicio tratamiento N (%)
<i>P. aeruginosa</i> solo	109/184 (59,23) ^a	49/127 (38,58) ^a
<i>P. aeruginosa</i> y otro microorganismo	15/184 (8,15)	10/127 (7,88)
<i>Escherichia coli</i>	3 (20)	2 (20)
<i>Staphylococcus aureus</i>	2 (13,3)	3 (30)
<i>Haemophilus influenzae</i>	4 (26,7)	0 (0)
Otras combinaciones	6 (40)	5 (50)
Otro microorganismo no <i>P. aeruginosa</i>	30/184 (16,30)	24/127 (18,88)
No válido/ flora contaminante/ estéril/ negativo	30/184 (16,30)	44/127 (34,66)

^ap<0,05

Tabla 3	Comparación de las visitas a urgencias e ingresos a los 6 meses		
	Pretratamiento 6 meses	Durante tratamiento 6 meses	p
Número de pacientes	44	44	
Visitas a urgencias, m (Q3,Q1)	0,00 (1,00, 0,00)	0,00 (0,00,0,00)	0,041
Ingresos, m (Q3,Q1)	1,00 (1,00, 0,00)	0,00 (1,00,0,00)	0,012
Días de hospitalización, m (Q3,Q1)	6,50 (21,50, 0,00)	0,00 (7,75, 0,00)	0,002

m: mediana; Q3: cuartil 3; Q1: cuartil 1; p: significación estadística (Wilcoxon).

Tabla 4	Comparación de las visitas a urgencias e ingresos a los 12 meses		
	Pretratamiento 12 meses	Durante tratamiento 12 meses	p
Número de pacientes	29	29	
Visitas a urgencias, m (Q3,Q1)	1,00 (1,50, 0,00)	0,00 (1,5, 0,00)	0,573
Ingresos, m (Q3,Q1)	1,00 (4,00, 0,50)	0,00 (1,00, 0,00)	0,007
Días de hospitalización, m (Q3,Q1)	14,00 (33,50, 3,50)	0,00 (11,75, 0,00)	0,004

m: mediana; Q3: cuartil 3; Q1: cuartil 1; p: significación estadística (Wilcoxon).

EPOC (45%), seguido de un proceso postinfeccioso (secuelas de una tuberculosis o infecciones respiratorias recurrentes, sin EPOC o asma asociados) y asma. Los pacientes incluidos eran muy heterogéneos y de distinta gravedad, con una evolución larga de su enfermedad, edad avanzada, comorbilidades crónicas como EPOC y asma. El 55% con al menos un ingreso en el grupo de seguimiento de 6 meses y el 76% en el de 12 meses. Estos pacientes fueron vistos en consulta en períodos de 3 a 8 meses, según su gravedad, necesidades y disponibilidad, siendo

en estas consultas donde se decide si se continúa con el tratamiento en base a la microbiología, pruebas funcionales y radiológicas, y clínica.

Antes del inicio del tratamiento con colistina, todos los pacientes tenían al menos un cultivo positivo para PA y el 79% más de uno. Es decir, se trata de pacientes colonizados por PA según la normativa de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR) sobre diagnóstico y tratamiento de bronquiectasias [14]. En el grupo de seguimiento de 6 meses, PA se aisló por primera vez en el 25% de los pacientes y solo suponía el 13% en el grupo de 12 meses. No obstante, el término primer aislamiento tiene un valor limitado, ya que estos pacientes pueden haber sido colonizados por PA antes de la primera detección [4].

Aunque el objetivo de este trabajo no era determinar si había erradicación de acuerdo a la normativa SEPAR u otros criterios [15,16], en el 52,27% de los pacientes incluidos no se detectó PA en los esputos durante el tratamiento con colistina nebulizada. Además, 14 (31%) casos del grupo de seguimiento de 6 meses fueron tratados durante 3 meses con una pauta erradicadora (ciprofloxacino oral cada 12 horas asociada a la colistina nebulizada) sin éxito. Es bien conocido que una vez establecida la infección crónica por PA, la erradicación es difícil debido a la tolerancia intrínseca a los antibióticos, la selección de subpoblaciones de resistencia y el crecimiento bacteriano en biofilms [17]. Otro dato a considerar es que aunque se logre la erradicación, aproximadamente la mitad de estos pacientes vuelve a tener cultivos positivos en los siguientes 6 meses [4] y no todos los autores están de acuerdo sobre la utilidad de los intentos de erradicación tras una nueva infección por PA [12,18].

El estudio no permite concluir que exista un desplazamiento hacia otros patógenos diferentes a PA, aunque hay una ligera tendencia. Cabe destacar un aumento de aislamientos de *S. aureus* (en 4 esputos pretratamiento y en 8 durante el mismo), pero este aumento correspondió a pacientes donde ya se había aislado este microorganismo. A diferencia de PA, *S. aureus* no parece ser un factor de riesgo independiente de mal pronóstico [19].

La persistencia de PA durante el tratamiento, se redujo de manera significativa y es similar a la encontrada en la comunicación de Navas Bueno [20]. Existen otros estudios donde la reducción media de cultivos positivos para PA es inferior a la de este trabajo, pero también partían de una media superior [21].

El uso concomitante de suero salino hipertónico nebulizado (cloruro sódico al 5,84% o al 7%), ha sido anecdótico en nuestro trabajo y no es válido para sacar conclusiones. Esta solución se recomienda cuando existe abundante expectoración y la fisioterapia respiratoria no consigue sus objetivos, con el fin de favorecer la tolerancia y penetración del tratamiento [12].

Los macrólidos a dosis inmunomoduladoras/antiinflamatorias han demostrado prevenir las exacerbaciones en 3 ensayos

clínicos aleatorizados y controlados con placebo [22-24]. Sin embargo, tras la generalización de la antibioterapia nebulizada en BQ no FQ infectadas por PA, constituyen una alternativa cuando no se tolera la nebulización o asociados a la misma en los casos de mala respuesta, siempre que se haya descartado la presencia de micobacterias no tuberculosas en esputo [12,25].

Con respecto a la espirometría, como los datos se recogieron de forma retrospectiva, su cronología impide la comparación.

La colistina inhalada ha dado lugar a una reducción significativa del consumo oral de antibióticos (levofloxacino, amoxicilina/clavulánico y ciprofloxacino), antes empleados para el tratamiento de exacerbaciones. Esto también se ha observado con los antibióticos intravenosos en el campo de la FQ, ya que se utilizaban para reducir la carga bacteriana [26]. Sin embargo, la reducción del número de ciclos de tratamiento no ha sido proporcional a la reducción del número de días de tratamiento, lo que puede ser debido a la falta de unanimidad en la duración de los ciclos de tratamiento. Las recomendaciones españolas y europeas proponen ciclos de 14-21 días, y otros estudios reafuerzan la idea de que 7-14 días de tratamiento son equivalentes a las recomendaciones españolas y europeas [27].

La buena tolerabilidad de la colistina nebulizada puede estar sesgada por el diseño del estudio que selecciona pacientes que toleran el fármaco y, en consecuencia, los efectos adversos registrados en la historia clínica son pocos y leves.

Prevenir las exacerbaciones es la piedra angular en el tratamiento de las bronquiectasias con infección crónica por PA. El ensayo clínico de Haworth y colaboradores en 144 pacientes con BQ no FQ infectadas por PA, comparó colistina nebulizada frente a placebo durante 6 meses [28]. No consiguió demostrar diferencias estadísticamente significativas en la mediana de tiempo transcurrido hasta la primera exacerbación, aunque se logra esta significación en el subgrupo de cumplidores y también en la variable secundaria de calidad de vida. Aztreonam lisina nebulizado tampoco consiguió demostrar diferencias frente a placebo en la variable principal. Los resultados de tobramicina nebulizada han sido dispares y además resultó ser mal tolerada. Pese a todo, metaanálisis [11], pequeños estudios [20,21,29] y la práctica clínica sugieren que estos pacientes se benefician de la antibioterapia nebulizada, más allá de una reducción en la carga bacteriana, bien sea en disminuir las exacerbaciones, mejorar la calidad de vida, retrasar el deterioro respiratorio o simplemente reducir la purulencia del esputo, hecho que recogen las guías clínicas [12,14,30]. Este estudio ahonda en esta cuestión y valora la experiencia inicial en la EOXI de Vigo. Se redujo el número de ingresos y los días de hospitalización tanto a los 6 como a los 12 meses de seguimiento, y también las visitas a urgencias a los 6 meses. Otros trabajos también han demostrado un claro beneficio de la terapia nebulizada [20,21,29]. Sin embargo, en el estudio de Tabernero y colaboradores en población geriátrica, la colistina consiguió erradicaciones de PA, sin producir una mejoría clínica o funcional [16], por lo que se infiere que aún quedan muchas incógnitas por resolver: qué pacientes se benefician, cuánto dura este

beneficio y si es necesario cambiar el antibiótico.

En cuanto a las directrices futuras, consideramos de máxima importancia continuar el seguimiento de estos pacientes para comprobar si el beneficio clínico se mantiene en el tiempo o se producen cambios en el patógeno aislado, ya que muchos de estos pacientes han continuado el tratamiento y otros, tras un periodo de suspensión, lo han reanudado. Además, este trabajo puede servir de guía para la realización y diseño de un estudio prospectivo, conjuntamente con los neumólogos sobre ésta u otras intervenciones terapéuticas en BQ no FQ, como puede ser el uso de suero salino hipertónico nebulizado para drenar secreciones bronquiales.

La principal limitación de nuestro trabajo radica en que los datos se han recogido de forma retrospectiva de la práctica clínica durante un periodo de 5 años, por lo que no siempre se dispuso de muestras de esputo válidas para cultivo, el seguimiento de los pacientes no fue uniforme y la muestra fue muy heterogénea, todo lo cual puede adulterar los resultados.

En conclusión, el tratamiento con colistina nebulizada de pacientes con BQ no FQ colonizadas por PA reduce el número de ingresos y la duración de la estancia hospitalaria. Además, disminuye la persistencia de PA en esputo y el consumo de antibióticos orales, siendo bien tolerado.

FINANCIACIÓN

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

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de interés.

BIBLIOGRAFÍA

1. De la Rosa D, Prados C, Quirós S. Epidemiología actual y costes de las bronquiectasias. Monogr Arch Bronconeumol 2016;3(1):1-9.
2. Barker AF. Bronchiectasis. N Engl J Med 2002; 346(18):1383-93. DOI: 10.1056/NEJMra012519.
3. Martínez MA, Soler JJ, Perpiña M, Roman P, Soriano J. Factors associated with lung function decline in adult patients with stable non-cystic fibrosis bronchiectasis. Chest 2007;132(5):1565-72. DOI: 10.1378/chest.07-0490.
4. Wilson R, Aksamit T, Aliberti S, De Soyza A, Elborn JS, Goeminne P, et al. Challenges in managing *Pseudomonas aeruginosa* in non-cystic fibrosis bronchiectasis. Respiratory Medicine 2016; 117: 179-89. DOI: 10.1016/j.rmed.2016.06.007.
5. Chalmers JD, Goeminne P, Aliberti S, McDonnell MJ, Lonni S, Davidson J, et al. The bronchiectasis Severity Index. Am J Respir Crit Care Med 2014;189(5):576-85. DOI: 10.1164/rccm.201309-1575OC.
6. Prince AS. Biofilms, antimicrobial resistance, and airway infection. N Engl J Med 2002;347(14):1110-1. DOI: 10.1056/NEJMcb021776.

7. Cantón R, Maíz L, Escribano A, Olveira C, Oliver A, Asensio O, et al. Consenso español para la prevención y tratamiento de la infección bronquial por *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes con fibrosis quística. Arch Bronconeumol 2015;51(3):140-50. DOI: 10.1016/j.arbres.2014.09.021.
8. Ficha técnica de Promixin®. Base de datos de la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios. [consultando 12/02/2018]. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/cima/publico/lista.html>.
9. Metersky M, O'Donnell A. Nebulized Colistin for Non-Cystic fibrosis Bronchiectasis: Déjà Vu All over again?. Am J Respir Crit Care Med 2014;189(10):1151-2. DOI: 10.1164/rccm.201404-0638ED.
10. Martínez-García MA. Tratamiento antibiótico nebulizado. Arch Bronconeumol 2014;50(10):415-6. DOI: 10.1016/j.arbres.2014.03.013.
11. Monteiro A, Stovold E and Zhang L. Inhaled antibiotics for stable non-cystic fibrosis: a systematic review. Eur Resp J 2014;44(2):383-393. DOI: 10.1183/09031936.00018414.
12. Polverino E, Goeminne P, McDonnell MJ, Aliberti S, Marshall SE, Loebinger MR, et al. European Respiratory Society guidelines for the management of adult bronchiectasis. Europ Resp J 2017;50(3):1700629. DOI: 10.1183/13993003.00629-2017.
13. Protocolo de tratamiento antibiótico por vía inhalatoria en enfermos con bronquiectasias sin FQ. Intranet de la EOXI de Vigo. [Intranet]. [consultando 05/05/2017].
14. Vendrell M, De Gracia J, Oliveira C, Martínez MA, Girón R, Máiz L, et al. Diagnóstico y tratamiento de las bronquiectasias. Arch Bronconeumol. 2008;44(11):629-40.
15. Martínez-García MA, Máiz L, Olveira C, Girón RM, de la Rosa D, Blanco M, et al. Spanish Guidelines on the Evaluation and Diagnosis of Bronchiectasis in Adults. Arch Bronconeumol 2018;54(2):79-87. DOI: 10.1016/j.arbres.2017.07.015.
16. Tabernero E, Gil P, Alkiza R, Hernández A, Garrós J, Artola JR. Tratamiento inhalado con colistina a largo plazo en pacientes ancianos con infección crónica por *Pseudomonas aeruginosa* y bronquiectasias. Rev Esp Geriatr Gerontol. 2015;50(3):111-115. DOI: 10.1016/j.regg.2014.09.005.
17. Zemke AC, Shiva S, Burns JL, Moskowitz SM, Pilewski JM, Gladwin MT, et al. Inhaled antibiotics for lower airway infections. Ann Am Thorac Soc 2014;11(3):425-34. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201311-395FR.
18. Barker AF. Treatment of bronchiectasis in adults. [Internet]. [consultando 01/02/2018]. Disponible en: www.Uptodate.com.
19. Metersky ML, Aksamit TR, Choate R, Daley CL, Daniels LA, DiMango A, et al. The Prevalence and Significance of *Staphylococcus aureus* in patients with Non- Cystic Fibrosis Bronchiectasis. Ann Am Thorac Soc 2018;15(3):365-370. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201706-426OC.
20. Navas Bueno B, Vaquero Barrios JM, Casas Maldonado, Padilla Galo A, González-Moya E, et al. Colistimeta sódico (Promixin) nebulizado en bronquiectasias no Fibrosis Quística colonizadas por *Pseudomonas aeruginosa*: eficacia clínica y bacteriológica. Gran Canaria, 2015. Abstract. 48 Congreso Nacional Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica, Spain.
21. Dhar R, Anwar GA, Bourke SC, Doherty L, Middleton P, Ward C, et al. Efficacy of nebulised colomycin in patients with non-cystic fibrosis bronchiectasis colonised with *Pseudomonas aeruginosa*. Thorax 2010;65(6):553. DOI: 10.1136/thx.2008.112284.
22. Wong C, Jayaram L, Karalus N, Eaton T, Tong C, Hockey H, et al. Azithromycin for prevention of exacerbations in non-cystic fibrosis bronchiectasis. (EMBRACE): a randomized, double-blind, placebo controlled trial. Lancet 2012;380(9842): 660-667. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60953-2.
23. Serisier DJ, Martin ML, McGuckin MA, Lourie B, Chen AC, Brain B, et al. Effect of long term, erythromycin on pulmonary exacerbations among patients with non cystic fibrosis bronchiectasis. The BLESS Randomized controlled trial. JAMA 2013;309(12):1260-67. DOI: 10.1001/jama.2013.2290.
24. Altemburg J, de Graaff CS, Stienstra Y, Sloos JH, van Haren EH, Koopers RJ, et al. Effect of azithromycin maintenance treatment on infectious exacerbations among patients with non-cystic fibrosis bronchiectasis: the BAT randomized controlled trial. JAMA 2013;309(12):1251-1259. DOI: 10.1001/jama.2013.1937.
25. Abo-Layah H, Chalmers JD. New therapies for the prevention and treatment of exacerbations of bronchiectasis. Curr Opin Pulm Med 2017;23(3):218-224. DOI: 10.1097/MCP.0000000000000368.
26. Ramsey BW, Pepe MS, Quan JM, Otto KL, Montgomery AB, Williams-Warren J, et al. Intermittent administration of inhaled tobramycin in patients with cystic fibrosis. N Engl J Med 1999;340:23-30. DOI: 10.1056/NEJM199901073400104.
27. Bilton D, Henig N, Morrissey B, Gotfried M. Addition of inhaled tobramycin to ciprofloxacin for acute exacerbations of *Pseudomonas aeruginosa* infection in adult bronchiectasis. Chest 2006; 130(5):1503-10. DOI: 10.1378/chest.130.5.1503.
28. Haworth CS, Forewaker JE, Wilkinson P, Kenyon RF, Bilton D. Inhaled Colistin in Patients with bronchiectasis and chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection. Am J Respir Crit Care Med 2014;189(8):975-982. DOI: 10.1164/rccm.201312-2208OC.
29. Steinfort DP and Steinfort C. Effect of long-term nebulized colistin on lung function and quality of life in patients with chronic bronchial sepsis. Intern Med J 2007;37(7):495-8. DOI: 10.1111/j.1445-5994.2007.01404.x.
30. Pasteur MC, Bilton D, Hill AT. British Thoracic Society guideline for non-CF bronchiectasis. Thorax 2010;65 Suppl 1:i1-58. DOI: 10.1136/thx.2010.136119.



Original

Mónica de Frutos¹
Ricardo Medina²
Rosa Aragón²
Luis López-Urrutia¹
Manuel González-Sagrado¹
Carmen Ramos¹
Marta Domínguez-Gil¹
Sonsoles Garcinuño¹
Lourdes Viñuela¹
José María Eiros¹

Episodios de salmonelosis no tifoidea en pacientes adultos del Área Valladolid Oeste en 2017: Evaluación de la idoneidad de la petición del cultivo microbiológico y del tratamiento pautado

¹Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid.

²Centro de Salud Casa del Barco. Área Este. Valladolid

Article history

Received: 31 October 2018; Revision Requested: 4 December 2018; Revision Received: 23 December 2018; Accepted: 28 January 2019

RESUMEN

Introducción. Las salmonelosis gastroenteríticas suponen aún la segunda causa diagnosticada de diarrea infecciosa en nuestro medio, la mayoría de estos cuadros clínicos son leves y autolimitados y por eso el uso de antibióticos está circunscrito a pocos supuestos. El objetivo del trabajo fue describir los episodios de diarrea por *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, valorando la idoneidad de la petición y del uso de antibióticos de acuerdo a los criterios que figuran en la metodología.

Material y métodos. Se realizó un estudio observacional descriptivo retrospectivo recabando datos de la historia clínica.

Resultados. Se incluyeron 122 episodios. El motivo guía de consulta fue la diarrea, que generó una mayor demanda en los Servicios de Urgencia Hospitalaria (42,6%). Se aislaron sobre todo el serotipo Enteritidis (53,3%) y Typhimurium (40,2%). La adecuación de la petición del coprocultivo fue alta, 90,2%. Se prescribió antibiótico en el 64,6% (79) de los episodios, la mayoría en pacientes menores de 65 años (58 episodios), con una media de edad de 48,43 años. Los episodios se trataron principalmente con ciprofloxacino y azitromicina, en 57 y 14 episodios respectivamente. La duración media de la antibioterapia fue de 6 días. Existió un adecuado uso de los antibióticos en un 49,1%. Cuando el origen de la petición fue el Servicio de Urgencias hospitalario resultó inadecuado en el 63,5% (33) de ellos. Fue inadecuado en un 60,0% (39) de episodios cuando se aisló *Salmonella* serotipo Enteritidis. En casi la mitad, el 48,85% (42) de los 58 episodios en que se prescribió antibiótico entre los menores de 65 años (86), no estaba indicado.

Conclusiones. Se deberían implementar acciones formativas enfocadas a optimizar el manejo de antibióticos en esta

entidad así como promover contribuciones que describan esta realidad.

Palabras clave: Gastroenteritis, diarrea aguda, *Salmonella*, cultivo de heces, antibióticos

Episodes of nontyphoidal salmonellosis in adult patients of the Valladolid West Area in 2017: Evaluation of the suitability of the microbiological culture request and the prescribed treatment

ABSTRACT

Introduction. Gastroenteritic salmonellosis is still the second cause diagnosed of infectious diarrhea, most of these clinical pictures are mild and self-limited and therefore the use of antibiotics is limited to few cases. The aim of the study was to describe the episodes of diarrhea caused by *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, assessing the suitability of the request and the use of antibiotics according to the criteria included in the methodology.

Material and methods. A retrospective, descriptive, observational study was conducted, collecting data from the clinical history.

Results. A total of 122 episodes were included. The reason for consultation was diarrhea, which generated a greater demand in the Hospital Emergency Services (42.6%). The most frequent serotypes isolated were Enteritidis (53.3%), and Typhimurium (40.2%). The adequate request of the stool was 90.2%. Antibiotic was prescribed in 64.6% (79) of the episodes, most patients under 65 years (58 episodes), the average age was 48.43 years. They were treated mainly with ciprofloxacin and azithromycin, in 57 and 14 episodes, respectively. The average duration of antibiotic treatment was 6 days. There was an adequate use of antibiotics in 49.1% of episodes. When the origin of the request was the Hospital Emergency Service, it

Correspondencia:
Mónica de Frutos
Hospital Universitario Río Hortega
Calle Dulzaina, 2 - Valladolid 47012
E-mail: mdefrutosn@saludcastillayleon.es

was inadequate in 63.5% (33) of them. It was inadequate in 60.0% (39) of episodes when ser. Enteritidis was isolated. Almost half, 48.85% (42) of the 58 episodes in which antibiotics were prescribed among those under 65 (86), were treated without being indicated.

Conclusions. Training actions should be implemented focused on optimizing the management of antibiotics in this entity.

Key-words: Gastroenteritis, acute diarrhea, *Salmonella*, stool culture, antibiotics

INTRODUCCIÓN

Las gastroenteritis continúan siendo en todo el mundo una importante causa de morbilidad, sobre todo los episodios agudos, de causa infecciosa, que duran más de 24 horas y asocian otros síntomas y/o se complican [1].

La importancia de estas enfermedades se constata en los datos reportados por la EFSA, (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria) que en el informe de 2016 recoge 246.307 casos declarados de campylobacteriosis y 94.530 de salmonelosis no tifoidea en la Unión Europea [2]. En España, el Centro Nacional de Epidemiología, en su Informe anual de la Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmisibles de 2015, publica que se declararon 13.347 casos de campylobacteriosis y 9.069 casos de salmonelosis no tifoidea en 2015 [3]. En nuestra comunidad de Castilla y León, en el Informe Anual de 2016 de las Enfermedades de Declaración Obligatoria, el Servicio de Epidemiología de la Dirección General de Salud Pública indica que se notificaron en 2016, 836 casos de campylobacteriosis y 1.351 casos de salmonelosis [4].

A pesar del conocimiento que se tiene de la patogenicidad de *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, y de su comportamiento epidemiológico, y a pesar de las medidas implementadas para tratar de controlar esta enfermedad, tanto a nivel alimentario como veterinario, esta bacteria continúa siendo responsable de gran cantidad de episodios clínicos [5]. La mayoría de los cuadros clínicos que produce son autolimitados, de manera que el uso de antibióticos debería limitarse a aquellos con clínica grave, pacientes con deterioro de su estado basal o para prevenir complicaciones metastásicas en pacientes de riesgo, y esto, porque el uso de antibióticos sin indicación puede prolongar el estado de portador, y tener graves efectos colaterales derivados de la alteración de la microbiota del paciente, así como modificaciones indeseables en la ecología, más allá del paciente tratado [6-8].

El objetivo de este trabajo fue estudiar los episodios de salmonelosis no tifoidea en adultos en el Área Oeste de Salud de Valladolid, en el año 2017; valorar la idoneidad de la petición del cultivo microbiológico, la indicación del tratamiento antibiótico y el tratamiento antibiótico elegido, tanto en cuanto al principio activo, como a la pauta y la duración, todo ello referenciado a criterios bibliográficos establecidos y aceptados [1, 6, 7].

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha efectuado un estudio de carácter observacional

y retrospectivo. A partir de los aislamientos de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* en cultivos de muestras de heces de pacientes adultos del Área de Salud Oeste de Valladolid durante el año 2017, proporcionados por el Servicio de Microbiología, se revisaron las historias clínicas informatizadas tanto de Atención Primaria como Hospitalarias, recabando información de los clínicos responsables, cuando fue preciso, con objeto de evaluar las cuestiones que se plantean como objetivos de este estudio.

Se realizó un análisis descriptivo, en el que se utilizaron medidas de tendencia central y de dispersión para las variables cuantitativas y frecuencias absolutas y relativas para las variables cualitativas. Para la recogida de los datos se diseñó una base de datos al efecto en el programa Excel 2013, posteriormente exportados al programa estadístico SPSS versión 15.0 para Windows para su análisis estadístico.

Se estableció como Episodio a todo paciente adulto (>14 años) con un coprocultivo positivo para *Salmonella enterica* subsp. *enterica*. Se excluyeron cultivos positivos del mismo paciente dentro de los siguientes diez días tras informar el primero, considerándose un solo episodio.

Los pacientes incluidos cumplían el criterio de diarrea, puesto que el Servicio de Microbiología rechaza, por protocolo, las muestras de heces formes para cultivo.

Se excluyeron del estudio aquellos episodios sobre los que no se pudo recabar información, porque no constase en el sistema informático, o porque fuera ilegible.

Para la valoración de los objetivos y de acuerdo a los criterios establecidos en la literatura [1, 6, 7] se estableció como adecuado o inadecuado:

1. Indicación de petición de cultivo microbiológico

1.1. Indicado

- Diarrea de más de tres días de duración.
- Diarrea con productos patológicos.
- Signos clínicos de gravedad.
- Características del paciente que aumenten su vulnerabilidad, entre otras:
 - edad elevada (>65 años),
 - patología de base
 - inmunodepresión.

1.2. No indicado, aquellas que no cumplen ningún criterio anterior.

2. Indicación de tratamiento antibiótico

2.1. Indicado

- Aquellos pacientes que presentan riesgo de diseminación y siembra metastásica.
- Clínica grave y/o signos de infección sistémica.
- Características del paciente que aumenten su vulnerabilidad como edad elevada (>65 años), patología de base o inmunodepresión.

2.2. No indicado, aquellas que no cumplen ningún criterio anterior.

3. Adecuación del tratamiento antibiótico, qué antibiótico, que pauta y que duración

3.1. Adecuado

- Se consideran antibióticos adecuados ciprofloxacino, trimetoprim-sulfametoxazol, azitromicina, y de forma excepcional cefalosporinas de tercera generación, en dosis habituales y durante un máximo de 7 días, siempre y cuando no concurriesen circunstancias clínicas excepcionales.

3.2. No adecuado, aquellas que no cumplen ningún criterio anterior.

Antes de iniciar el estudio se obtuvo aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica y Conformidad de la Dirección del HURH, Ref. CEIm: PI097-18.

RESULTADOS

El Área de Salud de Valladolid Oeste atiende a una población de 257.518 habitantes, 48,8% hombres y 51,2% mujeres.

Descripción de la población del estudio. En el periodo de estudio (1 de enero a 31 de diciembre de 2017) se informaron desde el Servicio de Microbiología del Hospital Rio Hortega de Área Oeste de Salud de Valladolid, un total de 129 cultivos positivos para distintos serotipos de *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, de los cuales se consideraron episodios que cumplieron condiciones para este estudio 122 casos.

Tabla 1 Distribución de las peticiones de cultivo según el origen, separando los pacientes en mayores y menores de 65 años

Origen	Atención primaria	Recuento	Edad (años)		Total	
			<65	≥65		
Urgencias hospitalarias		Recuento	30	11	41	
			%	34,9%	30,6% 33,6%	
Atención especializada		Recuento	41	11	52	
			%	47,7%	30,6% 42,6%	
Total		Recuento	15	14	29	
			%	17,4%	38,9% 23,8%	
		Recuento	86	36	122	
			%	100,0%	100,0% 100,0%	

El 54,1% (66) correspondieron a mujeres, la edad media de los pacientes fue de 48,72 años. Se observó mayor acúmulo de casos en los intervalos etarios de 19 a 29 años (27,9%, 34 episodios) y de los 30 a los 49 años (23,0%, 28 episodios).

La distribución de los episodios por la procedencia de la petición se muestra en la tabla 1. Dentro de las correspondientes a pacientes hospitalizados destacó el Servicio de Medicina Interna con el 9,0% (11) y el Servicio de Digestivo con 7,4% (9).

Cerca de la mitad (47,7%) (41) de los casos de los pacientes menores de 65 años (86) consultaron directamente por su cuadro en Urgencias Hospitalarias (tabla 1).

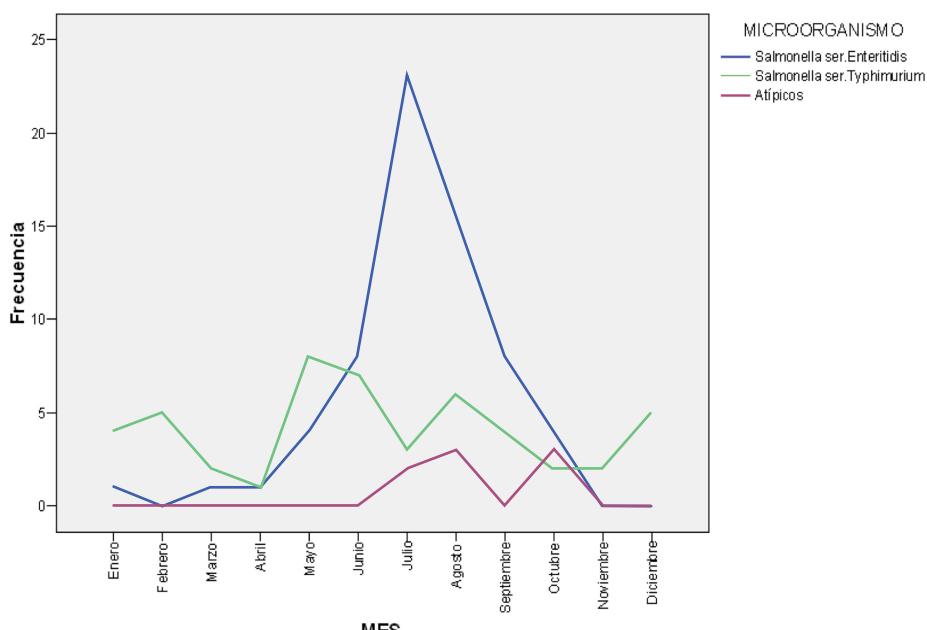


Figura 1 Distribución de los episodios recogidos a lo largo del año, según serotipos de *Salmonella*

Los serotipos de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* recuperados de los cultivos fueron de más a menos prevalentes: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Enteritidis en un 53,3% (65) de las muestras, seguida de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Typhimurium con un 40,2% (49); *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Corvallis 8,20:z4,z23 y *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Newport 6,8:e,h:1,2, con un 1,6% (2 episodios) cada una; y *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Kentucky 8,20:i:z6, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Muenchen 6,8:d:1,2, *Salmonella enterica* enterica ser. Rissen 6,7:f,g:- y *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Virchow 6,7:r:1,2, con un 0,8% (1 episodio), respectivamente.

Los episodios se distribuyeron a lo largo del año 2017 de manera desigual si tenemos en cuenta los dos serotipos más frecuentes, de manera que Typhimurium se presentó en "dientes de sierra" a lo largo de todo el año, y sin embargo Enteritidis mostró un pico estacional en los meses de julio (23 episodios) y agosto (15 episodios) (figura 1). Al agrupar los casos por trimestres se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p<0,001$) a favor del serotipo Enteritidis en el tercer trimestre.

A pesar de que el serotipo Enteritidis fue el más prevalente en todos los grupos de pacientes independientemente del origen de la petición, el serotipo Typhimurium 32,7% (16) resultó ser significativamente el más aislado en pacientes ingresados ($p=0,014$).

El motivo de consulta (síntoma guía) encontrado fue de diarrea en el 90,1% (110) de los casos. Se presentó abdominalidad en el 2,5% (3) casos.

El número de deposiciones al día no se describió en un 35,2% (43) de los casos, y fue igual o mayor a 9 deposiciones al día en el 32,8% (40) de los episodios.

En relación al tiempo transcurrido desde el inicio del síntoma guía a la petición del coprocultivo, éste estuvo por debajo de los tres días en un 27,9% (34) de las peticiones y fue solicitado entre el tercer y sexto día en un 50,8% (62) de los casos.

Respecto a la temperatura corporal (T°), se registró esta información (expresada o termométrica), en el 82% (100) de los episodios, de ellos un 45,1% (55) presentaron fiebre ($T^{\circ} \geq 38^{\circ}\text{C}$), siendo ésta $\geq 39^{\circ}\text{C}$ en el 16,4% (20) de los casos.

Un 35,2% (43) de los casos presentó sintomatología definida como de gravedad: deshidratación y signos o síntomas de hipotensión ortostática que se documentaron en el 13,1% (16) y el 13,9% (17) respectivamente; se presentó insuficiencia renal de algún grado en un 13,9% (17) de los casos, lo que sumado al 2,5% (3) de los episodios donde se recogió el síntoma oliguria, arrojó un 16,4% (20) casos con signos o síntomas nefro-urinarios.

La presencia de alteraciones analíticas secundarios al proceso estudiado (alteraciones hidroelectrolíticas, leucocitosis,...) se constató en un 46,7% (57) de los episodios.

Los mayores de 65 años presentaron clínica de gravedad asociada en un 50,0% (18), frente a los menores de 65 años que la presentaron en un 29,1% (25) casos.

Tabla 2 Distribución de los hallazgos respecto de la prescripción de antibióticos en función de su indicación (el total se refiere a los episodios en los que se obtuvo ésta información)

Valoración de la indicación	N	Porcentaje
Antibiótico no indicado y no prescrito	21	18,1%
Antibiótico indicado y adecuadamente prescrito	36	31,0%
Antibiótico indicado pero no prescrito	16	13,8%
Antibiótico no indicado pero prescrito	43	37,1%
Total	116	100,0%

En cuanto a lo que se consideró como patología de base, no estaba presente en el 67,5% (81 episodios); en aquellos episodios 32% (39) en los que sí se encontró, estos fueron los hallazgos:

- antecedentes asociados a estados de inmunosupresión en 15 casos (12,3%).
- antecedente de patología que incrementan el riesgo de metástasis sépticas en 22 ocasiones (18,0%).
- otros estados de co-morbilidad de interés en 34 de los casos (27,9%).

Se encontró significación estadística en relación a la mayor presencia de enfermedades graves de base en el intervalo de mayores de 65 años 47,2% (17), frente al 19,8% (17) de los menores de 65 años; y de los antecedentes de riesgo de metástasis sépticas 33,3% (12), frente a los 11,6% (10) casos en menores de 65 años.

Idoneidad de la petición. La solicitud del coprocultivo se consideró adecuada en 110 casos (90,2%). Encontramos un 86,0% (74) de peticiones adecuadas en los menores de 65 años.

Indicación, prescripción y duración del tratamiento antibiótico. Respecto al tratamiento, el 64,6% (79) de los pacientes recibió tratamiento antibiótico, frente al 30,3% (37) que no lo recibió; en el 4,9% restante (6) de los casos, no se registró en la historia clínica este dato.

La media de edad de los pacientes tratados fue de 48,43 años. La proporción de los tratados con antibioterapia fue entre los menores de 65 años un 67,4% (58), y en los de edad igual o superior a 65 años un 58,3% (21), en ambos casos sobre sus respectivas poblaciones.

De los 79 casos que recibieron tratamiento antibiótico en el 26,6% de los pacientes (21) las peticiones procedían de Atención Primaria y el 45,6% (36) del Servicio de Urgencias Hospitalario, y el 27,85% (22) de otros Servicios de Especialidades Hospitalarias.

La edad media de las personas tratadas con antibióticos aumentó al considerar sólo los casos atendidos en Servicios de Especialidades Hospitalarias pasando a 57,09 años, 8,37 años

más que la media global de 48,72 años de todos los casos.

La distribución de la población en cuanto a la valoración del uso de antibióticos se muestra en la tabla 2.

Por lo tanto encontramos un adecuado criterio de uso de los antibióticos para esta entidad en un 49,1% (57 episodios), en el resto, los otros 59, el uso fue inadecuado por exceso o defecto.

Si separamos los episodios según el origen de la petición de la prueba (tabla 3), el mayor volumen de tratamientos inadecuados se documentaron en Urgencias hospitalarias, la diferencia no fue significativa respecto a Atención Primaria ($p=0,149$), pero sí respecto a Atención Especializada ($p=0,001$).

La tabla 4 expresa la distribución de la valoración del tratamiento en mayores y menores de 65 años; respecto a las inadecuaciones, los menores de 65 años fueron tratados sin estar indicado con diferencia estadísticamente significativa respecto a los mayores de 65 años ($p<0,001$) y en cuanto a la no prescripción estando indicada la significación se encontró en el grupo de mayores de 65 años, respecto a los menores de esta edad ($p<0,001$).

La valoración del uso de tratamiento antimicrobiano según el serotipo fue adecuada en un 65,3% de los casos de *Salmonella* ser. Typhimurium, para *Salmonella* ser. Enteriditis fue inadecuado en un 60,0%, la mayoría de estos casos se agruparon en el tercer 51,6% (33) y cuarto trimestre 56,3% (9) sin alcanzar significación estadística.

Los antibióticos pautados fueron en el 72,2% (57) de los episodios ciprofloxacino, en el 17,7% (14) azitromicina; con trimetoprim/sulfametoxazol en un 3,8% (3); levofloxacino se utilizó en el 2,5% (2) y meropenem se utilizó en 1,3% (1) de los casos. Se trató en asociación ciprofloxacino + metronidazol y levofloxacino + imipenem en el 2,6% (2) de las prescripciones.

Si categorizamos en mayores y menores de 65 años, el ciprofloxacino fue utilizado en un 77,2% (44) casos en menores de 65 frente al 22,8% (13) en mayores. De los 14 pacientes tratados con azitromicina, 12 fueron menores de 65 años. El levofloxacino (2), meropenem (1) y las asociaciones de ciprofloxacino con metronidazol (1) y con imipenem (1) fueron los 100% de los casos prescritas por atención especializada tras ingreso en mayores de 65 años.

Tabla 3

Valoración del tratamiento antibiótico según el origen del episodio (incluyendo los episodios en los que no se encontró esta información)

Valoración del tratamiento		Origen			Total
		Atención primaria	Urgencias hospitalarias	Atención especializada	
Adecuado	Recuento	20	18	19	57
	%	48,8%	34,6%	65,5%	46,7%
Inadecuado	Recuento	19	33	7	59
	%	46,3%	63,5%	24,1%	48,4%
No descrito	Recuento	2	1	3	6
	%	4,9%	1,9%	10,3%	4,9%
Total	Recuento	41	52	29	122
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Tabla 4

Valoración de la indicación de tratamiento antibiótico categorizado según edad mayor o menor de 65 años, en los 116 episodios en los que se encontró esta información

Valoración de la indicación		Edad (años)		Total
		<65	≥65	
Antibiótico no indicado y no prescrito	Recuento	21	0	21
	%	25,3%	0,0%	18,1%
Antibiótico indicado y adecuadamente prescrito	Recuento	16	20	36
	%	19,3%	60,6%	31,0%
Antibiótico indicado pero no prescrito	Recuento	4	12	16
	%	4,8%	36,4%	13,8%
Antibiótico no indicado pero prescrito	Recuento	42	1	43
	%	50,6%	3,0%	37,1%
Total	Recuento	83	33	116
	%	100,0%	100,0%	100,0%

Si analizamos la idoneidad de la prescripción según antibiótico, valorando ciprofloxacino y azitromicina que representan mayor volumen de prescripciones encontramos que de los 57 episodios tratados con ciprofloxacino, en 25 episodios el antibiótico estuvo indicado y adecuadamente prescrito, pero en los otros 32 (56,1%), el antibiótico no estaba indicado y aun así se prescribió. En el caso de los 14 episodios tratados con azitromicina en 3 casos el antibiótico estaba indicado y fue adecuadamente prescrito pero en los otros 11 (78,6%) no estaba indicado y aun así se prescribió.

El antibiótico elegido fue inadecuado en 5 ocasiones según las premisas de este estudio (4,1%). Estas cinco prescripciones correspondieron a pacientes atendidos en Atención Especializada durante ingreso hospitalario.

La duración media del tratamiento fue de 6 días, con un mínimo de 1 y un máximo de 30 días.

De los 79 tratados con antibiótico, el 40,5% (32) de los episodios recibió tratamiento antibiótico 7 días, solo 1 día el 8,9% (7), durante 3 días un 11,4% (9) y durante 5 días 11,4% (9). En los pacientes que fueron tratados durante 10 días o más 6,3% (5), el antibiótico utilizado fue, trimetoprim/sulfametoazol en 3 casos y ciprofloxacino en otros 2 casos. En el 15,2% (12) de los casos tratados no se registró la duración del tratamiento en la historia.

La duración fue adecuada en el 69,6% (55) de episodios, inadecuada por exceso en el 6,3% (5) y por defecto en un 3,8% (3) de ellos.

La dosis fue adecuada en el 82,3% (65) de los casos sometidos a tratamiento con antibiótico. No se obtuvieron datos en un 12,7% (10) episodios de los tratados. No se registraron incorrecciones por exceso.

Los 36 episodios en los que se prescribieron antibióticos estando indicados, 29,5%, se encontró además una adecuada dosificación y duración del mismo en un 16,4% (20) casos.

DISCUSIÓN

Las salmonelosis gastroenteríticas suponen la segunda causa diagnosticada de diarrea infecciosa en nuestro medio [3, 4, 6], sin embargo la mayoría de estos cuadros clínicos son leves y autolimitados, precisando únicamente reposición hidroelectrolítica [6, 9]. Se planteó este trabajo para valorar si el manejo que se hacía en nuestro medio de esta entidad se corresponde con las recomendaciones al respecto o se precisa implementar medidas correctoras.

Este estudio presenta la limitación de ser retrospectivo y sujeto a la información recogida en las historias clínicas, en este sentido tenemos que poner de manifiesto la escasez y falta de uniformidad de la información que se encuentra en las historias clínicas, tanto en las de Atención Primaria como en las Hospitalarias, desconocemos si obedece a falta de tiempo, a falta de hábito de recogida de información, a la familiaridad ante un proceso en principio banal y autolimitado, a que los programas informáticos no facilitan esta tarea o a una suma de varios de estos factores.

La población que hemos descrito en esta serie de casos está integrada en mayor proporción por mujeres (54,1%), con una edad media de 48,72 años; estas características tienen relación con nuestra población de referencia, en la que existe también un mayor porcentaje de mujeres y se constata también en otra serie de Plasencia que recoge casos de esta misma entidad [9].

Merece la pena destacar el enorme porcentaje de pacientes que consultan por su cuadro directamente en el servicio de urgencias hospitalarias, y más llamativo aún resulta que sea gente joven (<65 años) con menor co-morbilidad y sin criterios de ingreso; esto puede corresponder a hábitos inadecuados de uso de nuestro sistema sanitario sobre los que quizás convendría intervenir.

En cuanto a los datos clínicos presentes en los pacientes, son los esperados en esta enfermedad, fiebre, insuficiencia renal, alteraciones hidro-electrolíticas; la presencia de las mismas y el porcentaje de pacientes en las que se documentan se corresponde con lo recogido por otros autores [9, 10], y en esta serie, como sería esperable, están más presentes a medida que aumenta la edad de los enfermos.

En cuanto a los microorganismos aislados, los serotipos Enteritidis y Typhimurium son los aislados mayoritariamente y suponen en conjunto, en nuestro estudio más del 90% del total de los aislamientos, coincidiendo con los hallazgos que reportan tanto las series de ámbito más local [11], como lo publicado a nivel de Castilla y León [4], a nivel nacional [3] o europeo [2]. Se aislaron además en 8 episodios serotipos menos frecuentes, que tendrán que investigarse con posterioridad puesto que ya es conocido que algunos de éstos como Kentucky y Virchow son especialmente resistentes a antibióticos [6].

Especial interés merece el comportamiento epidemiológico a lo largo del año de estos dos serotipos, en este estudio se constata fielmente la descripción del mismo que hacen Arnedo-Pena et al. [12] cuando recogen las diferencias entre estos dos serotipos en cuanto a reservorio animal, alimento que las vehiculiza, tasa de ataque, que implican que se comporten epidemiológicamente de forma muy diferente, con una curva epidémica que en el caso de Typhimurium es continua, con casos esporádicos a lo largo de todo el año y raramente en forma de brotes y en el de Enteritidis es abrupta con picos de incidencia que suelen corresponder a los meses de verano y con frecuencia dando lugar a brotes o agrupamientos de casos, estas diferencias se constatan completamente en nuestro estudio.

También, y en lo que respecta al tipo de enfermedad que causan, estos autores [12] reportan que Typhimurium da lugar a un cuadro más grave, que se refleja en mayores porcentajes de hospitalización, como se constata en nuestro estudio, con una diferencia que alcanza la significación estadística, lo cual puede agravarse por el hecho de que este serotipo suele ser más resistente a antibióticos, sobre todo si se trata de la variante monofásica [13], que puede comprometer aún más la salud de los pacientes afectados. Todas estas diferencias deberían justificar su valoración por separado en los estudios en los que se analicen estos cuadros clínicos, y no hacerlo puede llevar a que las curvas no tengan distribución estacional clara, como ocurre en el trabajo de Flecha Cureses et al [11].

Hemos encontrado que más del 90% de las solicitudes de coprocultivo eran adecuadas con arreglo a los requisitos que se establecen en este trabajo. Cerca del 60% de las peticiones reunían más de tres criterios establecidos como de indicación de petición, se trata de un buen resultado, sin embargo hemos encontrado casos en los que la prueba no estaba indicada y se trataba de pacientes menores de 65 años, y otros en los que se solicita cultivo cuando el antecedente es la toma previa de antibióticos, cuando lo adecuado en este caso hubiera sido la solicitud de estudio de presencia de *Clostridium difficile* toxigénico. El resto de inadecuaciones fueron pacientes jóvenes que acudieron al Servicio de Urgencias Hospitalarias desde donde

se solicitó la prueba, sin que hubiera criterio para hacerlo, quizá con la intención de prestar una atención más completa a veces se solicitan pruebas innecesarias. Llama la atención el hecho de que hay mayor porcentaje de peticiones solicitadas con criterio cuando después se aísla *Typhimurium* que cuando resulta ser *Enteritidis*, y pensamos que puede deberse a que por tratarse de *Typhimurium* sea un cuadro clínicamente más grave, o que por estar "fuera de temporada de brotes" se valore más cuidadosamente.

Con respecto al manejo de los antibióticos en esta entidad, numerosas publicaciones [5, 6, 10, 14], guías de tratamiento antibiótico [7] y una revisión sistemática de la Cochrane [8] están de acuerdo de forma unánime en que no está indicado el tratamiento de la gastroenteritis por *Salmonella enterica* subsp.*enterica* leve y moderada en pacientes sanos de base. No existe evidencia del beneficio, según Cochrane, y sí un significativo número de efectos adversos en los tratados como la prolongación del periodo de portador asintomático del microorganismo, la génesis de resistencias antibióticas y alteración de la microbiota saprofita.

Acerca de los pacientes en los extremos de la vida y en personas con patología de base severa, Cochrane no se define por no existir estudios que puedan apuntalar evidencia en ningún sentido. Hohmann [15] recoge que solo un 5% de estos enfermos con patología de base susceptible de complicación, se complican de hecho. Por ese motivo, la falta de evidencia, y porque parece razonable evitar el riesgo de complicaciones asumiendo los posibles efectos adversos en determinados contextos, se admite que está indicado tratar los casos clínicamente graves y aquellos que presenten circunstancias que predispongan a septicemia y riesgo de metástasis sépticas [5, 6, 10, 14, 15].

En nuestro estudio encontramos entorno a un 65% de pacientes en los que se prescribieron antibióticos, cifras muy parecidas a los encontrados por Sánchez Cardador et al [9] en su grupo de casos, el 81,8% de sus pacientes hospitalizados son tratados, en nuestro estudio supusieron el 84,6%, cifras ambas equiparables y elevadas por tratarse de pacientes más graves y con más criterios que justifiquen la prescripción. En nuestro estudio en los pacientes hospitalizados la media de edad de los pacientes tratados es mayor a la de los no tratados, es posible que la edad se asocie a mayor co-morbilidad que justifique el tratamiento. Además de la prescripción en hospitalización, encontramos un 26,6% de la prescripción se realizó en Atención Primaria (30% reportan Sánchez Cardador et al. [9]) y lo más destacable de nuestros datos es que la atención en Urgencias del Hospital aglutina un 45,6% de todas las prescripciones. Sorprende también, que se encontró mayor porcentaje de tratados, en general, entre los menores de 65 años.

En cuanto a la valoración de la prescripción de antibióticos, tal y como se refiere en los resultados, solamente en el 49% de los casos los antibióticos se manejaron adecuadamente según los criterios establecidos, tanto prescritos estando indicados como no prescritos en casos en los que no lo estaban indicados; el resto 51%, fueron prescripciones incorrectas.

Los incumplimientos con mayor riesgo para el paciente fueron los casos que no recibieron un tratamiento cuando estaba indicado, esto ocurrió en 16 episodios y no se siguió la evolución de estos enfermos, por lo que no se puede descartar que este error haya empeorado el pronóstico del paciente.

Los casos con administración de antibióticos en situaciones en donde no estaban indicados fue la causa más frecuente de prescripción inadecuada (37%) cifra muy cercana al 40 % que reportan Ramos Martínez et al. [16] en su trabajo sobre la prescripción de antibióticos en cuadros infecciosos en el Servicio de Urgencias del Hospital Puerta de Hierro de Madrid. Se da la circunstancia además de que en nuestro trabajo se encontró que esta inadecuación del uso de antibióticos fue significativamente mayor en los pacientes menores de 65 años tratados en el Servicio de Urgencias del Hospital, lo cual debe llevar a establecer medidas formativas para mejorar y adecuar la atención de la patología infecciosa en los servicios de urgencias.

Según nuestros resultados la inadecuación del tratamiento fue más elevada en el tercer y cuarto trimestre del año, hallazgo que vendría a reforzar la idea de que en momentos más relacionados epidemiológicamente con brotes, se generaliza la prescripción de antibióticos o se hace de una manera menos concienciosa y personalizada. Este "exceso" de tratamiento con antibióticos observado se asocia más a los aislamientos del serotipo *Enteritidis*, en lógica concordancia con los períodos en los que se produce.

Los antibióticos mayoritariamente elegidos en los casos en que el clínico decidió pautarlos fueron ciprofloxacino, en 57 episodios, el más prescrito tanto en mayores como en menores de 65 años, que coincide con lo encontrado por otros autores [9], y después azitromicina, prescrita en 14 episodios.

En el caso de ciprofloxacino encontramos un 56% de prescripciones incorrectas en pacientes sin criterios para tratamiento, pero en el caso de azitromicina, de los 14 tratamientos, 11 eran inadecuados (78,6%) y correspondieron a pacientes menores de 65 años, circunstancia que se dio mayoritariamente en el Servicio de Urgencias del Hospital, a la que se ha hecho referencia.

Los cinco episodios tratados con un antibiótico inadecuado, por administrarse unos con espectro demasiado amplio o con asociaciones, en otros casos, considerándose en principio como inadecuados en el estudio, correspondieron a pacientes ingresados, de manejo delicado por su compleja patología, que no hemos entrado a valorar exhaustivamente.

En cuanto a la duración del tratamiento, habiendo establecido como adecuado un límite superior de 7 días, sería correcto afirmar que casi un 70% de los episodios se encuentran dentro de este periodo, pero teniendo en cuenta que el 40% de las prescripciones fueron de 7 días, pensamos que habría que implementar protocolos que recondujeran estos hábitos hacia pautas más cortas de tres días de tratamiento, como aconseja la bibliografía [5-7, 10, 14, 17], siendo obligada la intervención a la vista del 6,3% de casos en los que el tratamiento se alargó más allá de los 7 días.

Por último la dosificación fue adecuada en casi el 83% de los tratamientos, lo que parece dentro de lo aceptable.

Nuestros hallazgos ponen de manifiesto que, en nuestro área de salud, el manejo antibiótico de la salmonelosis gastroenterítica exige la implementación de acciones formativas enfocadas a optimizar su manejo, sobre todo en lo que tiene que ver con el exceso de prescripción de antibióticos en pacientes que no los precisan y que son atendidos sobretodo en el Servicio de Urgencias de nuestro Hospital.

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. Thielman NM, Guerrant RL. Acute Infectious Diarrhea. *N Engl J Med* 2004; 350:38-47. doi:10.1056/NEJMcp031534.
2. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. European Food Safety Authority European Centre for Disease Prevention and Control. *EFSA J* 2017; 15: 5077. doi: 10.2903/j.efsa.2017.5077.
3. Centro Nacional de Epidemiología, Resultados de la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmisibles. Informe anual. Año 2015. Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Economía y Competitividad. [visitada 12 agosto de 2018]. <http://gesdoc.isciii.es/gesdcocontroller?action=download&id=12/12/2017-05863fc4dd>.
4. Servicio de Epidemiología. Dirección General de Salud Pública. Red de Vigilancia Epidemiológica de Castilla y León. [visitada 12 agosto 2018]. Enfermedades de Declaración Obligatoria. Informes Epidemiológicos año 2016. <https://www.saludcastillayleon.es/profesionales/es/inf-epidemiologicos/informes-epidemiologicos-castilla-leon/enfermedades-declaracion-obligatoria>.
5. Echeita Sarrionandia MA, Herrera León S, Simón Baamonde C. Gastroenteritis invasivas, ¿algo nuevo? *Enferm Infect Microbiol Clin*. 2011;29(Supl 3):55-60. doi: 10.1016/S0213-005X(11)70029-5.
6. González-Torralba A, García-Esteban C, Alós Jl. Enteropatógenos y antibióticos. *Enferm Infect Microbiol Clin*. 2018;36 :47-54. doi: 10.1016/j.eimce.2015.06.002
7. Mensa J, Gatell JM, García-Sánchez JE, Letang E, López-Suñé E, Marco F. Guía de terapéutica antimicrobiana. 27. ed. España, Barcelona: Antares; 2017.
8. Onwuezobe IA, Oshun PO, Odigwe CC. Antimicrobials for treating symptomatic non-typhoidal Salmonella infection. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012 Nov 14;11:CD00116. doi: 10.1002/14651858.CD001167.pub2.
9. Sánchez Cardador B, Macías Quijano A, Velardo Andrés C, Sobrino Ballesteros M, Menacho del Moral L, Pérez Pino T, et al. Descriptivo de *Salmonella*. Abstracts of the XXXVIII Congreso Nacional de Medicina Interna (SEMI), Madrid 2017. Abstract I-190, p. 425.
10. Jurado Jiménez R, Arenas Muñoz C, Doblas Delgado A, Rivero A, Torres Cisneros J. Fiebre tifoidea y otras infecciones por salmonellas. *Medicine* 2010; 10: 3949-501.
11. Flecha Cureses MC, Cenzual Álvarez G, Rey Cao S, Vázquez López S, Wilhelmi de Cal I, Merino Fernández FJ. 026. Distribución estacional y serotipos más frecuentes de *Salmonella* spp. en el hospital Severo Ochoa de la Comunidad de Madrid. In: Abstracts of the XIV Congreso de la Sociedad de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Barcelona 2010. Abstract 026, p. 28.
12. Arnedo-Pena A, Bellido-Blasco JB, Romeu-García MA, Meseger-Ferrer N. Detección de foodborne *Salmonella* Typhimurium outbreaks. *Enferm Infect Microbiol Clin* 2017; 35 :469-473. Doi: 10.1016/j.eimc.2017.01.001.
13. Frutos M, López-Urrutia L, Berbel C, Allue M, Herrera S, Azcona JM, et al. Brote de *Salmonella* Typhimurium monofásica asociada al consumo de carne asada de cerdo. *Rev Esp Quimioter* 2018;31: 156-159. PMID: 29564869
14. Betés M, Muñoz-Navas M. Protocolo diagnóstico y tratamiento de la gastroenteritis aguda. *Medicine* 2016; 12:147-151. Doi: 10.1016/j.med.2016.02.006
15. Hohmann EL. Nontyphoidal Salmonellosis. *Clin Infect Dis* 2001; 32:263-9. Doi:10.1086/318457.
16. Ramos Martínez A, Cornide Santos I, Marcos García R, Calvo Corbellá E. Calidad de la prescripción de antibióticos en un servicio de urgencia hospitalario. *An Med Inter (Madrid)* 2005; 22(6): 266-270.
17. DuPont HL. Acute infectious diarrhea in immunocompetent adults. *N Engl J Med*.2014;370:1532-1540. Doi:10.1056/NEJMra1301069.



Original

Diego Rodríguez-Villar¹
Juan Antonio Del-Moral-Luque^{1,2}
Jesús San-Román-Montero³
Ángel Gil-de-Miguel¹
Gil Rodríguez-Caravaca^{1,2}
Manuel Durán-Poveda³

Adherencia a la higiene de manos con soluciones hidroalcohólicas en estudiantes de medicina. Estudio descriptivo transversal

¹Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Rey Juan Carlos. Alcorcón. Madrid.

²Unidad de Medicina Preventiva y Salud Pública. Hospital Universitario Fundación Alcorcón. Madrid.

³Departamento de Medicina y Cirugía. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Rey Juan Carlos. Alcorcón. Madrid.

Article history

Received: 8 November 2018; Revision Requested: 11 December 2018; Revision Received: 18 December 2018; Accepted: 15 January 2019

RESUMEN

Objetivos. Evaluar de forma cegada la adherencia a la higiene de manos de los estudiantes de medicina en un Hospital Universitario.

Material y métodos. Estudio descriptivo transversal. Se evaluó la adherencia a la higiene de manos de estudiantes de medicina en los servicios de Neonatología, Pediatría, Neurología y Traumatología. Se observaron de forma encubierta los cinco momentos para realizarla y la técnica de higiene. La adherencia a la higiene de manos se describió con la distribución de frecuencias de los diferentes momentos en los que está indicada.

Resultados. Se evaluaron 456 lavados de manos. La adherencia global a la higiene de manos fue del 44,3%. El servicio más evaluado fue Traumatología (59,6%). La adherencia global, según los diferentes momentos, fue mayor después del contacto con el paciente (60,2%). El servicio con mayor adherencia a la higiene de manos fue Neonatología (60%). La adherencia a la higiene de manos fue mayor en los diferentes servicios de hospitalización (50%) que en las consultas externas (33%) ($p<0,05$) y el tiempo medio de duración de la higiene de manos fue de 22 segundos.

Conclusiones. La mayor parte de los momentos se registraron en el servicio de Traumatología y el momento en que hubo más adherencia a la higiene de manos ha sido el momento "después del contacto con el paciente". El mayor porcentaje de adherencia a la higiene de manos se produjo en Neonatología. La adherencia a la higiene de manos fue moderada pero se puede y se debe mejorar.

Palabras clave: Higiene de manos, Estudiantes de medicina, Observación, Adecuación.

Hand hygiene compliance with hydroalcoholic solutions in medical students. Cross-sectional study

ABSTRACT

Objectives. To assess hand hygiene compliance covertly in medical students in a university teaching hospital.

Material and methods. Cross-sectional study. Hand hygiene compliance in medical students was assessed in the units of Neonatology, Paediatrics, Neurology and Orthopaedic surgery. The five moments were covertly observed so as the hand rub technique. Hand hygiene compliance was described with the compliance percentages of the five moments.

Results. We studied 456 opportunities of hand hygiene. Global compliance was 44.3%. The most registered unit was Orthopaedic surgery (59.6%). According to the different moments, global compliance was better "after touching a patient" (60.2%). The unit with the highest hand hygiene compliance was Neonatology (60%). Hand hygiene compliance was better in the different hospitalisation units (50%) than in the office rooms (33%) ($P<0.05$) and the mean duration of hand hygiene was 22 seconds.

Conclusions. Most of the moments were registered in the unit of Orthopaedic surgery and the moment with the highest hand hygiene compliance was "after touching a patient". The most hand hygiene compliance percentage was observed in Neonatology. Hand hygiene compliance was moderate, and it could and must be improved.

Key-words: Hand hygiene, Medical students, Observation, Compliance.

Correspondencia:

Gil Rodríguez Caravaca
Unidad de Medicina Preventiva, Hospital Universitario Fundación Alcorcón,
C/ Budapest 1, 28922 Alcorcón (Madrid) Spain
Tel.: +34 91 6219281 - Fax: +34 91 6219980
E-mail: g.rodriguez@fhalccon.es

INTRODUCCIÓN

Las infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria (IRAS) son una importante causa de morbilidad que afectan la calidad de vida de los pacientes, prolongan la estancia media hospitalaria, incrementan los costes sanitarios y producen un aumento de las resistencias a antimicrobianos debido al uso de antibióticos necesarios para su tratamiento [1-3].

De entre las medidas que tenemos para luchar contra las IRAS, la higiene de manos es considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como la principal medida para combatirlas y reducirlas [4-6], ya que la mayor parte de infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria se produce por contacto y transmisión horizontal. Esto hace que la higiene de manos sea una de las iniciativas prioritarias para mejorar la seguridad en la atención sanitaria de los pacientes fomentando la disponibilidad de las soluciones hidroalcohólicas, la formación de los profesionales sanitarios en cuanto a su uso y la evaluación de la adherencia a la higiene de manos. La OMS identifica oportunidades en las que está indicada una adecuada higiene de manos y que se dividen en cinco momentos o situaciones de riesgo: antes del contacto o atención al paciente, antes de realizar una tarea aseptica, después del riesgo de exposición a líquidos corporales, después del contacto o atención al paciente y después del contacto con el entorno del paciente [6]. El adecuado cumplimiento de la higiene de manos en estas situaciones o momentos es fundamental y las medidas para fomentar la adherencia a la misma deben ser continuas y multidisciplinares [7, 8].

La adherencia al lavado de manos es difícil de evaluar debido al cambio del comportamiento por parte del profesional sanitario que está siendo observado (efecto Hawthorne) [9]. La mejor estrategia para evaluar la adherencia a la higiene de manos de forma fiable es la utilización de observadores encubiertos entrenados que proporciona mejores resultados que cuando se usan observadores abiertos o conocidos [10]. Los mejores observadores son los profesionales sanitarios, pues éstos se involucran en las tareas habituales de los profesionales observados promoviendo la adherencia al lavado de manos [11] y hay evidencia de que la participación de estudiantes entrenados como observadores encubiertos puede aportar una visión más objetiva y real de la misma [12]. Cuando la observación se hace teniendo en cuenta las diferentes oportunidades de higiene de manos y según los diferentes momentos ésta puede ser muy efectiva [13].

El objetivo de este estudio fue la evaluación de forma encubierta de la adherencia a la higiene de manos, según las diferentes oportunidades y momentos, de los estudiantes de medicina en un Hospital Universitario.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo transversal que se llevó a cabo entre los meses de enero y junio de 2018 en el

Hospital Universitario Fundación Alcorcón (HUFA). Se evaluó la adherencia a la higiene de manos por parte de estudiantes de quinto curso de medicina durante el periodo de rotación de las prácticas clínicas. Ésta se evaluó en las consultas externas y en las plantas de hospitalización de los servicios de Neonatología, Pediatría, Neurología y Traumatología. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación Clínica del hospital (1717/2017).

Los estudiantes evaluados habían recibido formación sobre higiene de manos en el tercer año del grado asistiendo a un seminario obligatorio previo a su incorporación a las prácticas hospitalarias y a las diferentes sesiones clínicas de los servicios por los que rotaban. Allí se les explicaban las indicaciones de higiene de manos al atender a un paciente, los cinco momentos para realizarla y la técnica adecuada de higiene de manos. Se hizo una estimación de tamaño muestral teniendo en cuenta la situación más desfavorable de una adherencia del 50%, una confianza del 95%, una precisión del 5% y unas pérdidas del 1%. Así se estimaron necesarias 374 observaciones.

Se diseñó una ficha de registro de datos adaptando la ficha estándar de evaluación de la OMS [6] en la que se recogió el sexo, la oportunidad (acto de asistencia sanitaria que requiere lavado de manos), el momento (antes del contacto o atención al paciente, antes de realizar una tarea aseptica, después del riesgo de exposición a líquidos corporales, después del contacto o atención al paciente y después del contacto con el entorno del paciente), el producto usado (solución alcohólica -Softa-Man®, alcohol etílico 70%, Braun Medical, Rubí, Barcelona, España-, agua y jabón neutro, clorhexidina -Hibiscrub®, digluconato de clorhexidina 4%, Mölnlycke Health Care, Alcobendas, Madrid, España-, povidona -Curadona scrub®, povidona yodada 7,5%, Lainco, Rubí, Barcelona, España-), la duración del lavado (segundos), la adecuación de la técnica, el uso de guantes, el servicio y la dependencia hospitalaria (consultas externas u hospitalización). En cualquiera de los momentos y oportunidades evaluados, todos los productos antisépticos estaban disponibles al realizar la asistencia sanitaria.

Se realizó una observación de forma encubierta. Los estudiantes fueron evaluados durante sus prácticas clínicas cuando prestaban asistencia sanitaria y tanto sus tutores como los demás profesionales sanitarios desconocían la observación. Ésta la realizó un estudiante previamente formado y entrenado en evaluación y que prestaba asistencia y realizaba las prácticas clínicas conjuntamente con sus compañeros.

Análisis estadístico. Los datos se registraron en una base de datos relacional y normalizada diseñada *ad hoc* con Access de Microsoft®. Se realizó un análisis descriptivo de la muestra. Las variables cuantitativas se describieron con la media y desviación estándar (DE) o con la mediana y rango intercuartílico (RIQ) en caso de no seguir una distribución normal. Las variables cualitativas se estudiaron con la distribución de frecuencias. La comparación de variables cuantitativas se realizó con la prueba t de Student o con la

prueba no paramétrica U de Mann-Whitney si no seguían una distribución normal. Las variables cualitativas se compararon con la prueba χ^2 de Pearson o con la prueba exacta de Fisher en caso de no cumplirse las condiciones de aplicación (valores esperados en las celdas <5). Las variables cuantitativas de más de dos grupos se analizaron con el análisis de la varianza (ANOVA) o con la prueba no paramétrica de Kruskall-Wallis si no se cumplían los criterios de aplicación. La adherencia y adecuación del lavado de manos del personal sanitario se describió con la distribución de frecuencias de las diferentes categorías de evaluación.

Se consideraron diferencias estadísticamente significativas aquellas con $p<0,05$. El análisis estadístico-epidemiológico se hizo con las aplicaciones SPSSv22 y Epidat 3.1.

RESULTADOS

Se evaluaron 456 oportunidades o indicaciones del lavado de manos, el 21,1% en hombres (96) y el 78,9% en mujeres (360). El 23% (105) de las oportunidades de lavado se registraron en el servicio de Pediatría y Neonatología, el 59,6% (272) en el servicio de Traumatología y el 17,3% (79) en el servicio de Neurología. Del total de oportunidades de lavado, los momentos más observados fueron: después del contacto con el paciente (40,8%), antes del contacto con el paciente (31,8%), después del contacto con el entorno del paciente (10,5%), antes de una tarea aseptica (8,8%) y después de la exposición a fluidos corporales (8,1%).

La adherencia global a la higiene de manos en los estudiantes de medicina fue del 44,3% (44,9% en mujeres y 43,7% en hombres, $p>0,05$) y el antiséptico más empleado fue la solución hidroalcohólica (37,7%), seguido del agua y jabón (6,6%). La adherencia global a la higiene de manos, según los diferentes momentos, fue mayor después del contacto con el paciente (60,2%) y menor después de la exposición a fluidos corporales (24,3%) (tabla 1). Los servicios en los que hubo mayor adherencia a la higiene de manos fueron los de Neonatología y Pediatría con el 60% y el 50%, respectivamente (figura 1) ($p<0,05$). La adherencia a la higiene de manos fue mayor en los diferentes servicios de hospitalización (50%) que en las consultas externas (33%) ($p<0,05$).

El momento con mayor adherencia en el servicio de Traumatología fue "después del contacto con el paciente" (53%) y el de menor adherencia el momento "después de la exposición a fluidos" (27,3%). El momento con mayor adherencia en el servicio de Pediatría-Neonatología fue "después del contacto con el paciente" (75,7%) y el de menor adherencia el momento "después de la exposición a fluidos" (15,4%). El momento con mayor adherencia en el servicio de Neurología fue "después del contacto con el paciente" (68,8%) y el momento de menor adherencia "antes de una tarea aseptica" (25%) (figura 2).

El tiempo medio global de duración de la higiene de manos fue de 22 segundos, siendo mayor en neonatología (23 segundos) y menor en traumatología (21 segundos) ($p>0,05$). Hubo diferencias en el tiempo medio de higiene de manos entre consultas externas (21 segundos) y hospitalización (24 segundos) ($p<0,05$).

DISCUSIÓN

El porcentaje de adherencia al lavado de manos por parte de los estudiantes de nuestro centro (44,3%) ha sido superior al observado en nuestro entorno [14, 15] y similar al descrito en otros estudios como los de Pan et al. [12], Salati SA [16] o Kovacs-Litman et al. [17] en los que también se hizo la evaluación con estudiantes como observadores encubiertos. La adherencia a la higiene de manos es cada vez más evaluada y la evaluación encubierta nos permitió controlar el efecto Hawthorne pues el comportamiento varía cuando el personal sanitario se siente observado [6]. Hay estudios que describen una adherencia alta [18] y la evaluación de la misma es muy importante para reducir las infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria. Además, el personal sanitario está cada vez más concienciado, sobre todo desde la promoción de la estrategia de higiene de manos por la OMS desde 2005 con el lema "Clean care is safer care" y ampliada esta promoción en 2009 con el lema "Safe lives: clean your hands" [6].

La mayor parte de las oportunidades y momentos evaluados han sido estudiados en el servicio de Traumatología al ser el periodo de rotación de los estudiantes mayor y probablemente por una mayor participación de estos en tareas asistenciales.

Tabla 1 Adherencia a la higiene de manos según los diferentes momentos (N=456).

Momentos	Antes del contacto con el paciente	Antes de realizar una tarea aseptica	Después del riesgo de exposición a líquidos corporales	Después del contacto con el paciente	Después del contacto con el entorno del paciente
Número momentos	145	40	37	186	48
Higiene adecuada	52	13	9	112	16
Adherencia (%)	35,8	32,5	24,3	60,2	33,3

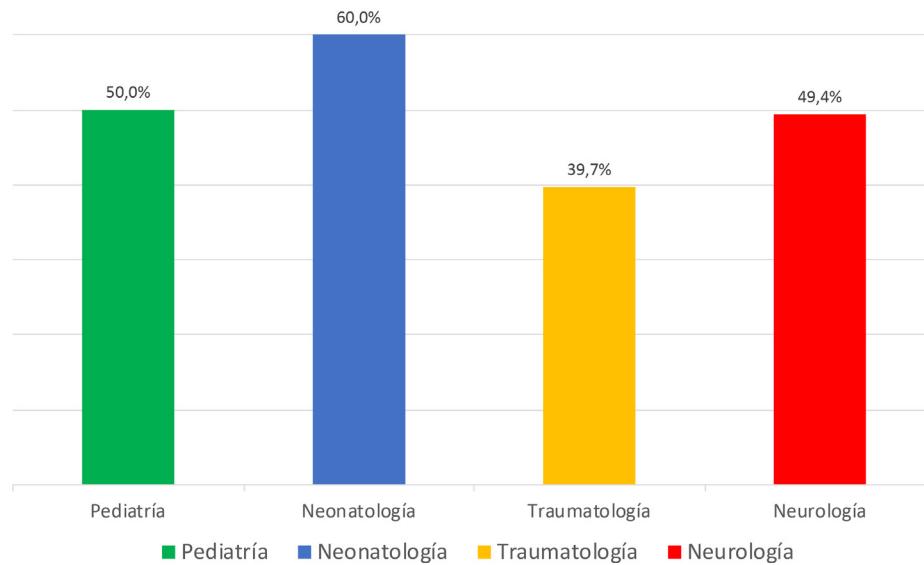


Figura 1 | Adherencia a la higiene de manos por servicios (%).

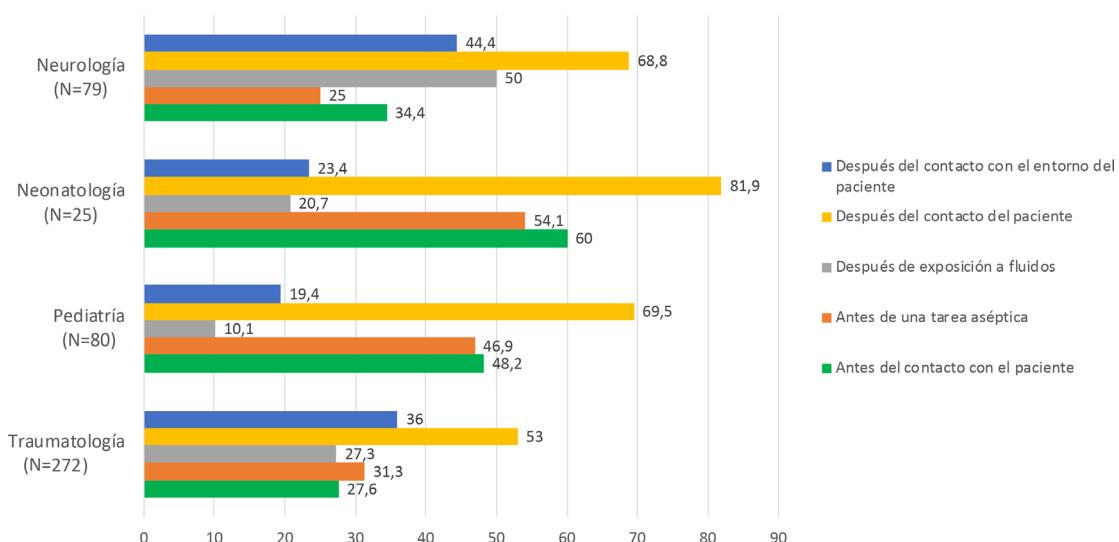


Figura 2 | Adherencia a la higiene de manos por momentos según servicios (%).

Sin embargo, la adherencia fue menor en este servicio que en el resto de servicios estudiados lo que puede deberse a la rapidez con que se realiza la exploración física al haber un gran volumen de pacientes. En este servicio es donde más se ha registrado la oportunidad "antes de realizar una tarea aséptica" por la mayor realización de procedimientos que precisan medidas asépticas. El servicio de Neurología ha sido en el que menos oportunidades se han registrado, probablemente debido a la menor participación de los estudiantes y por el escaso contacto con el paciente

cuando se realizan determinadas exploraciones neurológicas más largas y complejas. En el servicio de Pediatría es donde más se ha registrado la oportunidad "después de la exposición a fluidos" por la mayor exposición a los mismos en las exploraciones de los pacientes pediátricos. No hemos encontrado estudios de evaluación de la adherencia a la higiene de manos en estos servicios en nuestro medio, pero sí hay datos sobre la reducción de costes, del tiempo necesario para la higiene de manos con soluciones hidroalcohólicas y sobre la reducción de la incidencia

de infección en cirugía ortopédica y traumatológica [19].

De entre todos los momentos evaluados el observado con mayor adherencia ha sido "después del contacto con el paciente" y esto lo hemos observado tanto de forma general como en las diferentes unidades hospitalarias. Creemos que esto se podría explicar por la tendencia a lavarse las manos para "protegerse" del contacto con el paciente y al miedo percibido por el personal sanitario de autocontagio al explorar a un paciente. También puede deberse a la implicación irregular de los estudiantes a lo largo de las rotaciones prácticas. Las causas generales de incumplimiento del lavado de manos son el olvido, la negligencia o la falta de disponibilidad de los servicios sanitarios o dispensadores de soluciones hidroalcohólicas [20], aunque en nuestro hospital ésta última causa no ha influido pues la disponibilidad de dispensadores de soluciones hidroalcohólicas es del 100%.

El alcohol ha sido el antiséptico más empleado en la higiene de manos por su amplia disponibilidad en los diferentes servicios, no así con el agua y jabón, donde su uso se ha observado fundamentalmente en el servicio de Traumatología y en la unidad de Neonatología. Esto se pude explicar por la mayor facilidad y disponibilidad de soluciones hidroalcohólicas y la mayor dificultad de disponer de lavabos en todas las camas y dependencias hospitalarias.

El tiempo de lavado con las soluciones hidroalcohólicas está definido en 20-30 segundos por la OMS. En nuestro estudio este tiempo fue adecuado cuando la técnica de lavado fue correcta. Hay estudios que recomiendan un tiempo menor de hasta 15 segundos como también efectivo para la descontaminación de las manos y prevención de las infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria [18, 21]. Como conclusión, la adherencia al lavado de manos fue alta, sin embargo, sería recomendable una mayor formación de los estudiantes durante el Grado a través de actividades como clases sobre las infecciones nosocomiales, seminarios para explicar la técnica adecuada e incluso incluirlo en los programas de evaluación de las prácticas de los alumnos [17, 22, 23]. Además, es importante una adecuada implicación por parte de los facultativos al servir estos de modelo en la enseñanza de los estudiantes [24], lo que se podría mejorar con la ayuda de más sesiones clínicas para una mayor concienciación del personal médico [25].

Dentro de las posibles limitaciones del estudio hay que considerar el hecho de que nuestro trabajo se ha diseñado como observacional descriptivo y no experimental pues la dinámica de la observación impide la aleatorización. Si hemos tenido en cuenta el tamaño muestral según la situación más desfavorable de una adecuación del 50% de adherencia con una precisión y confianza estándar habiendo reclutado una muestra de tamaño adecuado para el objetivo del estudio y el sesgo de selección ha sido controlado. Decidimos incluir en la muestra los servicios de Pediatría, Neonatología, Neurología y Traumatología porque así tenemos una representación de servicios críticos, médicos, generales y quirúrgicos y la muestra es representativa de todos los servicios hospitalarios.

Creemos que nuestros datos pueden servir de referencia sobre el grado de adecuación de la adherencia a la higiene de manos en nuestro medio y este porcentaje de adherencia se puede considerar como un punto de partida para tratar de mejorarlo. Hay experiencias que demuestran que la estrategia de evaluación del uso de higiene de manos, la formación continuada y el recuerdo de la importancia de esta práctica a los profesionales y la comunicación de los datos a los servicios implicados puede mejorar ostensiblemente su uso [26] y, por consiguiente, mejorar la atención prestada a los pacientes y la reducción de la incidencia de infección relacionada con la asistencia sanitaria [27].

Podemos concluir como resultado de nuestro trabajo que la solución hidroalcohólica ha sido el antiséptico más usado para higiene de manos, que la adherencia a la misma por parte de los estudiantes de medicina ha sido moderada y que hay que hacer esfuerzos por mejorarla en aras de prestar una mejor asistencia sanitaria y minimizar los riesgos de infección relacionada con la asistencia sanitaria. La mayor parte de los momentos se registraron en el servicio de Traumatología y el momento en el que hubo más adherencia a la higiene de manos ha sido el momento "después del contacto con el paciente". El mayor porcentaje de adherencia a la higiene de manos se produjo en los servicios de Neonatología y Pediatría y el menor en el servicio de Traumatología.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a D. Sergio Rodríguez Villar su apoyo técnico en la gestión y diseño de la base de datos y en el registro de los datos del estudio.

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. Brusaferro S, Arnoldo L, Cattani G, Fabbro E, Cookson B, Gallagher R, et al. Harmonizing and supporting infection control training in Europe. *J Hosp Infect*. 2015;89(4):351-6. PMID: 25777079.
2. Umscheid CA, Mitchell MD, Doshi JA, Agarwal R, Williams K, Brennan PJ. Estimating the proportion of healthcare-associated infections that are reasonably preventable and the related mortality and costs. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2011;32(2):101-4. PMID: 21460463.
3. Lambert ML, Suetens C, Savey A, Palomar M, Hiesmayr M, Morales I, et al. Clinical outcomes of health-care-associated infections and antimicrobial resistance in patients admitted to

- European intensive-care units: A cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2011;11(1):30-8. PMID: 21126917.
4. Camins BC, Fraser VJ. Reducing the risk of health care-associated infections by complying background. *Jt Comm J Qual Patient Saf.* 2005;31(3):173-9. PMID: 15828601.
 5. Boyce JM, Pittet D; Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee; HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. *Am J Infect Control.* 2002;30(8):S1-46. PMID: 12461507.
 6. WHO. Save lives: Clean your hands. <http://www.who.int/infection-prevention/campaigns/clean-hands/en/> [consultado octubre de 2018].
 7. Almaguer-Leyva M, Mendoza-Flores L, Medina-Torres AG, Salinas-Caballero AG, Vidaña-Amaro JA, Garza-Gonzalez E, et al. Hand hygiene compliance in patients under contact precautions and in the general hospital population. *Am J Infect Control.* 2013;41(11):976-8. PMID: 23890745.
 8. Ling ML, How KB. Impact of a hospital-wide hand hygiene promotion strategy on healthcare-associated infections. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2012;1(1):13. PMID: 22958911.
 9. Wu KS, Chen YS, Lin HS, Hsieh EL, Chen JK, Tsai HC, et al. A nationwide covert observation study using a novel method for hand hygiene compliance in health care. *Am J Infect Control.* 2017;45(3):240-4. PMID: 27838163.
 10. Pan SC, Lai TS, Tien KL, Hung IC, Chie WC, Chen YC, et al. Medical students' perceptions of their role as covert observers of hand hygiene. *Am J Infect Control.* 2014;42(3):231-4. PMID: 24581012.
 11. Son C, Chuck T, Childers T, Usiak S, Dowling M. Practically speaking : Rethinking hand hygiene improvement programs in health care settings. *Am J Infect Control.* 2008;39(9):716-24. PMID: 21664001.
 12. Pan SC, Tien KL, Hung IC, Lin YJ, Sheng WH, Wang MJ, et al. Compliance of Health Care Workers with Hand Hygiene Practices: Independent Advantages of Overt and Covert Observers. *PLoS One.* 2013;8(1):e53746. PMID: 23341991.
 13. Lau T, Tang G, Mak KL, Leung G. Moment-specific compliance with hand hygiene. *Clin Teach.* 2014;11(3):159-64. PMID: 2480291.
 14. Martín-Madrazo C, Salinero-Fort MÁ, Cañada-Dorado A, Carrillo-De Santa-Pau E, Soto-Díaz S, Abánades-Herranz JC. Evaluación del cumplimiento de higiene de las manos en un área de atención primaria de Madrid. *Enferm Infect Microbiol Clin.* 2011;29(1):32-5. PMID: 20846756.
 15. Sánchez-Payá J, Galicia-García MD, Gracia-Rodríguez RM, García-González C, Fuster-Pérez M, López-Fresneña N, et al. Compliance with hand hygiene guidelines and determinants of compliance. *Enferm Infect Microbiol Clin.* 2007;25(6):369-75. PMID: 17583649.
 16. Salati SA, Al Kadi A. Hand Hygiene Practices in Medical Students: A Follow-Up Study. *Int Sch Res Not.* 2014;2014:2014:591879. PMID: 27379324.
 17. Kovacs-Litman A, Wong K, Shojania KG, Callery S, Vearncombe M, Leis JA. Do physicians clean their hands? Insights from a covert observational study. *J Hosp Med.* 2016;11(12):862-4. PMID: 27378510.
 18. Dietl B, Calbo E. Top-ten papers in Infection Control (2015-2017). *Rev Esp Quimioter.* 2018;31(Suppl 1):62-5. PMID: 30209927.
 19. Iwakiri K, Kobayashi A, Seki M, Ando Y, Tsujio T, Hoshino M, et al. Waterless Hand Rub Versus Traditional Hand Scrub Methods for Preventing the Surgical Site Infection in Orthopedic Surgery. *Spine (Phila Pa 1976).* 2017;42(22):1675-79. PMID: 28422796.
 20. Kalata NL, Kamange L, Muula AS. Adherence to hand hygiene protocol by clinicians and medical students at Queen Elizabeth Central Hospital, Blantyre-Malawi. *Malawi Med J.* 2013;25(2):50-2. PMID: 24098831.
 21. Pires D, Soule H, Bellissimo-Rodrigues F, Gayet-Ageron A, Pittet D. Hand Hygiene With Alcohol-Based Hand Rub: How Long Is Long Enough?. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2017;38(5):547-52. PMID: 28264743.
 22. Scheithauer S, Haefner H, Schwanz T, Lopez-Gonzalez L, Bank C, Schulze-Röbbecke R, et al. Hand hygiene in medical students: Performance, education and knowledge. *Int J Hyg Environ Health.* 2012;215(5):536-9. PMID: 22424645.
 23. Feather A, Stone SP, Wessier A, Boursicot KA, Pratt C. "Now please wash your hands": The handwashing behaviour of final MBBS candidates. *J Hosp Infect.* 2000;45(1):62-64. PMID: 10833345.
 24. Suchitra JB, Lakshmi Devi N. Impact of education on knowledge, attitudes and practices among various categories of health care workers on nosocomial infections. *Indian J Med Microbiol.* 2007;25(3):181-7. PMID: 17901633.
 25. Whitby M, McLaws ML, Ross MW. Why Healthcare Workers Don't Wash Their Hands: A Behavioral Explanation. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2006;27(05):484-92. PMID: 16671030.
 26. Pittet D, Hugonnet S, Harbarth S, Mourouga P, Sauvan V, Touveneau S, et al. Effectiveness of a hospital-wide programme to improve compliance with hand hygiene. *Infection Control Programme. Lancet.* 2000; 14;356(9238):1307-12. PMID: 11073019.
 27. Stewardson AJ, Sax H, Gayet-Ageron A, Touveneau S, Longtin Y, Zingg W, et al. Enhanced performance feedback and patient participation to improve hand hygiene compliance of healthcare workers in the setting of established multimodal promotion: a single-centre, cluster randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis.* 2016;16(12):1345-55. PMID: 27599874.



Original

Fernando Ramasco¹
Angels Figuerola²
Rosa Mendez¹
Diego Rodriguez Serrano³
Andrés von Wernitz⁴
Ana Hernández-Aceituno²
Carmen Sáez⁵
Laura Cardeñoso⁶
Elena Martín⁷
Nieves García-Vázquez⁸
Carmen de las Cuevas⁶
Natalia Pascual⁹
Azucena Bautista⁵
David Jiménez¹⁰
Guillermo Fernández¹¹
Ana Leal⁸
Mercedes Vinuesa²
Alberto Pizarro⁴
Marcello di Martino⁷
Lourdes Del Campo¹²
Iñigo García Sanz⁷
Marta Chicot⁸
Ana Barrios⁵
María José Rubio¹³
And the members of de
Code Sepsis H.U de La
Princesa

Initial clinical outcomes and prognostic variables in the implementation of a Code Sepsis in a high complexity University Hospital

¹Anesthesiology and Surgical Critical Care Department, University Hospital of La Princesa, Madrid, Spain.

²Preventive Medicine and Public Health Department, University Hospital of La Princesa, Madrid, Spain.

³Intensive Care Medicine Department, University Hospital Príncipe de Asturias, Alcalá de Henares, Madrid, Spain.

⁴Emergency Department, University Hospital of La Princesa, Madrid, Spain.

⁵Internal Medicine and Infectious Disease Department, University Hospital of La Princesa, Madrid, Spain.

⁶Microbiology Department, University Hospital of La Princesa, Madrid, Spain.

⁷General Surgery Department, University Hospital of La Princesa, Madrid, Spain.

⁸Intensive Care Medicine Department, University Hospital of La Princesa, Madrid, Spain.

⁹Clinical Analysis Department, University Hospital of La Princesa, Madrid, Spain.

¹⁰Nurse of Intensive Care Medicine Department, University Hospital of La Princesa, Madrid, Spain.

¹¹Admission and Clinical Documentation Department, University Hospital of La Princesa, Madrid, Spain.

¹²Radiology Department, University Hospital of La Princesa, Madrid, Spain.

¹³Nurse and Quality and Teaching Supervisor, University Hospital of La Princesa, Madrid, Spain.

Article history

Received: 9 November 2018; Revision Requested: 19 December 2018; Revision Received: 17 January 2019; Accepted: 8 March 2019

ABSTRACT

Objectives. To assess the impact of the first months of application of a Code Sepsis in a high complexity hospital, analyzing patient's epidemiological and clinical characteristics and prognostic factors.

Materials and methods. A long-term observational study was carried out throughout a consecutive period of seven months (February 2015 – September 2015). The relationship with mortality of risk factors, and analytic values was analyzed using uni- and multivariate analyses.

Results. A total of 237 patients were included. The in-hospital mortality was 24% at 30 days and 27% at 60 days. The mortality of patients admitted to Critical Care Units was 30%. Significant differences were found between the patients who died and those who survived in mean levels of creatinine (2.30 vs 1.46 mg/dL, $p < 0.05$), lactic acid (6.10 vs 2.62 mmol/L, $p < 0.05$) and procalcitonin (23.27 vs 12.73 mg/dL, $p < 0.05$). A statistically significant linear trend was found between SOFA scale rating and mortality ($p < 0.05$). In the multivariate analysis additional independent risk factors associated with death were identified: age > 65 years (OR 5.33, $p < 0.05$), lactic acid > 3 mmol/L (OR 5.85, $p < 0.05$), creatinine > 1.2 mg/dL (OR 4.54, $p < 0.05$) and shock (OR 6.57, $P < 0.05$).

Conclusions. The epidemiological, clinical and mortality characteristics of the patients in our series are similar to the best published in the literature. The study has identified several markers that could be useful at a local level to estimate risk of death in septic patients. Studies like this one are necessary to make improvements in the Code Sepsis programs.

Key-words: Sepsis, code sepsis, mortality

Resultados clínicos iniciales y variables pronósticas en la implementación de un Código Sepsis en un Hospital Universitario de alta complejidad

RESUMEN

Objetivo. Evaluar el impacto de un programa educativo y organizativo llamado Código Sepsis, en los primeros siete meses de su aplicación en un hospital de alta complejidad.

Material y métodos. Se realizó un estudio observacional durante un período consecutivo de siete meses (Febrero 2015-Septiembre 2015). Se analizó la relación con la mortalidad de los factores de riesgo y los valores analíticos usando análisis uni y multivariante.

Resultados. Se incluyeron un total de 237 pacientes. La mortalidad intrahospitalaria a los 30 días fue del 24 % y del 27% a los 60 días. La mortalidad de los pacientes ingresados en Unidades de Cuidados Críticos fue del 30%. Se encontraron

Correspondence:

Fernando Ramasco
Anesthesiology and Surgical Critical Care Department
University Hospital of La Princesa, C/ Diego de León 62, Madrid, 28006, Spain.
Phone : 639667114 - E-mail: gorria66@gmail.com

diferencias significativas entre los pacientes que murieron y los que sobrevivieron en sus valores medios de creatinina (2,30 vs 1,46 mg/dL, $p < 0,05$), ácido láctico (6,10 vs 2,62 mmol/L, $p < 0,05$) y procalcitonina (23,27 vs 12,73 mg/dL, $p < 0,05$). Se encontró una tendencia lineal estadísticamente significativa entre los valores de la escala SOFA y la mortalidad ($p < 0,05$). En el análisis multivariante se identificaron otros factores de riesgo independientes asociados con la muerte: edad > 65 años (OR 5,33, $p < 0,05$), ácido láctico > 3 mmol/L (OR 5,85, $p < 0,05$), creatinina > 1,2 mgr/dL (OR 4,54, $p < 0,05$) y el shock (OR 6,57, $P < 0,05$).

Conclusiones. La mortalidad en este estudio se encuentra dentro de los límites de los ensayos clínicos más recientes de sepsis. El estudio ha identificado varios marcadores que podrían ser útiles a nivel local para estimar el riesgo en pacientes sépticos. Estudios como éste son necesarios para hacer mejoras en los programas de Código Sepsis

Palabras clave: Sepsis, código sepsis, mortalidad.

INTRODUCTION

Currently sepsis is a pathology which still shows a high mortality rate; the present consensus is that early and effective treatment of these patients is key to improving their healthcare outcomes.

One of the initiatives which have contributed to improve care of these patients in Spain is the implementation of Code Sepsis programs in hospitals under the auspices of a National Code Sepsis Network [1].

These activation codes are the result of applying strategies for the coordination of different assistance levels involved in time-dependent pathologies. These codes are implemented, with the aim of early detecting patients suffering from life-threatening events (stroke, heart attack...) and triggering the activation of measures necessary to improve their prognosis [2].

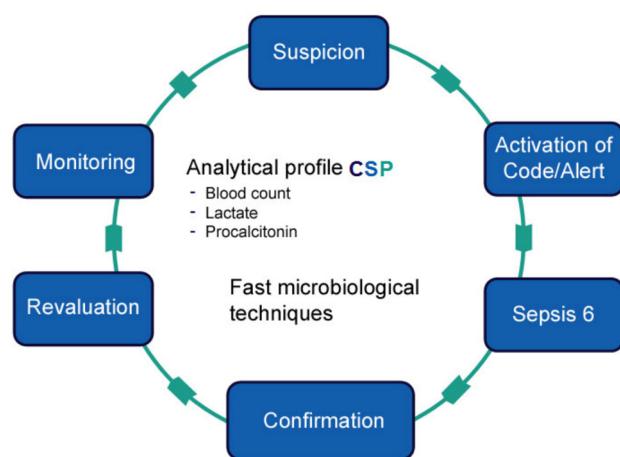


Figure 1 Flowchart for care of patients with Code Sepsis Alert activation

The Code Sepsis of University Hospital of La Princesa (CSP) [3] is a set of clinical, organizational, analytical and microbiological tools that, used together with intensive training and cognitive support, has the mission of improving the care of septic patients. It prioritizes care and fine-tuning treatment and enables simple and efficient clinical work.

The objective of this study was to assess the first months of application of a Code Sepsis in a high complexity hospital, describing the outcomes and defining the prognosis variables.

MATERIAL AND METHODS

Intervention: Code Sepsis Princesa 2015. The Code Sepsis was launched in February 2015 after 12 meetings held throughout 2014 of a multidisciplinary group originally composed of professionals from the departments of Internal Medicine, Intensive Care Medicine, Anesthesia and Surgical Critical Care, Emergency Medicine, Microbiology, Clinical Analysis, Admission and Clinical Documentation and General Surgery, and later by Nursing, Preventive Medicine, Radiology, and Urology, among others. Also, during 2014, prior to Code launch, 14 sessions explaining the Code Sepsis were held in different hospital departments, and 4 courses of 20 hours were conducted to train experts in sepsis for a total of 80 doctors and nurses. The Code was disseminated throughout the hospital by means of teaching materials in the form of cognitive aids and a hospital general session.

The CSP is based on the application of a sequence of coherent clinical decisions (figure 1).

When sepsis with organ failure was suspected, a Code Sepsis alert was activated in the Electronic Health Record of the hospital and *sepsis six (bundle in the first hours)* was initiated with the administration of oxygen, antibiotics and fluids, and obtaining an analytical profile and cultures. Later when the alert was confirmed, and the patient was reevaluated in less than three hours to decide whether to continue the treatment at the diagnosis site (emergency department, wards ...) or to relocate the patient to a Critical Care Unit due to poor evolution.

To facilitate the diagnosis and stratification of patients with CSP Alert, the clinicians had available a specific analytical tool for sepsis that includes a scalable request, including determinations of complete blood count, including platelets, arterial or venous blood gas, including oxygen and CO_2 blood pressure and lactic acid, biochemical analysis with creatinine, bilirubin and procalcitonin, some of them necessary for the calculation the Sequential Organ Failure Assessment score (SOFA).

Blood cultures and other cultures from the suspected focus of infection are recommended.

They are prioritized in those patients with CSP alert, using rapid detection techniques available in the hospital like MALDI-TOF or GenomERA, and detection of *S. pneumoniae* antigen by a rapid immunochromatographic assay (ICT).

In order to disseminate knowledge of the CSP, training is

carried out through specific courses for the hospital physicians and nurses experts in sepsis and through general training sessions in the services most often involved.

The following consensus documents, among others, were elaborated and placed in the document directory of the hospital information system:

- CSP protocol: a set of recommendations on suspicion, rapid diagnosis, hemodynamic resuscitation and early administration of antibiotics, and a guide for the tools and protocol summary.
- Antibiotic treatment guide, with high doses adapted to septic patient.
- Sample and culture collection protocols.

Design and variables of the study. An analytical observational prospective study was carried out on all patients with an activation of the CSP alert, from February 1, 2015 to September 30, 2015. Only patients with "severe sepsis" (with sepsis and organ failure in Sepsis -2 definitions) were included in the CSP alert in 2015. "Sepsis" according to the new 2016 definitions (Sepsis-3) is like severe sepsis [4]. There were no exclusion criteria. The study included patients with alerts activated anywhere in the hospital: Emergency Department, hospital wards, Critical Care Units.

Socio-demographic factors (age, sex), infection risk factors (acute renal failure, diabetes mellitus, immunosuppression, antibiotic treatment in the three previous months), and other severe risk factors such as admission to critical care units and the Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score were collected.

Analytical data collection was carried out in three stages: in the first 6 hours after the alert activation, from 6 to 12 hours and at 12 hours after activation. In each of these stages hematocrit, leukocytes, platelets, bilirubin, creatinine, lactic acid and procalcitonin were determined. Also a number of microbiological culture tests were carried out to identify microorganisms.

The fluid management was registered in the first 6h and 12h. All the antibiotics administered to the patient and the need for fluid resuscitation in the first 24 hours were also registered.

Outcome variables were overall mortality at 30 and 60 days and in hospital length of stay.

A prognostic risk variable was created, which combined lactic acid ≥ 3 mmol/L and procalcitonin ≥ 2 mg/dL in the first 6 hours. According to this variable, patients were classified as: "*low risk*", if both indicators were below their threshold; "*moderate risk*", if only one of them was above threshold and "*high risk*" if both were above threshold.

Also another composite variable was created combining Shock Index (heart rate/systolic blood pressure) ≥ 0.8 and lactic acid ≥ 3 mmol/L.

An antibiotic was considered "adequate antibiotic" if it was administered according to the hospital guidelines for

the suspected focus of infection and / or the microorganisms isolated in the previous cultures were sensitive and the doses applied followed the recommendations of the hospital commission for infections for Code Sepsis.

Finally, the number of antibiotics administered in the first 3 hours, between 3 and 6 hours and after 6 hours from the activation of the Code Sepsis were also registered

Statistical analysis. For qualitative variables their frequency and percentage were determined. The χ^2 test or the Fisher nonparametric test was used for their comparison.

For quantitative variables the mean and standard deviation (SD) were calculated. Comparisons were carried out with the Student t Test or the nonparametric Mann-Whitney U test.

An explanatory model of mortality with logistic regression was constructed, which included all the variables that were statistically significant in the univariate analysis, calculating the corresponding odds ratio (OR) for each of the variables.

Statistical significance was established as $p < 0.05$. The analyses were carried out with Statistics Software SPSS Version 19 and Stata / SE, version 13 (Stata Corp, College Station, TX).

The study was approved by the Ethics committee for Clinical Research of La Princesa University Hospital, Registration number PI-893.

RESULTS

A total of 237 patients were included. Seventy nine percent (188) of the CSP alerts were activated in the Emergency Department and 33% (79) of the total cases needed to be admitted to the Critical Care Units. The distribution of the clinical and epidemiological characteristics, risk factors and severity are presented in table 1.

The mean inpatient length of stay was 15 days (SD 28) and the mean length of stay in the Critical Care Units was 9 days (SD 16). The source of the infection was abdominal in 31.4% (75) of the cases, respiratory in 30.5% (73) and urological in 26.4% (63).

Of the 470 cultures taken, 204 were blood cultures (36% positives), 133 urine cultures (37% positives), 46 respiratory samples (24% positives), 32 stool cultures (37.5% positives), 22 abdominal fluid samples (68% positives), 15 skin and soft parts (66% positives), 8 central line catheters (25% positives) and 10 other samples (30% positives). Table 2 shows the more frequent isolated microorganisms depending on antibiotic onset. Eleven percent (36) of the isolated microorganisms were multi-resistant; the most frequent were: carbapenem resistant (OXA-48 was the most frequent carbapenemase) and extended-spectrum β -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* (19%), extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* (16%), and *Pseudomonas aeruginosa* multidrug-resistant (11%).

Changes in biomarker concentrations in the first 24 hours of CSP activation were statistically significant. In the case of lactic acid, its mean values were 3.47 mmol/L (SD 3.17) in the

first six hours (0-6 h), 2.99 mmol/L (SD 3.86) (6-12h), 2.02 mmol/L (SD 1.68) (12-24h) ($p < 0.05$). Regarding procalcitonin, its mean values were the following: 15.04 mg/dL (SD 26.32) (0-6h), 23.85 mg/dL (SD 29.97) (6-12h) and 22.53 mg/dL (SD 33.65) (12-24 h) ($p < 0.05$).

Significant differences were found between the patients who died and those who survived in mean levels of creatinine (2.30 vs 1.46 mg/dL, $p < 0.05$), lactic acid (6.10 vs 2.62 mmol/L, $p < 0.05$) and procalcitonin (23.27 vs 12.73 mg/dL, $p < 0.05$).

With respect to the recommended measures in the approach to sepsis, 38% (90) of the patients received more than 2L of crystalloids in the first 6h and 29% (79) more than 4L in the first 24h. Thirty five percent of the patients needed vaso-pressors after resuscitation with fluids. Three hundred-ninety antibiotics were administered in total; 56% in the first 3h after the activation, 15% between 3 and 6h, and 29% after 6 hours.

The 81% of the antibiotics administered were considered adequate.

At 30 days the overall hospital mortality was 24% (56). At 60 days, mortality was 27% (63); 63% (150) of the patients were at home and 10% (24) remained hospitalized or in a medical care home. The mortality of the patients admitted to the Critical Care Units was 30% (24) and the mortality in hospital wards was 20.3% (32).

At the time of CSP alert, in those patients admitted to the Critical Care Units, the SOFA score was between 0 and 6 in 29 cases (45%), between 7 and 9 in 19 cases (29%) and above 10 in 17 cases (26%). We found a statistically significant linear tendency between the SOFA rating and mortality at both 30 days ($p < 0.05$), and 60 days ($p < 0.05$).

Figure 2 shows the percentages of mortality according to the SOFA group in those cases where the alert was activated in Emergency Department, in those where it was activated in the rest of the departments and in the patients who were admitted to the Critical Care Units.

Analyzing the possible relationship of patient comorbidity variables and clinical-analytical data with mortality, the risk factors identified were: age, creatinine, lactic acid, bilirubin, and procalcitonin in the first 6h (table 3).

A relationship was found between the patients with a Shock Index ≥ 0.8 and lactic acid ≥ 3 mmol/L in the first 6h of the activation and mortality ($p < 0.05$). Death was 2.5 times more likely in these patients.

Analysis of the new prognostic risk variable (lactic acid ≥ 3 mmol/L and procalcitonin ≥ 2 mg/dL) showed that 30% of the cases were "low risk", 42% "moderate risk" and 28% "high risk", with a statistically significant relationship between risk and mortality ($p < 0.05$). The risk of dying was 1.5 times higher in moderate risk patients and 8 times higher in high risk patients compared to low risk patients.

A statistically significant relationship was found between the administration of a single antibiotic or more than 2 antibiotics and mortality, even stratifying by the SOFA score ($p < 0.05$). However, this did not occur with the administration

Table 1 Characteristics of patients included in Code Sepsis

General data

Age, years (SD)	72 (15)
Sex: Men, n (%)	141 (60)
Hospitalization in the previous 3 months, n (%)	80 (34)
Antibiotics in the previous 3 months, n (%)	73 (31)
Service: emergencies, n (%)	188 (79)

Comorbidity

Renal insufficiency, n (%)	45 (19)
Diabetes mellitus, n (%)	65 (27)
Immunosuppression, n (%)	51 (21)
Hypertension, n (%)	125 (53)
Ischemic cardiopathology, n (%)	35 (15)
Stroke, n (%)	20 (8)
Neoplasia, n (%)	62 (26)

Clinical data and analyses

HR, bpm (SD)	104 (25)
SBP, mmHg (SD)	107 (28)
Hematocrit, % (SD)	38 (7.5)
Leukocyte /L (SD)	11,916 (12,526)
Platelets /L (SD)	180,672 (156,527)
Lactic acid, mmol/L (SD)	3.5 (3.2)
Procalcitonin, mg/dL (SD)	15 (26)
Creatinine, mg/dL (SD)	1.6 (1.1)
Bilirubin, mg/dL (SD)	1.3 (1.4)
PaO ₂ /FiO ₂ (SD)	262 (123)
SAO ₂ /FiO ₂ (SD)	164 (157)

Severity data

SOFA (SD)	7.8 (4.6)
APACHE (SD)	19.3 (7.9)
Admission Crit. Care U., n (%)	79 (33)
Stay in Crit Care U. in days (SD)	9 (16)
Global stay in days (SD)	15 (28)
Mortality at 30 days, n (%)	56 (24)
Mortality at 60 days, n (%)	63 (27)

SD: Standard deviation; n: frequency; HR: Heart rate; bpm: beats per minute; SBP: Systolic blood pressure; SOFA: Sepsis related Organ Failure Assessment; APACHE: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation; Crit.Care U.: Critical Care Units

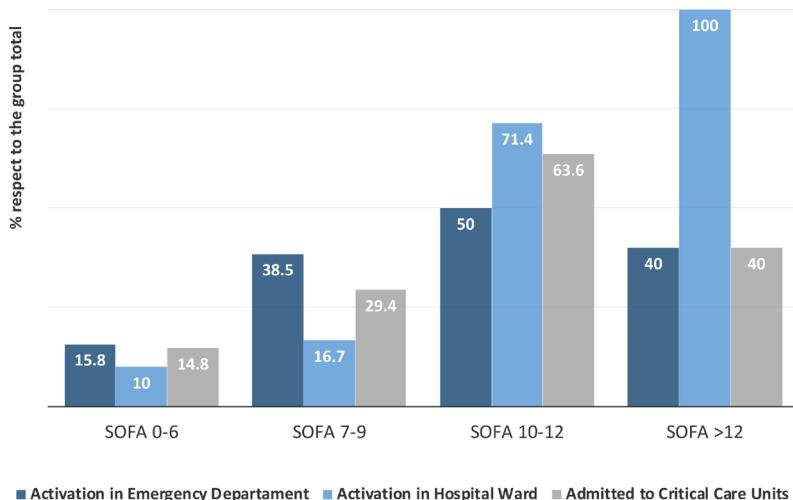
of two antibiotics, where the percentage of mortality was 0%. The association of total number of antibiotics with mortality after 6h showed a linear tendency ($p < 0.05$).

In the multivariate analysis of mortality, some associated fac-

Table 2 Isolated microorganisms according to antibiotic onset.

Before Antibiotic Onset (N=119)	n (%)
<i>Escherichia coli</i>	33 (28)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13 (11)
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 (8)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	8 (7)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7 (6)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	7 (6)
<i>Staphylococcus hominis</i>	6 (5)
Rest	35 (29)
During Antibiotic Treatment (N=187)	n (%)
<i>Escherichia. coli</i>	45 (24)
<i>Enterococcus faecalis</i>	12 (6)
<i>Enterococcus faecium</i>	11 (6)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10 (5)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9 (5)
<i>Candida albicans</i>	8 (4)
<i>Methicillin-resistant S. aureus</i>	7 (4)
<i>Staphylococcus aureus</i>	6 (3)
Rest	76 (42)

N: total number; n: frequency

**Figure 2** Percentage of mortality in different SOFA scale groups according to the location of Code Sepsis Alert Activation and admitted in Critical Care Units.

tors were identified independently: age, lactic acid, creatinine and shock (need for vasopressors) (table 4). With the combination of these factors, a new variable was created that classified patients according to the presence or absence of 1, 2, 3 or 4 of the identified factors. Thus, 17 patients (7%) were ≥ 65 years of age, showed lactic acid ≥ 3 mmol/L, creatinine ≥ 1.2 mg/dL and need for vasopressors (Shock), 13 of which (76.5%) died. A statistically significant relationship was found between this new variable and mortality, with a significant linear trend, where the number of associated risks correlated positively with the risk of mortality ($p < 0.05$).

DISCUSSION

The benefit of activating "Code Sepsis" in a septic patient is the speed of reaction in a time-dependent pathology: quick diagnosis due to prioritization in the involved departments (Microbiology, Clinical Analysis, Radiology) and speed in the treatment, prioritizing the need of surgical or interventional drainage of the focus as well as the early evaluation by Critical Care Units if necessary.

The results of the patients analyzed highlight as opportunities for improvement the need to perform an early identification, the need for faster resuscitation and the administration of the antibiotic within the first hour of Code activation.

The results of the first few months of application of the CSP model are mainly in agreement with the data published in the most important recent national [5-7] and international studies on sepsis [8-10].

The mean age of the patients in this study is higher than that of the patients in the above mentioned publications, while their characteristics do not show any other relevant difference. The suspected or confirmed sources of infection are also in line with those already published. These data make the morbidity and mortality outcomes comparable with those of trials and publications.

The death rates in the above mentioned publications are between 19 and 28%, comparable to 24% found in our study. It is interesting to highlight the high percentage of survivors (63%), who are at home at 60 days.

Length of stays in Hospital and Critical Care Units are longer in this study than in the international ones, although they are similar to the few national studies published, which may not only reflect the higher severity of the cases, but also differences in clinical practice in different countries. In fact, one the most notable circumstances is the low number of admissions to the Critical Care Units in our sample, 33% compared with an average of nearly 80% in international studies for the same profile of patients [5-7].

Table 3**Univariate analysis of association between risk or predictive factors and death.**

	Deaths		OR (CI 95%)	p
	YES	NO		
Age > 65 years old, n (%)	50 (29)	6 (9)	4.56 (1.85 - 11.21)	0.001
Sex: Men, n (%)	34 (24)	22 (23)	1.07 (0.60 - 1.97)	0.831
Renal insufficiency, n (%)	13 (29)	43 (22)	1.40 (0.68 - 2.91)	0.358
Diabetes mellitus, n (%)	16 (25)	40 (23)	1.07 (0.55 - 2.09)	0.826
Immunosuppression, n (%)	12 (24)	44 (24)	0.99 (0.47 - 2.06)	0.985
Hypertension, n (%)	30 (24)	26 (23)	1.04 (0.57 - 1.90)	0.887
Ischemic Cardiopathology, n (%)	8 (23)	48 (24)	0.95 (0.40 - 2.23)	0.907
Stroke, n (%)	3 (15)	53 (24)	0.54 (0.15 - 1.93)	0.349
Neoplasia, n (%)	19 (31)	37 (21)	1.65 (0.85 - 3.15)	0.132
Hospitalization in the previous 3 months, n (%)	19 (24)	37 (24)	1.01 (0.53 - 1.90)	0.975
Antibiotic in the previous 3 months, n (%)	13 (18)	43 (26)	0.61 (0.390 - 1.22)	0.162
Need for health care, n (%)	11 (31)	45 (22)	1.60 (0.72 - 3.51)	0.242
Heart rate, bpm (SD)	103 (29)	104 (23)	0.99 (0.98 - 1.01)	0.925
Systolic blood pressure, mmHg (SD)	107 (29)	108 (28)	0.99 (0.99 - 1.00)	0.811
Hematocrit, % (SD)	36 (8.7)	38 (7.1)	0.96 (0.92 - 1.00)	0.066
Leucocytes, thousand/mm ³ (SD)	12.31 (10.4)	11.80 (13.1)	1.00 (0.99 - 1.00)	0.793
Platelets, thousand/mm ³ (SD)	210.36 (216)	171.81 (133)	1.00 (0.99 - 1.00)	0.117
Bilirubin, mg/dL (SD)	1.81 (2)	1.09 (1)	1.36 (1.04 - 1.78)	0.024
Lactic acid > 3 mmol/L, n (%)	39 (42%)	15 (12%)	1.56 (1.27 - 1.83)	0.000
Procalcitonin > 2 mg/dL, n (%)	22 (29%)	8 (13%)	1.21 (1.02 - 1.44)	0.025
Creatinine > 1.2 mg/dL, n (%)	33 (33%)	23 (17%)	1.23 (1.06 - 1.44)	0.004

n: frequency; SD: Standard Deviation; bpm: beats per minute; OR: Odds Ratio; CI: Confidence Interval

The combined use of two antibiotics shows significantly better results in these patients compared to using only one or a higher number of antibiotics, reflecting the possibility of adjusting clinical practice to the new Surviving Sepsis guidelines with respect to antibiotic treatment in combination with sepsis [11, 12].

Almost 20% of the antibiotics administered were not adequate, detecting an improvement opportunity, for example implementing microbiological techniques that accelerate the results of sensitivity to the microorganisms that cause sepsis.

With respect to resuscitation with crystalloids, the values are lower than those recorded in published studies, with a percentage lower than 40% for patients who were administered 2 litres in the first 6 hours and 4 litres in the first 24 hours. These results point to another possibility of improvement [13].

The mean initial values of the biological markers (lactic acid, procalcitonin and creatinine) are significantly higher in the patients who die with respect to those who survive, reflecting its usefulness as objective markers of severity in these patients [14-16].

The SOFA score, important in the light of the new definitions (Sepsis-3), allows us to easily stratify risk and shows a linear correlation with mortality, especially in patients hospitalized in medical ward. These patients show the highest SOFA values, indicating a delay in the activation of the CSP, which is related to higher death rates [17, 18].

In this study, some local risk scales were created by associating rates and markers, assessing their usefulness to identify severity and thus to be used in the location, re-evaluation and allocation of resources to these patients, as recommended by current precision medicine [19]. In the case of initial lactic acid higher than 3mmol/L and procalcitonin higher than 2mg/dL, we find an association with mortality in keeping with the literature, especially when both are high [20]. This is an interesting scale as it is an objective biological marker which evaluates infection and perfusion.

The combination of clinical variables and biological markers also seems very interesting in order to adjust the risk of patients in our hospital due to its simplicity of application

According to this study, when the combination of high Shock Index and high levels of lactic acid is applied, there is

Table 4 Multivariate analysis of factors associated with death.			
	n (%)	OR (CI 95%)	p
Age > 65 years	171 (72)	5.33 (1.08 - 26.38)	0.040
Lactic acid > 3 mmol/L	93 (42)	5.85 (1.67 - 20.46)	0.006
Creatinine >1.2 mg/dL	101 (43)	4.54 (1.01 - 20.43)	0.049
Need for Vasopressors (Shock)	71 (35)	6.57 (1.62 - 26.57)	0.008
Procalcitonin > 2 mg/dL	77 (56)	0.86 (0.21 - 3.49)	0.834
Shock index >0.8	166 (70)	0.23 (0.05 - 1.06)	0.059
Adequate Antibiotic therapy	191 (81)	4.51 (0.86 - 23.67)	0.075

n: frequency; OR: Odds Ratio; CI: Confidence Interval

a clear association with mortality. Therefore, this scale may be used in our local practice [21, 22].

In the multivariate analysis we have found that age, lactic acid, creatinine and shock as factors related to mortality, thus emphasizing the importance of adequate resuscitation in the outcome of sepsis patients.

The results suggest a very similar situation to the best results of our environment. The opportunities for improvement are clear in resuscitation and antibiotic treatment. Our results suggest avoiding excessive administration of antibiotics in the first few hours, as is defined in the recommendation for a rational start of antibiotic treatment [23].

The use of biomarkers and composite local ranges is a practice increasingly recommended in the context of precision medicine [19] and it is an opportunity for innovation, which may help improve patient prognosis and reduce the overuse of resources [24, 25].

The fundamental limitation of this study is that it does not compare septic patients before and after the implementation of CSP. At this moment, with the results of this study, we have an analysis of the situation at the beginning of the project, which gives us an opportunity to analyze its efficiency when compared to future stages.

Moreover, as a result of new sepsis definitions and the campaign "Survive Sepsis 2016", an updating of CSP was carried out [11]. In this update, measures were included for the earlier activation of the alerts and for faster diagnostic tests along with the use of local risk scales which combine clinical indexes such as the new National Early Warning Score (NEWS 2) [26] with biomarkers. An evaluation of the 2016 and 2017 results is currently underway, in order to compare them with previous CSP results and implement the necessary measures to continue improving.

Sepsis is still an illness which causes death in one in four

patients affected by sepsis, and thus must continue being a priority in the hospital care; Code Sepsis is an opportunity for improvement in patient care.

FUNDING

None to declare.

CONFLICT

The authors declare that they have no conflicts of interest.

REFERENCES

- Documento de Consenso Código Sepsis Nacional Coordinador: Borges Sá M. Madrid, 2014. (Consultado 16 de abril de 2018). Disponible en: <https://www.seguridaddelpaciente.es/resources/documentos/2016/SEPSIS-DOCUMENTO-DE-CONSENSO.pdf>
- Ferreras Amez JM, Arribas Entrala B, Sarrat Torres MA, García Noain A, Caudevilla Martínez A, Colás Oros C, Aladrén Pérez B, Rodero Álvarez F, en nombre de Grupo Sepsis Aragón. Before after study of the effect of implementing a sepsis code for emergency departments in the community of Aragon. *Emergencies* 2017; 29: 154-160. PMID:28825234
- Ramasco F, von Weritz A, Méndez R, Rodríguez D, Bautista A, Fernández G, et al. Aplicación práctica de un código sepsis: Código Sepsis Princesa . En : Ramasco F, Gonzalez R, editores . Manual de Infecciones Perioperatorias. Madrid. Ergón 2017; 233-267.
- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016;315:801-10. PMID:26903338
- Process Investigators, Yealy DM, Kellum JA, Huang DT, Barnato AE, Weissfeld LA, et al. A randomized trial of protocol-based care for early septic shock. *N Engl J Med*. 2014;370(18):1683-93. PMID:24635773
- ARISE Investigators, Anzics Clinical Trials Group, Peake SL, Delaney A, Bailey M, Bellomo R, Cameron PA, et al. Goal-directed resuscitation for patients with early septic shock. *N Engl J Med*. 2014;371(16):1496-506. PMID:25272316
- Mouncey PR, Osborn TM, Power GS, Harrison DA, Sadique MZ, Grieve RD, et al. Trial of early, goal-directed resuscitation for septic shock. *N Engl J Med*. 2015;372(14):1301-11. PMID:25776532
- Iñigo J, Sendra JM, Díaz R ; Bouza C, Sarria-Santamera A. Epidemiology and costs of severe sepsis in Madrid. A hospital discharge study. *Med Intensiva*. 2006;30(5):197-203. PMID:16938192
- Aguirre Tejedo A, Echarte Pazos JL, Minguez Masó S, Supervía Caparrós A, Skaf Peters E, Campodarte Botet I. Implementación de un "Código Sepsis Grave" en un servicio de urgencias. *Emergencias*. 2009;21:255-61.
- Monclús Cols E, Capdevila Reniu A, Roedberg Ramos D, Pujol Fontrodona G, Ortega Romero M. Management of severe sepsis and

- septic shock in a tertiary care urban hospital emergency department: opportunities for improvement. *Emergencias*. 2016;28:229-34. PMID: 29105408
11. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, Kumar A, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock. *Crit Care Med*. 2017;45:486-552. PMID: 28098591
12. Stephen Y. Liang and Anand Kumar. Empiric Antimicrobial Therapy in Severe Sepsis and Septic Shock: Optimizing Pathogen Clearance. *Curr Infect Dis Rep*. 2015;17(7):493. PMID: 26031965
13. Angus DC, Barnato AE, Bell D, Bellomo R, Chong CR, Coats TJ, et al. A systematic review and meta-analysis of early goal-directed therapy for septic shock: the ARISE, ProCESS and ProMISe Investigators. *Intensive Care Med*. 2015;41(9):1549-60. PMID: 25952825
14. Pierrickos C, Vincent JL. Sepsis biomarkers: a review. *Crit Care*. 2010;14:R15. PMID: 20144219
15. Long B, Koyfman A. Ready for Prime Time? Biomarkers in Sepsis. *Emerg Med Clin North Am*. 2017;35(1):109-122. PMID: 27908327
16. Suarez-de-la-Rica A, Maseda E, Anillo V, Tamayo E, García-Bernedo CA, Ramasco F, Hernández-Gancedo C, López-Tofiño A, Giménez MJ, Granizo JJ, Aguilar L, Gilsanz F. Biomarkers (Procalcitonin, C Reactive Protein, and Lactate) as Predictors of Mortality in Surgical Patients with Complicated IntraAbdominal Infection. *Surg Infect (Larchmt)*. 2015;16(3):346-51. PMID: 26046249
17. Vincent JL, Nelson RD, Williams MD. Is worsening multiple organ failure the cause of death in patients with severe sepsis? *Crit Care Med*. 2011;39:1-6. PMID: 21317650
18. Innocenti F, Tozzi C, Donnini C, De Villa E, Conti A, Zanobetti M, et al. SOFA score in septic patients: incremental prognostic value over age, comorbidities, and parameters of sepsis severity. *Intern Emerg Med*. *Intern Emerg Med*. 2018;13(3):405-412. PMID: 28188577
19. Cevik AA, Dolgun H, Oner S, Tokar B, Acar N, Ozakin E, Kaya F. Elevated lactate level and shock index in nontraumatic hypotensive patients presenting to the emergency department. *Eur J Emerg Med*. 2015;22(1):23-8. PMID: 24390005
20. Karon BS, Tolan NV, Wockenfus AM, Block DR, Baumann NA, Bryant SC, Clements CM. Evaluation of lactate, white blood cell count, neutrophil count, procalcitonin and immature granulocyte count as biomarkers for sepsis in emergency department patients. *Clin Biochem*. 2017;50(16-17):956-958. PMID: 28552399
21. Leisman DE, Zemmel D'Amore JA, Gribben JL, Ward MF, Masick KD, et al. Early sepsis bundle compliance for non-hypotensive patients with intermediate versus severe hyperlactemia. *Am J Emerg Med*. 2017;35(6):811-818. PMID: 28126452
22. Berger T, Green J, Horeczko T, Hagar Y, Garg N, Suarez A, Panacek E, Shapiro N. Shock Index and Early Recognition of Sepsis in the Emergency Department: Pilot Study. *West J Emerg Med*. 2013;14(2): 168-174. PMID: 23599863
23. Antimicrobial stewardship: Start smart - then focus. <https://www.gov.uk/government/publications/antimicrobial-stewardship-start-smart-then-focus>
24. Pickkers and Kox . Towards precision medicine for sepsis patients . *Crit Care*. 2017;21(1):11. PMID: 28077168
25. Jordi Rello and Francisco Valenzuela-Sánchez. Septic shock in the era of precision medicine. *J Thorac Dis*. 2016; 8(6): 1022-1023. PMID: 27293808
26. Inada-Kim M, Nsutebu E. NEWS 2: an opportunity to standardise the management of deterioration and sepsis. *BMJ* 2018; 360:k1260. PMID: 29559439



Original

Lucía López-Amor^{1,2}
Dolores Escudero^{1,2}
Javier Fernández^{2,3}
Lorena Martín-Iglesias^{1,2}
Lucía Viña^{1,2}
Jonathan Fernández-Suárez^{2,3}
Álvaro Leal-Negredo^{2,3}
Blanca Leoz^{1,2}
Laura Álvarez-García^{1,2}
Cristian Castelló-Abietar^{2,3}
José Antonio Boga^{2,3}
Fernando Vázquez^{2,3,4,5}

Diagnóstico de meningitis/encefalitis en UCI con sistema de PCR múltiple. ¿Es tiempo de cambio?

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

²Grupo de Investigación Microbiología Traslacional del ISPA (Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias)

³Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo. España

⁴Departamento de Biología Funcional, Universidad de Oviedo, Oviedo. España.

⁵Fundación de Investigación Oftalmológica, Instituto Oftalmológico Fernández-Vega, Oviedo. España

Article history

Received: 20 December 2018; Revision Requested: 10 January 2019; Revision Received: 16 January 2019; Accepted: 18 January 2019

RESUMEN

Objetivo. Evaluar el impacto clínico de la PCR-múltiple FilmArray® panel Meningitis/Encefalitis en el diagnóstico de infecciones del sistema nervioso central y comparar los resultados obtenidos y el tiempo necesario hasta el diagnóstico con las técnicas microbiológicas convencionales.

Pacientes y métodos. Estudio prospectivo observacional en una Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) de adultos de un hospital de tercer nivel. Se realizó punción lumbar a todos los pacientes y en el LCR extraído se realizó FilmArray® panel de meningitis /encefalitis, estudio citoquímico, Gram y cultivos microbiológicos convencionales.

Resultados. 21 pacientes ingresados con sospecha de Meningitis/Encefalitis. Edad: mediana 58,4 años (RIQ 38,1-67,3), APACHE II: mediana 18 (RIQ 12-24). La mediana de estancia en UCI fue de 4 días (RIQ 2-6) y la hospitalaria de 17 días (RIQ 14-28). Mortalidad 14,3%. Se estableció un diagnóstico clínico final de Meningitis/Encefalitis en 16 pacientes, con diagnóstico etiológico en 12 casos (75%). La etiología más frecuente fue *Streptococcus pneumoniae* (8 casos). FilmArray® permitió diagnóstico etiológico en 3 casos con cultivo negativo y el resultado implicó cambios en el tratamiento antibiótico de 7 de los 16 pacientes (43,8%). Para la totalidad de pacientes, FilmArray® presentó una sensibilidad y especificidad del 100% y 90% respectivamente. La mediana de tiempo hasta la obtención del resultado de FilmArray® fue de 2,9 horas (RIQ 2,1-3,8) y del cultivo incluyendo antibiograma 45,1 horas (RIQ 38,9-58,7).

Conclusiones. FilmArray® panel Meningitis/Encefalitis realiza un diagnóstico etiológico más precoz que los cultivos convencionales, muestra una mayor sensibilidad y permite realizar un tratamiento antimicrobiano dirigido.

Palabras clave: FilmArray, Meningitis, Encefalitis, PCR múltiple

Correspondencia:

Lucía López-Amor
Servicio de Medicina Intensiva. Hospital Universitario Central de Asturias.
Avenida de Roma s/n 33011 Oviedo.
Teléfono 985108000 Extensión 38162.Fax 985108777
E-mail: lucialopezamor@gmail.com

Meningitis/Encephalitis diagnosis in ICU using Multiplex PCR system: Is it time of change?

Objective. To evaluate the clinical impact of Meningitis/Encephalitis FilmArray® panel for the diagnosis of cerebral nervous system infection and to compare the results (including time for diagnosis) with those obtained by conventional microbiological techniques.

Patients and methods. A prospective observational study in an Intensive Care Unit of adults from a tertiary hospital was carried out. Cerebrospinal fluid from all patients was taken by lumbar puncture and assessed by the meningitis/encephalitis FilmArray® panel ME, cytochemical study, Gram, and conventional microbiological cultures.

Results. A total of 21 patients admitted with suspicion of Meningitis/Encephalitis. Median age of patients was 58.4 years (RIQ 38.1-67.3), median APACHE II 18 (RIQ 12-24). Median stay in ICU and median hospital stay was 4 (RIQ 2-6) and 17 days (RIQ 14-28), respectively. The overall mortality was 14.3%. A final clinical diagnosis of meningitis or encephalitis was established in 16 patients, obtaining the etiological diagnosis in 12 of them (75%). The most frequent etiology was *Streptococcus pneumoniae* (8 cases). FilmArray® allowed etiological diagnosis in 3 cases in which the culture had been negative, and the results led to changes in the empirical antimicrobial therapy in 7 of 16 cases (43.8%). FilmArray® yielded a global sensitivity and specificity of 100% and 90%, respectively. The median time to obtain results from the latter and conventional culture (including antibiogram) was 2.9 hours (RIQ 2.1-3.8) and 45.1 hours (RIQ 38.9-58.7), respectively.

Conclusions. The Meningitis/Encephalitis FilmArray® panel was able to establish the etiologic diagnosis faster than conventional methods. Also, it achieved a better sensitivity and led to prompt targeted antimicrobial therapy.

Key-words: FilmArray, Meningitis, Encephalitis, Multiplex polymerase chain reaction

INTRODUCCIÓN

Las infecciones del sistema nervioso central (SNC) como meningitis y encefalitis (M/E) constituyen una grave patología que requiere un diagnóstico etiológico rápido. Iniciar precozmente un tratamiento antimicrobiano dirigido contribuye a disminuir morbilidad, estancia hospitalaria y reduce costes sanitarios [1]. Los pacientes que sobreviven a estas graves infecciones pueden tener importantes secuelas. En el diagnóstico, la sintomatología clásica es inespecífica y la celularidad y bioquímica del líquido cefalorraquídeo (LCR) aunque ayudan a diferenciar infección vírica de bacteriana, tampoco son definitivas [2, 3].

El cultivo del LCR se considera el patrón oro para el diagnóstico de la meningitis bacteriana a pesar de sus limitaciones. En el diagnóstico de las infecciones virales del SNC, los cultivos son lentos y de bajo rendimiento por lo que las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) han ido desplazando al cultivo, pero su uso permanece infravalorado por su complejidad y disponibilidad limitada [4]. Estas limitaciones han contribuido a estimular el interés por sistemas comerciales de PCR-múltiple, que integran todo el proceso en sistemas cerrados, ofrecen resultados muy rápidos, tienen alta especificidad y sensibilidad al no requerir un patógeno viable, son fáciles de realizar y pueden estar disponibles en cualquier tipo de hospital. Estos sistemas están cambiando el diagnóstico en la sepsis, infecciones respiratorias y otras patologías infecciosas [5-10]. En las infecciones del SNC del paciente crítico el "tiempo es vida" por lo que en estos casos la literatura recomienda utilizar sistemas de PCR múltiple en tiempo real [11-17].

En octubre del año 2015 la FDA autorizó el primer panel para la detección de patógenos del SNC (FilmArray®) [18]. Para bacterias como *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* y *Haemophilus influenzae* la sensibilidad y especificidad es del 89% y 100% [29] y para *Cryptococcus* spp. algunos autores refieren una sensibilidad y especificidad del 100% [20]. El objetivo de este estudio ha sido evaluar el impacto clínico de la PCR-múltiple FilmArray® panel Meningitis/Encefalitis en el diagnóstico de infecciones del SNC en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), y comparar los resultados obtenidos y el tiempo necesario hasta el diagnóstico con las técnicas microbiológicas convencionales.

PACIENTES Y MÉTODOS

Pacientes. Análisis prospectivo de todos los pacientes ingresados consecutivamente en una UCI de adultos con sospecha clínica de meningitis/encefalitis. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del hospital.

Ámbito del estudio. UCI polivalente de un Hospital Universitario de tercer nivel y centro de referencia para Neurocirugía.

Periodo de estudio. Desde el 9 de Enero de 2017 hasta el 20 de Junio de 2018

Criterios diagnósticos. Se consideró sospecha clínica de

meningitis la presencia de fiebre acompañada de signos meníngeos, rigidez de nuca, vómitos y otros síntomas neurológicos, como deterioro del nivel de conciencia, convulsiones o agitación psicomotora. Si presentaba al menos tres de ellos se consideró sospecha clínica alta y si solamente tenían uno o dos síntomas se consideró como sospecha clínica baja. Se definió leucocitosis como un nivel de leucocitos en sangre superior a $12.000/\text{mm}^3$. El límite alto de normalidad de procalcitonina se estableció en 0,5 mg/dl. Criterios diagnósticos en citoquímica de LCR: hipoglucorraquia, ratio de glucosa en LCR/glucosa en sangre menor de 0,5; hiperproteinorraquia, proteínas en LCR $> 50 \text{ mg/dl}$; pleocitosis: leucocitos en LCR $> 5 / \text{mm}^3$. Se consideró que existía predominio de neutrófilos si representaban más del 80% de las células. El diagnóstico etiológico se consideró positivo de acuerdo al resultado del Gram, antígeno de neumococo en LCR y orina, PCR del gen codificante de la subunidad 16S ribosomal bacteriana, cultivos bacterianos /PCR "casera" (*in house*) de virus y PCR múltiple en tiempo real, FilmArray®.

Diagnóstico microbiológico. Los LCR para cultivo bacteriológico fueron procesados de acuerdo al protocolo recomendado por la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica [21]. Para ello se sembraron en placas de agar sangre, agar chocolate y caldo tioglicolato (BioMérieux, Marcy l'Étoile) y se incubaron hasta 5 días. Para el diagnóstico virológico se realizó la extracción de ADN del LCR mediante AmpliPrep COBAS® (Roche Diagnostics) y PCR "casera" (*in house*) incluyendo las dianas Virus herpes simple 1 (VHS1), Virus herpes simple 2 (VHS2), Varicela-Zoster (VZ), citomegalovirus (CMV), virus Epstein-Barr y Virus herpes 6 y 7. Se realizó antígeno de neumococo en LCR y/u orina a criterio del médico responsable. En los casos que se consideró necesario se realizó también identificación microbiana mediante PCR16S.

Variables del estudio. Se registraron datos demográficos, síntomas y signos al ingreso, APACHE II, días de ingreso, tiempo de ventilación mecánica, mortalidad en UCI e intra-hospitalaria, tratamiento antibiótico, resultados citoquímicos de LCR, hemocultivos y resultados microbiológicos del LCR (antígeno de neumococo, Gram, cultivo, FilmArray®), antígeno de neumococo en orina, y tiempos desde la realización de la punción lumbar hasta la identificación del patógeno y su validación en la historia clínica electrónica. Cuando se realiza la identificación del patógeno, el Servicio de Microbiología comunica el resultado vía telefónica, pero ante la imposibilidad de medir estos tiempos se optó por considerar la identificación validada en la historia clínica que incluye el resultado del cultivo y el antibiograma.

FilmArray® (BioFire Diagnostics, LLC, Salt Lake City, UT, EEUU): El panel diagnóstico para meningitis/encefalitis utilizado es un sistema automatizado con técnica de PCR-múltiple, que permite la extracción y purificación de ácidos nucleicos microbianos a partir de una muestra de 200 μl de LCR. El panel incluye los patógenos más frecuentes para meningitis/encefalitis incluyendo virus, bacterias y levaduras hasta un total de 14 microorganismos. La técnica se realiza en una hora. Los patógenos incluidos en el panel son: *Escherichia coli* K1, *H. influenzae*, *Listeria monocytogenes*, *N. meningitidis*, *Strepto-*

coccus agalactiae, *S. pneumoniae*, CMV, Entrovirus (EV), VHS-1, VHS-2, Herpesvirus humano 6 (VHH 6), Parechovirus humano (HPeV), Virus WZ, y *Cryptococcus neoformans/Cryptococcus gattii*. Las muestras fueron procesadas de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Se determinó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo y eficiencia del test. Para *S. pneumoniae* se consideró el patrón oro el cultivo positivo y/o un antígeno de neumococo positivo en LCR u orina.

Análisis estadístico. Los datos fueron analizados mediante el programa Stata/IC 14 para Mac (StataCorp 2015. *Stata Statistical Software: Release 14*. College Station, TX: StataCorp LP). Estadística descriptiva, las variables cualitativas se expresan en frecuencia y porcentaje y las variables cuantitativas en media e intervalo de confianza de 95% o mediana y rango intercuartílico (RIQ). Se comparan proporciones mediante Test Exacto de Fisher. Se considera significativo un resultado con $p<0,05$.

RESULTADOS

Se estudiaron 21 pacientes, 13 mujeres (61,9%) y 8 varones (38,1%). La mediana de edad fue de 58,4 años (RIQ 38,1-67,3), mediana de APACHE II de 18 (RIQ 12-24). La mediana de estancia en UCI fue de 4 días (RIQ 2-6) y la hospitalaria de 17 días (RIQ 14-28). La mortalidad en UCI fue de 9,5% y la hospitalaria 14,3%.

Con respecto a la sintomatología al ingreso, el síntoma más frecuente fue la fiebre (81%), seguido de cefalea (61,9%) y rigidez de nuca (52,4%). Presentaron deterioro del nivel de conciencia que precisó intubación traqueal y ventilación mecánica 13 pacientes (61,9%) y convulsiones 3 pacientes (14,3%). La mediana de ventilación mecánica fue de 42,3 horas (RIQ 28,6-141,2). Leucocitosis 12 pacientes (57,1%) y elevación de procalcitonina 14 casos (66,7%). Analítica de LCR: pleocitosis 90,5%, neutrófilia 14 (66,7%), hipoglucorraquia 13 (61,9%) y proteínas elevadas en 19 (90,5%). El antígeno de neumococo en LCR fue positivo en 5 de los 6 casos con FilmArray® positivo y en orina en 3 de 5 pacientes. Los resultados clínicos, bioquímicos y microbiológicos se pueden ver en la tabla 1. Los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN) se muestran en la tabla 2, y se calcularon comparando los resultados con los obtenidos por el resto de técnicas microbiológicas. Este análisis se realizó sobre los 21 pacientes del estudio y también de forma específica sobre *S. pneumoniae* al ser el microorganismo más frecuente de la serie.

Basándose en la clínica y análisis citoquímico de LCR se estableció un diagnóstico de meningitis/encefalitis al alta hospitalaria en 16 pacientes, identificándose la etiología en 12 casos (75 %), 8 *S. pneumoniae*, 1 *H. influenzae*, 1 *L. mono-*

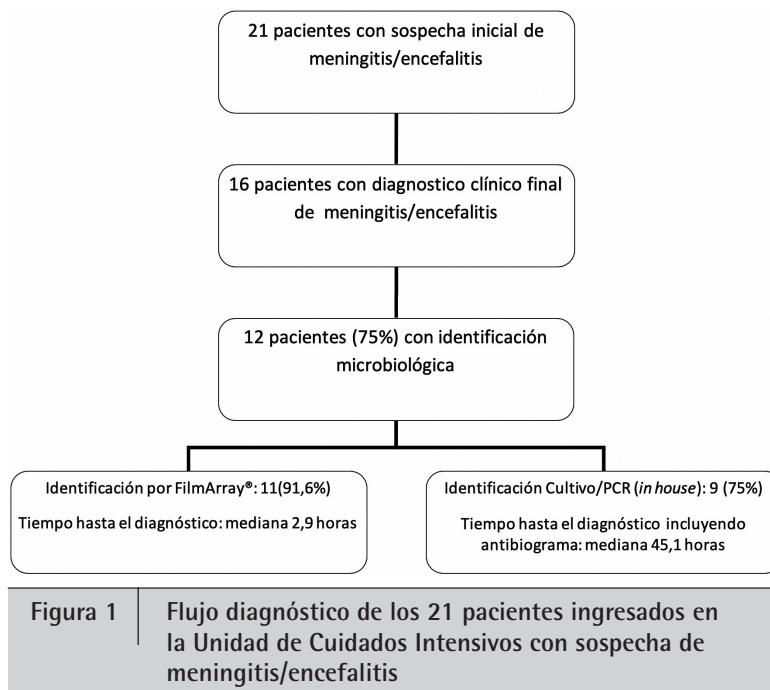


Figura 1

Flujo diagnóstico de los 21 pacientes ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos con sospecha de meningitis/encefalitis

cytogenes, 1 VHS1 y 1 *E. coli* (figura 1). De estos 12 pacientes, en 11 (91,6%) el diagnóstico se obtuvo por FilmArray® y en 9 (75%), por cultivo convencional ($p=0,59$). La mediana de tiempo hasta el diagnóstico por FilmArray®: fue de 2,9 horas (RIQ 2,3-4,1). La mediana para el diagnóstico mediante cultivo bacteriano positivo (incluyendo antibiograma) fue de 45,1 horas (RIQ 38,9-58,7). En los casos de cultivo negativo, la mediana se prolonga hasta 139,1 horas (RIQ 111,6-182,6). En el caso de encefalitis por VHS1 el tiempo hasta el diagnóstico definitivo por PCR *in house* fue de 33,2 horas. En nuestro estudio FilmArray® ha permitido modificar/desescalar el tratamiento antimicrobiano en 7 casos de los 16 pacientes con tratamiento empírico (43,8%). La sensibilidad de los microorganismos identificados fue la habitual en cada caso, sin identificar resistencias reseñables. En 5 pacientes con un microorganismo distinto a *L. monocytogenes* se suspendió el tratamiento con ampicilina. En el caso de meningitis por *L. monocytogenes*, se optimizó el tratamiento asociando gentamicina desde las primeras horas y suspendiendo cefotaxima y vancomicina y en el paciente nº 17 (ver tabla) se desescaló el tratamiento antibiótico de meropenem a cefotaxima. En el caso de la encefalitis por VHS1 la identificación permitió iniciar el tratamiento con aciclovir prescindiendo del tratamiento antibiótico innecesario.

DISCUSIÓN

En nuestro estudio FilmArray® se mostró superior al cultivo al diagnosticar 3 casos de meningitis neumocócica no identificadas por cultivo, aunque dado el escaso tamaño

Tabla 1 | Resultados clínicos, bioquímicos y microbiológicos

Nº	Sospecha clínica	Citotímidina LCR				Diagnóstico microbiológico				Tratamiento	
		Glicosa LCR (mg/dl)	Leucocitos LCR (mm^3)	Hemacias LCR (mm^3)	Proteínas LCR (mg/dl)	Tinción de Gram	Antígeno de neumoco ^a / orina	FilmArray® (horas) ^a	Cultivo (horas) ^a /virus (in house)	Antibiótico empírico	Antibiótico tras FilmArray®
1	Alta	2 (0,01)	6.436 (964)	1.000	820	CG+	No realizados	<i>S. pneumoniae</i> (2,1)	<i>S. pneumoniae</i> (86,4)	Cefotaxima	Meningitis neumocócica
2	Alta	2 (0,01)	209 (87/13)	2.000	870	CG+	+/+	<i>S. pneumoniae</i> (3,8)	<i>S. pneumoniae</i> (30,2)	Ampicilina	Meningitis neumocócica
3	Baja	108 (0,6)	92(96/4)	7	59	Sin hallazgos	No realizados	Negativo (2,9)	Negativo (203,9)	Cefotaxima	Meningitis estéril
										Rifampicina	Bacteriemia por <i>Staphylococcus aureus</i> foco articular
										Aciclovir	
4	Alta	2 (0,01)	15.225(92/8)	2.000	780	Sin hallazgos	No realizados	<i>H. influenzae</i> (1,7)	<i>H. influenzae</i> (58,7)	Ampicilina	Meningitis por <i>H. influenzae</i>
5	Alta	2 (0,02)	15.280(89/11)	38	288	CG+	+/No realizado	<i>S. pneumoniae</i> (2,9)	Negativo (236,3)	Ceftriaxona	Cefotaxima
6	Alta	68 (0,49)	323(49/51)	20	66	Sin hallazgos	No realizados	Negativo (11,4)	Negativo (125,7)	Ampicilina	Meningitis neumocócica
										Cefotaxima	Meningoencefalitis vírica
										Aciclovir	
7	Alta	2 (0,01)	7.240(99/1)	265	840	CG+	No realizado/+	<i>S. pneumoniae</i> (2,3)	<i>S. pneumoniae</i> (42,3)	Ampicilina	Ceftriaxona
										Ceftriaxona	Meningitis neumocócica
										Vancomicina	
8	Alta	18 (0,15)	1.524(99/1)	144	211	CG+	+/+	<i>S. pneumoniae</i> (2,1)	<i>S. pneumoniae</i> (48)	Ampicilina	Cefotaxima
										Ceftriaxona	Meningitis neumocócica
										Vancomicina	
9	Baja	78 (0,55)	872(4/96)	54	Sin hallazgos	No realizados	Negativo (25,3)	Negativo (46,7)	Negativo (46,7)	Ampicilina	Encefalitis aguda diseminada
										Ceftriaxona	
										Aciclovir	
10	Baja	49 (0,51)	6 (-)	3	58	Sin hallazgos	No realizados	Negativo (1,9)	Negativo (130,5)	No	Hiponatremia grave

Tabla 1 | Resultados clínicos, bioquímicos y microbiológicos (cont.)

Nº	Sospecha clínica	Citoquímica LCR			Diagnóstico microbiológico			Tratamiento			
		Glucoma LCR (mg/dl)	Leucocitos LCR (mm ³)	Hematies LCR (mm ³)	Proteínas LCR (mg/dl)	Tinción de Gram	Antígeno de neumoco ^a LCR/orina	FilmArray® (horas) ^a	Cultivo (horas) ^a /PCR (in house) virus	Antibiótico empírico	FilmArray®
11	Baja	65 (0.52)	2 (-)	3	45	Sin hallazgos	No realizados	Negativo (2,9)	Negativo (161,4)	No	Crisis epiléptica
12	Baja	58 (0.41)	391 (51/49)	9.000	671	Sin hallazgos	No realizados	Negativo (17,3)	Negativo (279,4)	No	Parada cardíaca por hipototasemia
13	Baja	58 (0.52)	143 (73/27)	136	59	Sin hallazgos	No realizados	Negativo (2,3)	Negativo (143,5)	Cefotaxima	Meningitis autoinmune
14	Alta	19 (0.07)	275(67/33)	15.000	171	BGN	No realizados	Negativo (8,6)	<i>Escherichia coli</i> (31,7)	Vancomicina	Meningitis postquirúrgica por <i>Escherichia coli</i>
15	Alta	2 (0.01)	2.090(85/15)	250	470	CG+	+/-	<i>S. pneumoniae</i> (3,9)	<i>S. pneumoniae</i> (37,9)	Meropenem	Meningitis neuromocócica
16	Baja	70 (0.58)	72(28/72)	9	51	Sin hallazgos	No realizados	VHS1 (4,1)	VHS1 (33,2)	Ampicilina	Ceftriaxona
17	Alta	2 (0.01)	14.739(91/9)	900	226	Sin hallazgos	+/-No realizado	<i>S. pneumoniae</i> (2,6)	Negativo (139,6)	Aciclovir	Vancomicina
18	Baja	38 (0.54)	73(93/7)	88.000	191	Sin hallazgos	No realizados	Negativo (2,1)	Negativo (113,7)	Cefotaxima	Vancomicina
19	Alta	5 (0.03)	3.200(98/2)	400	687	Sin hallazgos	No realizado	<i>S. pneumoniae</i> (2,4)	Negativo ^b (155,7)	Ampicilina	Ceftriaxona
20	Baja	57 (0.52)	2 (-)	4	21	Sin hallazgos	-/-	<i>S. pneumoniae</i> (4,3)	Negativo ^c (109,5)	Aciclovir	Vancomicina
21	Alta	5 (0.06)	402(73/27)	4.000	212	Sin hallazgos	No realizados	<i>L. monocytogenes</i> (2,8)	<i>L. monocytogenes</i> (45,5)	Ampicilina	Ceftriaxona
										Gentamicina	Vancomicina

LCR: Líquido cefalorraquídeo. CG+: Cocos grampositivos. BGN: Bactilos gramnegativos. VHS1: Virus Herpes Simple 1.

^aHoras desde la realización de la punción lumbar hasta el resultado del cultivo incluyendo antibiograma. ^bHemocultivos positivos para *S. pneumoniae*. ^c16S negativo

Tabla 2 Rendimiento de las pruebas diagnósticas

	FilmArray® análisis global (21 pacientes)	FilmArray® análisis para <i>Streptococcus pneumoniae</i>
Verdadero Negativo	9	12
Verdadero Positivo	11	8
Falso Positivo	1	1
Falso Negativo	0	0
Sensibilidad	100%	100%
Especificidad	90%	92,3%
Valor predictivo positivo	91,7%	90%
Valor predictivo negativo	100%	100%
Eficiencia del test	95,2%	95,5%

muestral, el resultado no es estadísticamente significativo ($p=0,59$). Nuestros resultados coinciden con la literatura, donde algunos autores refieren un aumento en la detección de agentes etiológicos cuando se asocian estos sistemas de PCR-múltiple a los métodos microbiológicos convencionales [17, 22] ya que su sensibilidad no se afecta por algunos factores como el uso previo de antimicrobianos [21]. También se ha demostrado que la identificación de patógenos mediante el uso de técnicas de PCR-múltiple es superior a la detección por tinción de Gram [23], hallazgo que hemos confirmado en nuestro estudio (11 casos diagnosticados versus 7 mediante tinción de Gram).

FilmArray® identificó todos los microorganismos aislados por cultivo excepto en el caso del paciente nº 14 que se trataba de una meningitis nosocomial postquirúrgica por *E. coli*. El panel incluye exclusivamente patógenos comunitarios como el *E. coli*, serotipo K1. Dado que se trataba de una infección nosocomial postquirúrgica, al no ser identificado, deducimos que se trataba de otro serotipo y aunque esta hipótesis no fue confirmada, no fue considerado un falso negativo de la técnica [11]. Para el diagnóstico de meningitis nosocomial este panel comercial no es adecuado y en estos casos estaría indicado utilizar otro tipo de panel que incluya patógenos hospitalarios. Hay que tener en cuenta, por lo tanto, que la obtención de un resultado negativo no excluye la infección ya que el patógeno puede no estar incluido en el panel.

Respecto a los falsos positivos, aunque la detección teóricamente es muy específica al registrar secuencias propias del genoma de cada microorganismo, se han descrito falsos positivos para *S. pneumoniae* y *Cryptococcus* spp. en FilmArray® [15, 19, 24]. En el caso de *S. pneumoniae* se atribuye a una posible contaminación de la muestra por los profesionales que realizan la punción lumbar o durante el procesamiento en el laboratorio. Otra de las razones por las cuales podrían existir falsos positivos es por problemas inherentes a las técnicas PCR. En nuestra serie, el paciente nº 20 que tenía baja sospecha clínica, cultivo y antígeno de *S. pneumoniae*

negativo en LCR/orina y 16S negativo, fue positivo para *S. pneumoniae* siendo considerado el único caso falso positivo de la serie. Otros pacientes con PCR positiva para neumococo y cultivo negativo, se consideraron falsos negativos del cultivo en base a una sospecha clínica alta y confirmación por otros métodos microbiológicos (antígeno o hemocultivos).

A pesar del bajo número de casos, para los tres pacientes con aislamiento de *L. monocytogenes*, *H. influenzae* y VHS1, la concordancia entre la PCR-múltiple y el cultivo/PCR (*in house*) fue del 100%. En nuestro estudio, para la totalidad de pacientes, FilmArray® presentó una sensibilidad y especificidad del 100% y 90% respectivamente, datos concordantes con los obtenidos por otros autores [15, 19]. Dada su elevada sensibilidad, estas técnicas pueden mostrar resultados inesperados que no concuerden con la clínica. Para interpretar adecuadamente los resultados y realizar un correcto juicio clínico es necesario un

buen intercambio de información con el Servicio de Microbiología [18]. En el caso de los virus hay que tener en cuenta que la técnica detecta su presencia, pero no distingue entre la forma de infección latente y activa de CMV y VHH-6 por lo que su detección puede indicar infección primaria, reactivación secundaria o simplemente presencia de virus latente. Los resultados deben interpretarse en conjunto con otros datos clínicos, epidemiológicos y de laboratorio.

Uno de los aspectos más interesantes a destacar con este tipo de técnicas es la rapidez del diagnóstico. El tiempo de realización de la prueba es de 1 hora y algunos autores han estimado un tiempo de 3 horas desde el transporte de la muestra hasta la información al clínico [24, 25], lo que concuerda con los resultados de nuestro estudio donde obtenemos una media de 2,9 horas desde la punción lumbar hasta el diagnóstico con PCR-múltiple versus 45,1 horas con el cultivo bacteriano (incluyendo antibiograma).

La identificación del patógeno permite desescalar antibióticos y optimiza el tratamiento dirigido, algo imprescindible para disminuir morbilidad, estancia hospitalaria, efectos secundarios, multirresistencias y costes sanitarios [26]. En nuestro estudio la utilización del sistema de PCR-múltiple permitió modificar/desescalar el tratamiento antimicrobiano en el 43,8% de los 16 pacientes con tratamiento empírico. Por otra parte, la identificación microbiológica en las meningitis tiene importantes implicaciones en salud pública sobre todo en el caso de las meningitis por meningococo, donde es imperativo la profilaxis en el entorno del paciente [22], en este caso, la identificación precoz puede evitar un uso innecesario de la profilaxis.

Nuestro estudio tiene algunas limitaciones, es una serie pequeña con pocos pacientes con detección positiva lo que impide realizar un análisis de impacto sobre el consumo de antibióticos, estancia media y mortalidad.

Los sistemas de PCR-múltiple están cambiando el abordaje diagnóstico en el Servicio de Microbiología consiguiendo un diagnóstico seguro, rápido, fácil de realizar y accesible 24/365.

Estos sistemas deberían realizarse, siguiendo las recomendaciones descritas en la literatura, en pacientes con sospecha clínica de meningitis/encefalitis, especialmente en aquellos que hayan recibido antibióticos, inmunodeprimidos y/o con celularidad del LCR alterada [18, 21]. Uno de los inconvenientes de la PCR-múltiple es su elevado coste, pero considerando que el número de determinaciones al año es escaso y que su utilización permite iniciar precozmente un tratamiento antimicrobiano dirigido, algo esencial en el manejo de enfermedades infecciosas graves, hace recomendable su incorporación a la cartera de servicios de Microbiología. A la vista de nuestros resultados, podemos concluir que este sistema es un método asequible, rápido con alta sensibilidad y especificidad lo que lo hace especialmente atractivo para su uso en el paciente crítico. Serán necesarios más estudios para valorar adecuadamente estos sistemas de PCR múltiple, pero parece que es tiempo de cambio.

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. Brouwer MC, Tunkel AR, van de Beek D. Epidemiology, diagnosis, and antimicrobial treatment of acute bacterial meningitis. *Clin Microbiol Rev* 2010;23:467-92. DOI:10.1128/CMR.00070-09.
2. Blanquer J, Solé-Violán J, Carvajal J, Lucena F. Infecciones comunitarias que requieren ingreso en UCI. *Med Intensiva*. 2010; 34:388-96. <https://doi.org/10.1016/j.medint.2010.03.003>.
3. Spanos A, Harrell FE, Jr, Durack DT. Differential diagnosis of acute meningitis. An analysis of the predictive value of initial observations. *JAMA* 1989;262:2700-07. DOI:10.1001/jama.1989.03430190084036
4. Nesher L, Hadi CM, Salazar L, Wootton SH, Garey K, Lasco T et al. Epidemiology of meningitis with a negative CSF Gram stain: under-utilization of available diagnostic tests. *Epidemiol Infect*. 2016;144:189-97. DOI: 10.1017/S0950268815000850
5. Pulido MR, Moreno-Martínez P, González-Galán V, Fernández Cuenca F, Pascual Á, Garnacho-Montero J et al. Application of the BioFire FilmArray Blood Culture Identification Panel for Rapid Identification of the Causative Agents of Ventilator Associated Pneumonia. *Clin Microbiol Infect*. 2018;S1198-743X(18)30460-9. DOI:/10.1016/j.cmi.2018.06.001
6. López-Fabal MF, Gómez-Garcés JL, López Lomba M, Ruiz Bastián M. Evaluation of a PCR-multiplex technique for the rapid diagnosis of bacteremia. *Rev Esp Quimioter*. 2018;31:263-67. PMID: 29756430
7. Kaku N, Hashiguchi K, Iwanaga Y, Akamatsu N, Matsuda J, Kosai K, et al. Evaluation of FilmArray respiratory panel multiplex polymerase chain reaction assay for detection of pathogens in adult outpatients with acute respiratory tract infection. *J Infect Chemother*. 2018;24(9):734-38. DOI:10.1016/j.jiac.2018.05.006
8. Calderaro A, Martinelli M, Buttrini M, Montecchini S, Covani S, Rossi S et al. Contribution of the FilmArray® Gastrointestinal Panel in the laboratory diagnosis of gastroenteritis in a cohort of children: a two-year prospective study. *Int J Med Microbiol*. 2018;308:514-21. DOI: 10.1016/j.ijmm.2018.04.007
9. Meyers L, Ginocchio CC, Fauci AN, Nolte FS, Gesteland PH, Leber A. Automated Real-Time Collection of Pathogen-Specific Diagnostic Data: Syndromic Infectious Disease Epidemiology. *JMIR Public Health Surveill*. 2018;4:e59. <http://doi.org/10.2196/publichealth.9876>
10. Altun O, Almuhayawi M, Ullberg M, Ozenci V. Rapid identification of microorganisms from sterile body fluids by use of FilmArray. *J Clin Microbiol* 2015;53:710-2. DOI:10.1128/JCM.03434-14
11. Liesman RM, Strasburg AP, Heitman AK, Theel ES, Patel R, Binnicker MJ. Evaluation of a Commercial Multiplex Molecular Panel for Diagnosis of Infectious Meningitis and Encephalitis. *J Clin Microbiol*. 2018;56: e01927-17. DOI:10.1128/JCM.01927-17
12. Chang D, Okulicz JF, Nielsen LE, White BK. A Tertiary Care Center's Experience with Novel Molecular Meningitis/Encephalitis Diagnostics and Implementation with Antimicrobial Stewardship. *Mil Med*. 2018;183:e24-e27. DOI:10.1093/milmed/usx025
13. Launes C, Casas-Alba D, Fortuny C, Valero-Rello A, Cabrerizo M, Muñoz-Almagro C. Utility of FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel during Outbreak of Brainstem Encephalitis Caused by Enterovirus in Catalonia in 2016. *J Clin Microbiol*. 2016;55:336-38. DOI:10.1128/JCM.01931-16
14. Soucek DK, Dumkow LE, VanLangen KM, Jameson AP. Cost Justification of the BioFire FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel Versus Standard of Care for Diagnosing Meningitis in a Community Hospital. *J Pharm Pract*. 2017;1:897190017737697. DOI:10.1177/0897190017737697
15. Leber AL, Everhart K, Balada-Llasat JM, Cullison J, Daly J, Holt S, et al. Multicenter Evaluation of BioFire FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel for Detection of Bacteria, Viruses, and Yeast in Cerebrospinal Fluid Specimens. *J Clin Microbiol*. 2016;54:2251-61. DOI:10.1128/JCM.00730-16
16. Naccache SN, Lustestica M, Fahit M, Mestas J, Dien Bard J. One Year in the Life of a Rapid Syndromic Panel for Meningitis/Encephalitis: a Pediatric Tertiary Care Facility's Experience. *J Clin Microbiol*. 2018;56(5): e01940-17. DOI:10.1128/JCM.01940-17
17. Conca N, ME Santolaya, MJ Farfan, F Cofré, Vergara A, Salazar L, et al. Diagnóstico etiológico en meningitis y encefalitis por técnicas de biología molecular. *Rev Chil Pediatr*. 2016;87:24-30. DOI:10.1016/j.rchipe.2015.07.024
18. Hanson KE. The first fully automated molecular diagnostic panel for meningitis and encephalitis: how well does it perform, and when should it be used? *J Clin Microbiol*. 2016;54:2222-24. DOI:10.1128/JCM.01255-16
19. Reyes M, Torres J, Prado V, Vidal R. Diseño y evaluación de una reacción de polimerasa en cadena (RPC) múltiple, para la identificación

- de bacterias causantes de meningitis aguda en líquido cefalorraquídeo de niños chilenos. Rev Med Chil. 2008;136(3):338-46. DOI:/S0034-98872008000300009
20. Rhein J, Bahr NC, Hemmert AC, Cloud JL, Bellamkonda S, Oswald C, et al. Diagnostic performance of a multiplex PCR assay for meningitis in an HIV-infected population in Uganda. Diagn Microbiol Infect Dis. 2016;84:268-73. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2015.11.017
 21. Codina MG, de Cueto M, Echevarría J E, Prats, G. Diagnóstico microbiológico de las infecciones del sistema nervioso central. Enferm Infect Microbiol Clin. 2011;29:127-34. DOI:10.1016/j.eimc.2010.10.003
 22. Van de Beek D, Cabellos C, Dzupova O, Esposito S, Klein M, Kloek T, et al. ESCMID guideline: Diagnosis and treatment of acute bacterial meningitis. Clin Microbiol Infect. 2016;22:S37-S62. DOI:10.1016/j.cmi.2016.01.007
 23. Wootton SH, Aguilera E, Salazar L, Hemmert AC, Hasbun R. Enhancing pathogen identification in patients with meningitis and a negative Gram stain using the BioFire FilmArray® Meningitis/Encephalitis panel. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2016;15:26. DOI:10.1186/s12941-016-0137-1
 24. Blaschke AJ, Holmberg KM, Daly JA, Leber AL, Bard JD, Korgenski EK et al. Retrospective Evaluation of Infants Aged 1-60 Days With Residual CSF Tested Using the FilmArray® Meningitis/Encephalitis (ME) Panel. J Clin Microbiol. 2018;56:e00277-18. DOI:10.1128/JCM.00277-18.
 25. Messacar K, Breazeale G, Robinson CC, Dominguez SR. Potential clinical impact of the film array meningitis encephalitis panel in children with suspected central nervous system infections. Diagn Microbiol Infect Dis. 2016;86:118-20. DOI:10.1016/j.diagmicrobio.2016.05.020
 26. Pardo J, Klinker KP, Borgert SJ, Butler BM, Giglio PG, Rand KH. Clinical and economic impact of antimicrobial stewardship interventions with the FilmArray blood culture identification panel. Diagn Microbiol Infect Dis. 2016;84:159-64. DOI:10.1016/j.diagmicrobio.2015.10.023



Original

Laura López-González¹
José Manuel Viñuela-Prieto¹
Iciar Rodríguez-Avial¹
Rocío Manzano²
Francisco Javier Candel^{1,3}

Description of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* isolates in a Spanish tertiary hospital. Epidemiological analysis and clinical impact

¹Department of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Hospital Clínico San Carlos. IdISSC Health Research Institute. Madrid. Spain

²Department of Pharmacy, Hospital Clínico San Carlos. IdISSC Health Research Institute. Madrid. Spain

³Universidad Complutense. Madrid. Spain

Article history

Received: 7 February 2019; Revision Requested: 20 February 2019; Revision Received: 22 February 2019; Accepted: 23 February 2019

ABSTRACT

Objectives. The aim of the study was to carry out an epidemiological analysis of patients with carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE) isolations in our hospital as well as to perform a description of the genotypic temporal evolution of CPE isolated.

Material and methods. An observational prospective cohort study was performed involving all patients with CPE isolates from clinical samples during November 2014 to November 2016 in a Spanish teaching hospital. Patients were clinically evaluated and classified either as infected or colonized. Information on the consumption of carbapenems in the hospital during the study period was also analyzed. PCR was used for identification of the carbapenemase genes *blaKPC*, *blaVIM*, and *blaOXA-48*.

Results. A total of 301 CPE isolates were obtained (107 in 2014, 89 in 2015 and 105 in 2016). *Klebsiella pneumoniae* (73.4%) was the most prevalent microorganism. Hundred and seventy (56.7%) of carbapenemases detected were *blaOXA-48*, 73 (24.3%) were *blaKPC* and 57 (19%) were *blaVIM*. In year 2014 KPC was predominant while in 2016 OXA-48 predominated. In 2014 we observed a significant association between the medical wards and the ICU with a higher prevalence of OXA-48 (OR 4.15; $P<0.001$) and VIM (OR 7.40; $P<0.001$) in the univariate analysis, in the following years there was no association. Regarding the clinical significance of microbiological results after assessing our patients, 60% of isolates represented infection and 40% behaved as colonizers. One third of hospitalized patients with CPE isolation died within 30 days, regardless of whether they were colonized or infected.

Correspondence:
Francisco Javier Candel González,
Department of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Hospital Clínico San Carlos.
IdISSC Health Research Institute.
Universidad Complutense. Madrid. Spain
Phone: +34 91 330 3486
E-mail: fj.candel@gmail.com

Conclusions. We have observed an epidemiological change in the genotypes of our isolates along the study period. A thorough knowledge of the CPE's epidemiological distribution in each hospital is fundamental for optimizing antimicrobial chemotherapy.

Keywords: Carbapenem-producing *Enterobacteriaceae*, Epidemiology, tertiary hospital

Descripción de los aislamientos de enterobacterias productoras de carbapenemasa en un hospital terciario. Análisis epidemiológico e impacto clínico

RESUMEN

Objetivos. Se realizó un análisis epidemiológico de aquellos pacientes con aislamiento de Enterobacterias portadoras de carbapenemasas (EPC) en un hospital terciario, así como una descripción temporal de los genotipos de dichas EPC.

Material y métodos. Estudio de cohortes prospectivo observacional que incluyó todos los aislamientos de EPC obtenidos de muestras clínicas entre noviembre de 2014 y noviembre de 2016 en un hospital universitario. Los pacientes fueron evaluados clínicamente para determinar si el aislamiento era en el contexto de una infección o de una colonización. También se recopiló la información acerca del consumo de carbapenémicos en el hospital durante el periodo de estudio. Se usó la técnica PCR para la identificación de los genes de carbapenemasas *blaKPC*, *blaVIM*, and *blaOXA-48*.

Resultados. Se obtuvieron un total de 301 aislamientos de EPC (107 en 2014, 89 en 2015 y 105 en 2016). *Klebsiella pneumoniae* (73,4%) fue el microorganismo más prevalente. De las carbapenemasas aisladas, 170 (56,7%) correspondieron a *blaOXA-48*, 73 (24,3%) a *blaKPC* y 57 (19%) a *blaVIM*. En el año 2014 KPC fue la predominante mientras que en 2016 lo fue OXA-48. En 2014 la prevalencia de OXA-48 (OR 4,15;

$P<0,001$) y de VIM (OR 7,40; $P<0,001$) fue significativamente mayor en las áreas médicas y en la UCI en el análisis univariante, sin embargo en los siguientes años no hubo ninguna asociación. Respecto a la significación clínica de los resultados microbiológicos, un 60% de los aislamientos correspondían a una infección y un 40% a una colonización. Un tercio de los pacientes hospitalizados con aislamiento para EPC murieron en los 30 días siguientes al mismo, independientemente de si representaba una colonización o una infección.

Conclusiones. Hemos constatado un cambio en el patrón epidemiológico de los genotipos de nuestros aislamientos a lo largo del período de estudio. Un conocimiento pormenorizado de los patrones de distribución epidemiológica de las EPC dentro de cada hospital es fundamental para optimizar la terapéutica antimicrobiana.

Palabras clave: Enterobacterias portadoras de carbapenemasa, epidemiología, hospital terciario

INTRODUCTION

The emergence and uncontrolled dissemination of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE) has caused great concern to public healthcare systems worldwide. Genes associated with carbapenemase production are often contained on mobile genetic elements that facilitate transfer among different *Enterobacteriaceae* species. Until 2009, CPE prevalence in Spain was relatively low and normally related to VIM and KPC enzymes [1, 2]. Recently, CPE prevalence significantly increased owing to the dissemination of successful *Klebsiella pneumoniae* clones harbouring *bla*OXA-48, mainly linked to health care exposure and prolonged hospital stay [3, 4]. On the other hand, the emergence of CPE as a cause of community-onset initiated infections, represents a matter of great concern, taking into account the latest detected trends and the increase in carbapenemase reservoirs worldwide, mainly due to the producers of OXA-48 [5, 6].

It is known that precautions based on transmission (contact isolation) for colonized and infected patients is a key factor to reduce their impact [7, 8] but CPE cases go beyond the limits of clinical services and the hospital itself, extending to different types of patients and in clinical settings. That is the reason why not only these measures must be done in general. Epidemiological studies are necessary to better understand the epidemiological trend and what preventive measures and clinical decisions could be implemented to address the challenges related to CPE isolation.

The aim of our study was to carry out an epidemiological analysis of patients with CPE isolations in our hospital from 2014 to 2016. Moreover, a description of the genotypic temporal evolution of CPE isolation in a tertiary hospital was also performed.

MATERIAL AND METHODS

An observational prospective cohort study was performed involving all patients with CPE isolates from clinical samples

during November 2014 to November 2016 in a Spanish teaching hospital with over 800 beds and 60/40 medical-surgical activity. Patients were clinically evaluated and classified either as infected or colonized. Information on the consumption of carbapenems in the hospital during the study period was also analyzed. Patients were identified through the Microbiology Department database and only a single episode per patient, the first one, was considered during the study period.

Definition and collection of variables. Data were collected from the microbiology laboratory records of patients with CPE from clinical samples and was evaluated and classified either as infected or colonized. An infection or colonization diagnosis was considered if it was established as a diagnosis during the patient's care by the responsible physician according to the usual clinical practice. Origin of clinical sample was from hospitalized patients or from primary care. Type of admission ward and the 30-day mortality after the index event also were collected. Global carbapenem use of in the whole Institution, measured as Defined Daily Doses (DDD) per 100 bed-days, was analyzed during the study period.

Microbiological procedures. Analysis included all CPE isolations, but only the first isolation and during the study period. The identification of clinical isolates was performed by MALDI-TOF MS® (Microflex; Bruker Daltonics, Bremen, Germany). Antibiotic susceptibility testing was performed using either the Wider® (Fco. Soria Melguizo, Madrid, Spain) or VITEK® systems (bioMérieux, Marcy L'Étoile, France). Isolates were categorised as either susceptible or resistant to the antibiotics tested according to the interpretative criteria of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [9].

Enterobacterial strains recovered from any clinical sample with an imipenem or meropenem minimum inhibitory concentration (MIC) of >1 mg/L, or a MIC for ertapenem of >0.5 mg/L were retested using E-test® (bioMérieux, Marcy L'Étoile, France), and screened carbapenamase production by modified Hodge test. All isolates with Hodge test positive were characterised by molecular or immune chromatographic methods. PCR was used for identification of the carbapenemase genes *bla*KPC, *bla*VIM, and *bla*OXA-48 [10, 11] since those are the most frequent types of carbapenemases in Spain.

Statistical analysis. Descriptive statistics were obtained for all variables. Univariate comparison of proportions for categorical variables was performed by either Fisher's exact test or the Chi-square test. Odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI) were calculated for all valid associations. A significance level of $P \leq 0.05$ was considered. CPE population diversity was estimated by using the Simpson's Dominance Index (SDI) [12]. SDI values ranges from 0 to 1 representing, respectively, the least and the most possible biodiversity possible in the population. All statistical analysis were performed using SPSS® Version 20 (IBM®, Chicago, USA).

RESULTS

A total of 301 isolates of CPE were obtained (107 in 2014, 89 in 2015, and 105 in 2016). The clinical sample with the highest frequency of isolates was urine ($n=157$), followed by exudates ($n=60$), respiratory samples ($n=38$), blood cultures ($n=32$) and corporal fluids ($n=8$) (figure 1). *K. pneumoniae* (221/301; 73.4%) was the most prevalent microorganism, followed by *Enterobacter cloacae* (38/301; 12.6%), *Serratia marcescens* (16/301; 5.3%), *Klebsiella oxytoca* (10/301; 3.3%), *Escherichia coli* (6/301; 1.9%), *Citrobacter freundii* (4/301; 1.3%), *Enterobacter absuriae* (3/301; 0.9%), *Enterobacter aerogenes* (2/301; 0.6%) and *Citobacter koseri* (1/301; 0.3%). Analysing the yearly distribution of the variety of species isolated we observed that the Simpson's Dominance Index (SDI) showed a diversification increase during the study period (SDI year 2014= 0.432, SDI year 2015= 0.427 and SDI year 2016= 0.463).

Regarding the types of carbapenemases detected (figure 2), 170 (56.7%) of them were *bla*OXA-48, 73 (24.3%) *bla*KPC and 57 (19%) *bla*VIM. By care units, most of isolates came from medical wards, followed by surgical wards and the ICU. OXA-48 predominated in medical and surgical areas, and in patients whose samples came from primary care. On the other hand, KPC and VIM genotypes predominated in the ICU during the first year of the study. Isolations in surgical wards ranged from 27% in 2014 to 11% in 2016. In the ICU has decreased (21 isolations in 2014, 11 in 2015 and 9 in 2016). The complete distribution of carbapenemases isolated regarding the care unit, the year and the type of enzyme are depicted in figure 3.

In the univariate analysis, in 2014 we observed a significant association between the medical wards and the ICU with a higher prevalence of OXA-48 (OR 4.15; $P<0.001$) and VIM (OR 7.40; $P<0.001$). All the univariate analysis results are summarized in table 1. When we analysed the genotype in 2014 KPC was predominant and in 2016 OXA-48 predominated (figure 2).

When we analysed the clinical significance of microbiological results after assessing our patients, 60% of isolates represented infection and 40% behaved as colonizers. One third of hospitalized patients with CPE isolation died within 30 days, regardless of whether they were colonized or infected. The global use of carbapenems, measured as DDD per 100 bed-days, decreased slightly from 2014 to 2016, especially at the

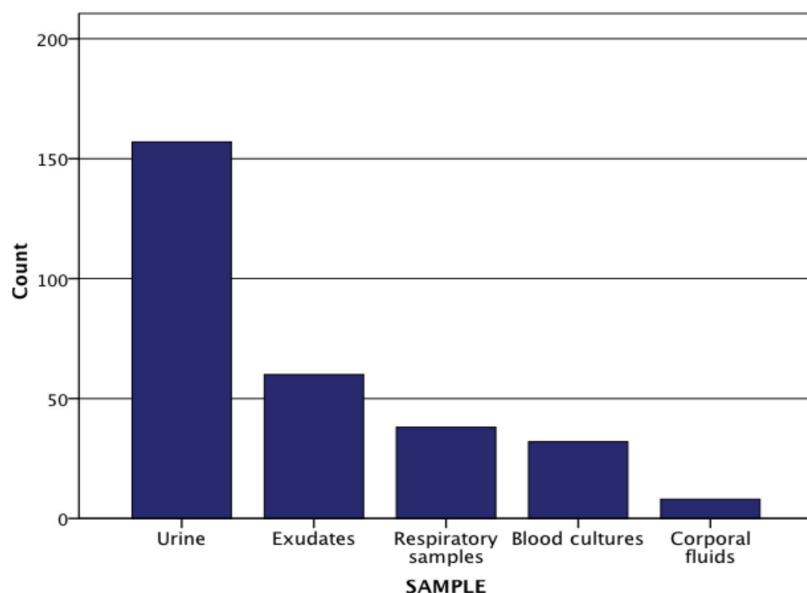


Figure 1 | Origin of clinical samples

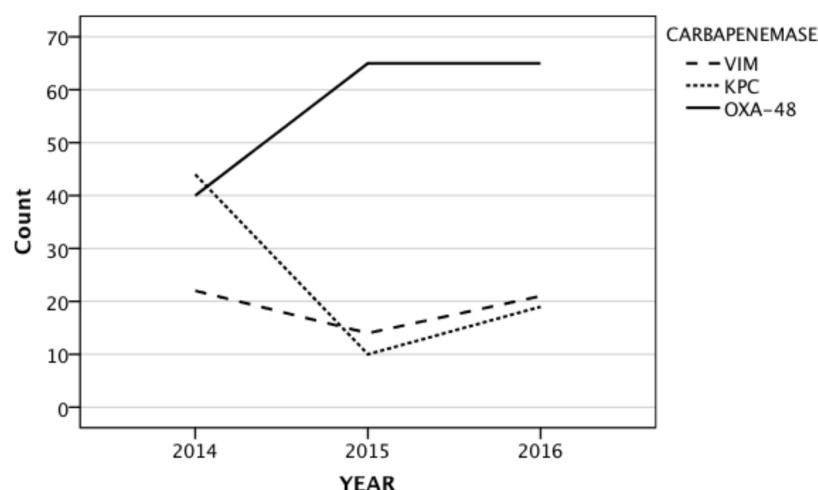


Figure 2 | Frequency of carbapenemase isolates from 2014 to 2016

expense of meropenem and imipenem (figure 4). Only those units with more fragile patients such as internal medicine, oncology and hematology have maintained a similar level of carbapenem usage during the study period.

DISCUSSION

In the present study we analyse the epidemiological, clinical and outcome features of patients with colonization and

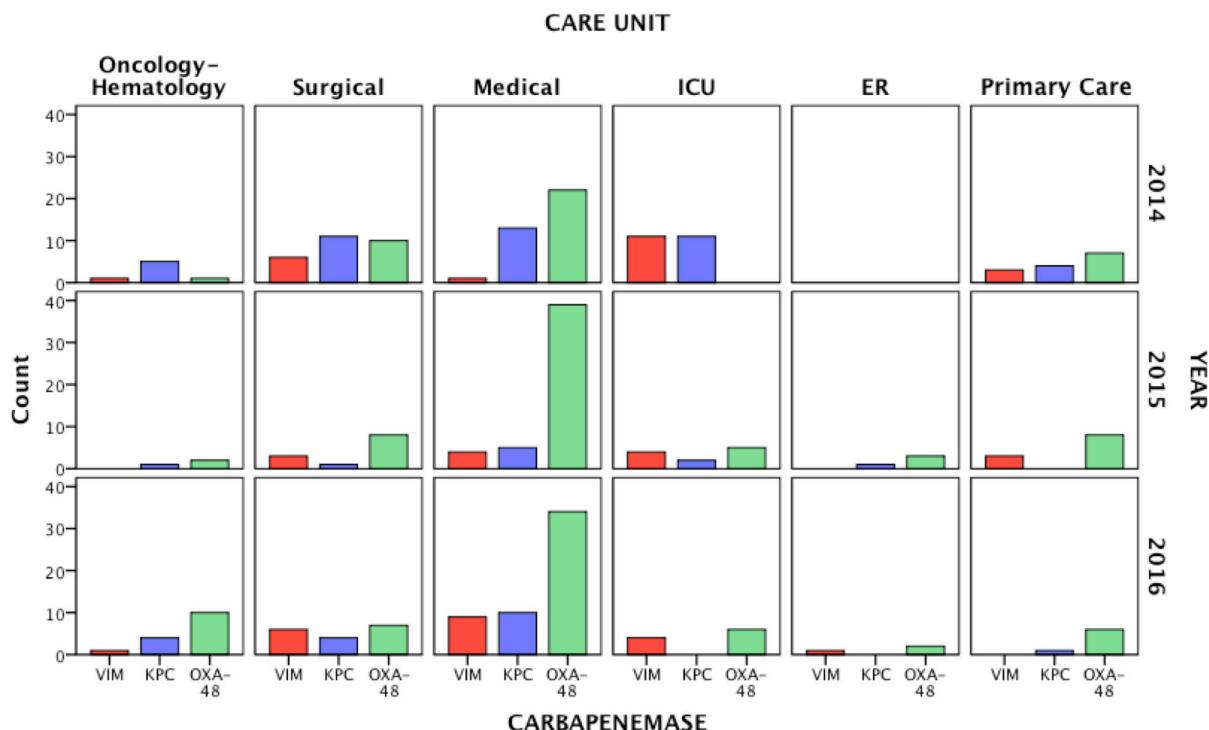


Figure 3 | Yearly distribution of carbapenemase isolates by care units

ICU: Intensive Care Unit; ER: Emergency Room.

infection due to CPE. We observed that the overall prevalence of CPE increased during the study period, and this phenomenon was primarily associated with OXA-48. Our results showed that up to nine different species of *Enterobacteriaceae* showed enzyme production, mainly *K. pneumoniae* OXA-48. The most frequent types of clinical samples were urine, followed by exudates and respiratory samples. The majority of patients with CPE isolated from urinary samples usually correspond to patients with transient or permanent urological devices (catheter, pigtail, double J) and previous antimicrobial therapy, both factors constitute the perfect environment for a MDR selection, since the protection given by the urological devices counteracts the natural clearance mechanisms. At present time, UTIs due to CPE constitute a growing nosocomial infection [13-15].

The most predominant *Enterobacteriaceae* during the whole study period were *Klebsiella* spp (76% of the episodes), in particular *K. pneumoniae*. These data coincided with most of the studies, where it is considered to be the main reservoir of the carbapenemase genes, particularly OXA-48 [16, 17]. Other minority species were also detected in a slightly high percentage, including rare *Enterobacteriaceae* such as *C. koseri*. These results may reflect the efficient penetration of carbapenemase among the *Enterobacteriaceae* as it has occurred previously with the isolating producers of extended-spectrum β-lactamase (ESBL), in particular CTX-M. Distribution of these species was homogeneous throughout the study period, and the isolated CPE species diversity increased slightly from 2014 to 2016.

Most of the isolates came from medical wards, usually the length of stay, the number of medical procedures and the anti-microbial prescription were more frequent. This more complex profile of patients, along with a higher prevalence of comorbidities between them, has all been related to the increase of CPE isolates [5]. From the microbiological point of view, the increasing prevalence of OXA-48 both in the medical wards and in the hospital in general, could be due to the efficient dissemination of the *blaOXA-48* gene between the enteric flora of hospitalized patients that facilitate a high colonization rate. This fact could lead to a greater dispersion of this enzyme that produces a complex epidemiological situation with a high number of colonized individuals [18, 19]. The *blaOXA-48* gene is housed in a conjugated plasmid whose gene encodes a protein that inhibits bacterial conjugation and efficient propagation of the *blaOXA-48* gene, although clonal dissemination also contributes to the success of OXA-48 [20]. We observed a constant maintenance of the number of isolates coming from primary care practices, this situation has the risk of dissemination of OXA-48 into the community. Several studies show the emergence of CPE as a cause of community-onset infections. This fact should be a matter of great concern, taking into account the latest trends detected and the increase in carbapenemase reservoirs worldwide [5, 6]. These changes in the epidemiology patterns suggest that the incidence of both nosocomial and community-acquired infections will increase in the next future, mainly due to the OXA-48 CPE [5, 6]. This situation might

Table 1 | Risk of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* isolation considering care unit and type of carbapenemase in the three years of the study

	2014												2015												2016												
	KPC				VIM				OXA-48				KPC				VIM				OXA-48				KPC				VIM				OXA-48				
	OR (95% CI)	P-VALUE	OR (95% CI)	P-VALUE	OR (95% CI)	P-VALUE	OR (95% CI)	P-VALUE	OR (95% CI)	P-VALUE	OR (95% CI)	P-VALUE	OR (95% CI)	P-VALUE																							
Oncology-Hematology	3'846	0'096	0'658	0'704	0'256	0'185	4'222	0'222	-	0'443	0'742	0'810	1'794	0'363	0'246	0'158	1'296	0'659	(0'711- 20'816)	(0'075- 5'784)	(0'030- 2'212)	(0'347- 51'330)	(0'503- 8'578)	(0'503- 6'400)	(0'031- 1'930)	(0'409- 4'113)											
Surgical	0'958	0'925	1'219	0'716	0'961	0'931	0'677	0'722	1'970	0'354	0'714	0'612	1'477	0'539	2'618	0'090	0'368	0'059	(0'394- 2'330)	(0'419- 3'545)	(0'389- 2'372)	(0'078- 5'881)	(0'460- 8'435)	(0'423- 5'161)	(0'838- 8'184)	(0'127- 1'066)											
Medical	0'664	0'329	0'068	0'001	4'156	0'001	0'814	0'759	0'273	0'033	2'600	0'058	1'085	0'872	0'665	0'406	1'253	0'577	(0'291- 1'515)	(0'009- 0'531)	(1'779- 9'705)	(0'218- 3'039)	(0'078- 0'951)	(0'401- 29'38)	(0'253- 1'746)	(0'568- 2'764)											
ICU	1'545	0'364	7'400	<0.001	0'524	<0.001	1'917	0'446	3'829	0'070	0'254	0'030	-	0'116	3'020	0'101	0'931	0'916	(0'602- 3'970)	(2'551- 21'469)	(0'427- 0'642)	(0'351- 10'471)	(0'947- 15'474)	(0'069- 0'932)	(0'767- 11'881)	(0'246- 3'526)											
ER	-	-	-	-	-	-	2'778	0'379	0'833	0'373	1'131	0'917	-	0'406	2'025	0'565	1'258	0'853																			
Primary care	0'589	0'401	0'708	0'669	2'121	0'201	-	0'229	2'610	0'196	0'860	0'837	0'889	0'917	-	0'204	3'305	0'258	(0'169- 2'050)	(0'145- 3'488)	(0'658- 6'836)	(0'585- 11'644)	(0'203- 3'636)	(0'098- 8'079)	(0'110- 14'32)	(0'372- 29'379)											

ICU: Intensive Care Unit; ER: Emergency Room.

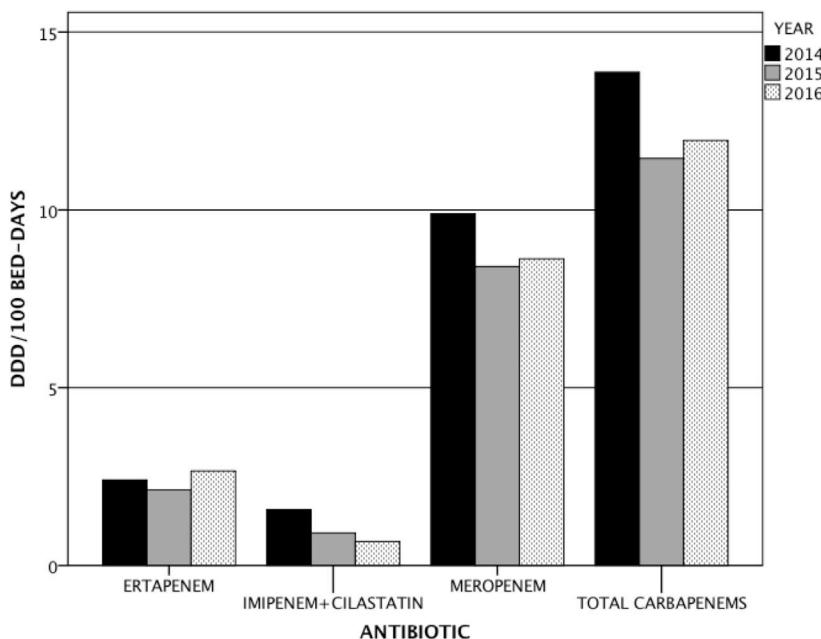


Figure 4 Global DDD per 100 bed-days in our Hospital from 2014 to 2016

also be related to delayed clearance of CPE carrier status after hospital discharge. The intestinal microbiota can be a reservoir of CPE genes in the community since intestinal colonization can last for months [21, 22] allowing the transmission to close contacts and, therefore, increasing the prevalence of community-acquired CPE infections [23, 24].

On the other hand, in our serie a non-negligible number of CPE isolates were collected in patients admitted to the surgical areas, especially during 2014, without any enzymatic class predominating. In the two following years, due to a greater awareness in the contact measures and optimization in the antimicrobial treatment, KPC and VIM isolates number was reduced, keeping the OXA-48 level almost constant. Something similar happened in ICU, where the depletion in the isolation of VIM and KPC CPE was more evident, due to implementation of control measures such as selective bowel decontamination (SBD) and intensified by "Zero measures" [25, 26].

In a multicenter study performed by Oteo et al. [27] on Spanish ICU patients with rectal CPE colonization a low prevalence was also found. Nevertheless, it is important to know the data of the institution where you work since there is significant variability between the different Spanish hospital's ICUs [27]. This low proportion could be in fact explained because a rectal CPE-carrier status analysis is carried out on every patient admitted to an ICU. This measure, which is not usually taken in the rest of the care units, allows the CPE-colonized patients to be subjected to special control protocols. In the case of our ICU, the CPE isolations decreased from 2014 to 2016. The above mentioned protocols, which include the SBD, were implemented in all ICU (neuro-polytrauma, medical-

surgical and cardiovascular) from 2011 to 2015 and the "Zero measures" implemented from 2013 to 2015 (one intensive care specialist responsible of prescriptions, one nurse responsible of infection control measures, checklist of risk factors at admission, 4% chlorhexidine for hygiene in patients colonized or infected with MDR pathogens), were important to control the CPE dissemination in the ICU.

Carbapenem use is another important key point in order to understand the distribution trends and the predominance shift from one type of carbapenemase to another over time. Analysing the DDD per 100 bed-days employed on each of the main carbapenem-prescribing care units in our institution, we observed a slight decrease in the usage of this group of antibiotics during 2015 (figure 4). Nevertheless, since some of those care units, such as the medical wards, Oncology and Hematology, take care of the most fragile patients, it is sometimes difficult to restrict carbapenem prescription. Moreover, specific protocols or clinical guides usually exist in those care units

promoting the empiric use of carbapenems in cases such as the febrile neutropenia. In that respect, many clinical guides have been recently modified regarding the empirical prescription of carbapenems in febrile neutropenia in an effort to prevent the selection of resistant strains. For example, the European Conference on infections in Leukemia (ECIL) guides now consider the carbapenems as an option only when the patient is in shock, maintaining piperacillin-tazobactam, cefepime or even ceftazidime as first options with an A-I level of evidence [28, 29]. The consultant experts on infectious diseases or the stewardship teams could advise the specialists from these care units whenever early de-escalation in stable patients is possible.

An explanation for the epidemiological change from KPC to OXA-48 in our hospital could be related to an OXA-48 CPEs disseminated throughout our country [18]. Therefore, our hospital would be representing just a minor part in what is in fact a nation-wide phenomenon. The epidemiological situation of the CPEs in Spain in 2014, was considered as an inter-regional dissemination where most CPE isolated were OXA-48, which produced a rapid evolution. However, a significant number of KPC CPEs were isolated in 2014 in our institution. Our hypothesis to explain the high frequency of KPC isolations during that year is that probably it was an outbreak of the same clone of KPC *K. pneumoniae*. Prevalence of KPC genotype has been low in the majority of Spanish hospitals from the first isolations of KPC enzyme in 2010 [1, 30]. Nevertheless several outbreaks of *K. pneumoniae* KPC-2 and KPC-3 have been characterized in high-risk clones such as ST11, ST101 and ST512 [31, 32] and even colistin-resistant KPC-producing *K. pneumoniae* [8, 33].

VIM CPE isolations remained practically constant during the period studied, and it also was the genotype less frequently isolated. These data did not coincide with what happened at the same time in Spain, because OXA-48 and VIM were responsible for the major part of the isolates in the country. Currently, the strains of *K. pneumoniae* OXA-48 are responsible for the most CPE isolations and infections in Spain [18], while a great proportion of OXA-48 are colonizers.

Finally, 40% on CPE isolates were colonizations. Colonization precedes infection in most cases; an intestinal CPE-carrier status may be the source of subsequent clinical infection in approximately 9% of cases [34-38]. In addition, these patients can serve as a repository for the dissemination of CPE in health centers. The outbreaks of CPE are leading to an endemic situation where clinical infections are just the tip of the iceberg but most affected patients are asymptomatic intestinal carriers [7, 24, 39]. At present time, healthy carriers are usually considered as the most important reservoirs of CPE [40]. Also, being CPE colonized did not reduce the impact on the prognosis of these patients, since a third of these died in the following 30 days to the isolation, despite colonizer or pathogen.

In conclusion, we have observed an epidemiological change in the genotypes of our isolates that could condition a change in the therapeutic protocols. The persistence of OXA-48-producing Enterobacteriaceae in the medical wards is a serious problem, this evidence must make a position expressing the need for definitive and coordination action with strong control measures to contain this spread in this nosocomial environment.

FUNDING

None to declare

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

- Curiao T, Morosini MI, Ruiz-Garbajosa P, Robustillo A, Baquero F, Coque TM, et al. Emergence of bla KPC-3-Tn4401a associated with a pKPN3/4-like plasmid within ST384 and ST388 *Klebsiella pneumoniae* clones in Spain. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(8):1608-14. doi: 10.1093/jac/dkq174
- Ruiz-Garbajosa P, Curiao T, Tato M, Gijon D, Pintado V, Valverde A, et al. Multiclonal dispersal of KPC genes following the emergence of non-ST258 KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* clones in Madrid, Spain. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(11):2487-92. doi: 10.1093/jac/dkt237
- Branas P, Gil M, Villa J, Orellana MA, Chaves F. Molecular epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae infection/colonisation in a hospital in Madrid. *Enferm Infect Microbiol Clin.* 2018;36(2):100-3. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2015.02.019
- Oteo J, Domingo-Garcia D, Fernandez-Romero S, Saez D, Guiu A, Cuevas O, et al. Abdominal abscess due to NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Spain. *J Med Microbiol.* 2012;61(Pt 6):864-7. doi: 10.1099/jmm.0.043190-0
- Palacios-Baena ZR, Oteo J, Conejo C, Larrosa MN, Bou G, Fernandez-Martinez M, et al. Comprehensive clinical and epidemiological assessment of colonization and infection due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Spain. *J Infect.* 2016;72(2):152-60. doi:10.1016/j.jinf.2015.10.008
- Oteo J, Calbo E, Rodriguez-Bano J, Oliver A, Hornero A, Ruiz-Garbajosa P, et al. [The threat of the carbapenemase-producing enterobacteriaceae in Spain: positioning report of the SEIMC study groups, GEIH and GEMARA]. *Enferm Infect Microbiol Clin.* 2014;32(10):666-70. doi: 10.1016/j.eimc.2014.02.011
- Calfee D, Jenkins SG. Use of active surveillance cultures to detect asymptomatic colonization with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in intensive care unit patients. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008;29(10):966-8. doi: 10.1086/590661
- Cano A, Gutierrez-Gutierrez B, Machuca I, Gracia-Ahufinger I, Perez-Nadales E, Causse M, et al. Risks of Infection and Mortality Among Patients Colonized With *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Producing *K. pneumoniae*: Validation of Scores and Proposal for Management. *Clin Infect Dis.* 2018;66(8):1204- 10. doi: 10.1093/cid/cix91
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-second Informational Supplement M100-S22. 2012.
- Tato M, Coque TM, Ruiz-Garbajosa P, Pintado V, Cobo J, Sader HS, et al. Complex clonal and plasmid epidemiology in the first outbreak of Enterobacteriaceae infection involving VIM-1 metallo-beta-lactamase in Spain: toward endemicity? *Clin Infect Dis.* 2007;45(9):1171-8. doi: 10.1086/522288
- Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis.* 2010 ;10(9):597-602. PMID: 20705517
- Hunter PR, Gaston MA. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. *J Clin Microbiol.* 1988 ;26(11):2465-6. PMID: 3069867
- Lopez-Gonzalez L, Candel FJ, Vinuela-Prieto JM, Gonzalez-Del Castillo J, Garcia AB, Pena I, et al. Useful independent factors for distinguish infection and colonization in patients with urinary carbapenemase-producing Enterobacteriaceae isolation. *Rev Esp Quimioter.* 2017;30(6):450-7. PMID: 29115369
- Shilo S, Assous MV, Lachish T, Kopuit P, Bdolah-Abram T, Yinnon AM, et al. Risk factors for bacteriuria with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and its impact on mortality: a case-control study. *Infection.* 2013;41(2):503-9. doi: 10.1007/s15010-012-0380-0
- Zilberberg MD, Shorr AF. Secular trends in gram-negative resistance among urinary tract infection hospitalizations in the United States, 2000-2009. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2013;34(9):940-6. doi: 10.1086/671740

16. Oteo J, Saez D, Bautista V, Fernandez-Romero S, Hernandez-Molina JM, Perez-Vazquez M, et al. Carbapenemase-producing enterobacteriaceae in Spain in 2012. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57(12):6344-7. doi: 10.1128/AAC.01513-13
17. Coelho A, Piedra-Carrasco N, Bartolome R, Quintero-Zarate JN, Larrosa N, Cornejo-Sanchez T, et al. Role of IncHI2 plasmids harbouring blaVIM-1, blaCTX-M-9, aac(6')-Ib and qnrA genes in the spread of multiresistant *Enterobacter cloacae* and *Klebsiella pneumoniae* strains in different units at Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, Spain. *Int J Antimicrob Agents*. 2012;39(6):514-7. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2012.01.006
18. Oteo J, Hernandez JM, Espasa M, Fleites A, Saez D, Bautista V, et al. Emergence of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* and the novel carbapenemases OXA-244 and OXA-245 in Spain. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68(2):317-21. doi: 10.1093/jac/dks383
19. Glasner C, Albiger B, Buist G, Tambic Andrasevic A, Canton R, Carmeli Y, et al. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: a survey among national experts from 39 countries, February 2013. *Euro Surveill*. 2013;18(28). PMID: 23870096
20. Carrer A, Poirel L, Yilmaz M, Akan OA, Feriha C, Cuzon G, et al. Spread of OXA-48-encoding plasmid in Turkey and beyond. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(3):1369-73. doi: 0.1128/AAC.01312-09
21. Tumbarello M, Trecarichi EM, De Rosa FG, Giannella M, Giacobbe DR, Bassetti M, et al. Infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: differences in therapy and mortality in a multicentre study. *J Antimicrob Chemother*. 2015;70(7):2133-43. doi: 10.1093/jac/dkv086
22. Lopez-Cerero L, Almirante B. Epidemiology of infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: reservoirs and transmission mechanisms. *Enferm Infect Microbiol Clin*. 2014;32 Suppl 4:10-6. doi: 10.1016/S0213-005X(14)70169-7
23. Pano-Pardo JR, Lopez Quintana B, Lazaro Perona F, Ruiz Carrascoso G, Romero-Gomez MP, Loches Yague B, et al. Community-Onset Bloodstream and Other Infections, Caused by Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae: Epidemiological, Microbiological, and Clinical Features. *Open Forum Infect Dis*. 2016;3(3):ofw136. doi: 10.1093/ofid/ofw136
24. Lazaro-Perona F, Ramos JC, Sotillo A, Mingorance J, Garcia-Rodriguez J, Ruiz-Carrascoso G, et al. Intestinal persistence of a plasmid harboring the OXA-48 carbapenemase gene after hospital discharge. *J Hosp Infect*. 2018. doi: 10.1016/j.jhin.2018.07.004
25. Patel G, Huprikar S, Factor SH, Jenkins SG, Calfee DP. Outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008 Dec;29(12):1099-106. doi: 10.1086/592412
26. Akova M, Daikos GL, Tzouvelekis L, Carmeli Y. Interventional strategies and current clinical experience with carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(5):439-48. PMID: 22507111
27. Oteo J, Alcaraz R, Bou G, Conejo C, Diaz-Lamas AM, Fernandez-Martinez M, et al. Rates of faecal colonization by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae among patients admitted to ICUs in Spain. *J Antimicrob Chemother*. 2015;70(10):2916-8. doi: 10.1093/jac/dkv187
28. Averbuch D, Cordonnier C, Livermore DM, Mikulska M, Orasch C, Viscoli C, et al. Targeted therapy against multi-resistant bacteria in leukemic and hematopoietic stem cell transplant recipients: guidelines of the 4th European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-4, 2011). *Haematologica*. 2013;98(12):1836-47. PMID: 24323984
29. Bassetti M, Righi E. Multidrug-resistant bacteria: what is the threat? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2013;2013:428-32. PMID: 24319215
30. Robustillo Rodela A, Diaz-Agero Perez C, Sanchez Sagrado T, Ruiz-Garbajosa P, Pita Lopez MJ, Monge V. Emergence and outbreak of carbapenemase-producing KPC-3 *Klebsiella pneumoniae* in Spain, September 2009 to February 2010: control measures. *Euro Surveill*. 2012;17(7). PMID: 22370016
31. Lopez-Cerero L, Egea P, Gracia-Ahufinger I, Gonzalez-Padilla M, Rodriguez-Lopez F, Rodriguez-Bano J, et al. Characterisation of the first ongoing outbreak due to KPC-3-producing *Klebsiella pneumoniae* (ST512) in Spain. *Int J Antimicrob Agents*. 2014;44(6):538-40. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2014.08.006
32. Oteo J, Perez-Vazquez M, Bautista V, Ortega A, Zamarron P, Saez D, et al. The spread of KPC-producing Enterobacteriaceae in Spain: WGS analysis of the emerging high-risk clones of *Klebsiella pneumoniae* ST11/KPC-2, ST101/KPC-2 and ST512/KPC-3. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71(12):3392-9. doi: 10.1093/jac/dkw321
33. Machuca I, Gutierrez-Gutierrez B, Perez Cortes S, Gracia-Ahufinger I, Serrano J, Madrigal MD, et al. Oral decontamination with aminoglycosides is associated with lower risk of mortality and infections in high-risk patients colonized with colistin-resistant, KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71(11):3242-9. doi: 10.1093/jac/dkw272
34. Schechner V, Kotlovsky T, Kazma M, Mishali H, Schwartz D, Navon-Venezia S, et al. Asymptomatic rectal carriage of blaKPC producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: who is prone to become clinically infected? *Clin Microbiol Infect*. 2013;19(5):451-6. doi: 10.1111/j.1469-0912.2012.03888.x
35. Borer A, Saidel-Odes L, Eskira S, Nativ R, Riesenberk K, Livshiz-Riven I, et al. Risk factors for developing clinical infection with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in hospital patients initially only colonized with carbapenem-resistant *K. pneumoniae*. *Am J Infect Control*. 2012;40(5):421-5. doi: 10.1016/j.ajic.2011.05.022
36. Wiener-Well Y, Rudensky B, Yinnon AM, Kopuit P, Schlesinger Y, Broide E, et al. Carriage rate of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in hospitalised patients during a national outbreak. *J Hosp Infect*. 2010;74(4):344-9. doi: 10.1016/j.jhin.2009.07.022
37. Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, Schwaber MJ, Daikos GL, Cormican M, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect Dis*. 2013;13(9):785-96. doi: 0.1016/S1473-3099(13)70190-7
38. Pano Pardo JR, Serrano Villar S, Ramos Ramos JC, Pintado V. Infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: risk factors, clinical features and prognosis. *Enferm Infect Microbiol*

Clin. 2014;32 Suppl 4:41-8. doi: 10.1016/S0213-005X(14)70173-9

39. Feldman N, Adler A, Molshatzki N, Navon-Venezia S, Khabra E, Cohen D, et al. Gastrointestinal colonization by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* following hospital discharge: duration of carriage and risk factors for persistent carriage. Clin Microbiol Infect. 2013;19(4):E190-6. doi: 10.1111/1469-0691.12099
40. Tzouvelekis LS, Markogiannakis A, Psichogios M, Tassios PT, Daikos GL. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions. Clin Microbiol Rev. 2012;25(4):682-707. doi: 10.1128/CMR.05035-11



Brief report

Diego M. Cecchini^{1,2}
Sonia Castillo³
Gastón Copertari¹
Verónica Lacal¹
Claudia G. Rodríguez²
Isabel Cassetti¹

Resistance to HIV integrase strand transfer inhibitors in Argentina: first interim survey

¹Helios Salud, Buenos Aires, Argentina.

²Hospital Cosme Argerich, Buenos Aires, Argentina.

³Laboratorio Dr. Stamboulian, Sección Biología Molecular, Buenos Aires, Argentina.

Article history

Received: 29 November 2018; Revision Requested: 6 February 2019; Revision Received: 14 February 2019; Accepted: 5 March 2019

ABSTRACT

Objectives. No data on resistance to HIV integrase strand transfer inhibitors (InSTIs) in Argentina are available as access to these drugs and to integrase genotypic resistance test is limited. We aimed to evaluate the clinical profile of patients who underwent an integrase genotypic resistance test, prevalence of InSTI resistance mutations and predicted efficacy of raltegravir, elvitegravir and dolutegravir in our country.

Patients and methods. Retrospective multicentric pilot survey from January 2011 to November 2017 of InSTI-failing patients assisted at two private and one public healthcare institutions located in Buenos Aires city, Argentina.

Results. Sixty seven patients were included. Patients had a median of 5 (4-7) prior treatments. All patients had InSTI-containing regimens (median exposure of 22.5 months); 94% were under raltegravir therapy and 71.9% had InSTI-resistance mutations. Predominant major mutations were N155H (35.1%), Q148H/R (15.8%) and G140A/S (14%). Considering Stanford HIVdb program, extremely low and identical activity of raltegravir and elvitegravir was described while dolutegravir remained either partially or fully active in 97.7% of patients.

Conclusions. Integrase resistance test was prescribed almost exclusively in heavily pretreated raltegravir-exposed patients. The three main mutational pathways were described, with a predominance of N155H. Despite almost null susceptibility and extensive cross resistance was shown among raltegravir and elvitegravir, dolutegravir remains active in the majority of patients.

Keywords: HIV infection, drug resistance, integrase inhibitors

Resistencia a inhibidores de la integrasa en Argentina: primera encuesta interina

RESUMEN

Objetivos. No hay datos disponibles sobre resistencia a inhibidores de la integrasa (INIs) en Argentina, ya que el acceso a estas drogas y al estudio de resistencia genotípica es limitado. Nuestro objetivo fue evaluar el perfil clínico de los pacientes a los que se les indicó un estudio de resistencia genotípica de integrasa, la prevalencia de mutaciones de resistencia INIs y la predicción de eficacia para raltegravir, elvitegravir y dolutegravir en nuestro país.

Pacientes y métodos. Encuesta piloto retrospectiva multicéntrica, enero de 2011 a noviembre de 2017, de pacientes con fallo virológico a INIs asistidos en dos instituciones de salud privadas y una pública en Buenos Aires, Argentina.

Resultados. Se incluyeron 67 pacientes, con una mediana de 5 (4-7) tratamientos previos. Todos tenían regímenes con INIs (exposición media de 22,5 meses); el 94% estaba recibiendo raltegravir y el 71,9% tenía mutaciones de resistencia a INIs. Las mutaciones primarias predominantes fueron N155H (35,1%), Q148H/R (15,8%) y G140A/S (14%). Considerando el programa de HIVdb de la Universidad de Stanford, se describió una actividad extremadamente baja e idéntica para raltegravir y elvitegravir, mientras que dolutegravir se mantuvo parcial o totalmente activo en el 97,7% de los pacientes.

Conclusiones. La prueba de resistencia a la integrasa se indicó casi exclusivamente en pacientes experimentados en tratamiento antirretroviral y expuestos a raltegravir. Se describieron las vías mutacionales principales, con predominio de N155H. Pese a la susceptibilidad casi nula y extensa resistencias cruzada entre raltegravir y elvitegravir, dolutegravir permaneció activo en la mayoría de los pacientes.

Palabras clave: infección por VIH, resistencia a drogas, inhibidores de integrasa

Correspondence:
Diego M. Cecchini,
Helios Salud SA. Peru 1511/15, Buenos Aires, C1141ACG, Argentina.
Phone: +5411 4363 7400.
E-mail: dceccchini@heliossalud.com.ar

INTRODUCTION

Integrase strand transfer inhibitors (InSTI)-based antiretroviral regimens are highly efficacious at suppression of HIV replication and are recommended for initiation of HIV therapy, as for subsequent regimens in different guidelines. InSTIs were found to be highly potent in the clinic; their use resulted in faster declines in viral load upon treatment initiation than had previously been observed [1]. Despite this, Latin America had a slow process of inclusion of the InSTI in its guidelines. Countries with gradual adoption of InSTI for first line therapy, mostly raltegravir (RAL), include Chile, Mexico, Colombia, Venezuela, and Argentina. Brazil in 2017 incorporates them in their preferred options supported with a large-scale purchase of dolutegravir (DTG) [2]. Overall, the use of InSTI in Latin America remains very limited and scarce in real practice because, mainly, of price barriers. In this context, in Argentina, access to InSTI-based antiretroviral therapy has been historically restricted to pretreated patients, mainly in the context of virologic failure or comorbidity in which more accessible non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor or protease inhibitor-based antiretroviral therapy cannot be prescribed.

Despite its potency and favorable virological profile, HIV can become resistant against InSTIs through the emergence of mutations within the integrase coding region. Different pathways against first-generation InSTIs were identified whose primary mutations include the substitutions N155H, Q148K/R/H, and Y143R/C [3–10].

In Argentina, a considerable prevalence of acquired and transmitted drug resistance has been described [11–14]. However, these epidemiological surveys included exclusively sequencing of protease and retrotranscriptase coding regions as access to HIV-1 integrase resistance sequencing has been, until recently, extremely limited.

Considering that information regarding prevalence of resistance is a key element in order to better define the public health approach to antiretroviral drug access, we aimed to describe the clinical and virological profile of patients who underwent an integrase resistance test and the prevalence of InSTI resistance mutations in Buenos Aires city, Argentina.

PATIENTS AND METHODS

We underwent a retrospective multicentric pilot survey from January 2011 to November 2017 of InSTI-failing patients assisted at two private and one public healthcare institutions located in Buenos Aires city, Argentina. Virologic Failure was defined as the inability to achieve or maintain suppression of viral replication to an HIV RNA level <200 copies/mL [1]. RNA was extracted from plasma samples of InSTI-exposed patients by the automated system MagnaPure Compact Nucleic Acid Isolation kit Large Volume, Roche (Mannheim, Germany), amplified by a validated *in house* RT-PCR of the entire integrase HIV-1 gene (corresponding to 288 amino acids) [15,16] and

sequenced by Sanger sequencing in ABI 3500 Applied Biosystems™. The ChromasPro (version 2.0.0) and RECall (beta v3.04) programs were used to assemble and edit sequences. The consensus sequence was interpreted using the Stanford University HIV Drug Resistance Database. Integrase resistance mutations were classified as "major" or "accessory" and, considering the genotype interpretation system (GIS) of Stanford HIVdb program (version 8.4), the predicted efficacy of RAL, DTG and elvitegravir (EVG) was classified within five categories: from susceptible to high-level resistance. The GIS categories "susceptible" and "potential low level resistance" were grouped together as "susceptible", whereas "low level resistance" and "intermediate resistance" were grouped as "intermediate" and the remaining as "resistant".

RESULTS

A total of 67 patients were included. Of them, 64.2% were male. The median (interquartile range IQR) of age, pre-genotype viral load, and CD4 T-cell count were: 43 (23–52) years, 4465 copies/mL (859–27812) and 306/µL (153–499), respectively. Predominant HIV subtype was B/F (52.4%). Most of the patients had been exposed to several antiretroviral regimens (with most of the changes attributable to virologic failure) and a considerable proportion of them had HIV acquired perinatally. All of them had ongoing InSTI-containing regimens with a median of exposure of 22.5 (10–51) months; 94% were under RAL therapy (only one patient was under DTG therapy, but had prior exposure to RAL). Median time from diagnosis of virologic failure to genotype was 6 (3–13) months. Most frequent accompanying antiretrovirals included a boosted protease inhibitor + nucleos(t)ides reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) or NRTIs exclusively. Resistance to other antiretroviral drug classes was highly prevalent. Patients had a median of 3 (0–9) and 4 (1–8) mutations in protease and retrotranscriptase genes, respectively. Ninety seven percent of patients had irregular adherence to the current antiretroviral regimen. A detail of the clinical and immunovirological profile of the patients is shown in table 1. Integrase gene sequencing was successful in 57 of them (85.1%): 71.9% (n = 41) had resistance mutations with a median of 2 per patient (50.8% had combined mutations, n = 29). Predominant major integrase resistance mutations were N155H (35.1%), Q148H/R (15.8%) and G140A/S (14%). Predominant combinations of mutations were 140A/S + Q148H/R and N155H + G163K/R. A detail of major, accessory and combined mutations is shown in table 2. We found no association between development or integrase resistance mutations and time on virologic failure, time of exposure to raltegravir and number of prior antiretroviral regimens.

Considering Stanford HIVdb program GIS modified categories for each mutation profile, RAL and EVG were classed as susceptible, intermediate resistance and resistant in 2.4%, 21.9% and 75.6% of patients, respectively. For DTG, 68.4%, 29.3%, 2.4% of mutational profiles were classified as susceptible, intermediate resistance and resistant, respectively.

Table 1 Demographic and immunovirological profile of 67 HIV-infected patients who underwent an integrase resistance genotypic test in Buenos Aires, Argentina. Values are number (percentages) unless otherwise stated.

	N (%)
Male sex	43 (64.2)
Mode of infection	
Sexual	45 (67.2)
Perinatal	18 (26.9)
CDC C3 category	41 (61.2)
Age, median (IQR)	43 years (26-52)
Viral load, median (IQR)	4465 copies/ml (859-27812)
CD4 T-cell count, median (IQR)	307 cells/ μ L (153-499)
HIV-1 subtype (n = 50)	
B/F	27 (54)
B	23 (46)
Number of prior antiretroviral regimens, median (IQR)	5 (4-7)
Concomitant resistance in retrotranscriptase or PR genes (n = 62)	51 (82.3)
Single NRTI resistance	8 (13)
Single NNRTI resistance	5 (8)
Single PR resistance	6 (9.5)
Resistance to 2 drug classes ^a	13 (30)
Resistance to 3 drug classes ^a	15 (24)
Accompanying ART (n = 54)	
NRTIs only	13 (24)
Boosted PI + NRTIs	17 (31.5)
Boosted PI + NRTIs + other drug ^b	12 (22.2)
Boosted PI + other drug ^b	4 (7.4)
Boosted PI only	2 (3.7)
Other	6 (11)

ART: antiretroviral therapy; IQR: interquartile range; NRTI: nucleos(t)ide reverse transcriptase inhibitor; NNRTI: non-nucleos(t)ide reverse transcriptase inhibitor; PR: protease

^aExcluding integrase mutations; ^bEither NNRTIs or maraviroc

DISCUSSION

We present the first interim epidemiological study of resistance to InSTIs in Argentina and one of the first surveys of its kind in Latin America. Several aspects of this study should be highlighted.

The clinical profile of the patients reflects that access to InSTIs (almost exclusively RAL) has been limited to heavily pretreated patients, with limited therapeutic options, as shown by the high number of prior antiretroviral regimens and the prevalence of concomitant resistance to other drug classes. In this context it is not surprising that, in this first "wave" of integrase failing patients, a considerable proportion of them

had HIV acquired perinatally and advanced disease. It is expected, with evolving guidelines in Latin America, that naive patients (or, at least, less exposed patients) will have access to first and second generation InSTIs in the region. With this perspective, a change may be expected in the clinical and mutational profile of patients failing InSTIs in the upcoming years.

In this cohort of RAL-exposed failing patients, integrase resistance mutations were detected in the majority of them, reflecting the low genetic barrier of this first generation drug. Fourati et al., in a French national study of RAL-experienced HIV-1 infected patients, described that 39% of viruses of patients experiencing virological failure harbored at least one major InSTI resistance mutation. In this dataset, Q148 and N155 pathways predominated (observed in 15.4% and 19.1% of patients, respectively), whereas Y143 was detected in 6.7%. This prevalence is comparable to the one observed in our cohort for Q148 and Y143 pathways, but a higher prevalence of N155 substitutions was described in our population (35.1%) [17]. Further research is needed in order to define factors associated with selection of different mutational pathways among Latin American population. Considering RAL's low genetic barrier, the irregular adherence that the vast majority of patients had to the therapy, in the context of high prevalence of, at least, some level of resistance to accompanying drugs may contributed to development of InSTI mutations. Of note, median time of exposure to RAL before integrase genotype in our study almost doubled the one documented in the French survey (22.5 vs 11 months). This reflects logistical barriers to the access to integrase genotype at the local level (median of 6 months) rather than a longer time to virologic failure on RAL-containing therapy in our setting. It is expected, in the upcoming years, that integrase genotype will be more accessible in Buenos Aires city (as in the rest of Argentina), facilitating an opportune evaluation of InSTI-failing patients.

Considering Stanford HIVdb program GIS, extremely low and identical activity of RAL and EVG is described, confirming extensive cross-resistance in our population. In contrast, second generation InSTI DTG remains either partially or fully active in 97.7% of patients, constituting and extremely important therapeutic option for future regimens in this heavily pretreated patients as shown in VIKING trials [18, 19]. Of note, in our survey, R263K signature mutation that affects the efficacy of DTG [20] was not observed. As high-level DTG resistance requires multiple first-generation InSTI-resistance mutations, a timely interruption of RAL would prevent accumulation of resistance and should be considered in order to maximize the effect of DTG in our population [3, 17]. In this context, access

Table 2 Prevalence of individual major and accessory integrase resistance mutations and combination of them in a cohort of raltegravir failing patients in Buenos Aires, Argentina (N = 57).

	N (%)
Major mutations	
N155H	20 (35.1)
Q148HR	9 (15.8)
G140AS	8 (14)
E138A	3 (5.3)
Y143R	3 (5.3)
T66A	1 (1.8)
E92Q	1 (1.8)
Accessory mutations	
G163KR	18 (31.6)
T97A	11 (19.3)
V151I	8 (14)
L74IM	5 (8.8)
E157Q	2 (3.5)
A128T	1 (1.8)
Combined mutations	
G190A/S + Q148H/R	6 (10.5)
N155H + G163K/R	4 (7)
A128T + V151I + N155H	1 (1.7)
E138A/E + G140A/S + Q148H/R	1 (1.7)
E92A/E + T97A + V151I + N155H	1 (1.7)
L68V + L74M + E92Q + T97A + N155H	1 (1.7)
L74I + V151I + N155H + G163R	1 (1.7)
L74I + Y143R + V151I + N155H	1 (1.7)
L74M + T97A + Y143R + G163R	1 (1.7)
Q148H/R + G163R	1 (1.7)
T66A/T + L74I + T97A + E138A/E	1 (1.7)
T79A + G163R	1 (1.7)
T97A + E138A/E + Y143R + G163K	1 (1.7)
T97A + G140AS + Q148HR	1 (1.7)
T97A + G163R	1 (1.7)
T97A + N155H	1 (1.7)
T97A + N155H + G163R	1 (1.7)
V151I + N155H + E157Q	1 (1.7)
V151I + N155H + E157Q + G163R	1 (1.7)
V151I + N155H	1 (1.7)

to DTG should be warranted in our setting.

In conclusion, this first interim survey of resistance to InSTIs in Argentina reflects that, to date, integrase resistance test was prescribed almost exclusively in heavily pretreated RAL-exposed patients. The three main mutational pathways were described, with a clear predominance of N155H. Despite almost null susceptibility and extensive cross resistance was shown among RAL and EVG, DTG remains active in the vast majority of patients. Further monitoring is needed to describe evolving trends in the clinical, virological and mutational profile of InSTI-failing patients as long as first and second generation InSTIs become more accessible in Argentina as other Latin American countries in the near future.

ACKNOWLEDGEMENTS

Data in this paper were presented in part at the 16th European AIDS Conference (EACS 2017) Milan, Italy, October 25-27 2017 (abstract PE6/5) and the 22nd International AIDS Conference (AIDS 2018) Amsterdam, the Netherlands, July 23-27 2018 (abstract THPEB065).

FUNDING

None to declare

CONFLICT OF INTERESTS

The authors declare that they have no conflict of interest

REFERENCES

- Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents Living with HIV. Department of Health and Human Services. Available at <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>. Accessed 19 October 2018.
- Martinez Buitrago E. Current role of integrase inhibitors in Latin American guidelines. J Int AIDS Soc. 2018 Apr;21 Suppl 3:e25093. doi: 10.1002/jia2.25093.
- Geretti AM, Armenia D, Ceccherini-Silberstein F. Emerging patterns and implications of HIV-1 integrase inhibitor resistance. Curr Opin Infect Dis. 2012;25(6):677-86. doi: 10.1097/QCO.0b013e32835a1de7
- You J, Wang H, Huang X, Qin Z, Deng Z, Luo J, et al. Therapy-emergent drug resistance to integrase strand transfer inhibitors in HIV-1 patients: A subgroup meta-analysis of clinical trials. PLoS One. 2016; 11(8): e0160087. doi: 10.1371/journal.pone.0160087
- Blanco JL, Varghese V, Rhee SY, Gatell JM, Shafer RW. HIV-1 integrase inhibitor resistance and its clinical implications. J Infect Dis. 2011;203(9):1204-14. doi: 10.1097/QCO.0b013e32835a1de7
- Mbisa JL, Martin SA, Cane PA. Patterns of resistance development with integrase inhibitors in HIV. Infect Drug Resist. 2011;4(1):65-76. doi: 10.2147/IDR.S7775.

7. Mesplède T, Wainberg MA. Resistance against integrase strand transfer inhibitors and relevance to HIV persistence. *Viruses*. 2015;7:3703–3718. doi: 10.3390/v7072790.
8. Grobler JA, Hazuda DJ. Resistance to HIV integrase strand transfer inhibitors: In vitro findings and clinical consequences. *Curr Opin Virol*. 2014; 8:98–103. doi: 10.1016/j.coviro.2014.07.006
9. Ambrosioni J, Nicolás D, Manzardo C, Agüero F, Blanco JL, Mosquera MM, et al. Integrase strand-transfer inhibitor polymorphic and accessory resistance substitutions in patients with acute/recent HIV infection. *J Antimicrob Chemother*. 2017; 72(1):205–209. doi: 10.1093/jac/dkx071.
10. Hurt CB, Sebastian J, Hicks CB, Eron JJ. Resistance to HIV integrase strand transfer inhibitors among clinical specimens in the United States, 2009–2012. *Clin Infect Dis*. 2014; 58(3):423–31. doi: 10.1093/cid/cit697
11. Rodriguez-Rodrigues N, Duran A, Bouzas MB, Zapiola I, Vila M, Indyk D, et al. Increasing trends in primary NNRTI resistance among newly HIV-1-diagnosed individuals in Buenos Aires, Argentina. *J Int AIDS Soc*. 2013; 16:18519. doi: 10.7448/IAS.16.1.18519.
12. Bissio E, Barbás MG, Bouzas MB, Cudolá A, Salomón H, Espínola L, et al. Pretreatment HIV-1 drug resistance in Argentina: Results from a surveillance study performed according to WHO-proposed new methodology in 2014–15. *J Antimicrob Chemother*. 2017; 72(2):504–510. doi: 10.1093/jac/dkw445
13. Zapiola I, Cecchini D, Fernandez Giuliano S, Martínez M, Rodriguez C, Bouzas MB. HIV-1 resistance to antiretroviral drugs in pregnant women from Buenos Aires metropolitan area. *Medicina (B Aires)*. 2016;76(6):349–354. PMID: 27959842
14. Cecchini DM, Zapiola I, Fernandez Giuliano S, Martinez MG, Rodriguez CG, Bouzas MB. Etravirine resistance mutations in HIV-infected pregnant women. *HIV Medicine*. 2013; 14(2):125–6. doi: 10.1111/j.1468-1293.2012.01058.x.
15. Hearps AC, Greengrass V, Hoy J, Crowe SM. An HIV-1 integrase genotype assay for the detection of drug resistance mutations. *Sex Health*. 2009; 6(4):305–9. doi: 10.1071/SH09041.
16. Witmer M, Danovich R. Selection and analysis of HIV-1 integrase strand transfer inhibitor resistant mutant viruses. *Methods*. 2009; 47(4):277–82. doi: 10.1016/jymeth.2009.02.025.
17. Fourati S, Charpentier C, Amiel C, Morand-Joubert L, Reigadas S, Trabaud MA, et al. Cross-resistance to elvitegravir and dolutegravir in 502 patients failing on raltegravir: A French national study of raltegravir-experienced HIV-1-infected patients. *J Antimicrob Chemother*. 2014; 70(5):1507–12. doi: 10.1093/jac/dku535.
18. Akil B, Blick G, Hagins DP, Ramgopal MN, Richmond GJ, Samuel RM, et al. Dolutegravir versus placebo in subjects harbouring HIV-1 with integrase inhibitor resistance associated substitutions: 48-week results from VIKING-4, a randomized study. *Antivir Ther*. 2015;20(3):343–8. doi: 10.3851/IMP2878.
19. Castagna A, Maggiolo F, Penco G, Wright D, Mills A, Grossberg R, et al. Dolutegravir in antiretroviral-experienced patients with raltegravir- and/or elvitegravir-resistant HIV-1: 24-week results of the phase III VIKING-3 study. *J Infect Dis*. 2014;210(3):354–62. doi: 10.1093/infdis/jiu051.
20. Liang J, Mesplède T, Oliveira M, Anstett K, Wainberg MA. The Combination of the R263K and T66I Resistance Substitutions in HIV-1 Integrase Is Incompatible with High-Level Viral Replication and the Development of High-Level Drug Resistance. *J Virol*. 2015; 89(22):11269–74. doi: 10.1128/JVI.01881-15.



Brief report

Olivia García Trallero¹
Luis Herrera Serrano²
Montse Bibián Inglés²
David Roche Vallés³
Ana María Rodríguez³

Effect of the administration of a probiotic with a combination of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains on antibiotic-associated diarrhea

¹Servicio de Urgencias, Hospital Universitari Dexeus-Grupo Quirónsalud, Barcelona, Spain

²Schwabe Farma Ibérica, Alcobendas (Madrid), Spain

³Methodex - Investigación Clínica, Barcelona, Spain

Article history

Received: 29 January 2019; Accepted: 12 March 2019

ABSTRACT

Objectives. The aim of this study is to analyze the effect, safety and tolerability of a specific probiotic combination of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains (Pearls IC[®]) on antibiotic associated diarrhea due to amoxicillin-clavulanic acid treatment.

Patients and methods. Pilot, unicentric, randomized, double-blind, parallel group, placebo-controlled study (probiotic vs. placebo for 30 days). Target population: Adult patients, both sexes treated with amoxicillin-clavulanic acid (850mg / 125mg every 8h / orally) for 7 days who attended the Emergency Department (Dexeus Hospital, Barcelona) between January and April of 2018 with prior signed informed consent with a follow up at 30 days. Variables: The differences between day 0 and day 30 of the number of daily stools and duration of diarrhea were evaluated; Stool consistency according to Bristol Stool Form, Quality of intestinal life. Subjective evaluation and evaluation of adverse effects of the product through a specifically designed questionnaire.

Results. Thirty-six subjects were included (18 per group) 25 females and 11 males, average age of 38.5 years (range 19–65 years). Pearls IC[®] delayed between 4 and 5 days the appearance of the diarrheic episode vs. placebo ($p < 0.001$). The results of the quality of life assessment showed an improvement at the end of the 30 days period but without difference vs placebo. The results of the subjective assessment were in favor of the probiotic with higher rate of like responses than placebo.

Conclusions. Pearls IC[®] demonstrated its beneficial effect on antibiotic associated diarrhea by delaying the onset of diarrhea and showed a tendency to decrease the number of daily stools vs. placebo.

Keywords: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, antibiotic-associated diarrhea, amoxicillin-clavulanic acid

Efecto de la administración de un probiótico con lactobacilos y bifidobacterias en la diarrea asociada a antibióticos

RESUMEN

Introducción. El objetivo es analizar el efecto y la seguridad de una combinación probiótica específica de lactobacilos y bifidobacterias (Pearls IC[®]) en la diarrea asociada a antibióticos debida al tratamiento con amoxicilina-ácido clavulánico.

Pacientes y métodos. Estudio piloto, unicéntrico, aleatorizado, doble ciego, paralelo, controlado con placebo. Población objetivo: pacientes adultos, ambos sexos tratados con amoxicilina-ácido clavulánico (850mg / 125mg cada 8h / oral) durante 7 días que asistieron a un Servicio de Urgencias entre enero y abril de 2018 con consentimiento informado previo firmado con un seguimiento a los 30 días. Variables: se evaluaron las diferencias entre el día 0 y el día 30 del número de deposiciones diarias y la duración de la diarrea; Consistencia de las heces según la forma de heces de Bristol, calidad de vida intestinal. Evaluación subjetiva y evaluación de los efectos adversos del producto a través de un cuestionario específicamente diseñado.

Resultados. Se incluyeron 36 sujetos (18 por grupo), 25 mujeres y 11 hombres, con una edad promedio de 38,5 años (rango 19–65 años). Pearls IC[®] retrasó entre 4 y 5 días la aparición del episodio diarreico versus placebo ($p < 0,001$). Los resultados de la evaluación de la calidad de vida mostraron una mejoría al final del período de estudio, pero sin diferencias frente a placebo. Los resultados de la evaluación subjetiva fueron a favor del probiótico con una tasa más alta de respuestas similares que el placebo.

Conclusiones. Pearls IC[®] demostró su efecto beneficioso sobre la diarrea asociada a antibióticos al retrasar el inicio de la diarrea y mostró una tendencia a disminuir el número de deposiciones diarias versus placebo.

Palabras clave: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, diarrea asociada a antibióticos, amoxicilina-ácido clavulánico

Correspondence:
Luis Herrera Serrano
Schwabe Farma Ibérica, Avenida de la Industria, 4, Edificio 2, escalera 1, 2º, 28108 Alcobendas (Madrid)
Phone: +34 630 943 135
E-mail: luis.herrera@schwabe.es

INTRODUCTION

Antibiotic-associated diarrhea (AAD) is defined as diarrhea that occurs in relation to the administration of antibiotics [1] and that is not explained by other causes, must be clinically significant and have more than 3 liquid stools per day [2]. Its frequency oscillates between 5% and 25% of patients and varies depending on the type of antibiotic administered, 5-10% with ampicillin, 15-20% with cefixime and 10-25% with amoxicillin-clavulanic acid [1].

The AAD is produced mainly by three mechanisms [3]: Selection or overgrowth of enteropathogenic bacteria, by the suppression of the endogenous intestinal flora that alters the metabolism of bile acids and of non-absorbed carbohydrates and due to the direct pharmacological effect of antibiotics.

Amoxicillin-clavulanic acid is one of the most widely used antibiotics and one of the most frequent causes of AAD and other gastrointestinal disorders [4, 5].

Probiotics help to maintain the balance of the intestinal microbiota and they have been used for many years for the treatment and prevention of AAD [6-11].

The objective of this pilot study is to analyze the effect and safety of a specific combination of probiotic strains, Pearls IC® on the prevention and evolution of diarrhea associated with amoxicillin-clavulanic acid.

PATIENTS AND METHODS

Pilot, randomized, double-blind, placebo-controlled study involving patients over 18 years of both sexes who had signed informed consent and who had been prescribed amoxicillin-clavulanic acid for 7 days at a dose of 850mg / 125mg every 8 hours. It was not allowed the inclusion in the study of patients with other gastrointestinal pathologies, with hypersensitivity to any of the study products, in treatment with other medications that could alter the results of the study, or if they were taking laxatives, suffering a process that would condition the occurrence of diarrhea or being pregnant.

One group was given Pearls IC® from the beginning of the antibiotic treatment until completing 30 days at a dose of 1 capsule per day and placebo the other one. Pearls IC® is a probiotic from Schwabe Farma Ibérica that contains a combination of six strains: *Lactobacillus acidophilus* NCFM, *Lactobacillus rhamnosus* Lr-32, *Bifidobacterium breve* M-16V, *Bifidobacterium longum* BB536, *Bifidobacterium lactis* BI-04 and *Bifidobacterium bifidum* Bb-02, with 10⁹ colony forming units per capsule.

The study was carried out in the Emergency Department of the Hospital Universitari Dexeus-Quirónsalud Group of Barcelona and was previously approved by the Center's Ethical Committee.

The number of daily stools and values of the stool scale Bristol Stool Form (BSS) were analyzed (from 1-7 according to the consistency) and recorded in the diary provided to the

patient at visit 1. For the evaluation of diarrhea (presence or absence), the day of occurrence of the first diarrheal event and the number of days with diarrheal episodes, four criteria for assessment were used: score above 5 in the BSS after the 3rd day of antibiotic treatment, 3 or more stools from a previous value after the 3rd day of antibiotic treatment, presence of one or the other and the combination of one and the other.

Quality of life was assessed through the modified Quality of intestinal life GIQLI questionnaire in visit 1 and visit 30 (end of the study), the questions were grouped into five areas for evaluation separately: Symptoms, Emotional, Physical, Treatment and Social. The characteristics of the product were evaluated through a subjective questionnaire, completed by the patient at the final visit (T30). The safety of the product was evaluated through the monitoring of the adverse effects.

For the statistical analysis we used the software SPSS version 23 and the free software R version 3.3.2 (2016-10-31) - "Sincere Pumpkin Patch" Copyright (C) 2016.

For the estimation of the sample size it was considered that the prevalence of the effect of the antibiotic in the stools was 75% and an expected reduction with the probiotic was 35%, so for a power of 80 % and a confidence of 95% a sample size of 40 patients was estimated.

RESULTS

Between January and April 2018, 40 patients were recruited who met the inclusion criteria, 4 of whom were lost to follow-up. Of the 36 remaining patients, 18 were assigned to the Pearls IC® group and 18 to the placebo one. There was a predominance of women over men homogeneously in both arms, in total 25 women (13 with probiotics and 12 with placebo) over 11 men (5 vs 6, respectively). The mean age and age range of the patients included in the group treated with Pearls IC® was 40.72 (19-65) and in the placebo group of 36.83 (19-62).

It was found that the probiotic was able to delay the occurrence of diarrhea in a statistically significant and consistent manner over three days using the four endpoints (table 1). Using the most demanding criterion (stool consistency criterion and the number of stools) Pearls IC® delayed the appearance of diarrhea in 5.39 days ($p = 0.002$). On the other hand, no statistically significant differences were found between the two treatment arms in terms of the percentage of diarrhea occurrence or in relation to the number of days with diarrhea, although there was a tendency towards a lower number of daily stools without statistical significance (figure 1).

In relation to the quality of life assessment, there was no differences between arms at the end of the study (improvements of 4.2 points for Pearls IC® and 5.03 for placebo, $p = ns$). The improvements were greater with the probiotic than in the placebo arm in the Symptoms area (0.05 vs 0.03) and in the Emotional one (0.13 vs 0.03), although it was not reached statistical significance.

The subjective evaluations found that 45% of the probi-

Table 1

Effect of Pearls IC[®] over diarrhea using the four endpoints: consistency, number of stools, consistency and/or number of stools.

Diarrhea onset day ^a	Pearls IC [®]	Placebo	Difference	Mann-Whitney	P value
Consistency (1)	7.55	4.44	3.10	78.5	0.010*
Depositions, n (2)	9.17	3.00	6.17	27.4	0.008*
(1) or (2)	8.25	4.44	3.81	87.5	0.006*
(1) and (2)	9.83	4.44	5.39	93.5	0.002*
Diarrhea ^b	Pearls IC [®] (n)	Placebo (n)	Odds ratio	IC 95%	
Consistency (1)	61.1% (11)	50% (9)	1.57	(0.42; 5.90) NS	
Depositions, n (2)	33.3% (6)	27.8% (5)	1.3	(0.31; 5.39) NS	
(1) or (2)	66.7% (12)	50.0% (9)	2	(0.52; 7.69) NS	
(1) and (2)	27.8% (5)	27.8% (5)	1	(0.23; 4.30) NS	
Nº of days with diarrhea ^b	Pearls IC [®]	Placebo	Diferencia	Mann-Whitney	P value
Consistency (1)	3.50	2.17	1.33	191.5	0.16
Depositions, n (2)	0.78	2.17	-1.39	164.5	0.45
(1) or (2)	3.56	3.44	0.11	190.5	0.17
(1) and (2)	0.72	0.89	-0.17	158.5	0.43

^aThe probiotic delays the onset of diarrhea compared with placebo in more than 3 days, in a statistically significant way (*)

^bNo statistically significant differences were found in the percentage of patients with diarrhea and the average number of daily stools between the two treatment groups.

otic evaluations were clearly positive compared to 33% in the case of the group treated with placebo, which included 11% with a very negative assessment (figure 2). No adverse effects were registered in either of the two treatment arms.

DISCUSSION

Probiotics are live microorganisms that are able to reach the intestinal mucosa in sufficient quantity to confer benefits to the host, as they help maintain normal intestinal flora and reduce the colonization of pathogenic organisms by competitive inhibition of epithelial and mucosal adhesion [12]. It has been shown to secrete acetic and lactic acids that lower intraluminal pH and inhibit the growth of some pathogens, including enterohemorrhagic *Escherichia coli* [13-15]. Probiotics can also inhibit the growth of other pathogenic bacteria through the production of antimicrobial molecules, including short-chain fatty acids, bacteriocins and microcines [15], in addition to their immunomodulatory effect that can counteract the proinflammatory effect of pathogenic bacteria [16].

In view of the lack of clinical evidence demonstrating the beneficial effect of the administration of probiotics during antibiotic treatment, this study was carried out with a specific combination of 6 strains, Pearls IC[®], to analyze its effect on the AAD. To this end, amoxicillin-clavulanic acid was selected because of its wide use and because diarrhea is one of its most frequent adverse effects, around 20% [4] and patients were in-

cluded who were to receive this antibiotic for at least a week, without taking into account the site of the infection and was compared with masked placebo.

One of the limitations of the study, besides it was a pilot study, is the small sample size, only 18 patients in each treatment group, which has not allowed to show differences compared to the group treated with placebo in some of the variables studied.

Four definitions of diarrhea were included, in order to achieve a greater objectivity in the assessment, including the combination of the consistency of feces and the number of stools. This criterion showed a delay of more than 5 days in the beginning of diarrhea vs the placebo treatment arm showing statistical significance, although a reduction in the percentage of patients who developed diarrhea could not be demonstrated, at least during the period of the 30 days of the study. A tendency to a lower number of daily stools could be seen in the group treated with the probiotic compared to placebo, although without statistical significance, probably due to the small sample size.

Regarding the quality of life, there were no significant differences between the two groups, although there was a tendency towards greater improvement in the areas of Symptoms and Emotional in favor of the probiotic, as well as in the subjective assessment, which favored the treatment with Pearls IC[®], which was better valued. Regarding safety, no adverse events were reported in any of the two arms, which confirms the safety of the product.

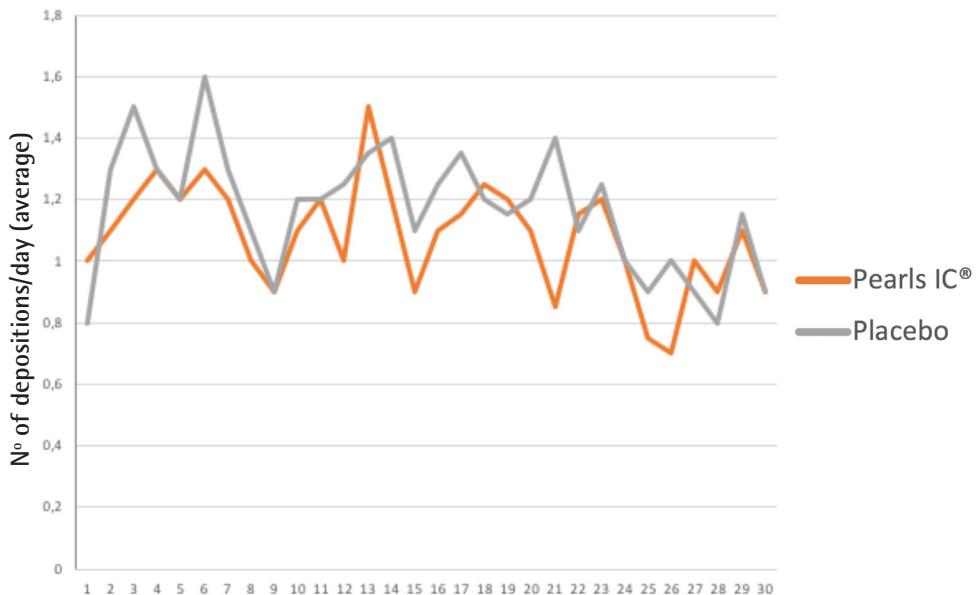


Figure 1

Average number of daily stools, where a tendency to a lower mean is observed in the arm treated with the probiotic.

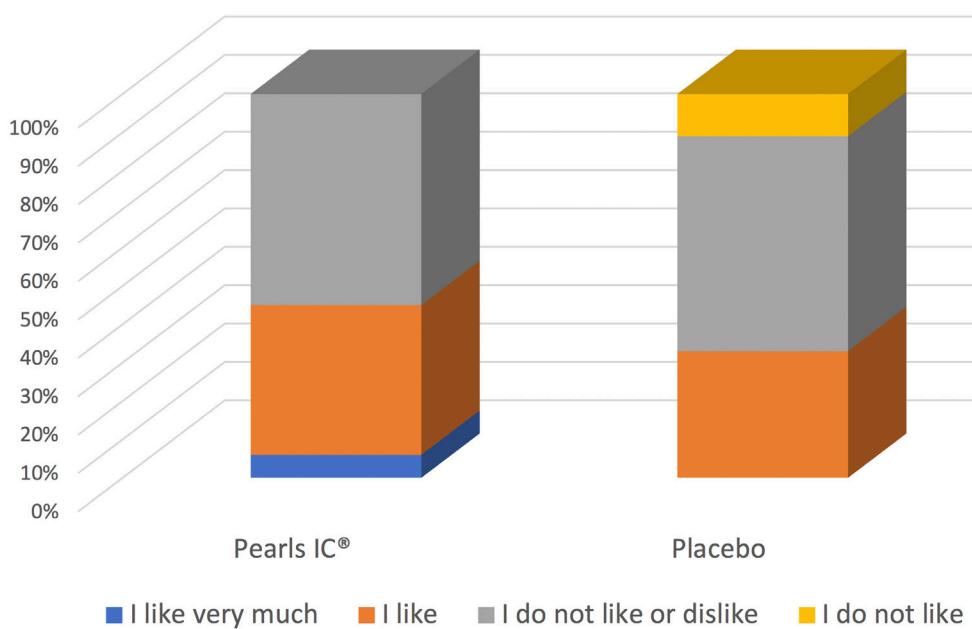


Figure 2

Subjective ratings showed a higher percentage of patients with a positive rating than in the placebo arm.

As conclusions, Pearls IC® significantly delayed the first diarrheic episode between 4 and 5 days compared to placebo and showed a tendency to decrease the number of daily stools compared with placebo, although not statistically sig-

nificant, improved quality of life and specifically some areas and subjective assessment by patients was favorable compared to placebo, so that Pearls IC® seems to have a beneficial effect on the imbalance of intestinal flora induced by

antibiotics, which should be demonstrated in studies with larger sample size.

ACKNOWLEDGEMENTS

The results of this study have been presented in poster format in the congress of the SEPYP (Probiotic and Prebiotic Spanish Society) that was held in Las Palmas, February 6-8, 2019.

FUNDING

This study was funded by Schwabe Farma Ibérica.

CONFLICTS OF INTEREST

Two authors are employees of Schwabe Farma Ibérica. No other conflicts of interest declared.

REFERENCES

1. Bartlett JG. Antibiotic-associated diarrhea. N Engl J Med. 2002; 346(5):334-339. PMID: 11821511
2. Hogenauer C, Hammer HF, Krejs GJ, et al. Mechanisms and management of antibiotic-associated diarrhea. Clin Infect Dis. 1998; 27(4):702-710. PMID: 9798020
3. Varughese CA, Vakil NH, Phillips KM. Antibiotic-associated diarrhea: a refresher on causes and possible prevention with probiotics--continuing education article. J Pharm Pract. 2013;26(5):476-82. PMID: 24064436
4. Amoxicilina y Ácido Clavulánico: MedlinePlus medicinas [Internet]. [cited 2017 May 8]. Available from: <https://medlineplus.gov/spanish/druginfo/meds/a685024-es.html>
5. Rodríguez-Varón A, Muñoz OM, Pulido-Arenas J, Amado SB, Tóbón-Trujillo M. Diarrea asociada a antibióticos: características clínicas y presencia de *Clostridium difficile*. Rev Gastroenterol Mex. 2017; 82(2):129-133. doi: 10.1016/j.rgmx.2016.10.003
6. Evans M, Salewski RP, Christman MC, Girard S-A, Tompkins TA. Effectiveness of *Lactobacillus helveticus* and *Lactobacillus rhamnosus* for the management of antibiotic-associated diarrhoea in healthy adults: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Br J Nutr. 2016;116(1):94-103. doi: 10.1017/S0007114516001665.
7. Kołodziej M, Szajewska H. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children: protocol of a randomised controlled trial. BMJ Open. 2017;7(1): e013928. DOI: 10.1136/bmjopen-2016-013928
8. Engelbrektson A, Korzenik JR, Pittler A, Sanders ME, Klaenhammer TR, Leyer G, Kitts CL. Probiotics to minimize the disruption of faecal microbiota in healthy subjects undergoing antibiotic therapy. J Med Microbiol. 2009; 58: 663-670. DOI 10.1099/jmm.0.47615-0
9. Johnston BC, Ma SS, Goldenberg JZ, Thorlund K, Vandvik PO, Loeb M, Guyatt GH. Probiotics for the prevention of *Clostridium diffi-*cile-Associated Diarrhea. Ann Intern Med. 2012;157(12):878-88. PMID: 23362517
10. Pattani R, Palda VA, Hwang SW, Shah PS. Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* infection among hospitalized patients: systematic review and meta-analysis. Open Med. 2013;7(2):e56-67. eCollection 2013.
11. McFarland LV, Ship N, Auclair J, Millette M. Primary prevention of *Clostridium difficile* infections with a specific probiotic combining *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, and *L. rhamnosus* strains: assessing the evidence. J Hosp Infect. 2018;99(4):443-452. PMID: 29702133.
12. Sherman PM, Johnson-Henry KC, Yeung HP, et al. Probiotics reduce enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 and enteropathogenic E.coli O127: H6-induced changes in polarized T84 epithelial cell monolayers by reducing bacterial adhesion and cytoskeletal rearrangements. Infect Immun. 2005;73(8):5183- 5188. PMID: 16041036
13. Ogawa M, Shimizu K, Nomoto K, et al. Inhibition of in vitro growth of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157: H7 by probiotic lactobacillus strains due to production of lactic acid. Int J Food Microbiol. 2001;68(1-2):135-140. PMID: 11545213
14. Alvarez-Olmos MI, Oberhelman RA. Probiotic agents and infectious diseases: a modern perspective on a traditional therapy. Clin Infect Dis. 2001;32(11):1567-1576. PMID: 11340528
15. Doron S, Gorbach SL. Probiotics: their role in the treatment and prevention of disease. Expert Rev Anti Infect Ther. 2006 ;4(2): 261-275. PMID: 16597207
16. Morrow LE, Gogineni V, Malesker MA. Probiotics in the intensive care unit. Nutr Clin Pract. 2012;27(2):235-241. PMID: 22473797.



Letter to the Editor

Emilio Guirao-Arrabal¹
César García-López²
Francisco Anguita-Santos¹
Javier de la Cruz-Sabido³
Natalia Chueca⁴
Elena Ruiz-Escalano⁵
Luis Aliaga-Martínez⁶
Pilar Giner-Escobar⁶
Ángel Ceballos-Torres⁶

Disseminated aspergillosis in an immunocompetent patient treated with corticosteroids: value of PCR for diagnosis

¹Infectious Diseases Unit. Hospital Universitario San Cecilio. Granada. Spain

²Pathology Unit. Hospital Universitario San Cecilio. Granada. Spain

³Neurosurgery Unit. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada. Spain

⁴Microbiology Unit. Hospital Universitario San Cecilio. Granada. Spain

⁵Gastroenterology Unit. Hospital Universitario San Cecilio. Granada. Spain

⁶Internal Medicine Unit. Hospital Universitario San Cecilio. Granada. Spain

Article history

Received: 24 October 2018; Revision Requested: 17 December 2018; Revision Received: 3 February 2019; Accepted: 6 February 2019

Sir,

Gastrointestinal tract is commonly affected in disseminated aspergillosis that initiates as lung disease and spreads hematogenously, but primary gastrointestinal aspergillosis has seldom been reported [1, 2]. *Aspergillus* spores do not survive under unfavourable conditions in the gastrointestinal tract, unless gastrointestinal mucosa is disrupted like in large ulcers in chemotherapy-related mucositis in neutropenic patients [1].

We present the clinical case of a 73-year-old woman diagnosed with celiac disease 9 years earlier, on chronic treatment with lansoprazole for hiatal hernia and untreated *Helicobacter pylori*. She started with diffuse abdominal pain and constipation and several explorations were performed: a colonoscopy that was normal; an abdominal computed tomography (CT) that showed dilation of small bowel loops suggestive of an obstructive process; and an enteroscopy that took a biopsy of jejunum that showed intestinal mucosa with intraepithelial lymphocytosis and granulation tissue with extrinsic large bacterial and hyphae aggregates. The patient started thereafter with blood-stained watery diarrhea and was finally initiated with 40 mg daily oral prednisone for 5 weeks for clinical suspicion of inflammatory bowel disease. She was then readmitted to the hospital and a resection of the obstructed ileal loop was performed and sent for a pathological study that reported an ulcerative mucosa and necrotizing granulomatous inflammation. *Mycobacterium tuberculosis* PCR was negative.

The patient suffered a confusional syndrome and acute right hemiparesis. A brain-CT scan was performed, showing an extensive hypodense area in left basal nuclei, external and internal capsules with cerebral edema. A brain-magnetic resonance imaging (MRI) scan suspected a brain tumor with severe

vasogenic edema as the first possibility. A stereotaxic biopsy of the lesion was consistent with an acute abscess. Cultures for bacteria and fungi, and *M.tuberculosis* culture and PCR were all negative but the patient was empirically started on linezolid, rifampin, isoniazid, and meropenem to treat both bacteria and mycobacteria possibilities. Brain abscess biopsy samples were sent to our referral laboratory and yielded a positive result for *Aspergillus fumigatus* PCR, and negative results for *Aspergillus terreus*, *Aspergillus flavus*, *M. tuberculosis*, *Tropherima whipplei*, *Acanthamoeba*, *Toxoplasma gondii*, and *Leishmania* spp. Thus the treatment was changed to intravenous voriconazole and liposomal amphotericin B. The possibility of a surgical intervention was ruled out because of the severe deterioration of the patient. The patient progressively worsened and finally died from respiratory failure. A necropsy was performed reporting a hemorrhagic, necrotizing and diffuse bilateral pneumonia, a hemorrhagic and necrotic left parieto-temporal brain lesion and a necrotic granulomatous inflammation in ileum and jejunum with a lymphadenopathic conglomerate. Hyphae aggregates were found in all affected tissues (figure 1). *A. fumigatus* PCR were positive in brain, jejunum and lung samples. Definitive diagnosis: disseminated aspergillosis.

Risk factors for invasive aspergillosis (IA) include: prolonged neutropenia, allogenic hematopoietic stem cell transplant, solid organ transplant recipients, corticosteroid use, advanced AIDS, and those with chronic granulomatous disease [3]. Meersseman reported a 6.3% of patients with IA not fitting these classical risk factors; some of them could be explained just because they were receiving corticosteroids [4].

Corticosteroids impair macrophage killing of *Aspergillus* spores and mononuclear cell killing of *Aspergillus* hyphae. Meersseman has suggested that even a 3-week course of corticosteroids could be an additional risk factor for IA in the setting of previous lung disease or critically ill patients [4]. Tramsen also demonstrated in vitro that methylprednisolone significantly increases the rate of apoptosis, decreases the rate of proliferation of anti-*Aspergillus* TH1 cells, and reduces IFN- γ

Correspondence:
Emilio Guirao-Arrabal.
Infectious Diseases Unit. Hospital Universitario San Cecilio. Avenida de la Investigación, s/n.
18016 Granada. Spain.
E-mail: emilio.guirao@gmail.com

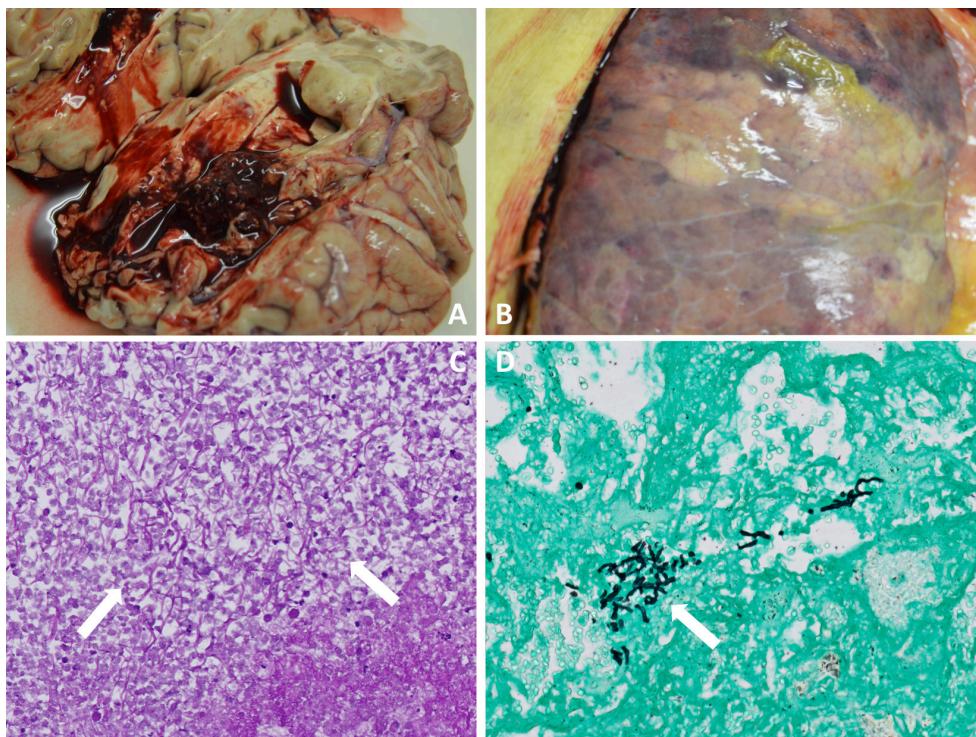


Figure 1

A: Necrotizing-hemorrhagic brain lesion (macroscopic view); B: Augmented consistency and hemorrhagic areas in the surface of the right lung (macroscopic view); C: Periodic acid-schiff staining demonstrating hyphae aggregates (arrows); D: Lung tissue with hyphae aggregates (Grocott's methenamine silver stain) (arrow).

production, which play a key role in *Aspergillus* infection control [5].

Disseminated aspergillosis usually originates in the lung but primary gastrointestinal aspergillosis has also been reported. The sequence of events in our patient led us to think that a primary gastrointestinal aspergillosis was a possibility but we could not rule out a primary pulmonary infection that subsequently spread to the jejunum, brain and so on. We cannot prove whether a pulmonary or a jejunal infection originated a disseminated aspergillosis in our patient but both options are plausible.

Although treatment with corticoids could explain the extension to other organs of a possible primary pulmonary or gastrointestinal aspergillosis in our patient, it is not clear why she initially developed this process. Proton pump inhibitor treatment might have inhibited gastric acid production and decreased the degradation of *Aspergillus* spores, but the invasion of the small intestine could only be explained by the presence of previous mucous lesions in the intestinal mucosa probably related to the *Helicobacter pylori* infection. Primary intestinal aspergillosis has been reported in the context of intestinal mucous barrier disruption specially by chemotherapy-related mucositis [1, 2]. Our patient had no risk factors to

develop a primary pulmonary aspergillosis but the respiratory tract can be colonized even in healthy individuals.

An interesting aspect is that the diagnosis could not be made until the brain biopsy was sent for a PCR analysis. The anatomopathological findings of aspergillosis could probably differ between immunosuppressed and non-immunosuppressed patients treated with corticosteroids. Some murine models have found differences between both processes in invasive pulmonary aspergillosis. Balloy et al found an exacerbated inflammatory response in mice treated with corticosteroids, leading to high levels of polymorphonuclear cell recruitment. These exacerbated inflammatory response led to large foci of pneumonia and exudative bronchiolitis with small number of *A. fumigatus*. In contrast, numerous hyphae of *A. fumigatus*, and few bronchiolitis and diffuse pneumonae were observed in chemotherapy-treated mice [6]. These authors also found low levels of galactomannan in corticoids-treated mice. Accordingly, our patient had a negative galactomannan determination.

Our patient developed an initial gut aspergillosis and a progressive disseminated and fatal infection. It can be deduced that the treatment with corticosteroids triggered the rapid progression of the infection. To our knowledge this is the first case of a so severe presentation in a non-immunosuppressed

patient being the corticosteroid treatment the only known risk factor that could possibly promote dissemination of the infection.

FUNDING

None to declare

CONFLICT OF INTERESTS

The authors declare no conflicts of interest.

REFERENCES

1. Eggimann P, Chevrolet J-C, Starobinski M, et al. Primary invasive aspergillosis of the digestive tract: report of two cases and review of the literature. *Infection* 2006; 34:333-8. doi: 10.1007/s15010-006-5660-0
2. Kontoyiannis DP, Mathur M, Chen Y-B, et al. Case records of the Massachusetts General Hospital. Case 13-2014. A 41-year-old man with fever and abdominal pain after stem-cell transplantation. *N Engl J Med.* 2014; 370:1637-46. doi: 10.1056/NEJMcp1305994
3. Patterson TF, Thompson GR, Denning DW, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of aspergillosis: 2016 update by the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis.* 2016; 63:e1-e60. doi: 10.1093/cid/ciw326
4. Meersseman W, Vandecasteele SJ, Wilmer A, et al. Invasive aspergillosis in critically ill patients without malignancy. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004; 170:621-625. doi: 10.1164/rccm.200401-093OC
5. Tramsen L, Schmidt S, Roeger F, et al. Immunosuppressive compounds exhibit particular effects on functional properties of human anti-Aspergillus T_H1 cells. *Infect Immun.* 2014; 82:2649-2656. doi: 10.1128/IAI.01700-14
6. Balloy V, Huerre M, Latgé J, et al. Differences in patterns of infection and inflammation for corticosteroid treatment and chemotherapy in experimental invasive pulmonary aspergillosis. *Infect Immun.* 2005; 73:494-503. doi: 10.1128/IAI.73.1.494-503.2005



Letter to the Editor

Judith Álvarez Otero
Ana Sanjurjo Rivo
José Luis Lamas Ferreiro
Javier de la Fuente Aguado

Dalbavancin treatment of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* pyomyositis with torpid evolution: a case report

Internal Medicine Povisa Hospital. Vigo, Spain.

Article history

Received: 17 December 2018; Revision Requested: 10 January 2019; Revision Received: 28 January 2019; Accepted: 30 January 2019

Sir,

Clinical guidelines for skin and soft tissue infections complicated by bacteraemia recommend treatment of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) infection with cloxacillin or cefazolin and drainage of abscesses, if required [1]. We present a case of bacteraemic multiple pyomyositis associated with subcutaneous abscesses and acromioclavicular arthritis refractory to treatment with optimal doses of cloxacillin and clindamycin, which was resolved after switching to dalbavancin.

A 57-year-old man with a history of type 2 diabetes mellitus with adequate glycemic control presented to the emergency department for pain in the left hip that had started 5 days previously, with subsequent onset of pain in the left forearm and right shoulder. He had neither fever nor shivering. On physical examination, his blood pressure was 131/70 mmHg, heart rate 100 bpm and temperature 37°C. He had fluctuating oedema in the right acromioclavicular joint and a swelling in the muscles of the right forearm. Laboratory tests showed leukocytes 25,570/mL, erythrocyte sedimentation rate 109 mm/h and C-reactive protein 36.9 mg/dL. Empirical antibiotic therapy was started with ceftriaxone (2 g every 24 hours), cloxacillin (2 g every 4 hours) and vancomycin (adjusted according to the weight of the patient). MSSA (minimum inhibitory concentration [MIC] ≤0.25 mg/L) was isolated in blood cultures, with a vancomycin MIC of 1 mg/L. Abdominal computed tomography revealed a left iliopsoas muscle abscess. Scintigraphy showed numerous subcutaneous abscesses in both thighs, the left forearm and right arm. Incision and drainage of the psoas abscess was performed, isolating *S. aureus* with the same susceptibility pattern as in the blood cultures. Transthoracic and

transesophageal echocardiography found no lesions suggestive of endocarditis.

Antibiotic therapy was modified according to antimicrobial susceptibility testing to cloxacillin (2 g every 4 hours) with rapid resolution of the bacteraemia, disappearance of fever and decrease in acute phase reactants. After two weeks the patient had a torpid evolution with reappearance of fever and leukocytosis. New muscle abscesses and enlargement of psoas and left thigh abscess were detected. Clindamycin was added according to antibiogram. Surgical drainage of abscesses was performed on many occasions (*S. aureus* with the same susceptibility pattern was isolated at all times) with emergence of new abscesses after drainage, despite intravenous antibiotics for 5 weeks.

Given his poor progress, dalbavancin (1,500 mg dose) was administered, after which he presented gradual clinical improvement. At a check-up in the clinic one month later, residual abscesses and increased acute phase reactants were observed, so he was given a final 1,500 mg dose of dalbavancin, with both clinical and radiological resolution of the infectious process.

The case presented exemplifies a problem in staphylococcal infections: despite adequate β-lactam antibiotic therapy and drainage of abscesses, the infection progressed slowly with emergence of new lesions, even after the addition of an antibiotic that inhibits protein synthesis and that has good skin and soft tissue diffusion, namely clindamycin. The switch to dalbavancin treatment brought about a marked clinical improvement, with resolution of the abscesses.

Dalbavancin is a lipoglycopeptide antibiotic, derived structurally from a teicoplanin-like natural glycopeptide produced by *Nomonuria* spp [2]. It is approved for the treatment of acute skin and soft tissue infections in adults caused by Gram-positive bacteria. Its mechanism of action is the same as that of vancomycin, but dalbavancin also has a lipophilic side chain that anchors it to lipid II in the bacterial cell membrane,

Correspondence:
Judith Álvarez Otero
C/Tarragona, 2, 4º A. CP: 36211. Vigo (Pontevedra). Spain.
Phone: +34630857786
Email: judithao@hotmail.com

strengthening its adherence to the D-alanyl-D-alanine target site and enhancing its activity. It has high plasma protein binding and a long half-life, which allows once-weekly dosing [3].

The susceptibility breakpoint defined by the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) is ≤ 0.125 mg/L for staphylococci [4]. A 2009 study that analysed the *in vitro* activity of dalbavancin against gram-positive microorganisms found MIC₉₀ values of 0.06 mg/L against 27,052 strains of MSSA and 19,721 strains of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), compared with a vancomycin MIC₉₀ of 1 mg/L [5]. Other subsequent studies that included both MSSA and MRSA strains found the same dalbavancin MIC₅₀ and MIC₉₀ values of 0.06 mg/L [6-7]. Dalbavancin also suppresses toxin production *in vitro*, which may help to control *S. aureus* infection [8].

Finally, dalbavancin has excellent penetration in synovial tissue and fluid, bone, skin [9] and blister fluid [10] which implies high local concentrations that could facilitate the control and eradication of the infection.

In summary, dalbavancin could be a very effective alternative in cases of skin and soft tissue infections caused by MSSA refractory to β -lactam treatment.

FUNDING

None to declare

CONFLICT OF INTERESTS

JAO has attended congresses supported by Angelini, ASR has attended congresses supported by Angelini, JLLF has attended congresses supported by Angelini, and JFA has not conflict of interest.

REFERENCES

1. Stevens DL, Bisno AL, Chambers HF, Dellinger EP, Goldstein EJ, Gorbach SL, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of skin and soft tissue infections: 2014 update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 2014;59:10-52. DOI: 10.1093/cid/ciu296.
2. Malabarba A, Goldstein BP. Origin, structure, and activity *in vitro* and *in vivo* of dalbavancin. J Antimicrob Chemother. 2005; 55 Suppl 2:15-20. DOI: 10.1093/jac/dki005.
3. Billeter M, Zervos MJ, Chen AY, Dalovisio JR, Kurukularatne C. Dalbavancin: a novel once-weekly lipoglycopeptide antibiotic. Clin Infect Dis. 2008;46:577-83. DOI: 10.1086/526772.
4. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.1 2018. Available: <http://www.eucast.org>.
5. Biedenbach DJ, Bell JM, Sader HS, Turnidge JD, Jones RN. Activities of dalbavancin against a worldwide collection of 81,673 gram-positive bacterial isolates. Antimicrob Agents Chemother. 2009;53:1260-3. DOI: 10.1128/AAC.01453-08.
6. Jones RN, Flamm RK, Sader HS. Surveillance of dalbavancin potency and spectrum in the United States (2012). Diagn Microbiol Infect Dis. 2013;76:122-3. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2013.01.003.
7. Mendes RE, Castanheira M, Farrell DJ, Flamm RK, Sader HS, Jones RN. Update on dalbavancin activity tested against gram-positive clinical isolates responsible for documented skin and skin-structure infections in US and European hospitals (2011-13). J Antimicrob Chemother. 2016;71:276-8. DOI: 10.1093/jac/dkv303.
8. Hobday SE, Katahira EJ, Dockstader P, Davidson SM, Bond L, Bolz DD, et al. Subinhibitory dalbavancin attenuates exotoxin production from methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* *in vitro*. Antimicrob Agents Chemother. 2017;61. DOI: 10.1128/AAC.01090-17.
9. Dunne MW, Puttagunta S, Sprenger CR, Rubino C, Van Wart S, Baldassarre J. Extended-duration dosing and distribution of dalbavancin into bone and articular tissue. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59:1849-55. DOI: 10.1128/AAC.04550-14.
10. Nicolau DP, Sun HK, Seltzer E, Buckwalter M, Dowell JA. Pharmacokinetics of dalbavancin in plasma and skin blister fluid. J Antimicrob Chemother. 2007;60:681-4. DOI: 10.1093/jac/dkm263.



Carta al Director

José María Goméz-Luque¹
Carla Foronda-García-Hidalgo²
José Gutiérrez-Fernández^{2,3}

Balanopostitis por *Facklamia hominis* en Pediatría

¹Unidad de Gestión Clínica de Pediatría y Neonatología, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada, Granada, España.

²Laboratorio de Microbiología, Hospital Virgen de las Nieves, Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada, Granada, España.

³Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Granada, Granada, España.

Article history

Received: 18 December 2018; Accepted: 11 March 2019

Sr. Editor: La utilización de procedimientos normalizados de trabajo en los laboratorios de microbiología clínica nos está permitiendo detectar infecciones del aparato genital por nuevos patógenos oportunistas [1-5]. Las infecciones producidas en el ser humano por especies del género *Facklamia* son escasas, con muy pocos casos descritos en la literatura. Sin embargo, la prevalencia de la infección puede estar subestimada debido al desafío que supone la detección e identificación de sus especies. El género se describió por primera vez en 1997 [6], desde entonces se ha identificado en fuentes animales y, con poca frecuencia, como patógeno humano. Hasta el momento se han descrito cuatro especies: *F. hominis*, *F. ignava*, *F. sourekii* y *F. tabaciasalis*. La bacteriemia se ha asociado con endocarditis [7] y gangrena necrotizante [8] y corioamnionitis [9]. Además, ha sido aislado en muestras vaginales, orina, líquido cefalorraquídeo, hueso, piel y vesícula biliar [10]. No obstante, aunque se ha relacionado con infecciones invasivas en humanos, los factores de virulencia de estos microorganismos no han sido totalmente determinados. En esta serie de casos, recogida en la literatura revisada, 19 de los 20 casos fueron mujeres. Por lo tanto, se ha especulado que el hábitat natural en los seres humanos se encuentra en el tracto genital femenino, no obstante, no hay casos descritos que asocien este microorganismo con infección genital ni urinaria en el ser humano. Presentamos el primer aislamiento de *F. hominis* en un paciente pediátrico con balanopostitis purulenta, atendido en el Servicio de Urgencias Pediátricas del Hospital Virgen de las Nieves de Granada.

Varón de 9 años de edad que acude a Urgencias de nuestro hospital por presentar inflamación peneana de 48 horas de evolución con empeoramiento en las últimas 24 horas. No disuria, fiebre u otra sintomatología acompañante al proceso

local descrito. Como antecedentes personales destacables, el paciente presenta fimosis y adherencias balanoprepuciales que fueron tratadas con corticoide tópico a los 2 años de edad sin éxito. No presentó otros antecedentes personales o familiares de interés con calendario vacunal completo hasta el momento. En la exploración física se aprecia inflamación y eritema a nivel de glande, prepucio y zona distal del cuerpo del pene sin afectación escrotal. El paciente presentaba dolor intenso a la palpación de la zona con abundante exudado purulento blanquecino-amarillento en ropa interior y meato uretral. Se recogió este para estudio microbiológico, se realizó lavado con suero salino fisiológico y aplicación de mupiroicina tópica en crema. El paciente fue dado de alta con el diagnóstico de balanopostitis inespecífica y se pautó tratamiento empírico con aplicación de mupiroicina tópica cada 8 horas y azitromicina oral a dosis de 10 mg/Kg/día durante 72 horas.

El estudio microbiológico del exudado balanoprepucial mostró negatividad de la PCR para *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma* spp. y *Ureaplasma* spp. En el cultivo crecieron en el medio de agar sangre/CO₂, a las 48 h de incubación, unas colonias muy pequeñas (<1 mm.) (figura 1) que correspondían a cocos grampositivos, agrupados en cadenas, con rasgos de los estreptococos, de crecimiento lento, no hemolíticas, y citocromo-oxidasa y catalasa negativa. Se identificaron las colonias mediante la espectrometría de masas, MALDI-TOF, de forma correcta como *F. hominis* (score 2,5). El antibiograma mostró las siguientes concentraciones mínimas inhibitorias (mg/L): resistente a azitromicina (>256) y sensible a cefotaxima (0,38), levofloxacino (1), linezolid (0,75), ampicilina (0,12) y vancomicina (0,19). A las 72 horas se citó al paciente para nueva valoración. Este mostró mejoría clínica, no obstante persistían signos de eritema y enrojecimiento de la zona, con desaparición de secreción purulenta y sin dolor asociado. Se inició tratamiento con amoxicilina-clavulánico vía oral, durante 5 días y control clínico a las 48 horas de finalización con resolución completa de las lesiones. Así mismo se reini-

Correspondencia:
José Gutiérrez-Fernández.
Laboratorio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves.
Avenida de las Fuerzas Armadas, 2. E-18012 Granada, España.
E-mail: josegf@go.ugr.es

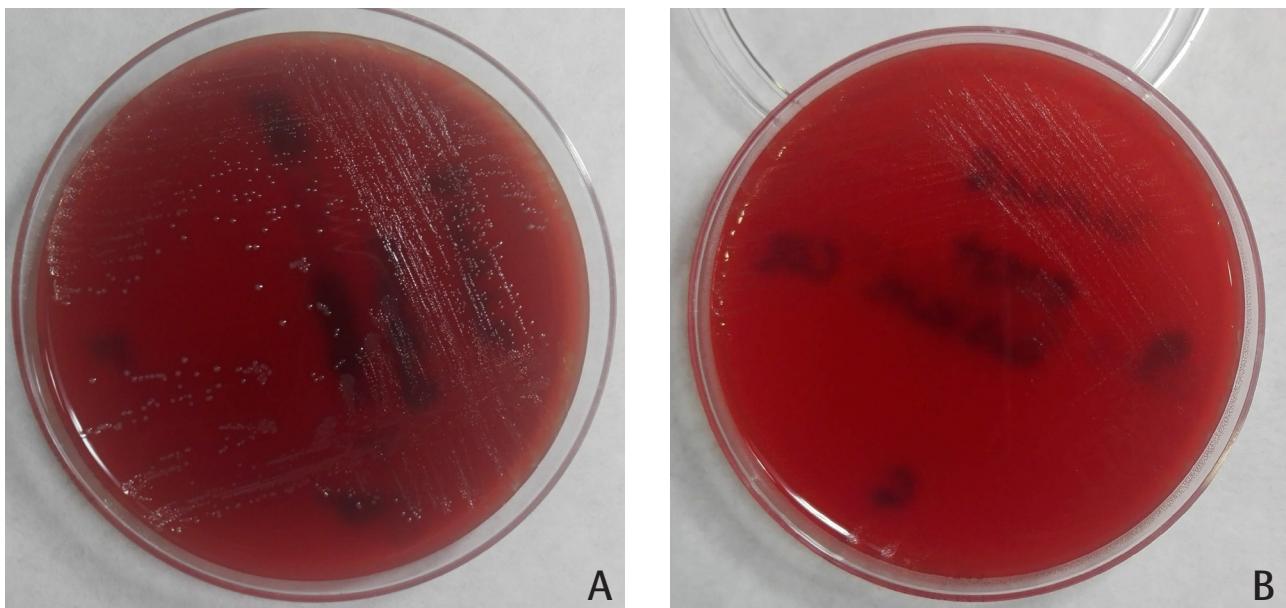


Figura 1 Crecimiento en agar sangre tras 48h de incubación en condiciones anaerobias (A) y aerobia con CO₂ (B).

ció tratamiento con corticoide tópico por la persistencia de adherencias balanoprepuciales.

Se trata del primer caso de balanopostitis secundario a *F. hominis*, descrito en edad pediátrica, con buena evolución tras tratamiento antibiótico oral, guiado por antibiograma. Queremos comunicar que el género *Facklamia* debe ser considerado como posible agente etiológico tratable de balanopostitis catalogadas como inespecíficas en edad pediátrica, como sucede con otros patógenos emergentes, como es el caso de *Actinotignum shaalii* [1] descritos en la literatura revisada. Conviene recordar que las susceptibilidades antibióticas de las especies de *Facklamia* son variables y que algunas cepas tienen patrones de resistencia que pueden presentar dificultades en el manejo de infecciones sistémicas y localizadas, como sucedió en nuestro caso. En nuestro paciente, el lavado con suero, aplicación de mupirocina tópica y tratamiento con azitromicina vía oral no consiguió una resolución completa del cuadro. Una vez optimizado el tratamiento vía oral con un antibiótico activo, se produjo resolución completa. No obstante, son necesarios más estudios para determinar el tratamiento apropiado, pronóstico y las posibles complicaciones de las balanopostitis producidas por esta bacteria.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El protocolo del estudio se llevó a cabo con arreglo a la Declaración de Helsinki. Este fue un estudio no intervencionista, con ninguna investigación adicional a los métodos rutinarios. El material biológico se utilizó sólo para el diagnóstico estándar de la infección genital, siguiendo las prescripciones de los mé-

dicos. No se realizó muestreo adicional ni alteración del protocolo de rutina. La entidad que concedió el permiso para acceder y utilizar los datos fue la «Unidad de Gestión Clínica de Microbiología Clínica del Hospital Universitario Virgen de las Nieves».

FINANCIACIÓN

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

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores no presentan ningún conflicto de intereses

BIBLIOGRAFÍA

1. Ruiz-García C, Muñoz-Hoyos A, Lara-Oya A, Navarro-Marí JM, Gutiérrez-Fernández J. Balanopostitis por *Actinotignum* en niños. Revisión bibliográfica y presentación de un caso. An Pediatr (Barc). 2018; 89:246-8. doi: 10.1016/j.anpedi.2017.12.005.
2. Hidalgo-Chicharro A, Abad-Torreblanca R, Navarro-Marí JM, Gutiérrez-Fernández J. 32-week premature rupture of membranes caused by oropharyngeal microbiota. JMM Case Rep. 2017; 4:e005121. doi: 10.1099/jmmcr.0.005121.
3. Gómez-Camarasa C, Fernández-Parra J, Navarro-Marí JM, Gutiérrez-Fernández J. Infección emergente por *Moraxella osloensis*. A propósito de la infección genital. Rev Esp Quimioter. 2018; 31:178-81. PMID: 29616515.
4. Carrillo-Ávila JA, Bonilla-García L, Navarro-Marí JM, Gutiérrez-

- Fernández J. The first reported case of pelvic inflammatory disease caused by *Actinobaculum massiliense*. Anaerobe. 2018; 55:93-5. doi: 10.1016/j.anaerobe.2018.11.006.
5. Mora-Palma JC, Rodríguez-Oliver AJ, Navarro-Marí JM, Gutiérrez-Fernández J. Emergent genital infection by *Leptotrichia trevisanii*. Infection. 2019; 47:111-4. doi: 10.1007/s15010-018-1175-8.
 6. Petti CA, Polage CR, Schreckenberger P. The role of 16S rRNA gene sequencing in identification of microorganisms misidentified by conventional methods. J Clin Microbiol. 2005; 43:6123-5. DOI: 10.1128/JCM.43.12.6123-6125.2005.
 7. Rahmati E, Martin V, Wong D, Sattler F, Petterson J, Ward P, et al. *Facklamia* species as an underrecognized pathogen. Open Forum Infect Dis. 2017; 4:ofw272. doi: 10.1093/ofid/ofw272.
 8. Pérez Alonso AJ, Husein-El Ahmed H, Del Olmo Rivas C, Caballero Marcos L, Pérez Ramón JA. *Facklamia sourekii* necrotizing gangrene. Med Mal Infect. 2012; 42:283-4. DOI: 10.1016/j.medmal.2012.04.012.
 9. Healy B, Beukenholt RW, Tuthill D, Ribeiro CD. *Facklamia hominis* causing chorioamnionitis and puerperal bacteraemia. J Infect. 2005; 50:353-5. DOI: 10.1016/j.jinf.2004.05.013.
 10. LaClaire L, Facklam R. Antimicrobial susceptibilities and clinical sources of *Facklamia* species. Antimicrob Agents Chemother. 2000; 44:2130-2. PMID: 10898686.



Carta al Director

Esther Redondo¹
Irene Rivero-Calle^{2,3}
Enrique Mascarós⁴
José Luis Díaz-Maroto⁵
Manuel Linares⁶
Ángel Gil⁷
Jesús Molina⁸
Isabel Jimeno⁹
Daniel Ocaña¹⁰
José Enrique Yuste¹¹
Federico Martín-Torres^{2,3}
y en nombre del grupo
de Neumoexpertos en
Prevención

El nuevo calendario vacunal oficial del adulto no contempla la prevención de la neumonía neumocócica

¹Grupo de Actividades Preventivas y Salud Pública SEMERGEN. Centro de Salud Internacional Ayuntamiento de Madrid, Madrid.

²Sección de Pediatría Clínica, Infectológica y Traslacional, Servicio de Pediatría, Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, La Coruña.

³Genética, Vacunas e Infecciones Pediátricas (GENVIP), Instituto de Investigación de Santiago, Santiago de Compostela, La Coruña.

⁴Departamento de Salud Dr. Peset, Centro de Atención Primaria Fuente de San Luis, Valencia.

⁵Centro de Atención Primaria de Guadalajara, Guadalajara.

⁶Grupo de Enfermedades Infecciosas de SEMERGEN, Fundación io, Madrid.

⁷Medicina Preventiva y Salud Pública, Universidad Rey Juan Carlos, Madrid.

⁸Centro de Atención Primaria Francia, Fuenlabrada, Madrid.

⁹Centro de salud Isla de Oza, Madrid.

¹⁰Centro de Atención Primaria Algeciras-Norte, Algeciras, Cádiz.

¹¹Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III y CIBER de Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Madrid.

Article history

Received: 20 December 2018; Revision Requested: 6 February 2019; Revision Received: 25 February 2019; Accepted: 14 March 2019

Sr. Editor: El pasado mes de septiembre de 2018, el grupo de trabajo de vacunación en población adulta y grupos de riesgo (GT-GR) del Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social publicó un documento que contiene las recomendaciones de vacunación en la población adulta sana y en inmigrantes [1]. El grupo de Neumoexpertos en Prevención (NEP) (www.neumoexpertos.org), quiere en primer lugar, felicitar la decisión del Ministerio de Sanidad por elaborar dicho documento y recomendar un calendario de vacunación para la población adulta, reforzando la importancia de las vacunas en el sistema sanitario, como medida preventiva y de salud pública para la población de todas las edades.

Sin embargo, uno de los aspectos más criticables del documento es en lo referente a la prevención de las infecciones por neumococo, cuya recomendación supone una discordancia respecto a las recomendaciones vigentes financiadas en muchas Comunidades Autónomas y a las consensuadas por la mayoría de las sociedades científicas de nuestro país [2,3]. En concreto, la propuesta omite las recomendaciones de vacunación frente a la neumonía neumocócica, la forma más frecuente de enfermedad neumocócica en el adulto [4], y tan sólo refleja las recomendaciones de vacunación del adulto frente a la enfermedad neumocócica invasora. Además de diferir con el documento de consenso sobre vacunación antineumocócica en el adulto firmado por 18 sociedades científicas y publicado en esta misma revista en el año 2017 [2], el documento publicado por el GT-GR del Ministerio de Sanidad deja fuera las nuevas estrategias de vacunación frente a la enfermedad neumocó-

cica que algunas Comunidades Autónomas están aplicando en los últimos años (tabla 1). Así, es importante destacar que la Comunidad de Madrid incluyó en el año 2016, la vacuna anti-neumocócica conjugada 13 valente (VNC13) de forma sistemática para la cohorte de 60 años, aunque desde enero de 2018, recomienda la vacuna VNC13 en adultos de 60 años o mayores sin vacunación previa y sin factores de riesgo, eliminando la necesidad de vacunar con la vacuna polisacárida 23-valente (VNP23) [3]. También recomienda la vacuna VNC13 para adultos de 18 años o mayores con patología crónica de base, mientras que en personas de cualquier edad que pertenezcan a grupos de alto riesgo, recomienda la pauta secuencial VNC13 + VNP23. Otras Comunidades Autónomas que incluyen la VNC13 en población adulta son Castilla y León y Melilla desde al año 2016 para la cohorte de 65 años y en 2017 La Rioja y Galicia incluyeron la vacuna VNC13 para esta misma cohorte. Melilla también incluye VNC13 para sujetos inmunocompetentes con patologías de riesgo tras valoración clínica. En 2017, Asturias incluye la vacuna VNC13 para todos los adultos de 18 años o mayores inmunocompetentes con patologías crónicas [3].

La neumonía adquirida en la comunidad (NAC) es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad global, especialmente en los mayores de 60 años, siendo neumococo el principal agente etiológico bacteriano de las mismas [5]. Sin embargo, el Ministerio no ha incluido recomendaciones específicas de vacunación frente a este tipo de infecciones en la población adulta [1]. En este sentido, el grupo de NEP acaba de publicar la actualización de sus recomendaciones de vacunación frente a la NAC del adulto [3]. Esta actualización se ha basado en las nuevas evidencias científicas publicadas desde 2016 así como en la opinión de diferentes expertos en el ámbito de la prevención y salud pública, y refuerza la importancia de la vacunación frente al neumococo y la gripe

Correspondencia:
Esther Redondo
Grupo de Actividades Preventivas y Salud Pública SEMERGEN. Centro de Salud Internacional Ayuntamiento de Madrid, Madrid.
Tfno.: 915185949
E-mail: redondome@madrid.es

Tabla 1**Comunidades Autónomas que han incluido en su calendario la vacuna antineumocócica conjugada 13 valente para la población adulta**

	2016	2017	2018
Madrid	VNC13 ± VNP23 cohorte 60 años [6]		VNC13 ≥60 años sin FR ni vacunación previa [12] VNC13 ≥18 años con patología crónica de base [12]
Castilla y León	VNC13 ± VNP23 cohorte 65 años [7]		VNC13 en personas sanas no vacunadas previamente, al cumplir los 65 años [13]
Melilla	VNC13 ± VNP23 cohorte 65 años [8] VNC13 en sujetos inmunocompetentes con otras patologías de riesgo [8]		
La Rioja		VNC13 ± VNP23 cohorte 65 años [9]	
Galicia		VNC13 ± VNP23 cohorte 65 años [10]	
Asturias		VNC13 ± VNP23 en ≥18 años con patologías crónicas [11]	

FR: factores de riesgo; VNC13: vacuna antineumocócica conjugada 13-valente; VNP23: vacuna antineumocócica polisacárida 23-valente. El número entre corchetes indica la referencia bibliográfica.

como medidas efectivas de prevención frente a la NAC del adulto [3].

Las recomendaciones de vacunación prioritarias frente a la NAC en función del análisis de las evidencias científicas disponibles por parte del grupo de NEP son:

- Personas ≥ 60 años: 1 dosis de vacuna antigripal anual + 1 dosis de vacuna antineumocócica conjugada 13 valente (VNC13)
- Adultos inmunocompetentes con factores de riesgo o comorbilidades: 1 dosis de vacuna antigripal anual + 1 dosis de VNC13
- Adultos con condiciones de inmunosupresión: 1 dosis de vacuna antigripal anual + 1 dosis VNC13 + 1 dosis de vacuna antineumocócica polisacárida 23-valente (VNP23).

Desde el grupo de NEP, insistimos en la necesidad de revisar las recomendaciones de prevención de NAC en el adulto mediante vacunación incluidas en el calendario oficial vigente. También, animamos a las Autoridades Sanitarias de las diferentes Comunidades Autónomas que ofrecen unas recomendaciones más actualizadas y amplias, acorde a las recomendaciones del consenso de las sociedades científicas y de nuestro grupo, para que no cedan en su esfuerzo por prevenir activamente mediante vacunación, una fracción tan importante de patología en el adulto como la NAC.

FINANCIACIÓN

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

CONFLICTO DE INTERESES

Neumoexpertos en prevención ha recibido fondos de Pfi-

zer a través del Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago para cobertura logística de reuniones de sus miembros.

ER ha recibido honorarios como consultor/asesor y/o ponente, así como becada para asistir a conferencias o cursos por GlaxoSmithKline, Sanofi Pasteur MSD, Merck, Sanofi Pasteur, Pfizer y Novartis.

IRC ha colaborado como ponente y/o asesor y/o ha sido becada para asistir a congresos o cursos y/o ha participado en el desarrollo de ensayos clínicos en vacunas de GlaxoSmithKline, Sanofi Pasteur MSD, Merck, Sanofi Pasteur, Pfizer, Novartis y MedImmune Inc.

EM ha colaborado como ponente y/o asesor y/o investigador en iniciativas y proyectos promovidos por Astra-Zeneca, Boehringer Ingelheim, Esteve, GSK, MSD, Menarini, Mundifarma, Novartis, Orion, Pfizer, Roche, Rovi, Takeda y TEVA.

JLDM ha colaborado como ponente y/o asesor en iniciativas y proyectos de Pfizer y Astra Zeneca, así como becado, para asistencia a congresos o cursos, por parte de Pfizer y Astra Zeneca.

AG ha colaborado como ponente y/o asesor y/o investigador en iniciativas y proyectos promovidos por Pfizer, GlaxoSmithKline, Janssen, MSD y Sanofi Pasteur.

JM ha colaborado como ponente y/o asesor y/o investigador en iniciativas y proyectos promovidos por Astra-Zeneca, Boehringer Ingelheim, Esteve, GSK, MSD, Menarini, Mundifarma, Novartis, Pfizer, Roche, Rovi, Sandoz, Takeda y TEVA.

IJ ha colaborado como ponente y/o asesor en iniciativas y proyectos promovidos por Pfizer, Sanofi Pasteur, así como becado para asistencia a cursos o congresos por parte de Menarini, Esteve.

DO ha colaborado como ponente y/o asesor y/o investi-

gador en iniciativas y proyectos promovidos por Astra-Zeneca, Boehringer Ingelheim, Esteve, GSK, MSD, Menarini, Mundifarma, Novartis, Pfizer, Roche, Rovi, Sandoz, Takeda y TEVA.

JEY ha colaborado como ponente y/o asesor y/o investigador en iniciativas y proyectos promovidos por Pfizer, GlaxoSmithKline, y MSD.

FMT ha recibido becas de investigación y/o honorarios como consultor/asesor y/o ponente así como investigador en el desarrollo de ensayos clínicos en vacunas de GlaxoSmithKline, Sanofi Pasteur MSD, Merck, Sanofi Pasteur, Pfizer, Novartis, Novavax, Regeneron, Seqirus y MedImmune Inc.

BIBLIOGRAFÍA

1. Grupo de trabajo vacunación de adultos de la Ponencia de Programa y Registro de Vacunaciones. Vacunación en población adulta. Recomendaciones. Comisión de Salud Pública del Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud. Ministerio de Sanidad y Consumo, 2018. Available from: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/docs/Vacunacion_poblacion_adulta.pdf
2. González-Romo F, Picazo JJ, García Rojas A, Labrador Horrillo M, Barrios V, Magro MC, et al. Consensus document on pneumococcal vaccination in adults at risk by age and underlying clinical conditions. 2017 Update. Rev Esp Quimioter. 2017; 30 (2):142-168. PMID: 28198169.
3. Redondo E, Rivero-Calle I, Vargas DA, Mascarós E, Díaz-Maroto JL, Linares M, et al. Adult community acquired pneumonia vaccination: 2018 Update of the positioning of the Pneumonia Prevention Expert Group. Semergen. 2018. PMID: 30318406.
4. Rivero-Calle I, Pardo-Seco J, Aldaz P, Vargas DA, Mascarós E, Redondo E, et al. Incidence and risk factor prevalence of community-acquired pneumonia in adults in primary care in Spain (NEUMO-ES-RISK project). BMC Infect Dis. 2016; 16 (1):645. PMID: 27821085.
5. Collaborators GBDLRI. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory infections in 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. Lancet Infect Dis 2018; 18: 1191–210. PMID: 30243584.
6. Calendario de vacunación para adultos. Comunidad de Madrid. 2016. Available from: <http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application%2Fpdf&blobheadername1=Content-disposition&blobheadername2=cadena&blobheadervalue1=filename%3DCalendario+de+Vacunaci%C3%B3n+Adultos+2016.pdf&blobheadervalue2=language%3Des%26site%3DPortalSalud&blobkey=id&blobtable=MongoBlobs&blobwhere=1352906106089&ssbinary=true>
7. Instrucción de 28 de octubre de 2016 de la Dirección General de Salud Pública sobre el programa de vacunación frente al neumococo de la Junta de Castilla y León Junta de Castilla y Leon. Consejería de Sanidad. Dirección General de Salud Pública. 2016. Available from: <https://www.saludcastillayleon.es/profesionales/es/vacunaciones/programa-vacunacion-frente-neumococo>
8. Acuerdo del consejo de Gobierno de fecha 28 de octubre de 2016, relativo a la aprobación del "Calendario de vacunación de adultos en la ciudad autónoma de Melilla, a implantar a partir del dia 1 de octubre de 2016 CONSEJERÍA DE PRESIDENCIA Y SALUD PÚBLICA de la Ciudad Autonómica de Melilla. 2016. Available from: http://www.melilla.es/melillaportal/RecursosWeb/DOCUMENTOS/10_16465_1.pdf
9. Actualización en vacunación frente al neumococo. Gobierno de la Rioja. 2017 Available from: https://www.riojasalud.es/f/rs/docs/INFORMACION_NEUMOC%C3%93CICA_65A%C3%91OS_MARZO_2017.pdf
10. Calendario de Vacunación de Adultos Xunta de Galicia2017. Available from: https://www.sergas.es/Saude-publica/Documents/4504/CALEND_VACUNACION_ADULTOS_CASTELLANO.pdf
11. Actualización en el Programa de Vacunaciones de Asturias para 2017 Gobierno del Principado de Asturias2017. Available from: https://www.asturias.es/Astursalud/Ficheros/AS_Salud%20Publica/As_Vigilancia/CIRCULARES/2017/Circular%20DGSP%202017_02_Actualizacion%20programa%20de%20vacunaciones%202017.pdf
12. Dirección General de Salud Pública. Comunidad de Madrid. Nota informativa sobre vacunación frente a Neumococo en adulto. Available from: <http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application%2Fpdf&blobheadername1=Content-disposition&blobheadername2=cadena&blobheadervalue1=filename%3DNota+informativa+Neumo13-enero18f.pdf&blobheadervalue2=language%3Des%26site%3DPortalSalud&blobkey=id&blobtable=MongoBlobs&blobwhere=1352946849880&ssbinary=true>
13. Orden SAN/1332/2018, de 30 de noviembre, por la que se aprueba el Calendario Oficial de Vacunaciones Sistemáticas a lo largo de la vida de las personas para la Comunidad de Castilla y León. Available from: <https://www.saludcastillayleon.es/institucion/es/recopilacion-normativa/salud-publica/epidemiologia/orden-san-1332-2018-30-noviembre-aprueba-calendario-oficial,30,15>



Carta al Director

Margarita Bolaños Rivero¹
María Aroca Ferri¹
Beatriz Ruiz Derlinchan²
Antonio Manuel Martín
Sánchez^{1,3}

Conjuntivitis por *Capnocytophaga ochracea* en un neonato de dos semanas

¹Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Insular de Gran Canaria.

²Centro de Salud Carrizal de Ingenio, Gran Canaria.

³Departamento de Ciencias Clínicas, Universidad de las Palmas de Gran Canaria.

Article history

Received: 15 January 2019; Revision Requested: 28 January 2019; Revision Received: 4 February 2019; Accepted: 22 February 2019

Sr. Editor:

La conjuntivitis neonatal engloba todas las conjuntivitis que se producen en las primeras cuatro semanas de vida. Puede ser producida por bacterias, virus y clamidias, o ser de origen tóxico. La identificación del agente etiológico es de suma importancia porque puede existir una infección sistémica potencialmente grave asociada con la afeción ocular [1]. Presentamos un caso en un neonato de dos semanas.

Varón que acude a revisión por la presencia de legañas en ambos ojos desde el nacimiento. Entre sus antecedentes personales destaca el parto por cesárea a las 40 semanas de gestación debido a la rotura prolongada de membranas, con un peso de 2.900 gramos y Apgar de 6/9. Su madre era portadora vaginal de *Streptococcus agalactiae*, por lo que recibió tres dosis de penicilina intraparto.

Debido a la existencia de secreción conjuntival sin hiperemia, se sospechó de obstrucción del conducto lagrimal y se le indicaron masajes con calor seco. A las 5 semanas de vida acudió de nuevo porque continuaba con secreción en ambos ojos, a pesar de los masajes, calor y limpieza con suero fisiológico. A la exploración presentaba abundantes secreciones amarillentas en ambos ojos, sin hiperemia conjuntival. Se solicitó cultivo del exudado conjuntival y se pautó tratamiento empírico con gentamicina oftálmica. La muestra se envió al Servicio de Microbiología donde se sembró en los medios habituales de cultivo y en un caldo de tioglicolato. A las 48 horas de incubación a 35°C con un 5% de CO₂, crecieron tanto en agar sangre como en agar chocolate unas colonias planas, oxidasa y catalasa negativas. La tinción de gram de las colonias se observan bacilos gramnegativos delgados que fueron identificados mediante espectrometría de masas (Bruker) como *Capnocytophaga*

ochracea. Las colonias no alcanzaron su máximo desarrollo hasta pasados 4 días, presentando un color amarillo-rosado y unas proyecciones digitales que rodeaban la parte central de la colonia debido a su movimiento deslizante característico. El antibiograma se realizó mediante Etest® (bioMérieux) siguiendo los puntos de corte definidos por EUCAST para *Haemophilus* sp. La cepa fue sensible a ampicilina, amoxicilina/ácido clavulánico, ciprofloxacino y tetraciclina, y resistente a cotrimoxazol. No existía punto de corte definido para gentamicina, y por ello no se testó. La cepa se envió al Instituto de Salud Carlos III (Majadahonda) para confirmar su identificación.

Pasado un mes acudió a consulta, donde la madre confirmó la desaparición de las secreciones tras el tratamiento con gentamicina. Solo refirió la presencia de algunas legañas por las mañanas, escasas y claras. Se recogió de nuevo exudado conjuntival para su cultivo, que resultó ser negativo.

Capnocytophaga pertenece a la familia *Flavobacteriaceae*. Actualmente, mediante estudios basados en la secuenciación del 16S rRNA se ha dividido el género *Capnocytophaga* en tres grupos: Uno que engloba las especies *C. ochracea*, *C. sputigena* y *C. haemolytica*, un segundo grupo con *C. gingivalis* y *C. granulosa* y un tercero con *C. canimorsus* y *C. cynodegmi* [2]. La temperatura óptima de crecimiento para estos microorganismos es de 35-37°C con un 5-10% de CO₂ (de ahí procede su nombre), aunque también pueden crecer en anaerobiosis. Para su aislamiento se deben emplear medios enriquecidos como agar sangre o agar chocolate, y también crecen en Thayer-Martin.

En cuanto a su morfología se presentan como bacilos gramnegativos fusiformes. También pueden observarse formas rectas o curvilíneas y en los cultivos viejos pueden tener un aspecto cocoide, siendo el polimorfismo un rasgo típico de estos microorganismos. Las especies humanas son oxidasa y catalasa negativas.

Las especies de la cavidad oral del hombre (*C. ochracea*, *C. sputigena* o *C. gingivalis*) actúan como patógenos oportunistas

Correspondencia:
María Aroca Ferri
Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Insular de Gran Canaria.
Avda. Marítima del Sur s/n
35016 Las Palmas de Gran Canaria.
Tfn.: +34 669463600
E-mail: marofer@gobiernodecanarias.org

en pacientes inmunodeprimidos produciendo bacteriemias. En los pacientes inmunocompetentes los cuadros clínicos atribuidos a estas especies son menos frecuentes y las formas clínicas tienen otras localizaciones como queratitis, conjuntivitis, úlceras corneales, empiemas, abscesos pericárdicos, mediastinitis, abscesos pulmonares, artritis sépticas, linfadenitis, sinusitis, osteomielitis, peritonitis y abscesos abdominales, infecciones de heridas, infecciones puerperales y neonatales, etc [3].

El empleo generalizado de la espectrometría de masas en los servicios de Microbiología, ha permitido la identificación correcta y precoz de esta bacteria, así como ha permitido que se pueda administrar el tratamiento adecuado en casos de infecciones graves [4].

Los diversos estudios publicados demuestran que estos microorganismos son sensibles a clindamicina, linezolid, tetraciclinas, cloranfenicol, imipenem y β -lactámicos asociados a inhibidores de β -lactamasas. Asimismo, son descritos como resistentes a polimixina, fosfomicina y trimetropim-sulfametozaol. Su actividad es variable a eritromicina, rifampicina, quinolonas, metronidazol, vancomicina, aminoglicósidos, aztreonam, penicilina y cefalosporinas [5].

Aunque no es una causa frecuente se han descrito otros casos de conjuntivitis por este microorganismo [6]. Por ello consideramos importante la recogida de muestras antes del inicio del tratamiento antibiótico y prolongar el tiempo de incubación de los cultivos, especialmente si son negativos.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Juan Antonio Sáez Nieto del Centro Nacional de Microbiología (ISCIII, Majadahonda, Madrid) donde se confirmó la identificación.

FINANCIACIÓN

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

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores señalan no tener ningún conflicto de interés.

BIBLIOGRAFÍA

1. Janda JM, Graves M. *Capnocytophaga*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Principios y Práctica de Enfermedades Infecciosas*, 7th ed, España: Elsevier; 2012, p.2994-2997.
2. Zbinden R. Aggregatibacter, *Capnocytophaga*, *Eikenella*, *Kingella*, *Pasteurella* and Other Fastidious or Rarely Encountered Gram-Negative Rods. In: Jorgensen JH, Pfaller MA, editors. *Manual of Clinical Microbiology*, 11th ed, Washington DC: ASM Press; 2015, p.652-666. Doi: 10.1128/9781555817381.ch35.
3. Dorronsoro I. Género *Capnocytophaga*. In: Control de Calidad SEMC, revisiones temáticas. [Online]. [Cited 2017 Abril 18]. Available from: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/capno.pdf>.
4. Mekouar H, Voortman G, Bernard P, Hutchings G, Boeras A, Rodriguez-Villalobos H. *Capnocytophaga* species and perinatal infections: case report and review of the literature. *Acta Clin Belg*. 2012; 67(1):42-5. PMID: 22480039. Doi: 10.2143/ACB.67.1.2062626.
5. Jolivet-Gougeon A, Sixou JL, Tamanai-Shaocori Z, Bonnaure-Mallet M. Antimicrobial treatment of *Capnocytophaga* infections. *Int J Antimicrob Agents*. 2007; 29(4):367-73. PMID: 17250994. Doi: 10.1016/j.ijantimicag.2006.10.005.
6. Mazón A, Salvo S, Aechu MT. Conjuntivitis por *Capnocytophaga ochracea* en una niña de dos años. *Enferm Infect Microbiol Clin*. 1995; 13:264. PMID: 7779886.



Carta al Director

Jorge Gutián Deltell¹
Sofía Rodríguez Calderón²
María Isabel Paz Vidal¹
Margarita de La Fuente Iglesias²

A propósito de dos casos de thelaziosis ocular humana

¹Servicio de Microbiología; Hospital Universitario de Ourense, Ourense; España.

²Servicio de Oftalmología; hospital Universitario de Ourense, Ourense; España.

Article history

Received: 16 January 2019; Revision Requested: 4 February 2019; Revision Received: 6 February 2019; Accepted: 18 February 2019

Sr Editor:

Se presentan dos casos de thelaziosis ocular humana. Ambos son pacientes varones de 65 y 66 años respectivamente, que presentan una clínica de varios días de evolución consistente en lagrimeo y sensación de cuerpo extraño, pese a haber iniciado tratamiento tópico durante unos días con antibiótico y antiinflamatorio. Ninguno de los casos presentaba datos epidemiológicos de interés. En la exploración se evidenció la presencia de hiperemia conjuntival y reacción tarsal, así como la presencia de varios ejemplares de nematodos en fondos de saco conjuntival (figura 1), que se extrajeron con pinzas y hemostatas previa aplicación de anestésico tópico.

Thelazia spp. es un nematodo de la familia *Spirurida* que habita en la cavidad ocular de varias especies de mamíferos (perros, gatos, zorros e incluso humanos), y que requiere de la participación de la mosca de la fruta para propagarse. Las larvas L1 son ingeridas por el hospedador intermedio cuando se alimentan de secreciones lacrimales (normalmente moscas, incluidas moscas *Drosophilas* de los géneros *Amiota* y moscas muscididas de los géneros *Musca* y *Fannia*, *Phortica variegata* es el vector principal en Europa). En el hospedador intermedio las larvas evolucionan a larvas L3 infectivas que migran hacia la proboscide de la mosca, donde permanecen hasta que esta se posa sobre el hospedador definitivo, donde en un periodo de 2-3 semanas llegan a ser adultos y comienzan la oviposición [1]. Su distribución es cosmopolita, la mayoría de los casos han sido registrados en Estados Unidos, China, Rusia, India Japón y Tailandia. Dos especies han sido implicadas en la infección humana, *Thelazia callipaeda* (gusano ocular oriental) y *Thelazia californiensis* (gusano ocular de California) [2].

En 2008 se informó el primer caso de thelaziosis humana

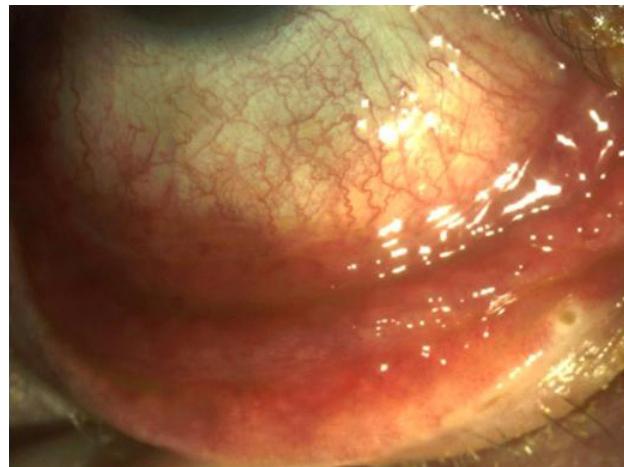


Figura 1

Hiperemia conjuntival y reacción folicular tarsal inferior

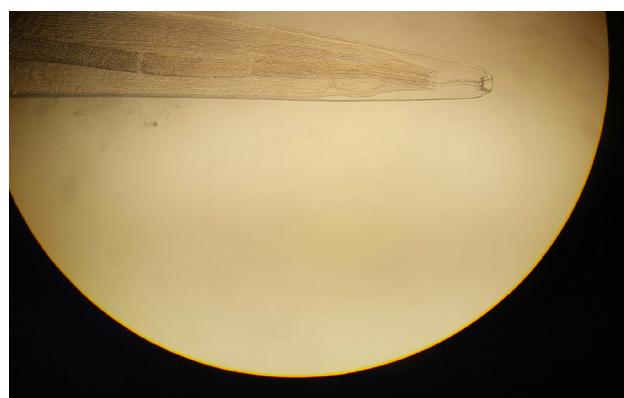


Figura 2

Porción anteriorcefálica con cápsula bucal

en Italia, y en 2011 apareció el primer caso en España, que había afectado a una niña en Cáceres [3].

Los síntomas que puede producir esta parasitosis son la grimeo, picor, sensación de cuerpo extraño, secreción acuosa y fotofobia. Los signos que pueden hallarse a la exploración clínica son hiperemia conjuntival, folículos y/o papilas en conjuntiva tarsal, queratitis o incluso úlceras corneales en infecciones severas. Pero el hallazgo clave en la exploración es la presencia de nematodos en los fondos de saco conjuntivales.

El diagnóstico de laboratorio se basa en la observación de los ejemplares adultos en el saco conjuntival y su identificación por sus características morfológicas.

Pueden alcanzar hasta 20 mm de longitud, son de color blanquecino y tienen una cutícula con estriación (figura 2) [3].

Por todo lo expuesto se debe tener en cuenta la thelaziosis humana en el diagnóstico diferencial de conjuntivitis, lagrimoocular, y úlceras corneales.

FINANCIACIÓN

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

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores señalan no tener ningún conflicto de interés.

BIBLIOGRAFÍA

1. CDC - DPDx - Thelaziasis (2019). [cited 5 February 2019]. Available from: <https://www.cdc.gov/dpdx/thelaziasis/index.html>
2. Otranto D, Lia R P, Buono V, Traversa D, Giangaspero A. Biology of *Thelazia callipaeda* (Spirurida, Thelaziidae) eyeworms in naturally infected definitive hosts. Parasitol. 2004;129(5): 627–633. doi:10.1017/S0031182004006018.
3. Fuentes I, Montes I, Saugar J M, Latrofa S, Gárate T, Otranto D. Thelaziosis in Humans, a Zoonotic Infection, Spain, 2011. Emerg Infect Dis. 2012;18(12):2073–2075. doi:10.3201/eid1812.120472.