



REVISTA ESPAÑOLA DE
Quimioterapia

SPANISH JOURNAL
OF CHEMOTHERAPY

ISSN: 0214-3429

Volumen 32

Número 6

Diciembre 2019

Páginas: 485-576



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
Vic+DreamStudio

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 6
Diciembre 2019

Revisión	Infección por HTLV-1: Una enfermedad emergente. Patogenia, epidemiología, diagnóstico y enfermedades asociadas	485
	Emiliana Eusebio-Ponce, Eduardo Anguita, Robert Paulino-Ramirez, Francisco Javier Candel	
	Tres claves para seleccionar el antibiótico oral adecuado en las infecciones respiratorias	497
	Rosario Menéndez, Rafael Cantón, Andrea García-Caballero, José Barberán	
Originales	Distribución del genotipo del VPH en mujeres con citología cervical normal y anormal en Turquía	516
	Tuba Muderris, İlhan Afsar, Askin Yıldız, Ceren Akpinar Varer	
	Seroprevalencia de anticuerpos contra el sarampión, las paperas, la rubéola y el virus de la varicela zoster entre estudiantes de enfermería: Análisis de coste-efectividad de la vacuna	525
	İlker Ödemiş, Şükran Köse, İlkay Akbulut, Hazal Albayrak	
	Dalbavancina para el tratamiento de infección periprotésica causada por microorganismos grampositivos. Propuesta para una estrategia con dosis bajas. Un estudio retrospectivo de cohortes	532
	Luis Buzón Martín, María Mora Fernández, Jose Manuel Perales Ruiz, María Ortega Lafont, Ledia Alvarez Paredes, Miguel Ángel Morán Rodríguez, María Fernández Regueras, María Ángeles Machín Morón, Gregoria Mejías Lobón	
	Telemedicina, centros penitenciarios y enfermedad por VIH	539
	Antonio Blanco Portillo, Gregorio Palacios García-Cervigón, Manuel Pérez Figueras, Gema Navarro Jiménez, Germán Jiménez Galán, María Velasco Arribas, Leonor Moreno Núñez, Rafael Hervás Gómez, Oriol Martín Segarral, Carlos Guijarro Herraiz, Rosa García Berriguete, Juan E Losa García	
	Prevalencia en varones de la población general de agentes productores de infecciones no ulcerativas del aparato genital, asistidos en atención especializada	545
	Carla Foronda-García-Hidalgo, Carmen Liébana-Martos, Blanca Gutiérrez-Soto, Manuela Expósito-Ruiz, José María Navarro-Marí, José Gutiérrez-Fernández	
Conferencia Clínica-Patológica	Remedando a Agatha Christie: ¿qué microorganismo es el culpable?	551
	Jose Tiago Silva, Carlos Mejía-Chew, Andrej Spec, José María Aguado, Francisco López-Medrano	
Cartas al Director	Primer caso descrito en España de infección por <i>Wohlfahrtiimonas chitiniclastica</i>	558
	Daniel Pablo-Marcos, María Siller-Ruiz, Marta Fernandez-Ayala, Jesús Agüero, Jorge Calvo	
	Desarrollo de una fórmula magistral de clofazimina para el tratamiento de tuberculosis extremadamente resistente en paciente lactante	561
	María Arrieta Loitegui, Carmen García Muñoz, Marta González Sevilla, Cristian Rosas Espinoza, José Miguel Ferrari Piquero	
	Bacteriemia por enterobacterias productoras de carbapenemasas: el papel de Microbiología en su detección rápida	564
	Laura Alonso Acero, Almudena Gutiérrez Arroyo, Juan Carlos Ramos Ramos, María Pilar Romero Gómez	

Sumario



Cartas al Director	Abscesos hepáticos múltiples en enfermedad de Crohn en terapia con infliximab tratados con éxito con antibioterapia exclusivamente	566
	Enrique Otheo, Ana De Blas, Jesús Fortún, Cristina Camarero	
	Eradicación de <i>Achromobacter</i> spp. multiresistente con colistina ótica en paciente con otitis media crónica supurada	569
	Abel Trujillano Ruiz, Josefina Giménez Castellanos, Joan Francesc Andreo Marroig, Javier Mesquida Riera, Violeta Cano Collado	
	Evaluación de la actividad investigadora en Microbiología: el papel de la Revista Española de Quimioterapia	571
	David Carabantes Alarcón, Luis Alou Cervera	



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 6
December 2019

Review	HTLV-1 infection: An emerging risk. Pathogenesis, epidemiology, diagnosis and associated diseases	485
	Emiliana Eusebio-Ponce, Eduardo Anguita, Robert Paulino-Ramirez, Francisco Javier Candel	
	Three keys to the appropriate choice of oral antibiotic treatment in the respiratory tract infections	497
	Rosario Menéndez, Rafael Cantón, Andrea García-Caballero, José Barberán	
Originals	HPV genotype distribution among women with normal and abnormal cervical cytology in Turkey	516
	Tuba Muderris, İlhan Afsar, Askin Yıldız, Ceren Akpınar Varer	
	Seroprevalence of measles, mumps, rubella, and varicella zoster virus antibodies among healthcare students: analysis of vaccine efficacy and cost-effectiveness	525
	İlker Ödemiş, Şükran Köse, İlkay Akbulut, Hazal Albayrak	
	Dalbavancin for treating prosthetic joint infections caused by Gram-positive bacteria: A proposal for a low dose strategy. A retrospective cohort study	532
	Luis Buzón Martín, María Mora Fernández, Jose Manuel Perales Ruiz, María Ortega Lafont, Ledicia Álvarez Paredes, Miguel Ángel Morán Rodríguez, María Fernández Regueras, María Ángeles Machín Morón, Gregoria Mejías Lobón	
	Telemedicine, prison and illness associated with HIV	539
	Antonio Blanco Portillo, Gregorio Palacios García-Cervigón, Manuel Pérez Figueras, Gema Navarro Jiménez, Germán Jiménez Galán, María Velasco Arribas, Leonor Moreno Núñez, Rafael Hervás Gómez, Oriol Martín Segarral, Carlos Guijarro Herraiz, Rosa García Berriguete, Juan E Losa García	
	Prevalence among males from the general population of agents responsible of not ulcerative genital tract infections, assisted in specialized care	545
	Carla Foronda-García-Hidalgo, Carmen Liébana-Martos, Blanca Gutiérrez-Soto, Manuela Expósito-Ruiz, José María Navarro-Marí, José Gutiérrez-Fernández	
Clinical-Pathologic Conference	And then there were none	551
	Jose Tiago Silva, Carlos Mejía-Chew, Andrej Spec, José María Aguado, Francisco López-Medrano	
Letters to the editor	First case of infection by <i>Wohlfahrtiimonas chitiniclastica</i> described in Spain	558
	Daniel Pablo-Marcos, María Siller-Ruiz, Marta Fernandez-Ayala, Jesús Agüero, Jorge Calvo	
	Clofazimine suspension formulation for treating extremely resistant tuberculosis in a nursing patient	561
	María Arrieta Loitegui, Carmen García Muñoz, Marta González Sevilla, Cristian Rosas Espinoza, José Miguel Ferrari Piquero	
	Carbapenem-producing <i>Enterobacteriaceae</i> bloodstream infection: Microbiology's role in their rapid detection	564
	Laura Alonso Acero, Almudena Gutiérrez Arroyo, Juan Carlos Ramos Ramos, María Pilar Romero Gómez	

Contents



Letters to the editor	Multiple liver abscesses in Crohn's disease in infliximab therapy, successfully treated with antibiotic therapy	566
	Enrique Otheo, Ana de Blas, Jesús Fortún, Cristina Camarero	
	Eradication of <i>Achromobacter</i> spp. multiresistente with colistin otic in patient with chronic otitis media suppurated	569
	Abel Trujillano Ruiz, Josefina Giménez Castellanos, Joan Francesc Andreo Marroig, Javier Mesquida Riera, Violeta Cano Collado	
	Evaluation of research activity in Microbiology: the role of the Spanish Journal of Chemotherapy	571
	David Carabantes Alarcón, Luis Alou Cervera	



Review

Emiliana Eusebio-Ponce^{1,2}
Eduardo Anguita^{2,3}
Robert Paulino-Ramirez¹
Francisco Javier Candel^{2,4}

HTLV-1 infection: An emerging risk. Pathogenesis, epidemiology, diagnosis and associated diseases

¹Instituto de Medicina Tropical & Salud Global, Universidad Iberoamericana (UNIBE), Los Ríos, Santo Domingo, Dominican Republic, 22333

²Department of Medicine, Universidad Complutense de Madrid (UCM). Madrid, Spain.

³Hematology Department. Instituto de Medicina de Laboratorio (IML), Instituto de Investigación Sanitaria San Carlos. (IdISSC). Hospital Clínico San Carlos. Madrid, Spain.

⁴Clinical Microbiology and Infectious Diseases Department. Transplant Coordination Unit. Instituto de Medicina de Laboratorio (IML), Instituto de Investigación Sanitaria San Carlos (IdISSC). Hospital Clínico San Carlos. Madrid, Spain.

Article history

Received: 12 October 2019; Accepted: 16 October 2019

ABSTRACT

The Human T-Lymphotropic Virus type 1 (HTLV-1) affects up to 10 million people worldwide. It is directly associated to one of the most aggressive T cell malignancies: Adult T Cell Leukemia-Lymphoma (ATLL) and a progressive neurological disorder, Tropical Spastic Paraparesis/ HTLV-1 Associated Myelopathy (TSP/HAM). Also, infected patients tend to have more severe forms of infectious diseases such as Strongyloidiasis and Tuberculosis. HTLV spreads through parenteral, sexual, and vertical (mother-to-child) routes. Effective viral transmission is produced mainly by cell to cell mechanism, unlike other retroviruses such as HIV, which usually spread infecting cells in a cell-free form. HTLV also has a peculiar distribution, with clusters of high endemicity in nearby areas of very low prevalence or absence of the virus. This could be explained by factors including a possible founder effect, the predominance of mother to child transmission and the cell-to-cell transmission mechanisms. More data on viral epidemiology are needed in order to develop strategies in endemic areas aimed at reducing viral dissemination. In this review, we critically analyze HTLV-1 pathogenesis, epidemiology, diagnosis, associated diseases, preventive strategies, and treatments, with emphasis to the emerging risk for Europe and particularly Spain, focusing on prevention methods to avoid viral transmission and associated diseases.

Keywords: HTLV-1, ATLL, HAM/TSP, Adult T Cell Leukemia Lymphoma, emerging risk, epidemiology, pathogenesis.

Infección por HTLV-1: Una enfermedad emergente. Patogenia, epidemiología, diagnóstico y enfermedades asociadas

RESUMEN

El Virus Linfotrópico Humano T tipo 1 (HTLV-1) afecta hasta a 10 millones de personas en todo el mundo. Está directamente asociado a una de las neoplasias malignas de células T más agresivas: Leucemia-Linfoma de células T del Adulto (LLTA) y a un trastorno neurológico progresivo: Paraparesia Espástica Tropical / Mielopatía Asociada a HTLV-1 (PET/MAH). Además, los pacientes infectados tienden a tener formas más graves de enfermedades infecciosas como la Estrongiloidiasis y Tuberculosis. El HTLV se propaga a través de las siguientes vías: parenteral, sexual y vertical. La transmisión viral efectiva se produce principalmente por el mecanismo de contacto directo de célula a célula, a diferencia de otros retrovirus como el VIH, que generalmente se propaga infectando a las células mediante partículas virales libres. El HTLV-1 tiene una distribución peculiar, con grupos de alta endemidad en áreas cercanas de muy baja prevalencia o ausencia del virus. Esto podría explicarse por factores que incluyen un posible efecto fundador, el predominio de la transmisión vertical (leche materna) y los mecanismos de transmisión por contacto célula a célula. Hoy en día se necesitan más datos epidemiológicos para desarrollar estrategias en áreas endémicas, destinadas a reducir la diseminación viral. En esta revisión, se analiza la patogénesis, la epidemiología, el diagnóstico, las enfermedades asociadas, las estrategias preventivas y los tratamientos del HTLV-1, con énfasis en el riesgo emergente para Europa y particularmente España, centrándonos en los métodos de prevención para evitar la transmisión viral y las enfermedades asociadas.

Palabras clave: HTLV-1, LLTA, MAH/ PET, Leucemia-Linfoma de células T del Adulto, riesgo emergente, epidemiología, patogénesis.

Correspondence:
Francisco Javier Candel
Clinical Microbiology and Infectious Diseases Department. Transplant Coordination Unit.
Instituto de Medicina de Laboratorio (IML), Instituto de Investigación Sanitaria San Carlos
(IdISSC). Hospital Clínico San Carlos. Madrid, Spain.
Avda Profesor Martín Lagos s/n, 28040 Madrid, Spain.
E-mail: f.j.candel@gmail.com

INTRODUCTION

HTLV-1 was the first retrovirus identified as an etiologic agent of human disease [1, 2]. This virus produces several malignancies including Adult T Cell Leukemia-Lymphoma (ATLL) and Tropical Spastic Paraparesis/ HTLV Associated Myelopathy (TSP/HAM) [3]. HTLV-1 spreads through parenteral, sexual, and vertical (mother-to-child) routes [4]. It shares similar routes of transmission with other viruses including HIV and HCV that are often associated in the same patients. There are four known types of HTLV: HTLV-1, HTLV-2, HTLV-3, and HTLV-4. HTLV-1 is the most pathogenic for humans while HTLV-2 usually produces mild neurological disease. Both are prevalent worldwide. HTLV-3 and HTLV-4 have been identified only in Central Africa and usually affect non-human hominids [4]. The striking geographical distribution of the virus through Japan, West Africa and Latin America-Caribbean regions is still an unresolved puzzle. This, together with the pathogenesis, epidemiology, diagnosis, associated diseases, preventive strategies and treatments will be critically analyzed in this review, highlighting the emerging risk for Europe, exemplified with the case of Spain, and the prevention strategies to avoid it.

HTLV-1 PATHOGENESIS

Viral structure and replication. HTLV-1 is a complex human retrovirus that belongs to *Deltaretrovirus* genus. Complex retroviruses, including lentiviruses such as HIV, have several proteins that require more complex transcriptional processing than the simple retroviruses [4]. This virus genome is com-

posed by the retroviral genes *gag*, *pro*, *pol* and *env*, which encode some viral structural proteins [4]. The *gag* gene encodes the Matrix (MA), Capsid (CA) and Nucleocapsid (NC) proteins. The *pro* gene encodes a viral protease that is responsible of facilitating the maturation of viral particles. The *pol* gene encodes Reverse Transcriptase (RT), RNaseH (RH) and Integrase (IN). *Env* gene encodes gp46 Surface Unit (SU) and gp21 Transmembrane Unit (TM). Additionally, it has the pX region, that contains the genes of six viral accessory proteins: Tax, Rex, p12^I, p13^{II}/p8, p30^{II} and Basic Zipper Factor (HBZ) protein [4].

HTLV-1 has two sense proviral genomic strands: a positive sense strand that encodes most of structural proteins, and a negative or antisense strand that encodes HBZ [4]. HTLV-1 frames contain two flanking long terminal repeat (LTR) sequences with three components: a unique 3' (U3) region, a repeated (R) region, and a unique 5' (U5) region (figure 1) [4]. HTLV-1 has mainly tropism for CD4+ cells, but can also infect CD8+ cells, B lymphocytes, dendritic cells, monocytes and endothelial cells [4]. HTLV-1 has the ability of attachment and fusion to the target cells. The attachment begins when surface subunit (SU) of the HTLV-1 envelope glycoprotein (Env) interacts with three cellular surface receptors: Glucose Transporter (GLUT1), Heparin Sulfate Proteoglycan (HSPG) and the VEGF-165 receptor Neuropilin-1 (NRP-1) [5]. These receptors are widely distributed on target cells [5].

Following attachment and fusion of the virus to the target cell, the viral RNA is delivered into the cytoplasm and is converted into double stranded DNA (dsDNA) through reverse transcription [5]. Then dsDNA is integrated into the host nuclear genome [5]. This provirus is transcribed by cellular RNA

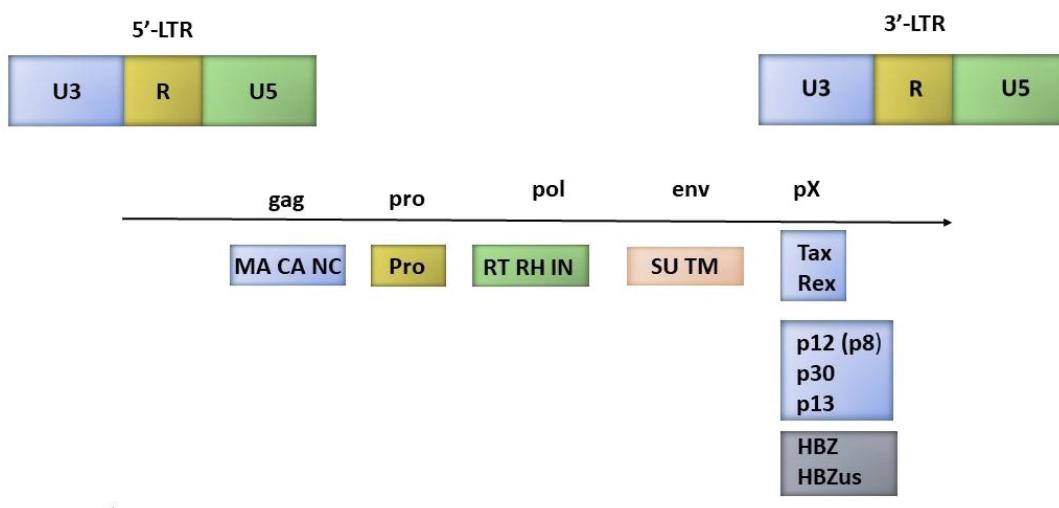


Figure 1

HTLV-1 Genome scheme: Long Terminal Repeat components: Unique 3' region (U3), Repeated region (R) and Unique 5' region (U5). Two viral sense and antisense strands. Sense strand: *gag* gene encodes Matrix (MA), Capsid (CA) and Nucleocapsid (NC) proteins, *pro* gene encodes Pro protein, *pol* gene encodes Reverse Transcriptase (RT), RNaseH (RH) and Integrase (IN), *env* gene encodes gp46 Surface Unit (SU) and gp21 Transmembrane Unit (TM). Additionally, the pX region, contains the genes of six viral accessory proteins: Tax, Rex, p12, p13/p8, p30 and Basic Zipper Factor (HBZ) protein spliced and unspliced in the antisense strand. Modified from Hoshino H et al. Front Microbiol 2012 [4].

polymerase II [5]. Subsequent posttranscriptional regulation process is essential for splicing and transport of HTLV-1 mRNA. Then, the viral mRNA is exported from the nucleus to the cytoplasm [5]. Viral proteins are translated and transported to the plasma membrane with two copies of genome RNA that at the virus budding site of the plasma membrane form a virus particle. These budding particles are released from the cell surface, undergoing a maturation process by the action of viral proteases (figure 2) [5].

Viral transmission. HTLV-1 transmission occurs mostly through cell-to-cell contact, unlike other retroviruses, which also spread infecting cells in a cell-free form [6]. Few studies have compared cell free infection with cell-to-cell virus transfer. However, all of them suggest that cell free infection is less efficient [7, 8]. Cell-free virus transmission is often inefficient because specific cell barriers prevent the effective spread. In contrast, viral spread by direct cell-to-cell contact is less affected by these barriers [9]. Consistently, HTLV-1 free virions are poorly infectious for most cell types and are hardly detected in the blood plasma [10]. Thus, effective transmission of virions needs living infected cells. The virus is transmitted through three routes: vertical (mostly through breast-feeding), sexual intercourse, and parenteral route [11]. These will be extensively discussed in a following section. All routes require transferring living infected cells to augment viral transmission by increasing the number of infected cells. To achieve this pur-

pose, infected cells need to evade immune surveillance and promote cellular proliferation in the host [11].

Viral entry. Viral entry by the parenteral route occurs directly through an infected cell or a free virion. Nonetheless, efficient transmission through this route needs cell to cell virus transfer. In the case of transmission by breastfeeding and sexual intercourse, initial infection requires crossing the mucosal barrier and then infection of mucosal immune cells directly or via Antigen Presenting Cells (APCs) [11]. The virus could cross the mucosal barrier through various mechanisms [11] (figure 3):

1. Transmigration of HTLV-1 infected macrophages: infected macrophages transmigrate through the epithelium during breastfeeding and sexual intercourse.
2. Transcytosis of viral particles: In this process a virion is incorporated into a vesicle and is transferred from the apical to the basal surface of an epithelial cell.
3. Release of newly produced virions from the basal surface of an infected epithelial cell: HTLV-1 infects an epithelial cell and produces new virions that are then released through the basal surface.
4. Bypass of HTLV-1 infected cells through a damaged mucosa: Infected cells can entry in places where mucosa integrity is damaged.

Viral dissemination. After primary infection, HTLV-1 rep-

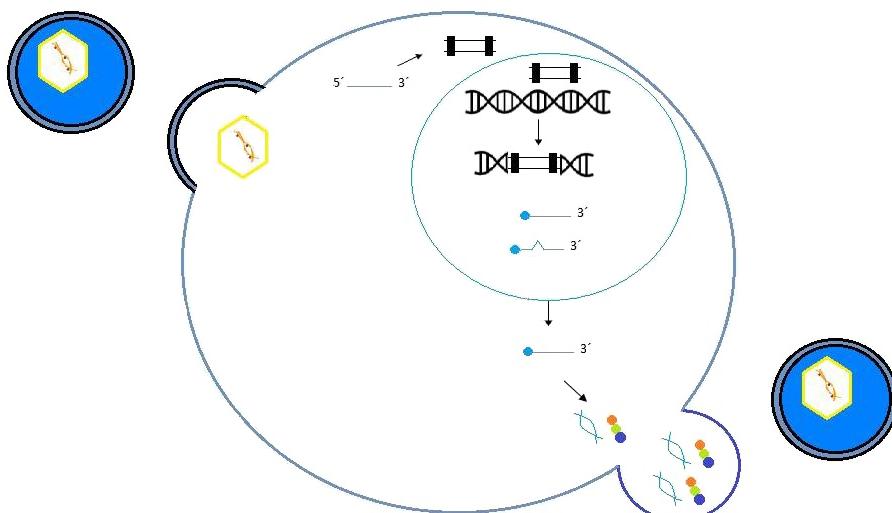


Figure 2

HTLV-1 life cycle: HTLV-1 virion interacts with the target cell surface receptors GLUT1/ HSPG/NRP-1 via the HTLV-1 envelope surface and transmembrane domains of the envelope (Env) protein, then the virion attaches and fuses to the target cell. The viral genomic RNA (gRNA) is delivered into the cytoplasm, undergoes reverse transcription to convert gRNA into double stranded DNA (dsDNA), which is transported to the nucleus and integrated into the host genome. The provirus is transcribed by cellular RNA polymerase II and undergoes post-transcriptional modification (RNA splicing). Spliced and unspliced RNA molecules are exported from the nucleus to the cytoplasm. Viral proteins are translated and transported to the plasma membrane with two copies of gRNA. Viral proteins and gRNA in the budding site form an immature virus particle. Finally, the immature virus particles are released and experiment a maturation process. Modified from Martin J et al. Viruses 2016 [5].

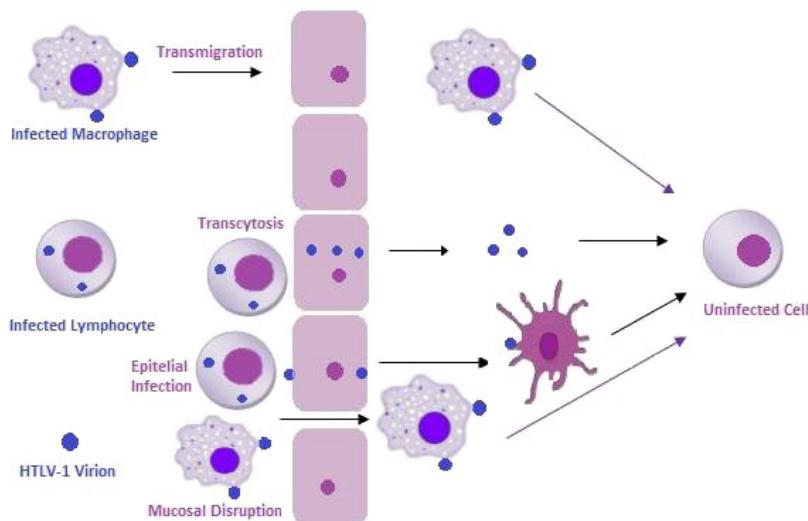


Figure 3 Scheme of possible mechanisms for viral entry: Transmigration of HTLV-1 infected macrophages, transcytosis of viral particles, release of newly produced virions from the basal surface of infected epithelial cells and bypass of HTLV-1 infected cells through a damaged mucosa. Modified from Carpentier A et al. *Viruses* 2015 [11].

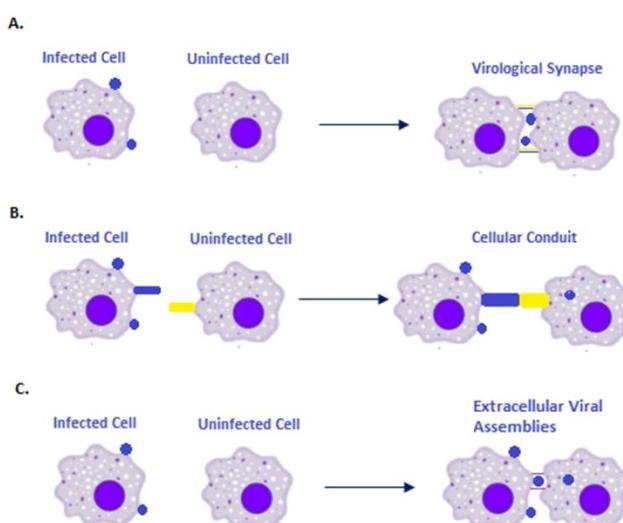


Figure 4 Cell-to-cell transmission of HTLV-1. Scheme of possible mechanisms: A. Virological synapse: An infected cell contacts an uninfected one by interaction between their proteins. B. Cellular conduit: Membrane extensions of an infected or uninfected cell that form cell interactions C. Extracellular viral assemblies: Extracellular viral assemblies adhere to contacting uninfected cells producing HTLV-1 transmission. Modified from Pique C et al. *Front Microbiol* 2012 [6].

licates by cell to cell transmission and clonal expansion [13]. Cell to cell transmission of virions involves different mechanisms: virological synapse, cellular conduits, and extracellular viral assemblies (figure 4) [12]. The Virological Synapse (VS) is the site of cell to cell contact that promotes viral transmission. It occurs between infected cells and target cells and increases the efficiency of transmission; limiting at the same time the expo-

sure of the virus to the host defense mechanisms [12]. The VS is produced when HTLV-1 infected cell contacts an uninfected cell, by protein interaction between both cells. After this process, the Microtubule Organizing Center (MTOC) is reoriented towards the VS. Then, viral budding is polarized to the VS and newly formed viruses enter the synaptic cleft and interact with cellular receptors. Finally, budded viruses enter the target cell [12].

Another mechanism of cell to cell transmission is by cellular conduits. Conduits are membrane extensions of an infected or uninfected cell. They form interactions among them or with another cell [13, 14]. Cell to cell transmission can also be produced by extracellular viral assemblies when HTLV-1 virions remain attached to the infected cell surface within a matrix formed by virally induced extracellular components. These viral assemblies can be transferred during cell contacts to uninfected cells producing HTLV-1 transmission [14]. Also, HTLV-1 infection is mediated by cell free virions, through interaction of dendritic cells (DCs) with target cells. DCs can store the virus in the surface and transfer the virus to uninfected cells prior to become infected [15].

Viral persistence. HTLV-1 can endure in the organism by two mechanisms in different stages of the infection. The first stage is the acute infection, when cell-to-cell transmission is produced, and the second one, the chronic stage, when virus persists by clonal expansion [16, 17]. In the chronic stage, peripheral blood of HTLV-1 infected individuals contain clones of large number of infected cells with the same integration site [17-20], suggesting that they came from a single infected cell. Furthermore, studies have demonstrated that specific clones can persist over years in an infected individual, suggesting that rather than disseminate from cell to cell, the virus persists in the organism in the long term by mitotic replication of infected cells [21-23].

HTLV-1 HUMAN ROUTES OF TRANSMISSION

As previously said, HTLV-1 can be transmitted through three routes: mother to child transmission, sexual contact, and through HTLV-1 infected blood or cellular blood products.

Mother-to-child transmission. Mother-to-child transmission can be produced through the placenta, perinatally or by breastfeeding [24]. Nonetheless, evidence suggests that transplacental and perinatal transmissions are uncommon [25, 26]. Therefore, most cases of mother to child transmission are produced by ingestion of breast milk. Cell free virions are not usually detected in breast milk, thus transmission by infected cells is much more plausible. In fact, different types of cells that are found breast milk such as lymphocytes, macrophages and epithelial cells of mammary glands can be susceptible to HTLV-1 infection [27-31]. The anatomical site of viral entry is not completely known, but palatine tonsils and gut could be possible options, since their enrichment in potential target cells such as lymphocytes [31]. The mechanism of HTLV-1 crossing through the epithelium is not fully understood. Human enterocytic cells could be susceptible to HTLV-1 infection or via trancytosis mechanism for HTLV-1 virions crossing epithelial barrier and infecting dendritic cells [31].

Sexual transmission. Many questions are still unanswered about sexual transmission of HTLV-1. Few studies are done about the most frequently affected gender. The initial

studies suggested that female to male transmission of HTLV-1 was much more frequent than male to female transmission, but later studies have shown that this difference is not as significant as previously thought and male to female transmission could play a more important role [32]. Sexual transmission require entry through a mucosal barrier, the virus could be transmitted through damaged or infected mucosa, or transcytosis across epithelial cells. Consequently, male to female transmission is more efficient in cases of men with history of penile sores or ulcers [32]. However, the semen also contains several cells that could be infected by HTLV-1, such as CD4+ T-cells, macrophages and dendritic cells that can have a role in the sexual transmission [32]. Regarding female to male transmission, in women infected by HTLV-1, infected cells have been frequently detected in cervical inflammatory secretions and cervix carcinoma [33]. In summary, there are very few studies in this field and many questions about mechanisms of sexual transmission of HTLV-1 are still unanswered. Some of the data obtained studying other retroviruses have been extrapolated to HTLV-1. However, not all this information can be faithfully extrapolated to HTLV and therefore, further investigations are needed to achieve more accurate data.

Blood transmission. Blood transmission can occur by transfusion of whole blood or cellular blood products and in the context of needle sharing among intravenous drug users. In the case of blood transmission, passing across a mucosal barrier is not needed, and infected cells can transmit the virus directly by cell to cell transmission or by cell free transmission to dendritic cells. As we saw previously with other routes of transmission, cell to cell transmission is also the most effective way to transmit the virus by blood. A study that compared viral transmission following transfusion of plasma from individuals with different human retroviruses showed that seroconversion occurred in 89% of the individuals who received plasma from HIV-1 infected individuals, but in none of those who received plasma from HTLV-1 or HTLV-2 infected individuals [34]. Of interest is the relationship of transmission with inflammation and malignancy. Several studies suggest that individuals who acquire HTLV-1 by blood are more prone to develop inflammatory disorders, while individuals who acquire the virus during breastfeeding are more likely to develop T cell malignancies [35, 36]. In addition to some factors that can modify this likelihood, such as age of infection, amount of virus and immune response, this implies that the mechanism of infection could affect to different cell populations and it could be a determinant to develop an inflammatory disease or cancer [36].

EPIDEMIOLOGY. HTLV-1 WORLDWIDE DISTRIBUTION

Soon after HTLV-1 was discovered and associated with ATLL, researchers from Japan and America began several studies about distribution and origin of HTLV-1. At early 1980's was evidenced that Japan was a high endemic area for HTLV-1. However, it was shown that Japan has an uneven distribution

of HTLV-1 carriers, with the greatest prevalence in Southwestern Japan. The cause of this peculiar distribution is still under discussion [37]. Further studies in America and the African continent demonstrated that the Caribbean and many African countries are also HTLV-1 endemics areas [37].

Nowadays, the Southwestern part of Japan, sub-Saharan Africa and South America, the Caribbean area, Australo-Melanesia and foci in Middle East are considered endemic regions of HTLV-1 [37]. Nonetheless, according Gessain and Cassar [37], the world distribution, global and loco-regional estimation of the HTLV-1 prevalence remain yet poorly known because of many factors. On one hand, several regions have not been investigated for HTLV-1 infection, on the other one, the assays used for HTLV-1 serology had some lack of specificity in 1980s-1990s leading to an overestimation of HTLV-1 prevalence. Furthermore, most of the studies were performed in series of blood donors, pregnant women or hospitalized patients. An important point that these authors emphasize is the heterogeneous HTLV-1 distribution. HTLV-1 is present usually in small foci or clusters with high prevalence of infection, nearby areas of low prevalence, as was exemplified in Japan. The cause of this peculiar distribution is not well understood. Gessain and Cassar suggest that it could be due to a founder effect in some groups, followed by the persistence of a high viral transmission rate [37].

HTLV-1 ASSOCIATED DISEASES

HTLV-1 is the causative agent of two clearly related entities: Leukemia-Adult T Cell Lymphoma (ATLL) and Tropical Spastic Paraparesis (TSP). Other inflammatory diseases such as uveitis and dermatitis [38, 39], and infectious diseases such as Strongyloidiasis and Tuberculosis have also been associated [40, 41].

Adult T cell Leukemia-Lymphoma (ATLL). ATLL is a highly aggressive T cell malignancy that affects CD4 + T cells infected by HTLV-1. It has four clinical subtypes: smoldering, chronic, acute, and lymphoma subtypes [42]. This classification is based on diagnostic criteria such as lymphadenopathy, splenomegaly, hepatomegaly, hypercalcemia, organ infiltration and skin involvement. Depending on ATLL subtype, the patients can present numerous signs and symptoms, such as fever, cough, jaundice, ascites, pleural effusion and opportunistic infections [42]. The exact mechanism of ATLL pathogenesis is not fully elucidated, although it is considered a multistep carcinogenesis process in which HTLV-1 infection represent the first step. Several events contribute to the transformation of HTLV-1 infected T cells [43]. ATLL arises as a result of a clonal proliferation of HTLV-1 infected cells, with a progressive malignant transformation. Viral regulatory proteins of HTLV-1, Tax, Rex and HTLV-1 Basic Zipper Protein (HBZ) play important roles in the oncogenic process of ATLL, promoting viral persistence, growth stimulation, and tumor development [43]. Philip S et al performed studies on cultures of HTLV-1 infected HeLa cells. They revealed that a high level of Tax/Rex expression in

infected cells overrides HBZ to promote viral replication and cellular senescence. Approximately 98% of HeLa cells infected by HTLV-1 in culture become senescent. However, when the levels of Tax/Rex are low, NF-κB activation and senescence are inhibited by HBZ. Some infected cells undergo mitotic expansion, remaining in latency in asymptomatic carriers. But, other cells, presumably premalignant, continue to evolve, propelled by the acquisition of genetic abnormalities, eventually giving rise to ATLL (figure 5) [43].

Further studies are needed about the process that leads to clonal expansion and progression to malignancy as well as genetic and epigenetic abnormalities that lead to ATLL. ATLL treatment is based on chemotherapy, consisting on CHOP (Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine and Prednisone) or CHOP-like treatments. Also Zidovudine and IFN- α are considered and Allogeneic Stem Cell Transplantation following chemotherapy is used in some cases [44].

Tropical Spastic Paraparesis (TSP)/ HTLV-1 Associated Myopathy (HAM). HTLV-1 produces a central nervous system inflammatory disease known as Tropical Spastic Paraparesis/HTLV-1 Associated Myopathy (TSP/HAM) [45]. TSP/HAM patients can present neurological signs and symptoms such as weakness of the lower limbs, lower back pain, and bowel and bladder dysfunction, as a result of spinal cord lesions and myelin loss. Further studies have reported an accumulation of HTLV-1-specific T lymphocytes within cerebrospinal fluid [45]. These cells can kill HTLV-1 infected cells, but at the same time they release inflammatory cytokines such as IFN- γ that may damage glial cells and neurons [46]. Treatment is focused in treating clinical symptoms with anti-inflammatory therapy. Corticosteroids; IFN- α and IFN- β currently represent treatments with limited results. Consequently, more studies are needed in this field [47].

Other HTLV-1 associated diseases. Besides ATLL and TSP/HAM, HTLV-1 infection is associated with inflammatory diseases such as uveitis, conjunctivitis, Sicca syndrome, interstitial keratitis, infective dermatitis, arthritis, myositis, Sjögren's syndrome, Hashimoto's thyroiditis, Graves' disease and polyneuropathies. It is also associated with other infectious diseases such as tuberculosis and strongyloidiasis [48]. Associated opportunistic infections, such as tuberculosis are often developed in ATLL patients, due to their immunocompromised state and associated treatment [48]. Disseminated infection by *Strongyloides stercoralis* in the context of HTLV-1 infection is probably due to decreased secretions of IgE, IL-4, IL-5 and IL-13, which potentiate anti-helminthic response [49]. Thus, HTLV-1 infection is considered a risk factor for *S. stercoralis* dissemination. This parasite infection has been related to HTLV-1 clonal expansion in asymptomatic individuals [49]. Also, HTLV-1 infected individuals with infective dermatitis have an increase of HTLV-1 positive clones. Hence, it could be appropriate to treat *S. stercoralis* and infective dermatitis in HTLV-1-infected individuals, to reduce the risk of clonal expansion [49].

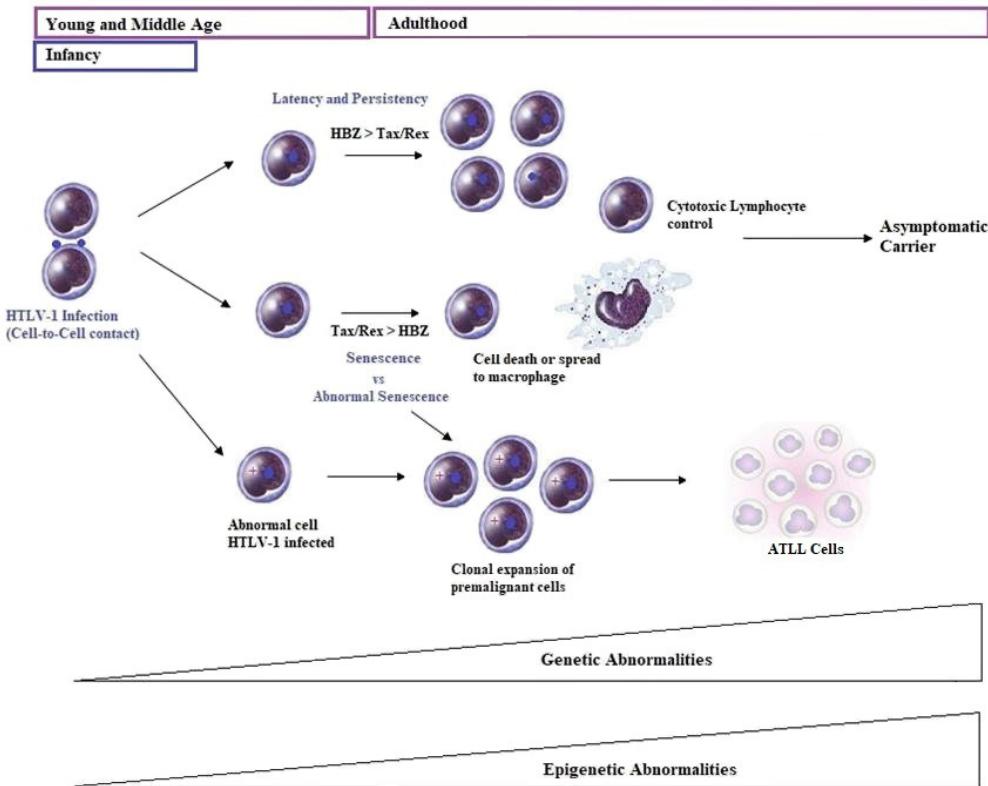


Figure 5

Schematic depiction of HTLV-1 infection (Cell-to-Cell contact) and viral persistence. Infected cells can become latent or drive senescence, depending on HBZ and Tax/Rex expression. When the levels of Tax/Rex are low, NF- κ B activation and senescence are inhibited by HBZ and some infected cells undergo mitotic expansion, remaining in latency in asymptomatic carriers. High level of Tax/Rex expression in infected cells overrides HBZ to promote viral replication and cells became senescent, finally dying or being phagocytized. Altered process lead to clonal expansion and progression to malignancy, favored by genetic and epigenetic abnormalities. Based on HeLa cells studies Philip S et al [43].

MICROBIOLOGICAL DIAGNOSIS

The diagnostic methods to study HTLV-1 infection include an initial screening test, such as Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay (ELISA) or Particle Agglutination (PA), and a second confirmatory test: Western Blot (WB) or Innogenetics line immunoassay (INNO-LIA). The qualitative and/or quantitative Polymerase Chain Reaction (PCR) could also be used [50]. Repeatedly reactive samples by screening assays must be checked for the presence of specific antibodies for HTLV 1/2 by confirmatory analysis. Western blot (Wb) is the reference test for confirmation of infection, defining a positive or negative result for antibodies against HTLV-1 [50].

Antibody screening ELISA and WB detect antibodies to HTLV-1, using lysates of HTLV-1 as substrate. In WB a serum is judged positive for HTLV-1/2 antibodies if reactivity to both the p24 and rgp21e antigens is present. Polymerase chain reaction (PCR), performed on peripheral blood mononuclear cells (PBMC) DNA can also be used as a confirmatory test; however, it is not generally used because it is expensive, and labor-in-

tensive. In conclusion, antibody tests are the best option for routine diagnostic purposes [51]. Studies performed to evaluate the sensitivity and specificity of ELISA tests have evaluated three ELISA kits (Murex HTLV 1/2, anti-HTLV-1/2 SYM Solution and Gold ELISA HTLV-1/2) showing 100% sensitivity for all of them, but different specificity (92-98.1%-99.5%, respectively) [52].

Despite improvements in the WB assays specificity, indeterminate serological patterns are still a concern for routine screening in blood banks in Europe, America and Africa. Thus, it could be an issue for comparative analyses among epidemiological studies [52]. WB assays use specific recombinant proteins for HTLV-I/II Env glycoproteins incorporated into the WB strips, increasing the sensitivity of the blot, and differentiating between HTLV-1 and HTLV-2. The sensitivity of the WB is 97.1% with a specificity of 97.5% [53].

Another test to confirm HTLV-1 is INNO-LIA. This serological confirmatory assay for HTLV shows results for most of the samples considered indeterminate or positive, but untypeable in WB assays. Few studies have compared WB with INNO-LIA

and PCR. Nonetheless, further studies with larger populations are necessary to give definitive conclusions [54].

PREVENTION STRATEGIES

Prevention strategies to avoid this malignancy in endemic countries must be focused on the routes of transmission [55].

Prevention of vertical transmission. As said before, Mother-to-Child Transmission (MTCT) can be produced through the placenta, perinatally or by breastfeeding. However, transplacental and perinatal transmissions are uncommon, and most cases of MTCT are produced by ingestion of breastmilk [56]. Prenatal screening for HTLV-1 should be employed in endemic areas, combined with giving detailed information about HTLV-1, mother-to-child transmission and infant feeding strategies. Recommendations to avoid MTCT include the use of exclusive formula feeding or breastfeeding for a maximum of 3 months, except for high-risk infants, such as premature babies or those living in developing countries with risk of malnutrition. In this cases breastfeeding is justified. Also, it is recommended to test the child for HTLV-1 antibody at three years of age [56].

Blood transmission. Blood transfusion is another possible transmission route and it is considered a major risk for HAM/TSP development [56]. Screening of blood donor is an effective prevention strategy for HTLV-1 transmission. In the case of HTLV-1 non-endemic areas, risk of HTLV-1 infection might be enhanced in some selected donor populations, such as immigrants from endemic areas, with recommendations of policies for selective donor recruitment [56]. For developing countries, the cost of imported screening test kit is high. More cost-effective strategies for blood donor screening need to be developed [56].

Sexual transmission. Recommendations and counseling to prevent sexually transmitted infections include condom use and avoiding multiple and unknown sexual partners. The access to correct information about HTLV-1 infection and appropriate counseling is essential, because blood donor candidates and sexually active people are usually asymptomatic [56].

HTLV-1 SCREENING IN SELECTED POPULATIONS

Transplant donors. HTLV-1 screening should be done in all transplant donors with risk factors (immigrants who were born or lived in endemic areas, travelers to these endemic areas and family of these immigrants or travelers) or when the organ is going to be transplanted in countries where determination is mandatory [57-59]. Spain is a leader in the world of transplantation with a donation rate of 46 donations per million inhabitants. 8% of these donors are resident immigrants, and more than 20% of this population comes from endemic countries for HTLV-1 [60, 61].

Since 1990 and to date, about 20 cases of TSP have been

reported in Spain, who have developed myelopathy in less than 2 years, and others like ATLL [62-66]. Pre-transplant screening, a protocol, which has been regulated since 2012 and reviewed in 2014 (BOE, November 5th, pp. 90536-8) for donors from endemic areas, relatives, and those with history of sexual intercourse with them, is important in this regard [64]. However, due to the current importance of migratory flows from endemic areas to HTLV and their characteristic transmission mechanisms, it is very difficult to screen for risk factors [64]. Therefore, it is advisable to determine specific antibodies against HTLV 1/2 in all organ donors.

Other immunosuppressed patients. HTLV-1 is associated with a higher incidence of opportunistic infections [67]. In endemic countries, physicians must consider the patients current HTLV-1 infection status in immunosuppressed patients, because it is believed that opportunistic infections in HTLV-1 positive patients are not caused by the virus itself, but by alterations in the host immune system [67]. Treatment of HTLV-1 is difficult due to the lack of effective antiretroviral agents [67]. Therefore, we must consider HTLV-1 screening and prophylaxis strategies in the case of immunosuppressed patients (patients on chemotherapy or biological therapy).

TREATMENT

Antiviral/ antibiotic therapy. No effective treatment for HTLV-1 has been described so far [68]. The effect of Zidovudine plus Lamivudine was analyzed in four HTLV infected patients, two of them with TSP/HAM and coinfected with HIV. There was a virological and clinical improvement and an increase and posterior decrease of HTLV-1 proviral load [68].

Moreover, many ATLL patients were efficiently treated with a combination of zidovudine and interferon α (AZT/IFN- α), with arsenic trioxide added in some cases [68]. Nonetheless, *in vivo* reverse transcriptase (RT) activity is low, which suggest a clonal mode of viral replication that leads infected cells to become resistant to AZT. Moreover, histone deacetylase inhibitors (HDACi) associated to AZT prevent de novo cellular infection and in asymptomatic STLV-1 infected non-human primates, HDACi/AZT produces a strong decrease in the proviral load, although unfortunately there is a posterior rebound effect [68]. Also, the antiviral effect of raltegravir on HTLV-1 carriers was analyzed in a pilot and open study carried out on five individuals, showing that this treatment does not result in a significant reduction of proviral load beyond 6 months of therapy [69].

Furthermore, a prospective study of effect of transient antibiotic treatment on tumor cells showed that transient aggressive antibiotic therapy was associated with decreased expression of IL-2 high-affinity receptors (CD25), STAT3 signaling, cell proliferation in lesional skin and clinical improvement. This provides evidence on aggressive antibiotic treatment inhibiting malignant T cells in lesional skin, which could be useful for future ATLL therapies [70]. However, further investigations are needed in this field.

HTLV-1 Vaccine. HTLV-1 vaccines have been studied

since late 80's to early 90's [71]. These were partially effective [71-74]. The Franchini group (NCI) proved a vaccine to immunize New Zealand white rabbits, with the entire envelope protein of the HTLV-1 obtained from the DNA of a West African healthy HTLV-I-infected patient [74]. This showed initial protection against the virus, but finally a combination protocol failed, which suggest that administration of this preparation might be ineffective [73]. Nonetheless, recent studies use HBZ as a target in mice, showing an anti-lymphoma effect of the cytotoxic T lymphocytes targeting HBZ, suggesting that this could be more effective than conventional strategies [74]. Furthermore, Sugata et al demonstrated that HBZ could be a target for immunotherapy of ATLL patients. They generated a recombinant vaccinia virus expressing HBZ, which induced specific T-cell responses in mice and macaques. This could be a candidate peptide for vaccine development [75-77]. Despite further investigations are needed, research in this field is severely hindered by the lack of funding for clinical trials.

HTLV-1 AS EMERGENT INFECTIOUS DISEASE IN SPAIN

According to numerous epidemiological studies performed in Europe, mainly in blood donors and in pregnant women, most individuals infected by HTLV-1 living this continent originate in high endemic areas -mostly the West Indies and Africa- or are descendants from natives to these areas [78-96].

Spain is not considered an endemic country for HTLV-1; although the incidence of cases has increased since 2008, when screening was introduced in blood banks and there was an increase of immigration and tourism from endemic regions [97]. In Spain, most of the HTLV-1 infected individuals are from Latin America [97, 98]. In recent years, the number of new cases diagnosed in Spain has been stable, around 20-25 cases every year [98].

There are also cases of HTLV-1 infection in Spain among patients who have received an organ transplant; specifically, 2 patients were reported in the HTLV-1 Spanish Registry [98] with liver and renal transplant from the same HTLV-1 infected donor, who developed TSP in a period of 2 years, due to the induced immunosuppression [98].

National studies on the prevalence of HTLV-1 infection in Spain indicate that it is stable and low. The virus is not prevalent in Spain and a total of 327 registered cases until December 2016 were reported, 62% in Latin American immigrants and 13% in African immigrants, with less than 20% Spanish native cases. Between 20 and 25 new cases are diagnosed every year, however, their incidence is likely to be higher, since migratory movements from endemic areas and racial mixing enhance their acquisition and transmission. Therefore, it is likely to remain underdiagnosed [98]. Throughout life, approximately 10% of these patients infected with HTLV will develop an HTLV-1 associated disease. Thus, it is necessary to be expectant, given the high emigration rate of endemic regions, especially from Latin America [99].

CONCLUSIONS

HTLV- infections is considered a neglected disease nowadays, despite infecting at least 10 million people worldwide. Spain is not an endemic region for HTLV-1, but it receives a large influx migration from highly endemic regions, mainly from Latin America, thus it could be a region with emerging risk of HTLV-1 infection. So, it is important to be expectant of HTLV-1 Spanish Registry, to develop preventive strategies in vulnerable groups. Viral screening is justified in transplant donors as well as in blood donors. Specificity in confirmatory test is an actual issue that require further investigations. Furthermore, research to avoid infection and associated diseases focused on the development of effective treatments or vaccine against the virus is needed.

REFERENCES

- Poiesz BJ, Ruscetti FJ, Gazdar AF, Bunn PA, Minna JD, Gallo RC, et al. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1980; 77: 7415-7419. doi: 10.1073/pnas.77.12.7415
- Uchiyama T, Yodoi J, Sagawa K, Takatsuki K, Uchino H. Adult T-cell leukemia: clinical and hematologic features of 16 cases. Blood. 1977; 50(3):481-92. PMID: 301762
- Giam CZ, Semmes OJ. HTLV-1 Infection and Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma—A Tale of Two Proteins: Tax and HBZ. Viruses. 2016; 8(6): 161. doi: 10.3390/v8060161
- Hoshino H. Cellular factors involved in HTLV-1 entry and pathogenicity. Front Microbiol. 2012; 3: 222. doi: 10.3389/fmicb.2012.00222
- Martin J, Maldonado J, Mueller J, Zhang W, Mansky L. Molecular Studies of HTLV-1 Replication: An Update. Viruses. 2016; 8(2): 31. doi: 10.3390/v8020031
- Pique C, Jones KS. Pathways of cell-cell transmission of HTLV-1. Front Microbiol. 2012; 3:378. doi: 10.3389/fmicb.2012.00378
- Mazurov D, Ilinskaya A, Heidecker G, Lloyd P, Derse D. Quantitative comparison of HTLV-1 and HIV-1 cell-to-cell infection with new replication dependent vectors. PLoS Pathog. 2010; 6(2), e1000788. doi: 10.1371/journal.ppat.1000788
- Zhong P, Agosto LM, Munro JB, Mothes W. Cell-to-cell transmission of viruses. Curr Opin Virol. 2013; 3:44–50. doi: 10.1016/j.coviro.2012.11.004
- Futsch N, Mahieux R, Dutartre H. HTLV-1, the Other Pathogenic Yet Neglected Human Retrovirus: From Transmission to Therapeutic Treatment. Viruses. 2018; 10(1): 1. doi: 10.3390/v10010001
- Gross C, Thoma-Kress A. Molecular Mechanisms of HTLV-1 Cell-to-Cell Transmission. Viruses. 2016; 8(3): 74. doi: 10.3390/v8030074
- Carpentier A, Barez P-Y, Hamaidia M, Gazon H, De Brogniez A, Srikanth Perike, et al. Modes of Human T Cell Leukemia Virus Type 1 Transmission, Replication and Persistence. Viruses. 2015; 7, 3603-3624. doi:10.3390/v7072793
- Nejmeddine M, Bangham CR. The HTLV-1 Virological Synapse. Viruses. 2010;2(7):1427-47. doi: 10.3390/v2071427
- Van Prooyen N, Gold H, Andresen V, Schwartz O, Jones K, Ruscetti F, et al. Human T-cell leukemia virus type 1 p8 protein increases

- cellular conduits and virus transmission. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2010; 107 (48), 20738–20743. doi: 10.1073/pnas.1009635107
14. Pais-Correia AM, Sachse M, Guadagnini S, Robbiati V, Lasserre R, Gessain A, et al. Biofilm-like extracellular viral assemblies mediate HTLV-1 cell-to-cell transmission at virological synapses. *Nat. Med.* 2010; 16, 83–89. doi: 10.1038/nm.2065
 15. Jones KS, Petrow-Sadowski C, Huang YK, Bertolette DC, Ruscetti FW. Cell-free HTLV-1 infects dendritic cells leading to transmission and transformation of CD4+ T cells. 2008; *Nat. Med.* 14, 429–436. doi: 10.1038/nm1745
 16. Wattel E, Vartanian JP, Pannetier C, Wain-Hobson S. Clonal expansion of human T-cell leukemia virus type I-infected cells in asymptomatic and symptomatic carriers without malignancy. *J. Virol.* 1995; 69, 2863–2868. PMID: 7707509
 17. Leclercq I, Cavrois M, Mortreux F, Hermine O, Gessain A, Morschhauser F, et al. Oligoclonal proliferation of human T-cell leukaemia virus type 1 bearing T cells in adult T-cell leukaemia/lymphoma without deletion of the 3 provirus integration sites. *Br. J. Haematol.* 1998; 101(3):500–6. doi: 101, 500–506. 10.1046/j.1365-2141.1998.00743.x
 18. Firouzi S, Farmanbar A, Nakai K, Iwanaga M, Uchimaru K, Utsunomiya A, et al. Clonality of HTLV-1-infected T cells as a risk indicator for development and progression of adult T-cell leukemia. *Blood Adv.* 2017; 1(15):1195–1205. doi: 10.1182/bloodadvances.2017005900
 19. Farmanbar A, Firouzi S, Makowski W, Iwanaga M, Uchimaru K, Utsunomiya A, et al. Inferring clonal structure in HTLV-1-infected individuals: towards bridging the gap between analysis and visualization. *Hum Genomics.* 2017; 11(1):15. doi: 10.1186/s40246-017-0112-8
 20. Cavrois M, Wain-Hobson S, Gessain A, Plumelle Y, Wattel E. Adult T-cell leukemia/lymphoma on a background of clonally expanding human T-cell leukemia virus type-1-positive cells. *Blood.* 1996; 88(12):4646–50. PMID: 8977257
 21. Etoh K, Tamiya S, Yamaguchi K, Okayama A, Tsubouchi H, Ideta T, et al. Persistent clonal proliferation of human T-lymphotropic virus type I-infected cells in vivo. *M. Cancer Res.* 1997; 57(21):4862–7. PMID: 9354450
 22. Cavrois M, Leclercq I, Gout O, Gessain A, Wain-Hobson S, Wattel E. Persistent oligoclonal expansion of human T-cell leukemia virus type 1-infected circulating cells in patients with Tropical spastic paraparesis/HTLV-1 associated myopathy. *Oncogene.* 1998; 17(1):77–82. doi: 10.1038/sj.onc.1201906
 23. Gillet NA, Malani N, Melamed A, Gormley N, Carter R, Bentley D, et al. The host genomic environment of the provirus determines the abundance of HTLV-1-infected T-cell clones. *Blood.* 2011; 117(11):3113–22. doi: 10.1182/blood-2010-10-312926
 24. Satow Y, Hashido M, Ishikawa K, Honda H, Mizuno M, Kawana T, et al. Detection of HTLV-I antigen in peripheral and cord blood lymphocytes from carrier mothers. *Lancet.* 1991; 338, 915–916. doi: 10.1016/0140-6736(91)91775-P
 25. Caterino-de-Araujo A, De los Santos-Fortuna E. No evidence of vertical transmission of HTLV-I and HTLV-II in children at high risk for HIV-1 infection from Sao Paulo, Brazil. *J. Trop. Pediatr.* 1999; 45, 42–47. doi: 10.1093/tropej/45.1.42
 26. Bittencourt AL, Sabino EC, Costa MC, Pedroso C, Moreira L. No evidence of vertical transmission of HTLV-I in bottle-fed children. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2002; 44(2):63–5. doi: 10.1590/s0036-46652002000200002
 27. Southern SO, Southern PJ. Persistent HTLV-I infection of breast luminal epithelial cells: A role in HTLV transmission? *Virology.* 1998; 241, 200–214. doi: 10.1006/viro.1997.8978
 28. Satomi M, Shimizu M, Shinya E, Watari E, Owaki A, Hidaka C, et al. Transmission of macrophage-tropic HIV-1 by breast-milk macrophages via DC-SIGN. *J. Infect Dis.* 2005; 191, 174–181. doi: 10.1086/426829
 29. LeVasseur RJ, Southern SO, Southern PJ. Mammary epithelial cells support and transfer productive human T-cell lymphotropic virus infections. *J. Hum. Virol.* 1998; 1, 214–223. PMID: 10195245
 30. Takeuchi H, Takahashi M, Norose Y, Takeshita T, Fukunaga Y, Takahashi H. Transformation of breast milk macrophages by HTLV-I: Implications for HTLV-I transmission via breastfeeding. *Biomed Res.* 2010; 31, 53–61. PMID: 20203420
 31. Percher F, Jeannin P, Martin-Latil S, Gessain A, Afonso PV, Vidy-Roche A, et al. Mother-to-Child Transmission of HTLV-1 Epidemiological Aspects, Mechanisms and Determinants of Mother-to-Child Transmission. *Viruses.* 2016; 8(2). pii: E40. doi: 10.3390/v8020040
 32. Roucoux DF, Wang B, Smith D, Nass CC, Smith J, Hutching ST, et al. A prospective study of sexual transmission of human T lymphotropic virus (HTLV)-I and HTLV-II. *J. Infect Dis.* 2005; 191(9):1490–7. doi: 10.1086/429410
 33. Strickler HD, Rattray C, Escoffery C, Manns A, Schiffman MH, Brown C, et al. Human T-cell lymphotropic virus type I and severe neoplasia of the cervix in Jamaica. *Int. J. Cancer.* 1995; 61(1):23–6. doi: 10.1002/ijc.2910610105
 34. Donegan E, Lee H, Operksalski EA, Shaw GM, Kleinman SH, Busch MP, et al. Transfusion transmission of retroviruses: human T-lymphotropic virus types I and II compared with human immunodeficiency virus type 1. *Transfusion.* 1994; 34(6):478–83. doi: 10.1046/j.1537-2995.1994.34694295061.x
 35. Osame M, Janssen R, Kubota H, Nishitani H, Igata A, Nagataki S, et al. Nationwide survey of HTLV-I-associated myopathy in Japan: association with blood transfusion. *Ann Neurol.* 1990; 28(1):50–6. doi: 10.1002/ana.410280110
 36. Kakuda K, Ikematsu H, Chong WL, Hayashi J, Kashiwagi. Molecular epidemiology of human T lymphotropic virus type 1 transmission in Okinawa, Japan. *S. Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2002; 66(4):404–8. doi: 10.4269/ajtmh.2002.66.404
 37. Gessain A, Cassar O. Epidemiological Aspects and World Distribution of HTLV-1 Infection. *Front. Microbiol.* 2012; 3:388. doi: 10.3389/fmicb.2012.00388
 38. Miyanaga M, Shimizu K, Kawaguchi T, Miyata K, Mochizuki M. A clinical survey of uveitis in HTLV-1 endemic region. *Ocul Immunol Inflamm.* 2009; 17(5):335–41. doi: 10.3109/09273940903137667
 39. Dantas Netto E, Glesby MJ, Carvalho EM, Machado P. Dermatological manifestations of individuals infected with human T cell lymphotropic virus type I (HTLV-I). *Int. J. Dermatol.* 2014; 53(9):1098–102. doi: 10.1111/ijd.12170
 40. Einsiedel L, Cassar O, Spelman T, Joseph S, Gessain A. Higher HTLV-1c proviral loads are associated with blood stream infections in an Indigenous Australian population. *J. Clin. Virol.* 2016; 78:93–8. doi: 10.1016/j.jcv.2016.03.006
 41. Verdonck K, González E, Gotuzzo E, et al. HTLV-1 infection is frequent among out-patients with pulmonary tuberculosis in northern Lima, Peru. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 2007; 11(10):1066–72. PMID: 17945062

42. Watanabe T. Adult T-cell leukemia: molecular basis for clonal expansion and transformation of HTLV-1-infected T cells. *Blood*. 2017; 129(9): 1071–1081. doi: 10.1182/blood-2016-09-692574
43. Philip S, Zahoor MA, Zhi H, Ho YK, Giam CZ. Regulation of human T-lymphotropic virus type I latency and reactivation by HBZ and Rex. *PLoS Pathog*. 2014; 10(4):e1004040. doi: 10.1371/journal.ppat.1004040
44. Malpica L, Pimentel A, Reis IM, Gotuzzo E, Lekakis L, Komanduri K, et al. Epidemiology, clinical features, and outcome of HTLV-1-related ATLL in an area of prevalence in the United States. *Blood advances*. 2018; 2(6), 607–620. doi:10.1182/bloodadvances.2017011106
45. Kubota R, Soldan SS, Martin R, Jacobson S. Selected cytotoxic T lymphocytes with high specificity for HTLV-1 in cerebrospinal fluid from a HAM/TSP patient. *J. Neurovirol*. 2002; 8, 53–57. doi: 10.1080/135502802317247811
46. Kubota R, Kawanishi T, Matsubara H, Manns A, Jacobson S. Demonstration of human T lymphotropic virus type I (HTLV-I) tax-specific CD8+ lymphocytes directly in peripheral blood of HTLV-I-associated myopathy/tropical spastic paraparesis patients by intracellular cytokine detection. 1998; *J Immunol* 161: 482–488. PMID: 9647259
47. Goncalves DU, Proietti FA, Ribas JG, Araujo MG, Pinheiro SR, Guedes AC, et al. Epidemiology, treatment, and prevention of human T-cell leukemia virus type 1-associated diseases. *Clin. Microbiol. Rev*. 2010, 23, 577–589. doi: 10.1128/CMR.00063-09
48. Carvalho EM, Da Fonseca Porto A. Epidemiological and clinical interaction between HTLV-1 and strongyloides stercoralis. *Parasite Immunol*. 2004; 26, 487–497. doi: 10.1111/j.0141-9838.2004.00726.x
49. Gabet AS, Mortreux F, Talarmin A, Plumelle Y, Leclercq I, Leroy A, et al. High circulating proviral load with oligoclonal expansion of HTLV-1 bearing T cells in HTLV-1 carriers with strongyloidiasis. *Oncogene*. 2000; 19, 4954–4960. doi: 10.1038/sj.onc.1203870
50. Moreno C, Balanger M, Barbosa M, Cudolá A, Gallego S. Serological diagnosis of HTLV-1/2: Combination of screening assays to define the serological status in blood donors. *Rev Argent Microbiol*. 2013; 45(3) 165–168. doi: 10.1016/S0325-7541(13)70019-1
51. Hjelle B, Wilson C, Cyrus S, Bradshaw P, Lo J, Schammel C, et al. Human T-cell Leukemia Virus Type II Infection Frequently Goes Undetected in Contemporary US Blood Donors. *Blood*. 1993; 81(6) 1641–1644. PMID: 8453109
52. Da Silva Brito V, Santos FLN, Goncalves NLS, Araujo THA, Nascimento DSV, Pereira FM, et al. Performance of Commercially Available Serological Screening Tests for Human T-Cell Lymphotropic Virus Infection in Brazil. *J Clin Microbiol*. 2018; 56(12): e00961-18. doi:10.1128/JCM.00961-18
53. Abrams A, Akahata Y, Jacobson S. The prevalence and significance of HTLV-I/II seroineterminate Western blot patterns. *Viruses*. 2011; 3(8):1320–1331. doi:10.3390/v3081320
54. Sabino EC, Zrein M, Taborda CP, Otani MM, Ribeiro-Dos-Santos G, Saez-Alquezar A. Evaluation of the INNO-LIA HTLV I/II assay for confirmation of human T-cell leukemia virus-reactive sera in blood bank donations. *J Clin Microbiol*. 1999;37(5):1324–1328. PMCID: PMC84764
55. Eusebio-Ponce E, Candel FJ, Anguita E. Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1 and associated diseases in Latin America. *Trop Med Int Health*. 2019; 24(8):934–953. doi: 10.1111/tmi.13278
56. Yoshimitsu M, Kozako T, Arima N. Prevention of Human T-Cell Lymphotropic Virus Infection and Adult T-Cell Leukemia. *T-cell Leu-*
- kemia. *IntechOpen*. 2013. doi: 10.5772/55427
57. Cercenado E, Canton R. *Microbiología del Trasplante. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2010. ISBN-978-84-614-7493-6
58. Gallo RC, Willems L, Hideki H, Global Virus Network's Task Force on HTLV-1. Screening transplant donors for HTLV-1 and -2. *Blood*. 2016; 128:3029–3031. doi: 10.1182/blood-2016-09-739433
59. Tanaka T, Sekioka T, Usui M, Imashuku S. Opportunistic Infections in Patients with HTLV-1 Infection. *Case Reports in Hematology*. 2015; 5. doi: 10.1155/2015/943867
60. Observatorio Permanente de la Inmigración. Extranjeros Residentes en España a 30 de junio de 2016. Plan Estadístico Nacional 2013–2016. 2016. Available from: http://extranjeros.mitramiss.gob.es/es/Estadisticas/operaciones/con-certificado/201606/Residentes_Principales_Resultados_30062016.pdf
61. Organización Nacional de Trasplante (ONT). Contribución a la Donación de Órganos de la Población Extranjera en España. 2016. Available from: https://acemspublicaciones.revistabarataria.es/wp-content/uploads/2017/05/11.Ormeno.Valdep.2016.144_158.pdf
62. Roc L, de Mendoza C, Fernández-Alonso M, Reina G, Soriano V. Spanish HTLV Network. Rapid subacute myelopathy following kidney transplantation from HTLV-1 donors: role of immunosuppressors and failure of antiretrovirals. *Ther Adv Infect Dis*. 2019; 6: 2049936119868028. doi: 10.1177/2049936119868028
63. De Mendoza C, Roc L, Benito R, Reina G, Ramos JM, Spanish HTLV Network, et al. HTLV-1 infection in solid organ transplant donors and recipients in Spain. *BMC Infect Dis*. 2019;19(1):706. doi: 10.1186/s12879-019-4346-z
64. De Mendoza C, Roc L, Fernández-Alonso M, Soriano V; Spanish HTLV Network. HTLV testing of solid organ transplant donors. *Clin Transplant*. 2019; e13670. doi: 10.1111/ctr.13670
65. Kaul DR, Sharma TS, AST ID Community of Practice. Human T-cell lymphotrophic virus in solid-organ transplant recipients: Guidelines from the American society of transplantation infectious diseases community of practice. *Clin Transplant*. 2019; e13575. doi: 10.1111/ctr.13575
66. Ramanan P, Deziel PJ, Norby SM, Yao JD, Garza I, Razonable RR. Donor-transmitted HTLV-1-associated myelopathy in a kidney transplant recipient--case report and literature review. *Am J Transplant*. 2014; 14: 2417–2421. doi: 10.1111/ajt.12849
67. Machuca A, Rodes B, Soriano V. The effect of antiretroviral therapy on HTLV infection. *Virus Res*. 2001; 78(1-2):93–100. doi: 10.1016/S0168-1702(01)00287-8
68. Pasquier A, Alais S, Roux L, Thoulouse MI, Alvarez K, Journo G, et al. How to Control HTLV-1-Associated Diseases: Preventing de Novo Cellular Infection Using Antiviral Therapy. *Front Microbiol*. 2018; 9:278. doi:10.3389/fmicb.2018.00278
69. Treviño A, Parra P, Bar-Magen T, Garrido C, Mendoza C, Soriano V. Antiviral effect of raltegravir on HTLV-1 carriers. *J Antimicrob Chemother*. 2012; 67(1): 218–221 doi: 10.1093/jac/dkr404
70. Lindahl LM, Willerslev-Olsen A, Gjerdrum L, Nielsen PR, Blümel E, Rittig A, et al. Antibiotics inhibit disease activity in CTCL. *Blood*. 2019;134(13):1072–1083. doi: 10.1182/blood.2018888107
71. Tagaya Y, Matsuoka M, Gallo R. 40 years of the human T-cell leu-

- kemia virus: past, present, and future. *F1000Res.* 2019; 8: F1000 Faculty Rev-228. doi:10.12688/f1000research.17479.1
72. Bomford R, Kazanji M, De The G. Vaccine against human T cell leukemia-lymphoma virus type I: progress and prospects. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 1996; 12(5):403-5. doi: 10.1089/aid.1996.12.403
 73. Dezzutti CS, Frazier DE, Huff LY, Stromberg PC, Olsen RG. Subunit vaccine protects Macaca nemestrina (pig-tailed macaque) against simian T-cell lymphotropic virus type I challenge. *Cancer Res.* 1990; 50(17 Suppl):5687S-5691S. PMID: 2167165
 74. Franchini G, Tartaglia J, Markham P, Benson J, Fullen J, Wills M, et al. Highly attenuated HTLV type I env poxvirus vaccines induce protection against a cell associated HTLV type I challenge in rabbits. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 1995; 11(2):307-13. doi: 10.1089/aid.1995.11.307
 75. MacNamara A, Rowan A, Hilburn S, Kadolsky U, Fujiwara H, Suemori K, et al. HLA class I binding of HBZ determines outcome in HTLV-1 infection. *PLoS Pathog.* 2010; 6(9):e1001117. doi: 10.1371/journal.ppat.1001117
 76. Sugata K, Yasunaga J, Mitobe Y, Miura M, Miyazato P, Kohara M, et al. Protective effect of cytotoxic T lymphocytes targeting HTLV-1 bZIP factor. *Blood.* 2015; 126(9):1095-105. doi: 10.1182/blood-2015-04-641118
 77. Mahieux R. A vaccine against HTLV-1 HBZ makes sense. *Blood.* 2015; 126(9):1052-3. doi: 10.1182/blood-2015-06-652040
 78. Courtois F, Barin F, Larsen M, Brossard Y, Masselin A, Engelman P. HTLV-I/II infection in pregnant women in Paris. *Lancet.* 1990; 335, 1103. doi: 10.1016/0140-6736(90)92681-7
 79. Courouce AM, Pillonel J, Lemaire JM, Maniez M, Brunet JB. Seroprevalence of HTLV-I/II in universal screening of blood donations in France. *AIDS.* 1993; 7(6):841-7. doi: 10.1097/00002030-199306000-00013
 80. Nightingale S, Orton D, Ratcliffe D, Skidmore S, Tosswill J, Desselberger U. Antenatal survey for the seroprevalence of HTLV-1 infections in the West Midlands, England. *Epidemiol Infect.* 1993; 110(2):379-87. doi: 10.1017/s0950268800068321
 81. Zaaier HL, Cuypers HT, Dudok de Wit C, Lelie PN. Results of 1-year screening of donors in The Netherlands for human T-lymphotropic virus (HTLV) type I: significance of Western blot patterns for confirmation of HTLV infection. *Transfusion.* 1994; 34(10):877-80. doi: 10.1046/j.1537-2995.1994.341095026973.x
 82. Dalekos GN, Zervou E, Karabini F, Elisaf M, Bourantas K, Siamopoulos KC. Prevalence of antibodies to human T-lymphotropic virus types I and II in volunteer blood donors and high-risk groups in northwestern Greece. *Transfusion.* 1995; 35(6):503-6. doi: 10.1046/j.1537-2995.1995.35695288770.x
 83. Ferrante P, Mancuso R, Zuffolato R, Puricelli S, Mannella E, Romano L, et al. Molecular analysis of HTLV-I and HTLV-II isolates from Italian blood donors, intravenous drug users and prisoners. *New Microbiol.* 1997; 20(2):93-104. PMID: 9208419
 84. Hale A, Leung T, Sivasubramaniam S, Kenny J, Sutherland S. Prevalence of antibodies to HTLV in antenatal clinic attenders in south east London. *J Med Virol.* 1997; 52(3):326-9. PMID: 9210044
 85. Tuset C, Gutiérrez M, Carbonell C, Tuset T, Soriano V. Human T-cell lymphotropic virus infection in pregnant women in Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1997; 16(10):771-3. doi: 10.1007/bf01709264
 86. Poljak M, Bednarik J, Rednak K, Seme K, Kristancic L, Celan-Lucu B. Seroprevalence of human T cell leukaemia/lymphoma virus type I (HTLV-I) in pregnant women, patients attending venereological outpatient services and intravenous drug users from Slovenia. *Folia Biol. (Praha).* 1998; 44, 23-25. PMID: 10730871
 87. Ades AE, Parker S, Walker J, Edginton M, Taylor G P, Weber JN. Human T cell leukaemia/lymphoma virus infection in pregnant women in the United Kingdom: population study. *BMJ.* 2000; 320, 1497-1501 doi: 10.1136/bmj.320.7248.1497
 88. Machuca A, Tuset C, Soriano V, Caballero E, Aguilera A, Ortiz de Lejarazu R. Prevalence of HTLV infection in pregnant women in Spain. *Sex Transm Infect.* 2000; 76, 366-370 doi: 10.1136/sti.76.5.366
 89. Tseliou PM, Spiliotakara A, Politis C, Spanakis N, Legakis NJ, Tsakris A. Prevalence of human T-cell lymphotropic virus-I/II-indeterminate reactivities in a Greek blood bank population. *Transfus Med.* 2004; 14(3):253-4. doi: 10.1111/j.0958-7578.2004.00509.x
 90. Vrielink H, Reesink HW. HTLV-I/II prevalence in different geographic locations. *Transfus Med Rev.* 2004; 18(1):46-57. PMID: 14689377
 91. Taylor GP, Bodeus M, Courtois F, Pauli G, Del Mistro A, Machuca A, et al. The seroepidemiology of human T-lymphotropic viruses: types I and II in Europe: a prospective study of pregnant women. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2005; 38, 104-109. doi: 10.1097/00126334-200501010-00018
 92. Davidson F, Lycett C, Jarvis LM, Kerr D, Lumley S, Petrik J, et al. Detection of HTLV-I and -II in Scottish blood donor samples and archive donations. *Vox Sang.* 2006; 91(3):231-6. doi: 10.1111/j.1423-0410.2006.00816.x
 93. Laperche S, Worms B, Pillonel J, European Network of Transfusion Medicine Societies, Steering Committee. Blood safety strategies for human T-cell lymphotropic virus in Europe. *Vox Sang.* 2009; 96(2):104-10. doi: 10.1111/j.1423-0410.2008.01136.x
 94. Brant LJ, Cawley C, Davison KL, Taylor GP, HTLV National Register Steering Group. Recruiting individuals into the HTLV cohort study in the United Kingdom: clinical findings and challenges in the first six years, 2003 to 2009. *2011; 16(46).* doi: 10.2807/ese.16.46.20017-en
 95. Toro C, Rodes B, Aguilera A, Caballero E, Benito R, Tuset C, et al. Clinical impact of HTLV-1 infection in Spain: implications for public health and mandatory screening. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2002; 30(3):366-8. doi: 10.1097/00126334-200207010-00016
 96. Padua E, Rodes B, Perez-Piñar T, Silva AF, Jiménez V, Ferreira F, et al. Molecular characterization of human T cell leukemia virus type 1 subtypes in a group of infected individuals diagnosed in Portugal and Spain. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2011; 27(3):317-22. doi: 10.1089/aid.2010.0195
 97. Treviño A, Aguilera A, Caballero E, Benito R, Parra P, Eiros JM, et al. Trends in the prevalence and distribution of HTLV-1 and HTLV-2 infections in Spain. *Virol J.* 2012; 9:71. doi: 10.1186/1743-422X-9-71
 98. Esparza-Echevarria B, Soriano-Vazquez V. Infección por el virus linfotrópico de células T humano en España – 30 años de evolución (1986-2016). *Gac Med Bilbao.* 2017;114(3):107-113. ISSN 0304-4858
 99. De Mendoza C, Caballero E, Aguilera A, Requena S, de Lejarazu RO, Spanish HTLV Network, et al. Human T-lymphotropic virus type 1 infection and disease in Spain. *AIDS.* 2017;31(12):1653-1663. doi: 10.1097/QAD.0000000000001527



Revisión

Rosario Menéndez¹
Rafael Cantón²
Andrea García-Caballero²
José Barberán³

Tres claves para seleccionar el antibiótico oral adecuado en las infecciones respiratorias

¹Servicio de Neumología. Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia

²Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal e Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS). Madrid.

³Servicio de Medicina Interna y Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario HM Montepríncipe, Universidad San Pablo CEU. Madrid, Spain.

Article history

Received: 21 November 2019; Accepted: 25 November 2019

RESUMEN

La exacerbación de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y la neumonía adquirida en la comunidad son las infecciones del tracto respiratorio inferior más frecuentes en la práctica clínica diaria. La selección del antibiótico es un componente crucial en su tratamiento y, en la mayoría de las ocasiones, se realiza de forma empírica. Las sociedades científicas elaboran recomendaciones terapéuticas basadas en la evidencia científica y/o recomendaciones de expertos que son de gran ayuda para los clínicos. Los betalactámicos, las fluoroquinolonas y los macrólidos son los fármacos más utilizados por vía oral. Desde un punto de vista práctico, existen tres claves para la adecuada elección del tratamiento antibiótico oral, que son la efectividad, la seguridad y el impacto ecológico en la microbiota del paciente, incluyendo el desarrollo de resistencias, que van a ser valoradas en profundidad en esta revisión.

Palabras clave: Neumonía, EPOC, Resistencia antimicrobiana, proceso de selección, resistencia colonización, daño colateral, cefditoren

Three keys to the appropriate choice of oral antibiotic treatment in the respiratory tract infections

ABSTRACT

Exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease and community-acquired pneumonia are the most frequent infections of the lower respiratory tract in daily clinical practice. Antibiotic selection is a crucial component in its treatment and, in most cases, it is performed empirically. Scientific societies make therapeutic recommendations based on sci-

entific evidence and / or expert recommendations that are of great help to clinicians. Beta-lactams, fluoroquinolones and macrolides are the most commonly used drugs for oral administration. From a practical point of view, there are three keys to the appropriate choice of oral antibiotic treatment, which are the effectiveness, safety and the ecological impact on the patient's microbiota, including the development of resistance, which will be assessed in depth in this review.

Key words: Pneumonia, COPD, antimicrobial resistance, selection process, colonization resistance, collateral damage, cefditoren

INTRODUCCIÓN

Las infecciones del tracto respiratorio inferior son la primera causa de consulta en atención primaria y en el ámbito de la especializada, provocando especialmente durante el periodo invernal una importante sobrecarga asistencial del sistema sanitario [1]. Un elevado porcentaje de casos son de origen vírico, incluida la gripe. La preocupación estriba en el diagnóstico y tratamiento de las posibles infecciones bacterianas, para las que se requiere una indicación adecuada y juiciosa del tratamiento antibiótico. Esta decisión implica realizar una prescripción exclusiva del mismo en los casos necesarios, eficaz para evitar el fracaso terapéutico y con la duración adecuada para no incrementar las resistencias bacterianas ni los efectos adversos en el huésped. Las dos infecciones respiratorias más frecuentes en la práctica clínica habitual que van a requerir una optimización del uso de antibióticos son la exacerbación de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y la neumonía adquirida en la comunidad (NAC).

La EPOC es una enfermedad crónica de alta prevalencia; aproximadamente el 9% en los mayores de 40 años, que cursa con frecuentes exacerbaciones, en particular cuando la enfermedad se encuentra en un estadio avanzado [2]. Representa una importante causa de morbi-mortalidad y conlleva un consumo importante de recursos del sistema de salud y una pérdida de productividad. La etiología de las exacerbaciones de la EPOC es habitualmente infecciosa, tanto vírica como bacte-

Correspondencia:
José Barberán
Servicio de Medicina Interna y Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario HM Montepríncipe, Universidad San Pablo CEU. Madrid, Spain.
E-mail: jbarberan@ceu.es

riana. En general, la decisión del tratamiento antimicrobiano se realiza sin esperar los resultados microbiológicos, atendiendo a la gravedad del episodio y de la propia enfermedad [3].

La NAC, con una incidencia en el adulto de 5-11 casos por 1000 habitantes/año que aumenta en personas mayores de 65 años, es la primera causa de muerte de origen infeccioso en el mundo occidental y ocasiona altos costes al sistema sanitario. No obstante, la mayor parte de las NACs presentan un desenlace favorable y pueden manejarse de forma ambulatoria [4]. La elección adecuada del tratamiento antibiótico es fundamental, ya que se asocia a mejor pronóstico y menor fracaso terapéutico. En la NAC que no requiere ingreso, el tratamiento antibiótico se realiza de forma empírica por el desconocimiento del microorganismo causal. De hecho, hasta en el 50% de las NACs se desconoce su etiología, incluso si se implementa un adecuado y exhaustivo diagnóstico microbiológico.

Las sociedades científicas emiten recomendaciones terapéuticas, tanto para la exacerbación de la EPOC como la NAC, basadas en la evidencia científica disponible o en opiniones de expertos cuando ésta no existe. Los objetivos de estas recomendaciones, que requieren frecuentes actualizaciones, es reducir la heterogeneidad, proporcionar ayuda en la toma de decisiones clínicas para disminuir la morbi-mortalidad y desarrollar estrategias preventivas. Así, la elección del tratamiento antibiótico inicial y su vía de administración dependerá de las características del paciente y la gravedad del episodio. De forma general, la vía oral se emplea en pacientes no hospitalizados, que representan la mayor parte de los episodios de NAC y de exacerbaciones de los pacientes con EPOC. Además, los

antibióticos orales se utilizan en la terapia secuencial tras el tratamiento endovenoso que, en la mayoría de las ocasiones, suele iniciarse en el propio hospital durante el ingreso [5].

En la elección del antimicrobiano deben considerarse las tasas de curación demostradas en la práctica clínica, la tolerabilidad y el posible impacto en la selección de mecanismos de resistencia, tanto sobre los patógenos infectantes como en los microorganismos que integran la microbiota en cualquier localización. Por todo ello, podemos considerar que existen tres claves para la adecuada selección de antibióticos orales en las infecciones respiratorias: la efectividad, los posibles efectos adversos y el impacto en la microbiota, incluyendo la emergencia y selección de resistencias.

PRIMERA CLAVE: EFECTIVIDAD

Microorganismos frecuentes en infecciones del tracto respiratorio inferior

Exacerbación de EPOC. Aproximadamente un tercio de las exacerbaciones se deben a infecciones víricas y un 20% son de origen mixto vírica y bacteriana (porcentaje que es superior en las exacerbaciones graves). En las exacerbaciones no graves, las bacterias más habituales son *Haemophilus influenzae* (20-30%), *Streptococcus pneumoniae* (10-15%) y *Moraxella catarrhalis* (10-15%) [6, 7]. En el caso de las exacerbaciones graves, hay un aumento de microorganismos gramnegativos entéricos y específicamente de *Pseudomonas aeruginosa* (tabla 1). Los factores de riesgo para

Tabla 1

Microorganismos más frecuentes en las vías respiratorias bajas en EPOC y en NAC

	MICROORGANISMOS	ANTIBIÓTICOS INDICADOS
Exacerbación EPOC		
Leve	<i>H. influenzae</i> <i>S. pneumoniae</i> <i>M. catarrhalis</i>	Amoxicilina-ácido clavulánico Cefditoren Levofloxacino ^a Moxifloxacino ^a
Moderada ^b	<i>H. influenzae</i> <i>S. pneumoniae</i> <i>M. catarrhalis</i> + <i>S. pneumoniae</i> resistente a penicilina	Amoxicilina-ácido clavulánico Cefditoren Levofloxacino ^a Moxifloxacino ^a
Neumonía adquirida en la comunidad	<i>S. pneumoniae</i> <i>H. influenzae</i> <i>M. pneumoniae</i>	Amoxicilina + macrólido Cefditoren + macrólido Levofloxacino ^a Moxifloxacino ^a
NAC en EPOC	<i>S. pneumoniae</i> <i>H. influenzae</i> <i>M. pneumoniae</i>	Amoxicilina-ácido clavulánico + macrólido Cefditoren + macrólido Levofloxacino ^a Moxifloxacino ^a

^aVer texto respecto a la alerta de la EMA-FDA en relación al uso de las fluoroquinolonas

^bConsiderar factores de riesgo de *P. aeruginosa*

la infección por *P. aeruginosa*, son la hospitalización reciente, la institucionalización, la administración de antibióticos en los 3 meses previos o más de 4 veces al año, la FEV₁ <30%, el tratamiento previo con corticoides orales, la presencia de bronquiectasias y la colonización o aislamiento previo de *P. aeruginosa* [8].

Neumonía adquirida en la comunidad. Los microorganismos causales de la NAC dependen de forma primordial de la gravedad del episodio en cuestión, de la epidemiología del área geográfica y de las comorbilidades del paciente. De forma clásica, los microorganismos más frecuentes se han estudiado estratificando a los pacientes en: ámbito ambulatorio, con ingreso hospitalario y en la UCI [9, 10] (tabla 1).

Microorganismos habituales y eficacia de los antibióticos orales

En la figura 1 se detalla de forma gráfica el espectro bac-

teriano de los distintos antibióticos orales frente a los microorganismos habituales en infecciones respiratorias.

Streptococcus pneumoniae. La emergencia de resistencia a los antimicrobianos en este microorganismo ha sido motivo de preocupación y ha dado lugar a un considerable número de estudios para su vigilancia epidemiológica [11, 12]. Éstos también han sido propiciados por el interés derivado del uso de vacunas frente a *S. pneumoniae* para prevenir la infección neumocócica invasiva. El porcentaje de aislados con sensibilidad reducida a las penicilina en España en 2017, publicado en el informe del European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-NET), fue de un 25% [13]. En la infección respiratoria y no meníngea, los puntos de corte para la penicilina que se utilizan son los del European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (sensible ≤0,06 mg/L) que difieren de los establecidos por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (sensible ≤2 mg/L)

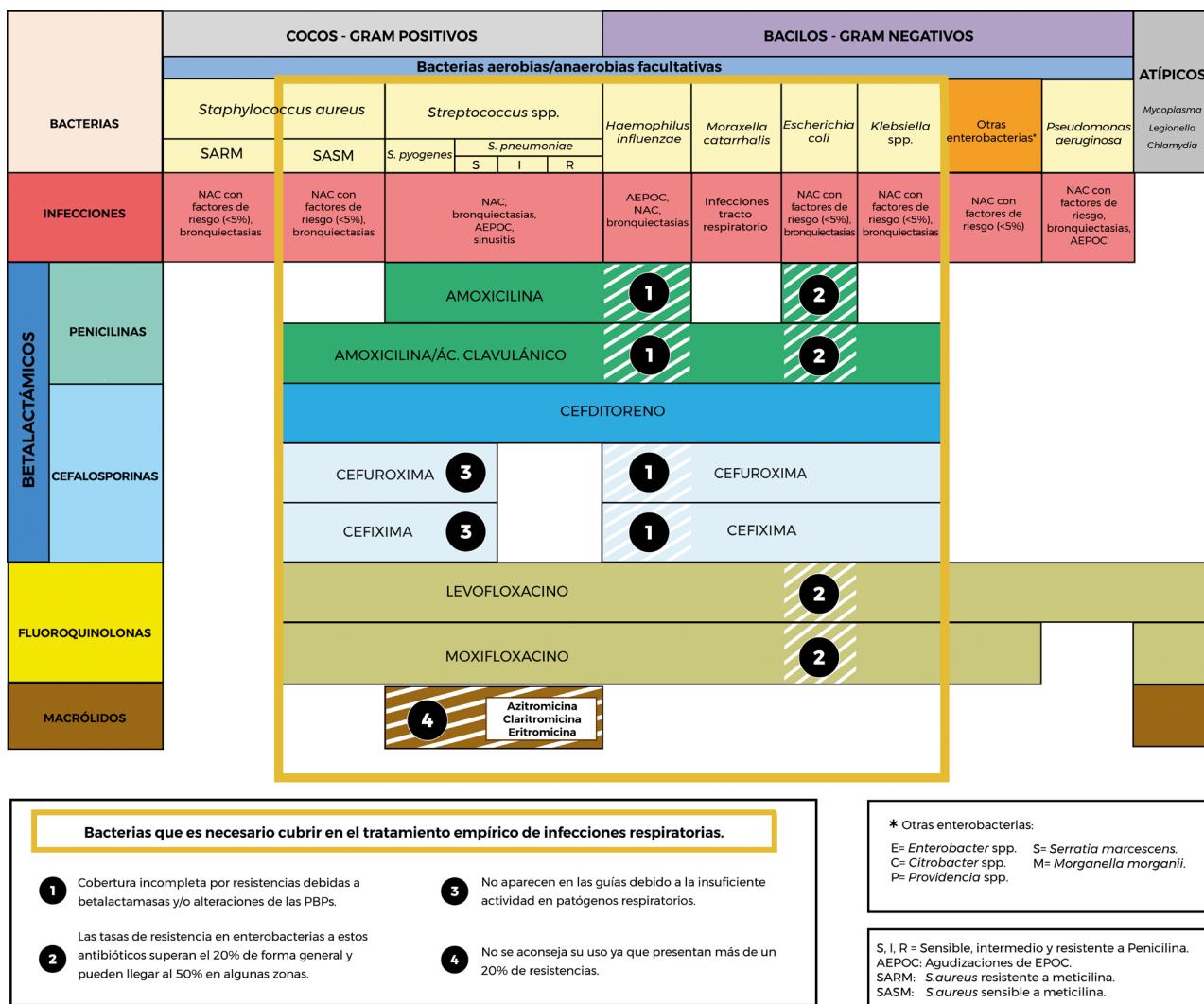


Figura 1 Representación esquematizada del espectro antimicrobiano de los principales antibióticos orales en el tratamiento de las infecciones respiratorias [143]

[14]. Frente a los macrólidos también se encuentra un elevado porcentaje de resistencia (21,8%) así como a penicilinas y macrólidos simultáneamente (12,4%). Domenech *et al.* [7], en aislados procedentes de pacientes con EPOC han encontrado una alta tasa de sensibilidad a penicilina (100%). De entre las cefalosporinas orales, cefditoren tiene mayor actividad que cefaclor, cefuroxima y cefixima frente a neumococo [15]. De hecho, cefditoren es la única cefalosporina oral incluida en las recomendaciones españolas para el manejo de la EPOC [3] y de la NAC [4].

Respecto a la actividad de los macrólidos frente a neumococo, la resistencia mediada por metilasas ribosomales es el mecanismo más frecuente y afecta a aquellos con anillos con una estructura con menos de 16 átomos (eritromicina, claritromicina y azitromicina).

***Haemophilus influenzae*.** La resistencia de *H. influenzae* a ampicilina y amoxicilina oscila en España entre un 20-25%, debido tanto a un mecanismo de resistencia no mediado por betalactamasas como a la producción de estas enzimas. En cepas que presentan los mecanismos de resistencia anteriores, puede haber menor sensibilidad también a las cefalosporinas orales como cefaclor o cefuroxima, aunque no frente a cefditoren. Las tasas de resistencia a cefalosporinas de 2^a generación (cefuroxima y cefaclor) varía entre 5-15% y es <1% para las de 3^a generación (ceftriaxona, cefotaxima y cefditoren) y las fluoroquinolonas [16].

***Moraxella catarrhalis*.** La mayoría de las cepas (75-95%) son productoras de betalactamasas (BRO-1 en el 90%, BRO-2 y BRO-3), por lo que son resistentes a las aminopenicilinas. Sin embargo, estos aislados son sensibles en un 99% a las fluoroquinolonas, amoxicilina-clavulánico y cefalosporinas de 3^a generación, porcentaje que es ligeramente inferior en las cefalosporinas de 2^a generación. En referencia a los macrólidos, la resistencia a claritromicina es menor que la de *H. influenzae*, teniendo azitromicina mejor actividad *in vitro* [16].

Tratamiento secuencial

La terapia secuencial surge para realizar la conversión del tratamiento endovenoso a la vía oral y puede hacerse con el mismo fármaco (*sequential therapy*), con otro antibiótico de la misma clase y equivalente (*switch therapy*) o bien con un antibiótico diferente (*step-down therapy*) [17]. En las exacerbaciones de la EPOC y NACs graves, la vía inicial de administración del fármaco es intravenosa, ya que proporciona un comienzo rápido del efecto del antibiótico y evita el paso del fármaco por el sistema gastrointestinal. Para que la terapia secuencial sea adecuada conviene que los antibióticos orales sean de la misma familia que los endovenosos [17] y de hecho, la mayoría de los antibióticos usados en la NAC y en la exacerbación de la EPOC disponen de formulación intravenosa y oral (tabla 2). En el caso de amoxicilina-clavulánico y fluoroquinolonas existen presentaciones del mismo antibiótico para ambas rutas. En el caso de las cefalosporinas intravenosas de 3^a generación, la terapia secuencial más adecuada es cefditoren por presentar similar espectro y actividad intrínseca [18].

Los beneficios de la estrategia secuencial son directos tanto para el paciente (mayor confort, alta precoz y menor riesgo de infección nosocomial), como para el sistema sanitario (reducción de la estancia hospitalaria y de los costes) [17]. Para cumplir este doble objetivo es preciso asegurar varios puntos: similar espectro bacteriano, buena biodisponibilidad, tolerancia gastrointestinal y baja selección de mutantes resistentes en el tubo digestivo. No obstante, cuando se realiza un tratamiento secuencial es conveniente valorar la posibilidad de proceder a un desescalado (reducción del espectro antibacteriano) respecto al tratamiento empírico inicial.

Athanassa *et al.* [19] realizaron un metaanálisis para evaluar la utilidad del tratamiento secuencial en la NAC hospitalizada con 6 ensayos aleatorizados (n=1.219 pacientes). Sus hallazgos muestran que no hay diferencias en los desenlaces cuando se realiza el paso a vía oral de forma precoz. Las diferencias se encuentran en menor

Tabla 2 Tratamiento secuencial recomendado según antibiótico (modificado de [166])

Antibiótico iv	Antibiótico oral	Biodisponibilidad (%)
Igual fármaco / similar AUC		
Levofloxacino 500 mg/ 24 h	Levofloxacino 500 mg/ 24 h	100
Moxifloxacino 400 mg/ 24 h	Moxifloxacino 400 mg/ 24 h	90
Clindamicina 600-900 mg/ 8 h	Clindamicina 450-600 mg/ 8 h	90
Igual fármaco / menor AUC		
Amoxicillina-clavulánico 1-2 g/125 mg/ 8 h	Amoxicilina-clavulánico 875 mg/125 mg/ 8 h	75
Clarithromicina 500 mg/ 12 h	Clarithromicina 500 mg/ 12 h	50
Azitromicina 500 mg/ 24 h	Azitromicina 500 mg/ 24 h	40
Diferente fármaco/ diferente AUC		
Ceftriaxona 1-2 g/24 h	Cefditoren 400 mg/ 12 h	-

AUC: área bajo la curva

número de días de estancia hospitalaria y de efectos adversos de los fármacos. Estos resultados se mantenían en pacientes con NAC grave. Como potenciales limitaciones están un número de pacientes no muy alto y la heterogeneidad de los estudios valorados.

Las sociedades científicas recomiendan pasar a tratamiento oral cuando el paciente ha alcanzado una estabilidad clínica o buena respuesta. En el Consenso Manejo Integral de la EPOC [3], se recomienda que los pacientes en tratamiento intravenoso con amoxicilina-clavulánico, fluoroquinolonas o macrólidos continúen con el mismo antibiótico vía oral y si recibían cefalosporinas endovenosas de 3^a generación, cefditoren oral es el fármaco de elección al disponer de un espectro similar. Blasi *et al.* [20] compararon cefditoren (5 días 200 mg/día) frente a levofloxacino (7 días 500 mg/día) en la exacerbación de EPOC, encontrando similar tasa de curación clínica, erradicación microbiológica y respuesta inflamatoria. Este estudio incluso señala que con el betalactámico los niveles de IL-6 descenden entre los días 6-9.

Recientemente, se ha evaluado el uso de un *point-of-care* de determinación de la proteína C reactiva (PCR) como herramienta para detectar la indicación del antibiótico en infecciones respiratorias en Urgencias, mostrándose seguro para su indicación apropiada, sin efectos adversos en la evolución. En este estudio, se prescribió un antibiótico en la visita inicial en el 47,7% de pacientes de la rama PCR frente a 69,7% en la rama de tratamiento indicado de forma habitual [21]. En una revisión de la Cochrane 2018 [22], los autores señalan que el uso de antibióticos en exacerbaciones leves puede reducir el fracaso terapéutico desde los 7 días hasta el mes de tratamiento. Tickoo *et al.* [23] encontraron que el uso de un panel diagnóstico de virus en las exacerbaciones leves /moderadas de la EPOC reducía el uso de antibióticos del 77 al 63% al alta de los pacientes.

En la recomendaciones de la NAC, consenso GNAC y en la NAC del anciano se recomienda entre los betalactámicos orales amoxicilina, amoxicilina-clavulánico y cefditoren [4, 24, 25].

Terapia combinada *versus* monoterapia

En la NAC el tratamiento empírico inicial recomendado para los pacientes que no requieren hospitalización plantea como dos opciones válidas, el uso de una fluoroquinolona en monoterapia o la asociación de un betalactámico y un macrólido. Esta son las recomendaciones SEPAR que se basan en la necesidad de ofrecer cobertura antibiótica frente a los microorganismos más frecuentes, que incluyen los patógenos intracelulares. En una revisión europea, los antibióticos betalactámicos son los más frecuentemente usados en monoterapia en el ámbito extra-hospitalario [25b]. Esto obedece a que existen diferencias entre las distintas sociedades científicas en cuanto a las recomendaciones para el tratamiento, basadas sobre todo en patrones de resistencia locales, distintos porcentajes de microorganismos causales y/o causas epidemiológicas.

Existe cierta controversia en el uso de terapia combinada. La SEPAR y el consenso GNAC [24] realizado por varias sociedades coinciden en indicar la asociación de un betalactámico y un macrólido en lugar de monoterapia,

tanto por las altas tasas de resistencia en nuestro país a los macrólidos, como por la prevalencia de bacterias atípicas y la mejor eficacia de esta asociación. El debate aún persiste. Un metaanálisis reciente [26] destaca el escaso efecto beneficioso de los macrólidos en el tratamiento de pacientes menos graves. Sin embargo, Asadi *et al.* [27] compararon los tratamientos con macrólido frente a una fluoroquinolona en 2.845 pacientes, encontrando menos ingresos hospitalarios y una menor mortalidad en el primer grupo (0,2% vs. 3,0%, $P = 0,02$).

En la neumonía grave, el efecto del macrólido se ha mostrado beneficioso y el aspecto más debatido se centra en la duración necesaria cuando se utiliza en terapia combinada. Por ello, si la respuesta clínica es adecuada, es suficiente con 5 días aunque podría acortarse dado que la azitromicina permanece mayor tiempo en tejido pulmonar [28, 29].

SEGUNDA CLAVE: SEGURIDAD DE LOS ANTIBIÓTICOSORALES USADOS EN LAS INFECCIONES RESPIRATORIAS

La administración de antibióticos, como sucede con cualquier otro medicamento, puede conllevar la aparición de efectos adversos (EA). La incidencia no se conoce bien, aunque algunos trabajos indican que puede alcanzar el 20% [30, 31]. Los EA más comunes de los antibióticos son reacciones alérgicas y daños orgánicos, y en su desarrollo intervienen: 1) la asociación con otros fármacos, 2) el empleo de altas dosis, y 3) factores relacionados con el huésped, como la gravedad y la comorbilidad [31].

En este apartado se analizan los principales EA de los antibióticos orales más usados en el tratamiento de las infecciones respiratorias: betalactámicos, penicilinas asociadas o no a inhibidores de betalactamasas y cefalosporinas, fluoroquinolonas y macrólidos (tabla 3).

Tabla 3 Principales efectos adversos de los antibióticos orales más usados en las infecciones respiratorias

Efectos adversos	Betalactámicos	Macrólidos	Fluoroquinolonas
Reacciones alérgicas	++	+	+
Gastrointestinales	++	++	++
Hepatobiliares	++ ^a	+	+
Neurológicos	+	+	++
Nefrototoxicidad	+	+	++
Cardiacos	+	++	+++
Hematológicos	+	+	+
Músculoesqueléticos	-	-	++
Óticos	-	+	-
Embarazo	-	+	+
Interacciones medicamentosas	-	++	-

^aAmoxicilina-clavulánico

Efectos adversos de los antibióticos betalactámicos

Reacciones alérgicas. Las reacciones alérgicas son uno de los EA más habituales de los betalactámicos. Pueden deberse a cualquiera de los cuatro tipos inmunológicos conocidos, pero el tipo 4 es el más frecuente (tabla 4). El tipo 1, de repercusión más grave y presentación más rápida (<1 hora), suele desaparecer con el tiempo debido al descenso paulatino de los anticuerpos IgE. Esto es habitual en el caso de la penicilina, de tal forma que el 80% de los pacientes vuelven a tolerarla tras una década [32, 33]. Asimismo, las aminopenicilinas pueden producir exantemas, al menos en un 30% de los casos, cuando se administran a pacientes que tienen una mononucleosis infecciosa [34].

Con respecto a las penicilinas, el radical bencilpeniciloil es el principal responsable de la alergia en la penicilina natural [35], mientras que en las penicilinas semisintéticas se debe a metabolitos únicos procedentes de la cadena lateral [36], por lo que las reacciones cruzadas son raras entre ellas [32]. La tasa histórica del 10% de alergia a la penicilina, parece ser más baja en la realidad, ya que el 95% de los pacientes considerados alérgicos, la mayoría sin documentación, toleran la penicilina [37-39]. Por último, el menor uso de penicilinas intravenosas ha producido un descenso de las reacciones alérgicas mediadas por IgE [40].

En el caso de las cefalosporinas, los principales determinantes son sus cadenas laterales [41, 42]. La historia autoinformada de alergia a las cefalosporinas es del 1-3% y las reacciones anafilácticas son mucho más raras (0,0001-0,1%)

[43, 44]. El riesgo de reactividad cruzada entre cefalosporinas y entre cefalosporinas y penicilinas es bajo por la heterogeneidad de sus cadenas laterales [45]. En este último caso, la frecuencia es del 5%, y aún más baja con las cefalosporinas de 3^a o superior generación [33, 46]. Pero puede ocurrir cuando hay similitud entre cadenas laterales como sucede entre aminopenicilinas (ampicilina y amoxicilina) y aminocefalosporinas (cefalexina, cefaclor, cefadroxilo, cefprozilo) [32, 47-49] (tabla 5).

La reactividad cruzada entre penicilinas y carbapenémicos es muy baja (<1%) [50, 51]. Hay pocos datos disponibles sobre reacciones cruzadas entre cefalosporinas y carbapenémicos [52, 53]. Lo mismo sucede entre aztreonam y otros betalactámicos, pero en general parece ser muy baja. La reactividad cruzada entre aztreonam y cefazidima es esperable ya que comparten la misma cadena lateral, por lo que el historial comprobado de alergia en cualquiera de ellos debe impedir tratamiento con el otro [54].

Neurotoxicidad. La neurotoxicidad de los betalactámicos se ha relacionado con la degradación del anillo betalactámico, que desciende la concentración del GABA, induce la liberación de endotoxinas y citoxinas, y excita algunos receptores. Los EA pueden ser propiamente neurológicos o psiquiátricos. La encefalopatía en forma de convulsiones, psicosis, confusión, alteraciones de la personalidad, parkinsonismo, ataques de pánico y mioclonías son los más habituales. Su incidencia es desconocida, pero parece poco frecuente (< 1%) y es mayor en las edades

extremas de la vida (recién nacidos y ancianos) y en caso de insuficiencia renal, enfermedades neurológicas preexistentes y administración concomitante con fármacos nefrotóxicos y anticonvulsivantes. Puede aparecer a los pocos segundos de la administración o tras más de 20 días, y normalmente es reversible con la retirada del fármaco o reducción de la dosis [55-57]. Las manifestaciones clínicas y la incidencia también dependen del betalactámico usado, y se han relacionado con los siguientes aspectos: peso molecular, lipofilia, unión a proteínas plasmáticas, bombas de flujo que lo devuelven al torrente sanguíneo (transportador de aniones de órganos), metabolismo en el sistema nervioso central y la presencia de meningitis que altera la permeabilidad de la barrera hematoencefálica, y la circulación del líquido cefalorraquídeo [55].

Gastrointestinales. Los betalactámicos orales, y en menor medida los intravenosos, producen con frecuencia náuseas, vómitos y diarrea de grado leve a moderado. Entre las penicilinas destaca ampicilina. Sin embargo, estos efectos se observan sobre todo con el

Tabla 4 Tipos de reacciones alérgicas en los betalactámicos

Tipo	Mediador	Tiempo inicio	Manifestaciones
1	IgE	<1 h	Urticaria, angioedema, rinitis, bronospasmo y anafilaxia
2	IgG, IgM y complemento	>72 h	Anemia hemolítica y trombocitopenia
3	Inmunocomplejos	>72 h	Glomerulonefritis y enfermedad del suero
4	Linfocitos T	>72 h	Fiebre, exantema (maculopapular, morbiliforme, bulloso), erupción pustular, edema, síndrome de Stevens Johnson, necrolisis epidémica tóxica, DRESS, nefritis, hepatitis, eosinofilia, ...

DRESS: Drug Reaction Eosinophilia and Systemic Symptoms

Tabla 5 Posibles reacciones cruzadas de los betalactámicos orales debidas a similitudes en las cadenas laterales

Penicilinas / cefalosporinas		Cefalosporinas / cefalosporinas			
Ampicilina	Amoxicilina	Cefuroxima	Cefaclor	Cefixima	Cefditoren
Cefaclor	Cefadroxilo	Cefoxitina	Cefalexina	Cefdinir	Cefotaxima
Cefalexina	Cefprozilo				Ceftriaxona Ceftazidima

ácido clavulánico, particularmente cuando se administra a dosis >250 mg, por lo que se recomienda no superar los 125 mg en cada dosis. Esta pauta queda comprometida si se necesita incrementar la dosis de amoxicilina por vía oral, ya que obliga a administrar amoxicilina y amoxicilina-clavulánico a la vez [32, 58]. Todos los betalactámicos se han relacionado con la aparición de diarrea asociada a *Clostridioides difficile* por la alteración que producen en la microbiota intestinal, particularmente la anaerobia, por lo que probablemente sea más acusada con fármacos con actividad frente a estos últimos patógenos (ampicilina y amoxicilina) [59, 60]. Los betalactámicos de administración parenteral han sido los más estudiados a este respecto [61–64].

Hepatobiliares. Amoxicilina-clavulánico es el medicamento más hepatotóxico. Produce una lesión mixta, hepatocelular y colestásica, retardada que aparece a los 15-30 días de iniciar el tratamiento y puede prolongarse bastante tiempo. Normalmente es de tipo reversible y no suele dejar secuelas. La edad avanzada y la duración del tratamiento han mostrado ser unos factores de riesgo [65, 66]. Se han propuesto varios mecanismos por los que los betalactámicos pueden causar alteraciones hepatobiliarias: alérgicos, reacciones idiosincrásicas, daño directo sobre los hepatocitos y estasis por precipitación del fármaco [65]. Otros betalactámicos como penicilina G o V y las penicilinas isoxazólicas también pueden ocasionar este tipo de lesiones, sin embargo, son raras en las cefalosporinas [66].

Nefrotoxicidad. Los betalactámicos actuales son considerados poco nefrotóxicos y fundamentalmente producen nefritis intersticial que se relaciona con la concentración sérica del antibiótico [32, 60, 67]. La tasa de nefrotoxicidad de las cefalosporinas es muy baja (0,15%) y es mayor en los hombres que en las mujeres [68]. La combinación de vancomicina con piperacilina-tazobactam ha resultado ser más nefrotóxica que la vancomicina en monoterapia o con otro betalactámico [69].

Hematológicos. Las alteraciones hematológicas más frecuentes de los betalactámicos son agranulocitosis, neutropenia, anemia hemolítica inmunológica (mediada por IgG o complemento) y trombopenia. El 25% de las agranulocitosis se deben al uso de betalactámicos de mecanismo incierto [32]. La neutropenia se ha observado con más frecuencia con ceftarolina y piperacilina-tazobactam [70, 71], la anemia hemolítica inmunológica con las cefalosporinas y piperacilina-tazobactam [72–74], y la trombocitopenia tanto con las penicilinas como con las cefalosporinas, y suele aparecer a partir del 10º día de tratamiento [32].

Efectos adversos de los macrólidos

Los macrólidos más utilizados en la actualidad son claritromicina y azitromicina, que han desplazado a eritromicina por tener mejor posología y tolerancia.

Reacciones alérgicas. Las reacciones alérgicas con los macrólidos son raras e incluyen lesiones cutáneas, fiebre y

eosinofilia. Los cuadros más graves, como el síndrome de Stevens-Johnson y la necrolisis epidérmica tóxica, son excepcionales. Suelen desaparecer con la retirada del fármaco y puede haber reacciones cruzadas entre ellos [75, 76].

Neurotoxicidad. Los efectos neurológicos son escasos y consisten fundamentalmente en cefalea y mareos. No obstante, también se han comunicado casos de delirio, alucinaciones, catatonía y movimientos coreiformes [77].

Gastrointestinales. Las alteraciones gastrointestinales (náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal y alteración del gusto en el caso de claritromicina) son los EA más frecuentes de los macrólidos. Se deben a que inducen la liberación endógena de motilina con efecto procinético intestinal [78, 79].

Hepáticos. Los macrólidos sólo suelen producir elevaciones de las transaminasas leve-moderadas, generalmente reversibles y con predominio de la lesión hepatocelular sobre la colestásica [80, 81].

Hematológicos. Este tipo de EA son infrecuentes con los macrólidos. No obstante, con claritromicina se ha descrito leucopenia, agranulocitosis y trombopenia con púrpura en algunos casos [82, 83].

Cardiacos. La prolongación del intervalo QTc es un EA característico de los macrólidos. Se produce por el bloqueo de los canales del potasio localizados en el miocito. La consecuencia es un aumento del potasio intracelular con retraso de la repolarización celular que puede dar lugar a una taquicardia ventricular polimorfa (*Torsade de Pointes*). Cuando esta taquicardia se observa en un paciente en tratamiento con un macrólido, suele existir previamente algún otro factor de riesgo, como predisposición genética, cardiopatía estructural, arritmias, hipocalcemia, hipomagnesemia, edad avanzada y tratamiento concomitante con otros fármacos que prolongan el QTc, entre los que se encuentran los antiarrítmicos de los grupos Ia o III. Curiosamente, este aumento del QTc es más frecuente en la mujer que en el hombre. Esta alteración puede aparecer con independencia de la dosis, pero con azitromicina es más probable cuando se incrementa la misma. La incidencia de la prolongación del QTc aumenta según el macrólido utilizado en el siguiente orden creciente: eritromicina > claritromicina > azitromicina [84–87].

Ototoxicidad. La pérdida de audición y los tinnitus se han observado fundamentalmente con la administración prolongada de macrólidos a dosis elevadas, que puede llegar a ser irreversible. Parece que es debida a una disfunción transitoria de las células ciliadas en el oído interno [88].

Riesgo en el embarazo y lactancia. Claritromicina pertenece a la categoría de C de la FDA y por tanto no se recomienda durante el embarazo. Por el contrario, azitromicina está clasificada en la categoría B y no está contraindicada, ya que en estudios observacionales no se ha apreciado un mayor riesgo de malformaciones congénitas. Ambas, claritromicina y azitromicina se excretan en la leche materna [89].

Interacciones medicamentosas. Las interacciones medicamentosas son un problema habitual de los macrólidos por su capacidad para inhibir al citocromo P450 (grupo 3A4). Son menos relevantes con azitromicina. La co-administración de macrólidos con ciertos fármacos puede alterar su metabolismo y por tanto aumentar el riesgo de toxicidad [90, 91] (tabla 6).

Tabla 6	Interacciones medicamentosas de macrólidos y fluoroquinolonas
Macrólidos	Fluoroquinolonas
Digoxina	Olanzapina
Nelfinavir	Haloperidol
Ergotamina o dihidroergotamina	Amitriptilina
Tacrolimus	Imipramina
Terfenadina	Duloxetina
Ciclosporina	Verapamilo
Hexobarbital	Propanolol
Estatinas	Teofilina
Fenitoína	Cafeína
Rifampicina	
Warfarina	

Efectos adversos de las fluoroquinolonas

Las fluoroquinolonas más usadas por vía oral en nuestro entorno son ciprofloxacino, levofloxacino y moxifloxacino.

Neurológicos. Los EA localizados en el sistema nervioso periféricos suponen < 1%, su espectro clínico es muy amplio e incluye hipoestesia, hiperestesia, alodinia, paresia, síndrome de Guillain Barré y polineuropatía periférica aguda [92]. La afectación del sistema nervioso central puede llegar hasta el 2% y también es muy variada: ansiedad, inquietud, nerviosismo, euforia, alucinaciones, delirio, manía, psicosis, encefalopatía, disquinesia orofacial, mioclonía, ataxia, disartria, corea, mareo y convulsiones [92]. El efecto proconvulsionante de las fluoroquinolonas se debe al parecido de la estructura molecular de algunas de ellas con el GABA, al que desplaza y ocupa sus receptores, evitando su efecto inhibidor [93, 94]. Se ha propuesto otro mecanismo consistente en la elevación de los niveles cerebrales de glutamato y de óxido nítrico que aumenta el estrés oxidativo y nitrosativo [95]. Por último, también parece existir una predisposición genética en algunos pacientes [96].

Cutáneos. Las fluoroquinolonas se asocian con la aparición de diferentes lesiones cutáneas (eritemas, bullas, púrpura y pigmentaciones cutáneas) y fototoxicidad. Esta última está muy relacionada con la estructura de las fluoroquinolonas, en particular con la adición de un átomo de un halógeno en la posición 8 de la molécula, mientras que disminuye si la sustitución es un grupo metoxi. La probabilidad de fototoxicidad sigue este orden creciente: ciprofloxacino > levofloxacino > moxifloxacino [92, 97].

Digestivos. Los EA más frecuentes de las fluoroquinolonas son los digestivos: dispepsia, náuseas, vómitos y diarrea. Las náuseas y vómitos también pueden ser de origen central por neurotoxicidad [92]. Las alteraciones hepáticas consisten habitualmente en elevaciones leves de las transaminasas [66, 92]. Las fluoroquinolonas, como otros antibióticos, también son un factor de riesgo para la aparición de diarrea asociada a *C. difficile* [62]. Algunos estudios sugieren que es más común con moxifloxacino, probablemente debido a su actividad frente a anaerobios y mayor concentración en las heces al ser eliminada por vía biliar [97, 98].

Cardiovasculares. Las fluoroquinolonas producen un incremento del intervalo QTc por el mismo mecanismo que los macrólidos y con idénticas consecuencias, es decir aumentan el riesgo de arritmias ventriculares como la *Torsade de Pointes*, que puede conllevar un paro cardíaco e la incluso muerte. El riesgo del incremento del QTc varía según la fluoroquinolona (moxifloxacino > levofloxacino > ciprofloxacino) [97]. Los factores de riesgo son similares a los de los macrólidos: sexo femenino, cardiopatías previas, hipotasemia, hipomagnesemia, dosis altas de fluoroquinolona y administración concomitante con otros fármacos que también incrementan el intervalo QTc como los antiarrítmicos de la clase Ia (quinidina) y III (amiodarona), entre otros [86, 99, 100].

Alteraciones del colágeno. El tratamiento con fluoroquinolonas se ha asociado tradicionalmente con un aumento del riesgo de condropatía y tendinopatía (tendinitis y rotura tendinosa, sobre todo del tendón de Aquiles) y más recientemente con el desprendimiento de retina, aneurismas de aorta torácicos y disección aguda de aorta [101]. Se han implicado varios mecanismos en la producción de estos EA, algunos de los cuales son comunes. La alteración del colágeno, presente en todas estas estructuras, parece el principal [101–105]. El colágeno supone el 70% de la composición de los tendones con predominio del tipo I (90%) sobre el tipo III (10%). En la aorta es un componente importante de la capa media, aunque la proporción de los tipos está invertida [102]. Las fluoroquinolonas alcanzan una gran concentración en el tejido conjuntivo y producen un incremento de la actividad proteolítica de un grupo de enzimas denominadas metalproteinasas dependientes del Zinc que de forma natural degradan el colágeno y la elastina [102–105]. Por otro lado, se han descubierto unas glucoproteínas transmembrana, llamadas β 1 integrinas, localizadas en las células de los cartílagos y tendones, dependientes del magnesio, encargadas de la comunicación intercelular, entre células y la matriz, y de la activación de la *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) que interviene en la diferenciación y supervivencia de los condrocitos. Las fluoroquinolonas, por su capacidad de fijar cationes divalentes con los que forman complejos, hace lo propio con el magnesio y consecuentemente alteran la función de estas integrinas β 1, que favorece la destrucción tisular y la apoptosis celular, como se ha comprobado por el incremento de caspasa 3. Este déficit de magnesio es más notable en el cartílago y tendón que en otros tejidos ya que carecen de irrigación sanguínea y la compensación es más lenta. La adición de magnesio reduce este efecto deletéreo de las fluoroquinolonas [106–108]. Estás lesiones son

más pronunciadas con ciprofloxacino que con levofloxacino y en presencia de esteroides [106, 108]. Hasta ahora, la condrotoxicidad de las fluoroquinolonas sólo se ha comprobado en cartílagos inmaduros de animales. La ausencia en humanos puede explicarse por la forma del crecimiento de su cartílago, lenta y con períodos de latencia, a diferencia de la de los animales usados en experimentación, más rápida y continua, y por el hecho de que las fluoroquinolonas sólo dañan el cartílago en evolución [108].

Los problemas tendinosos se observan preferentemente en adultos de más de 60 años, a diferencia de la condropatía, que acontece en las etapas de crecimiento, y su asociación con el uso de fluoroquinolonas ha sido plenamente aceptada por la comunidad médica. La tendinitis se suele manifestar con dolor, inflamación e hinchazón del tendón afecto, que pueden prolongarse durante semanas y acabar en una rotura del mismo. La rotura tendinosa puede ocurrir tras un periodo asintomático de latencia de semanas [108]. El riesgo de rotura del tendón de Aquiles es 4,1 veces mayor con la utilización de fluoroquinolonas y son más susceptibles los atletas y los pacientes de más de 60 años, con insuficiencia renal y en tratamiento con esteroides [109–113].

Varios estudios publicados en los últimos años, empleando diferentes métodos y poblaciones, y dos metaanálisis han mostrado una asociación significativa de las fluoroquinolonas con los aneurismas de aorta torácicos y la disección aórtica, aunque la relación causal definitiva no está todavía probada [101, 113–119]. Asimismo, se ha observado que el riesgo es mayor con el tratamiento actual que con el previo, con la duración > 14 días, la prescripción de antibióticos en los 60 días previos y con la edad > 70 años [113–115].

La relación entre las fluoroquinolonas y el desprendimiento de retina no es tan clara [101, 120–122]. En esta falta de asociación podrían intervenir el predominio del colágeno de tipo II en la interfase vitreoretiniana en vez del I y III, y la ausencia de tensión a la que están sometidos los tendones y la aorta [113, 123].

Alteración de la glucemia. Las alteraciones de la glucemia, tanto por defecto como por exceso, también se han observado con el uso de las fluoroquinolonas, particularmente con moxifloxacino. La hipoglucemia parece ser debida al bloqueo de los canales de potasio en los islotes pancreáticos que libera insulina, y la hiperglucemia a la vacuolización de las células β pancreáticas que reducen su secreción de insulina y a la producción de epinefrina que es un regulador de la glucemia [92, 124, 125].

Interacciones medicamentosas. La absorción oral de las fluoroquinolonas puede verse afectada cuando se administran junto a antiácidos que contienen magnesio y aluminio con los que forman complejos, particularmente cuando se administran en las dos horas previas. Este efecto puede obviarse si los antiácidos se toman al menos dos horas después de la fluoroquinolona [92, 126]. Ciprofloxacino es un inhibidor del CYP1A2 y puede alterar el aclaramiento de algunos fármacos: olanzapina, haloperidol, amitriptilina, imipramina, duloxetina, verapamil, propanolol, teofilina y cafeína. Levofloxacino se elimina mayoritariamente por vía renal inmodificado y moxifloxacino se glucuroniza en el hígado (tabla 6) [92, 127, 128].

Riesgo en el embarazo y lactancia. Las fluoroquinolonas, como los macrólidos, están incluidos en la categoría C de la FDA sobre el uso de fármacos en el embarazo, es decir esta agencia no recomienda su uso bajo esta circunstancia si hay otra alternativa disponible. Además, las fluoroquinolonas atraviesan la placenta y pueden ser detectadas en el líquido amniótico a bajas concentraciones. Sin embargo, hay varios estudios en los que el uso de fluoroquinolonas en el embarazo no se ha seguido de forma significativa de un aumento de abortos, malformaciones congénitas y recién nacidos con bajo peso, ni de un descenso de embarazos a término [129].

El conjunto de estos EA de las fluoroquinolonas antes descritos ha sido valorado a lo largo de estos últimos años por las principales agencias reguladoras de medicamentos (FDA y EMA), llegando a la conclusión de que algunos son incapacitantes de larga duración y potencialmente permanentes.

En consecuencia, recomiendan a los médicos que no deben usar estos fármacos en las siguientes situaciones:

- Tratamiento de infecciones autolimitadas o leves (faringitis, amigdalitis y bronquitis aguda)
- Profilaxis de la diarrea del viajero o de las infecciones recurrentes de las vías urinarias bajas
- Infecciones no bacterianas (prostatitis no bacteriana)
- Infecciones leves o moderadas (cistitis no complicadas, exacerbaciones agudas de EPOC, rinosinusitis bacteriana aguda y otitis media aguda), a menos que no se puedan emplear otros antibióticos comúnmente recomendados
- En pacientes con antecedentes de reacciones adversas graves tras la administración de este tipo de antibióticos

Asimismo, recomiendan una especial precaución del uso de fluoroquinolonas en pacientes con: edad avanzada, insuficiencia renal, trasplante de órganos sólidos o tratamiento concomitante con corticosteroides. Por último, aconsejan a los médicos que indiquen a los pacientes que interrumpan el tratamiento y acudan a un facultativo ante la aparición de los primeros signos/síntomas sugestivos de una reacción adversa como: tendinitis, rotura tendinosa, neuropatía periférica y efectos sobre el sistema nervioso central [130–133].

TERCERA CLAVE: ECOLOGÍA Y DESARROLLO DE RESISTENCIAS EN LA INFECCIÓN RESPIRATORIA EN LA COMUNIDAD

El uso de un antimicrobiano en cualquier tipo de infección tiene como objetivo la eliminación del microrganismo causante de la misma. No obstante, condicionado por un efecto darwiniano de selección, los antimicrobianos pueden determinar el desarrollo de resistencias, no solo en el propio microorganismo infectante sino también en los microrganismos que integran la microbiota del paciente. Ambas situaciones pueden producirse simultánea o separadamente durante el curso del tratamiento antimicrobiano.

Dado que las infecciones respiratorias constituyen una de las patologías más prevalentes y que la demanda de antimicrobianos es muy alta, es importante comprender el desarrollo de resistencias en el contexto de la ecología de la microbiota respiratoria.

crobianos en estas infecciones es elevada, sobre todo en números absolutos en el ámbito extrahospitalario, su potencial impacto en el desarrollo de resistencias es muy elevado [134]. Se ha documentado ampliamente el desarrollo de resistencia durante el tratamiento de procesos respiratorios crónicos como los que se incluyen en la denominada colonización o infección bronquial crónica. Es habitual que los pacientes con este tipo de infección, como la que se produce en el contexto de la EPOC, la bronquitis crónica o las bronquiectasias, precisen durante las exacerbaciones la utilización de diferentes ciclos de tratamiento con antimicrobianos [135, 136]. En la NAC el proceso de selección es menos probable y depende del tipo de antimicrobiano, la dosis o la duración del tratamiento [137].

En este apartado se revisarán algunos de los conceptos que marcan el desarrollo de resistencia a los antimicrobianos en relación a los patógenos bacterianos que producen infección respiratoria en los pacientes extrahospitalarios, así como su posible impacto sobre la microbiota del paciente y el diferente efecto que ejercen entre ellos.

Selección de mutantes resistentes en el foco de la infección, ventana de selección y concentración preventiva de mutantes

El desarrollo de resistencias a los antimicrobianos en el patógeno responsable de la infección está condicionado tanto por las características del antibiótico utilizado y el microorganismo causante de la infección en relación a los mecanismos de resistencia como por el lugar de la infección. En la infección respiratoria, sobre todo en situaciones asociadas a un proceso crónico, como la EPOC o el paciente con bronquiectasias, el inóculo bacteriano es elevado (10^7 ufc/ml), muy superior al que existe en el compartimento sanguíneo cuando se produce una bacteriemia (10^2 - 10^3 ufc/ml) [136]. Durante las exacerbaciones de la infección crónica que acontece en estas situaciones puede incrementarse aún más este inóculo y en este caso, la probabilidad de que existan mutantes resistentes dentro de la población bacteriana es muy elevada y lo que es más peligroso, su persistencia en el tiempo. El antibiótico, una vez que ha sido administrado y ha alcanzado el lugar de la infección, por ejemplo, la mucosa respiratoria o el líquido de revestimiento epitelial, ejercerá su efecto inhibitorio o letal sobre la subpoblación sensible mayoritaria, pero no sobre la subpoblación resistente minoritaria que podría hacerse mayoritaria durante el curso del tratamiento antimicrobiano [138]. Se ha comprobado que la ausencia de erradicación bacteriana con el tratamiento antimicrobiano en las exacerbaciones en la EPOC o en la bronquitis crónica se asocia con una mayor probabilidad de desarrollo de resistencias [139].

La selección de mutantes resistentes se produce típicamente en un rango de concentraciones denominado "ventana de selección". Su límite inferior está delimitado por una concentración similar a la de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y el límite superior por la denominada concentración preventiva de mutantes (CPM). Este último valor, sería la concentración mínima óptima de antimicrobiano que debería alcanzarse en el lugar de la infección para evitar que se seleccionen los mutantes resistentes, ya que a esta concentración o por encima de ella, los antimicrobianos podrían continuar ejerciendo su efecto inhibitorio o letal sobre estos mutantes [138]. La figura 2 ilustra la probabilidad de que esto ocurra en tres situaciones: cuando las concentraciones de antimicrobiano en el foco de infección se mantienen por debajo de la CMI, cuando se sitúan en valores correspondientes a la ventana de selección o cuando alcanzan valores por encima del valor de la CPM.

Se ha comprobado en modelos *in vitro* que algunas fluoroquinolonas, como ciprofloxacino, tienen una ventana de selección amplia frente a *S. pneumoniae* o *P. aeruginosa* en comparación con la que presentan otras como levofloxacino [140]. En modelos animales o durante la administración de los antimicrobianos, la selección de los mutantes resistentes puede ser algo más compleja ya que estaría también relacionada con la farmacocinética del antibiótico en el lugar de la infección (por ejemplo la concentración en el líquido de revestimiento epitelial en la infección respiratoria), la duración del tiempo en el que se alcanzan concentraciones iguales o super-

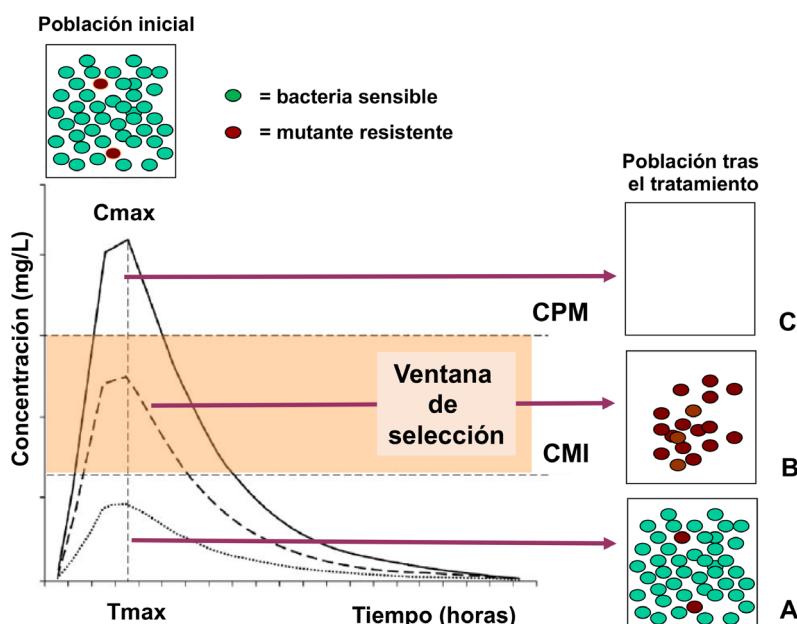


Figura 2 | Emergencia de mutantes resistentes en las poblaciones bacterianas durante el tratamiento antimicrobiano.

Se produce con mayor probabilidad cuando la concentración del antimicrobiano se encuentra por encima del valor de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y por debajo de la concentración preventiva de mutantes (CPM) (ventana de selección) (B), siendo menor si se supera el valor de la MPC (C). Cuando la concentración está por debajo de la CMI (A), el efecto de selección sería bajo al no ejercerse un efecto letárgico en la población bacteriana sensible o en la resistente.

riores a la CPM y la actividad intrínseca del antimicrobiano y su farmacodinamia (CMI y efecto bactericida o bacteriostático). Este hecho se complica por la compartimentalización del nicho ecológico del trato respiratorio ya que las concentraciones del antimicrobiano pueden no ser homogéneas en toda su extensión, así como el inóculo bacteriano, situación más evidente en la infección respiratoria crónica. Es por ello por lo que en la infección bronquial crónica pueden coexistir diferentes poblaciones de una misma cepa con expresión de diferentes valores de sensibilidad. Esta situación se ha estudiado ampliamente con *P. aeruginosa* en el paciente con fibrosis quística o con bronquiectasias [141].

Selección de mutantes resistentes en relación al mecanismo de resistencia: resistencia por mutaciones o ligadas a elementos de transferencia horizontal

Un aspecto que también ha de tenerse en cuenta es cómo se producen los propios mecanismos de resistencia a los antimicrobianos. El modelo de selección anteriormente explicado es fácilmente comprensible para aquellos mecanismos que se relacionan con mutaciones en genes cromosómicos, como las que confieren resistencia a las fluoroquinolonas, que se produce por mutaciones en las girasas o topoisomerasa, o a los betalactámicos, debido a mutaciones en las PBPs (proteínas fijadoras de penicilinas) o en los genes de regulación de los mecanismos de eflujo. Ejemplos de ello serían la resistencia a las fluoroquinolonas en *S. pneumoniae*, a la penicilina o a las cefalosporinas de 3^a generación (cefotaxima o ceftriaxona) en este mismo microorganismo o a la ampicilina no mediada por betalactamasas en *H. influenzae* y a algunos betalactámicos antipseudomónicos en *P. aeruginosa*.

En el caso de los mecanismos de resistencia adquiridos, por ejemplo, la producción de betalactamasas en *H. influenzae* o en *M. catarrhalis* ligadas a la adquisición de plásmidos (elementos extracromosómicos que pueden albergar genes de resistencia y que se transmiten entre las bacterias), la selección podría producirse una vez que el microorganismo adquiriese estos elementos de resistencia o, simplemente, cuando el paciente se infecta por un microorganismo con este mecanismo de resistencia, situación que impediría la acción adecuada del antimicrobiano.

Los mecanismos de resistencia por mutación y por transferencia de genes no son excluyentes entre sí en un mismo microorganismo y pueden afectar a un solo antimicrobiano, a antimicrobianos de la misma familia o a antimicrobianos de diferentes familias. En este sentido, la resistencia en *H. influenzae* está aumentando en algunas áreas geográficas no solo por la adquisición de genes relacionados con la producción de betalactamasa sino también por mutaciones en los genes cromosómicos de las PBPs (esencialmente el gen *fsl* que codifica la PBP3) [142]. Como consecuencia de ello se produce resistencia a las aminopenicilinas (ampicilina y amoxicilina) pero también a la asociación de amoxicilina con el ácido clavulánico y a las cefalosporinas de 1^a (cefaclor) y 2^a generación (cefuroxima). Estos aislados se denominan "betalactamasa positivo resis-

tes a amoxicilina-clavulánico" (BLPACR). Las cefalosporinas de tercera generación tendrían una afectación parcial e incluiría a cefotaxima y cefixima, siendo mucho más estable cefditoren. Esta situación se ve reflejada en diferentes estudios epidemiológicos que recogen valores similares o escasamente incrementados de CMI₉₀ en las cepas de *H. influenzae* "betalactamasa negativa" ($\leq 0.0\text{--}0.06$ mg/L) y de aquellas que producen betalactamasa "betalactamasa positivo" ($\leq 0.03\text{--}0.06$ mg/L), "resistentes a ampicilina no productoras de betalactamasas" (BLNAR) (0,03-0,06 mg/L) y BLPACR (0,06 mg/L). Los valores correspondientes de CMI₉₀ para amoxicilina-clavulánico serían 1-8 mg/L, 2-4 mg/L, 4 mg/L y 8 mg/L, respectivamente, y para cefuroxima 1-8 mg/L, 2-8 mg/L, 2-16 mg/L y 16 mg/L, respectivamente [143].

La frecuencia de aislados de *H. influenzae* BLNAR con mutaciones en el gen *fsl* que afectan a la PBP3 se ha incrementado en países como Japón en los que el uso de cefalosporinas orales es muy elevado [142]. En modelos *in vitro* en los que se favorece la transformación (proceso por el que determinadas bacterias pueden adquirir fragmentos de DNA exógeno, incluyendo genes de resistencia) se ha comprobado que la ventana de selección de los transformantes con el gen *fsl* mutado para las penicilinas es inferior a la de las cefalosporinas. Sin embargo, entre estas últimas existe una gran variación ya que el cefditoren es la cefalosporina oral que previene el proceso de transformación con menor concentración (0,06-0,5 mg/L) siendo muy elevada la concentración que se precisaría en el caso de la cefuroxima (>16 mg/L) [144]. Las concentraciones de cefditoren que se alcanzan en el lugar de la infección impedirían esta transformación y su efecto bactericida prevendría igualmente su emergencia [145-147].

Este tipo de estudios no se ha realizado hasta la fecha con cefalosporinas orales y *S. pneumoniae*. Sin embargo, se ha comprobado en modelos dinámicos *in vitro* con aislados con diferentes PBPs mutadas (*pbp1a*, *pbp2x* y *pbp2b*) que estas mutaciones afectan drásticamente a los valores de CMI de penicilina (2-4 mg/L), cefuroxima (4 mg/L), cefixima (16 mg/ml), cefaclor (64 mg/ml) y en menor medida al cefditoren (0,5-1 mg/L), debido en parte a que este último antimicrobiano mantiene un efecto de reducción del inóculo bacteriano ($>2 \log_{10}$) frente a estos aislados a las 24 horas, efecto que no se llega a producir con amoxicilina y el resto de las cefalosporinas ensayadas. Este efecto se mantiene en poblaciones mixtas de aislados de *S. pneumoniae* con y sin mutaciones en las PBPs que mimetizarian escenarios en el que podrían emerger mutantes con genes de PBPs que se asocian con resistencia a la penicilina y las cefalosporinas [148]. Esta situación, unida nuevamente a la mejor actividad intrínseca del cefditoren con respecto a otros betalactámicos, incluso en los mutantes resistentes que podrían emerger, abogaría por una menor posibilidad de selección *in vivo* de los mismos con el tratamiento con este antimicrobiano [149].

Un peligro futuro, no solo en la ecología de *S. pneumoniae* sino también en la de *H. influenzae*, es la emergencia y dispersión de aislados resistentes a las cefalosporinas de tercera generación. En *S. pneumoniae* está ampliamente documen-

Tabla 7

Efecto ecológico de los antimicrobianos sobre la microbiota intestinal, incluyendo el desarrollo (emergencia) de resistencia (datos tomados de las referencias [53–56]).

Agente	Impacto en microbiota			Emergencia de resistencia			Sobrecrecimiento de <i>C. difficile</i>
	Grampositivos aerobios	Enterobacterias	Bacterias anaerobias	Enterococos	Enterobacterias	Bacteroides	
Penicilinas	↑	↑	↑↓	-	+	-	(+)
Penicilina-inhibidores de betalactamasas	↑	↑	↓	-	+	+	-
Cefalosporinas	↑	↓↓	↓	-	(+)	-	(+)
Carbapenémicos	↑	↓	↓	-	-	-	-
Quinolonas	↓	↓↓	↓	-	+	(+)	+
Macrólidos	↑↓	↓↓	↓	(+)	+	+	-
Glucopéptidos	↑↓	↑	↓	+	-	-	-
Oxazolidinonas	↓	↑	↓↓	(+)	-	+	-
Cotrimoxazol	-	↓↓	-	-	(+)	-	-

↑: aumento de las poblaciones; ↓: disminución de las poblaciones; +: emergencia de resistencia o sobrecrecimiento; (+): escasa emergencia de resistencia o sobrecrecimiento; -: ausencia de emergencia de resistencia o de sobrecrecimiento

tada la existencia y dispersión de dichos aislados y su limitación en un futuro podría conseguirse con el aumento en el uso de las vacunas frente a serotipos de este microorganismo con resistencia elevada a penicilina y/o cefalosporinas y al uso de antimicrobianos, tal como se indicó en el párrafo anterior, con mayor actividad intrínseca frente a los aislados resistentes [12]. En *H. influenzae*, se ha documentado en algunos países (Francia, Japón) que la perdida de actividad de cefotaxima y ceftriaxona frente a este patógeno se debe a mutaciones adicionales (8350N, S357N, M377I y S385T) a las encontradas habitualmente (G555E y Y557H) en el gen *ftsI* [150, 151]. Estos aislados son poco frecuentes en España, pero debido a la globalización y situación geográfica de nuestro país podrían aumentar en un futuro [152].

Es por ello necesario conocer la epidemiología de los mecanismos de resistencia y su prevalencia tanto a nivel mundial como regional para poder adaptar las guías terapéuticas a la epidemiología local [136, 153].

Efecto de los antimicrobianos sobre el microbioma: daño colateral y resistencia de colonización

El uso de los antimicrobianos puede también ejercer un efecto deletéreo sobre los microorganismos que forman parte de las comunidades bacterianas que colonizan de manera habitual y natural los diferentes territorios del organismo. En el caso de las infecciones respiratorias, debe evaluarse el efecto de los antimicrobianos tanto en la microbiota del trato respiratorio como en la de otras localizaciones, esencialmente en el tracto intestinal. Este hecho se denomina "daño colateral" e implica el efecto ecológico negativo de los antimicrobianos sobre la microbiota, incluyendo el desarrollo o emergencia de resistencia [154]. Ha sido medido mayoritariamente en el tracto intestinal, ya que es lugar donde existe un mayor número

de bacterias integrando la microbiota y por ello donde es más fácil que se produzcan efectos deletéreos y selección de bacterias resistentes. También suele incluirse en el daño colateral la emergencia de infección por *C. difficile* (ICD) [155]. La aplicación de nuevas técnicas de secuenciación ha ampliado la visión del efecto ecológico que ejercen los antimicrobianos sobre la microbiota intestinal y su impacto a corto y medio plazo.

El efecto de las diferentes familias de antimicrobianos sobre la microbiota intestinal ha sido revisado con relativa frecuencia [156–159]. La tabla 7 recoge globalmente el impacto de distintas familias de antimicrobianos sobre diferentes grupos de microorganismos, la posible emergencia de mecanismos de resistencia y el efecto sobre *C. difficile*. El hecho de que estas situaciones puedan darse depende de la alteración del estado natural de la microbiota, denominado "resistencia de colonización", por el cual determinados microorganismos o comunidades residentes integrantes de esta microbiota (en general anaerobios) evitan la sobrecolonización por microorganismos patógenos (en general aerobios) [160, 161]. Los antimicrobianos suelen determinar una reducción de la diversidad y abundancia de determinadas bacterias (en general de las enterobacterias y de los microorganismos anaerobios) haciendo que el nicho ecológico perturbado pueda ocuparse por bacterias resistentes seleccionadas por el propio antimicrobiano o que se adquieran fácilmente otras bacterias resistentes o patógenas como es el caso de *C. difficile*. Se pierde por tanto el estado natural de "resistencia de colonización" y el carácter resiliente de las comunidades bacterianas que ocupan de forma habitual el nicho ecológico [162].

La mayoría de los datos publicados en relación al daño colateral se ha realizado con antimicrobianos de amplio espectro utilizados en el ámbito hospitalario (cefalosporinas de tercera y cuarta generación y carbapenémicos), siendo menor, con la excepción de las asociaciones de penicilinas e inhibidores de

betalactamasas (amoxicilina-clavulánico), fluoroquinolonas o clindamicina, con otros antimicrobianos como las cefalosporinas orales [156-159]. En general los antibióticos betalactámicos tienen un efecto perturbador bajo sobre los microorganismos anaerobios, pero pueden provocar la selección de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) e incluso de las productoras de carbapenemas, sobre todo en ambientes o países en las que por su elevada prevalencia constituyen un problema de salud pública [155]. También se asocian algunos de ellos, como las penicilinas o algunas cefalosporinas, con la emergencia de ICD (tabla 7). Las fluoroquinolonas afectan de manera importante a las enterobacterias y tiene un marcado efecto en el desarrollo de ICD, siendo mucho mayor en este último caso cuando se administra clindamicina [158].

Las asociaciones de betalactámicos, esencialmente penicilinas, e inhibidores de betalactamasas tiene un efecto elevado sobre las proporciones y abundancia de los microorganismos anaerobios (disminuyen por tanto la resistencia de colonización) y aumentan el número de enterobacterias, por lo que es sencillo el desarrollo de resistencias en este grupo de microorganismos [158, 159]. El efecto sobre las poblaciones anaerobias determina que con frecuencia aparezca diarrea como efecto secundario, llegando a producirse hasta casi en el 20% de los pacientes. Con las cefalosporinas este porcentaje se sitúa en torno 5%, como ha sido recogido para el cefditoren [163].

Un caso particular sería el que se produce a nivel de la vía aérea. El tracto respiratorio inferior ha sido considerado tradicionalmente como un nicho estéril. Sin embargo, gracias al empleo de técnicas de secuenciación, se ha demostrado que existen comunidades bacterianas integradas por microorganismos anaerobios que cuando se administran antimicrobianos reducen su diversidad, favoreciéndose la colonización por microorganismos patógenos. La mayoría de los estudios se han realizado en pacientes con fibrosis quística o bronquiectasias, siendo menor con pacientes con EPOC o con neumonía aguda [164]. Lamentablemente, el impacto del tratamiento sobre la microbiota respiratoria únicamente ha sido estudiado con pocos pacientes y para un grupo reducido de antimicrobianos. También los resultados están influenciados por la situación basal de cada paciente y es por tanto difícil de establecer conclusiones generales más allá de la reducción de la biodiversidad y de la abundancia de los diferentes grupos de microorganismos. No obstante, parte de la microbiota es resiliente y permite su recuperación con el tiempo por lo que es complejo establecer conclusiones generales [165]. En muchos casos los datos dependen de cada individuo y deben evaluarse de forma individual a lo largo del tiempo.

CONCLUSIONES

La efectividad, seguridad e impacto ecológico son, por razones obvias, los tres principios básicos o "claves" que deben regir la elección del antibiótico oral más apropiado en la exacerbación de la EPOC y la NAC. Los betalactámicos, particularmente cefditoren, y las fluoroquinolonas (levofloxacino

y moxifloxacino) son los que tiene el mejor espectro y mayor actividad intrínseca sobre los microorganismos más habituales de estas infecciones, incluidos los que expresan mecanismos de resistencia. Los betalactámicos son los más seguros y con menos interacciones medicamentosas. Las fluoroquinolonas por sus efectos sobre el colágeno han pasado a ser considerados una alternativa. Desde el punto de vista ecológico todos pueden debilitar la barrera de colonización, facilitar la diarrea asociada a *C. difficile* y seleccionar mutantes resistentes en la microbiota. Para disminuir este riesgo es conveniente evitar los que actúan sobre los microorganismos anaerobios y se eliminan por vía biliar, particularmente en pacientes con riesgo de desarrollar una diarrea asociada a *C. difficile*.

CONFLICTOS DE INTERÉS

Este manuscrito ha sido redactado exclusivamente por los autores firmantes como parte de un material de formación financiado por Meiji Pharma Spain, S.A.

BIBLIOGRAFÍA

- Troeger CE, Blacker BF, Khalil IA, Zimsen SRM, Albertson SB, Abate D, et al. Mortality, morbidity, and hospitalisations due to influenza lower respiratory tract infections, 2017: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet Respir Med 2019;7:69-89. doi:10.1016/S2213-2600(18)30496-X.
- Miravitles M, Soler-Cataluña JJ, Calle M, Molina J, Almagro P, Quintano JA, et al. Guía española de la EPOC (GesEPOC). Actualización 2014. Arch Bronconeumol 2014;50:1-16. doi:10.1016/s0300-2896(14)70070-5.
- González Del Castillo J, Candel FJ, de la Fuente J, Gordo F, Martín-Sánchez FJ, Menéndez R, et al. Manejo integral del paciente con exacerbación aguda de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Rev Esp Quimioter 2018;31:461-84. PMID: 30284414.
- Menéndez R, Torres A, Aspa J, Capelastegui A, Prat C, Rodríguez de Castro F. Neumonía adquirida en la comunidad. Nueva normativa de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR). Arch Bronconeumol 2010;46:543-58. doi:10.1016/j.archres.2010.06.014.
- Cyriac JM, James E. Switch over from intravenous to oral therapy: A concise overview. J Pharmacol Pharmacother 2014;5:83-7. doi:10.4103/0976-500X.130042.
- Wilson R, Sethi S, Anzueto A, Miravitles M. Antibiotics for treatment and prevention of exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. J Infect 2013;67:497-515. doi:10.1016/j.jinf.2013.08.010.
- Domenech A, Puig C, Martí S, Santos S, Fernández A, Calatayud L, et al. Infectious etiology of acute exacerbations in severe COPD patients. J Infect 2013;67:516-23. doi:10.1016/j.jinf.2013.09.003.
- Gallego M, Pomares X, Espasa M, Castañer E, Solé M, Suárez D, et al. *Pseudomonas aeruginosa* isolates in severe chronic obstructive pulmonary disease: Characterization and risk factors. BMC Pulm Med 2014;14:103. doi:10.1186/1471-2466-14-103.

9. Cillóniz C, Polverino E, Ewig S, Aliberti S, Gabarrús A, Menéndez R, et al. Impact of age and comorbidity on cause and outcome in community-acquired pneumonia. *Chest* 2013;144:999-1007. doi:10.1378/chest.13-0062.
10. Sahuquillo-Arce JM, Menéndez R, Méndez R, Amara-Elori I, Zalacain R, Capelastegui A, et al. Age-related risk factors for bacterial aetiology in community-acquired pneumonia. *Respirology* 2016;21:1472-9. doi:10.1111/resp.12851.
11. Fenoll A, Granizo JJ, Giménez MJ, Yuste J, Aguilar L. Secular trends (1990-2013) in serotypes and associated non-susceptibility of *S. pneumoniae* isolates causing invasive disease in the pre-/post-era of pneumococcal conjugate vaccines in Spanish regions without universal paediatric pneumococcal vaccination. *Vaccine* 2015;33:5691-9. doi:10.1016/j.vaccine.2015.08.009.
12. Fenoll A, Aguilar L, Giménez MJ, Vicioso MD, Robledo O, Granizo JJ, et al. Variations in serotypes and susceptibility of adult non-invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates between the periods before (May 2000-May 2001) and 10 years after (May 2010-May 2011) introduction of conjugate vaccines for child immunisation in Spain. *Int J Antimicrob Agents* 2012;40:18-23. doi:10.1016/j.ijantimicag.2012.03.001.
13. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) 2017. 2018. doi:10.2900/230516 <https://www.ecdc.europa.eu/documents/amr-surveillance-ears-net-2017> (accedido 20 noviembre 2019)
14. Larrosa MN, Benito N, Cantón R, Canut A, Cercenado E, Fernández-Cuenca F, et al. From CLSI to EUCAST, a necessary step in Spanish laboratories. *Enferm Infect Microbiol Clin* 2018 pii: S0213-005X(18)30278-7. doi:10.1016/j.eimc.2018.09.014.
15. Cantón R, Morosini M, Loza E, Gomez G, de la Pedrosa EGG. Infecciones comunitarias. Patrones de sensibilidad a los antimicrobianos utilizados por vía oral de los microorganismos más comunes. *Rev Clin Esp* 2008;208:S3-11.
16. Jimenez AJ, Candel Gonzalez FJ, Piñra Salmeron P, Gonzalez del Castillo J, Moya Mir M, Martinez Ortiz de Zarate M. Recomendaciones de INFURG-SEMES: Manejo de la infección respiratoria de vías bajas en urgencias. *Rev Científica la Soc Española Med Urgencias y Emergencias* 2009;3:23.
17. Menendez R, Montull B, Mendez R. Antibiotic choice, route and duration: Minimising the harm associated with antibiotics. *Eur Respir Monogr* 2014;63:155-67. doi:10.1183/1025448x.10004113.
18. Wedzicha JA, Miravitles M, Hurst JR, Calverley PMA, Albert RK, Anzueto A, et al. Management of COPD exacerbations: A European Respiratory Society/American Thoracic Society guideline. *Eur Respir J* 2017;50:1600791. doi:10.1183/13993003.00791-2016.
19. Athanassa Z, Makris G, Dimopoulos G, Falagas ME. Early switch to oral treatment in patients with moderate to severe community-acquired pneumonia: A meta-analysis. *Drugs* 2008;68:2469-81. doi:10.2165/0003495-200868170-00005.
20. Blasi F, Tarsia P, Mantero M, Morlacchi LC, Piffer F. Cefditoren versus levofloxacin in patients with exacerbations of chronic bronchitis: Serum inflammatory biomarkers, clinical efficacy, and microbiological eradication. *Ther Clin Risk Manag* 2013;9:55-64. doi:10.2147/TCRM.S41131.
21. Butler CC, Gillespie D, White P, Bates J, Lowe R, Thomas-Jones E, et al. C-reactive protein testing to guide antibiotic prescribing for COPD exacerbations. *N Engl J Med* 2019;381:111-20. doi:10.1056/NEJMoa1803185.
22. Vollenweider DJ, Frei A, Steurer-Stey CA, Garcia-Aymerich J, Puhan MA. Antibiotics for exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2018;2018:CD010257. doi:10.1002/14651858.CD010257.pub2.
23. Tickoo M, Ruthazer R, Bardia A, Doron S, Andujar-Vazquez GM, Gardiner BJ, et al. The effect of respiratory viral assay panel on antibiotic prescription patterns at discharge in adults admitted with mild to moderate acute exacerbation of COPD: A retrospective before- after study. *BMC Pulm Med* 2019;19:118. doi:10.1186/s12890-019-0872-0.
24. Torres A, Barberán J, Falguera M, Menéndez R, Molina J, Olaechea P, et al. Guía multidisciplinar para la valoración pronóstica, diagnóstico y tratamiento de la neumonía adquirida en la comunidad. *Med Clin (Barc)* 2013;140:223.e1-223.e19. doi:10.1016/j.medcli.2012.09.034.
25. González del Castillo J, Martín-Sánchez FJ, Llinares P, Menéndez R, Mujal A, Navas E, et al. Guía de consenso para el abordaje de la neumonía adquirida en la comunidad en el paciente anciano. *Rev Esp Geriatr Gerontol* 2014;49:279-91. doi:10.1016/j.regg.2014.04.002.
26. Torres A, Blasi F, Peetermans WE, Viegi G, Welte T. The aetiology and antibiotic management of community-acquired pneumonia in adults in Europe: a literature review- Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2014; 33(7): 1065-1079. doi: 10.1007/s10096-014-2067-1
27. Pakhale S, Mulpuru S, Verheij TJM, Kochen MM, Rohde GGU, Bjerrre LM. Antibiotics for community-acquired pneumonia in adult outpatients. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;2014:CD002109. doi:10.1002/14651858.CD002109.pub4.
28. Asadi L, Eurich DT, Gamble JM, Minhas-Sandhu JK, Marrie TJ, Majeed SR. Guideline adherence and macrolides reduced mortality in outpatients with pneumonia. *Respir Med* 2012;106:451-8. doi:10.1016/j.rmed.2011.11.017.
29. Arnold FW, Lopardo G, Wiemken TL, Kelley R, Peyrani P, Mattinelli WA, et al. Macrolide therapy is associated with lower mortality in community-acquired bacteraemic pneumonia. *Respir Med* 2018;140:115-21. doi:10.1016/j.rmed.2018.05.020.
30. Feldman C, Richards G. Appropriate antibiotic management of bacterial lower respiratory tract infections. *F1000Research* 2018;7. doi:10.12688/f1000research.14226.1.
31. Shehab N, Patel PR, Srinivasan A, Budnitz DS. Emergency Department Visits for Antibiotic Associated Adverse Events. *Clin Infect Dis* 2008;47:735-43. doi:10.1086/591126.
32. Tamma PD, Avdic E, Li DX, Dzintars K, Cosgrove SE. Association of adverse events with antibiotic use in hospitalized patients. *JAMA Intern Med* 2017;177:1308-15. doi:10.1001/jamaintern-med.2017.1938.

32. Lagacé-Wiens P, Rubinstein E. Adverse reactions to β -lactam antimicrobials. *Expert Opin Drug Saf* 2012;11:381-99. doi:10.1517/14740338.2012.643866.
33. Trubiano JA, Franklin Adkinson N, Phillips EJ. Penicillin allergy is not necessarily forever. *JAMA - J Am Med Assoc* 2017;318:82-3. doi:10.1001/jama.2017.6510.
34. Pavlos R, White KD, Wanjalla C, Mallal SA, Phillips EJ. Severe Delayed Drug Reactions: Role of Genetics and Viral Infections. *Immunol Allergy Clin North Am* 2017; 37(4):785-815. doi:10.1016/j.iac.2017.07.007.
35. Schafer JA, Mateo N, Parlier GL, Rotschafer JC. Penicillin allergy skin testing: What do we do now? *Pharmacotherapy* 2007; 27(4):542-5. doi:10.1592/phco.27.4.542.
36. Yates AB. Management of Patients with a History of Allergy to Beta-Lactam Antibiotics. *Am J Med* 2008; 121(7):572-6. doi:10.1016/j.amjmed.2007.12.005.
37. Sacco KA, Bates A, Brigham TJ, Imam JS, Burton MC. Clinical outcomes following inpatient penicillin allergy testing: A systematic review and meta-analysis. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol* 2017; 72(9):1288-1296. doi:10.1111/all.13168.
38. Macy E, Contreras R. Health care use and serious infection prevalence associated with penicillin «allergy» in hospitalized patients: A cohort study. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 133(3):790-6. doi:10.1016/j.jaci.2013.09.021.
39. Blumenthal KG, Shenoy ES, Huang M, Kuhlen JL, Ware WA, Parker RA, et al. The impact of reporting a prior penicillin allergy on the treatment of methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* bacteremia. *PLoS One* 2016;11:e0159406. doi:10.1371/journal.pone.0159406.
40. Macy E, Schatz M, Lin C, Poon K. The falling rate of positive penicillin skin tests from 1995 to 2007. *Perm J* 2009;13:12-8. doi:10.7812/tpp/08-073.
41. Park MA, Li JTC. Diagnosis and management of penicillin allergy. *Mayo Clin Proc* 2005;80:405-10. doi:10.4065/80.3.405.
42. Moreno E, Macías E, Dávila I, Laffond E, Ruiz A, Lorente F. Hypersensitivity reactions to cephalosporins. *Expert Opin Drug Saf* 2008;7:295-304. doi:10.1517/14740338.7.3.295
43. Romano A, Guéant-Rodríguez RM, Viola M, Amoghly F, Gaeta F, Nicolas JP, et al. Diagnosing immediate reactions to cephalosporins. *Clin Exp Allergy* 2005;122:521-7. doi:10.1111/j.1365-2222.2005.02317.x.
44. Macy E. Penicillin and Beta-Lactam Allergy: Epidemiology and Diagnosis. *Curr Allergy Asthma Rep* 2014;14:476. doi:10.1007/s11882-014-0476-y.
45. Solensky R. Allergy to β -lactam antibiotics. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130:1442. doi:10.1016/j.jaci.2012.08.021.
46. Campagna JD, Bond MC, Schabelman E, Hayes BD. The use of cephalosporins in penicillin-allergic patients: A literature review. *J Emerg Med* 2012;45:612-20.. doi:10.1016/j.jemermed.2011.05.035.
47. Romano A, Gaeta F, Valluzzi RL, Maggioletti M, Zaffiro A, Caruso C, et al. IgE-mediated hypersensitivity to cephalosporins: Cross-reactivity and tolerability of alternative cephalosporins. *J Allergy Clin Immunol* 2015;136:685-91. doi:10.1016/j.jaci.2015.03.012.
48. Ledford DK. Cephalosporin Side Chain Cross-reactivity. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2015;3:1006-7. doi:10.1016/j.jaip.2015.08.014.
49. Zagursky RJ, Pichichero ME. Cross-reactivity in β -lactam Allergy. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2018;6:72-81. doi:10.1016/j.jaip.2017.08.027.
50. Kula B, Djordjevic G, Robinson JL. A systematic review: Can one prescribe carbapenems to patients with IgE-mediated allergy to penicillins or cephalosporins? *Clin Infect Dis* 2014;59:1113-22. doi:10.1093/cid/ciu587.
51. Wall GC, Nayima VA, Neumeister KM. Assessment of hypersensitivity reactions in patients receiving carbapenem antibiotics who report a history of penicillin allergy. *J Chemother* 2014;26:150-3. doi:10.1179/1973947813Y.0000000127.
52. Gaeta F, Valluzzi RL, Alonzi C, Maggioletti M, Caruso C, Romano A. Tolerability of aztreonam and carbapenems in patients with IgE-mediated hypersensitivity to penicillins. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135:972-6. doi:10.1016/j.jaci.2014.10.011.
53. Noguerado-Mellado B, Pinto Fernández C, Pineda-Pineda R, Martínez Lezcano P, Álvarez-Perea A, De Barrio Fernández M. Cross-reactivity between carbapenems: Two case reports. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2014;2:816-7. doi:10.1016/j.jaip.2014.06.015.
54. Frumin J, Gallagher JC. Allergic cross-sensitivity between penicillin, carbapenem, and monobactam antibiotics: What are the chances? *Ann Pharmacother* 2009; 43:305-15. doi:10.1345/aph.1L486.
55. Deshayes S, Coquerel A, Verdon R. Neurological Adverse Effects Attributable to β -lactam Antibiotics: A Literature Review. *Drug Saf* 2017;40:1171-98. doi:10.1007/s40264-017-0578-2.
56. Chow KM, Hui AC, Szeto CC. Neurotoxicity induced by beta-lactam antibiotics: From bench to bedside. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005;24:649-53. doi:10.1007/s10096-005-0021-y.
57. Hornik CP, Benjamin DK, Smith PB, Pencina MJ, Tremoulet AH, Capparelli E V., et al. Electronic Health Records and Pharmacokinetic Modeling to Assess the Relationship between Ampicillin Exposure and Seizure Risk in Neonates. *J Pediatr* 2016. doi:10.1016/j.jpeds.2016.07.011.
58. Bush LM, Johnson CC. Ureidopenicillins and beta-lactam/betalactamase inhibitor combinations. *Infect Dis Clin North Am* 2000;14:409-33. DOI:10.1016/s0891-5520(05)70255-5
59. Mavros MN, Alexiou VG, Vardakas KZ, Tsokali K, Sardi TA, Falagas ME, et al. Underestimation of *Clostridium difficile* infection among clinicians: An international survey. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012;31:2439-44. doi:10.1007/s10096-012-1587-9.
60. Vardakas KZ, Kalimeris GD, Triarides NA, Falagas ME. An update on adverse drug reactions related to β -lactam antibiotics. *Expert Opin Drug Saf* 2018;17:499-508. doi:10.1080/14740338.2018.1462334.
61. Deshpande A, Pasupuleti V, Thota P, Pant C, Rolston DDK, Sferra TJ, et al. Community-associated *Clostridium difficile* infection antibiotics: A meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 2013;68:1951-61. doi:10.1093/jac/dkt129.
62. Slimings C, Riley T V. Antibiotics and hospital-acquired *Clostridium difficile* infection: Update of systematic review and meta-analysis.

- J Antimicrob Chemother 2014;69:881-91. doi:10.1093/jac/dkt477.
63. Shiber S, Yahav D, Avni T, Leibovici L, Paul M. β -lactam/ β -lactamase inhibitors versus carbapenems for the treatment of sepsis: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trial. J Antimicrob Chemother 2015;70:41-7. doi: 10.1093/jac/dku351
 64. Vardakas KZ, Trigkidis KK, Boukouvala E, Falagas ME. Clostridium difficile infection following systemic antibiotic administration in randomised controlled trials: a systematic review and meta-analysis. Int J Antimicrob Agents 2016;48:1-10. doi:10.1016/j.ijantimicag.2016.03.008
 65. deLemos AS, Ghabril M, Rockey DC, Gu J, Barnhart HX, Fontana RJ, et al. Amoxicillin-Clavulanate-Induced Liver Injury. Dig Dis Sci 2016;61:2406-16. doi:10.1007/s10620-016-4121-6.
 66. Björnsson ES. Drug-induced liver injury due to antibiotics. Scand J Gastroenterol 2017;52:617-23. doi:10.1080/00365521.2017.1291719.
 67. Imani S, Buscher H, Marriott D, Gentili S, Sandaradura I. Too much of a good thing: A retrospective study of β -lactam concentration-toxicity relationships. J Antimicrob Chemother 2017;72:2891-7. doi:10.1093/jac/dkx209.
 68. Macy E, Contreras R. Adverse reactions associated with oral and parenteral use of cephalosporins: A retrospective population-based analysis. J Allergy Clin Immunol 2015;135:745-52. doi:10.1016/j.jaci.2014.07.062.
 69. Hammond DA, Smith MN, Li C, Hayes SM, Lusardi K, Bookstaver PB. Systematic review and metaanalysis of acute kidney injury associated with concomitant vancomycin and piperacillin/tazobactam. Clin Infect Dis 2017;64:666-74. doi:10.1093/cid/ciw811.
 70. Brigg Turner R, Erin Wilson D, Saedi-Kwon H, Chang E, Won R, Chan D, et al. Comparative analysis of neutropenia in patients receiving prolonged treatment with ceftaroline. J Antimicrob Chemother 2018;73:772-8. doi:10.1093/jac/dkx452.
 71. Lemieux P, Grégoire JP, Thibeault R, Bergeron L. Higher risk of neutropenia associated with piperacillin-tazobactam compared with ticarcillin-clavulanate in children. Clin Infect Dis 2015;60:203-7. doi:10.1093/cid/ciu780.
 72. Garratty G. Immune hemolytic anemia associated with drug therapy. Blood Rev 2010;24:143-50. doi:10.1016/j.blre.2010.06.004.
 73. Garratty G, Arndt PA. Drugs that have been shown to cause drug-induced immune hemolytic anemia or positive direct antiglobulin tests: Some interesting findings since 2007. Immunohematology 2014;30:66-79.
 74. Garbe E, Andersohn F, Bronder E, Klimpel A, Thomae M, Schrenzelmeier H, et al. Drug induced immune haemolytic anaemia in the Berlin Case-Control Surveillance Study. Br J Haematol 2011;154:644-53. doi:10.1111/j.1365-2141.2011.08784.x.
 75. Mori F, Pecorari L, Pantano S, Rossi ME, Pucci N, De Martino M, et al. Azithromycin anaphylaxis in children. Int J Immunopathol Pharmacol 2014;27:121-6. doi:10.1177/039463201402700116.
 76. Sriratanaviriyakul N, Nguyen LP, Henderson MC, Albertson TE. Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms syndrome (DRESS) syndrome associated with azithromycin presenting like septic shock: A case report. J Med Case Rep 2014. doi:10.1186/1752-1947-8-332.
 77. Bandettini Di Poggio M, Anfosso S, Audenino D, Primavera A. Clarithromycin-induced neurotoxicity in adults. J Clin Neurosci 2011;18:313-8. doi:10.1016/j.jocn.2010.08.014.
 78. Periti P, Mazzei T, Mini E, Novelli A. Adverse Effects of Macrolide Antibacterials. Drug Saf 1993;9:346-64. doi:10.2165/00002018-199309050-00004.
 79. Catnach SM, Fairclough PD. Erythromycin and the gut. Gut 1992;33:397-401. doi:10.1136/gut.33.3.397.
 80. Martinez MA, Vuppalanchi R, Fontana RJ, Stoltz A, Kleiner DE, Hayashi PH, et al. Clinical and histologic features of azithromycin-induced liver injury. Clin Gastroenterol Hepatol 2015;13:369-76. doi:10.1016/j.cgh.2014.07.054.
 81. Chalasani N, Bonkovsky HL, Fontana R, Lee W, Stoltz A, Talwalkar J, et al. Features and outcomes of 899 patients with drug-induced liver injury: The DILIN prospective study. Gastroenterology 2015;148:1340-52. doi:10.1053/j.gastro.2015.03.006.
 82. Price T, Tuazon C. Clarithromycin-induced thrombocytopenia. Clin Infect Dis 1992;15:563-4.
 83. Jacobs P, Conforti A, Wood L, Kiuru A, Jones GO, Woolf D. Immune agranulocytosis and clarithromycin. Hematology 2004;9:291-6. doi:10.1080/10245330410001714220.
 84. Svanström H, Pasternak B, Hviid A. Use of azithromycin and death from cardiovascular causes. N Engl J Med 2013;368:1704-12. doi:10.1056/NEJMoa1300799.
 85. Chou HW, Wang JL, Chang CH, Lai CL, Lai MS, Chan KA. Risks of cardiac arrhythmia and mortality among patients using new-generation macrolides, fluoroquinolones, and β -lactam/ β -lactamase inhibitors: A Taiwanese nationwide study. Clin Infect Dis 2015;60:566-77. doi:10.1093/cid/ciu914.
 86. Cornett E, Novitch MB, Kaye AD, Pann CA, Bangalore HS, Allred G, et al. Macrolide and fluoroquinolone mediated cardiac arrhythmias: clinical considerations and comprehensive review. Postgrad Med 2017;129:715-24. doi:10.1080/00325481.2017.1362938.
 87. Wong AYS, Chan EW, Anand S, Worsley AJ, Wong ICK. Managing Cardiovascular Risk of Macrolides: Systematic Review and Meta-Analysis. Drug Saf 2017;40:663-77. doi:10.1007/s40264-017-0533-2.
 88. Ress BD, Gross EM. Irreversible sensorineural hearing loss as a result of azithromycin ototoxicity. A case report. Ann Otol Rhinol Laryngol 2000. doi:10.1177/000348940010900416.
 89. Bar-Oz B, Weber-Schoendorfer C, Berlin M, Clementi M, Di Giannantonio E, De Vries L, et al. The outcomes of pregnancy in women exposed to the new macrolides in the first trimester: A prospective, multicentre, observational study. Drug Saf 2012;35:589-98. doi:10.2165/11630920-00000000-00000.
 90. Periti P, Mazzei T, Mini E, Novelli A. Pharmacokinetic Drug Interactions of Macrolides. Clin Pharmacokinet 1992;23:106-31. doi:10.2165/00003088-199223020-00004.
 91. Gandhi S, Fleet JL, Bailey DG, McArthur E, Wald R, Rehman F, et al. Calcium-channel blocker-clarithromycin drug interactions and acute kidney injury. JAMA 2013;310:2544-53. doi:10.1001/ja-

- ma.2013.282426.
92. Dourous A, Grabowski K, Stahlmann R. Safety issues and drug-drug interactions with commonly used quinolones. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2015;11:1849-59. doi:10.1517/17425255.2014.970166.
 93. Mandell L, Tillotson G. Safety of fluoroquinolones: An Update. *Can J Infect Dis* 2002;13:54-61. doi:10.1155/2002/864789.
 94. Tomé AM, Filipe A. Quinolones: Review of psychiatric and neurological adverse reactions. *Drug Saf* 2011;34:465-88. doi:10.2165/11587280-00000000-00000.
 95. Abdel-Zaher AO, Afify AHM, Kamel SM, Farghaly HM, El-Osely GM, El-Awaad EAM. Involvement of glutamate, oxidative stress and inducible nitric oxide synthase in the convulsant activity of ciprofloxacin in mice. *Eur J Pharmacol* 2012;685:30-7. doi:10.1016/j.ejphar.2012.04.007.
 96. Bennett AC, Bennett CL, Witherspoon BJ, Knopf KB. An evaluation of reports of ciprofloxacin, levofloxacin, and moxifloxacin-association neuropsychiatric toxicities, long-term disability, and aortic aneurysms/dissections disseminated by the Food and Drug Administration and the European Medicines Agency. *Expert Opin Drug Saf* 2019;18:1055-63. doi:10.1080/14740338.2019.1665022.
 97. Liu HH. Safety profile of the fluoroquinolones: Focus on levofloxacin. *Drug Saf* 2010;33:353-69. doi:10.2165/11536360-00000000-00000.
 98. Gaynes R, Rimland D, Killum E, Ken Lowery H, Johnson II TM, Killgore G, et al. Outbreak of *Clostridium difficile* Infection in a Long Term Care Facility: Association with Gatifloxacin Use. *Clin Infect Dis* 2004;38:640-5. doi:10.1086/381551.
 99. [99] Kang J, Wang L, Chen XL, Triggle DJ, Rampe D. Interactions of a series of fluoroquinolone antibacterial drugs with the human cardiac K⁺ channel HERG. *Mol Pharmacol* 2001;59:122-6. doi:10.1124/mol.59.1.122.
 100. Stahlmann R, Lode HM. Risks associated with the therapeutic use of fluoroquinolones. *Expert Opin Drug Saf* 2013;12:497-505. doi:10.1517/14740338.2013.796362.
 101. Yu X, Jiang DS, Wang J, Wang R, Chen T, Wang K, et al. Fluoroquinolone Use and the Risk of Collagen-Associated Adverse Events: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Drug Saf* 2019;42:1025-33. doi:10.1007/s40264-019-00828-z.
 102. Carino D, Zafar MA, Singh M, Ziganshin BA, Elefteriades JA. Fluoroquinolones and Aortic Diseases: Is There a Connection. *AORTA* 2019;7:35-41. doi:10.1055/s-0039-1693468.
 103. Tsai WC, Hsu CC, Chen CPC, Chang HN, Wong AMK, Lin MS, et al. Ciprofloxacin up-regulates tendon cells to express matrix metalloproteinase-2 with degradation of type I collagen. *J Orthop Res* 2011;29:67-73. doi:10.1002/jor.21196.
 104. Reviglio VE, Hakim MA, Song JK, O'Brien TP. Effect of topical fluoroquinolones on the expression of matrix metalloproteinases in the cornea. *BMC Ophthalmol* 2003;3:10. doi:10.1186/1471-2415-3-10.
 105. Guzzardi DG, Teng G, Kang S, Geeraert PJ, Pattar SS, Svystonyuk DA, et al. Induction of human aortic myofibroblast-mediated extracellular matrix dysregulation: A potential mechanism of fluoroquinolone-associated aortopathy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2019;157:109-19. doi:10.1016/j.jtcvs.2018.08.079.
 106. Sendzik J, Shakiba M, Schäfer-Korting M, Stahlmann R. Fluoroquinolones cause changes in extracellular matrix, signalling proteins, metalloproteinases and caspase-3 in cultured human tendon cells. *Toxicology* 2005;212:24-36. doi:10.1016/j.tox.2005.04.002.
 107. Shakiba M, Schulze-Tanzil G, De Souza P, John T, Rahmazadeh M, Rahmazadeh R, et al. Inhibition of Mitogen-activated Protein Kinase Kinase Induces Apoptosis of Human Chondrocytes. *J Biol Chem* 2001;276:13289-94. doi:10.1074/jbc.M010859200.
 108. Sendzik J, Lode H, Stahlmann R. Quinolone-induced arthropathy: an update focusing on new mechanistic and clinical data. *Int J Antimicrob Agents* 2009;33:194-200. doi:10.1016/j.ijantimicag.2008.08.004.
 109. [Corrao G, Zambon A, Bertù L, Mauri A, Paleari V, Rossi C, et al. Evidence of tendinitis provoked by fluoroquinolone treatment a case-control study. *Drug Saf* 2006;29:889-96. doi:10.2165/00002018-200629100-00006.
 110. Schwald N, Debray-Meignan S. Suspected role of ofloxacin in a case of arthralgia, myalgia, and multiple tendinopathy. *Rev du Rhum (English Ed)* 1999;66:419-21.
 111. Tsai WC, Yang YM. Fluoroquinolone-associated Tendinopathy. *Chang Gung Med J* 2011;34:461-7.
 112. Bidell MR, Lodise TP. Fluoroquinolone-Associated Tendinopathy: Does Levofloxacin Pose the Greatest Risk? *Pharmacotherapy* 2016;36:679-93. doi:10.1002/phar.1761.
 113. Daneman N, Lu H, Redelmeier DA. Fluoroquinolones and collagen associated severe adverse events: a longitudinal cohort study. *BMJ Open* 2015;5:e010077. doi:10.1136/bmjopen-2015-010077.
 114. Lee CC, Lee MT, Chen YS, Lee SH, Chen YS, Chen SC, et al. Risk of aortic dissection and aortic aneurysm in patients taking oral fluoroquinolone. *JAMA Intern Med* 2015;175:1839-47. doi:10.1001/jamainternmed.2015.5389.
 115. Lee CC, Lee MG, Hsieh R, Porta L, Lee WC, Lee SH, et al. Oral Fluoroquinolone and the Risk of Aortic Dissection. *J Am Coll Cardiol* 2018;72:1369-78. doi:10.1016/j.jacc.2018.06.067.
 116. Pasternak B, Inghammar M, Svanström H. Fluoroquinolone use and risk of aortic aneurysm and dissection: Nationwide cohort study. *BMJ* 2018;360:k678. doi:10.1136/bmj.k678.
 117. Meng L, Huang J, Jia Y, Huang H, Qiu F, Sun S. Assessing fluoroquinolone-associated aortic aneurysm and dissection: Data mining of the public version of the FDA adverse event reporting system. *Int J Clin Pract* 2019;73:e13331. doi:10.1111/ijcp.13331.
 118. Singh S, Nautiyal A. Aortic Dissection and Aortic Aneurysms Associated with Fluoroquinolones: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Med* 2017;130:1449-57. doi:10.1016/j.amjmed.2017.06.029.
 119. Norman AT, Qazi AH, Alqasrawi M, Ayinde H, Tleyjeh IM, Lindower P, et al. Fluoroquinolones and the risk of aortopathy: A systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol* 2019;274:299-302. doi:10.1016/j.ijcard.2018.09.067.
 120. Chui CSL, Wong ICK, Wong LYL, Chan EW. Association between oral fluoroquinolone use and the development of retinal detachment:

- A systematic review and meta-analysis of observational studies. *J Antimicrob Chemother* 2014;70:971-8. doi:10.1093/jac/dku507.
121. Alves C, Penedones A, Mendes D, Batel Marques F. A systematic review and meta-analysis of the association between systemic fluoroquinolones and retinal detachment. *Acta Ophthalmol* 2016;94:e251-9. doi:10.1111/aos.12931.
 122. Shin JY, Jeong S, Jeon HL, Byun S, Park KH, Jeong HE, et al. The risk profile of rhegmatogenous retinal detachment before and after using a fluoroquinolone: A 12 year nationwide self-controlled case series study. *J Antimicrob Chemother* 2018;73:3442-53. doi:10.1093/jac/dky336.
 123. Ponsioen TL, Van Der Worp RJ, Van Luyn MJA, Hooymans JMM, Los LI. Packages of vitreous collagen (type II) in the human retina: An indication of postnatal collagen turnover? *Exp Eye Res* 2005;80:643-50. doi:10.1016/j.exer.2004.11.014.
 124. Zünkler BJ, Claaßen S, Wos-Maganga M, Rustenbeck I, Holzgrabe U. Effects of fluoroquinolones on HERG channels and on pancreatic -cell ATP-sensitive K⁺ channels. *Toxicology* 2006;228:239-48. doi:10.1016/j.tox.2006.09.002.
 125. Yip C, Lee AJ. Gatifloxacin-induced hyperglycemia: A case report and summary of the current literature. *Clin Ther* 2006;28:1857-66. doi:10.1016/j.clinthera.2006.11.014.
 126. Höffken G, Borner K, Glatzel PD, Koeppe P, Lode H. Reduced enteral absorption of ciprofloxacin in the presence of antacids. *Eur J Clin Microbiol* 1985;4:345. doi:10.1007/BF02013667.
 127. Antoniou T, Gomes T, Mamdani MM, Juurlink DN. Ciprofloxacin-induced theophylline toxicity: A population-based study. *Eur J Clin Pharmacol* 2011;67:521-6. doi:10.1007/s00228-010-0985-0.
 128. Kennedy WK, Jann MW, Kutscher EC. Clinically significant drug interactions with atypical antipsychotics. *CNS Drugs* 2013;27:1021-48. doi:10.1007/s40263-013-0114-6.
 129. Padberg S, Wacker E, Meister R, Panse M, Weber-Schoendorfer C, Oppermann M, et al. Observational cohort study of pregnancy outcome after first-trimester exposure to fluoroquinolones. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:4392-8. doi:10.1128/AAC.02413-14.
 130. European Medicines Agency. Review of quinolone and fluoroquinolone-containing medicinal products. s. f. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/referrals/quinolonefluoroquinolonecontaining-medicinal-products>. (accedido 20 de noviembre de 2019).
 131. European Commission Final Decision. Disabling and potentially permanent side effects lead to suspension or restrictions on use of FQs. s. f. https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/quinolone-fluoroquinolone/article-31-referral-disabling-potentially-permanent-side-effects-lead_en.pdf. (accedido 20 de noviembre de 2019).
 132. FDA Drug Safety Communication. FDA reinforces safety information about serious low blood sugar side effects and mental health side effects with FQs; requires label changes s. f. <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fdareinforces-safety-information-about-serious-low-blood-sugar-levels-and-mental-healthside> (accedido 20 de noviembre de 2019).
 133. FDA Drug Safety Communication. FDA warns about increased risk of ruptures or tears in the aortal blood vessel with FQs antibiotics in certain patients. s. f. <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-warns-about-increased-risk-ruptures-or-tears-aorta-blood-vessel-fluoroquinolone-antibiotics> (accedido 4 de noviembre de 2019).
 134. Guitor AK, Wright GD. Antimicrobial Resistance and Respiratory Infections. *Chest* 2018;154:1202-12. doi:10.1016/j.chest.2018.06.019.
 135. Miravitles M. Exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: when are bacteria important? *Eur Respir J* 2002;36:9s-19s. DOI:10.1183/09031936.02.00400302
 136. Miravitles M, Anzueto A. Chronic respiratory infection in patients with chronic obstructive pulmonary disease: What is the role of antibiotics? *Int J Mol Sci* 2017;18:E1344. doi:10.3390/ijms18071344.
 137. Wunderink RG, Yin Y. Antibiotic Resistance in Community-Acquired Pneumonia Pathogens. *Semin Respir Crit Care Med* 2016;37:829-38. doi:10.1055/s-0036-1593753.
 138. Cantón R, Morosini MI. Emergence and spread of antibiotic resistance following exposure to antibiotics. *FEMS Microbiol Rev* 2011;35:977-91. doi:10.1111/j.1574-6976.2011.00295.x.
 139. Sethi S, Anzueto A, Miravitles M, Arvis P, Alder J, Haverstock D, et al. Determinants of bacteriological outcomes in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Infection* 2016;44:65-76. doi:10.1007/s15010-015-0833-3.
 140. Cantón R, Lode H, Graninger W, Milkovich G. Respiratory tract infections: at-risk patients, who are they?: Implications for their management with levofloxacin. *Int J Antimicrob Agents* 2006;28:S115-27. doi:10.1016/J.IJANTIMICAG.2006.06.001.
 141. López-Causapé C, Rojo-Molinero E, Mulet X, Cabot G, Moyà B, Figuerola J, et al. Clonal Dissemination, Emergence of Mutator Lineages and Antibiotic Resistance Evolution in *Pseudomonas aeruginosa* Cystic Fibrosis Chronic Lung Infection. *PLoS One* 2013;8:e71001. doi:10.1371/journal.pone.0071001.
 142. Heinz E. The return of Pfeiffer's bacillus: Rising incidence of ampicillin resistance in *Haemophilus influenzae*. *Microb genomics* 2018;4. doi:10.1099/mgen.0000214.
 143. Giménez MJ, Aguilar L, Granizo JJ. Revisiting cefditoren for the treatment of community-acquired infections caused by human-adapted respiratory pathogens in adults. *Multidiscip Respir Med* 2018;13:1-13. doi:10.1186/s40248-018-0152-5.
 144. Takahata S, Kato Y, Sanbongi Y, Maebashi K, Ida T. Comparison of the efficacies of oral β-lactams in selection of *Haemophilus influenzae* transformants with mutated *fsl* genes. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:1880-3. doi:10.1128/AAC.00936-07.
 145. González N, Aguilar L, Sevillano D, Giménez MJ, Alou L, Cafini F, et al. Efficacy of simulated cefditoren versus amoxicillin-clavulanate free concentrations in countering intrastrain *fsl* gene diffusion in *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:2788-94. doi:10.1128/AAC.01719-10.
 146. Mezzatesta ML, Gona F, Marchese G, Nicolosi D, Toscano MA, Stefani S, et al. Cefditoren versus community-acquired respiratory pathogens: Time-kill studies. *J Chemother* 2009;21:378-82. doi:10.1179/joc.2009.21.4.378.

147. González N, Aguilar L, Alou L, Giménez MJ, Sevillano D, Torrico M, et al. Influence of different resistance traits on the competitive growth of *Haemophilus influenzae* in antibiotic-free medium and selection of resistant populations by different β-lactams: An in vitro pharmacodynamic approach. *J Antimicrob Chemother* 2009;63:1215-22. doi:10.1093/jac/dkp097.
148. Cafini F, Aguilar L, Sevillano D, Giménez MJ, Alou L, Fenoll A, et al. Decrease in bacterial load versus resistance selection of pneumococcal subpopulations by β-lactam physiological concentrations over time: An in vitro pharmacodynamic simulation. *Microb Drug Resist* 2008;14:13-21. doi:10.1089/mdr.2008.0783.
149. Cafini F, Aguilar L, Alou L, Giménez MJ, Sevillano D, Torrico M, et al. Cidal activity of oral third-generation cephalosporins against *Streptococcus pneumoniae* in relation to cefotaxime intrinsic activity. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008;27:679-83. doi:10.1007/s10096-008-0493-7.
150. Mizoguchi A, Hitomi S. Cefotaxime-non-susceptibility of *Haemophilus influenzae* induced by additional amino acid substitutions of G555E and Y557H in altered penicillin-binding protein 3. *J Infect Chemother* 2019;25:509-13. doi:10.1016/j.jiac.2019.02.010.
151. Deghmane AE, Hong E, Chehboub S, Terrade A, Falguières M, Sort M, et al. High diversity of invasive *Haemophilus influenzae* isolates in France and the emergence of resistance to third generation cephalosporins by alteration of ftsI gene. *J Infect* 2019;79:7-14. doi:10.1016/j.jinf.2019.05.007.
152. García-Cobos S, Arroyo M, Pérez-Vázquez M, Aracil B, Lara N, Oteo J, et al. Isolates of b-lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* causing invasive infections in Spain remain susceptible to cefotaxime and imipenem. *J Antimicrob Chemother* 2014;69:111-6. doi:10.1093/jac/dkt324.
153. Musher D, Thorner AR. Community-Acquired Pneumonia. *N Engl J Med* 2014;371:1619-28. doi: 10.1056/NEJMra1312885.
154. Paterson DL. "Collateral Damage" from Cephalosporin or Quinolone Antibiotic Therapy. *Clin Infect Dis* 2004;38:S341-5. doi:10.1086/382690.
155. Woerther PL, Lepeule R, Burdet C, Decousser JW, Ruppé É, Barbier F. Carbapenems and alternative β-lactams for the treatment of infections due to extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacteriaceae: What impact on intestinal colonisation resistance? *Int J Antimicrob Agents* 2018;52:762-70. doi:10.1016/j.ijantimicag.2018.08.026.
156. Sullivan Å, Edlund C, Nord CE. Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora. *Lancet Infect Dis* 2001;1:101-14. doi:10.1016/s1473-3099(01)00066-4.
157. Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, Jansson JK. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology* 2010;156:3216-23. doi:10.1099/mic.0.040618-0.
158. Lange K, Buerger M, Stallmach A, Bruns T. Effects of Antibiotics on Gut Microbiota. *Dig Dis* 2016;34:260-8. doi:10.1159/000443360.
159. Langdon A, Crook N, Dantas G. The effects of antibiotics on the microbiome throughout development and alternative approaches for therapeutic modulation. *Genome Med* 2016;8:39. doi:10.1186/s13073-016-0294-z.
160. Vollaard EJ, Clasener HAL. Colonization resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:409-14. doi:10.1128/AAC.38.3.409.
161. Buffie CG, Pamer EG. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. *Nat Rev Immunol* 2013;13:790-801. doi:10.1038/nri3535.
162. Sommer F, Anderson JM, Bharti R, Raes J, Rosenstiel P. The resilience of the intestinal microbiota influences health and disease. *Nat Rev Microbiol* 2017;15:630-8. doi:10.1038/nrmicro.2017.58.
163. Poachanukoon O, Kitcharoenakkul M. Efficacy of cefditoren pivoxil and amoxicillin/clavulanate in the treatment of pediatric patients with acute bacterial rhinosinusitis in Thailand: A randomized, investigator-blinded, controlled trial. *Clin Ther* 2008;30:1870-9. doi:10.1016/j.clinthera.2008.10.001.
164. Monsó E. Microbiome in chronic obstructive pulmonary disease. *Ann Transl Med* 2017;5:251. doi:10.21037/atm.2017.04.20.
165. Palleja A, Mikkelsen KH, Forslund SK, Kashani A, Allin KH, Nielsen T, et al. Recovery of gut microbiota of healthy adults following antibiotic exposure. *Nat Microbiol* 2018;3:1255-6. doi:10.1038/s41564-018-0257-9.
166. Woodhead M, Blasi F, Ewig S, Huchon G, Leven M, Ortqvist A, et al. Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections. *Eur Respir J* 2005;26:1138-80. doi:10.1183/09031936.5.00055705.



Original

Tuba Muderris¹
İlhan Afsar²
Askin Yıldız³
Ceren Akpinar Varer⁴

HPV genotype distribution among women with normal and abnormal cervical cytology in Turkey

¹Department of Medical Microbiology, Izmir Katip Celebi University School of Medicine, Izmir, Turkey.

²Department of Medical Microbiology, Izmir Katip Celebi University Ataturk Training and Research Hospital, Izmir, Turkey.

³Department of Obstetrics and Gynecology, Izmir Katip Celebi University Ataturk Training and Research Hospital, Izmir, Turkey.

⁴Department of Public Health, Ege University School of Medicine, Izmir, Turkey.

Article history

Received: 22 March 2019; Revision Requested: 7 May 2019; Revision Received: 11 June 2019; Accepted: 2 July 2019

ABSTRACT

Objectives. The aim of this study was to determine the human *papillomavirus* (HPV) genotype distribution and to investigate the relationship between HPV genotypes and cervical cytology in women with HPV infection.

Material and methods. In this study, 493 women who were admitted to the obstetrics clinic between 2007 and 2015 years and had HPV positivity were examined retrospectively:

Results. The median age of women included in the study was 37.3 ± 10.6 . The positivity of single and multiple HPV genotypes was 64.1% and 35.9%, respectively. HPV16 was the most common genotype in women with normal and abnormal cytology. The incidence of atypical squamous cells of undetermined significance (chi-square:8.32 p=0.04) and high-grade squamous intraepithelial lesion (chi-square:13.75 p<0.001) with HPV16 was significantly higher than in other HPV genotypes. In addition, abnormal cytology results in the group 1 (included HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) and group 4 (included HPV40, 42, 54, 55, 61, 62, 81, 83, 84) were significantly higher than other groups (chi-square:23.15 p<0.001).

Conclusions. Group 1 genotype ratios were found to be quite high among women with abnormal cytology and women with normal cytology. For this reason, close follow-up is very important in addition to cytological findings along with genotyping, especially from an early age. We were found that multiple HPV infection was not related to the grades of cytological abnormalities. Although abnormal cytology results in group 4 were significantly higher than the other groups, it was not possible to comment on the relationship between these genotypes

and cervical cancer since more than one HPV genotype was found in most of these women.

Keywords: Cervical cancer, Cytology, HPV, Genotype distribution

Distribución del genotipo del VPH en mujeres con citología cervical normal y anormal en Turquía

RESUMEN

Objetivos. El objetivo de este estudio fue determinar la distribución del genotipo del virus del papiloma humano (VPH) e investigar la relación entre los genotipos del VPH y la citología cervical en mujeres con infección por VPH.

Material y métodos. En este estudio, 493 mujeres que ingresaron en la clínica de obstetricia entre los años 2007 y 2015, y que presentaron VPH positivo fueron examinadas retrospectivamente.

Resultados. La edad media de las mujeres incluidas en el estudio fue de $37,3 \pm 10,6$. La positividad de los genotipos de VPH individuales y múltiples fue de 64,1% y 35,9%, respectivamente. VPH16 fue el genotipo más común en mujeres con citología normal y anormal. La incidencia de células escamosas atípicas de importancia indeterminada (chi-cuadrado: 8,32 p: 0,04) y lesión intraepitelial escamosa de alto grado (chi-cuadrado: 13,75 p <0,001) con VPH16 fue significativamente mayor que en otros genotipos de VPH. Además, los resultados citológicos anormales en el grupo 1 (incluido VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) y el grupo 4 (incluido el VPH 40, 42, 54, 55, 61, 62, 81, 83, 84) fueron significativamente más altos que en otros grupos (chi-cuadrado: 23,15 p <0,001).

Conclusiones. Se encontró que las proporciones de genotipos del grupo 1 fueron bastante altas entre las mujeres con citología anormal y las mujeres con citología normal. Por esta razón, el seguimiento cercano es muy importante además de

Correspondence:
Tuba Muderris
Izmir Katip Celebi Üniversitesi Ataturk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Basın Sitesi 35360
Karabaglar
Izmir/Turkey
Phone: +90 505 502 51 43
E-mail: tubamuderris@yahoo.com

los hallazgos citológicos junto con el genotipado, especialmente desde una edad temprana. Se encontró que la infección múltiple por VPH no estaba relacionada con los grados de anomalías citológicas. Aunque los resultados anormales de la citología en el grupo 4 fueron significativamente superiores a los otros grupos, no fue posible valorar la relación estos genotipos y el cáncer cervical ya que se encontró más de un genotipo de VPH en la mayoría de estas mujeres.

Palabras clave: cancer cervical, citología, VPH, distribución genotipos

INTRODUCTION

Cervical cancer is the second most common cancer among women worldwide and the leading cause of mortality in developing countries [1]. But cervical cancer is unique among common cancers in that it can be almost totally eradicated. Over 90% of women with cervical cancer are human *papillomavirus* (HPV)-positive [2]. Persistence of the HPV infection as well as viral DNA insertion in epithelial cells are the main factors leading to high-grade dysplasia with the potential of progression to carcinoma *in situ* and invasive cancer [3]. Although more than 140 HPV types have been identified and approximately 40 of them are known to infect humans and only about 15 of them cause cervical cancer and its precursor lesions [4]. Twelve viruses (HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 and 59) have been found significantly associated with cervical carcinoma and classified as Group 1 "oncogenic to humans", one virus (HPV68) as Group 2A "probably oncogenic to humans", 12 viruses (HPV26, 53, 66, 67, 70, 73, 82, 30, 34, 69, 85, 97) as Group 2B "possibly oncogenic to humans", two viruses (HPV6 and 11) as Group 3 "unclassifiable as to carcinogenicity in humans" and all HPVs not included in the Group 1, 2A, 2B and 3 have been described as Group 4 (unclassified HPV genotypes) [5]. Several other HPV genotypes are unclassified regarding to their epidemiologic oncogenic risk although few of them have been shown to bind and to ubiquitinate p53 oncosuppressor with the same efficiency as the Group 1 oncogenic viruses [5].

According to Ministry of Health registry data, cervical cancer is the 10th most common cancer among female cancers in Turkey [4]. Overall HPV prevalence has been reported to be between 2.1% and 25% in some Turkish regional studies [6-9]. According to report of population based cervical cancer screening program using HPV testing in one million Turkish women in 2018, HPV DNA positivity was reported to be 3.5% and 19.1% of these patients was abnormal smear [10]. The aim of this study was to determine the HPV genotype distribution and to investigate the relationship between HPV genotypes and cervical cytology in women with HPV infection.

MATERIAL AND METHODS

The study was a retrospective study. The patients to be included in the study was selected among the patients who applied to the obstetrics clinic of our hospital between 2007 and

2015 years. All women had gynecological histories, cytological evaluations and HPV genotyping.

Cytological findings were classified in line with the 2004 Bethesda classification system, as follows: (1) within negative for intraepithelial lesions and malignancy (normal), (2) atypical squamous cells (a) low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL), (b) high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL), (c) atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS), (d) atypical squamous cells for which a high-grade lesion cannot be excluded (ASC-H), (e) invasive cervical carcinoma (ICC), (3) atypical glandular cell (a) atypical glandular cell-favor neoplasia (Age-fn) and (b) atypical glandular cell not otherwise specified (Age-nos).

Cervical cells were sampled with a cervical brush and they were transported in Cobas PCR Cell Collection Media (Roche). DNA purification was done using the High Pure PCR Template (Roche); HPV detection was performed using the Linear Array HPV Detection kit (Roche), and then DNA was genotyped with the Linear Array HPV Genotyping Test (Roche, Iași, Romania). Genotyping via this technique involves one step of PCR amplification (ABI 9700): the final volume contained 50 µl of purified DNA and 50 µl of master mix (Roche). The thermal profile included the next steps: HOLD program: 2 min/50°C; an initial denaturation of 9 min at 95°C was followed by 40 cycles of 95°C for 30 s, 55°C for 1 min, and 72°C for 1 min, with a final extension for 5 min at 72°C. The amplicons have been denatured at the end of PCR amplification. HPV types were detected by hybridizations of the amplicons. Hybridization was performed in a TwinCubator (HAIN, Life Science) using Working Hybridization Buffer, Working Ambient Wash Buffer, Working Stringent Wash Buffer, Working Conjugate, Working Citrate Buffer and Working Substrate (Roche). The technique was validated through the use of positive and negative controls at each shift; the strips contain two bands for beta globin, which checks if the sample was correctly processed. HPV genotypes detected in this study were examined in five groups. These groups are as follows; Group 1 (oncogenic HPV genotypes; included HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59), group 2A (probably oncogenic HPV genotype; included HPV 68), group 2B (possibly oncogenic HPV genotypes; included HPV 26, 53, 66, 67, 70, 73, 82), group 3 (unclassifiable as to carcinogenicity in humans; included HPV 6, 11) and group 4 (unclassified HPV genotypes; included HPV 40, 42, 54, 55, 61, 62, 81, 83, 84). All HPVs not included in the Group 1, 2A, 2B and 3 have been designed as Group 4 in the present study.

Statistical analyses were performed using the Epi Info 7.2.1.0 and SPSS version 21.0 statistical software packages. Descriptive statistics such as frequency, percent, mean and standard deviation were used to summarize patients parameters. Pearson chi-square test was used to compare categorical data. Differences were considered to be statistically significant when p values were less than 0.05.

RESULTS

The study included 493 women with a median age of 37.3 ± 10.6 (min:19, max:74) years. All women are infected with any HPV type. The cytological examination was available for all women. Of the women, 316 were positive for a single HPV type (64.1%) and 177 were positive for multiple types (35.9%) (table 1).

The higher prevalence of HPVs (32.5%; 160/493) was observed among women in the age group 30-39. Single HPV infections were found in 17.7% (87/493), 21.1% (104/493), 16.6% (82/493) and 8.7% (43/493) of the women aged ≤29, 30-39, 40-49 and ≥50 years, respectively. Multiple infections were observed in 9.1% (45/493), 11.4% (56/493), 9.3% (46/493) and 6.1% (30/493) of the women aged ≤29, 30-39, 40-49 and ≥50 years, respectively. The prevalence of group 1 and other HPV groups in ≤29, 30-39, 40-49 and ≥50 age groups was 13.9 and 10.8%, 20 and 11.8%, 17.3 and 9.1%, 12.2 and 4.9%, respectively. It was found that group 1 HPV genotype positivity was higher in patients between 30 and 39 years (20%) than other age groups (table 1).

The prevalence of group 1 HPV genotypes was 68.6% (338/493). The most common genotypes were HPV16 (36.9%; 182/493), HPV45 (14.2%; 70/493), HPV18 (13.9%; 69/493), HPV31 (6.3%; 31/493), HPV51 (5.9%; 29/493), HPV33, HPV35 and HPV58 (each 5.7%; 28/493) belonging to Group1; HPV53 (7.5%; 37/493) belonging to group 2B and HPV6 (28.2%; 139/493) belonging to group 3. The frequency of all other genotypes was below 5% of all HPV infections. The distribution of HPV genotypes is shown table 2.

The cytological results of the women were as follows; normal cytology (68%; 335/493), atypical glandular cell (0.6%; 3/493) and atypical squamous cells (31.4%; 155/493). The prevalence of atypical squamous cells was significantly higher than atypical glandular cell ($p < 0.001$). Agc-fn and Agc-nos were detected 0.2% (1/493) and 0.4% (2/493), respectively. The women that diagnosed squamous cell anomaly included ASCUS (9.5%; 47/493), ASC-H (2.2%; 11/493), LSIL (12%; 59/493), HSIL (7.3%; 36/493) and ICC (0.4%; 2/493). Of women with abnormal cytology results, the prevalence of LSIL was higher than other atypical squamous cells. However, there was not found to be statistically significant difference between atypical squamous cells (table 2).

The prevalence of group 1 HPV genotypes (with multiple HPV genotypes) found to be 63.3% (212/335) among women with normal cytology to 79.8% (126/158) in women with abnormal cytology. This distribution is shown in table 2 in women with a single HPV genotype. The most common group 1 HPV genotypes among women with normal cytology were HPV16 (32.5%; 109/335), followed by HPV45 (19.4%; 65/335), HPV18 (13.4%; 45/335), HPV31 (6.6%; 22/335), HPV51 (5.9%; 20/335), HPV 33, HPV35, HPV39, HPV52, HPV56 and HPV59 (each <5%). The most common group 1 HPV genotypes among women with abnormal cytology were HPV16 (46.2%; 73/158), HPV18 (15.2%; 24/158), HPV33 and HPV58 (each 8.9%; 14/158), HPV35 (8.2%;

13/158), HPV 52 (7.6%; 12/158), HPV51 (5.7%; 9/158), HPV39, HPV45, HPV56 and HPV59 (each <5%). The incidence of abnormal cytology was found to be significantly higher in patients with group 1 HPV genotypes compared to patients with other HPV groups (chi-square: 9.27 $p = 0.002$).

Group 4 HPV genotypes were detected in 54 women. In 8 of these women, single HPV genotype was detected, while 46 women had multiple HPV infection. In addition, 36 of these 46 women (78.3%) were also identified as group 1 HPV genotypes.

Distribution of ASCUS, LSIL, HSIL and ICC in the women that was detected group 1 HPV genotypes was 80.9% (38/47), 67.8% (40/59), 94.4% (34/36) and 100% (2/2), respectively. The most frequent group 1 HPV genotype in women with abnormal cytology was HPV 16 (40.1%; 73/182). Distribution of HPV 16 in women with ASCUS, LSIL and HSIL was 45.8% (22/48), 32.2% (19/59) and 72.2% (26/36), respectively. The incidence of ASCUS (chi-square: 8.32 $p = 0.04$) and HSIL (chi-square: 13.75 $p < 0.001$) in women with HPV 16 was significantly higher than in other HPV genotypes.

Group 4 detected in 10.7% (36/335) of normal cytology, in 13.6% (8/59) of LSIL, in 14.9% (7/47) of ASCUS and 8.3% (3/36) of ASC-H but in none of HSIL. Among the unclassified HPVs the most frequent HPV84, 62, 54, and 42 were being found in 5.1, 5.1, 3.4 and 1.7% of women with LSIL, respectively, while the genotype 62 was the most frequent (3.9%) among women with normal cytology.

Prevalence of abnormal cytology was found to be higher in the patients with single type HPV infection (21.3%) when compared to the women with multiple HPV infection (10.8%), but this distribution was statistically insignificant (chi-square: 0.42 $p = 0.5$). The multiple HPV infection rates in normal cytology, ASCUS, LSIL and HSIL were 37% (124/335), 31.9% (15/47), 37.3% (22/59) and 22.2% (8/36), respectively. In additional, abnormal cytology results in the group 1 and group 4 were significantly higher than other groups (chi-square: 23.15 $p < 0.001$).

DISCUSSION

Worldwide, cervical cancer is the second most common malignancy in women, impacting about 35 of every 100,000 women [10]. According to Turkey cancer control programme, cervical cancer is the 10th most frequently observed cancer in women [11]. Persistent infection of HPV has been definitively linked to the development of the cancer [10]. In a study featuring over 30,000 cervical cancers, the International Agency for Research on Cancer (IARC) showed that of the most frequent HPV genotypes (HPVs) that lead to cervical malignancy (16, 18, 58, 33, 45, 31, 52, 35, 59, 39, 51, and 56), HPV 16 induces more than 50% of cervical cancers, while HPV 16 and 18 together lead to over 70% of cases across the globe [10]. This study provides a comprehensive information on the HPV genotype distribution among Turkish women with normal and abnormal cytology.

Epidemiologic and biological researchers demonstrate that the statistical distribution of HPV infection and its sub-

	HPV genotypes distribution among 493 HPV positive cases (834 different types) by age groups.									
	Total		≤ 29 years		30-39 years		40-49 years		≥ 50 years	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Single type	316	64.1	87	17.7	104	21.1	82	16.6	43	8.7
Multiple type	177	35.9	45	9.1	56	11.4	46	9.3	30	6.1
Total	493	100	132	26.8	160	32.5	128	25.9	73	14.8
Group 1										
HPV-16	182	21.8	45	5.3	58	6.9	52	6.3	27	3.3
HPV-18	69	8.3	20	2.4	19	2.3	19	2.3	11	1.4
HPV-31	31	3.7	6	0.7	11	1.4	7	0.8	7	0.8
HPV-33	28	3.4	3	0.4	8	0.9	8	0.9	9	1.2
HPV-35	28	3.4	4	0.5	8	0.9	8	0.9	8	0.9
HPV-39	15	1.8	1	0.1	4	0.5	4	0.5	6	0.7
HPV-45	70	8.4	18	2.1	24	3	18	2.1	10	1.2
HPV-51	29	3.5	5	0.6	8	0.9	9	1.2	7	0.8
HPV-52	25	2.9	3	0.4	7	0.8	8	0.9	7	0.8
HPV-56	12	1.4	3	0.4	6	0.7	1	0.1	2	0.2
HPV-58	28	3.4	5	0.6	8	0.9	8	0.9	7	0.8
HPV-59	12	1.4	3	0.4	6	0.7	2	0.2	1	0.1
Total	529	63.4	116	13.9	167	20	144	17.3	102	12.2
Other ^a	305	36.6	90	10.8	98	11.8	76	9.1	41	4.9
Total	834	100	206	24.7	265	31.8	220	26.4	143	17.1

^aOther groups different of the group 1

types varies by region, age, and some other demographic features of the population [12]. Age has been reported to have the most important effect on the prevalence of HPV in some studies [13]. The lowest prevalence of HPV was reported in women aged 14–19 years and the highest prevalence was reported in women aged 20–24 years [14, 15]. In addition, some studies reported a second peak in the prevalence of HPV in postmenopausal women [16]. However, in a multicenter study, the age-related prevalence of HPV was reported to vary according to region and population. It has been reported that the prevalence of HPV has increased around 25 years old and it decreases with age [17]. In the present study, the majority of patients were between 3rd and 4th decades (32.5%). In addition, the prevalence of HPV was found to be decreased with increasing age in accordance with the literature [16]. Our study was conducted only in a case group of patients who attended gynaecology clinic of a third stage health institution in the western region of Turkey. For this reason, we believe that our results cannot be generalized to all of Turkey. It is necessary to perform a wider scale study across the country for HPV infection and vaccination.

The results of the present study demonstrated that HPV16, HPV 6, HPV45, HPV18, HPV53 and HPV31 were the six

most prevalent types in our study population. In a study by Ari et al. [18] the most common HPV types was reported to be HPV16 and HPV6. In another study from Turkey, Beyazit et al. the most common HPV types was reported to be HPV16, HPV58, HPV6 and HPV31 [11]. In the present study was detected that HPV16, HPV 18, HPV33, HPV58 and HPV35 were the most prevalent types in women with abnormal cytology. Finan et al. [19] reported HPV types 6, 11, 16, 18 and 33 were the most common detected HPV genotypes in women with abnormal cytology and also in those with normal cytology.

The prevalence of group 1 HPV genotypes found in our study was 68.6%. The most frequent group 1 HPV genotype was HPV16 accounting for prevalence of 36.9% in all women. Moreover the prevalence of group 1 HPV genotypes and the most prevalent genotype, HPV16, were also significant among women with normal cervical cytology (63.3% and 32.5%, respectively). In a study by Al-Awadhi et al., [20] the prevalence and type specific distribution of HPV in women with normal cervical cytology was investigated. The authors reported relatively low rates (2.4%) of HPV positivity in their patient population and these low rates were attributed to unique sociodemographic and sexual behaviour characteristics of the country. In a study by Wolday et al., the prevalence of group 1 HPV

Table 2

Distribution of HPV genotypes that single/multiple HPV genotypes found cases according to cervical cytology.

n (%)	All cases	Normal cytology	Abnormal cytology								
			Atypical glandular cell			Atypical Squamous cell					
	Total	Agc-fn	Agc-nos	Total	ASCUS	ASCH	LSIL	HSIL	ICC		
Any HPV	493 (100)	335 (68)	3 (0.6)	1 (0.2)	2 (0.4)	155 (31.4)	47 (9.5)	11 (2.2)	59 (12)	36 (7.3)	2 (0.4)
Single type	316 (64.1)	211 (42.8)	2 (0.4)		2 (0.4)	103 (20.9)	32 (6.5)	4 (0.8)	37 (7.5)	28 (5.7)	2 (0.4)
Group 1											
HPV-16	108 (21.9)	54 (10.9)	1 (0.2)		1 (0.2)	53 (10.8)	16 (3.3)	2 (0.4)	13 (2.6)	21 (4.3)	1 (0.2)
HPV-18	28 (5.7)	17 (3.5)	1 (0.2)		1 (0.2)	10 (2)	2 (0.4)	1 (0.2)	4 (0.8)	2 (0.4)	1 (0.2)
HPV-31	11 (2.2)	5 (1)				6 (1.2)	2 (0.4)		2 (0.4)	2 (0.4)	
HPV-33	0										
HPV-35	2 (0.4)	1 (0.2)				1 (0.2)			1 (0.2)		
HPV-39	2 (0.4)	1 (0.2)				1 (0.2)	1 (0.2)				
HPV-45	14 (2.8)	14 (2.8)									
HPV-51	5 (1)	2 (0.4)				3 (0.6)	2 (0.4)		1 (0.2)		
HPV-52	0										
HPV-56	4 (0.8)	1 (0.2)				3 (0.6)	1 (0.2)		2 (0.4)		
HPV-58	0										
HPV-59	5 (1)	4 (0.8)				1 (0.2)				1 (0.2)	
Total	179 (36.3)	99 (20.1)	2 (0.4)		2 (0.4)	78 (15.8)	24 (4.9)	3 (0.6)	23 (4.7)	26 (5.3)	2 (0.4)
Group 2A											
HPV-68	1 (0.2)					1 (0.2)	1 (0.2)				
Group 2B											
HPV-26	0										
HPV-53	12 (2.4)	9 (1.8)				3 (0.6)	1 (0.2)		2 (0.4)		
HPV-66	8 (1.6)	5 (1)				3 (0.6)	1 (0.2)		2 (0.4)		
HPV-67	0										
HPV-70	2 (0.4)	2 (0.4)									
HPV-73	0										
HPV-82	0										
Total	22 (4.4)	16 (3.2)				6 (1.2)	2 (0.4)		4 (0.8)		
Group 3											
HPV-6	91 (18.4)	77 (15.6)				14 (2.8)	3 (0.6)	1 (0.2)	9 (1.8)	1 (0.2)	
HPV-11	15 (3)	13 (2.6)				2 (0.4)	1 (0.2)			1 (0.2)	
Total	106 (21.4)	90 (18.2)				16 (3.2)	4 (0.8)	1 (0.2)	9 (1.8)	2 (0.4)	
Group 4											
HPV-40	0										
HPV-42	0										
HPV-54	0										
HPV-55	1 (0.2)	1 (0.2)									

Table 2**Distribution of HPV genotypes that single/multiple HPV genotypes found cases according to cervical cytology (cont.)**

n (%)	All cases	Normal cytology	Abnormal cytology						
			Atypical glandular cell			Atypical Squamous cell			
	Total	Agc-fn	Agc-nos	Total	ASCUS	ASCH	LSIL	HSIL	ICC
HPV-61	2 (0.4)	1 (0.2)		1 (0.2)	1 (0.2)				
HPV-62	3 (0.6)	3 (0.6)							
HPV-81	1 (0.2)	1 (0.2)							
HPV-83	0								
HPV-84	1 (0.2)			1 (0.2)			1 (0.2)		
Total	8 (1.6)	6 (1.2)		2 (0.4)	1 (0.2)		1 (0.2)		
Multiple type									
1	65 (13.2)	45 (9.1)		20 (4.1)	6 (1.2)	4 (0.8)	4 (0.8)	6 (1.2)	
2A	0								
2B	2 (0.4)	1 (0.2)		1 (0.2)			1 (0.2)		
3	1 (0.2)			1 (0.2)			1 (0.2)		
4	0								
1+2A	9 (1.8)	8 (1.6)		1 (0.2)	1 (0.2)				
1+2B	16 (3.3)	8 (1.6)	1 (0.2)	1 (0.2)	7 (1.4)	1 (0.2)	4 (0.8)	2 (0.4)	
1+3	31 (6.3)	27 (5.5)			4 (0.8)	1 (0.2)	3 (0.6)		
1+4	17 (3.5)	9 (1.8)			8 (1.6)	4 (0.8)	1 (0.2)	3 (0.6)	
2A+2B	3 (0.6)	2 (0.4)			1 (0.2)		1 (0.2)		
2A+3	0								
2A+4	0								
2B+3	2 (0.4)	1 (0.2)			1 (0.2)		1 (0.2)		
2B+4	4 (0.8)	2 (0.4)			2 (0.4)		1 (0.2)	1 (0.2)	
3+4	3 (0.6)	3 (0.6)							
1+3+4	11 (2.2)	9 (1.8)			2 (0.4)		1 (0.2)	1 (0.2)	
1+2B+4	6 (1.2)	3 (0.6)			3 (0.6)	1 (0.2)		2 (0.4)	
1+2B+3	2 (0.4)	2 (0.4)							
1+2B+3+4	2 (0.4)	2 (0.4)							
2B+3+4	3 (0.6)	2 (0.4)			1 (0.2)	1 (0.2)			
Total	177 (35.9)	124 (25.2)	1 (0.2)	1 (0.2)	52 (10.6)	15 (3)	7 (1.4)	22 (4.5)	8 (1.6)

Agc-fn: atypical glandular cell-favor neoplasia; Agc-nos: atypical glandular cell not otherwise specified; ASCUS: atypical squamous cells of undetermined significance; ASCH: atypical squamous cells for which a high-grade lesion can not be excluded; LSIL: low-grade squamous intraepithelial lesion; HSIL: high-grade squamous intraepithelial lesion; ICC: invasive cervical carcinoma. Group 1: Including the oncogenic viruses. Group 2A: Including the probably oncogenic viruses. Group 2B: Including the possibly oncogenic viruses. Group 3: Including the unclassifiable as to carcinogenicity in humans. Group 4: Including the unclassified HPV genotypes.

genotypes and HPV16 was found 71% and 20.3% among women with normal cytology, respectively [21]. Previous studies from Turkey have revealed prevalence of group 1 HPV genotypes ranging from 1.5 to 27% in women presenting with normal cytology [22-26]. Compared to these studies in our country, our high rate can be explained by the changing social policies

of the health ministry which includes more regular gynecological controls with the usage of more sensitive HPV methods and by the reduction of social and religious influences on the young population (resulting in liberal sexual life). Recently, in two studies from Turkey the rate of HPV positivity among women with normal cytology were detected by 49% and 73%,

respectively [11, 27]. These patients which have group 1 HPV genotypes with normal cytology must be regularly followed up in accordance with international guidelines. Because these patients have a high risk of serious HPV induced lesions in the future. Delayed follow-up may have jeopardized these patients because of risk for serious epithelial changes [11]. According to the American Society of Colposcopy and Cervical Pathology (ASCCP) guidelines, management of cytology-negative/HPV-positive women may follow two pathways. These are a repeat co-test a year later or immediate HPV genotype-specific testing for HPV-16 or HPV-16/18. If patients are HPV-16/18 positive, they must be directly referred to colposcopy. If the result is negative for HPV16/18, the ASCCP advises that the co-test be repeated 12 months later [27].

The prevalence of group 1 HPV genotypes positivity was detected 79.8% among women with abnormal cytology in our study. Additionally, the prevalence of group 1 HPV genotypes in women with LSIL, HSIL and ASCUS in currently study was found to be 67.8%, 94.4% and 80%, respectively. This rates were reported in the several studies as range between 46.5 and 89% [4, 5, 11], 86.7% and 100% [4, 5, 11, 21], 72.5% and 94% [4, 11], respectively. The prevalence of group 1 HPV genotypes in women with LSIL, HSIL and ASCUS in our study was consistent with those in findings of these studies [4, 5, 11, 21]. As expected, the prevalence of group 1 HPV genotypes, especially HPV16, was higher in women with HSIL (72.2%) than women with LSIL (32.2%) and women with normal cytology. In conclusion, although in women with slight cell alterations (such as ASCUS and LSIL) follow-up testing is commonly recommended, in women with HSIL colposcopy with endocervical sampling has been considered the best management [11].

Co-infection with multiple HPV genotypes is commonly encountered in HPV studies [28]. The prevalence of infection with multiple HPV genotypes which might have been affected by the characteristics of the study population, and geographic distribution [28] have been reported between 4.4% and 78.3% [29-31]. A high incidence of co-infection by multiple genotypes (35.9%) was observed in currently study. The carcinogenic effects of multiple infections are still unclear. In the some studies were reported that multiple HPV infections were associated with the grades of cervical abnormalities, and the cervical cancer risk of patients who suffered from multiple HPV infections was higher than those with single HPV infection [28, 32, 33]. Contrary to these literatures the prevalence of abnormal cytology was found to be higher in the patients with single type HPV infection (21.3%) in our study. Additionally in this study, the multiple HPV infection rates in normal cytology, ASCUS, LSIL and HSIL were 37%, 31.9%, 37.3% and 22.2%, respectively. Hence, the incidence of multiple HPV infections indicated that multiple HPV infection was not related to the grades of cytological abnormalities. Carrillo-García et al. showed that multiple HPV infections are not associated to the severity of cervical lesions since they were as common in ICC or HSIL as in LSIL or normal cytology [34]. Additional studies must be needed in order to determine the association between multiple infections and pathogenesis.

Interestingly, we have identified 12 unclassified genotypes in 10.7% of normal cytology, in 13.6% of LSIL, in 14.9% of ASCUS and 8.3% of ASC-H but in none of HSIL. Among the unclassified HPVs the most frequent HPV84, 62, 54, and 42 were being found in 5.1, 5.1, 3.4 and 1.7% of women with LSIL, respectively, while the genotype 62 was the most frequent (3.9%) among women with normal cytology.

Annuziata et al. found that among the unclassified HPVs the genotypes were the most frequent 81, 42, 62 and 91 and the prevalence of these were 2.7, 2.2, 2.2 and 1.8% of women with LSIL, respectively [5]. It has been reported that some of the unclassified HPV genotypes can important in cases which weaken the immune system such as HIV infection. The compromised immune system could be not able to limit the "weak oncogenic" activity of some unclassified viruses [5]. Garbuglia et al. found that HPV62 and HPV81 were associated, as single infections, with 9.1 and 4.5% of HSIL, respectively, among HIV positive women [36]. In our study, more than one HPV genotype was identified in most (85.2%) of women infected with unclassified HPV genotypes. In addition, at least one group 1 HPV genotype was detected in 64.8% of these women. Although abnormal cytology results in unclassified HPV genotypes were significantly higher than the other groups, we cannot comment on the relationship between unclassified HPV genotypes and abnormal cytology. Further studies about unclassified HPV genotypes will be of importance in establishing, especially helpful in formulating a strategy for further second-generation vaccine development as well as follow-up on the effectiveness of the currently used vaccines.

HPV diagnosis, which is regarded as a major factor in cervical cancer aetiology, is of great importance today. Cervical cancer differs from other cancer types as it is a "preventable" cancer type. For that reason, scanning, early diagnosis and treatment are important for HPV-related infections. The recently licensed nonavalent HPV vaccine targets the seven group 1 HPV genotypes (HPV16, 18, 31, 33, 45, 52 and 58) and the low risk HPV genotypes (HPV6 and 11) [26]. Considering the frequency of these nine HPVs among the analyzed women, the use of nonavalent vaccine would be able to prevent more than 80% of HPV infections. In particular, vaccination would prevent 74.6% and 97.2% of LSIL and HSIL, respectively.

Close follow-up is quite important even in women with normal cytology, due to the presence of high group 1 HPV ratios. We were found that multiple HPV infection was not related to the grades of cytological abnormalities. However, additional studies must be needed in order to determine the association between multiple infections and pathogenesis. In addition, we found that the most common genotypes among the unclassified HPVs were HPV84, 62, 54, and 42. Nevertheless, we could not comment on the relationship between these genotypes and cervical cancer because most of these women have co-infection with multiple HPV genotypes. The future studies should also focus on these rare uncommon HPV genotypes, especially on the different distributions of these rare HPV genotypes in particular regions. Thus, a strategy for the development of second generation vaccines in a given region can be formulated.

FUNDING

None to declare.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that they have no conflicts of interest.

REFERENCES

1. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. Human *papillomavirus* and related diseases in world. Summary report, 2014. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre) [cited 5 March 2019]. Available from: www.hpvcentre.net.
2. Hancer VS, Buyukdogan M, Bylykbashi I, Oksuz B, Acar M. Prevalence of human *papillomavirus* types in Turkish and albanian women. *J Cytol*. 2018;35(4):252-4. doi: 10.4103/JOC.JOC_162_17.
3. Luhn P, Walker J, Schiffman M, Zuna RE, Dunn ST, Gold MA, et al. The role of co-factors in the progression from human *papillomavirus* infection to cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2013;128(2):265-70. PMID: 23146688.
4. Seneldir H, Kir G. Prevalence of high-risk human *papillomavirus* in liquid-based cervical samples from Turkish women with normal and abnormal cytology. *Diagn Cytopathol*. 2019;47(2):100-4. doi: 10.1002/dc.24022.
5. Annunziata C, Stellato G, Greggi S, Sanna V, Curcio MP, Losito S, et al. Prevalence of "unclassified" HPV genotypes among women with abnormal cytology. *Infec Agent Cancer*. 2018;13:26. doi: 10.1186/s13027-018-0199-0.
6. Schiffman M, Clifford G, Buonaguro FM. Classification of weakly carcinogenic human *papillomavirus* types: addressing the limits of epidemiology at the borderline. *Infect Agent Cancer*. 2009;4:8. doi: 10.1186/1750-9378-4-8.
7. Mesplede T, Gagnon D, Bergeron-Labrecque F, Azar I, Senechal H, Coutlee F, et al. p53 degradation activity, expression, and subcellular localization of E6 proteins from 29 human *papillomavirus* genotypes. *J Virol*. 2012;86(1):94-107. doi: 10.1128/JVI.00751-11.
8. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015;136(5):359-86. doi: 10.1002/ijc.29210.
9. Inal MM, Köse S, Yildirim Y, Ozdemir Y, Töz E, Ertepçü K, et al. The relationship between human *papillomavirus* infection and cervical intraepithelial neoplasia in Turkish women. *Int J Gynecol Cancer*. 2007;17(6):1266-70. doi:10.1111/j.1525-1438.2007.00944.x.
10. Wang X, Huang X, Zhang Y. Involvement of human *papillomavirus*-es in cervical cancer. *Front. Microbiol*. 2018;9:2896. doi: 10.3389/fmicb.2018.02896.
11. Beyazit F, Silan F, Gencer M, Aydin B, Paksoy B, Unsal MA, et al. The prevalence of human *papillomavirus* (HPV) genotypes detected by PCR in women with normal and abnormal cervico-vaginal cytology. *Ginekologia Polska* 2018;89(2): 62-7. doi: 10.5603/GP.a2018.0011.
12. Barut MU, Yıldırım E, Kahraman M, Bozkurt M, İmirzalioğlu N, Kubat A, et al. Human *papillomaviruses* and their genotype distribution in women with high socioeconomic status in central Anatolia, Turkey: A pilot study. *Med Sci Monit*. 2018;4(24):58-66. PMID: 29298972
13. Wang J, Tang D, Wang J, Zhang Z, Chen Y, Wang K, et al. Genotype distribution and prevalence of human *papillomavirus* among women with cervical cytological abnormalities in Xinjiang, China. *Hum Vaccin Immunother*. 2019;8. doi: 10.1080/21645515.2019.1578598.
14. Kunze U, Böhm G. Public health analysis human *papillomavirus* data and facts for Austria. *Wien Klin Wochenschr* 2010;122(23-24):655-9. doi: 10.1007/s00508-010-1496-9.
15. Erickson BK, Alvarez RD, Huh WK. Human *papillomavirus*: What every provider should know. *Am J Obstet Gynecol*. 2013;208(3):169-75. doi: 10.1016/j.ajog.2012.09.007.
16. Kulhan M, Kulhan NG, Seven Y, Nayki UA, Nayki C, Ata N, et al. Estimation of the prevalence and distribution of HPV genotypes and identification of related risk factors among Turkish women. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2017;21(3):218-23. doi: 10.5114/wo.2017.69591.
17. de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human *papillomavirus* DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2007;7(7):453-459. PMID: 17597569.
18. Arı M, Döger FK, Kirdar S, Yuksel H. Cervical biopsy, smear evaluation and comparison of human *papillomavirus* subtypes result. *Meandros Med Dent J*. 2016;17(1):17-21, doi: 10.4274/meandros.2582.
19. Finan RR, Irani-Hakime N, Tamim H, Sharide HE, Daccache JL, Almawi WY. Detection of human *papillomavirus* (HPV) genotypes in cervico-vaginal scrapes of women with normal and abnormal cytology. *Clin Microbiol Infect*. 2001;7(12):688-92, doi: 10.1046/j.1469-0691.2001.00339.x.
20. Al-Awadhi R, Chehadeh W, Kapila K. Prevalence of human *papillomavirus* among women with normal cervical cytology in Kuwait. *J Med Virol*. 2011; 83(3):453-60, doi: 10.1002/jmv.21981.
21. Wolday D, Derese M, Gebresselassie S, Tsegaye B, Ergete W, Gebrehiwot Y, et al. HPV genotype distribution among women with normal and abnormal cervical cytology presenting in a tertiary gynecology referral clinic in Ethiopia. *Infect Agent Cancer*. 2018;13:28 doi: 10.1186/s13027-018-0201-x.
22. Dursun P, Senger SS, Arslan H, Kuscu E, Ayhan A. Human *papillomavirus* (HPV) prevalence and types among Turkish women at a gynecology outpatient unit. *BMC Infect Dis*. 2009;9:191. doi: 10.1186/1471-2334-9-191.
23. Demir ET, Ceyhan M, Simsek M, Gunduz T, Arlier S, Aytac R, et al. The prevalence of different HPV types in Turkish women with a normal pap smear. *J Med Virol*. 2012;84(8):1242-7. doi:10.1002/jmv.23333.
24. Yuce K, Pinar A, Salman MC, Alp A, Sayal B, Dogan S, et al. Detection and genotyping of cervical HPV with simultaneous cervical cytology in Turkish women: a hospital-based study. *Arch Gynecol Obstet*. 2012;286(1):203-8. doi: 10.1007/s00404-012-2280-z.
25. Dursun P, Ayhan A, Mutlu L, Çağlar M, Haberal A, Güngör T, et al.

- HPV types in Turkey: multicenter hospital based evaluation of 6388 patients in Turkish gynecologic oncology group centers. *Turk Patoloji Derg.* 2013;29(3):210-6. doi: 10.5146/tjpath.2013.01188.
- 26. Tezcan S, Ozgur D, Ulger M, Aslan G, Gurses I, Serin MS, et al. Human *papillomavirus* genotype distribution and E6/E7 oncogene expression in Turkish women with cervical cytological findings. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(9):3997-4003. PMID: 24935586.
 - 27. Karaca I, Ozturk M, Comba C, Demirayak G, Alay I, Erdogan VS, et al. Immediate biopsy of cervical cytology-negative and non-HPV-16/18 oncogenic types positive patients. *Diagn Cytopathol.* 2018;46(4):326-30. doi: 10.1002/dc.23905.
 - 28. Kim NR, Kang M, Lee SP, Kim H, An J, Chung DH, et al. Uncommon and rare human *papillomavirus* genotypes relating to cervical carcinomas. *Korean J Pathol.* 2014;48(1):43-9. doi: 10.4132/KoreanJ-Pathol.2014.48.1.43.
 - 29. De La Fuente J, Hernandez Aguado JJ, Martín MS, Boix PR, Cedillo S, López N. Estimating the epidemiological impact and costeffectiveness profile of a nonavalent HPV vaccine in Spain. *Hum Vaccin Immunother.* 2019;30:1-13. doi: 10.1080/21645515.2018.1560770.
 - 30. Largeron N, Petry KU, Jacob J, Bianic F, Anger D, Uhart M. An estimate of the public health impact and cost-effectiveness of universal vaccination with a 9-valent HPV vaccine in Germany. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res.* 2017;17(1):85-98. doi: 10.1080/14737167.2016.1208087.
 - 31. Li N, Franceschi S, Howell-Jones R, Snijders PJ, Clifford GM. Human *papillomavirus* type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer.* 2011;128(4):927-35. doi: 10.1002/ijc.25396.
 - 32. Lee SA, Kang D, Seo SS, Jeong JK, Yoo KY, Jeon YT, et al. Multiple HPV infection in cervical cancer screened by HPV DNA Chip. *Cancer Lett.* 2003;198(2):187-92. PMID: 12957357.
 - 33. Molano M, Van den Brule A, Plummer M, Weiderpass E, Posso H, Arslan A, et al. Determinants of clearance of human *papillomavirus* infections in Colombian women with normal cytology: a population-based, 5-year follow-up study. *Am J Epidemiol.* 2003;158(5):486-94. PMID:12936904.
 - 34. Carrillo-García A, Ponce-de-León-Rosales S, Cantú-de-León D, Fragozo-Ontiveros V, Martínez-Ramírez I, Orozco-Colín A, et al. Impact of human *papillomavirus* coinfections on the risk of high-grade squamous intraepithelial lesion and cervical cancer. *Gynecol Oncol.* 2014;134(3):534-9. doi: 10.1016/j.ygyno.2014.06.018.
 - 35. Tornesello ML, Duraturo ML, Giorgi-Rossi P, Sansone M, Piccoli R, Buonaguro L, et al. Human *papillomavirus* (HPV) genotypes and HPV16 variants in human immunodeficiency virus-positive Italian women. *J Gen Virol.* 2008;89(Pt 6):1380-9. doi: 10.1099/vir.0.83553-0.
 - 36. Garbuglia AR, Piselli P, Lapa D, Sias C, Del Nonno F, Baiocchini A, et al. Frequency and multiplicity of human *papillomavirus* infection in HIV-1 positive women in Italy. *J Clin Virol.* 2012;54(2):141-6. doi: 10.1016/j.jcv.2012.02.013.



Original

İlker Ödemis¹
Şükran Köse²
İlkay Akbulut²
Hazal Albayrak²

Seroprevalence of measles, mumps, rubella, and varicella zoster virus antibodies among healthcare students: analysis of vaccine efficacy and cost-effectiveness

¹Nigde Omer Halisdemir University, Training and Research Hospital, Infectious Diseases and Clinical Microbiology Clinic, Nigde, Turkey

²University Of Health Sciences, Tepecik Training and Research Hospital, Infectious Diseases and Clinical Microbiology Clinic, İzmir, Turkey

Article history

Received: 7 May 2019; Revision Requested: 4 June 2019; Revision Received: 14 June 2019; Accepted: 3 September 2019

ABSTRACT

Introduction. The aims of this study are to determine the seroprevalence for measles, mumps, rubella, and varicella zoster virus (VZV) in a cohort of nursing students, to evaluate vaccination response rates of nonimmune students, and to calculate the cost of vaccinating students based on seroprevalence screening.

Material and methods. A cross-sectional study was conducted August 2015–November 2016 among 326 healthy nursing students aged 14.1–18.1 years. Serum IgG antibodies were measured by ELISA. Results were analyzed by the Chi-square test; a p-value of < 0.05 was considered statistically significant.

Results. The number of seropositive participants (%) was 308 (94.5%) for rubella, 295 (90.5%) for VZV, 244 (74.9%) for measles, and 219 (67.2%) for mumps. A significant correlation was found between measles IgG and age. A relationship was also observed between VZV IgG and kindergarten attendance. Response rates to measles, rubella, VZV, and mumps vaccination were 96%, 92.3%, 87.5%, 78.8%, respectively. The total cost of vaccination after IgG screening was less than vaccination without screening.

Conclusions. In this study, participants' immunity to measles and VZV was low. Prevaccination serological screening was cost-effectiveness method for preventing measles, mumps, rubella, and varicella infections. We believe that administering booster measles, mumps, and rubella (MMR) vaccine doses or developing a special MMR vaccination strategy for at-risk groups may prevent MMR outbreaks.

Key words: Measles, mumps, rubella, varicella, seroprevalence, vaccine, cost-effectiveness

Seroprevalencia de anticuerpos contra el sarampión, las paperas, la rubéola y el virus de la varicela zoster entre estudiantes de enfermería: Análisis de coste-efectividad de la vacuna

RESUMEN

Objetivos. Los trabajadores sanitarios con frecuencia están expuestos a agentes infecciosos mientras realizan sus tareas. Los objetivos de este estudio son determinar la seroprevalencia del virus de sarampión, paperas, rubeola y varicela zoster (VZV) en un grupo de estudiantes de enfermería, evaluar las tasas de respuesta de vacunación de estudiantes no inmunes y calcular el coste de vacunación de los estudiantes basándose en la detección de seroprevalencia.

Material y métodos. Se realizó un estudio transversal de agosto de 2015 a noviembre de 2015 entre 326 estudiantes de enfermería sanos de 14,1 a 18,1 años. Los anticuerpos IgG séricos se midieron por ELISA. Los resultados fueron analizados mediante la prueba de Chi-cuadrado.

Resultados. El número de participantes seropositivos (%) fue de 308 (94,5%) para la rubeola, 295 (90,5%) para el VZV, 244 (74,9%) para el sarampión y 219 (67,2%) para las paperas. Se encontró una correlación significativa entre la IgG del sarampión y la edad. También se observó una relación entre VZV IgG y asistencia a guardería. Las tasas de respuesta a la vacunación contra el sarampión, la rubeola, el VZV y las paperas fueron del 96%, 92,3%, 87,5%, 78,8%, respectivamente. El coste total de la vacunación después de la detección de IgG fue menor que la vacunación sin la detección.

Conclusiones. En este estudio, la inmunidad de los participantes al sarampión y al VZV fue baja. La detección serológica previa a la vacunación fue un método de coste-efectividad para prevenir las infecciones por sarampión, paperas, rubeola y varicela. Creemos que la administración de una dosis de la

Correspondence:

İlker Ödemis
Aşağı Kayabasi mah. Nigde Omer Halisdemir Üniversitesi, Eğitim ve Araştırma Hastanesi İtalya Polikliniği Merkez/Nigde
Phone: +90 505 416 30 35
Fax: +90 388 212 1411
E-mail: ilkerodemis2014@gmail.com

vacuna triple vírica de refuerzo o el desarrollo de una estrategia especial de vacunación dosis de la vacuna triple vírica para grupos en riesgo puede prevenir los brotes de sarampión, paperas y rubeola.

Palabras clave: Sarampión, paperas, rubeola, varicela zoster , vacuna, coste-efectividad

INTRODUCTION

Measles and varicella zoster virus (VZV) are transmitted from person to person through an airborne route, while mumps and rubella are transmitted through respiratory droplets [1]. Measles and VZV can cause outbreaks [2–4]. Because health care workers (HCW) can be infected during outbreaks and because infections among HCW can also lead to outbreaks, the immune status of HCW is vital from the perspective of community health. In addition to an HCW-associated VZV outbreak in 2004 in Thailand, HCW-associated measles outbreaks have occurred in 2008 in the United States and in 2015 in Mongolia [2–4]. The Centers for Disease Control and Prevention (CDC) recommends measles, mumps, and rubella (MMR) and VZV vaccinations for all HCW [5]. In order to control these infections, regular seroprevalence screening and vaccination programs must be implemented.

In Turkey, measles vaccination (live attenuated vaccine; 0.5 ml) was given between 1998 and 2006 to children at nine months and seven years of age. MMR vaccination (live attenuated vaccine; 0.5 ml) has been given since 2006 to children at one and seven years of age. VZV vaccine has been included in the childhood vaccine schedule since 2013 as one dose given at the age of twelve months. Updating the vaccination schedule in 2006 might have increased MMR immunity; however, published studies that examine the long-term impact of this update are few.

Measles, mumps, rubella, and VZV (chicken pox) are vaccine-preventable viral diseases. Prevaccination screening and mass vaccination are the most commonly used vaccination methods. In the past, studies have demonstrated that prevaccination screening can be cost-effective [6, 7]. However, prices of both vaccines and the ELISA kits used in screening have changed in recent years. For this reason, a cost-effectiveness analysis using current pricing is needed.

The aims of this study were to determine the seroprevalence for measles, mumps, rubella, and VZV (MMRV) in a cohort of nursing students, to evaluate vaccination response rates of nonimmune students, to calculate the cost of vaccinating students based on seroprevalence screening, and to gain a better understanding about relationships between factors that can affect seroprevalence.

MATERIAL AND METHODS

Izmir is the largest city in western Turkey. A total of approximately 400 students are studying at the nursing high school in Izmir, Turkey. As part of their studies, students work

with healthcare personnel. A cross-sectional study was conducted August 2015–November 2015 among 326 healthy nursing students aged 14.1–18.1 years.

Informed written consent was obtained from a parent or guardian of each participant. Age; gender; epidemiological data; history of measles, mumps, rubella, and chickenpox; the status of participants' vaccination; and adverse events from vaccine administration were recorded retrospectively. Costs for vaccines and ELISA kits were calculated. Blood samples of approximately 10 ml were obtained from each participant. Serum was separated and kept refrigerated at 4°C until testing. Serum samples were assayed for measles-specific IgG (Alegria® Test Strips, Orgentec Diagnostika, Germany), mumps-specific IgG (Alegria® Test Strips, Orgentec Diagnostika, Germany), rubella-specific IgG (Alegria® Test Strips, Orgentec Diagnostika, Germany) and VZV-specific IgG (Alegria® Test Strips, Orgentec Diagnostika, Germany) by ELISA at the microbiology laboratory. Serological tests results were interpreted according to the manufacturer's instructions. Equivocal values of antibody levels were considered as seronegative. Participants with a seronegative status were informed and vaccination was offered. Two doses of MMR vaccination was administered in one-month apart. Priorix brand (0.5 ml, subcutaneous) vaccine was used for MMR vaccination and Varivax brand (0.5 ml, subcutaneous) vaccine was used for VZV vaccination. Two doses of VZV vaccination was administered in one-month apart. The preferred injection site for participants is the posterior triceps aspect of the upper arm. Participants' antibody levels were measured from serum collected two months after the second vaccination. The cost of two doses of VZV vaccine is \$72, and two doses of MMR vaccine costs \$16. The costs of ELISA kits were as follows: VZV IgG, \$4; rubella IgG, \$3; measles IgG, \$2; mumps IgG, \$2. Costs are current as of November 2015 prices for vaccines and ELISA kits purchased in Turkey.

Participants were excluded from the study based on the following criteria: absence of vaccination card, having immunodeficiency or acute febrile illness, having a history of vaccine allergy, or a history of receiving a blood transfusion. In addition we excluded smokers because the number of cases was insufficient for a statistical study.

The study was approved by the Ethics Committee of the Izmir Tepecik Training and Research Hospital. The study was conducted according to the principles of the World Medical Association Declaration of Helsinki (Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, amended in October 2013).

Data management and statistical analysis were performed by using SPSS (Statistical Product and Service Solutions) for Windows (version 22.0) (IBM, Armonk, NY, USA). Statistical correlations for the effects of sex, age, kindergarten history, and vaccination on seroprevalence was calculated by the Chi-square test. The percentage of participants with positive results for MMRV was calculated with a 95% confidence interval (CI) and p-values < 0.05 were considered statistically significant.

RESULTS

A total of 326 students were enrolled as study participants, of which 245 (75.1%) were female. Mean age of all participants was 16.46 ± 0.03 years and ranged from 15 to 18 years.

Based on recollection by study participants or their family members, 119 (36.5%) had measles, 66 (20.2%) had mumps, 37 (11.3%) had rubella, and 208 (63.8%) had VZV during childhood. None of the participants had been vaccinated for VZV. All participants aged 16.1–18.1 years received measles vaccine at the age of nine months and seven years and no MMR vaccine. Of the participants aged 14.1–16.1, 181 (55.5%) received one dose of measles vaccine at the age of ninth months and one dose MMR vaccine at seven years.

The number of seropositive participants (%) was 295 (90.5%) (95% CI 87.3–93.7) for VZV, 244 (74.9%) (95% CI 70.2–79.6) for measles, 308 (94.5%) (95% CI 92.0–97.0) for rubella, and 219 (67.2%) (95% CI 62.1–72.3) for mumps. Correlation of age and gender groups to seroprevalence was found to be significant only between measles IgG and age ($p<0.001$) (table 1).

Fifty-three (16.2%) of the study participants attended kindergarten. The serological profile of those who did and did not attend kindergarten was compared. Only VZV IgG and kindergarten attendance were found to be related ($p=0.039$) (table 1).

Measles, mumps, and rubella vaccination was recommended to 172 (52.7%) of the participants and VZV vaccination to 31 (9.5%). The serology results of the 172 participants who were recommended for MMR vaccination were distributed as follows: 76 (23.3%) participants were negative for only mumps IgG, 53 (16.2%) participants were negative for only

measles IgG, 8 (2.4%) participants were negative for only rubella IgG, 6 (1.8%) participants were negative for both rubella and mumps IgG, 25 (7.6%) participants were negative for both measles and mumps IgG, and 4 (1.2%) participants were negative for both rubella and measles IgG. No participants were negative for rubella, measles, and mumps IgG.

The vaccination rejection to the MMR vaccine (40.1%) vaccine was higher than to the VZV vaccine (22.5%). Two months after the second vaccine administration, seroconversions were detected in 12 (96.3%) (95% CI 86.0–100) participants for rubella, 48 (96%) (95% CI 90.6–100) participants for measles, 12 (87.5%) (95% CI 74.3–100) participants for VZV, and 56 (78.8%) (95% CI 69.3–88.3) participants for mumps (figure 1). Vaccine side effects were examined three days after the MMR vaccine administration and 2 (1.7%) participants had swelling and pain at the injection site. One participant (0.8%) had subfebrile fever eight hours after the vaccination. No side effects were observed in participants who received the VZV vaccine.

The cost of two doses of MMR vaccine plus two doses of VZV vaccine without the serological screening for MMRV at the time of this study was \$28,688 (table 2). After the serological screening, the cost of vaccination for only those participants who were seronegative was \$8,570 (table 2).

DISCUSSION

Measles is endemic throughout the world [7]. Although measles has been eradicated in some developed countries, it can still cause serious health problems in developing countries. Measles seroprevalence rates were 54.0% in United Arab Emirates, 72.7% in Luxembourg, 87.8% in Germany, 90% in France,

Table 1

Age, gender, and kindergarten history distribution of measles, mumps, rubella, varicella IgG seroprevalence

	Measles IgG n (%) (%95 CI)	VZV IgG n (%) (%95 CI)	Rubella IgG n (%) (%95 CI)	Mumps IgG n (%) (%95 CI)	Total
Female	177 (72.3) (66.7–77.9)	220 (89.8) (86.0–93.6)	231 (94.3) (91.4–97.2)	166 (67.8) (61.9–73.7)	245
Male	67 (82.8) (74.6–91.0)	75 (92.6) (86.9–98.3)	77 (95.1) (90.4–99.8)	53 (65.5) (55.1–75.9)	81
14.1 < age < 16.1	150 (82.8) (77.3–88.3)	165 (91.2) (87.0–95.3)	169 (93.4) (89.8–97.0)	118 (65.2) (58.3–72.1)	181
16.1 < age < 18.1	94 (64.9) (57.1–72.7)	130 (89.7) (84.8–94.6)	139 (95.9) (92.7–99.1)	101 (69.7) (62.2–77.2)	145
Attended kindergarten	45 (84.9) (75.3–94.5)	52 (98.1) (94.4–100)	49 (92.4) (85.3–99.5)	38 (71.6) (59.5–83.7)	53
Did not attend kindergarten	197 (72.2) (66.9–77.5)	243 (89.0) (85.3–92.7)	259 (94.8) (92.2–97.4)	181 (66.3) (60.7–71.9)	273

CI: confidence interval

Table 2**Cost of vaccination with or without screening**

	Cost for vaccination after screening method of susceptible students	Cost for vaccination without screening method	Cost difference
MMR	$326 \times 7^a + 16^b \times 172^c = 5,034 \$$	$326 \times 16^b = 5,216 \$$	182 \$
Varicella	$326 \times 4^d + 31^e \times 72^f = 3,536 \$$	$326 \times 72^f = 23,472 \$$	19,936 \$

^a(Price of MMR ELISA kit for one serum sample: 7\$ (rubella IgG= 3\$, measles IgG= 2\$, mumps IgG= 2\$)

^bPrice of two dose MMR vaccine: 16\$)

^cAmount of total planned MMR vaccine [(only mumps IgG negative) 76 + (only measles IgG negative) 53 + (only rubella IgG negative) 8 + (both rubella and mumps IgG negative) 6 + (both measles and mumps negative) 25 + (both rubella and measles negative) 4 = 172 case]

^dPrice of VZV IgG ELISA kit for one serum sample: 4\$

^eAmount of total planned VZV vaccine

^fPrice of two dose VZV vaccine: 72\$

91% in India, 91.7% in Czech Republic, 95.5% in Japan, 95.6% in Israel, and 98.6% in Turkey [7–15]. The seroprevalence of measles in our study is consistent with other studies; however, some differences between the results of these studies stand out. We believe that regional differences such as living conditions and rates of vaccination may cause this variation.

One dose of MMR vaccine provided 93% immunity against measles and two doses of MMR vaccine provided 97% immunity [16]. The low measles immunity observed in this study may be due to a decrease in measles IgG levels with age or to not receiving two doses of MMR vaccine. In our study, a significant difference was found between the seroprevalence for measles IgG in the younger group, who had one dose of measles vaccine and one dose of MMR vaccine, and the older group, who had two doses of measles vaccination ($p < 0.05$). One interpretation of these data is that the MMR vaccine containing three viruses is more effective in eliciting immunity than vaccination with the measles virus alone. Serological screening of HCW who were vaccinated with two doses of measles during childhood and then administering MMR vaccine only to those who are seronegative can prevent the infection of those individuals in the future and lower the risk of measles outbreaks.

Congenital rubella syndrome can be prevented by rubella IgG screening in women during their reproductive years and by immunizing those who are seronegative. One dose of MMR vaccination provides 97% rubella immunity [17]. According to our study, 95.9% of rubella immunity was observed in participants with no prior MMR vaccination while 93.4% immunity was observed in participants who had received one dose of vaccine. No significant difference was observed between the participants who had received one dose of MMR vaccine and those who did not ($p > 0.05$). These results may be explained by a faster reduction of antibody levels after MMR vaccination than after rubella virus infection [18]. Rubella seroprevalence was found to be 76% in Finland, 82.5% in Kuwait, 88% in India, 90.4% in Luxembourg, 96.1% in France, and 97.2% in Turkey [9, 12, 15, 19–21]. The seroprevalence of rubella in our study is consistent with other studies. Based on these results, it can be interpreted that MMR vaccination should be administered at one and seven years of age and that one dose MMR

vaccine at only seven years of age does not sufficiently contribute to immunity because it does not adequately stimulate immunity.

One dose of MMR vaccine provided 78% immunity against mumps and two doses of MMR vaccine provided 88% immunity [22]. According to our study, no significant difference was observed in mumps immunity between the participants who received one dose of MMR vaccine and those who did not ($p > 0.05$). Mumps seroprevalence rates were 56.4% in Luxembourg, 57.4% in Japan, 61.8% in Austria, 72.6% in Czech Republic, 82% in Thailand, 88.3% in Spain, 89% in Italy, and 92.2% in Turkey [7, 9, 14, 23–27]. Regional differences in seroprevalence may be attributable to differences in childhood vaccination schedules in each country. Mumps immunity was found to be low in our study, which is consistent with other studies [9, 14, 23, 24]. Low mumps immunity may lead to outbreaks among HCW in the future. We believe that administering booster MMR vaccine doses or developing a special MMR vaccination strategy for at-risk groups may prevent mumps outbreaks.

In public places, infections transmitted by respiratory droplets can spread rapidly from person to person. Celik et al. did not observe a significant relationship between MMR seroprevalence and kindergarten attendance [28]. In our study, measles seroprevalence was higher in those who went to kindergarten; however, the relationship was not statistically significant ($p = 0.052$). Significant differences in VZV seroprevalence were found between participants who attended kindergarten and those who did not ($p = 0.039$). This result may be explained by the fact that VZV is highly contagious and is transmitted by an airborne route. In other studies, VZV seroprevalence was higher than that observed in our study: Koivisto, et al. [19], González-Escalada et al. [26], and Kimura et al. [29] observed seroprevalences of 93%, 92.8%, and 92–98%, respectively. The lower seroprevalence observed in our study may be explained by the fact that none of the participants in our study had received prior VZV vaccination.

Measles, mumps, rubella, and VZV are usually reported in childhood and the incidence of MMRV was observed to be similar between genders [26, 28, 30]. Although there was no statistical difference, seroprevalence of measles was lower in

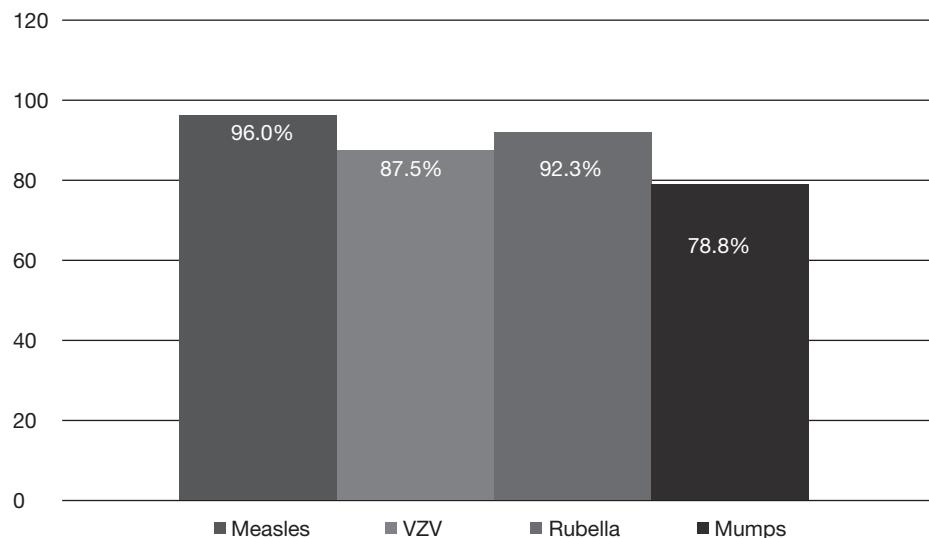


Figure 1

Participants vaccine response rates after two months of completion of two dose vaccination

female gender. A similar result was obtained for measles in a study conducted in our country by Aypak et al [21]. As a personal opinion, we estimate that this situation may be caused by behavioral factors such as boys' engaging in social activities more in Turkish society.

In previous studies, measles, mumps, rubella, and VZV vaccine response rates were 88.5–98.9%, 64.4–71.8%, 70–95.2%, 72.2–79.2%, respectively [14, 31]. The rate of MMR vaccine response observed in this study was similar to that observed in other studies; however, our VZV vaccine response rate was slightly higher. This result can be explained by the absence of prior VZV vaccination in our study population. Although free vaccination was provided to MMRV seronegative participants, the vaccination rate remained below the targeted level. The low vaccination rate; it represents the damage caused by false beliefs in media reports that attempt to link certain vaccines to diseases such as autism. We estimate that the refusal of vaccination by healthcare personnel who are in constant contact with infected patients may cause a hospital-acquired outbreak in the future. This situation poses a significant risk for both their health and public health.

It is estimated that a hospitalized patient with an uncomplicated MMR infection will incur costs of \$300–400 and a patient with an uncomplicated VZV infection will incur costs of \$500–600 to the social health insurance system in Turkey. The cost increases since ELISA kits are used in the method which is according to the results of serological screening. However, vaccination without serological screening uses a large number of vaccines. Our study found that vaccinating only those participants who were found to be seronegative during screening saved \$20,118 compared to the cost of vaccination without screening. In other studies, costs for vaccine and ELISA kits

were low, but age and seroprevalence were high [6, 7]. A pre-vaccination screening was also found to be more cost-effective than mass vaccination for preventing VZV infection [6, 7]. Both Celikbas et al. [7] and we have demonstrated that screening before MMR vaccination costs less than mass vaccination. However, Alp et al. [6] determined that screening before MMR vaccination was not cost-effective compared to mass vaccination. The major reason for the difference is that in our study we have identified seronegative cases for two viruses. We found that it was sufficient to vaccinate these participants with two doses of MMR vaccine. In the study of Alp et al. [6], they calculated total four doses of MMR vaccine for these cases. Thus, we found prevaccination screening to be more cost-effective than mass vaccination despite low seroprevalence and high costs for both ELISA kits and vaccines.

We believe our study contributes to the literature because we evaluated differences in measles vaccination, measured seroprevalence approximately eight to nine years after receiving one dose of MMR vaccine, determined MMRV seroprevalence, and analyzed the cost-effectiveness of MMRV immunization strategies. One limitation of our study is the narrow age range of our study population. Other limitations of our study; the inability to calculate expenses related to consumables, preparation of serums, medical interpretation, health care and loss of labour due to vaccine side effects. Finally, the study was conducted in Izmir, Turkey and its population may not be representative of other parts of the country.

In conclusion, we believe that HCW are particularly at risk for mumps and measles, that one dose of MMR vaccination at seven years of age is insufficient to provide MMR immunity, and that kindergarten attendance can contribute to VZV seroprevalence.

FUNDING

None to declare.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that they have no conflicts of interest.

REFERENCES

1. Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L, Health Care Infection Control Practices Advisory Committee. 2007 Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Health Care Settings. *Am J Infect Control* 2007;35:S65-164. doi:10.1016/j.ajic.2007.10.007.
2. Chen SY, Anderson S, Kutty PK, Lugo F, McDonald M, Rota PA, et al. Health care-associated measles outbreak in the United States after an importation: challenges and economic impact. *J Infect Dis* 2011;203:1517-25. doi:10.1093/infdis/jir115.
3. Lake JG, Luvsansharav U-O, Hagan JE, Goodson JL, Jigjidsuren N, Gombojamts N, et al. Healthcare-Associated Measles After a Nationwide Outbreak in Mongolia. *Clin Infect Dis* 2018;67:288-90. doi:10.1093/cid/ciy067.
4. Apisarnthanarak A, Kitphati R, Tawatsupha P, Thongphubeth K, Apisarnthanarak P, Mundy LM. Outbreak of varicella-zoster virus infection among Thai healthcare workers. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007;28:430-4. doi:10.1086/512639.
5. Advisory Committee on Immunization Practices, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Immunization of health-care personnel: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Reports Morb Mortal Wkly Report Recomm Reports* 2011;60:1-45.
6. Alp E, Cevahir F, Gökahmetoglu S, Demirslan H, Doganay M. Prevaccination screening of health-care workers for immunity to measles, rubella, mumps, and varicella in a developing country: What do we save? *J Infect Public Health* 2012;5:127-32. doi:10.1016/j.jiph.2011.11.003.
7. Celikbas A, Ergonul O, Aksaray S, Tuygun N, Esener H, Tanır G, et al. Measles, rubella, mumps, and varicella seroprevalence among health care workers in Turkey: Is prevaccination screening cost-effective? *Am J Infect Control* 2006;34:583-7. doi:10.1016/j.ajic.2006.04.213.
8. Sheek-Hussein M, Hashmey R, Alsuwaidi AR, Al Maskari F, Amiri L, Souid A-K. Seroprevalence of measles, mumps, rubella, varicella-zoster and hepatitis A-C in Emirati medical students. *BMC Public Health* 2012;12:1047. doi:10.1186/1471-2458-12-1047.
9. Hübschen JM, Charpentier E, Weicherding P, Muller CP. IgG antibody prevalence suggests high immunization needs in newcomers to Luxembourg, 2012. *Vaccine* 2018;36:899-905. doi:10.1016/j.vaccine.2017.12.041.
10. Levine H, Zarka S, Ankol OE, Rozhavski V, Davidovitch N, Aboudy Y, et al. Seroprevalence of measles, mumps and rubella among young adults, after 20 years of universal 2-dose MMR vaccination in Israel. *Hum Vaccin Immunother* 2015;11:1400-5. doi:10.1080/21645515.2015.1032489.
11. Poethko-Müller C, Mankertz A. Seroprevalence of measles-, mumps- and rubella-specific IgG antibodies in German children and adolescents and predictors for seronegativity. *PLoS One* 2012;7:e42867. doi:10.1371/journal.pone.0042867.
12. Gohil DJ, Kothari ST, Chaudhari AB, Gunale BK, Kulkarni PS, Deshmukh RA, et al. Seroprevalence of Measles, Mumps, and Rubella Antibodies in College Students in Mumbai, India. *Viral Immunol* 2016;29:159-63. doi:10.1089/vim.2015.0070.
13. Tomášková H, Zelená H, Kloudová A, Tomášek I. Serological survey of measles immunity in the Czech Republic, 2013. *Cent Eur J Public Health* 2018;26:22-7. doi:10.21101/cejph.a5251.
14. Kanamori H, Tokuda K, Ikeda S, Endo S, Ishizawa C, Hirai Y, et al. Prevaccination antibody screening and immunization program for healthcare personnel against measles, mumps, rubella, and varicella in a Japanese tertiary care hospital. *Tohoku J Exp Med* 2014;234:111-6.
15. Antona D, Morel P, Jacquot C, Fonteneau L, Dina J, Vauloup-Felios C, et al. Measles and rubella seroprevalence in a population of young adult blood donors, France 2013. *Epidemiol Infect* 2018; sous press.
16. Measles Vaccination. *Vaccines and Preventable Diseases*. n.d. <https://www.cdc.gov/measles/vaccination.html> (accessed December 4, 2018).
17. Rubella (German Measles) Vaccination. *Vaccines and Preventable Diseases*. n.d. <https://www.cdc.gov/vaccines/vpd/rubella/index.html> (accessed December 4, 2018).
18. Xiong Y, Wang D, Lin W, Tang H, Chen S, Ni J. Age-related changes in serological susceptibility patterns to measles: results from a seroepidemiological study in Dongguan, China. *Hum Vaccin Immunother* 2014;10:1097-03.
19. Koivisto K, Puhakka L, Lappalainen M, Blomqvist S, Saxén H, Nieminen T. Immunity against vaccine-preventable diseases in Finnish pediatric healthcare workers in 2015. *Vaccine* 2017;35:1608-14. doi:10.1016/j.vaccine.2017.02.018.
20. Shady I. Seroprevalence of antibodies against varicella zoster virus and rubella virus among newly recruited expatriate healthcare workers: a cross-sectional study. *BMJ Open* 2018;8:e019339. doi:10.1136/bmjopen-2017-019339.
21. Aypak C, Bayram Y, Eren H, Altunsoy A, Berkta M. Susceptibility to measles, rubella, mumps, and varicella-zoster viruses among healthcare workers. *J Nippon Med Sch* 2012;79:453-8.
22. Mumps Vaccination. *Vaccines and Preventable Diseases* n.d. <https://www.cdc.gov/vaccines/vpd/mumps/index.html> (accessed December 4, 2018).
23. Ringler M, Göbel G, Möst J, Weithaler K. Fully vaccinated children are rare: immunization coverage and seroprevalence in Austrian school children. *Eur J Epidemiol* 2003;18:161-70.
24. Smetana J, Chlibek R, Hanovcova I, Sosovickova R, Smetanova L, Polcarova P, et al. Serological survey of mumps antibodies in adults in the Czech Republic and the need for changes to the vaccination strategy. *Hum Vaccin Immunother* 2018;14:887-93. doi:10.1080/21645515.2017.1412021.

25. Tharmaphornpilas P, Yoocharean P, Rasdjarmrearnsook A-O, Theamboonlers A, Poovorawan Y. Seroprevalence of antibodies to measles, mumps, and rubella among Thai population: evaluation of measles/MMR immunization programme. *J Health Popul Nutr* 2009;27:80-6.
26. González-Escalada A, García-García L, Viguera-Ester P, Marín-García P, García J, Gil-de-Miguel A, et al. Seroprevalence of antibodies against measles, rubella, mumps, varicella-zoster, and B. Pertussis in young adults of Madrid, Spain. *Hum Vaccin Immunother* 2013;9:1918-25. doi:10.4161/hv.25127.
27. Tafuri S, Gallone MS, Larocca AMV, Germinario C. How will the MMR universal mass vaccination change the epidemiologic pattern of mumps? A 2012 Italian serosurvey. *Am J Infect Control* 2016;44:1420-1. doi:10.1016/j.ajic.2016.03.012.
28. Cevit O, Okur Yuksel F, Celik S, Celik N, Icagasioglu FD, Gultekin A, et al. Prevalence of Age-Specific Measles, Mumps and Rubella in School Children Aged Between 9-16 Years in Sivas. *J Child* 2013;11:108-13. doi:10.5222/j.child.2011.108.
29. Kimura T, Tsunekawa K, Ogiwara T, Tokue Y, Nara M, Inoue T, et al. Seroprevalence of measles- and mumps-specific immunoglobulin G among Japanese healthcare students increased during 2007-2012. *Jpn J Infect Dis* 2013;66:411-5.
30. Vagholkar S, Ng J, Chan RC, Bunker JM, Zwar NA. Healthcare workers and immunity to infectious diseases. *Aust N Z J Public Health* 2008;32:367-71. doi:10.1111/j.1753-6405.2008.00257.x.
31. Kumakura S, Shibata H, Onoda K, Nishimura N, Matsuda C, Hirose M. Seroprevalence survey on measles, mumps, rubella and varicella antibodies in healthcare workers in Japan: sex, age, occupational-related differences and vaccine efficacy. *Epidemiol Infect* 2014;142:12-9. doi:10.1017/S0950268813000393.



Original

Luis Buzón Martín¹
María Mora Fernández²
Jose Manuel Perales Ruiz²
Maria Ortega Lafont³
Ledicia Álvarez Paredes³
Miguel Ángel Morán Rodríguez¹
María Fernández Regueras¹
Maria Ángeles Machín Morón⁴
Gregoria Mejías Lobón³

Dalbavancin for treating prosthetic joint infections caused by Gram-positive bacteria: A proposal for a low dose strategy. A retrospective cohort study

¹Infectious Diseases Unit, Internal Medicine. Hospital Universitario de Burgos, Spain.

²Traumatology and Orthopedic Surgery. Hospital Universitario de Burgos, Spain.

³Microbiology. Hospital Universitario de Burgos, Spain.

⁴Pharmacy, Hospital Universitario de Burgos, Spain.

Article history

Received: 20 May 2019; Revision Requested: 9 July 2019; Revision Received: 10 July 2019; Accepted: 17 July 2019

ABSTRACT

Background. Gram-positive bacteria are the leading cause of prosthetic joint infection (PJI). Dalbavancin is a lipoglycopeptide with remarkable pharmacokinetic properties and high bactericidal activity against most Gram-positive bacteria. Although clear evidence regarding its effectiveness in bone and joint infections lacks, recent studies suggest a promising role of dalbavancin in PJI.

Methods. From June 1st 2016 to May 1st 2018, all patients diagnosed of PJI and treated with DAL alone or in combination with other drugs were retrospectively evaluated. Dalbavancin susceptibility of every isolate was studied following CLSI criteria. The primary objective was to assess the clinical efficacy and tolerability of the drug in patients with PJI. A cost-analysis was performed following the DALBUSE study methodology.

Results. Sixteen patients were treated with dalbavancin, eight with total hip arthroplasty infection (THAi) and eight with total knee arthroplasty infection (TKAi). *Staphylococcus* spp. and *Enterococcus* spp. were the microorganisms involved. No major side effects were detected. Infection resolved in 12 patients. In 2 patients the treatment failed, and another patient died due to unrelated causes. One patient is currently being treated for hematogenous-spread knee infection secondary to prosthetic aortic arch endocarditis. After discontinuation of dalbavancin, and excluding patients who died or with clinical failure, the median follow up of the cohort was 503 days (interquartile range IQR, 434.5 to 567 days). We calculate that US\$ 264,769 were saved.

Conclusion. This study suggests that dalbavancin

treatment for PJI caused by Gram-positive bacteria is a safe and effective option that reduces hospital stay and costs. Future reports are needed to confirm these findings.

Keywords: Prosthetic joint infection, dalbavancin, safety, efficacy

Dalbavancina para el tratamiento de infección periprotésica causada por microorganismos grampositivos. Propuesta para una estrategia con dosis bajas. Un estudio retrospectivo de cohortes

RESUMEN

Introducción. Las bacterias grampositivas son la principal causa de infección periprotésica (IPP). Dalbavancina es un lipoglicopéptido con interesantes propiedades farmacocinéticas y una importante actividad bactericida frente a la mayoría de gram positivos. Aunque aún necesitamos mayor evidencia en relación con su uso en infección osteoarticular, estudios recientes sugieren un papel importante de dalbavancina en la IPP.

Métodos. Desde el 1 de Junio de 2016 al 1 de Mayo de 2018, todos los pacientes diagnosticados con IPP y tratados con dalbavancina sola o en combinación con otros fármacos fueron evaluados de forma retrospectiva. La sensibilidad a dalbavancina de los aislamientos fue evaluada según las recomendaciones de CLSI. El objetivo primario fue determinar la eficacia y tolerabilidad del fármaco en pacientes con IPP. Se realizó un análisis de coste siguiendo la metodología descrita en el estudio DALBUSE.

Resultados. Dieciséis pacientes fueron tratados con dalbavancina, ocho con infección de prótesis total de cadera y ocho con infección de prótesis total de rodilla. *Staphylococcus* spp. y *Enterococcus* spp. fueron los microorganismos implicados. No hubo efectos adversos relevantes. La infección se resolvió en 12 pacientes. En dos pacientes el tratamiento falló, y otro paciente falleció por causas no relacionadas. Un

Correspondence:

Luis Buzón Martín.

Infectious Diseases Unit, Internal Medicine. Hospital Universitario de Burgos.

Avenida Islas Baleares 3, 09006, Burgos, Spain.

Phone: +34 687990334

E-mail: lбуzonm@saludcastillayleon.es

paciente es actualmente en tratamiento supresor por infección por diseminación hematogena de prótesis total de rodilla a partir de endocarditis protésica aórtica. Tras la discontinuación de dalbavancina, y exceptuando los pacientes fallecidos y/o con fallo terapéutico, el seguimiento medio fue de 503 días (rango intercuartílico 434.5-567 días). Se estimó un ahorro de 264.769 dólares USA.

Conclusiones. Este estudio sugiere que dalbavancina para el tratamiento de IPP causada por microorganismos gram positivos es segura y una opción eficaz que reduce la estancia hospitalaria y los costes. Se precisan más comunicaciones para confirmar estos datos.

Palabras clave: infección periprotésica, dalbavancina, seguridad, eficacia

INTRODUCTION

Total joint arthroplasty is a widely used treatment modality for knee (TKA) and hip (THA) osteoarthritis. In 2010, more than 310,800 THA and 639,400 TKA were performed in the United States. Prosthetic joint infection (PJI) is a major complication, occurring in 1-2% of primary joint arthroplasties and up to 10% of revision surgeries [1, 2].

Dalbavancin (DAL) is a lypoglycopeptide structurally related to teicoplanin, approved for the treatment of acute bacterial skin and skin structure infections (ABSSIs) with bactericidal activity against most Gram-positive microorganisms, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) [3]. Recent studies show that DAL is an effective option to be considered in patients with bacteremia, endocarditis and osteoarticular infections [4].

Given the few reports on DAL administration for PJI, its dosage scheme is not standardized. However, its unique capacity to achieve high and stable concentrations in bone and peri-articular tissues [5] allows prolonged and cost-effective [6] treatment of PJI caused by Gram-positive microorganisms.

MATERIAL AND METHODS

From June 1st 2016 to May 1st 2018, all patients older than 18 years of age, diagnosed of PJI in our institution and treated with DAL were retrospectively reviewed. The primary objective was to assess the clinical efficacy and tolerability of the drug when used in real life to treat PJI. PJI cases were diagnosed following the International Consensus Meeting on Prosthetic Joint Infections diagnostic criteria [7]. At least one year of follow-up without clinical relapse was required after DAL was withdrawn to consider PJI to be cured.

Currently, PJI is an off-label indication of DAL. Patients were appropriately informed about using DAL as an off-label medication for PJI, its potential toxicity and the reasons for choosing DAL in each particular case, generally, because of failure of other antibiotics, their toxicity, interactions and/or unavailability of other orally-administered choices. Informed consent was obtained from all patients included in the study.

The study protocol was approved by the Institutional Ethics Committee (research approval reference number: 2018)

Staphylococcus spp. susceptibility to DAL and *E. faecalis* susceptibility to vancomycin were confirmed by the E-test method, following CLSI criteria. However, antimicrobial concentrations that confirm susceptibility of *Enterococcus faecium* to DAL and *Enterococcus faecalis* to vancomycin are not well defined according to CLSI and EUCAST guidelines [8].

RESULTS

Table 1 shows the main clinical features of the cohort. A total of 16 patients (9 males, 56%) were included in the analysis. Median age was 76 years and median age-adjusted Charlson index was 3 (IQR 3-5) (see table 2). Coagulase-negative staphylococci (CoNS) were the most commonly isolated microorganisms (7 cases, 43.7%), followed by MRSA and *E. faecium* with four cases (25%), while *E. faecalis* was involved in only one case (6.25%). THAi and TKAi occurred in 8 patients each. Eleven cases (68.7%) were considered chronic PJI. Seven patients (43.7%) were treated with two-stage revision arthroplasty and antibiotic-impregnated articular spacers. Two patients needed surgical debridement (patients #5 and #10, table 1) due to comorbidities; Patient five had undergone a resection arthroplasty months before and drainage of the abscess and diaphysitis was performed with no prosthesis reimplantation due to poor bone stock. Two patients (patients #7 and #16) were treated with suppressive antimicrobial treatment, but no surgery.

The reasons for choosing DAL in each patient are detailed in table 1. DAL was used as monotherapy in 11 patients (68.7%). One patient received DAL in association with oral rifampicin that was ultimately discontinued because of hepatic toxicity. Four patients received oral dicalcic fosfomycin in an outpatient basis concurrent with DAL, without showing major side effects. In most cases, rifampicin could not be used, mainly because of interactions with oral anticoagulants (3 out of 11) and immunosuppressive drugs for solid organ transplantation (patient number 13, table 1, one out of eleven).

A total of 9 patients (56%) received 1.5 g of DAL as loading dose, followed by 0.5 g at day seven, and then 0.5 g every two weeks for two months in THAi and for three months in TKAi. This treatment scheme was termed *Low Dose Bi-weekly Dalbavancin*, or LDBD. Once DAL therapy ended, and after excluding patients who died or had clinical failure (table 1) were followed for a median 503 days (interquartile range IQR, 434.5 to 567 days). Side effects attributable to medication were on one case of mild skin macular rash and one case of mild transient leukopenia.

Excluding one patient, who died of an unrelated cause at three months of follow up (patient #10, table 1), currently, 12 patients (80%) show no clinical, pathological, biochemical, microbiological and/or gammagraphic signs of infection. Two different strains of previously identified microorganisms were found in different tissue samples obtained from two patients

Table 1 Clinical characteristics of the patients treated with dalbavancin

Patient #	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Age	66	80	75	69	77	87	77	69	70	92	78	85	71	83	71	75
Sex	M	M	M	M	F	M	F	M	M	F	F	F	M	F	M	M
Charlson	2	5	2	3	3	7	3	3	3	5	3	7	5	7	3	4
Infection	Early THAi	Ch TKAi	Ch THAi	UIPC (THA)	Dyaphisitis after G	Ch THAi	UIPC (TKAi)	Ch THAi	Ch THAi	Ch TKAi	Ch THAi	Acute hem TKAi	Early TKAi	Acute hem TKAi	Acute hem TKAi	(IE)
Surgery	2SE	2SE	6	2SE	Drainage	G	NONE (suppressive treatment)	2SE	2SE	Drainage	2SE	Prosthesis removal & Arthrodesis	DALR	Prosthesis removal	2SE	NONE (suppressive treatment)
Aetiology	MSSA & CoNS	MSSA & MRSA	Ef	Ef	MSSA	Ef	CoNS	Se	Ef and Se	MRSAs	Se	MRSAs & Se	Se	Ef	MRSAs	Efa
Reasons for DAL use	NOBCA	INT & TOX	FOC	TOX	FOC	NOBCA	NOBCA	FOC	NOBCA	NOBCA	NOBCA	NOBCA	NOBCA	NOBCA	NOBCA	NOBCA
DAL dosing	1g day 1	1g day 1	1g day 1	1g day 1	1g day 1	1g day 1	0.5g 6w	0.5g 6w	0.5g 6w	LDBD	LDBD	LDBD	LDBD	LDBD	LDBD	LDBD
Side effects	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Leukopenia	-	-	-	Rash	-	-
Days of follow up since DAL stop	498	777	647	592	540	542	422	447	467	94	Clinical failure	508	70	350	313	Ongoing
Outcome	C	C	C	C	C	Ongoing	C	C	Died	Fa	C	F	C	C	Ongoing (read text)	Ongoing (read text)

^aCoNS obtained from surgical samples showed clinical susceptibility after clinical failure. Ef: *Enterococcus faecium*, Efa: *Enterococcus faecalis*, IE: infective endocarditis, 2SE: 2 stage Exchange, AIAS: antibiotic impregnated articulated spacer, C: Cured, Ch: Chronic, CF: Clinical failure, CoNS: coagulase-negative staphylococci, INT: Interactions, FOC: Failure with other choices, G: Girdlestone, LDBD: Low dose biweekly DAL, 1.5 g. day1, 0.5 g. day7, then biweekly, NOBCA: No oral better choice available, Se: *Staphylococcus epidermidis*, THAi: Total hip arthroplasty infection, TKAi: Total knee arthroplasty infection, TOX: Toxicities, UIPC: unsuspected intraoperative positive cultures, W: weeks

Table 2**Baseline patient characteristics (n=16)**

Characteristic	n (%) ^a
Age (years) [median (IQR)]	76 (70.25-82.25)
Male sex; n (%)	9 (56.2)
Underlying diseases; n (%)	
Diabetes mellitus	2 (12.5)
Cardiovascular disease	4 (25)
Respiratory tract disease	1 (6.2)
Neurological disorder	4 (25)
Immunosuppressive therapy	2 (12.5)
Solid organ transplantation	1 (6.2)
Haematological malignancy	1 (6.2)
Chronic renal failure	3 (18.7)
Psiquiatric disorders	2 (12.5)
Oral anticoagulation	4 (25)
Age-adjusted Charlson CI [median (IQR)]	3 (3-5)
Surgical approach; n (%)	
No surgery	2 (12.5)
DAIR	2 (13.3)
One stage	0 (0)
Two stage	8 (53.3)
Girdlestone	2 (13.3)

^aData are n (%) unless otherwise stated; IQR, interquartile range; HIV, human immunodeficiency virus.

at the moment of revision surgery. Neither of them presented with clinical symptoms suggestive of persistence of infection nor polymorphonuclear infiltration in the pathological examination. None of them showed non-susceptibility to DAL according to the CLSI criteria.

We calculate that a total of 571 days of hospitalization were avoided by using DAL, as an alternative to daptomycin, which requires prolonged hospitalization for daily intravenous administration. By applying the criteria used in the cost analysis reported by Bouza et al (the DALBUSE study [8]), we estimate a total cost reduction of US\$ 264,769.

DISCUSSION

Surgery along with antimicrobial therapy is the cornerstone for the treatment of PJI. Removal of the prosthesis, either as primary treatment or at revision surgery, is almost always necessary in order to achieve a definitive cure of the infection. Since Gram-positive microorganisms are most commonly involved in PJI (especially *Staphylococcus* and *Enterococcus* spp) [9] appropriate antibiotics need to be chosen [10].

According to previous reports [9], DAL exhibits high effectiveness against Gram-positive microorganisms causing PJI.

The use of DAL in such cases allows earlier hospital discharge, thus reducing the length of stay and cost.

Biedenbach et al analyzed the activity of DAL against a large collection of Gram-positive microorganisms: The minimal inhibitory concentration₉₀ (MIC₉₀) for *S. aureus* was 0.06 mg/L, and 99.9% of microorganisms were inhibited at concentrations of 0.12 mg/L. The MIC₉₀ was 0.06 mg/L and 0.12 mg/L for oxacillin-susceptible and oxacillin-resistant CoNS, respectively. For *E. faecalis* and *E. faecium*, the MIC₉₀ values were, 0.06 and 0.12 mg/L, respectively. Thus, bactericidal concentrations in plasma, bone and peri-articular tissues are achievable with usual therapeutic concentrations [11]. Special attention deserves the fact that the activity of DAL against CoNS isolates with teicoplanin MIC values higher than 8 mg/L may be impaired, and teicoplanin MIC values higher than 16 mg/L almost invariably results in DAL non-susceptibility[12].

Another important issue is DAL activity against bacterial biofilms in PJI. DAL has proved in *in vitro* models to be a powerful inhibitor of bacterial colonies, in which structural and functional bacterial differentiation, once embedded in the extracellular matrix, promote microorganisms to be highly resistant to antibiotics whether or nor they were primarily susceptible to the drug [13].

Another relevant aspect of the antibiotic treatment in PJI is the ability of the drug to reach adequate and stable concentrations in bone and peri-articular tissues. A phase I trial evaluated the penetration of DAL in bone and articular tissues in healthy patients who received DAL up to 14 days before elective orthopedic surgery. Bone concentration of DAL measured 12 hours and 14 days post-dose were 6.3 µg/dl and 4.1 µg/dl, respectively, much higher than MIC₉₀ of target microorganisms in PJI [5]. A two-dose 1.5 g once a week regimen was proposed for the treatment of acute osteomyelitis, in a single-center open-label study comparing DAL with standard treatment. *Staphylococcus* spp. and *Enterococcus* spp. were the causative agents of 91% of cases. The outcomes reported suggest that DAL was highly effective and safe for treating acute osteomyelitis. However, patients with prosthetic implants at the site of infection were excluded in this study [14].

Recently, a Spanish multicenter real life experience with the use of DAL in different clinical settings has been published. It included 20 cases of PJI retrospectively collected in one year from 29 national institutions that presented favorable clinical outcomes [9]. Again, *Staphylococcus* spp. and *Enterococcus* spp. were the etiological agents of 90% of the PJI cases. Eighty percent of the cases exhibited a "successful clinical outcome". However, no specific data regarding DAL dosing scheme was provided.

In our institution, DAL was firstly used for the treatment of PJI in June 2016. Most of the clinical experience previously cited was not available at that moment, and there were no standard recommendations for dosage. Throughout the following two years, 15 cases of PJI were treated with DAL. As mentioned, most of them were elderly patients with complex co-morbidities. The first six cases were treated with DAL 1.5g every week, for a variable period of time. As we gained experience, we turned to a regimen of 1.5g at day 1 and 0.5g at day 7, followed by 500 mg every two weeks for two months in THA infections and for three months in TKA infections (LDBD). This treatment scheme is supported by the fact that DAL concentration in bone and peri-articular tissues after 14 days of administration are high enough for Gram-positive microorganism inhibition [5], and patients markedly improve following the first two doses. Whether just two doses of DAL are enough for infection control remains a controversial issue. According to the study by Rappo et al, patients with PJI who underwent surgical removal of the prosthesis and debridement, in one or two stages, fared well after two doses of DAL in acute osteomyelitis. On the basis of this published experience and supported by the favorable outcome of our first cases, we decided to use the LDBD as the standard regimen in our institution.

One of the reasons for choosing DAL was the unavailability of other orally administered antibiotics for this indication (table 1). Ideally, rifampicin should be added to any therapeutic regimen for PJI after surgeries with prosthesis retention, due to its activity against Gram-positive bacterial biofilms [10]. In our case series, reasons for not using rifampicin were resistance and/or interactions that precluded its use: three patients were taking oral anticoagulants, and another three were taking

drugs with major interactions, including a patient who was a kidney transplant recipient receiving immunosuppressive drugs. DAL remained effective even though rifampicin could not be used. Oral (dicalcic) fosfomycin was used in three cases caused by MRSA, *E. faecalis* and CoNS, presenting no major side effects. We did not use trimethoprim-sulfamethoxazole because CoNS are commonly resistant, and the presence of gross purulence favors its failure [15]. There were reasons for choosing DAL instead of linezolid: half of the patients were taking serotonin reuptake inhibitors, with the consequent risk of serotoninergic syndrome [16], and five patients showed preexisting anemia and/or chronic kidney disease [17], and another patient had a myelodysplastic syndrome.

Four of our cases deserve a special comment. In the first case (case #13), a 71 year-old woman, who had received a kidney transplant three months before, developed an acute hematogenous prosthetic knee infection originating from a subclavian venous catheter infection, that had been used for hemodialysis until transplantation surgery, which had remained placed for the treatment of mild rejection, caused by an oxacillin-resistant CoNS that could be isolated from blood, periprosthetic effusion and the subclavian catheter tip. Debridement and retention with mobile elements exchange was performed. Three months after DAL administration had been discontinued, C reactive protein (CRP) and erythrocyte sedimentation rate (ESR) values were normal. However, six months afterwards, recurrent infection was suspected due to inflammatory signs and the presence of peri-prosthetic abscess. A two-stage revision arthroplasty was performed. All samples yielded *Staphylococcus* species, different from the one previously isolated, but fully susceptible to DAL. Interestingly, this patient did not receive rifampicin due to major interactions with immunosuppressive drugs. In the other three patients the prosthesis was not removed for different reasons, a clinical scenario in which treatment failure is likely. In case #7, a 77 year-old woman developed an acute TKA infection. The patient refused revision surgery and DAL monotherapy was then used: 1,500 mg were administered at day 1 and 7, then every two weeks for 6 months. After 373 days of follow up, there are no signs of clinical relapse, and ESR and CRP values are normal with knee function preserved. In case #10, a 95 year-old man with a chronic TKA PJI and surrounding soft tissues infection caused by MRSA was treated with DAL monotherapy with LDBD. Surgery was not performed because of advanced dementia. Clinical response was remarkable, with functional improvement of the affected knee and normalization of CRP after the first two doses of LDBD. After the third and fourth doses, he was changed to oral cotrimoxazole. He died two months later due to unrelated causes with no clinical signs of relapse. In case #16, a 75 year-old man was diagnosed of prosthetic aortic arch infective endocarditis (Bono-Bentall procedure) with secondary haematogenous TKA infection caused by *E. faecalis* (positive in blood cultures and sinovial fluid) with a confirmatory PET-CT scan. Cardiac surgery was discarded due to excessive surgical risk. After receiving intravenous ampicillin and ceftriaxone, followed by daptomycin and fosfomycin (because of

ampicillin-associated reversible leukopenia), he was ultimately changed to 1.5 g of DAL on day 1 and 7, then 1.5 g every two weeks and then suppressive treatment with a monthly dose of 1.5 g. After the fifth monthly dose, hematocrit, CRP and ESR have returned to normal values and the patient has no symptoms or signs of clinical relapse.

DAL is effective against *Staphylococcus* spp, and clear susceptibility breakpoints are well established in both CLSI and EUCAST recommendations [7, 10]. Clinical reports and in vitro experiments show that DAL is highly bactericidal against susceptible enterococci [18] and has activity against biofilms formed by DAL-susceptible enterococci [19-20]. However, no susceptibility breakpoints have been determined yet by CLSI or EUCAST for vancomycin-resistant *E. faecalis* and *E. faecium*. Nevertheless, based on previous clinical reports and lacking potentially better and safer options, DAL was successfully used in five cases. Our experience is in line with previous reports regarding DAL efficacy for the treatment of enterococcal infections.

As previously reported, toxicity attributable to DAL administration was negligible. No major side effects were detected, apart from mild transient grade I leukopenia and a mild transient rash in one patient. DAL therapy allowed early discharge of most of the patients, with a presumably relevant impact in terms of healthcare costs. Applying the same cost analysis previously reported by Bouza et al. in the DALBUSE study, we calculated that 571 days of hospitalization were avoided, and a total of US\$ 264,769 were saved.

Our study has important limitations. It reflects a single center experience and potential biases may be present. Nevertheless, the data presented reflect real life experience with DAL in treating PJI with a homogeneous dosing scheme. Safety, tolerability and efficacy were excellent. In the absence of a clinical trial, this case series presents the results of a cohort patients with complex co-morbidities and difficult to treat microorganisms. In our view, DAL therapy allowed clinicians to deal with PJI cases in which no other options aside from daptomycin and vancomycin were available, providing patients with a safe, comfortable and effective outpatient treatment resulting in excellent outcome.

To our knowledge, this is the largest single center report on the use of DAL for PJI. Currently, no standard recommendation regarding dosage and duration of treatment exists. Our experience shows that DAL administration for treating Gram-positive PJI allows earlier discharge, reducing hospital stay, and seems to be safe, effective and cost saving. Besides, our study suggests that DAL administration every two weeks (the LDBD regimen) seems to be an effective dosing scheme. Our preliminary results and the true role of DAL in the treatment of PJI should ideally be confirmed by future studies.

ACKNOWLEDGEMENTS

Dr. Buzón Martín is grateful to Dr. Javier Cobo Reinoso MD, Dra. Noemi Gómez Manero and Dr. Pedro Delgado López for their review of the manuscript and recommendations

FUNDING

None to declare

CONFLICT OF INTEREST

LBM has received lecture fees from Angelini Pharmaceuticals. No other conflict of interest is reported.

REFERENCES

- Williams SN, Wolford ML, Bercovitz A. Hospitalization for Total Knee Replacement Among Inpatients Aged 45 and Over: United States, 2000-2010. NCHS Data Brief 2015; (210): 1. PMID: 26375255
- Kurtz SM, Ong KL, Lau E, Bozic KJ, Berry D, Parvizi J. Prosthetic joint infection risk after TKA in the Medicare population. Clin Orthop Relat Res. 2010; 468(1): 52. PMID:19669386
- Bassetti M, Peghin M, Carnelutti A, Righi E. The role of dalbavancin in skin and soft tissue infections. Curr Opin Infect Dis. 2018; 31(2): 141. PMID:29298166
- Tobadic S, Forstner C, Burgmann H, Lagler H, Ramharter M, Steininger C, et al. Dalbavancin as primary and sequential treatment for Gram-positive infective endocarditis: 2-Year Experience at the General Hospital of Vienna. Clin Infect Dis. 2018; 67(5):795-798. PMID:29659732
- 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(4): 1849. PMID:25561338
- Nair T, Fitzgerald J, Ly B, Wallace MR. Dalbavancin as a cost effective antibiotic. Infect Dis (Lond). 2018; 50(1): 75. PMID: 28805474
- Gehrke T, Parvizi J. Proceedings of the International Consensus Meeting on Periprosthetic Joint Infection. J Arthroplasty. 1 de febrero de 2014;29(2):4. PMID: 24151261
- Canton R, Diez-Aguilar M, Morosini MI. [Dalbavancin breakpoints and recommendations for in vitro study of its activity]. Enferm Infect Microbiol Clin. 2017; 35 Suppl 1: 15. PMID: 28129815
- Bouza E, Valerio M, Soriano A, Morata L, Carus EG, Rodriguez-Gonzalez C, et al. Dalbavancin in the treatment of different Gram-positive infections: a real-life experience. Int J Antimicrob Agents. 2018; 51(4): 571. PMID: 29180276
- Osmor DR, Berbari EF, Berendt AR, Lew D, Zimmerli W, Steckelberg JM, et al. Executive summary: diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 2013; 56(1): 1. PMID: 23230301
- 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(3): 1260. PMID: 19124664
- Cercenado E. [Antimicrobial spectrum of dalbavancin].

- Mechanism of action and in vitro activity against Gram-positive microorganisms]. Enferm Infect Microbiol. 2017; Clin 35 Suppl 1: 9. PMID: 28129822
13. Knafl D, Tobudic S, Cheng SC, Bellamy DR, Thalhammer F. Dalbavancin reduces biofilms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* (MRSE). Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2017; 36(4): 677. PMID: 27896496
 14. Rappo U, Puttagunta S, Shevchenko V, Shevchenko O, Jandourek A, Gonzalez PL, et al. Dalbavancin for the treatment of osteomyelitis in adult patients: A randomized clinical trial of efficacy and safety. Open Forum Infect Dis 6(1) 2019, ofy331
 15. El Haj C, Ribera A, Lloberas N, Tubau F, Ariza J, Murillo O. Drawbacks of the use of cotrimoxazole in foreign-body infections. Enferm Infect Microbiol Clin. 2018; 36(6): 362. PMID: 28818482
 16. Karkow DC, Kauer JF, Ernst EJ. Incidence of Serotonin Syndrome With Combined Use of Linezolid and Serotonin Reuptake Inhibitors Compared With Linezolid Monotherapy. J Clin Psychopharmacol. 2017; 37(5): 518. PMID: 28796019
 17. Gonzalez-Del Castillo J, Candel FJ, Manzano-Lorenzo R, Arias L, Garcia-Lamberechts EJ, Martin-Sanchez FJ. Predictive score of haematological toxicity in patients treated with linezolid. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2017; 36(8): 1511. PMID: 28343274
 18. Jones BM, Keedy C, Wynn M. Successful Treatment of *Enterococcus faecalis* Bacteremia with Dalbavancin as an Outpatient in an Intravenous Drug User. Int J Infect Dis. 2018; 76: 4-5. PMID: 30053580
 19. Pfaller MA, Flamm RK, Castanheira M, Sader HS, Mendes RE. Dalbavancin in-vitro activity obtained against Gram-positive clinical isolates causing bone and joint infections in US and European hospitals (2011-2016). Int J Antimicrob Agents. 2018; 51(4): 608. PMID: 29277526
 20. Neudorfer K, Schmidt-Malan SM, Patel R. Dalbavancin is active in vitro against biofilms formed by dalbavancin-susceptible enterococci. Diagn Microbiol Infect Dis. 2018; 90(1): 58. PMID: 29195766



Original

Antonio Blanco Portillo¹
Gregorio Palacios García-Cervigón¹
Manuel Pérez Figueras¹
Gema Navarro Jiménez¹
Germán Jiménez Galán²
María Velasco Arribas¹
Leonor Moreno Núñez¹
Rafael Hervás Gómez¹
Oriol Martín Segarral¹
Carlos Guijarro Herraiz¹
Rosa García Berriguete²
Juan E Losa García¹

Telemedicina, centros penitenciarios y enfermedad por VIH

¹Hospital Universitario Fundación Alcorcón. C/Budapest, 1 28922 Alcorcón, Madrid.

²Centro Penitenciario Madrid IV. Carretera N-V, Km 27.7, 28600 Navalcarnero, Madrid

Article history

Received: 1 July 2019; Revision Requested: 2 September 2019; Revision Received: 3 September 2019; Accepted: 3 September 2019

RESUMEN

Objetivos. Comunicar la actividad de telemedicina, desde su apertura, entre una consulta hospitalaria de enfermedades infecciosas y un centro penitenciario.

Material y métodos. Estudio descriptivo de la teleconsulta de enfermedades infecciosas del Hospital Universitario Fundación Alcorcón con el centro penitenciario de Navalcarnero desde 2013 hasta 2017, que se lleva a cabo mediante videoconferencia. Se analizó motivo y número de consultas, diagnóstico de VIH, tratamiento antirretroviral (TAR), situación inmunovirologica, diagnóstico del virus de la hepatitis C (VHC) e intervención realizada por el experto en infecciosas.

Resultados. Se valoraron 75 pacientes en un total de 168 consultas (en el primer año 11 consultas y en el quinto 62). El índice de consultas sucesivas/nuevas fue de 1,24 y el 85% de los pacientes requirió menos de 1 año de seguimiento. El 84% de los pacientes no se trasladó al hospital. El 99% de los pacientes aceptó esta modalidad. El 96% era VIH positivo, el 94% de estos tomaba TAR y el 85% tenía carga viral indetectable con 532 CD4/ μ L de mediana. El 90% tenía serología positiva para VHC. El 72% de las consultas fue para la valoración de tratamiento del VHC, que fue sofosbuvir/ledipasvir en un 63%. Un 40% cambió de TAR (70% para evitar interacciones).

Conclusión. La mayoría de los pacientes valorados tienen infección por VIH. Esta modalidad de consulta tiene una demanda creciente, es eficiente (evita traslados y es resolutiva) y tiene elevada aceptación. El motivo de consulta más frecuente fue el tratamiento del VHC y más de la tercera parte de los pacientes precisó cambio de TAR.

Palabras clave: Telemedicina; Prisiones; VIH; VHC;

Correspondencia:
Antonio Blanco Portillo
Hospital Universitario Fundación Alcorcón. C/Budapest, 1 28922 Alcorcón, Madrid. Spain
E-mail: blanco131187@hotmail.com

Telemedicine, prison and illness associated with HIV

ABSTRACT

Objectives. Communicate the activity of telemedicine, from its opening, between a hospital consultation of infectious diseases and a penitentiary center.

Material and methods. Descriptive study of the teleconsultation of infectious diseases of the Alcorcón Foundation University Hospital with the Navalcarnero penitentiary center from 2013 to 2017, which is carried out by videoconference. The reason and number of consultations, diagnosis of HIV, antiretroviral treatment (ART), immunovirological situation, diagnosis of hepatitis C virus (HCV= and intervention performed by the infectious expert were analyzed.

Results. A total of 75 patients were evaluated in a total of 168 consultations (in the first year 11 consultations and in the fifth year 62). The index of successive / new consultations was 1.24 and 85% of the patients required less than 1 year of follow-up. 84% of patients did not move to the hospital. 99% of patients accepted this modality. 96% were HIV positive, 94% of them took ART and 85% had undetectable viral load with 532 CD4/ μ L of medium. 90% had positive serology for HCV. 72% of the consultations were for the assessment of HCV treatment, which was sofosbuvir/ledipasvir by 63%. 40% changed their ART (70% to avoid interactions).

Conclusion. Most of the evaluated patients have HIV infection. This type of consultation has a growing demand, is efficient (avoids transfers and is decisive) and has high acceptance. The most frequent reason for consultation was the treatment of HCV and more than a third of patients required ART change.

Key-words: Telemedicine; Referral and Consultation; Prisons; Communicable Diseases; HIV; HCV.

INTRODUCCIÓN

La telemedicina es la práctica de la medicina sin el habitual contacto personal entre las unidades o participantes involucradas en el proceso y que en términos genéricos se podría definir como el acto médico-paciente donde ambas partes están en diferentes localizaciones geográficas y cuya comunicación es posible mediante tecnologías de telecomunicación [1]. Sus objetivos son mejorar los cuidados sanitarios agilizando y facilitando el acceso, facilitando el seguimiento de los pacientes y la colaboración entre sanitarios, y aumentando así la eficiencia y la calidad de vida de los pacientes [2-6], y siempre sin la intención de sustituir la imprescindible asistencia directa al paciente, puesto que la dificultad de la exploración física no se ha conseguido eliminar mediante esta metodología [7].

Las nuevas tecnologías en la asistencia sanitaria han creado un medio ('teleconsulta') que posibilita ejercer la telemedicina de manera eficiente y segura con vistas a asegurar tratamientos, realizar seguimientos, favorecer el empoderamiento de los pacientes e incluso disminuir los traslados de pacientes presos [2, 8]. Los pacientes reclusos son una parte de la población que se beneficia de la telemedicina [4, 9] por las circunstancias de aislamiento que les rodean y la tipología de enfermedad que presentan para seguimiento, en concreto las enfermedades infecciosas.

Las enfermedades infecciosas que requieren un seguimiento crónico o tratamiento prolongado, como el VIH, el VHC o la tuberculosis, generan un aumento del número de consultas y en consecuencia un detrimento en la calidad de vida de los pacientes, y una sobrecarga de los especialistas, cuya valoración es indispensable para obtener los mejores resultados, adherencia, y supervivencia [10-13]. Por ello surge como indispensable el uso de la teleconsulta de enfermedades infecciosas para dar el mejor cuidado a determinados pacientes, la cual se ha evaluado en procesos agudos, programas de optimización de antibióticos [7], seguimiento ambulatorio tras el alta hospitalaria [14], seguimiento de pacientes con VIH [3], tratamientos directamente observados para tuberculosis [5] y VHC [9], aunque no hay estudios que hayan evaluado el uso de los antivirales de acción directa (AAD) mediante telemedicina ni para el seguimiento del tratamiento del VHB.

En nuestro hospital la telemedicina lleva desde 2013 siendo una realidad y el objeto de este estudio es describir la actividad de la teleconsulta de enfermedades infecciosas que llevamos a cabo con un centro penitenciario, el cual es el primer estudio de estas características que se hace en España.

MÉTODOS

Se trata de un estudio descriptivo realizado en el Hospital Universitario Fundación Alcorcón, localizado al sur de Madrid en la localidad de Alcorcón, que es hospital de referencia del centro penitenciario de Navalcarnero donde

desde 2013 se lleva colaborando mediante telemedicina. La plataforma técnica de telemedicina del hospital (figura 1) y el centro penitenciario se han creado expresamente para este motivo. Múltiples especialidades colaboran con el centro penitenciario mediante este sistema, entre ellas la unidad de infecciosas del servicio de Medicina Interna.

La teleconsulta de infecciosas se realiza a petición y juicio del médico responsable del centro penitenciario mediante solicitud virtual y esta es programada en la agenda específica de telemedicina. El mecanismo de la teleconsulta se basa en la videoconferencia del especialista de infecciosas del hospital de un lado y del paciente y médico responsable de la atención en el centro penitenciario del otro lado. Además, se pueden ver pruebas complementarias realizadas en el centro incluso con anterioridad a la consulta. En caso de querer explorar al paciente, éste puede ser explorado por el médico presente en el centro y referirnos los hallazgos en directo. La videoconferencia es encriptada mediante el sistema de seguridad elaborado y los datos personales del paciente quedan recogidos en la historia clínica electrónica en la plataforma SELENE®, de manera que no pueda existir acceso desde otras localizaciones.

Para el estudio se recopilaron mediante el sistema informático SELENE® todos los números de historias clínicas de pacientes que habían sido atendidos en nuestras consultas de infecciosas de telemedicina, hubieran o no terminado el seguimiento, desde su apertura en 2013 hasta 2017 incluido. De cada paciente se recogieron datos demográficos, centro de procedencia, motivo de consulta, número de consultas, seropositividad de VIH, así como carga viral (definimos carga vi-

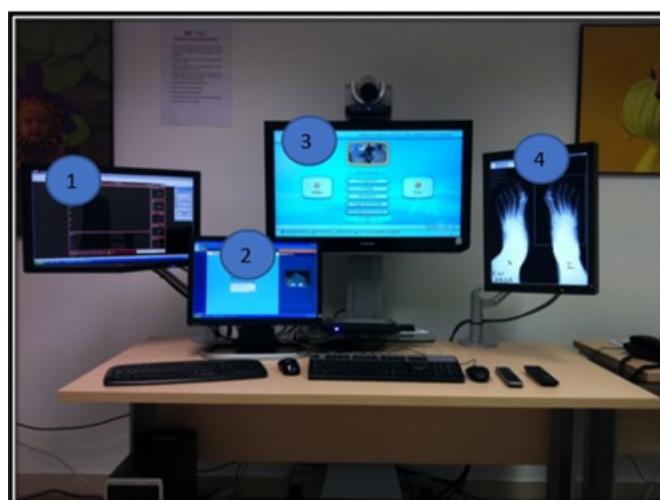


Figura 1 Equipo de telemedicina usado desde una sala del hospital.

1. Pantalla desde la que se puede visualizar información remitida desde el centro penitenciario.
2. Pantalla desde la que se puede acceder al sistema informático SELENE® para acceder a la historia clínica del paciente.
3. Pantalla, con videocámara asociada en el borde superior, en la que se puede visualizar al paciente y médico en el centro penitenciario.
4. Pantalla en la que se pueden ver radiografías del paciente con mejor resolución.

Tabla 1 Número de primeras consultas y revisiones por año e índice de revisiones/primeras.			
Año	1ª consulta	Revisiones	Revisiones/primeras
2013	5	6	1,2
2014	4	13	3,25
2015	13	20	1,54
2016	21	24	1,14
2017	32	30	0,94
TOTAL	75	93	1,24

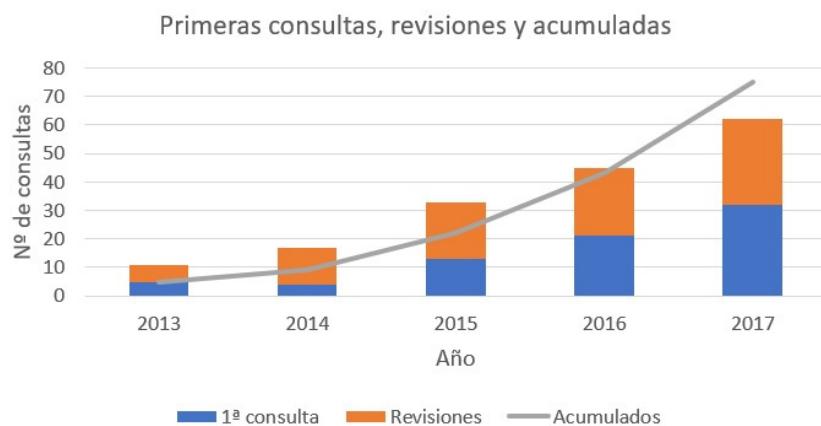


Figura 2 Número de primeras consultas, revisiones y acumulados de primeras consultas a lo largo del tiempo.

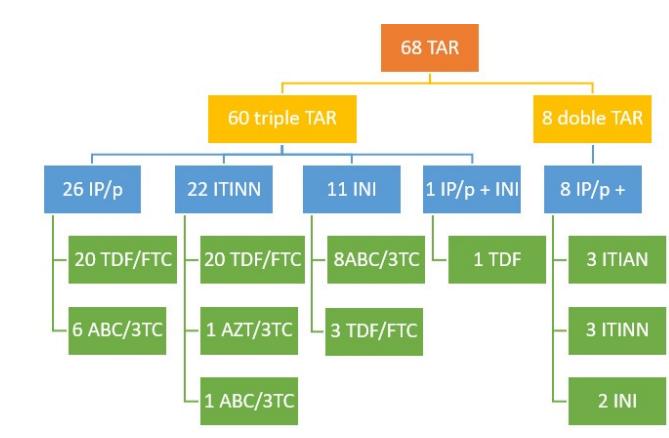


Figura 3 Tipos de TAR pautados.

TAR: Terapia Antirretroviral; ITIAN: Inh. Transcr. Inversa Análogo de Nucleósidos; ITINN: Inh. Transcr. Inversa No-análoga de Nucleósidos; IP/p: Inhibidor de la proteasa potenciado con ritonavir (r) o cobicistat. INI: Inh. de la Integrasa; TDF/FTC: Tenofovir Disopropoxil Fumarato/Emtricitabina; ABC/3TC: Abacavir/Lamivudina.

ral (CV) indetectable todos aquellos que tuvieran <50 copias/ml) y recuento de CD4 al inicio de la interconsulta (en caso de ser seropositivo), terapia antirretroviral (TAR), seropositividad de VHC con genotipo, carga viral y afectación hepática medida con elastografía (Fibroscan® con valores de referencia de Carrión et al [15]) al inicio de la interconsulta, así como el tratamiento antiviral realizado y la respuesta a éste. También se recogió la asistencia o introducción o cambios en la terapia realizados por parte del especialista de infecciosas con motivo de la interconsulta.

Los datos se recogieron en una base de datos en Excel® y se analizaron con el mismo sistema. Los datos se muestran en medianas y rangos o proporciones, según el tipo de variable. La identificación de los pacientes se realizó a través de códigos para preservar su anonimato. El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del hospital.

RESULTADOS

En el periodo estudiado se evaluaron 75 pacientes, todos ellos varones comprendidos entre los 30 y los 59 años (mediana de 46 años). En cuanto a los hospitales de referencia, el 20% eran de la zona correspondiente a nuestro hospital (Alcorcón y Móstoles), el 57% eran de otras áreas de la Comunidad de Madrid y el 23% restante no se conocía su hospital de referencia.

Se realizaron un total de 168 consultas de telemedicina en los 75 pacientes valorados, siendo 75 primeras consultas y 93 revisiones con una media de ratio revisiones/primeras de 1,24 (tabla 1 y figura 2). La mediana de consultas realizadas por paciente fue de 2 (mínima de 1; máxima de 8). Con respecto al tiempo de seguimiento, el 85% de los pacientes necesitaron menos de 1 año de seguimiento y el 15% necesitaron de 1 a 5 años de seguimiento.

Se evitó el traslado a estancias hospitalarias en el 83% de los casos y 13 pacientes tuvieron que ser trasladados por algún motivo: 3 pacientes necesitaron ingresar para estudio (diagnóstico de leishmaniosis visceral, transfusión de hemáties por anemia y encefalopatía por virus BK), 9 pacientes necesitaron realización de pruebas hospitalarias (RMN, ecografía hepática, espirometrías, colonoscopias, broncoscopía y biopsia cutánea) y 1 paciente porque rechazó valoración mediante telemedicina.

El 96% de los pacientes eran VIH positivos y de estos el 94% recibía TAR (1 rechazaba el TAR, 2 eran 'naïve' y 1 era controlador de élite). El 85% tenía CV indetectable (<50 copias/mL) con 532 CD4/µL de mediana (78 - 1669). El 15% tenía fracaso virológico (FV) por: resistencias por mutaciones reconocidas (1), falta de adherencia (2), toxicidad (1) y

Tabla 2		
Motivo de consulta	n	%
Tratamiento del VHC y seguimiento	56	74
Seguimiento VIH	10	13
Toxicidad TAR	4	5
Inicio TAR	3	4
Otros	3	4

Tabla 3		
Tratamientos de VHC y tipo de seguimiento (entre paréntesis los que se trataron además con ribavirina).		
Tipo de tratamiento	Seguimiento posterior por:	
	Centro penitenciario (n= 29)	Telemedicina (n= 18)
SFB/LDP (+RBV)	17 (1)	14 (1)
SFB/VLP	6	0
SFB/DCV (+RBV)	0	1 (1)
SFB + RBV	0	1
EBV/GZP (+RBV)	4 (2)	1
GLE/PIB	2	0
SMV + RBV + IFN	0	1

DCV: Daclatasvir. EBV: Elbasvir. GLE: Glecaprevir. GZP: Grazoprevir. IFN: Interferón. LDP: Ledipasvir. PIB: Pibrentasvir. RBV: Ribavirina. SFB: Sofosbuvir. SMV: Simeprevir. VLP: Velpatasvir.

causas no especificadas (6). Con respecto al TAR, el 12% estaba con doble terapia y (todos con CV indetectable) y el 88% estaba con triple terapia (83% con CV indetectable) (figura 3). Respecto al FV y el tipo de tratamiento, 8 fracasaron con TDF/FTC y 2 fracasaron con ABC/3TC. En el tercer fármaco, 4 fracasaron con IP/p, 3 fracasaron con ITINN, y 3 fracasaron con INI.

El 72% fue derivado para valorar inicio de tratamiento frente al VHC (tabla 2). Entre los que iniciaban tratamiento VHC había 1 paciente para valorar también inicio de TAR frente al VIH. Las sospechas de toxicidad por el TAR consultadas fueron ginecomastia, nefropatía y sudoración y diarrea (TDF/FTC/LPV-R, TDF/FTC/RPV y ABC/3TC/RAL, respectivamente). Otros motivos de consulta fueron para valorar tuberculosis e inicio de antituberculosos, valorar seguimiento de serológico (RPR) en lúes tratada previamente y revisar infección protésica precoz. Sólo hubo 1 paciente que se negó a ser valorado por telemedicina y había sido remitido para seguimiento de VIH.

Los 68 pacientes con antecedentes de serología positiva para VHC estaban coinfecados con VIH. El 59% eran genotipo 1 (29 con subtipo 1a, 6 genotipo 1b y 5 desconocidos), el 3% eran genotipo 2, el 15% eran genotipo 3 (6 con subtipo 3a), el 16% eran genotipo 4 y del 7% se desconoce el genotipo. La carga viral recogida al diagnóstico del VHC era de una mediana de 3.200.000 copias/ml (620-27.000.000 copias/ml). En

cuanto al grado de fibrosis que presentaban previamente a la valoración de las consultas el 41% tenía grado F0-1, el 18% tenía grado F2, el 19% tenía grado F3, el 19% tenía grado F4 y en el 3% se desconocía el grado de fibrosis. El 10% ya tenía previamente respuesta viral sostenida (RVS) del VHC y el 90% restante estaba coinfecado con VHC en el momento de la valoración.

De los que tenían ARN positivo de VHC, en el 23% no se inició tratamiento para el VHC (3 estaban remitidos por otro motivo y se desconocía situación del VHC, 3 se curaron espontáneamente antes de las consultas, 6 fueron remitidos a su centro de referencia por estar próxima su libertad del centro penitenciario, 1 consta como 'evadido' del centro penitenciario y 1 rechazó el tratamiento) y en el 77% restante se inició tratamiento con la pauta y duración recomendadas ofrecidas en la consulta de telemedicina (35 de ellos eran 'naïve') y que se resume en la tabla 3.

En total se objetivó una RVS del 90%, con un 8% de pérdidas y el 2% restante hace referencia al único paciente que no consiguió RVS y que además perdió el seguimiento (genotipo 1a, 7 millones de copias/ml, naïve, F4, y, por tanto, candidato a triple terapia con ribavirina, pero por falta de recursos en el centro penitenciario se trató con sofosbuvir/ledipasvir durante 12 semanas). No ha habido ninguna reinfección documentada.

Hubo 27 pacientes que tuvieron cambios en el TAR y en el 70% de los casos fue para evitar interacciones con el tratamiento del VHC iniciado. El 44% de los fármacos cambiados fueron IP potenciado y el 66% fueron cambiados a un INI. Hubo 9 cambios de TDF/FTC a ABC/3TC y 1 cambio de ABC/3TC a TAF/FTC (tabla 4).

DISCUSIÓN

Nuestro estudio muestra que la telemedicina está creciendo cada vez más en nuestro medio debido al aumento del número de consultas solicitadas, mostrándose de esta forma como un elemento confiable por los pacientes y por los médicos que lo solicitan. Además, es una consulta que está resultando ser muy resolutiva. En los 3 primeros años se realizaron un menor número de primeras consultas con respecto a revisiones, lo cual puede ser debido a la cada vez mayor experiencia en dicha consulta y las facilidades encontradas para el seguimiento por parte del centro penitenciario. Esto nos hace pensar que en el futuro la consulta mostrará mayor resolución que lo hacen los datos ahora.

Se evitó trasladar a un 83% de los pacientes, lo cual indica una mayor eficiencia y seguridad dada la condición de presos que tienen nuestros pacientes atendidos. León et al encontró un 2% de pacientes que se negaron a la consulta de telemedicina frente a nuestro 1% y en este mismo estudio un 85% lo seguirían usando en el futuro y, aunque no fue objeto de nuestro estudio, nos pareció interesante que un 32% vió que la re-

Tabla 4

Cambios de TAR y motivos de cambio

Motivo del cambio	TAR inicial (3º fármaco)	TAR final (3º fármaco/doble terapia)	n
Interacción con el tratamiento VHC	IP potenciado	INI	10
		ITINN	2
		INI	3
		ITINN	4
Interacción con IBP	IP potenciado	INI	1
Efectos secundarios	IP potenciado	IP potenciado	1
		INI	1
		ITINN + INI	1
Fracaso virológico	INI	INI	1 ^a
		INI + IP potenciado	2

TAR: Terapia Antirretroviral; ITINN: Inhibidor transcriptasa inversa no-análoga de nucleósidos; IP: Inhibidor de la proteasa; INI: Inhibidor de la integrasa; IBP: Inhibidores de Bomba de Protones.

^aEste paciente también iniciaba tratamiento para VHC por lo que estaba contraindicado el uso de IP potenciados.

lación con el médico se dificultaba, lo cual habría que tener en cuenta pues se pudiera deteriorar la relación médico-paciente en estos pacientes a más largo plazo [3].

El 96% de nuestros pacientes estaban infectados por el VIH y de estos no se cumplía el objetivo 90-90-90 de Onusida en la primera valoración en consulta porque sólo el 85% de los que recibían tratamiento tenían carga viral indetectable (aunque esto depende del corte de carga viral puesto que el 92% de nuestros pacientes tenían <200 copias/mL), al igual que tampoco se cumplía en el estudio estadounidense de Young et al, donde previo a la telemedicina sólo tenían supresión viral un 58% y que tras el uso de la telemedicina la proporción de pacientes con carga viral indetectable llegó al 92% [4].

Por tanto, podríamos considerar las prisiones uno de los nichos de VIH a tener en cuenta a la hora de optimizar los recursos y la asistencia sanitaria y, de hecho, en diversos estudios en EE.UU. se ha objetivado que personas con características similares a las personas encarceladas (minorías raciales o étnicas, alcoholismo, usuarios de drogas vía parenteral, menor número de consultas al año, vivir eventos estresantes, perfiles psicosociales desfavorables), suelen tener un diagnóstico más tardío, un estadio más avanzado e inician TAR más tarde con un abandono más frecuente, lo cual ha motivado programas sanitarios específicos en esas poblaciones [12, 16-22]. En estos casos la telemedicina podría promocionarse como un complemento óptimo a la hora de conseguir el objetivo de erradicar la epidemia de VIH dadas las evidencias arrojadas.

En cuanto al VHC, la asistencia de un especialista en infecciosas en estos pacientes consiguió pautar tratamientos adecuados con los que conseguir altas tasas de RVS, aunque en ocasiones no se inició el tratamiento más indicado por falta de

fármacos en las instalaciones del centro penitenciario y el único caso en el que no se consiguió RVS fue por este motivo (ausencia del combo ombitasvir, paritaprevir, ritonavir, dasabuvir con ribavirina).

Se inició TAR en un 3% y se cambió en un 40%, porcentajes algo diferentes comparándolo con el estudio de León et al [3] donde el 7% inició el TAR y el 28% de los pacientes cambiaron de TAR, en parte porque el 70% de los cambios en nuestro estudio fue por el inicio de AAD.

Con los datos del estudio parece evidente que el manejo de estos pacientes por telemedicina es posible sin aumentar efectos adversos, aumentando la eficiencia al disminuir costes en transporte y personal de seguridad y aumentando la seguridad ciudadana al evitar el transporte entre centros. Además, este estudio permite llegar a pensar que el seguimiento de estas infecciones crónicas podría llegar a hacerse adecuadamente desde atención primaria mediante telemedicina con un especialista en infecciosas dado el progresivo aumento de volumen de pacientes infectados (1.000 nuevos pacientes al año en Madrid, siendo 15 en Alcorcón) y la disminución de complejidad y comorbilidad de estos pacientes dada la eficacia de la TAR.

El estudio realizado tiene las limitaciones propias de un estudio descriptivo basado en una cohorte retrospectiva de donde no podemos extraer conclusiones definitivas. Tampoco pudimos extraer todos los datos de las historias, y además hubo pacientes que se perdieron en el seguimiento y lo cual imposibilita tener los datos exactos en lo que a tasa de RVS se refiere.

Finalmente, podemos afirmar que en nuestra experiencia la mayoría de los pacientes del centro penitenciario atendidos

en la teleconsulta de enfermedades infecciosas tienen infec-
ción por VIH. Esta modalidad de consulta tiene una demanda creciente, evita traslados al hospital y cumple criterios de elevada resolución. El motivo de consulta más frecuente fue sobre el tratamiento del VHC y más de la tercera parte de los pacientes precisó cambio de TAR.

AGRADECIMIENTOS

A todo el servicio de Medicina Interna del Hospital de Alcorcón por su entrega, dedicación y apoyo.

FINANCIACIÓN

Los autores declaran que no han recibido financiación para la realización de este trabajo.

CONFLICTOS DE INTERESES

Ninguno.

BIBLIOGRAFÍA

- Bashshur RL, Timothy GR, Shannon GW. Telemedicine: A new health care delivery system. *Annu Rev Public Health*. 2000; 21:613-37. doi:10.1146/annurev.publhealth.21.1.613
- Gras G. Use of telemedicine in the management of infectious diseases. *Med Mal Infect*. 2018; 48(4) 231-7. doi:10.1016/j.medmal.2018.01.005
- León A, Cáceres C, Fernández E, Chausa P, Martín M, Codina C et al. A new multidisciplinary home care telemedicine system to monitor stable chronic human immunodeficiency virus-infected patients: a randomized study. *PLoS One*. 2011; 6(1): e14515. doi:10.1371/journal.pone.0014515
- Young JD, Patel M, Badowski M, Mackesy-Amiti ME, Vaughn P, Shicker L et al. Improved virologic suppression with HIV subspecialty care in a large prison system using telemedicine: an observational study with historical controls. *Clin Infect Dis* 2014;59(1):123-6. doi:10.1093/cid/ciu222
- Wade VA, Karmon J, Elliott JA, Hiller JE. Home videophones improve direct observation in tuberculosis treatment: a mixed methods evaluation. *PLoS One* 2012;7(11): e50155. doi:10.1371/journal.pone.0050155
- Whitten P, Love B. Patient and provider satisfaction with the use of telemedicine: overview and rationale for cautious enthusiasm. *J Postgrad Med*. 2005; 51(4):294-300.
- Parmar P, Mackie D, Varghese S, Cooper C. Use of telemedicine technologies in the management of infectious disease: A review. *Clin Inf Dis*. 2015; 60 (7):1084-94. doi:10.1093/cid/ciu1143
- Eron L. Telemedicine: The future of outpatient therapy? *Clin Inf Dis*. 2010; 51(S2): S224-S230. doi:10.1086/653524
- Arora S, Thornton K, Murata G, Deming P, Kalishman S, Dion D et al. Outcomes of treatment for hepatitis C virus infection by pri- mary care providers. *N Engl J Med*. 2011; 364 (23): 2199-207. doi:10.1056/NEJMoa1009370
- Kitahata MM, Koepsell TD, Deyo RA, Maxwell CL, Dodge WT, Wagner EH. Physicians' experience with the acquired immunodeficiency syndrome as a factor in patients' survival. *N Engl J Med* 1996; 334:701-6. doi:10.1056/NEJM199603143341106
- Laine C, Markson LE, McKee LJ, Hauck WW, Fanning TR, Turner BJ. The relationship of clinic experience with advanced HIV and survival of women with AIDS. *AIDS*. 1998; 12:417-24.
- Delgado J, Heath KV, Yip B, Marion S, Alfonso V, Montaner JS et al. Highly active antiretroviral therapy: physician experience and enhanced adherence to prescription refill. *Antivir Ther* 2003; 8:471-8.
- Landon BE, Wilson IB, McIness K, Landrum MB, Hirschhorn LR, Marsden PV et al. Physician specialization and the quality of care for human immunodeficiency virus infection. *Arch Intern Med* 2005; 165:1133-9. doi:10.1001/archinte.165.10.1133
- Eron L, King P, Marineau M, Yonehara C. Treating acute infections by telemedicine in the home. *Clin Infect Dis*. 2004; 39:1175-81. doi:10.1086/424671
- Carrión JA. Utilidad del fibroscan para evaluar la fibrosis hepática. *Gastroenterol Hepatol*. 2009; 32: 415-23. doi:10.1016/j.gastrohep.2009.01.178
- CDC. Late versus early testing of HIV, 16 sites, United States, 2000-2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2003; 52:581-6.
- Keruly JC, Moore RD. Immune status at presentation to care did not improve among antiretroviral-naïve persons from 1990 to 2006. *Clin Infect Dis* 2007; 45:1369-74. doi:10.1086/522759
- Lemly DC, Shepherd BE, Hulgå T, Rebeiro P, Stinnette S, Blackwell RB et al. Race and sex differences in antiretroviral therapy use and mortality among HIV-infected persons in care. *J Infect Dis* 2009; 199:991-8. doi:10.1086/597124
- Gebo KA, Fleishman JA, Conviser R, Reilly ED, Korthuis PT, Moore RD et al. Racial and gender disparities in receipt of highly active antiretroviral therapy persist in a multistate sample of HIV patients in 2001. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 38:96-103.
- Palacio H, Kahn JG, Richards TA, Morin SF. Effect of race and/or ethnicity in use of antiretrovirals and prophylaxis for opportunistic infection: a review of the literature. *Public Health Rep* 2002; 117:233-51; discussion 231-2. doi:10.1093/phr/117.3.233
- Li X, Margolick JB, Conover CS, Badri S, Riddler SA, Witt MD et al. Interruption and discontinuation of highly active antiretroviral therapy in the Multicenter AIDS Cohort Study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 38:320-8.
- Pence BW, Ostermann J, Kumar V, Whetten K, Thielman N, Mungavero MJ. The influence of psychosocial characteristics and race/ethnicity on the use, duration, and success of antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008; 47:194-201. doi:10.1097/QAI.0b013e31815ace7e



Original

Carla Foronda-García-Hidalgo¹
Carmen Liébana-Martos²
Blanca Gutiérrez-Soto³
Manuela Expósito-Ruiz⁴
José María Navarro-Mari¹
José Gutiérrez-Fernández^{1,5}

Prevalencia en varones de la población general de agentes productores de infecciones no ulcerativas del aparato genital, asistidos en atención especializada

¹Laboratorio de Microbiología, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Instituto de Investigación Biosanitaria (IBS), Granada, España.

²Laboratorio de Microbiología, Hospital Universitario Ciudad de Jaén, Jaén.

³Unidad de Medicina de Familia. Centro de Salud San Fernando. Badajoz.

⁴Departamento de Bioestadística de FIBAO, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Instituto de Investigación Biosanitaria (IBS), Granada, España.

⁵Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Granada, Instituto de Investigación Biosanitaria (IBS), Granada, España.

Article history

Received: 8 July 2019; Revision Requested: 2 September 2019; Revision Received: 2 October 2019; Accepted: 3 October 2019

RESUMEN

Objetivo. Las infecciones de los órganos genitales en el hombre representan un grave problema por su frecuencia, morbilidad e implicación en casos de infertilidad masculina. En este trabajo se investiga, en varones asistidos en atención especializada, la presencia de los agentes productores de infecciones no ulcerativas del aparato genital.

Material y métodos. Se estudiaron de forma descriptiva y retrospectiva los resultados microbiológicos de 3.066 muestras de pacientes varones, con diagnóstico de sospecha de episodio de infección del tracto genital, recibidas entre el 1 de enero de 2016 y 31 de diciembre de 2017. La detección de los microorganismos en la muestra se realizó mediante técnicas de cultivo en medios artificiales y de PCR (BD-MAX).

Resultados. 451 (14,71%) muestras fueron positivas, siendo, mediante cultivo, los patógenos más frecuentes enterobacterias (18,40%), *Enterococcus* (13,75%), *Haemophilus* (8,65%), *Neisseria gonorrhoeae* (8,43%), *Ureaplasma* (5,10%) y *Candida* (3,77%). Mediante PCR se detectaron *N. gonorrhoeae* (28,37%), *Chlamydia trachomatis* (26,95%), *Ureaplasma urealyticum* (17,73%), *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma parvum* (10,64%), y *Mycoplasma genitalium* (7,10%). Se encontró mayor edad en el grupo de pacientes con presencia de enterobacterias, *Candida* o *Enterococcus*, y menor para los que tuvieron *N. gonorrhoeae*.

Conclusiones. *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis* siguen siendo los patógenos más frecuentes en la infección genital masculina, aunque otros microorganismos cultivables tienen un importante papel. Los ponen de manifiesto la importancia del uso sistemático tanto del cultivo tradicional

como de las nuevas técnicas de PCR para la detección de patógenos.

Palabras clave: Infecciones del Sistema Genital, Genitales Masculinos, Técnicas y Procedimientos Diagnósticos.

Prevalence among males from the general population of agents responsible of not ulcerative genital tract infections, assisted in specialized care

ABSTRACT

Objective. Male genital infections are a major problem due to their high frequency and morbidity and their role in cases of male infertility. We studied the presence, in males assisted in specialized care, of non-ulcerative genital tract infections-producing agents.

Materials and methods. We studied descriptively and retrospective microbiological results of 3,066 samples of male patients, with diagnosis of genital tract infection episode, received between January 1, 2016 and December 31, 2017. Detection of micro-organisms in the sample was performed using techniques of artificial culture and PCR (BD-MAX).

Results. Positive results were obtained in 451 samples (14.71%). By culture, the most frequent pathogens were Enterobacteriales (18.40%), *Enterococcus* (13.75%), *Haemophilus* (8.65%), *Neisseria gonorrhoeae* (8.43%), *Ureaplasma* (5.10%), and *Candida* (3.77%). By polymerase chain reaction (PCR), the most frequent were *N. gonorrhoeae* (28.37%), *Chlamydia trachomatis* (26.95%), *Ureaplasma urealyticum* (17.73%), *Mycoplasma hominis/Ureaplasma parvum* (10.64%), and *Mycoplasma genitalium* (7.10%). The age was older in patients infected with Enterobacteriales, *Candida*, or *Enterococcus* and younger in those infected with *N. gonorrhoeae*.

Conclusions. *N. gonorrhoeae* and *C. trachomatis* are still more common in male genital infection pathogens, although

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@ugr.es

other culturable microorganisms have an important role. These findings demonstrate the importance of systematically applying both conventional culture and PCR techniques for pathogen detection.

Key words: Genital infections, male genitalia, diagnostic procedures.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones de los órganos genitales en el hombre, como la uretritis y balanitis, representan un grave problema por su frecuencia, morbilidad larvada y porque pueden llegar a ser responsables de entre un 6% y 15% de los casos de infertilidad masculina [1-3]. Los agentes más comúnmente asociados con este tipo de infección son *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*, si bien se han descrito casos asociados a *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, *Haemophilus* spp. o *Gardnerella vaginalis* [4]. Agentes que también participan en episodios de proctitis e infecciones de la mucosa oral, relacionados con la sexualidad de los pacientes. No obstante, otros microorganismos deben ser tenidos en cuenta ya que los movimientos poblacionales que las facilitan se han incrementado con el paso de los años.

La uretritis no gonocócica es una de las infecciones de transmisión sexual (ITS) más comunes, sin embargo, entre un 20% y un 50% de los casos el patógeno no llega a ser identificado. La utilización de métodos basados en la amplificación de ácidos nucleicos ha permitido relacionar algunos de estos patógenos con la infección genitourinaria en varones. Además, el empleo de protocolos de trabajos amplios y nuevos métodos de identificación microbiana pueden permitir recuperar otros microorganismos como potenciales agentes de infecciones.

La prostatitis crónica bacteriana (PCB) es otra infección genital frecuente en el varón de la cual, la causa más frecuente, descrita hasta la fecha, suele ser los patógenos urinarios típicos, como bacilos gramnegativos y enterococos. Generalmente, los protocolos que se aplican en los laboratorios están orientados a la detección de éstos, mediante el cultivo del semen, resultando poco eficaces en el diagnóstico de otros agentes [5]. No existen trabajos que informen, en varones de la población general, de la frecuencia global de presentación de los agentes productores de infecciones no ulcerativas de transmisión sexual y otras infecciones por genitopatógenos. En base a lo anterior nuestro objetivo fue describir los agentes causales de las infecciones no ulcerativas en varones en nuestra área sanitaria.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio transversal, descriptivo de carácter retrospectivo, en el que se incluyeron todas las muestras genitales de varones sintomáticos, con diagnóstico presuntivo de episodio de infección genital, recibidas en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Virgen de las Nieves de Granada, entre el 1 de enero de 2016 y 31 de diciembre de 2017, sin criterios de exclusión. Se evaluaron los resultados obtenidos tras el

procesamiento microbiológico de la muestra del paciente con el diagnóstico clínico de sospecha, mediante cultivo y/o PCR, de agentes productores de lesiones no ulcerativas, excluyendo por tanto el estudio de la infección por herpes Virus del Herpes Simple y *Treponema pallidum*, y prostatitis agudas. Las muestras procedieron de pacientes asistidos en la atención especializada que correspondieron a los Servicios de Urgencias, que atendieron a la población de Granada capital y todos los pueblos del área metropolitana, y los servicios de Urología y Enfermedades Infecciosas.

Todas las muestras fueron procesadas siguiendo el protocolo de trabajo normalizado del laboratorio de Microbiología Clínica. A dichas muestras se les realizó cultivo habitual de muestra genitales para bacterias y hongos [5, 6] (que se valoró microbiológicamente en caso de ser un crecimiento monomicrobiano de un patógeno oportunitista o en presencia de un patógeno estricto), investigación de parásitos, si procedía por existir eosinofilia, y PCR multiplex para la detección de diferentes agentes etiológicos en la plataforma BD-MAX (Becton Dickinson, Sparks, EE.UU.): BD-MAX CT/GC para la detección de *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae*, y BIO-GX para detección de *Mycoplasma hominis*, *M. genitalium*, *U. urealyticum* y *Ureaplasma parvum*. Estos últimos desde enero de 2017, ya que durante 2016 se empleó el cultivo (*Mycoplasma IST 2*, bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francia) detectándose *M. hominis* y *Ureaplasmas* spp. en caso de recuentos superiores a 10^4 UFC por muestra. Para la identificación de los microorganismos crecidos en el cultivo habitual se utilizaron los sistemas MALDI Biotyper (Bruker Daltonics, Billerica, EE. UU.) o MicroScan (Siemens Healthcare Diagnostics, Madrid, España).

Se realizó un análisis estadístico descriptivo, calculando frecuencias absolutas y relativas para las variables cualitativas, medidas de tendencia central y dispersión para las cuantitativas. La normalidad de los datos se contrastó con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Para analizar la posible relación entre la edad y el tipo de microorganismo se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis. Para analizar las posibles diferencias entre las positividades de las muestras clínicas y la presencia de cada tipo de microorganismo por tipo de muestra se aplicó la prueba de test chi-cuadrado de Pearson. Se consideró significativo un valor $p < 0,05$. Los datos se analizaron con el software IBM SPSS Statistics 19.

Se recogieron las variables tipo de muestra, procedencia, microorganismo y edad del paciente a través del SIL de nuestro laboratorio (MODULAB ®, sistema utilizado en el Sistema Sanitario Público de Andalucía como soporte de la historia clínica electrónica) para su posterior evaluación. No se tuvo información clínica que hubiera permitido recoger información de los factores clínicos asociados con la presencias de un determinado microorganismo.

Consideraciones éticas. El protocolo del estudio se llevó a cabo con arreglo a la Declaración de Helsinki y las consideraciones éticas de la investigación epidemiológica. Este fue un estudio no intervencionista, con ninguna investigación adicional a los procedimientos rutinarios. El material biológico se utilizó

solo para el diagnóstico estándar de infecciones del tracto genital, siguiendo las prescripciones de los médicos. No se realizó muestreo adicional ni modificación del protocolo diagnóstico de rutina. Se realizaron los análisis de datos utilizando una base de datos completamente anónima, donde los sujetos fueron sustituidos por episodios infecciosos diferentes, ocurridos al menos con 6 semanas de diferencia del anterior, si es que lo hubo. La entidad que concedió el permiso para acceder y utilizar los datos fue la Unidad de Gestión Clínica de Microbiología Clínica del Hospital Virgen de las Nieves de Granada, España.

RESULTADOS

A lo largo del periodo de estudio se procesaron 3.066 muestras (tabla 1) correspondientes a 2.693 episodios de infección genital de pacientes varones, con diagnóstico de sospecha de infección del tracto genital y una edad media de $40,8 \pm 16,8$ años (rango entre 1 y 89 años). Las muestras más frecuentemente recibidas fueron para estudios de PCB (1.075 semen; y 42 orina postsemen), uretritis (1.060 exudados uretrales; y 157 orinas uretrales), y proctitis (349; 11,32%).

Del total de las muestras se obtuvo un resultado positivo para algún patógeno microbiano (tabla 2) en 451 (14,71%) casos, 310 (68,74%) mediante pruebas de cultivo convencional y 141 (31,26%) mediante pruebas de PCRs. Mediante cultivo habitual los aislados más frecuentes fueron las enterobacterias (83; 18,40%), destacando *Escherichia coli* con 51 (61,44%) casos, *Enterococcus* spp. (62; 13,75%) y *Haemophilus* spp. (39; 8,65%), fundamentalmente *Haemophilus parainfluenzae* (29; 74,36%). *N. gonorrhoeae* se aisló en 38 (8,43%) casos, *Ureaplasma* spp. en 23 (5,10%) y *Candida* spp. en 17 (3,77%), siendo *C. albicans* la especie más frecuente (14; 82,35%). En las 141 muestras positivas por PCR, se detectaron 40 (28,37%) *N. gonorrhoeae*, 38 (26,95%) *C. trachomatis*, 25 (17,73%) *U. urealyticum*, 15 (10,64%) *M. hominis* y *U. parvum*, y 10 (7,10%) *M. genitalium*. En sólo dos muestras de orina uretral con PCR positiva de gonococo no se pudo recuperar este mediante cultivo.

Comparando la edad de los pacientes (tabla 2) según los distintos microorganismos, se encontró mayor edad en el grupo de pacientes con presencia de enterobacterias, *Candida* o *Enterococcus*, con una mediana de 50 [33-61] años, mientras que para los microorganismos *N. gonorrhoeae* y la combinación de *Ureaplasma*, *Haemophilus*, *Chlamydia* o *Mycoplasma*, las edades fueron 29 [22-40] y 34 [26-43] años respectivamente, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$).

Por grupos de muestras (tabla 3), en el exudado uretral (1.060 muestras; 34,6% del total) resultaron positivas 183 (17,26%), destacando la detección de 64 (34,97%) muestras con *N. gonorrhoeae* (32 mediante PCR y, además, por cultivo); 30 (16,4%) con *Haemophilus* spp.; y *C. trachomatis* representó el 9,8% de los positivos (18 detecciones mediante PCR). En la muestra de semen (1.075; 35,06% del total) de las que fueron positivas 149 (13,86%), destacaron la detección de enterobacterias (47; 31,56%) y *Ureaplasma* spp. (24; 16,10%; 13

Tabla 1 Distribución de las muestras procesadas en el laboratorio de microbiología para el estudio en varones de agentes productores de infecciones no ulcerativas de transmisión sexual y otras infecciones por genitopatógenos.

Tipo de muestra	N (%)	Positivos (%)
Exudado / Orina uretral	1.217 (39,69)	189 (15,52)
Semen / Orina postsemen	1.117 (36,43)	154 (12,65)
Exudado rectal	349 (11,32)	52 (14,90)
Muestra no definida clínicamente	254 (8,29)	1 (0,39)
Exudado glande	79 (2,58)	42 (53,16) ^a
Exudado mucosa oral	33 (1,07)	2 (6,06)
Exudado úlcera genital	17 (0,56)	11 (64,70) ^a
Total	3.066 (100,00)	451 (14,71)

^a($p < 0,001$)

Tabla 2 Distribución de los microorganismos detectados, con mediana y rango de edad de los pacientes

Microorganismo	N (%)	Mediana [P25-P75]
Enterobacterias	82 (18,37)	51 [32-61]
<i>Enterococcus</i> spp.	62 (13,75)	42,5 [25,75-57,75]
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	40 (8,87)	29 [22,25-41,25]
<i>Ureaplasma</i> spp.	41 (8,90)	35 [26-44]
<i>Haemophilus</i> spp.	39 (8,65)	35 [28-43]
<i>Chlamydia trachomatis</i>	38 (8,43)	31,5 [25,75-36,75]
<i>Mycoplasma</i> spp.	23 (5,10)	30 [26-37,5]
<i>Candida</i> spp.	17 (3,77)	50,5 [41,75-70,25]
<i>Streptococcus agalactiae</i>	10 (2,22)	56 [38-70]
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 (2,22)	47,5 [3,75-62]
Bacilos gramnegativos no fermentadores	9 (1,99)	71 [23,5-78,5]
<i>Streptococcus pyogenes</i>	5 (1,11)	39,5 [10,25-60,5]
Otros agentes crecidos en cultivo	6 (1,33)	26 [16-54,5]
<i>Gardnerella vaginalis</i>	4 (0,89)	26 [23,5-32,25]
<i>Trichomonas vaginalis</i>	2 (0,44)	19,5 [18,-]
Total	451 (100,00)	36 [26-71]

mediante cultivo y 11 mediante PCR), aunque el microorganismo mayoritario fue *Enterococcus faecalis* (60 aislamientos, 40,26%). Sólo un (1/33; 3,03%) exudado de mucosa oral resultó positivo a *M. hominis*, pero 52 (14,9%) exudados rectales fueron positivos, destacando en ellos la presencia de *N. gonorrhoeae* (8; 15,38%), *Ureaplasma* (12; 23,08%) y *C. trachomatis* (16; 30,77%); y sobre todo destacó que de los 79 (2,58%) exudados de glande hubo 41 (51,9%) positivas, con un 26,83% (11 muestras) con *Candida* o enterobacterias. Globalmente,

Tabla 3

Distribución, por tipo de muestra, de los microorganismos productores de infecciones no ulcerativas de transmisión sexual y otras infecciones por genitopatógenos

Microorganismo	MUESTRAS CLÍNICAS ESTUDIADAS														
	Ex. uretral		Semen		Ex. rectal		Ex. glande		Ex. Úlcera genital		Orina uretral		Orina postsemen		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	Total
Enterobacteria	17	9,29	47 ^a	31,54	0	0,00	11	26,19	4	36,36	0	0,00	3	60,00	82
<i>N. gonorrhoeae</i>	64 ^{a,b}	34,97	0	0,00	8	15,38	4	9,52	0	0,00	2	33,33	0	0,00	78
<i>Enterococcus</i> spp.	0	0,00	60 ^a	40,27	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	40,00	62
<i>Ureaplasma</i> spp.	24 ^a	13,11	24	16,11	12	23,08	1	2,38	0	0,00	2	33,33	0	0,00	63
<i>Haemophilus</i> spp.	30 ^a	16,39	0	0,00	7	13,46	1	2,38	0	0,00	0	0,00	0	0,00	38
<i>C. trachomatis</i>	18 ^a	9,84	3	2,01	16	30,77	0	0,00	0	0,00	1	16,67	0	0,00	38
<i>Mycoplasma</i> spp.	14 ^a	7,65	2	1,34	8	15,38	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	24
<i>Candida</i> spp.	4	2,19	2	1,34	0	0,00	11	26,19	0	0,00	0	0,00	0	0,00	17
<i>S. agalactiae</i>	0	0,00	7	4,70	0	0,00	0	0,00	3	27,27	0	0,00	0	0,00	10
<i>S. aureus</i>	4	2,19	2	1,34	0	0,00	3	7,14	1	9,09	0	0,00	0	0,00	10
Bacilos No fermentadores	4	2,19	0	0,00	0	0,00	3	7,14	2	18,18	0	0,00	0	0,00	9
<i>S. pyogenes</i>	1	0,55	0	0,00	1	1,92	3	7,14	0	0,00	0	0,00	0	0,00	5
Otros	1	0,55	1	0,67	0	0,00	3	7,14	1	9,09	0	0,00	0	0,00	6
<i>G. vaginalis</i>	2	1,09	1	0,67	0	0,00	1	2,38	0	0,00	0	0,00	0	0,00	4
<i>T. vaginalis</i>	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	2,38	0	0,00	1	16,67	0	0,00	2
TOTAL	183	100,00	149	100,00	52	100,00	42	100,00	11	100,00	6	100,00	5	100,00	448

Ex.: Exudados. ^a(p<0,001). ^b32 episodios detectados mediante cultivo y PCR.

hubo diferencias significativas en el porcentaje de muestras positivas ($p<0,001$), destacando los exudados de úlcera genital y de glande como muestras más rentables. Además, destacó que las enterobacterias y *Enterococcus* estuvieron más presentes en muestras de semen, mientras que *Ureaplasma*, *Haemophilus*, *Chlamydia* y *Mycoplasma* lo hicieron en el exudado uretral, junto con *N. gonorrhoeae* ($p<0,001$).

DISCUSIÓN

En la base de datos MEDLINE, en una búsqueda abierta, en diciembre de 2018, con las palabras clave "Infección genital" y varones, no se han publicado estudios epidemiológicos globales en nuestro país, salvo con un matiz exclusivo de transmisión sexual. El elevado número de muestras remitidas a nuestro laboratorio durante el periodo de estudio, con sospecha de infección genital, sin proceder de una consulta específica de ITS, nos da una idea de la magnitud e importancia del problema en la población asistida en el hospital.

Los patógenos más frecuentemente detectados fueron enterobacterias, destacando *E. coli*, seguidas de *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis* y *Mycoplasma* spp. *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis* son dos de los patógenos más comúnmente rela-

cionados con las infecciones del tracto genital masculino, pero las uretritis no causadas por estos pueden llegar a representar hasta un 63% de todas las diagnosticadas [7-9], según el escenario clínico. En nuestro estudio un 57,4% de las uretritis fueron causadas por microorganismos distintos a *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis*. En algunos casos aparecen síntomas uretrales evidentes, aunque no se manifieste una uretritis clara en el examen microscópico [4], por ello el papel de algunos agentes es aún controvertido [10]. Así, por ejemplo, el papel de *Ureaplasma* spp. en las infecciones genitales no está claro, ya que algunos estudios afirman que sólo está implicado entre un 5% y un 15% de las uretritis agudas [11] y con una implicación sólo de *U. urealyticum* en los casos de uretritis, hecho que no queda tan claro en el caso de *U. parvum* [12]. Sin embargo, debemos tener en cuenta que, dada la elevada prevalencia *U. parvum* en la población femenina [13] no sería de extrañar la potencial afectación de los varones. En nuestro estudio se detectaron *Ureaplasma* spp. en un 13,97% de las muestras positivas (23 mediante cultivo y 40 mediante PCR). En 32 casos se identificó como *U. urealyticum* (7 mediante cultivo y 25 mediante PCR); en 15 casos como *U. parvum* (mediante PCR) y en 16 casos como *Ureaplasma* spp. (por cultivo). Algunos estudios resaltan que *Ureaplasma* se aísla con más frecuencia en controles que en casos [4], dejando en entredicho su implicación

real en la uretritis no gononóica; por otra parte, patógenos como *Haemophilus* spp., aislados en nuestro estudio en un 8,18% de los casos, se han visto más ligados con casos que con controles en uretritis y se han relacionado con hasta un 5,1% de las uretritis sintomáticas, pudiendo también ser causantes de epididimitis y prostatitis. En estos casos la buena respuesta clínica tras el tratamiento antimicrobiano específico sugiere que, realmente, estos microorganismos pueden tener un claro papel patógeno [14]. Otros agentes infecciosos como *M. genitalium* se han relacionado de forma más clara con infección masculina, aislándose entre un 10% y un 15% más en varones sintomáticos que en varones sin enfermedad [4, 7] y relacionándose con uretritis, balanitis y prostatitis [1], tanto agudas (15%-20%) como persistentes (30%) llegándose a considerar que puede ser la segunda causa más frecuente de ITS en Europa [15], aunque no en nuestro medio, hasta ahora [16]. En nuestro estudio *Mycoplasma* spp. fue detectado en un 5,7% de los casos (2 mediante cultivo y 25 mediante PCR) representando *M. genitalium* el 2,09% del total de los aislados, siendo detectado en menor proporción que *M. hominis* o que otros microorganismos como *U. parvum*. Dada la baja prevalencia de esta infección es cuestionable la utilidad de los métodos PCR en orina uretral para la detección de *Mycoplasma* spp. y *Ureaplasma* spp. [17-20], siendo el clásico frotis del exudado uretral la muestra que se debería utilizar.

Las infecciones ascendentes, causadas por uropatógenos como *E. coli* o *C. trachomatis*, son unas de las causas más frecuentes en el hombre que consulta y pueden llegar a ser causa de esterilidad [2, 3]. En otros casos la infertilidad está ligada a infecciones crónicas, menos aparentes o prácticamente asintomáticas, en las que es fundamental el recuento leucocitario en semen. Finalmente, aunque estas muestras genitales pueden estar contaminadas con microbiota de la uretra, como estafilococos coagulasa negativa o estreptococos, y estas bacterias son normalmente consideradas como no patógenas (sólo un 10% de las muestras de hombres sanos están libres de estos microorganismos), se ha demostrado un efecto negativo de estas bacterias en la viabilidad del esperma [5]. Esto nos hace pensar en la participación de enterobacterias, enterococos, *Ureaplasma* spp., *Mycoplasma* spp. o *Staphylococcus saprophyticus*, en los casos en los que no se demuestra la presencia de patógenos estrictos, cómo se hace de forma clásica con *N. gonorrhoeae* o *C. trachomatis* [14]. En nuestro caso estos patógenos comprendieron más del 77% de todos los casos.

Las PCB es una entidad de importante morbilidad [21, 22]. Recientemente analizamos su presencia durante los años 2013 y 2014 [5]. En este trabajo, para los años 2016 y 2017, encontramos una frecuencia de aislamientos microbianos similar, aunque se incrementa los casos debidos a enterococos y *Ureaplasma*, a expensas de las enterobacterias. En cuanto a las proctitis, *C. trachomatis* es el principal agente causal con un 30,77% de los casos, destacando también ureplasmas y micoplasmas genitales que en conjunto representan un 38,46% de los casos, mientras que *N. gonorrhoeae* representó el 15,38% de los casos diagnosticados. *N. gonorrhoeae* y principalmente *C. trachomatis* y herpes simple han sido aso-

ciados con las proctitis de transmisión sexual [23, 24], sin embargo, con el desarrollo de las nuevas técnicas moleculares de diagnóstico los micoplasmas genitales empiezan a cobrar importancia y es necesario evaluar su implicación etiológica en el desarrollo de las proctitis, de forma similar a lo que ha ocurrido con las uretritis.

Otro de los aspectos destacados son las diferencias que se encuentran entre los microorganismos en función de la edad. Creemos que no son en su mayoría achacables a esta variable, sino, presumiblemente, a la diferente naturaleza de su proceso clínico (PCB en los ancianos e infecciones de transmisión sexual en los jóvenes).

En base a los resultados anteriores, y debido a que todas las muestras, salvo para la orina uretral, se les aplicó el mismo procedimiento de trabajo en el laboratorio por la inespecificidad clínica de los pacientes, recomendamos no evitar la siembra de las muestras en medios de cultivo, además de las PCRs. También, la variabilidad de la población estudiada y su procedencia, de los Departamentos de Urología, Urgencias y Enfermedades Infecciosas, refuerzan el valor del cultivo y los métodos moleculares, usados simultáneamente en estos escenarios. Finalmente, para su cultivo, desde el punto de vista de las muestras clínicas más rentables, el cultivo del exudado de glande fue el más rentable, seguido del uretral y recto, y por último el semen.

La principal limitación es que no incluimos el estudio de la infección por *T. pallidum* y virus del herpes simple, ya que, al proceder este estudio de pacientes de atención especializada, los datos podrían mostrar de manera errónea la prevalencia de los agentes que ocasionan lesiones ulcerativas infecciosas en nuestro medio ya que son atendidas, esencialmente, en Atención Primaria.

En conclusión, en nuestro estudio, *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis* siguen siendo los patógenos más frecuentes en la infección genital masculina, aunque los uropatógenos clásicos, como enterococos y enterobacterias, fundamentalmente *E. coli*, tienen un destacado papel, así como otros microorganismos cultivables como *Haemophilus* spp. Unido a todo ello, la introducción de técnicas basadas en la amplificación de ADN está poniendo de relieve la importancia de otros patógenos como *U. urealyticum* o *M. genitalium*, que podrían haber estado infradiagnosticados debido al uso exclusivo de algunas de las técnicas, por lo que, en atención especializada, tanto los métodos de cultivo convencional como los basados en técnicas moleculares son útiles y no excluyentes para el correcto diagnóstico de este tipo de infecciones.

FINANCIACIÓN

Los autores declaran que no han recibido financiación para la realización de este trabajo.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Fraczek M, Hryhorowicz M, Gill K, Zarzycka M, Gaczarzewicz D, Je-drzejczak P, et al. The effect of bacteriospermia and leukocytospermia on conventional and nonconventional semen parameters in healthy young normozoospermic males. *J Reprod Immunol.* 2016; 118:18-27. DOI: 10.1016/j.jri.2016.08.006.
2. Michel V, Duan Y, Stoscheck E, Bhushan S, Middendorff R, Young JM, et al. Uropathogenic *Escherichia coli* causes fibrotic remodeling of the epididymis. *J Pathol.* 2016; 240:15-24. DOI: 10.1002/path.4748.
3. Schuppe HC, Pilatz A, Hossain H, Diemer T, Wagenlehner F, Weidner W. Urogenitale infektionen als risiko für männliche infertilität. *Dtsch Arztbl Int.* 2017; 114; 339-46. DOI: 10.3238/arztebl.2017.0339.
4. Bradshaw CS, Tabrizi SN, Read TR, Garland SM, Hopkins CA, Moss LM, et al. Etiologies of nongonococcal urethritis: bacteria, viruses, and the association with orogenital exposure. *J Infect Dis.* 2006; 193:336-45. DOI: 10.1086/499434.
5. Heras-Cañas V, Gutiérrez-Soto B, Serrano-García ML, Vázquez-Alonso F, Navarro-Mari JM, Gutiérrez-Fernández J. Prostatitis crónica bacteriana. Estudio clínico y microbiológico de 332 casos. *Med Clin (Barc).* 2016; 147:144-7. DOI: 10.1016/j.medcli.2016.05.018.
6. Sorlózano-Puerto A, Esteban-Sánchez P, Heras-Cañas V, Fernández-Parral J, Navarro-Mari JM, Gutiérrez-Fernández J. Estudio prospectivo de la incidencia de patógenos genitales oportunistas y estrictos que crecen en medios de cultivo artificiales. *Rev Lab Clín.* 2018; 11:123-30. DOI: 10.1016/j.labcli.2017.11.009.
7. Borrego-Jiménez J, Foronda García-Hidalgo C, Navarro-Mari JM, Gutiérrez-Fernández J. *Mycoplasma genitalium*: Using a commercial molecular technique that facilitates rapid detection of mutations associated with resistance to macrolides. *Enferm Infect Microbiol Clin.* 2019 Apr 20. pii: S0213-005X(19)30153-3. doi: 10.1016/j.eimc.2019.03.005.
8. Seña AC, Lensing S, Rompalo A, Taylor SN, Martin DH, Lopez LM, et al. *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, and *Trichomonas vaginalis* infections in men with nongonococcal urethritis: predictors and persistence after therapy. *J Infect Dis.* 2012; 206:357-65. DOI: 10.1093/infdis/jis356.
9. Vigneswaran HT, Baird G, Hwang K, Renzulli J, Chan PA. Etiology of symptomatic urethritis in men and association with sexual behaviors. *R I Med J* (2013). 2016; 99:37-40. PMID: 27247972.
10. Ito S, Hanaoka N, Shimuta K, Seike K, Tsuchiya T, Yasuda M, et al. Male non-gonococcal urethritis: From microbiological etiologies to demographic and clinical features. *Int J Urol.* 2016; 23:325-31. DOI: 10.1111/iju.13044.
11. Horner P. Asymptomatic men: should they be tested for urethritis? *Sex Transm Infect.* 2007; 83:81-4. DOI: 10.1136/sti.2006.024414.
12. Wetmore CM, Manhart LE, Lowens MS, Golden MR, Whittington WL, Xet-Mull AM, et al. Demographic, behavioral, and clinical characteristics of men with nongonococcal urethritis differ by etiology: a case-comparison study. *Sex Transm Dis.* 2011; 38:180-6. DOI: 10.1097/OLQ.0b013e3182040de9.
13. Gil-Campesino H, Pino-Calm B, Ferré Moragues L, Rivero Falero M, Alcoba-Flórez J. Premature delivery and colonization associated with . *Rev Esp Quimioter.* 2018; 31:66-7. PMID: 29372635.
14. Ito S, Hatazaki K, Shimuta K, Kondo H, Mizutani K, Yasuda M, et al. *Haemophilus influenzae* isolated from men with acute urethritis: its pathogenic roles, responses to antimicrobial chemotherapies, and antimicrobial susceptibilities. *Sex Transm Dis.* 2017; 44:205-10. DOI: 10.1097/OLQ.00000000000000573.
15. Edouard S, Tissot-Dupont H, Dubourg G, Bernard A, Fournier PE, Ravaux I, et al. *Mycoplasma genitalium*, an agent of reemerging sexually transmitted infections. *APMIS.* 2017; 125:916-20. DOI: 10.1111/apm.12731.
16. Asenjo A, Kusters JG, Severs TT, Alós JI. *Mycoplasma genitalium* in Spain: prevalence of genital infection and frequency of resistance to macrolides. *Enferm Infect Microbiol Clin.* 2018; 36:169-71. DOI: 10.1016/j.eimc.2017.01.006.
17. Birger R, Saunders J, Estcourt C, Sutton AJ, Mercer CH, Roberts T, et al. Should we screen for the sexually-transmitted infection *Mycoplasma genitalium*? Evidence synthesis using a transmission-dynamic model. *Sci Rep.* 2017; 7:16162. DOI: 10.1038/s41598-017-16302-8.
18. Deguchi T. Proposed treatment strategies for non-gonococcal urethritis. *Lancet Infect Dis.* 2017; 17:1121-2. DOI: 10.1016/S1473-3099(17)30571-6.
19. Maeda S, Deguchi T, Ishiko H, Matsumoto T, Naito S, Kumon H, et al. Detection of *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum* (biovar 1) and *Ureaplasma urealyticum* (biovar 2) in patients with non-gonococcal urethritis using polymerase chain reaction-microtiter plate hybridization. *Int J Urol.* 2004; 11:750-4. DOI: 10.1111/j.1442-2042.2004.00887.x.
20. Maeda S, Tamaki M, Kubota Y, Nguyen PB, Yasuda M, Deguchi T. Treatment of men with urethritis negative for *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum* and *Ureaplasma urealyticum*. *Int J Urol.* 2007; 14:422-5. DOI: 10.1111/j.1442-2042.2007.01750.x.
21. Jiménez-Cruz JF, Broseta-Rico E. Clasificación, etiología, diagnóstico y tratamiento de las prostatitis. Otros tipos de prostatitis. *Enferm Infect Microbiol Clin.* 2005; 23 (Supl. 4):47-56. PMID: 16854358.
22. Vela-Navarrete R, González-Enguita C, García-Cardoso JV, Manzabeitia G, Soriano-García F. Prostatitis crónica: una revisión crítica de su actual definición nosológica, clasificación y potencial carcinogénesis. *Arch Esp Urol.* 2007; 60: 617-23. PMID: 17847734.
23. Caballero-Mateos AM, López de Hierro-Ruiz M, Rodríguez-Domínguez M, Galán-Montemayor JC, Gutiérrez-Fernández J. Co-infection by lymphogranuloma venereum and *Haemophilus parainfluenzae* during an episode of proctitis. *Gastroenterol Hepatol.* 2018;41(2):107-109. doi: 10.1016/j.gastrohep.2016.12.007..
24. Sigle GW, Kim R. Sexually transmitted proctitis. *Clin Colon Rectal Surg.* 2015; 28:70-8. doi: 10.1055/s-0035-1547334.



Clinical-pathological conference

Jose Tiago Silva¹
Carlos Mejia-Chew²
Andrej Spec²
José María Aguado¹
Francisco López-Medrano¹

And then there were none

¹Unit of Infectious Diseases, Hospital Universitario "12 de Octubre", Instituto de Investigación Hospital "12 de Octubre" (imas12), School of Medicine, Universidad Complutense. Madrid, Spain.

²Department of Infectious Diseases, Washington University in St Louis School of Medicine, St. Louis, MO, USA

Article history

Received: 16 October 2019; Revision Requested: 23 October 2019; Revision Received: 13 November 2019; Accepted: 14 November 2019

PRESENTATION OF THE CASE AND DIFFERENTIAL DIAGNOSIS

Dr. JT Silva; Dr. F López-Medrano; Dr. JM Aguado

A 75-year-old woman presented to hospital referring recurrent episodes of dyspnea accompanied by wheezing and a productive cough for the past six months. She also mentioned a weight loss of 3 kg. She reported no chills, headache, joint pains, muscle aches, heartburn, nausea or vomiting. On examination, the patient appeared to be well. Axillary temperature was 37.5°C and the respiratory rate 20 breaths per minute. She had scattered low-pitched wheezes in both lungs and fine crackles in the right posterior base. The remainder of the examination was unremarkable.

Dr. C Mejía-Chew; Dr. A Spec

Symptoms of chronic cough and wheezing initially bring to mind a diagnosis of asthma. However, to present with asthma at this age would be uncommon, and the presence of persistent low-grade fevers begs the consideration for an ongoing inflammatory or infectious process. The clinical presentation, along with her age and gender fit the epidemiology of eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (formally known as Churg-Strauss syndrome).

When evaluating chronic infections, it's important to determine whether the patient is immunocompromised or has underlying comorbidities such as COPD and bronchiectasis that change the lung structure and allow pathogens to gain a foot-

hold. Certain predisposing conditions favor particular pathogens that characteristically affect specific populations (e.g. *Nocardia* spp. in patients on high doses of steroids). Chronic infections that present with respiratory symptoms include mycobacterial (Tuberculosis and non-tuberculous mycobacteria -NTM), fungal and parasitic infections in the immunocompetent, with the addition of viral (e.g. adenovirus) causes in the immunosuppressed hosts.

A common infection-trigger of recurrent wheezing is allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA). *Aspergillus* skin test and antibodies, plus elevated IgE levels would aid in the diagnosis. Given the long course of presentation, pneumonia due to *Cryptococcus* spp. is a possibility, which triggers reactive wheezing and external airway compression. If the patient has travelled abroad, there could be concerns for endemic mycoses, which rarely cause wheezing. Parasitic infections can cause Loffler syndrome (a respiratory illness with blood eosinophilia and diffuse pulmonary infiltrates commonly associated with parasitic infections). The patient would have had to travel to the Americas, Caribbean or other endemic areas.

Drug induced pneumonitis or chronic eosinophilic pneumonia should also be considered. A partial tracheal obstruction or disseminated lymphangitic carcinomatosis could also explain bilateral wheezing. Space occupying and constricting processes in the mediastinum, such as bulky lymphadenopathy, mediastinal granuloma, lymphoma, fibrosing mediastinitis or even a teratoma, can cause wheezing through external compression. However, the patient's age makes this possibility significantly less likely. A thorough history focusing on exposures and risk factors is essential.

Dr. JT Silva; Dr. F López-Medrano; Dr. JM Aguado

The patient's medical history included severe persistent asthma diagnosed fourteen years earlier, for which she received salmeterol xinafoate/fluticasone propionate, tiotropium bromide and theophylline and was closely fol-

Correspondence:
Francisco López Medrano, MD, PhD.
Unit of Infectious Diseases. Hospital Universitario "12 de Octubre". Centro de Actividades Ambulatorias, 2^a planta, bloque D. Avda. de Córdoba, s/n. Postal Code 28041. Madrid, Spain.
Phone: +34 913908000
Fax: +34 914695775.
E-mail: flmedrano@yahoo.es

lowed by a pulmonologist. Her medications also included esomeprazole, calcium/vitamin D3 (1 g/880 IU daily) and denosumab (every six months) for osteoporosis. The patient lived in an urban area, had no animals nor travelled abroad in the previous years. She had been admitted to another hospital in the previous month and diagnosed with community-acquired pneumonia (CAP). She had been initially treated with amoxicillin-clavulanic acid, but due to poor clinical response she completed two weeks of levofloxacin. Nevertheless, after stopping levofloxacin her respiratory symptoms persisted.

Dr. C Mejía-Chew; Dr. A Spec

Coexistence of asthma and gastroesophageal reflux disease (GERD) is very common in older patients. GERD can cause asthma-like symptoms and asthma can exacerbate GERD by increasing intrathoracic pressure. Although this patient has long-standing severe asthma, her worsening symptoms in last 6 months with low-grade fevers is not consistent with asthma's natural history.

Based on her past medical history and her medications, this patient has no apparent underlying immunosuppression, which makes nocardiosis or pulmonary *Cryptococcus spp.* infection unlikely. Denosumab, a receptor activator for nuclear factor kappa-B ligand (RANKL) inhibitor used for the treatment of osteoporosis, has been associated with increased risk of cystitis and skin infections, but no clear pattern in the type of infections has been recognized. Without the appropriate epidemiological exposure, endemic mycosis and parasites causing Löffler syndrome can be dismissed.

The recent diagnosis of pneumonia with a non-resolving course, despite adequate treatment for the most common and atypical bacterial causes of CAP, further supports an ongoing chronic infection, such as NTMs and ABPA or non-infectious

causes like eosinophilic granulomatosis with polyangiitis or malignancy. If the symptoms improved with levofloxacin but not with amoxicillin/clavulanic acid, this would be suggestive of NTM disease, as it could have been partially treated. As initial work-up, a complete blood count assessing the presence of eosinophilia and a chest x-ray would help guide our next best step.

Dr. JT Silva; Dr. F López-Medrano; Dr. JM Aguado

The white-cell count was 11,900 per cubic millimeter, with 77.1 percent granulocytes, 18.7 percent lymphocytes, 6.4 percent monocytes, and 2.8 percent eosinophils. Other laboratory values were as follows: hemoglobin, 14.7 g per deciliter; mean corpuscular volume, 91.2 fl; 290,000 platelets per cubic millimeter; serum creatinine, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, γ -glutamyl transferase, alkaline phosphatase and bilirubin were within normal range. Serum C-reactive protein was 7.43 mg/dL (normal < 0.5 mg/dL) and the erythrocyte sedimentation rate (ESR) was elevated (48 mm per hour). A chest x-ray was performed (figure 1). An echocardiogram recently performed was informed as normal.

Dr. C Mejía-Chew; Dr. A Spec

Although asthma is the cardinal manifestation of eosinophilic granulomatosis with polyangiitis and it can precede the rest of the vasculitic features by up to ten years, an eosinophil percentage at least above 10% is the most characteristic finding. Vasculitis or disseminated malignancy are often associated with very high inflammatory markers, with the ESR commonly above 100 mm/h, making these two entities unlikely in this cause. A negative antineutrophil cytoplasmic antibody (ANCA) would robustly exclude the former. Peripheral eosinophilia is also typically seen in ABPA, with total IgE levels usually over



Figure 1 Thoracic radiography showing signs of pulmonary hyperinflation and a hiatal hernia.

1000 UI/ml and detectable specific IgE against *Aspergillus fumigatus*.

The chest radiograph findings are also compatible with histoplasmosis. Nonetheless, almost all cases of histoplasmosis have been in immigrants or returning travellers from an endemic regions, which was not the case of this patient. Lymphangitic carcinomatosis, secondary to a bronchogenic adenocarcinoma and pulmonary NTM infection should also be considered, given the presence of a pulmonary nodule with diffuse, bilateral reticulonodular pattern.

Sputum samples should be sent for microbiological cultures, with specific stains to identify acid-fast bacilli and fungal organisms.

Dr. JT Silva; Dr. F López-Medrano; Dr. JM Aguado

Four different sputum cultures were positive for *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* and *Aspergillus lentulus*. Three different sputum cultures were also positive for *Mycobacterium intracellulare*. *Stenotrophomonas maltophilia* and *Neisseria meningitidis* were also isolated in a different sputum culture sample.

Dr. C Mejía-Chew; Dr. A Spec

The finding of multiple sputum cultures positive for bacteria, mycobacteria and fungi at the same time might seem odd at first. However, all of these pathogens are catalase-positive organisms and are frequently isolated from patients with bronchiectasis. The catalase enzyme converts hydrogen peroxide to water and oxygen, thus protecting microorganisms from oxidative damage from reactive oxygen species (ROS). The NADPH oxidase complex, a cluster of cytosolic and mem-

brane-bound proteins that donate an electron from NADPH to oxygen to produce superoxide, present in neutrophils and monocytes/macrophages, produce enough ROS to effectively kill microorganism that have been phagocytosed.

Chronic granulomatous disease (CGD) is a rare, primary immunodeficiency, usually x-linked (or rarely autosomal recessive), characterized by phagocytes with defective killing of the ingested microorganisms because of a deficient production of ROS by mutations in any of the five structural subunits that conform the NADPH oxidase complex. Impaired clearance of bacterial and fungal pathogens leads to recurrent infections and granulomatous inflammation, commonly involving the lungs. In addition to recurrent infections, there is ongoing dysregulated inflammation that leads to autoimmune disorders generally involving the gastrointestinal tract and the lungs.

Although, CGD can first manifest in adulthood, it would be uncommon to debut at this age especially not having a prior history of recurrent infections. Nonetheless, she could be an X-linked carrier with a dual phagocyte population due to lysozyme or have a mild form of the autosomal recessive mutation and measuring NADPH oxidase activity would exclude the diagnosis.

S. maltophilia infection, a common cause of hospital-acquired pneumonia should be addressed and treated with trimethoprim-sulfamethoxazole. *N. meningitidis* rarely causes pneumonia and can be a normal colonizer of the oropharyngeal flora in around 10% of the population; treatment with ceftriaxone is justified to avoid a potentially fulminant course if left untreated. The radiological findings of pulmonary NTM infections can be protean. A chest computed tomography (CT) would be more sensitive to identify typical findings such as central bronchiectasis, tree-in-bud opacities, ground-glass opacities and scattered nodules; which in an elderly female

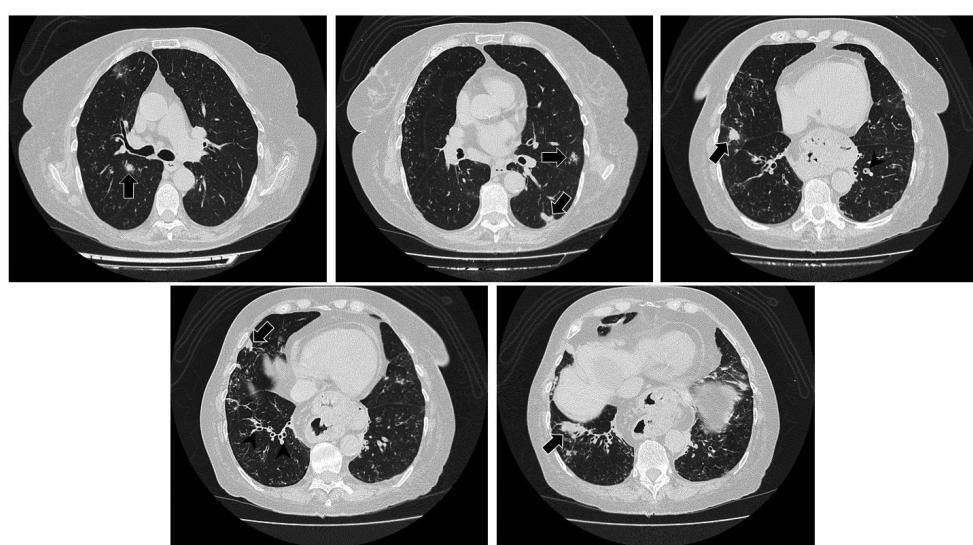


Figure 2

Chest computed tomography with diffuse bronchial wall thickening (arrowhead) and signs of airways disease accompanied by scattered nodular pulmonary infiltrates (arrow).

patient is classically referred to as Lady Windermere syndrome (named after Oscar Wilde's Victorian-era play Lady Windermere's Fan, embodying the idea that expectorating is socially unacceptable in females). Tuberculosis should be ruled out whenever you think of NTM infections.

Dr. JT Silva; Dr. F López-Medrano; Dr. JM Aguado

Levofloxacin (500 mg daily for 10 days) was prescribed for *S. maltophilia*. A chest CT scan was performed (figure 2). Human immunodeficiency virus (HIV)-antibody test was negative. NADPH oxidase activity was normal in both monocytes (73%) and granulocytes (100%). Lymphocyte subsets, immunoglobulin levels and complement activity were informed as normal. Total serum immunoglobulin E (IgE) and *A. fumigatus*-specific IgE antibodies levels were normal (11.70 KU/l [≤ 120.00] and 0.10 KUA/l [< 0.35], respectively). Serum galactomannan antigen was negative. The *Mycobacterium intracellulare* susceptibility test results were received. It resulted susceptible to clarithromycin and resistant to rifampicin, ethambutol, isoniazide, linezolid, pyrazinamide, and streptomycin.

Dr. C Mejía-Chew; Dr. A Spec

Normal immunoglobulin levels and complement activity make common variable immunodeficiency disease or complement deficiencies unlikely. CGD, HIV and ABPA have also been ruled out. As shown in this case, patients presenting with chronic, pauci-symptomatic infections should always have more specialized imaging performed. The CT findings seen with bronchiectasis and diffuse tree-in-bud opacities are

characteristic of pulmonary *M. intracellulare*. However, there are also two nodules with surrounding ground-glass opacity (halo sign), an early sign aspergillus's infection, that a normal galactomannan antigen level would not rule out. Due to the possibility of pulmonary *Aspergillus* infection, treatment with voriconazole should be started.

It is challenging to discern the relative contribution of each pathogen isolated towards the patients' symptoms. A first step would be to determine the patient's response to levofloxacin. Although this patient presumptively meets microbiological ATS/IDSA diagnostic criteria for pulmonary *M. intracellulare* infection, it rarely requires urgent treatment. Due to the voriconazole-rifampicin interaction and the presence of another concomitant infection, postponing its treatment for now, seems reasonable.

Dr. JT Silva; Dr. F López-Medrano; Dr. JM Aguado

The patient did not fulfill the Infectious Diseases Society of America (IDSA) criteria for lung disease by nontuberculous mycobacteria at this point because other diagnosis could not be ruled out (*Aspergillus* could not be dismissed as responsible for the lung nodules). Simultaneous treatment with voriconazole and rifampicin was considered to be contraindicated. It was reasoned that antifungal treatment would be shorter than nontuberculous mycobacterial treatment. Thus, voriconazole was started. Influenza vaccine and pneumococcal conjugate and polysaccharide vaccines were recommended. After six weeks of treatment, voriconazole was stopped. The patient had regained 1 kg weight, but still maintained a mild persistent non-productive cough. A new chest CT

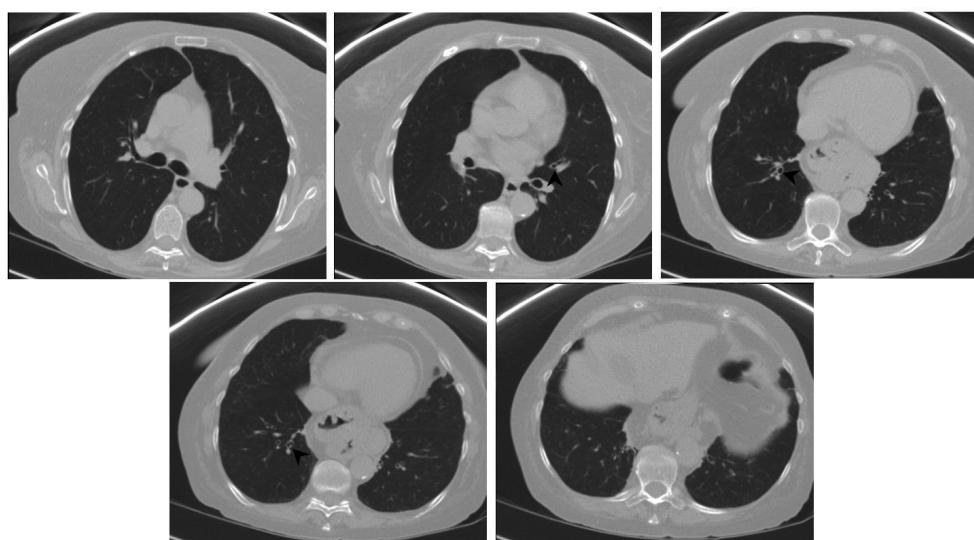


Figure 3

Chest computed tomography at the end of treatment for *Aspergillus* spp, showing radiological resolution of the pulmonary parenchymal infiltrates but persistent features of airways disease and bronchial wall thickening (arrowhead).

showed radiological resolution of the parenchymal infiltrates consistent with improvement of the signs of the inflammatory airway disease (figure 3).

Dr. C Mejía-Chew; Dr. A Spec

First, we must reiterate that *M. intracellulare* infection is seldom a condition that merits urgent therapy and other potential diseases must be ruled out and treated beforehand. Prior radiological and microbiological findings, along with response to treatment with voriconazole is consistent with pulmonary aspergillosis.

Dr. JT Silva; Dr. F López-Medrano; Dr. JM Aguado

Due to the clinical and radiological improvement, it was decided to postpone the *M. intracellulare* treatment. Nevertheless, two months later, the patient attended the outpatient clinic complaining of asthenia, persistent productive cough and moderate dyspnea, which had progressively worsened in the previous weeks. *M. intracellulare* was again isolated in sputum cultures. The culture of sputum for fungi was negative. A new chest x-ray was reported to be normal.

Dr. C Mejía-Chew; Dr. A Spec

This patient fulfills ATS/IDSA diagnostic criteria of pulmonary *M. intracellulare* infection, with ongoing characteristic clinical manifestations, persistent microbiological isolation and compatible radiological signs. Chest x-ray often misses the typical radiological pattern associated with Lady Windermere syndrome; thus, a chest CT is warranted to both confirm its presence and serve as baseline test for future monitoring.

Treatment with a macrolide, rifampin and ethambutol should be started. Macrolides are the backbone of therapy, with ethambutol and rifampin used to avoid development of resistance against them. Only macrolides have shown correlation between *in vitro* susceptibility and clinical response, thus *in vitro* minimum inhibitory concentrations of the other drugs reported as resistant, should not be excluded from the drug regimen. In the absence of cavitary lesions thrice-weekly dosing could be offered, as it is usually better tolerated. Pulmonary function test (PFTs) should also be performed to objectively evaluate the impact of the disease over the patient's lung capacity.

A prolonged course of therapy (i.e. 12-18 months) with repeat sputum cultures to document microbiological clearance, chest imaging to evaluate resolution of parenchymal involvement and PFTs are usually required. Drug toxicity monitoring and dose adjustment based on clinical parameters, tolerance and pharmacological interactions should be done throughout the treatment course. Joint care by a pulmonary and an infectious disease physician offers the best chance of clinical improvement and cure. Given the unmodifiable, underlying anatomical predisposing factor (i.e. bronchiectasis), clinical symptoms and repeat

imaging commonly waxes and wanes over the course of treatment, with often complex clinical decision.

Dr. JT Silva; Dr. F López-Medrano; Dr. JM Aguado

It was considered that the role of *M. intracellulare* was more prominent than previously thought and treatment for this infection was started. According to IDSA recommendations, daily treatment with clarithromycin (500 mg), rifampicin (600 mg daily) and ethambutol (1,200 mg) was started, in spite of reported resistance to rifampicin and ethambutol. Treatment was well tolerated and no side effects were reported. The patient had an important improvement in her general fitness, and the cough completely resolved. She was able to resume social activities and after twelve months the treatment was stopped. Six months after stopping the treatment, the patient remains asymptomatic and is periodically being followed as an outpatient.

DISCUSSION

This previously active old woman presented with both subacute pulmonary and systemic symptoms. The simultaneous isolation in sputum of different bacteria, mycobacteria and moulds was initially perplexing.

S. maltophila and *N. meningitidis* were considered as easy to treat *innocent bystanders*. Nevertheless, superinfection by conventional bacteria was described in both fungal and mycobacterium lung diseases [1,2].

The most challenging finding was the presence of bilateral pulmonary nodular opacities that could be attributed to both *Aspergillus* and *M. intracellulare* infection. The clinical presentation of *Aspergillus* lung disease oscillates from ABPA to invasive pulmonary aspergillosis (IPA), and includes intermediate forms such as chronic pulmonary aspergillosis (CPA) and subacute IPA. Isolation of *Aspergillus* in respiratory samples is part of their diagnostic criteria [3-5].

Despite her previous diagnosis of asthma, the patient did not fulfill criteria for ABPA since neither total nor *A. fumigatus*-specific IgE antibodies levels were elevated [6]. Moreover, the absolute number of eosinophils was in the normal range. She did not present any of the risk factors associated to IPA like neutropenia or dysfunction of cellular immunity [5,7] and none of the typical radiological lung lesions associated to IPA were identified [5].

Recently, an uncommon but potentially severe form of fungal infection called CPA was described [1]. CPA complicates many respiratory disorders in non-immunosuppressed patients. Diagnosis depends on the isolation of the mould in respiratory samples, a CT lung scan with one or more nodules of different sizes and irregular borders that may be cavitated, response to treatment and/or histological confirmation. The differential diagnosis is broad and includes tuberculomas, lung carcinoma, coccidioidomycosis, histoplasmosis, blastomycosis, actinomycosis or rheumatoid nodules [1].

NTM lung infection is an underlying condition associated to CPA [8,9]. In a study which included 566 patients with a previous diagnosis of NTM lung disease, CPA was detected during follow-up in 7.2% of subjects. Coinfection by both microorganisms presented a significative increase in mortality (19.5% vs. 1.7%; $p < 0.001$) [8].

Diagnosis of NTM lung disease can be established in a patient with NTM isolation in at least two different respiratory samples and the presence of compatible lung radiological lesions (multifocal bronchiectasis and multiple small nodules) [2]. Our patient fulfilled all criteria except one, which is exclusion of other diagnoses. Strikingly, our case was notable for the presence of many of the features associated to Lady Windermere syndrome: she was a tall, lean, non-smoker, old woman with hyperkyphosis presenting with chronic cough [10,11].

The decision to initially treat the fungal infection was based on two factors: first, the hindrance to simultaneously prescribe an azole and a rifamycin; second, treatment of NTM infection would require a much longer period of time (delaying the treatment of the *Aspergillus* for many months).

The diagnosis of a nodular type of CPA was finally confirmed by the remarkable disappearance of the nodules under antifungal treatment, albeit treatment was shorter than usually recommended.

Treatment of NTM infection was deferred due to the marked clinical improvement under voriconazole. Treatment was later started when her respiratory symptoms recurred. She presented a striking sustained improvement afterwards.

The prominent hiatal hernia observed in the chest CT deserves a comment as it may have played a cornerstone role. Hiatal hernia is a well-known risk factor for GERD [12]. GERD has been associated to recurrent episodes of microaspiration that have been linked to lung inflammation leading to asthma, bronchitis and pneumonia. GERD was found in 44.2% of patients with NTM lung disease vs. 27.6% of controls ($p=0.02$) [13]. A registry of 1,826 patients with non-cystic-fibrosis bronchiectasis observed that GERD was significantly more frequent in those with NTM lung disease than in those with bronchiectasis related to other entities (51% vs. 40%, $p<0.01$) [14].

Possibly, the chain of events is as follows: hiatal hernia, GERD, NTM lung disease, chronic nodular aspergillosis and common bacterial superinfection.

Even though *Aspergillus* is a ubiquitous fungus in nature, its isolation should not be underestimated in respiratory samples of non-immunocompromised patients with a previous diagnosis of a chronic pulmonary disease (including NTM lung infection). Patients with simultaneous isolation of potentially life-threatening microorganisms deserve a step by step approach to make decisions based on the clinical and radiological features in conjunction with the potential side effects of the drugs available for treatment.

CLINICAL TEACHING POINTS

1.- Tall and lean old woman with hyperkyphosis presenting with chronic cough and repetitive isolation of non-tuberculous mycobacteria in sputum samples should be considered for Lady Windermere syndrome

2.- Isolation of *Aspergillus* in respiratory samples should not be underestimated in apparently non-immunocompromised patients presenting with chronic lung diseases

3.- Hiatal hernia and gastroesophageal reflux disease should be considered as predisposing factors for the developing of asthma and other types of chronic lung diseases

4.- Physicians should cautiously design treatment regimens of infections that require the administration of drugs that should not be used simultaneously, as voriconazole and rifampicin

5.- A stepwise approach should be considered when the superimposable clinical and radiological manifestations can be produced by different microorganisms isolated in a single sample, as was a mycobacterium and a filamentous fungus in this patient

FINAL DIAGNOSIS

Pulmonary infection by *Mycobacterium intracellulare* (Lady Windermere syndrome) with invasive pulmonary aspergillosis as a superinfection.

FUNDING

None to declare.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that they have no conflicts of interest

REFERENCES

- Denning DW, Cadanel J, Beigelman-Aubry C, Ader F, Chakrabarti A, Blot S et al. Chronic pulmonary aspergillosis: rationale and clinical guidelines for diagnosis and management. Eur Respir J. 2016; 47:45-68. PMID: 26699723.
- Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, Catanzaro A, Daley C, Gorin F et al. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. Am J Respir Crit Care Med. 2007; 175:367-416. PMID: 17277290.
- Segal BH. Aspergillosis. N Engl J Med. 2009; 360:1870-84. PMID: 19403905.
- Kradin RL, Mark EJ. The pathology of pulmonary disorders due to *Aspergillus* spp. Arch Pathol Lab Med. 2008; 132:606-14. PMID: 18384212.
- Patterson KC, Strek ME. Diagnosis and treatment of pulmonary aspergillosis syndromes. Chest. 2014; 146:1358-68. PMID: 25367472.

6. Agarwal R, Chakrabarti A, Shah A, Gupta D, Meis JF, Guleria R et al. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: review of literature and proposal of new diagnostic and classification criteria. *Clin Exp Allergy*. 2013; 43:850-73. PMID: 23889240.
7. Lopez-Medrano F, Silva JT, Fernandez-Ruiz M, Carver PL, van Delden C, Merino E et al. Risk Factors Associated With Early Invasive Pulmonary Aspergillosis in Kidney Transplant Recipients: Results From a Multinational Matched Case-Control Study. *Am J Transplant*. 2016; 16:2148-57. PMID: 26813515.
8. Jhun BW, Jung WJ, Hwang NY, Park HY, Jeon K, Kang ES et al. Risk factors for the development of chronic pulmonary aspergillosis in patients with nontuberculous mycobacterial lung disease. *PLoS One*. 2017; 12:e0188716. PMID: 29190796.
9. Furuuchi K, Ito A, Hashimoto T, Kumagai S, Ishida T. Risk stratification for the development of chronic pulmonary aspergillosis in patients with *Mycobacterium avium* complex lung disease. *J Infect Chemother*. 2018; 24:654-9. PMID: 29705392.
10. Reich JM, Johnson RE. *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease presenting as an isolated lingular or middle lobe pattern. The Lady Windermere syndrome. *Chest*. 1992; 101:1605-9. PMID: 1600780.
11. Glassroth J. Pulmonary disease due to nontuberculous mycobacteria. *Chest*. 2008; 133:243-51. PMID: 18187749.
12. Kahrilas PJ. Clinical practice. Gastroesophageal reflux disease. *N Engl J Med*. 2008; 359:1700-7. PMID: 18923172.
13. Thomson RM, Armstrong JG, Looke DF. Gastroesophageal reflux disease, acid suppression, and *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease. *Chest*. 2007; 131:1166-72. PMID: 17426224.
14. Aksamit TR, O'Donnell AE, Barker A, Olivier KN, Winthrop KL, Daniels MLA et al. Adult Patients With Bronchiectasis: A First Look at the US Bronchiectasis Research Registry. *Chest*. 2017; 151:982-92. PMID: 27889361.



Carta al Director

Daniel Pablo-Marcos¹
María Siller-Ruiz¹
Marta Fernández-Ayala²
Jesús Agüero¹
Jorge Calvo¹

Primer caso descrito en España de infección por *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica*

¹Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (Santander).

²Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (Santander).

Article history

Received: 29 April 2019; Revision Requested: 4 June 2019; Revision Received: 28 June 2019; Accepted: 3 September 2019

Sr. Editor: *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica*, pertenece a la familia de las Gammaproteobacterias, es un bacilo gram-negativo corto no esporulado catalasa y oxidasa positivos, no fermentador de glucosa [1]. Su nombre hace referencia al vector donde habita, la mosca *Wohlfahrtia magnifica*, importante causa de miasis [2]. La mosca hembra *Wohlfahrtia magnifica* deposita los huevos con la bacteria en lesiones de piel del hospedador [3]. Los principales factores de riesgo para la infección por *W. chitiniclastica* son la escasa higiene personal, heridas abiertas, enfermedad vascular periférica y alcoholismo [4]. Existen 16 casos descritos en países de todo el mundo de infección en humanos por *W. chitiniclastica*, considerándose como un patógeno zoonótico implicado principalmente en bacteriemias e infecciones de heridas crónicas, aunque no tenemos constancia de que haya sido descrito en España antes [4-7]. La distribución de esta mosca en nuestro país abarca toda la Península Ibérica a excepción de la zona Cantábrica [8]. Sin embargo, *W. chitiniclastica* ha sido aislada también de otras moscas como *Musca domestica*, globalmente distribuida [6].

Mujer de 66 años que acude a Urgencias por una herida inciso-contusa en la zona pretibial izquierda provocada por un traumatismo con un hierro oxidado varios días antes. En la exploración física se observó una úlcera eritematosa y maloliente de 4 cm de diámetro, con tejido necrótico en su interior y exudado purulento. La paciente no refirió presencia de larvas o gusanos en la lesión. En la analítica destacaba una proteína C reactiva de 5.5 mg/dL con un recuento leucocitario normal. Se recogieron tres muestras (dos hisopados de la úlcera y un aspirado profundo del absceso) que se sembraron en Agar CNA, MacConkey y Chocolate (Oxoid U.S.A., Inc., Columbia, Md) y se

incubaron a 37°C en CO₂. El absceso también se sembró en Agar Schaedler, Agar Schaedler-KV (Oxoid U.S.A., Inc., Columbia, Md) y caldo de Tioglicolato. En la tinción de Gram de las muestras, se observaron numerosos bacilos gramnegativos, cocos gram-positivos en cadena, escasas células polimorfonucleares y ausencia de células epiteliales. En el cultivo se aislaron tres tipos de colonias distintas que se identificaron como *W. chitiniclastica*, *Streptococcus uberis* (en las tres muestras) y *Bacteroides pyogenes* (solo en el aspirado del absceso). *W. chitiniclastica* únicamente creció en Agar Chocolate tras 24 horas de incubación como colonias pequeñas de aspecto cremoso (figura 1A). Las colonias crecidas se observaron al microscopio en forma de bacilos gramnegativos débilmente teñidos (figura 1B). Se realizó la técnica MALDI-TOF Vitek MS (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) pero el espectro obtenido no se encontró en la base de datos del software (Vitek MS 3.0). Se identificó mediante sistema Vitek 2 (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France), como *Acinetobacter lwoffii* y *Neisseria animaloris/zoodegmatis* (discriminación débil, 50% de fiabilidad). La secuenciación del gen ARNr 16S identificó la bacteria como *W. chitiniclastica* con un 99% de homología (número de acceso NR_042554.1 en Genbank). La secuencia del ARNr 16S del aislado de *W. chitiniclastica* se depositó en GenBank con el número de acceso MN044866. *W. chitiniclastica* fue sensible a todos los antimicrobianos testados con tiras de gradiente (Etest, BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) e interpretados según criterios PK/PD de EUCAST [9]. Los valores de CMI (mg/L) que se obtuvieron quedan reflejados en la tabla 1. Se ha descrito resistencia intrínseca de *W. chitiniclastica* a fosfomicina [10], hecho que se corrobora en nuestro aislado. Se realizó desbridamiento quirúrgico de la herida y se inició tratamiento antibiótico empírico con piperacilina/tazobactam. La evolución fue satisfactoria y tras 10 días fue dada de alta.

El papel de *Wohlfahrtiimonas* como causante del caso aquí descrito es muy probable porque se aisló en el cultivo de todas las muestras. La mayor parte de los casos de infección por *W. chitiniclastica* se describen en la literatura como par-

Correspondencia:

Daniel Pablo-Marcos
Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (Santander).
Tfn.: 628933894
E-mail: danii_zgz@hotmail.es

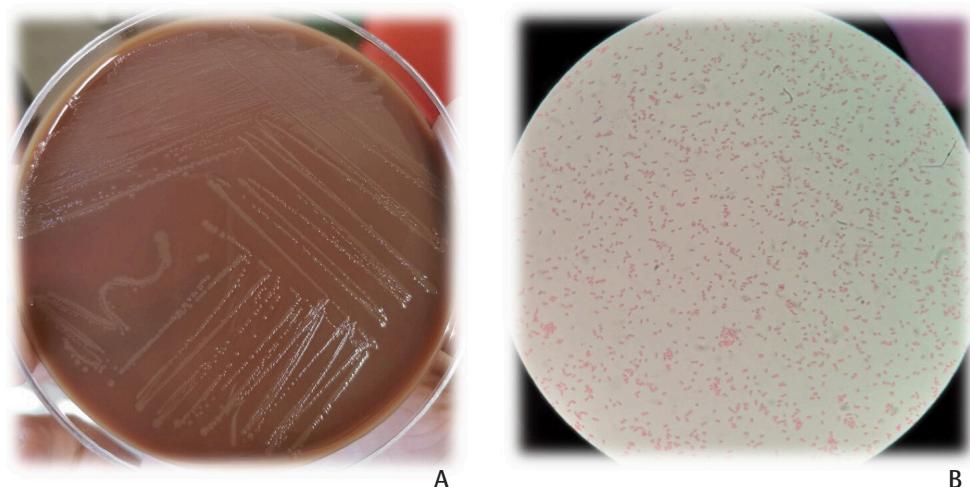


Figura 1

(A) Crecimiento de *W. chitiniclastica* en Agar Chocolate tras 24 horas de incubación en atmósfera de CO₂. Colonias pequeñas de color marrón y aspecto cremoso. (B) Gram de la colonia de *W. chitiniclastica*

Tabla 1	Concentración mínima inhibitoria (CMI) de distintos antibióticos para aislado de <i>Wohlfahrtiimonas chitiniclastica</i> e interpretación por CLSI y EUCAST.	
Antimicrobiano	CMI (mg/L)	Interpretación
Piperacilina/Tazobactam	0.5	S
Ceftazidima	0.064	S
Cefepima	<=1	S
Aztreonam	<=1	S
Imipenem	0.125	S
Meropenem	<0.01	S
Amikacina	2	S
Gentamicina	<=1	S
Tobramicina	0.5	S
Levofloxacino	0.032	S
Ciprofloxacino	0.01	S
Minociclina	0.5	S
Colistina	0.5	S
Trimetroprim/Sulfametoxazol	0.125	S
Fosfomicina	128	R

S = sensible; R = resistente

te de una infección polimicrobiana [6, 7]. *W. chitiniclastica* es un patógeno emergente asociado con moscas y que debería incluirse como diagnóstico diferencial en pacientes con miasis e infecciones de heridas crónicas, especialmente en casos asociados con la falta de higiene [6, 7]. Solo a través de la secuenciación del gen ARNr 16S conseguimos una identificación fiable. Debido a esta dificultad, probablemente su papel como patógeno humano esté infravalorado [7].

FINANCIACIÓN

Los autores declaran que no han recibido financiación para la realización de este trabajo.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Tóth EM, Schumann P, Borsodi AK, Kéki Z, Kovács AL, Márialigeti K. *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica* gen. nov., sp. nov., a new Gammaproteobacterium isolated from *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae). Int J Syst Evol Microbiol. 2008; 58: 976-981. DOI: 10.1099/ijss.0.65324-0
2. Almuzara MN, Palombarini S, Tuduri A, Figueroa S, Gianecini A, Sabater L et al. First case of fulminant sepsis due to *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica*. J Clin Microbiol. 2011; 49 (6): 2333-2335. DOI: 10.1128/JCM.00001-11
4. Schrottner P, Rudolph WW, Damme U, Lotz C, Jacobs E, Gunzer F. *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica*: current insights into an emerging human pathogen. Epidemiol Infect. 2017; 145: 1292-1303. DOI: 10.1017/S0950268816003411
5. Chavez JA, Alexander AJ, Balada-Llasat JM, Pancholi P. A case of *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica* bacteremia in continental United States. JMM Case Rep. 2017; 4: 1-3. DOI: 10.1099/jmmcr.0.005134
6. Katanami Y, Kutsuna S, Nagashima M, Takaya S, Yamamoto K, Takeshita N et al. *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica*. Bacteremia in hospitalized homeless man with squamous cell carcinoma. Emerg Infect Dis. 2018; 24 (9): 1746-1747. DOI: 10.3201/eid2409.170080
7. Fenwick AJ, Arora V, Ribes A. *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica*: Two

- clinical cases and a review of the literature. Clinical Micro News 2019; 41:4. DOI: 10.1016/j.clinmicnews.2019.01.006
- 8. Soler-Cruz MD. El estudio de las miasis en España durante los últimos cien años. Ars Pharm. 2000; 41 (1): 19-26. URL: <http://hdl.handle.net/10481/28331>
 - 9. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (www.eucast.org). Versión 8.1; 2018.
 - 10. Chavez JA, Alexander AJ, Balada-Llasat JM, Pancholi P. A case of *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica* bacteremia in continental United States. JMM Case Rep. 2017; 4(12). DOI: 10.1099/jmmcr.0.005134



Carta al Director

María Arrieta Loitegui
Carmen García Muñoz
Marta González Sevilla
Cristian Rosas Espinoza
José Miguel Ferrari Piquero

Desarrollo de una fórmula magistral de clofazimina para el tratamiento de tuberculosis extremadamente resistente en paciente lactante

Servicio de Farmacia, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Article history

Received: 12 June 2019; Revision Requested: 23 July 2019; Revision Received: 24 July 2019; Accepted: 31 July 2019

Sr. Editor: A pesar de que la incidencia y la prevalencia de la tuberculosis (TB) siguen una tendencia descendente, España es el país de Europa Occidental con más casos de TB pediátrica [1]. El diagnóstico de la misma es complicado debido a la escasez de síntomas y a la falta habitual de confirmación microbiológica en los cultivos, por su baja sensibilidad en niños [2]. Estos motivos, junto a la falta de formulaciones farmacéuticas adecuadas para pediatría, dificultan el control de la enfermedad en este grupo poblacional [1].

Otro problema es la aparición de cepas multirresistentes (MR), sobre todo en el este de Europa. Se estima que la prevalencia de formas MR en niños en nuestro país es superior al 4% [1]. Las cepas extremadamente resistentes (XDR) se caracterizan por presentar resistencia *in vitro*, además de a isoniazida y rifampicina como las MR, a cualquier fluoroquinolona y a los fármacos inyectables de segunda línea (amikacina, capreomicina, kanamicina y estreptomicina) [1].

Se presenta el caso de un varón de origen ucraniano de 16 meses de edad, que acude a consulta de Enfermedades Infecciosas pediátricas para revisión de TB latente. Fue diagnosticado en un estudio de contactos por convivencia con su padre, en tratamiento por TB-XDR. Se le realiza tomografía computarizada (TC) en la que se observan alteraciones sugestivas de TB activa, considerándose XDR debido al antibiograma del padre (tabla 1). La duración total del tratamiento recomendada habitualmente en caso de TB-XDR activa es de entre 18 y 24 meses. La fase inicial debe contener al menos 5 fármacos con sensibilidad conocida, y mantenerse entre 6 y 8 meses. Para su elección, se utiliza el esquema de la figura 1, teniendo en cuenta las sensibilidades *in vitro*. Se decide iniciar tratamiento con moxifloxacino 200 mg/24h (15 mg/kg/día), etionamida 200

mg/24h (15 mg/kg/día), cicloserina 200 mg/24h (15 mg/kg/día), clofazimina 50 mg/24h (4 mg/kg/día) y linezolid 130 mg/12h (10 mg/kg/12h). También se añadió piridoxina 13 mg/24h (1 mg/kg/día) para prevenir la neurotoxicidad asociada a cicloserina y etionamida.

El paciente ingresa para valorar tolerancia al tratamiento y organizar apoyo social debido a los escasos recursos de la familia.

Desde el Servicio de Farmacia, conjuntamente con la Sección de Enfermedades Infecciosas Pediátricas, se revisó la bibliografía disponible sobre el tratamiento de la TB-XDR en pacientes pediátricos. De acuerdo con la actualización de la

Tabla 1 *Antibiograma de Mycobacterium tuberculosis del padre del paciente.*

Fármaco	Sensibilidad
Isoniazida	Resistente
Estreptomicina	Resistente
Etambutol	Resistente
Rifampicina	Resistente
P.A.S.	Resistente
Kanamicina	Resistente
Cicloserina	Sensible
Etionamida	Sensible
Moxifloxacino	Sensible
Pirazinamida	Resistente
Amikacina	Resistente
Capreomicina	Resistente
Ofloxacino	Resistente
Linezolid	Sensible

Correspondencia:
María Arrieta Loitegui
Servicio de Farmacia, Hospital Universitario 12 de Octubre, Avenida de Córdoba s/n, 28041
Madrid
Tfno.: 913908005
E-mail: maria.arrieta@salud.madrid.org

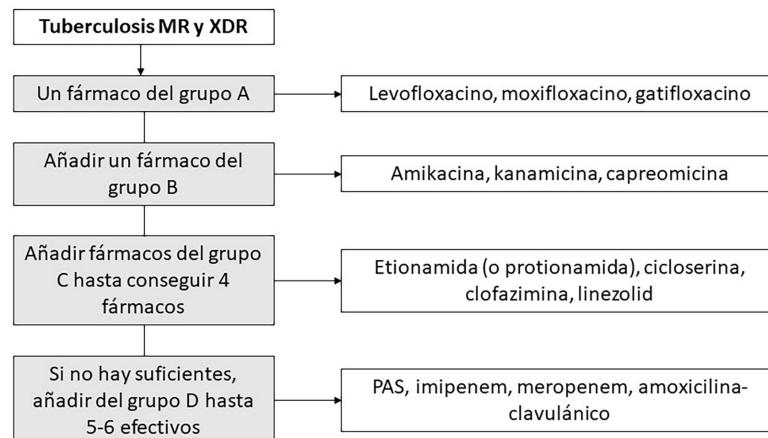


Figura 1

Recomendaciones para el diseño del tratamiento de la tuberculosis multirresistente y extremadamente resistente. Adaptado de Mellado-Peña MJ et al [2].

Asociación Española de Pediatría y al antibiograma del padre del paciente, se seleccionó el tratamiento más adecuado [1]. Se decidió una dosificación de moxifloxacino superior a la habitualmente recomendada ya que estudios recientes indican que no se alcanzan niveles terapéuticos en niños con TB resistente [3]. En el caso de clofazimina, se siguieron las recomendaciones publicadas por Dheda et al [4].

Tras realizar una búsqueda de las distintas presentaciones comerciales disponibles, se comprobó si se podían adaptar a la dosificación necesaria para el paciente. Las presentaciones en comprimidos de moxifloxacino, etionamida, cicloserina y linezolid se pueden triturar, disolver en agua y administrar la parte proporcional a la dosis correspondiente [5].

La administración de clofazimina a partir de cápsulas blandas (perforando con una aguja y extrayendo el contenido) resultó difícil por su elevada viscosidad. Para facilitar la administración y asegurar una correcta dosificación, se decidió elaborar una suspensión de clofazimina 10mg/ml, con su correspondiente procedimiento normalizado de trabajo al comprobar que no existía ninguno publicado. Debido al carácter oleoso de la cápsula de clofazimina de la que se partía, se utilizaron triglicéridos de cadena media como vehículo. Se añadió una fase acuosa que se emulsionó con polisorbato 80. Para mejorar el sabor de la emulsión, se añadió sucralosa. El pH de la suspensión final fue de 7,81. Ante la falta de bibliografía y de acuerdo a la matriz de riesgo de preparaciones no estériles de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria (riesgo medio), se asignó una estabilidad de 14 días en nevera.

El paciente ha completado 14 meses de tratamiento, continuando estable y asintomático.

La TB-XDR es poco frecuente en lactantes, siendo el principal problema farmacoterapéutico encontrado la adaptación de las formas farmacéuticas a la dosificación pediátrica. Este caso aporta como novedad el desarrollo de una fórmula ma-

gistral de clofazimina, que cubre una necesidad terapéutica en esta población. La efectividad y tolerancia hasta el momento han sido adecuadas, siendo clave la monitorización de efectos adversos y la colaboración médico-farmacéutico.

FINANCIACIÓN

Los autores declaran que no han recibido financiación para la realización de este trabajo.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

- Mellado Peña MJ, Santiago García B, Baquero-Artigao F, Moreno Pérez D, Piñeiro Pérez R, Méndez Echevarría A, et al. Actualización del tratamiento de la tuberculosis en niños. *An Pediatr (Barc)*. 2018;88:52.e1-52.e12. doi:10.1016/j.anpedi.2017.05.013
- Moreno-Pérez D, Andrés Martín A, Altet Gómez N, Baquero-Artigao F, Escribano Montaner A, Gómez-Pastrana Durán D, et al. Diagnóstico de la tuberculosis en la edad pediátrica. Documento de consenso de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica (SEIP) y la Sociedad Española de Neumología Pediátrica (SENP). *An Pediatr (Barc)*. 2010;73:143.e1-143.e14. doi: 10.1016/j.anpedi.2009.12.017
- Thee S, Garcia-Prats AJ, Draper HR, McIlheron HM, Wiesner L, Castel S, et al. Pharmacokinetics and Safety of Moxifloxacin in Children With Multidrug-Resistant Tuberculosis. *Clin Infect Dis*. 2015;60:549-56. doi: 10.1093/cid/ciu868
- Dheda K, Chang KC, Guglielmetti L, Furin J, Schaaf HS, Chesov D, et al. Clinical management of adults and children with multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis. *Clin Microbiol Rev*.

Infect. 2017;23:131-40. doi: 10.1016/j.cmi.2016.10.008

5. Servicio de Farmacia del Hospital Clínico San Carlos. Guía de Administración de Medicamentos por Sondas de Alimentación Enteral. Madrid; 2012.



Carta al Director

Laura Alonso Acero¹
Almudena Gutiérrez Arroyo¹
Juan Carlos Ramos Ramos²
María Pilar Romero Gómez¹

Bacteriemia por enterobacterias productoras de carbapenemas: el papel de Microbiología en su detección rápida

¹Departamento de Microbiología y Parasitología, Hospital Universitario La Paz, Madrid, España.

²Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario La Paz, Madrid, España.

Article history

Received: 17 June 2019; Revision Requested: 22 July 2019; Revision Received: 3 September 2019; Accepted: 9 September 2019

Sr. Editor: Remitimos el caso de una mujer de 50 años, natural de Rumanía, que acude a Urgencias del Hospital Universitario La Paz por disminución del nivel de conciencia. Como antecedentes, la paciente padecía hipertensión arterial y diabetes mellitus tipo 2 con enfermedad renal crónica (estadio A3).

Ingresó en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) por hipotensión y bradicardia acompañadas de cetoacidosis diabética e hiperpotasemia grave. Ante la elevación del ST en el electrocardiograma, se realizó un cateterismo que objetivó un infarto agudo de miocardio de ventrículo derecho, procediéndose a la revascularización e implantación de stents en ramo ventricular derecho, en la coronaria derecha proximal, la derecha media y la descendente anterior.

Dos días más tarde presentó un aumento de reactantes de fase aguda en la analítica, sin clara focalidad infecciosa, por lo que se recogió una muestra de orina y se inició cobertura antibiótica empírica con ceftriaxona IV (2g/24h). En el urocultivo se aislaron más de 100.000 UFC/mL de *Escherichia coli* pansensible. Ante la buena evolución de la paciente, diez días después pasó a planta a cargo de Cardiología.

Encontrándose estable en planta, pocas horas después presentó fiebre y empeoramiento de la función renal con elevación de reactantes de fase aguda, por lo que se cambió el tratamiento a piperacilina/tazobactam (4 g/12h). Se extrajeron hemocultivos que fueron positivos tras 6 horas de incubación: se identificó una *Klebsiella pneumoniae* mediante MALDI-TOF (Maldi Biotype®, Bruker) con score ≥2 tras extracción directa del hemocultivo [1]. A pesar de que los estudios de portador de microorganismos multirresistentes en la UCI habían sido negativos, el uso previo de antibióticos recogido en el programa de Gestión de Pacientes Unidosis nos hizo sospechar la posibilidad

una bacteriemia de brecha. Por ello, se realizó una inmunocromatografía de detección de carbapenemas [2] (NG-Test CARBA 5, NG Biotech), que fue positiva para OXA-48. El resultado se informó al cardiólogo de guardia, quien ajustó el tratamiento a meropenem IV 2g/8h y amikacina IV 15 mg/kg/día en dosis única como doble cobertura antibiótica:

Mediante el uso de métodos microbiológicos convencionales se confirmó el aislamiento de *K. pneumoniae* portadora de BLEE y OXA-48. Gracias a la realización del antibiograma directamente del hemocultivo, en 24 horas se disponía asimismo de la sensibilidad (MicroScan® NM44, Beckman Coulter), que se interpretó según EUCAST [3]. La cepa presentó baja resistencia a carbapenémicos (CMI>1 mg/L a ertapenem pero ≤1 mg/L a meropenem e imipenem); fue sensible tan solo a amikacina (≤8 mg/L), nitrofurantoína (≤32 mg/L), fosfomicina (≤32 mg/L) y cloranfenicol (≤8 mg/L); e intermedia a tigeciclina (2 mg/L). Ante la insuficiencia renal que presentaba, la Unidad de Infecciosas junto con Cardiología decidió ajustar las dosis del tratamiento con meropenem (1 g/8h) y fosfomicina (4 g/6h) IV. Dicha pauta se mantuvo durante catorce días; la paciente alcanzó la estabilidad clínica y analítica antes del alta.

Este caso exemplifica el problema de salud pública al que se enfrentan los hospitales españoles. Ante el incremento de microorganismos multirresistentes, la posibilidad de detectarlos rápidamente resulta de vital importancia tanto para el manejo clínico del paciente como para el control de la transmisión.

Las bacterias productoras de carbapenemas son endémicas en nuestro hospital: se detectaron en 692 pacientes ingresados durante 2017, y en un 48,26% fueron OXA-48. En el caso de nuestra paciente, en tan solo diez días de estancia en una unidad de pacientes críticos y, a pesar de las medidas hospitalarias instauradas para el control de transmisiones, se colonizó y presentó una sepsis por *K. pneumoniae* BLEE y OXA-48.

Queremos destacar el papel esencial que realizan los Servicios de Microbiología en la dinámica de trabajo de un hospi-

Correspondencia:
Laura Alonso Acero
Servicio de Microbiología, Hospital Universitario La Paz, Paseo de la Castellana, 261, 28046,
Madrid, España
Tfn.: 91 207 18 41
E-mail: laura.a.acero@gmail.com

tal. No solo por la importancia de poder dar un servicio continuado, sino por la posibilidad de ofrecer resultados rápidos que mejoren la calidad asistencial. Para ello, es fundamental la comunicación entre microbiólogos y clínicos.

Por otro lado, el acceso a la información clínica y al tratamiento pautado en tiempo real fue fundamental para sospechar y confirmar la existencia de una multirresistencia. Gracias a eso, se pudo dirigir el tratamiento en menos de diez horas, tiempo que podría verse incluso más reducido actualmente gracias a métodos como el RAST de EUCAST [4].

FINANCIACIÓN

Los autores declaran que no han recibido financiación para la realización de este trabajo.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Romero-Gómez MP, Gómez-Gil R, Paño-Pardo JR, Mingorance J. Identification and susceptibility testing of microorganism by direct inoculation from positive blood culture bottles by combining MALDI-TOF and Vitek-2 Compact is rapid and effective. *J Infect* 2012;65(6):513-20. doi: 10.1016/j.jinf.2012.08.013
2. Boutil et al. A multiplex lateral flow immunoassay for the rapid identification of NDM-, KPC-, IMP- and VIM-type and OXA-48-like carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *J Antimicrob Chemother* 2018;73(4):909-915. doi: 10.1093/jac/dkx521
3. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>.
4. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Zone diameter breakpoints for rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from blood culture bottles. Version 1.0, 2018. <http://www.eucast.org>.



Carta al Director

Enrique Otheo¹
Ana de Blas¹
Jesús Fortún²
Cristina Camarero¹

Multiple liver abscesses in Crohn's disease in infliximab therapy, successfully treated with antibiotic therapy

¹Department of Pediatrics. Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, Spain. Universidad de Alcalá, Madrid, Spain. Instituto Ramón y Cajal para la Investigación Sanitaria (IRYCIS).

²Department of Infectious Diseases. Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, Spain.

Article history

Received: 21 June 2019; Revision Requested: 12 July 2019; Revision Received: 2 September 2019; Accepted: 4 September 2019

Sir,

The tumour necrosis factor alpha inhibitor antibody (anti-TNF) has proven to be effective in induction and maintenance of remission in Crohn's disease (CD). Infliximab is the option more commonly used [1]. Its use can be associated with immunosuppression and predispose to the patients for severe infections [2, 3]. Liver abscess is an uncommon disease in the global paediatric population, but also in CD patients. The reported incidence of this disease in patients with CD is 114-297 per 100,000, a rate that is about 10-15 times higher than that found in the general population [4]. Liver abscesses are seen often in patients with major debilitating diseases, immunosuppression and abnormalities in the biliary tract and can lead to fatal complications [2, 5, 6]. It is also still considered a rare complication of infliximab therapy [2, 5, 7, 8].

We present the case of a 14-year-old boy diagnosed of CD 21 months ago. He was initially treated with enteral nutrition and azatioprin. This drug was withdrawn after an episode of acute pancreatitis. Therefore, methotrexate and infliximab (5 mg/kg/8 weeks) were established for 5 months. He was attended in the emergency room because of fever and vomits for the last 24 hours, without any other symptom and was admitted to the ward. At admission, the vital signs were: temperature 40°C, heart rate 100 beats/min, respiratory rate 20 breaths/min and blood pressure 110/50 mmHg. The physical examination showed no abnormalities. Laboratory results were: white blood cell count 6,210/mL (5,520 neutrophils, 370 lymphocytes), with liver function test, bilirubin and amylase within the normal ranges; erythrocyte sedimentation rate 29 mm/h, C-reactive protein 95.3 mg/L and procalcitonin 50.7 ng/mL (table 1). Chest x-ray was normal and abdominal ultrasound scan showed a

terminal ileitis, without pathologic findings in the supramesocolic organs. Four blood cultures were taken, immunosuppression therapy was withdrawn, an exclusive enteral feeding with a polymeric formula and empirical antibiotic therapy with cefotaxime 2 g/8 h were established. After 48 hours he continued with spiking fever and developed right upper quadrant tenderness with enlarged liver. Liver function test had slightly worsened with ASAT 93 U/L, ALAT 88 U/L and bilirubin 2.01 mg/dL. C-reactive protein and procalcitonin were, respectively, 185.1 mg/L and 20.7 ng/mL. White cell count was 4,550/mL (3,820 neutrophils). Right upper quadrant ultrasonography scan revealed a thickened gallbladder wall, with a layered appearance, and a small amount of fluid on the base with an echoic content without shadow. He was diagnosed of acute acalculous cholecystitis, and antibiotic was changed to piperacillin-tazobactam 4 g/8 h. The hepatomegaly and the right

Table 1 Laboratory data at admission.

Parameter	Value	Normal range value
Leucocyte count/ μ L	6,210	4,000-11,000
Neutrophil count/ μ L	5,520	1,700-7,500
Lymphocyte count/ μ L	370	1,000-3,500
Bilirubin, total (mg/dL)	0.93	0.2-1.2
Aspartate aminotransferase (IU/L)	39	4-50
Alanine aminotransferase (IU/L)	31	5-40
Amylase (IU/L)	47	25-125
Prothrombin time (s)	13.8	10.7-15.5
Procalcitonin (ng/mL)	50.07	>2 ^a
C-reactive protein (mg/L)	95.3	0-5
Erythrocyte sedimentation rate (mm/h)	29	0-20

^aSevere infection, sepsis, shock

Correspondence:
Enrique Otheo
Department of Pediatrics, Hospital Universitario Ramón y Cajal, 28034, Madrid, Spain.
Fax: +34913368417.
Phone: +3462676936.
E-mail: enrique.otheo@salud.madrid.org



Figure 1 MRI of liver microabscesses (arrows).

upper tenderness disappeared and there was a progressive normalization of laboratory data, including inflammatory reactants and liver function tests. Blood cultures were negative.

Cholangio-MRI phase T1, enhanced with gadolinium, performed after 14 days, revealed a normal gallbladder and biliary tree, with multiple focal liver lesions within both lobes, predominantly in the peripheral areas, some of them with a hypointense center and enhanced surface in arterial phase, consistent with liver microabscesses (figure 1). Ultrasound guided needle percutaneous aspiration was performed in one of the subcapsular lesions in segment VII. Gram stain showed numerous white blood cells without any microorganism. Cultures for aerobic, anaerobic, fungi and *Mycobacterium* and universal bacterial and *Mycobacterium tuberculosis* PCR were negative. Immunoglobulins, neutrophils oxidative metabolism and lymphocyte population in peripheral blood were normal. The blood biomarkers improved. When he was 23 days in antibiotics, CRP was 7.3 mg/L, procalcitonin, below 0.05 ng/mL and the white blood cell count 2,900/ μ L (1400 neutrophils). He remained on piperacillin-tazobactam for 28 days and, afterwards, therapy was switched to oral amoxicillin-clavulanate and ciprofloxacin for another 28 days. Two weeks after the antibiotic therapy was completed, he remained asymptomatic, with normal laboratory data, disappearance of the microabscesses and there were neither clinical nor biological activity changes in CD (phoecal calprotectin 17–136 μ g/g). His habitual enteral feeding and immunosuppressive therapy with methotrexate and infliximab were restarted. After 72 months of the diagnosis of the liver abscesses, he remained asymptomatic.

It's well known that a liver abscess can be an extraintestinal manifestation in patients with inflammatory bowel disease, but they are usually considered to be mainly of infectious origin. In our patient we think that the etiology was bacterial, because of the severe elevation of biomarkers, mainly procalcitonin, and the good response to antibiotic therapy. Unfortunately, cultures were negative. The sensibility of blood cultures is low usually and the cultures of the hepatic aspiration were taken after several days of antibiotic therapy.

Liver abscesses should be suspected and actively searched in febrile patients with CD, especially if they are in treatment with anti-TNF agents. An early diagnosis and antibiotic therapy can further improve the outcome without need of performing invasive techniques. Withdrawal of the immunosuppressive therapy carries a high risk of activate CD. Enteral feeding, whose effectiveness is demonstrated in the initial treatment of this disease, may be a therapeutic option in these patients.

FUNDING

None to declare.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declares that they have no conflicts of interest.

REFERENCES

- Dulai PS, Thompson KD, Blunt HB, Dubinsky MC, Siegel CA. Risks of serious infection or lymphoma with anti-tumor necrosis factor therapy for pediatric inflammatory bowel disease: a systematic review. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2014;12(9):1443–51. doi: 10.1016/j.cgh.2014.01.021.
- Togashi J, Sugawara Y, Akamatsu N, Aoki T, Ijichi M, Tanabe M, et al. Resection of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* liver abscess in a patient with Crohn's disease under infliximab treatment: a case report. *J Med Case Rep*. 2013;7:36. doi: 10.1186/1752-1947-7-3
- Herrlinger KR, Borutta A, Meinhardt G, Stange EF, Fellermann K. Fatal Staphylococcal sepsis in Crohn's disease after infliximab. *Inflamm Bowel Dis*. 2004;10(5):655–6. doi: 10.1097/00054725-200409000-00024
- Mir-Majlessi SH, McHenry MC, Farmer RG. Liver abscess in Crohn's disease. Report of four cases and review of the literature. *Gastroenterology*. 1986;91(4):987–93. PMID: 3743974
- Mishra K, Basu S, Roychoudhury S, Kumar P. Liver abscess in children: an overview. *World J Pediatr*. 2010;6(3):210–6. doi: 10.1007/s12519-010-0220-1.
- Margalit M, Elinav H, Ilan Y, Shalit M. Liver abscess in inflammatory bowel disease: report of two cases and review of the literature. *J Gastroenterol Hepatol*. 2004;19(12):1338–42. doi: 10.1111/j.1440-1746.2004.03368.x
- Patel TR, Patel KN, Boyarsky AH. Staphylococcal liver abscess and

- acute cholecystitis in a patient with Crohn's disease receiving infliximab. *J Gastrointest Surg.* 2006;10(1):105-10. doi: 10.1016/j.jgassur.2005.04.006
9. Yang Y, Chen D. Treatment of aseptic liver abscess due to Crohn's disease using infliximab. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2017;15(12):A27-A28. doi: 10.1016/j.cgh.2017.06.033.



Carta al Director

Abel Trujillano Ruiz¹
Josefina Giménez
Castellanos¹
Joan Francesc Andreo
Marroig²
Javier Mesquida Riera³
Violeta Cano Collado¹

Erradicación de *Achromobacter* spp. multiresistente con colistina ótica en paciente con otitis media crónica supurada

¹Servicio de Farmacia, Hospital de Manacor.

²Servicio de Otorrinolaringología, Hospital de Manacor.

³Servicio de Microbiología, Hospital de Manacor.

Article history

Received: 12 July 2019; Revision Requested: 31 July 2019; Revision Received: 12 August 2019; Accepted: 3 September 2019

Sr. Editor: *Achromobacter* spp. es una bacteria aeróbica gramnegativa y oportunista, responsable de diversas infecciones nosocomiales o adquiridas en la comunidad. Son constitutivamente resistentes a todas las cefalosporinas, excepto ceftazidima, vinculado a la presencia del sistema de salida AxyABM. Algunas especies albergan la bomba de eflujo AxyXY-OprZ que confiere resistencia a los aminoglucósidos [1]. *Achromobacter xylosoxidans* es la especie más abundante tanto en el entorno natural, hospitalario como doméstico y fue descrita por primera vez por Yabuuchi y Ohyama en 1971 en pacientes con otitis media purulenta [2].

Mujer de 58 años de edad con antecedentes de hipotiroidismo e hipoacusia mixta de larga duración y portadora de prótesis auditiva con otitis de repetición desde la infancia en contexto de perforaciones timpánicas subtotalas de ambos oídos.

En los últimos dos años ha consultado en varias ocasiones por supuración crónica bilateral diagnosticándose de otitis media supurada y se han aislado en diferentes cultivos: *Candida* spp., *Achromobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, instaurándose tratamientos óticos con aminoglucósidos en monoterapia o en combinación con corticoides.

En el episodio actual presenta supuración y perforación subtotal bilateral. Se toma frotis que es positivo para ambos oídos en *A. xylosoxidans* cepa multiresistente a todos los tratamientos óticos tópicos comercializados en España.

Tras revisión bibliográfica y consulta realizada al Servicio de Microbiología y Farmacia, se contempla la formulación ótica de colistina como tratamiento más adecuado.

La paciente inicia tratamiento en oído derecho (OD) con una fórmula magistral de colistina al 0.3% con una posología

de 6 gotas cada 8 horas, durante 10 días. Al finalizar el tratamiento no existe supuración en el OD ni afectación de su audición de base. Se decide iniciar el mismo tratamiento contralateral en oído izquierdo (OI).

En la revisión a las 2 semanas se mantiene el OD seco y el OI presenta supuración, por lo que se realiza nuevo frotis que resulta positivo para *Proteus mirabilis* y *Candida parapsilosis*, sensibles a aminoglucósidos, se inicia tratamiento con aminoglucósidos y corticoides, no aislando nuevamente la cepa de *A. xylosoxidans*, concluyendo que la terapia con la fórmula magistral de colistina 0.3% fue efectiva.

La otitis media crónica supurada se caracteriza por una perforación persistente de la membrana timpánica con secreción intermitente o constante de pus. Es una enfermedad rara (<1% en países desarrollados) con una incidencia mayor en la niñez. La mayoría de las otitis son debidas a infecciones bacterianas, suponiendo solamente las fúngicas entre un 2% y un 10%. Las bacterias más frecuentes implicadas son *P. aeruginosa* (18-67%), *Staphylococcus aureus* (14-33%), otras bacterias gram negativas (4-43%), como ocurre en el caso descrito y *Haemophilus influenzae* (1-11%). Algunas especies de hongos también se ven involucradas en la otitis media crónica supurada especialmente *Aspergillus* spp. y *Candida* spp. [3,4].

La cepa de *A. xylosoxidans* que se aísla en el exudado ótico presenta resistencia a todos los tratamientos comerciales óticos disponibles en nuestro país. Por tanto, el Servicio de Farmacia propuso la elaboración de un colirio ótico de colistina. Utilizando los términos Mesh *Achromobacter*, *Otitis Media* y *Colistin* se realizó una búsqueda en Pubmed sin encontrar ninguna evidencia de la elaboración de colistina en casos como el descrito. Buscando alternativas comercializadas en otros países, encontramos un medicamento disponible en Estados Unidos [5] que contiene colistina, neomicina e hidrocortisona, lo que nos llevó a plantear la formulación de colistina ótica en monoterapia a partir de la materia prima, teniendo en cuenta las características fisicoquímicas del principio activo y según las

Correspondencia:
Abel Trujillano Ruiz.
Servicio de Farmacia del Hospital de Manacor. Carretera Manacor Alcudia, s/n,
07500 Manacor
Tfn.: 971 84 70 00
E-mail: farmaceuticoabel@gmail.com

directrices de la guía de buenas prácticas de fórmulas magistrales en vigor [6].

Aunque no existen estudios de efectividad de colistina en oído, en otras patologías como fibrosis quística o infecciones intraabdominales, ha demostrado ser eficaz erradicando cepas de *A. xylosoxidans* [7,8].

Por ello, concluimos que la formulación de un colirio de colistina puede ser efectiva en la erradicación de *A. xylosoxidans* en pacientes con otitis media supurada, aunque sería deseable realizar estudios bien diseñados de efectividad a largo plazo y de estabilidad de la fórmula magistral.

FINANCIACIÓN

Los autores declaran que no han recibido financiación para la realización de este trabajo.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Amoureaux L, Bador J, Verrier T, Mjahed H, DE Curraize C, Neuwirth C. *Achromobacter xylosoxidans* is the predominant *Achromobacter* species isolated from diverse non-respiratory samples. *Epidemiol Infect.* 2016; 144(16):3527-3530. doi: 10.1017/S0950268816001564.
2. Yabuuchi E, Oyama A. *Achromobacter xylosoxidans* n. sp. from human ear discharge. *Jpn J Microbiol.* 1971; 15(5):477-81. PMID: 5316576.
3. Bhutta MF, Thornton RB, Kirkham LS, Kerschner JE, Cheeseman MT. Understanding the aetiology and resolution of chronic otitis media from animal and human studies. *Dis Model Mech.* 2017; 10(11):1289-1300. PMID: 29125825.
4. Verhoeff M, van der Veen EL, Rovers MM, Sanders EA, Schilder AG. Chronic suppurative otitis media: a review. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2006; 70(1):1-12. PMID: 1619800.
5. US Food and Drug [sede Web]. [Acceso 24 de enero de 2019]. Disponible en: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/050356s059lbl.pdf
6. SEFH [sede Web]. [Acceso 24 de enero de 2019]. Disponible en: https://www.sefh.es/sefhpdfs/GuiaBPP_JUNIO_2014_VF.pdf
7. Wang M, Ridderberg W, Hansen CR, Høiby N, Jensen-Fangel S, Olesen HV, Skov M, Lemming LE, Pressler T, Johansen HK, Nørskov-Lauritsen N. Early treatment with inhaled antibiotics postpones next occurrence of *Achromobacter* in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2013; 12(6):638-43. doi: 10.1016/j.jcf.2013.04.013.
8. Teng SO, Ou TY, Hsieh YC, Lee WC, Lin YC, Lee WS. Complicated intra-abdominal infection caused by extended drug-resistant *Achromobacter xylosoxidans*. *J Microbiol Immunol Infect.* 2009; 42(2):176-80. PMID: 19597652.



Carta al Director

David Carabantes Alarcón^{1,2}
Luis Alou Cervera³

Evaluación de la actividad investigadora en Microbiología: el papel de la Revista Española de Quimioterapia

¹Agencia Nacional de Evaluación de la Calidad y Acreditación (ANECA)

²Departamento de Salud Pública y Materno-Infantil, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid

³Área de Microbiología, Departamento de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid

Article history

Received: 21 November 2019; Accepted: 3 December 2019

Sr. Editor:

A final de cada año se suceden una serie de iniciativas relacionadas con la evaluación de la actividad investigadora: en España las convocatorias de los tramos o sexenios de investigación [1] y el reconocimiento de Centros de Excelencia Severo Ochoa y Unidades de Excelencia María de Maeztu [2]; a nivel mundial con la publicación de la lista de los investigadores que han sido altamente citados [3].

Los sexenios de investigación se implantaron en España en 1989 [4] por la Comisión Nacional Evaluadora de la Actividad Investigadora (CNEAI) [5] y desde la Agencia Nacional de Evaluación de la Calidad y Acreditación (ANECA) se establecen anualmente unos criterios específicos en los diferentes campos para la evaluación optativa del profesorado universitario y personal del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

En la petición de un sexenio de investigación el solicitante elige 5 aportaciones relevantes y se utiliza como indicio de calidad el Journal Impact Factor (JIF) [6] de cada publicación según el Journal Citation Reports (JCR) [7] realizado por la empresa Clarivate Analytics. Para el cálculo del JIF se divide el número de citas que han conseguido en un año los artículos publicados en una revista durante los dos años anteriores, entre el número total de los artículos citables por dicha revista en esos dos años. Para la concesión de los sexenios se tiene en cuenta la posición en el cuartil que ocupa cada revista en el Science Citation Index Expanded (SCIE) y Social Sciences Citation Index (SSCI), las dos grandes categorías en las que se agrupan las publicaciones.

Disponer de un número de tramos de investigación, además de remuneración económica, supone un reconocimiento a nivel profesional, académico y social. En algunas universidades

es necesario para la dirección de tesis doctorales, participación en tribunales de trabajos avanzados y procesos selectivos. Dependiendo de los sexenios de investigación reconocidos se puede alcanzar una mayor puntuación en los méritos individuales autonómicos y reducir la carga de la docencia a impartir por el profesor. Es una medida orientadora a la hora de presentarse a las figuras de acreditación como profesor contratado o funcionario por ANECA y, para colaborar como evaluador en los programas de dicha entidad, es necesario tener reconocidos un número determinado de tramos de investigación. En el ámbito de enseñanzas y titulaciones, son méritos necesarios para la implantación de títulos universitarios, seguimiento y renovación de la acreditación por los organismos acreditadores.

Por otro lado, desde 2011 se publica anualmente [2] la convocatoria para el reconocimiento del liderazgo científico de entidades españolas a través del distintivo Centro de Excelencia Severo Ochoa que, partir de 2014, incorporan también las Unidades de Excelencia María de Maeztu. Este programa de actuación anual pretende el fortalecimiento Institucional y el fomento de la excelencia en la investigación científica y técnica. Para su concesión se utiliza el Impacto Normalizado (IN) de la producción científica, ya que permite la comparación por áreas de especialización.

El IN de un investigador compara sus citas recibidas con el número de citas promedio que recibieron todos los trabajos a nivel mundial, en el mismo campo de investigación e igual periodo. Se intenta evitar de esta manera que, debido a la antigüedad de los documentos o las diferencias en los hábitos a la hora de citar en cada disciplina científica, se produzcan sesgo de citación [8].

El IN del Director científico, de los investigadores garantes y suplentes del centro que solicita la distinción de Centros y Unidades de Excelencia [2] se debe comparar con el valor medio mundial del área/categoría que aparecen en las tablas generadas desde Web of Science (WOS) de la compañía Clarivate Analytics y de Scopus (pertenece a la editorial Elsevier) [9] y alcanzar 1,5 veces el valor medio mundial.

Correspondencia:
Luis Alou Cervera
Área de Microbiología, Departamento de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid
E-mail: luisalou@ucm.es

Como sistema de reconocimiento de investigadores se encuentra el listado de Highly Cited Researchers (HCR) [3] que desarrolla Clarivate Analytics. Iniciado en 2001, se publica de manera ininterrumpida cada año desde 2014, recogiendo a los investigadores más influyentes a nivel mundial por su elevado número de citas; dentro de los 21 campos de investigación se encuentra Microbiología. Se trata de un reconocimiento para autores cuyo sistema es objeto de estudio en diferentes artículos [10-12] y es utilizado como un indicativo de calidad de las instituciones en las que los científicos trabajan.

Los tres casos de indicadores tratados anteriormente se basan en las citas que consiguen los artículos y, en todos hay un apartado específico para la Microbiología. Para ejemplificar la situación se encuentra la Revista Española de Quimioterapia (REQ) [13], publicación oficial de la Sociedad Española de Quimioterapia (SEQ) en la modalidad de "free open access". Aparecen al año 6 números (febrero, abril, junio, agosto, octubre y diciembre) con artículos originales, revisiones breves y cartas al director, donde se tratan temas sobre terapia antiinfecciosa en el ámbito de la Microbiología Médica. Con una trayectoria desde 1996, a partir del año 2009 se encuentra indexada en JCR. En la propia página web de la SEQ se pueden consultar las métricas de la REQ calculadas por su JIF en el JCR, según SJR y Citescore. Desde su inclusión en el sistema todos los años aparece recogido en el mismo cuartil para las áreas de Microbiología y de Farmacología y Farmacia.

El objetivo de estudio se centra en plasmar la importancia de la evaluación de la actividad investigadora con indicadores de citas en Microbiología y mostrar el papel que, en este proceso, desempeña la Revista Española de Quimioterapia.

Se accedió a la edición de 2018 del JCR para identificar las publicaciones incluidas en la edición SCIE de la categoría Microbiología especificando su editorial. Se buscó la página web de cada una de las ellas para conocer la entidad editora. A partir de las tablas mundiales del IN [9] para el área de Microbiología de las bases de datos Web of Science y de Scopus, se consultó la información de los años 2010-2017. Desde el listado Highly Cited Researchers (HCR) [3] que aparece publicado para los años 2001, 2014, 2015, 2016, 2017 y 2018 se consultaron los autores más citados en el área de Microbiología. El acceso a la página en JCR de la REQ del 2018 permitió el análisis de la procedencia geográfica e institucional que ofrece la base de datos. Se realizó un tratamiento de la información bibliográfica normalizando y unificando las diferentes variantes por las que se identifica una misma institución: universidades, hospitales e institutos de investigación. No se individualizaron las unidades organizativas de estos organismos, como las Facultades. En el caso de institutos de investigación pertenecientes a Hospitales se asignó al centro hospitalario. No se pudo identificar la procedencia institucional de la categoría "FAC MED" en la que se englobaron desde la base de datos 6 registros. Se normalizaron los nombres de los Hospitales a través de la edición del año 2019 (actualizada a 31 de diciembre 2018) del Catálogo Nacional de Hospitales publicado por el Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social [14] y, para sistematizar la denominación de las entidades del Sistema Universitario Español, se

utilizó la sección Universidades del Registro de Universidades, Centros y Títulos (RUCT) [15].

En el área de Microbiología de la edición SCIE del JCR 2018 se encuentran un total de 133 publicaciones (tabla 1). La mayoría proceden de grandes editoriales como Elsevier y el grupo Springer Nature, que engloba este último Springer, Nature Research y Nature Partner Journals. Otras editoriales y proveedores de información con mucha experiencia en el sector son: Wiley, Oxford University Press, Taylor & Francis, Sage y Wolters Kluwer. Existe también una amplia representación de editoriales con el modelo de publicación "open access" como BMC-BioMedCentral (que pertenece a Springer Nature), junto con otras editoriales en abierto: Frontiers, Hindawi, MDPI y Public Library of Science. Cabe destacar las iniciativas gubernamentales para facilitar la publicación científica, como el Consejo Nacional de Investigación de Canadá a través del sistema Canadian Science Publishing. Con este enfoque también se encuentra J-STAGE, una plataforma de revistas electrónicas desarrollada por la agencia japonesa de ciencia y tecnología para la internacionalización de los avances desde agencias de investigación y asociaciones científicas. También en ese país podemos encontrar el ejemplo de una revista fruto del trabajo colaborativo de varias entidades: Japanese Society of Microbial Ecology (JSME), Japanese Society of Soil Microbiology (JSSM), Taiwan Society of Microbial Ecology (TSME) y Japanese Society of Plant Microbe Interactions (JSPMI). Precisamente desde las sociedades científicas se realiza una gran labor por la publicación de los avances científicos, como la entidad American Society for Microbiology con distintas revistas temáticas, y en Inglaterra desde Microbiology Society; también hay asociaciones de investigadores de Polonia, Turquía o Corea que publican revistas sobre el tema, al igual que desde España la SEQ que edita la REQ.

En las tablas publicadas con el IN para Microbiología [9] se recoge el periodo 2010-2017, por un lado con los valores cuando se realiza el cálculo con artículos y revisiones y, por otro, en el que además se recogen las actas de congresos. Hay poca discrepancia entre los resultados de la base de datos WOS con la de Scopus. Tampoco existe mucha diferencia cuando se tienen en cuenta únicamente los artículos y revisiones o si se incluyen también las actas de congreso. En 2010 la puntuación en todos los casos se encuentra alrededor de 33 puntos y en 2017 una cifra de 6.24 en WOS y 7.3 en Scopus.

En el listado de HCR aparece en el área de Microbiología en 2001 el investigador Esteban Domingo de la Universidad Autónoma de Madrid y Fernando Baquero del Hospital Ramón y Cajal. En el periodo 2014-2018 el único autor distinguido como HCR en el área de Microbiología durante 2014 y 2015 es Christian Brander perteneciente al Hospital Germans Trias i Pujol de Badalona y al Instituto Catalán de Investigación y Estudios Avanzados (ICREA); en 2018 fue reconocido Ramón Rossello-Mora, responsable del Grupo de Microbiología Marina en el Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados (IMEDEA), centro mixto del CSIC. En 2016, 2017 y 2019 no hubo representación en dicha categoría de ningún autor con filiación en un centro español.

Tabla 1

Publicaciones incluidas en la categoría Microbiología del Science Citation Index Expanded en la edición 2018 de Journal Citation Reports, con título abreviado y editorial a la que pertenece

Acta Microbiol. Immunol. Hung. (Wolters Kluwer)	FEMS Microbiol. Ecol. (Oxford University Press)	Microb. Genomics (Microbiology Society)
Acta Protozool. (Jagiellonian University)	FEMS Microbiol. Lett. (Oxford University Press)	Microb. Pathog. (Elsevier)
Adv. Appl. Microbiol. (Elsevier)	FEMS Microbiol. Rev. (Oxford University Press)	Microbes Environ. (JSME, JSSM, TSME, JSPMI)
Adv.Microb.Physiol. (Elsevier)	FEMS Yeast Res. (Oxford University Press)	Microbes Infect. (Elsevier)
Anaerobe (Elsevier)	Folia Microbiol. (Springer)	Microbiol. Immunol. (Wiley)
Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob. (BMC)	Food Environ. Virol. (Springer)	Microbiol. Mol. Biol. Rev. (American Society for Microbiology)
Ann. Microbiol. (Springer)	Food Microbiol. (Elsevier)	Microbiology
Annu. Rev. Microbiol. (Annual Reviews)	Front. Cell. Infect. Microbiol. (Frontiers)	Microbiol. Res. (Elsevier)
Antimicrob. Agents Chemother. (American Society for Microbiology)	Front. Microbiol. (Frontiers)	Microbiol. Spectr. (American Society for Microbiology)
Antimicrob. Resist. Infect. Control (BMC)	Future Microbiol. (Future Medicine)	Microbiology (Springer)
Antonie Van Leeuwenhoek (Springer)	Gut Microbes (Taylor & Francis)	Microbiology-(UK) (Microbiology Society)
APMIS (Wiley)	Gut Pathogens (BMC)	MicrobiologyOpen (Wiley)
Appl. Biochem. Microbiol. (Springer)	Helicobacter (Wiley)	Microbiome (BMC)
Appl. Environ. Microbiol. (American Society for Microbiology)	Indian J. Microbiol. (Springer)	Microorganisms (MDPI)
Aquat. Microb. Ecol. (Inter-Research)	Innate Immun. (Sage)	Mikrobiol. Bul. (Ankara Microbiology Society)
Arch. Microbiol. (Springer)	Int. J. Antimicrob. Agents (Elsevier)	Mol. Genet. Microbiol. Virol. (Springer)
Archaea (Hindawi)	Int. J. Food Microbiol. (Elsevier)	Mol. Microbiol. (Wiley)
Benef. Microbes (Wageningen Academic Publishers)	Int. J. Med. Microbiol. (Elsevier)	Mol. Oral Microbiol. (Wiley)
Biosci. Microbiota Food Health (J-STAGE)	Int. J. Syst. Evol. Microbiol. (Microbiology Society)	mSphere (American Society for Microbiology)
BMC Microbiol. (BMC)	Int. Microbiol. (Springer)	mSystems (American Society for Microbiology)
Braz. J. Microbiol. (Springer)	ISME J. (Nature Research)	Nat. Microbiol. (Nature Research)
Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol. (Hindawi)	J. Antibiot. (J-STAGE)	Nat. Rev. Microbiol. (Nature Research)
Can. J. Microbiol. (Canadian Science Publishing)	J. Antimicrob. Chemother. (Oxford University Press)	New Microbiol. (Edizioni Internazionali)
Cell Host Microbe (Elsevier)	J. Appl. Microbiol. (Wiley)	npj Biofilms Microbiomes (Nature Partner Journals)
Cell Microbiol. (Wiley)	J. Bacteriol. (American Society for Microbiology)	Open Forum Infect. Dis. (Oxford University Press)
Clin. Infect. Dis. (Oxford University Press)	J. Basic Microbiol. (Wiley)	Pathog. Dis. (Oxford University Press)
Clin. Microbiol. Infect. (Elsevier)	J. Clin. Microbiol. (American Society for Microbiology)	Pathogens (MDPI)
Clin. Microbiol. Rev. (American Society for Microbiology)	J. Eukaryot. Microbiol. (Wiley)	Plasmid (Elsevier)
Clin. Vaccine Immunol. (American Society for Microbiology)	J. Gen. Appl. Microbiol. (J-STAGE)	PLoS Pathog. (Public Library Science)
Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. (Elsevier)	J. Infect. Dis. (Oxford University Press)	Pol. J. Microbiol. (Polish Society of Microbiologists)
Crit. Rev. Microbiol. (Taylor & Francis)	J. Med. Microbiol. (Microbiology Society)	Postep. Mikrobiol. (Polish Society of Microbiologist)
Curr. Microbiol. (Springer)	J. Microbiol. (Springer)	Probiotics Antimicrob. Proteins (Springer)
Curr. Opin. Microbiol. (Elsevier)	J. Microbiol. Biotechnol. (Korean Society for Microbiology and Biotechnology)	Protist (Elsevier)
Curr. Top. Microbiol. Immunol. (Springer)	J. Microbiol. Immunol. Infect. (Elsevier)	Res. Microbiol. (Elsevier)
Diagn. Microbiol. Infect. Dis. (Elsevier)	J. Microbiol. Methods (Elsevier)	Rev. Argent. Microbiol. (Elsevier)
Emerg. Microbes Infect. (Taylor & Francis)	J. Mol. Microbiol. Biotechnol. (Karger)	Rev. Esp. Quim. (Sociedad Española de Quimioterapia)
Enferm. Infec. Microbiol. Clin. (Elsevier)	J. Oral Microbiology (Taylor & Francis)	Stand. Genomic Sci. (BMC)
Environ. Microbiol. (Wiley)	J. Water Health (IWA)	Symbiosis (Springer)
Environ. Microbiol. Rep. (Wiley)	Jundishapur J. Microbiol. (Kowsaromedical)	Syst. Appl. Microbiol. (Elsevier)
Epidemiol. Mikrobiol. Imunol. (MeDitorial)	Lett. Appl. Microbiol. (Wiley)	Ticks Tick-Borne Dis. (Elsevier)
Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. (Springer)	mBio (American Society for Microbiology)	Trends Microbiol. (Elsevier)
Eur. J. Protistol. (Elsevier)	Med. Microbiol. Immunol. (Springer)	Tuberculosis (Elsevier)
Extremophiles (Springer)	Methods Microbiol. (Elsevier)	Vet. Microbiol. (Elsevier)
	Microb. Biotechnol. (Wiley)	Virulence (Taylor & Francis)
	Microb. Drug Resist. (Mary Ann Liebert)	Yeast (Wiley)
	Microb. Ecol. (Springer)	

A través de la información sobre la procedencia geográfica a nivel mundial de la REQ que se recoge en la página de JCR edición SCIE de 2018, se constata que la investigación en Microbiología de la revista procede principalmente de España

con 299 aportaciones. A nivel internacional se encontrarían Argentina (4 entradas) y con 2 contribuciones estarían Dinamarca, Turquía, Noruega y México; el resto con 1 aportación se realizaría desde Canadá, Chile, Etiopía, India, Irán, Irlanda,

Italia, Suecia y Túnez. La tabla 2 sobre contribuciones por organizaciones muestra que existe producción principalmente desde el ámbito de educación superior y, a nivel asistencial, en el terreno hospitalario, teniendo representación de centros de investigación como el Instituto de Salud Carlos III, el Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBER) y el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). La Universidad Complutense de Madrid ocupa el primer puesto, seguido del Hospital Clínico San Carlos anexo a dicha entidad y al que muchos autores pertenecen por su doble filiación con la figura de profesores vinculados. Además de Madrid en el que se concentran las sedes de muchas instituciones de investigación, existe representación de las diferentes provincias y Comunidades Autónomas.

Se puede concluir que los tramos de investigación resultan de utilidad por el reconocimiento a nivel profesional, con un gran valor a nivel de la política de I+D institucional y en el ámbito estatal. En el campo universitario y de investigación el sistema está instaurado, se reconoce su importancia y hay experiencia al respecto [4]. La publicación de la convocatoria en fechas similares permite la organización y el establecimiento de los méritos a presentar según los criterios y decidir si se tramita la petición.

Aunque en un primer momento no se pueda solicitar la evaluación de méritos de investigación por no cumplir el tiempo mínimo necesario o cuando no se pertenezca a una Universidad ni al CSIC, resulta de utilidad la consulta de los criterios para el Campo 4 de Ciencias Biomédicas y servir así de orientación para enfocar nuestra trayectoria investigadora. Es posible que a lo largo de la etapa profesional se alcancen los requisitos y se puedan solicitar los sexenios.

Además del ámbito español, el JIF se utiliza como un sistema para incentivos en otros países como Brasil, China, Indonesia, México, Irán o Rusia [11]. De igual manera, las agencias de calidad y acreditación utilizan este modelo para la evaluación de profesorado, enseñanzas y titulaciones.

Si bien predominan las revistas SCIE en JCR en la categoría Microbiología publicadas desde editoriales, existe una gran representación de sociedades científicas, principalmente en Norteamérica e Inglaterra; en España se encuentra la SEQ que edita la REQ. Cabe destacar también la incorporación de empresas que editan revistas en acceso abierto que solicitan el pago de una tasa económica por el procesado del artículo. Sería adecuado poner en valor el esfuerzo de las entidades que apuestan por el acceso abierto y permiten la publicación de artículos con la opción de "free open access", sin coste para los autores ni para el lector, como es la REQ. Además, como es en este último caso, al no tener restricciones para que se depositen los artículos en repositorios y redes sociales, se cumple el mandato de publicación en abierto de los resultados de investigación de proyectos concedidos con ayudas públicas y, además, potencia la visibilidad de los científicos que pueden aumentar así la citación de sus trabajos.

A pesar de que la información relativa a la procedencia geográfica e institucional que se ofrece de la REQ desde la pá-

gina web de JCR es un resumen que debe ser utilizado a nivel descriptivo, ejemplifica la presencia de dicha revista en España y otros países europeos, junto con Argentina, México y Chile en América del Sur. Como ocurría con los autores de artículos de REQ de entidades españolas en las que se pueden solicitar los tramos de investigación, se recomienda que los autores de otros países consulten las iniciativas existentes sobre evaluación de la actividad científica.

De forma complementaria al uso del JIF procedente de JCR, se encuentra el IN. Aunque presenta sus limitaciones [8], se plantea como una herramienta para la concesión de ayudas en convocatorias públicas como en los Centros y Unidades de Excelencia en España. Su utilización en dicho caso fue pionero, pero además se va incorporando a otros campos como la estabilización de profesorado universitario y su uso se puede seguir extendiendo. Algunos de los organismos españoles a los que pertenecen los autores que han publicado en la REQ pueden solicitar el distintivo de organismos de excelencia que lleva asociado una ayuda económica. Conocer nuestro IN puede ofrecer un valor diferenciador en la movilidad y atracción de talento de profesionales a otros centros.

Para el cálculo del IN se ha puesto el ejemplo de Microbiología en términos generales, pero la inclusión en JCR de la REQ también dentro de la categoría de Farmacología y Farmacia, permite utilizar también los valores correspondientes a dicho área. Asimismo, se pueden utilizar los datos de la REQ en Scopus dentro de Microbiología (Médica), Medicina (Miscelánea) y Farmacología si, al consultar la tabla mundial de IN, los resultados que se consiguen en esa categoría benefician al autor.

A pesar de la controversia del sistema HCR [10-12] se está imponiendo como modelo de reconocimiento social tanto para el autor como para la institución a la que pertenece, que suelen destacar en los medios de comunicación por dicho motivo. La presencia en dicho listado se está considerando además como un estimador de futuros premios.

Hay que tener en cuenta que, en los años en los que no aparecen en el listado de HCR autores que pertenezcan a entidades ubicadas en España, no implica que no existan españoles reconocidos, ya que pueden estar trabajando en instituciones extranjeras. Se puede afirmar que dentro del área de Microbiología existe representación del ámbito de la Microbiología Médica, ya que la filiación de algunos de ellos permite identificar a autores que trabajan en dicho ámbito desde el campo universitario, hospitalario y centros de investigación.

Por todo ello, es posible concluir que se encuentran instaurados sistemas de reconocimiento a distintos niveles para los investigadores y entidades a las que pertenecen, atendiendo a la producción científica y a las citas de los artículos. Se está apostando por la aplicación de indicadores bibliométricos normalizados y por la distinción de los investigadores más influyentes mundialmente.

La Microbiología es un área científica completamente integrada en los sistemas de evaluación de la calidad científica. La REQ es un referente consolidado sobre Microbiología en el ámbito iberoamericano y a nivel internacional, con la caracte-

Organismos	Municipio	Comunidad	N.º
Universidad Complutense de Madrid	Madrid	Madrid	30
Hospital Clínico San Carlos	Madrid	Madrid	28
Hospital Ramón y Cajal	Madrid	Madrid	19
Complejo Hospitalario Gregorio Marañón	Madrid	Madrid	23
Universidad de Barcelona	Barcelona	Cataluña	15
Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBER)	Madrid	Madrid	14
Hospital Universitario y Politécnico La Fe Valencia	Valencia	Comunidad Valenciana	13
Hospital Universitario Central de Asturias	Oviedo	Principado de Asturias	11
Universidad de Granada	Granada	Andalucía	11
Universidad de Salamanca	Salamanca	Castilla y León	11
Hospital General Universitario de Alicante	Alicante/Alacant	Comunidad Valenciana	10
Hospital Universitario La Paz	Madrid	Madrid	10
Universidad Miguel Hernández de Elche	Elche/Elx	Comunidad Valenciana	10
Hospital del Mar	Barcelona	Cataluña	9
Hospital Universitario Rio Hortega	Valladolid	Castilla y León	9
Hospital Clínico Universitario Virgen de La Arrixaca	Murcia	Región de Murcia	8
Hospital Materno-Infantil Virgen de las Nieves	Granada	Andalucía	8
Hospital Universitari Vall d'Hebron	Barcelona	Cataluña	8
Instituto de Salud Carlos III	Madrid	Madrid	8
Universidad Autónoma de Barcelona	Barcelona	Cataluña	8
Complejo Hospitalario Universitario de Santiago	Santiago de Compostela	Galicia	7
Universidad de Murcia	Murcia	Región de Murcia	7
Hospital Universitario 12 de Octubre	Madrid	Madrid	6
Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda	Majadahonda	Madrid	6
Hospital Universitario Regional de Málaga	Málaga	Andalucía	6
Universidad de Cantabria	Santander	Cantabria	6
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria	Las Palmas de Gran Canaria	Canarias	6
Universidad de Navarra	Navarra	Comunidad Foral de Navarra	6
Universidad de Valladolid	Valladolid	Castilla y León	6
Universidad San Pablo-CEU	Madrid	Madrid	6
Complejo Hospitalario Universitario A Coruña	A Coruña	Galicia	5
Hospital General La Mancha Centro	Alcázar de San Juan	Castilla-La Mancha	5
Hospital Universitari Son Espases	Palma de Mallorca	Illes Balears	5
Hospital Universitario de Cruces	Barakaldo	País Vasco	5
Hospital Universitario de Getafe	Getafe	Madrid	5
Hospital Universitario de La Princesa	Madrid	Madrid	5
Hospital Universitario Fundación Alcorcón	Alcorcón	Madrid	5
Hospital Universitario Insular de Gran Canaria	Las Palmas de Gran Canaria	Canarias	5
Hospital Universitario Príncipe de Asturias	Alcalá de Henares	Madrid	5
Universidad de Alcalá	Alcalá de Henares	Madrid	5
Universidad de La Laguna	San Cristóbal de La Laguna	Canarias	5
Universidad Rey Juan Carlos	Móstoles	Madrid	5
Universidade da Coruña	A Coruña	Galicia	4
Complejo Asistencial Universitario de Salamanca	Salamanca	Castilla y León	4
Consejo Superior De Investigaciones Científicas (CSIC)	Madrid	Madrid	4
Hospital Universitario de Fuenlabrada	Fuenlabrada	Madrid	4
Universidad Cardenal Herrera-CEU	Moncada	Comunidad Valenciana	4
Universidade da Coruña	A Coruña	Galicia	4

rística de publicarse desde una sociedad científica con el modelo de acceso abierto sin coste de publicación, lo que podría incrementar el número de citas que se reciben de los artículos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Resolución de 12 de noviembre de 2019, de la Comisión Nacional Evaluadora de la Actividad Investigadora, por la que se publican los criterios específicos aprobados para cada uno de los campos de evaluación. Martes 26 de noviembre de 2019. Pág. 130004-24 [citado 26 Noviembre 2019]. Disponible desde: [https://www.boe.es/eli/es/res/2019/11/12/\(10\)](https://www.boe.es/eli/es/res/2019/11/12/(10))
2. Apoyo y acreditación de Centros de Excelencia «Severo Ochoa» y a Unidades de Excelencia «María de Maeztu» [citado 20 Noviembre 2019]. Disponible desde: www.ciencia.gob.es/portal/site/MICINN/menuitem.7eac5cd345b4f34f09dfd1001432ea0/?vgnextoid=cba733a6368c2310VgnVCM1000001d04140aRCRD
3. Highly Cited Researchers (HCR) [citado 19 Noviembre 2019]. Disponible desde: <https://web.archive.org/web/20191119071706/> <https://hcr.clarivate.com/>
4. Cabezas-Clavijo Á, Torres-Salinas D. Los sexenios de investigación. Barcelona: UOC, colección El profesional de la información, 2015.
5. Comisión Nacional Evaluadora de la Actividad Investigadora (CNEAI) [citado 20 Noviembre 2019]. Disponible desde: <http://www.aneca.es/Programas-de-evaluacion/Evaluacion-de-profesorado/CNEAI>
6. Journal Impact Factor [citado 6 Noviembre 2019]. Disponible desde: <http://help.prod-incites.com/inCites2Live/indicatorsGroup/aboutHandbook/usingCitationIndicatorsWisely/jif.html>
7. Journal Citation Reports [citado 6 Noviembre 2019]. Disponible desde: <https://clarivate.com/webofsciencegroup/solutions/journal-citation-reports/>
8. Torres-Salinas D, Robinson-García N, Herrera-Viedma E, Jiménez-Contreras E. Consideraciones metodológicas sobre uso del impacto normalizado en convocatorias Severo Ochoa y María de Maeztu. Prof Inf. 2018; 27 (2): 367-74. DOI: 10.3145/epi.2018.mar.15
9. Tablas Citas Mundiales de Impacto Normalizado [citado 20 Noviembre 2019]. Disponible desde: https://www.recursoscientificos.fecyt.es/servicios/indices-de-impacto?qt-view_listas_de_nodos-panel_pane_pestanas_indices_de_impacto=2#
10. Basu A. Using ISI's Highly Cited Researchers' to obtain a country level indicator of citation excellence. Scientometrics 2006; 68(3): 361-75.
11. Teixeira da Silva JA, Bernès S. Clarivate Analytics: continued omnia vanitas impact factor culture. Sci Eng Ethics. 2018; 24(1): 291-7. DOI: 10.1007/s11948-017-9873-7
12. Docampo D, Cram L. Highly cited researchers: a moving target. Scientometrics 2019; 118(3): 1011-25. DOI: 10.1007/s11192-018-2993-2
13. Revista Española de Quimioterapia [citado 4 Noviembre 2019]. Disponible desde: <https://seq.es/revista-de-la-seq-pag/>
14. Catálogo Nacional de Hospitales publicado por el Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social [citado 14 Noviembre 2019]. Disponible desde: <https://www.mscbs.gob.es/ciudadanos/prestaciones/centrosServiciosSNS/hospitales/home.htm>
15. Registro de Universidades, Centros y Títulos (RUCT) [citado 14 Noviembre 2019]. Disponible desde: <https://www.educacion.gob.es/ruct/consultauniversidades?actual=universidades>