



REVISTA ESPAÑOLA DE Quimioterapia

SPANISH JOURNAL
OF CHEMOTHERAPY

ISSN: 0214-3429

Volumen 33

Número 6

Diciembre 2020

Páginas: 390-484



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 2020
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)

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-Gorricho (Madrid)
A. Ramos (Madrid)
J. M. Ramos (Alicante)
J. Reina (Palma de Mallorca)
M. A. Ripoll (Ávila)
I. Rodríguez-Avial (Madrid)
M. Ruiz (Alicante)
M. Sabriá (Barcelona)
M. Salavert (Valencia)
B. Sánchez Artola (Madrid)
M. Segovia (Murcia)
R. Serrano (Madrid)
D. Sevillano (Madrid)
A. Suárez (Madrid)
A. Tenorio (Huelva)
A. Torres (Murcia)
C. Vallejo (Oviedo)
J. Vila (Barcelona)
J. Yuste (Madrid)

Sumario

REVISTA ESPAÑOLA DE Quimioterapia

Volumen 33
Número 6
Diciembre 2020

Editorial	Utilización del test de detección de antígeno de SARS-CoV-2 en exudado nasofaríngeo para el control de la infección por COVID-19	390
	M. Dolores Folgueira López	
Revisión	Inmunidad frente a SARS-CoV-2: caminando hacia la vacunación	392
	Carmen Rodríguez Hernández, Juan Carlos Sanz Moreno	
Originales	Evaluación de la formación sobre el programa de optimización del uso de antimicrobianos en médicos residentes de la provincia de Las Palmas	399
	Alejandro de Arriba-Fernández, Manuel Jesús Molina-Cabrillana, Ana Hernández-Aceituno, Fernando José García-López	
	Repetición de las pruebas microbiológicas en la sospecha de la infección por SARS-CoV-2: utilidad de un score basado en la probabilidad clínica	410
	Javier Pardo Lledias, Laura Ayarza, Pablo González-García, Zaida Salmón González, Jorge Calvo Montes, Mónica Gozalo Marguello, José Luis Hernández Hernández, José Manuel Olmos Martínez	
	El cribado de SARS-CoV-2 en mujeres asintomáticas admitidas en trabajo de parto se debe realizar con una combinación de técnicas microbiológicas: un estudio observacional	415
	Maria Carmen Viñuela, Juan Antonio de León-Luis, Roberto Alonso, Pilar Catalán, Santiago Lizarraga, Patricia Muñoz, Emilio Bouza, On Behalf Of The Gregorio Marañón Obstetrics and Gynecology and Microbiology-Id Covid 19 Study Group	
	Análisis de la demanda de detección de SARS-CoV-2 en un área de salud de España	422
	Jesús García-Cruces, Raúl López Izquierdo, Marta Domínguez-Gil, Luis López-Urrutia, Mónica de Frutos, Belén Lorenzo, Begoña Nogueira, Antonio Puerta, Marta Fernández-Esgueva, Irene Merino, María Carmen Ramos-Sánchez, José María Eiros	
	Factores de riesgo de infección por <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina y enterobacterias productoras de betalactamasas en infecciones de pie diabético que requieren hospitalización	430
	Victoria García Zafra, Alicia Hernández Torres, Elisa García Vázquez, Teresa Soria Cogollos, Manuel Canteras Jordana, Joaquín Ruiz Gómez, Joaquín Gómez Gómez, Antonio Hernández Martínez, José Barberán	
Original Breve	Impacto de la cirugía en la mortalidad de la endocarditis infecciosa en un hospital sin cirugía cardíaca	436
	Rosa Escudero-Sánchez, S. Scarleth Mendoza, Lizardo, Elena Batlle López, Carolina Campelo Gutierrez, Juan Emilio Losa García, María Velasco Arribas	
	Descripción de la epidemia estacional por Gripe B en Cantabria durante los inicios de la pandemia por SARS-CoV-2	444
	Daniel Pablo-Marcos, Ana Rodríguez-Fernández, Mónica Gozalo, Jesús Agüero, Francisco Arnaiz De Las Revillas, Jorge Calvo	
	Infecciones asociadas a enterobacterias productoras de carbapenemasas OXA-48 en pacientes quirúrgicos: consumo de antibióticos y evolución de sensibilidades	448
	Ismael Mora-Guzmán, Irene Rubio-Perez, Diego Domingo-García, Elena Martín-Pérez	

Sumario

REVISTA ESPAÑOLA DE **Quimioterapia**

Volumen 33
Número 6
Diciembre 2020

Original Breve	Tendencia en el uso de antiinfecciosos tópicos oculares en una región de España entre 2015 y 2019: un estudio de registro basado en la población 453
	Eduardo Gutiérrez-Abejón, Francisco Herrera-Gómez, Ignacio J. Ayestarán-Martínez, Francisco Javier Álvarez
Cartas al Director	Importancia de los resultados de los hemocultivos: especial atención para los solicitados desde los Servicios de Urgencias 459
	Rafael Rubio Díaz, Isabel Nieto Rojas, Agustín Julián-Jiménez
	Absceso pancreático en paciente con pancreatitis alcohólica crónica 462
	Inés Olaya García Rodríguez, Ana Madueño Alonso, Vanessa Felipe Díaz, María Lecuona Fernández
	Vigilancia activa de cepas de <i>Salmonella enterica</i> no tifoidea con fenotipo no clásico de resistencia a quinolonas (2014-2019) 464
	María José González-Abad, Mercedes Alonso Sanz
Documento de Consenso	Recomendaciones sobre el uso de pruebas antigénicas en el diagnóstico de la infección aguda por SARS-CoV-2 en la segunda onda pandémica: actitud en distintos contextos clínicos 466
	Francisco Javier Candel, Pablo Barreiro, Jesús San Román, Juan Carlos Abanades, Raquel Barba, José Barberán, Carlos Bibiano, Jesús Canora, Rafael Cantón, Cristina Calvo, Mar Carretero, Fernando Cava, Rafael Delgado, Julio García-Rodríguez, Juan González del Castillo, Cristina González de Villaumbrosia, Montserrat Hernández, Juan Emilio Losa, Francisco Javier Martínez-Peromingo, José María Molero, Patricia Muñoz, Elena Onecha, Mamiko Onoda, Juan Rodríguez, Marta Sánchez-Celaya, José Antonio Serra, Antonio Zapatero
In Memoriam	20 Años sin Manolo Gomis: Infectólogo, Humanista y Amigo-Hermano



Creating Possible

Durante más de 30 años, en Gilead hemos conseguido avances que parecían imposibles, dirigidos a personas con enfermedades que amenazaban su vida. Somos una compañía biofarmacéutica puntera, con productos pioneros en sus áreas y con una, cada vez más, prometedora cartera de medicamentos en investigación.

Pero nuestro compromiso aún va más allá. Innovamos con el propósito de eliminar barreras y conseguir que las personas que más lo necesitan puedan tener acceso a los avances en el cuidado de la salud. Trabajamos para conseguir un mundo mejor y más saludable para todos.



GILEAD

Creating Possible

Contents



REVISTA ESPAÑOLA DE Quimioterapia

Volume 33
Number 6
December 2020

Editorial	Use of the SARS-CoV-2 antigen detection test in nasopharyngeal swab for COVID-19 infection control M. Dolores Folgueira López	390
Review	Immunity against SARS-CoV-2: walking to the vaccination Carmen Rodríguez Hernández, Juan Carlos Sanz Moreno	392
Originals	Evaluation of training on the programs to optimize antimicrobial use in medical residents of the province of Las Palmas Alejandro de Arriba-Fernández, Manuel Jesús Molina-Cabrillana, Ana Hernández-Aceituno, Fernando José García-López	399
	Repetition of microbiological tests in suspect of SARS-CoV-2 infection: utility of a score based on clinical probability Javier Pardo Lledias, Laura Ayarza, Pablo González-García, Zaida Salmón González, Jorge Calvo Montes, Mónica Gozalo Marguello, José Luis Hernández Hernández, José Manuel Olmos Martínez	410
	SARS-CoV-2 screening of asymptomatic women admitted for delivery must be performed with a combination of microbiological techniques: an observational study María Carmen Viñuela, Juan Antonio De León-Luis, Roberto Alonso, Pilar Catalán, Santiago Lizarraga, Patricia Muñoz, Emilio Bouza, on behalf of the Gregorio Marañón Obstetrics and Gynecology and Microbiology-ID COVID 19 Study Group	415
	Analysis of the demand for detection of SARSCoV-2 in a health area of Spain Jesús García-Cruces, Raúl López Izquierdo, Marta Domínguez-Gil, Luis López-Urrutia, Mónica de Frutos, Belén Lorenzo, Begoña Nogueira, Antonio Puerta, Marta Fernández-Esgueva, Irene Merino, María Carmen Ramos-Sánchez, José María Eiros	422
	Risk factors for methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> and extended-spectrum β-lactamase producing <i>Enterobacteriaceae</i> in patients with diabetic foot infections requiring hospital admission Victoria García Zafra, Alicia Hernández Torres, Elisa García Vázquez, Teresa Soria Cogollos, Manuel Canteras Jordana, Joaquín Ruiz Gómez, Joaquín Gómez Gómez, Antonio Hernández Martínez, José Barberán	430
Brief Report	Impact of surgery on the mortality of infective endocarditis in a hospital without cardiac surgery Rosa Escudero-Sánchez, S. Scarleth Mendoza, Lizardo, Elena Batlle López, Carolina Campelo Gutierrez, Juan Emilio Losa García, María Velasco Arribas	436
	Description of Influenza B in seasonal epidemic in Cantabria during the beginning of the pandemia due to SARS-CoV-2 Daniel Pablo-Marcos, Ana Rodríguez-Fernández, Mónica Gozalo, Jesús Agüero, Francisco Arnaiz de Las Revillas, Jorge Calvo	444
	Infections by OXA-48 carbapenemase-producing <i>Enterobacteriaceae</i> in surgical patients: antibiotic consumption and susceptibility patterns Ismael Mora-Guzmán, Irene Rubio-Perez, Diego Domingo-García, Elena Martín-Pérez	448

Contents

REVISTA ESPAÑOLA DE **Quimioterapia**

Volume 33
Number 6
December 2020

Brief Report	Trend in the use of topical ocular anti-infectives in a region of Spain between 2015 and 2019: a population-based registry study	453
	Eduardo Gutiérrez-Abejón, Francisco Herrera-Gómez, Ignacio J. Ayestarán-Martínez, Francisco Javier Álvarez	
Letters to the editor	Active surveillance of nontyphoidal <i>Salmonella enterica</i> strains with nonclassical quinolone resistance phenotype (2014–2019)	459
	María José González-Abad, Mercedes Alonso Sanz	
	Importance of blood cultures results: and special attention for applicants from the Emergency Department	462
	Rafael Rubio Díaz, Isabel Nieto Rojas, Agustín Julián-Jiménez	
	Pancreatic abscess in a patient affected by alcoholic chronic pancreatitis.	464
	Inés Olaya García Rodríguez, Ana Madueño Alonso, Vanessa Felipe Díaz, María Lecuona Fernández	
Consensus Document	Recommendations for use of antigenic tests in the diagnosis of acute SARS-CoV-2 infection in the second pandemic wave: attitude in different clinical settings	466
	Francisco Javier Candel, Pablo Barreiro, Jesús San Román, Juan Carlos Abanades, Raquel Barba, José Barberán, Carlos Bibiano, Jesús Canora, Rafael Cantón, Cristina Calvo, Mar Carretero, Fernando Cava, Rafael Delgado, Julio García-Rodríguez, Juan González del Castillo, Cristina González de Villaumbrosia, Montserrat Hernández, Juan Emilio Losa, Francisco Javier Martínez-Peromingo, José María Molero, Patricia Muñoz, Elena Onecha, Mamiko Onoda, Juan Rodríguez, Marta Sánchez-Celaya, José Antonio Serra, Antonio Zapatero	
In Memoriam	20 years without Manolo Gomis: Infectologist, Humanist and Friend	

M. Dolores Folgueira
López^{1,2,3}

Utilización del test de detección de antígeno de SARS-CoV-2 en exudado nasofaríngeo para el control de la infección por COVID-19

¹Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Universitario 12 de Octubre,

²Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre, imas12.

³Departamento de Medicina. Universidad Complutense de Madrid.

Article history

Published: 24 November 2020

La pandemia mundial de SARS-CoV-2 se ha propagado a un ritmo acelerado debido a la eficaz transmisión del virus no sólo por parte de personas sintomáticas, sino incluso por asintomáticos y pre-sintomáticos. Los países que han tenido éxito en el control de la pandemia lo han conseguido mediante el uso de medidas para reducir la transmisión (utilización de mascarilla, distanciamiento social) unidas a una política activa de rastreo y aislamiento de los sujetos infectados y la cuarentena de sus contactos [1-2]. Hasta la fecha la técnica diagnóstica sobre la que se han basado las estrategias de control ha sido la detección molecular del ARN viral en muestras respiratorias, basándose la mayoría de los ensayos comerciales disponibles en RT-PCR en tiempo real. Esta es la técnica de referencia por su sensibilidad y especificidad para la detección de virus respiratorios. Pese a la generalización de su uso con este fin desde la pandemia gripal del 2009, hay que recordar que su realización requiere equipamiento con un coste elevado y personal entrenado para su realización. En la práctica estas características han generado cuellos de botella en la realización de las pruebas cuando la solicitud de las mismas se ha multiplicado, generando retrasos prolongados en la notificación de los resultados y comprometiendo su utilidad en la investigación epidemiológica. A esto se ha unido que los laboratorios diagnósticos nos hemos visto obligados a utilizar varios proveedores de reactivos, siendo imposible en la práctica el seguimiento de cada paciente con una única técnica, comprometiéndose así algunas de las recomendaciones (utilización del valor del ciclo umbral (Ct) en el que comienza a detectarse la amplificación) recogidas en los protocolos de actuación publicados. Todos estos protocolos recogen la utilización de técnicas moleculares para el seguimiento de los pacientes infectados que no pueden desaislarse hasta la negativización de las mismas, equiparando la detección del ARN viral con la viabilidad del virus, un su-

puesto que no es aplicable a ningún virus respiratorio, y especialmente a SARS-CoV-2, ya que nos encontramos que los pacientes infectados pueden tener muestras en las que la RT-PCR es positiva después de haber superado la infección y sin evidencia de viabilidad viral [3-5].

La irrupción en el panorama diagnóstico de una técnica rápida de detección antigénica (PanBio, Abbott) con una excelente sensibilidad ha hecho que la estrategia de control de la propagación de la infección en la Comunidad de Madrid haya implementado su utilización tanto en Atención Primaria como en los Servicios de Urgencias hospitalarios. Aunque la recomendación de utilización del test especifica su aplicación a pacientes sintomáticos, sabemos que los pacientes que no presentan síntomas tienen cargas virales indistinguibles de los individuos sintomáticos [6-7]. Este test es por tanto aplicable al estudio de contactos de un caso índice.

El test antigénico permite obtener resultados tras 15 min de incubación y su sensibilidad comparada con RT-PCR ha demostrado ser excelente en los estudios realizados [8-9] hasta el momento, indicando una correlación entre la positividad del test y el valor de Ct, como medida semicuantitativa de la carga viral presente en la muestra. Todo parece indicar que el test de detección antigénica sería negativo en aquellas muestras que presentan un Ct elevado. Estas muestras en los pacientes con sintomatología leve, no contienen virus viable. Esto debe hacer que nos planteemos la utilización de este test en un contexto más amplio, que puede incluir desde trabajadores sanitarios con sospecha de haber contraído la infección, personal y residentes de instituciones cerradas o de asistencia a la tercera edad, a centros escolares. No debemos olvidar que se están comercializando otros test antigénicos, que una vez evaluados y si sus características lo permiten, pueden ser integrados en las rutinas diagnósticas de los Servicios de Microbiología. Para garantizar el éxito de una estrategia de control de la infección debemos asegurar la correcta utilización del test PanBio, ya que su interpretación es visual, y para cualquier test antigénico que pueda utilizarse, conseguir que la información obtenida

Correspondence:

M. Dolores Folgueira López
Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Universitario 12 de Octubre,
E-mail: mfolgueira@salud.madrid.org

tras su realización pueda ser accesible en cualquier punto de atención sanitaria al que acuda el paciente. Es también imprescindible que las guías de actuación que publican las autoridades sanitarias se actualicen constantemente e incluyan la utilización de este tipo de test.

CONFLICTO DE INTERESES

La autora declara no tener conflictos de intereses

BIBLIOGRAFÍA

1. Pan A, Liu L, Wang C, et al. Association of Public Health Interventions With the Epidemiology of the COVID-19 Outbreak in Wuhan, China. *JAMA*. 2020 323:1915-1923. doi: 10.1001/jama.2020.6130.
2. Baker MG, Wilson N, Anglemeyer A. Successful elimination of COVID-19 transmission in New Zealand. *N Engl J Med* 2020; 383:e56. doi: 10.1056/NEJMc2025203.
3. Wolfel R, Corman VM, Guggemos W, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature* 2020; 581(7809): 465-469. doi: 10.1038/s41586-020-2196-x
4. van Kampen JJA, van de Vijver DAMC, Fraaij PLA, et al. Shedding of infectious virus in hospitalized patients with coronavirus disease-2019 (COVID-19): duration and key determinants. *medRxiv* 2020:2020.06.08.20125310. doi: 10.1101/2020.06.08.20125310
5. Folgueira MD, J Luczkowiak J, Lasala F, Perez-Rivilla A, Delgado R. Persistent SARS-CoV-2 replication in severe COVID-19. *medRxiv* 2020.06.10.20127837. doi: 10.1101/2020.06.10.20127837
6. Chamie G, Marquez C, Crawford E, et al. SARS-CoV-2 Community Transmission disproportionately affects Latinx population during Shelter-in-Place in San Francisco. *Clin Infect Dis*. 2020 Aug 21: ciae1234. doi: 10.1093/cid/ciae1234
7. Oran DP, Topol EJ. Prevalence of asymptomatic SARS-CoV-2 infection: a narrative review. *Ann Intern Med*. 2020; 173: 362-367. doi: 10.7326/M20-3012
8. Masia M, Fernandez-Gonzalez M, Sanchez M. Nasopharyngeal Panbio COVID-19 antigen performed at point-of-care has a high sensitivity in symptomatic and asymptomatic patients with higher risk for transmission and older age. *medRxiv* 2020.11.16.20230003. doi: 10.1101/2020.11.16.20230003
9. Gremmels H, Winkel BMF, Schuurman R, et al. Real-life validation of the Panbio COVID-19 Antigen Rapid Test (Abbott) in community-dwelling subjects with symptoms of potential SARS-CoV-2 infection. *medRxiv* 2020.10.16.20214189. doi: 10.1101/2020.10.16.20214189

Carmen Rodríguez
Hernández¹
Juan Carlos Sanz Moreno²

Inmunidad frente a SARS-CoV-2: caminando hacia la vacunación

¹Servicio de Inmunología. Unidad de Gestión Clínica de Hematología, Inmunología y Genética. Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz, España.

²Unidad de Microbiología Clínica. Laboratorio Regional de Salud Pública. Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid, Madrid, España.

Article history

Received: 11 August 2020; Revision Requested: 1 September 2020; Revision Received: 3 September 2020; Accepted: 3 September 2020; Published: 11 September 2020

RESUMEN

Los coronavirus (CoVs) son un amplio grupo de virus en el que se encuentra el SARS-CoV-2 (familia Coronaviridae, subfamilia Coronavirinae, género Betacoronavirus y subgénero Sarbecovirus). Sus principales proteínas estructurales son la de membrana (M), la de envoltura (E), la nucleocápside (N) y la espicular (S). La respuesta inmune frente a SARS-CoV-2 implica la vertiente celular y humoral, con anticuerpos neutralizantes potencialmente defensivos fundamentalmente dirigidos frente al antígeno S. Aunque los datos de seroprevalencia se asumen muy frecuentemente como marcadores de protección, no necesariamente lo son. En España se estima que al menos cuatro quintas partes de la población deberían estar inmuno-protegidas para asegurar la inmunidad de grupo. Dada la alta tasa de letalidad por COVID-19, la adquisición de esta protección únicamente mediante el contagio natural no es asumible y se debe abogar por otras medidas como puede ser la inmunización masiva. En la actualidad existen varios prototipos de vacunas (que incluyen virus vivos, vectores virológicos, péptidos y proteínas y ácidos nucleicos) en diversas etapas de evaluación clínica. Se prevé que en breve alguna de estas nuevas vacunas se encuentre ya disponible en el mercado. En este texto se revisan aspectos relacionados con estos asuntos.

Palabras clave: SARS-CoV-2, inmunidad, vacunación

Immunity against SARS-CoV-2: walking to the vaccination

ABSTRACT

The coronavirus are a wide group of viruses among that the SARS-CoV-2 is included (family Coronaviridae, subfamily Coronavirinae, genus Betacoronavirus and subgenus Sarbecovirus). Its main structural proteins are the membrane (M), the envelope (E), the nucleocapsid (N) and spike (S). The immune response to SARS-CoV-2 involves the cellular and the humoral sides, with neutralizing antibodies fundamentally directed against the S antigen. Although the seroprevalence data are frequently assumed as protection markers, no necessarily they are. In Spain, it is estimated that, to assure the herd immunity, at least four-fifths of the population should be immunoprotected. Due the high fatality rate of COVID-19, the acquisition of the protection only by the natural infection it not assumable and other measures as the mass immunization are required. Currently, there are several vaccine prototypes (including life virus, viral vectors, peptides and proteins and nucleic acid) in different phase of clinical evaluation. Foreseeably, some of these news vaccines would be son commercially available. In this text, aspects related to these issues are reviewed.

Key words: SARS-CoV-2, immunity, vaccination

INTRODUCCIÓN

La pandemia de COVID-19 ha supuesto un gran desastre sanitario y social que ha alterado drásticamente la forma vida de personas de todo el mundo. La mitigación de sus consecuencias reside, muy especialmente, en una prevención que resulte eficaz y pueda ser extensiva a gran parte de la población. Este documento se centra en aspectos que conciernen a la inmunidad, sero-protección y desarrollo de nuevas vacunas en fase de preparación frente al virus causante de esta enfermedad.

Correspondencia:
Dr. Juan Carlos Sanz Moreno
Unidad de Microbiología Clínica. Laboratorio Regional de Salud Pública de la Comunidad de Madrid. Dirección General de Salud Pública de la Comunidad de Madrid. Centro de Especialidades Médicas Vicente Soldevilla 2ª planta. C/ Sierra de Alcañices 8. Madrid 28053
Tfno.: 91 779 88 65.
E-mail: juan.sanz@salud.madrid.org

CARACTERÍSTICAS DE LOS CORONAVIRUS Y SARS-COV-2

Los coronavirus (CoVs) son un amplio grupo de virus ARN pertenecientes al orden Nidovirales que alberga a las familias Arteriviridae, Mesoniviridae, Roniviridae y Coronaviridae. Esta última se divide en las subfamilias Torovirinae y Coronavirinae. La subfamilia Coronavirinae incluye los géneros Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus y Deltacoronavirus [1]. El género Betacoronavirus posee los subgéneros Embecovirus, Hibecovirus, Merbecovirus, Nobecovirus y Sarbecovirus [2]. A este último pertenece el SARS-CoV-2 [3]. El acrónimo SARS-CoV-2 hace referencia al virus (por los términos en inglés "*severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*") responsable de la enfermedad denominada COVID-19 ("*coronavirus disease*" 2019).

Las principales proteínas estructurales de los coronavirus son la de membrana (M), la de envoltura (E), la nucleocápside (N) que liga el ARN y conforma la cápside y la espicular "*spike protein*" (S) [1]. En una porción de Betacoronavirus existe una quinta proteína estructural compuesta por la hemaglutinina-esterasa (HE) [1]. La proteína S es superficial, con forma de hongo, se une a la célula del huésped mediando la entrada del virus. Está compuesta por las subunidades S1 (que favorece la adhesión) y S2 (responsable de la fusión a la membrana) [4]. El dominio receptor de unión "*receptor binding domain*" (RBD) es la fracción de la subunidad S1 que se une a la enzima convertidora de angiotensina 2 "*angiotensin-converting enzyme*" 2 (ACE2) de la célula hospedadora [4, 5]. SARS-CoV-2 emplea esta enzima y la serina-proteasa TMPRSS2 para su penetración [6]. De esta forma, la proteína S podría ser una diana en la inhibición del acceso celular del virus [7].

RESPUESTA INMUNE FRENTE A CORONAVIRUS

En la inmunidad protectora frente a SARS-CoV-2 intervienen tanto la respuesta inmune innata como la adaptativa, en sus vertientes humoral y celular [8]. La respuesta frente a SARS-CoV-2 depende de la especificidad antigénica. Los principales antígenos del virus que exhiben capacidad neutralizante son el dominio N-terminal "*N-terminal domain*" (NTD) y el RBD de S1 y la S2 [9]. La respuesta generada por los linfocitos B frente a los coronavirus es protectora, pero de corta duración y orientada primariamente a la cepa homóloga [10]. Por otro lado, si bien la respuesta inmune es esencial para aclarar el virus, también contribuye a la progresión de la enfermedad [8]. En algunos pacientes, el sistema inmune no puede controlar el virus en la fase aguda, y tras una o dos semanas desde el inicio de los síntomas, se desarrolla daño pulmonar severo con "distrés" respiratorio (SDRA) que conlleva una alta mortalidad [11]. La progresión hacia SDRA está relacionada con una hiper-activación inmune, que se ha denominado síndrome de activación macrofágica y tormenta de citoquinas, en la que produce una liberación excesiva e incontrolada de mediadores pro-inflamatorios con un incremento de marcadores de activación de macrófagos. Los principales cambios inmunopato-

lógicos en COVID-19 incluyen linfopenia T (la caída de CD8+ es signo de mal pronóstico), desequilibrio de citoquinas, alteraciones Th1, eosinopenia y fluctuación de reactantes de fase aguda (con elevación de proteína C reactiva, procalcitonina e interleuquina 6) [12]. Estos cambios pueden desembocar en un fracaso multiorgánico.

SEROREPREVALENCIA

La tasa de seroconversión de IgM y especialmente de IgG en la COVID-19 es alta. En el caso del SARS-CoV (predecesor de SARS-CoV-2) la duración de IgM e IgA es de aproximadamente 6 meses. La IgG alcanza su pico a los cuatro meses y declina tras un año [10]. Los linfocitos T de memoria representarían un marcador correlacionado de protección que persiste hasta 6 años tras la infección [10]. Una potente reactividad celular T se relaciona con elevada producción de anticuerpos neutralizantes [13]. El empleo de distintos métodos de inmunodiagnóstico permite determinar la existencia de anticuerpos específicos contra SARS-CoV-2. La prevalencia de anticuerpos séricos frente a otros coronavirus humanos causantes de infecciones respiratorias leves y autolimitadas (como los Alphacoronavirus HCoV-229E y HCoV-NL63 y los Betacoronavirus HCoV-OC43 y HCoV-HKU1 es elevada [1, 14]. Sin embargo, la reactividad cruzada tras la infección por un tipo de coronavirus distinto a SARS-CoV-2 (como el previo SARS CoV) parece ser limitada e incapaz de asegurar la total protección [15]. Se ha sugerido un posible reconocimiento antigénico cruzado por linfocitos T CD4+, a partir de coronavirus del resfriado común, en individuos no expuestos a SARS-CoV-2 que va dirigido mayoritariamente frente a la proteína S (pero en el que participarían también otros antígenos estructurales como M y N) [16]. Según los datos de estudios de seroprevalencia a gran escala emprendidos en nuestro país, la tasa de exposición a SARS-CoV-2 en la población general puede situarse próxima al 5% [17]. Esta cifra es más elevada en grupos de alta incidencia como los sanitarios [18]. No obstante, esta seroprevalencia no indica necesariamente protección. El procedimiento serológico definitivo para confirmar la presencia de anticuerpos protectores es el empleo de métodos de neutralización [19, 20]. El suero de personas convalecientes proporciona reactividad neutralizante cruzada frente al virus [6]. Esta reactividad hace referencia a la capacidad de los anticuerpos de evitar la infección por el virus. Para su realización se requiere enfrentar el suero con cultivos celulares del virus y determinar la inhibición del efecto citopático [21, 22]. Se desconoce el título de anticuerpos neutralizantes que confiere con certeza protección frente a SARS-CoV-2 [23]. Por motivos de bioseguridad, en lugar de emplear cepas salvajes de SARS-CoV-2 existen modelos que incorporan pseudovirus (partículas víricas desarrolladas in vitro que albergan un genoma modificado y expresan determinados antígenos como la proteína S) [24]. No todos los anticuerpos generados frente a los coronavirus poseen funcionalidad. Los anticuerpos neutralizantes IgG son secretados por linfocitos B tras la infección [25] y bloquean la entrada celular del virus y previniendo la reinfección. En la práctica, la puesta en marcha

de estudios de neutralización en muestras con un elevado número de participantes no es técnicamente viable. En estudios poblacionales amplios se pueden realizar con inmunoensayos que incorporan antígenos purificados y definidos de SARS-CoV-2. El tipo de antígeno empleado condiciona si el test sólo revela exposición previa frente al virus (ejemplo anticuerpos frente a al antígeno N) [26], o respuesta potencialmente defensiva (anticuerpos frente al antígeno RBD de la proteína S) [19]. Aunque los métodos serológicos dirigidos frente al antígeno S podrían usarse en el trabajo de campo para la ejecución de estudios poblacionales encaminados a la evaluación indirecta de protección [27], teniendo en mente que la inmunidad celular ofrece una defensa más persistente para prevenir la COVID-19, la utilización de ensayos para la detección específica de repuesta de células T gamma interferón constituye una alternativa diagnóstica muy atractiva [23, 28]. En la actualidad ya se dispone de procedimientos comerciales, destinados a determinar la respuesta de células T frente a SARS-CoV-2, que se basan en tecnologías previamente aplicadas (T-SPOT) en otras infecciones como tuberculosis.

INMUNIDAD DE GRUPO

Aunque los datos de seroprevalencia se asumen muy frecuentemente como marcadores de protección, no necesariamente lo son. El término inmunidad de grupo (o de rebaño) hace referencia a la protección que ejercen los individuos inmunes (con anticuerpos neutralizantes y/o respuesta celular defensiva eficiente adquiridos por la exposición natural o por una potencial vacunación) sobre los susceptibles al dificultar la transmisión de la infección. En el caso de la COVID-19, el nivel requerido en base a la infectividad del virus se ha estimado generalmente en torno al 70% [29]. En esta asunción intervienen conceptos como el número reproductivo básico (R_0), definido por los casos secundarios generados a partir de un sujeto infectado en una población completamente susceptible, y el número reproductivo efectivo (R_t), más adaptado a las condiciones reales, y que indica los casos secundarios a lo largo del

avance de la epidemia (en la que se irán incrementando los individuos inmunes tras la infección) [30]. Este R_t permite calcular el nivel crítico mínimo de inmunidad poblacional adquirido (P_{crit}) empleando la fórmula $P_{crit} = 1 - (1/R_t)$ y determinando el $P_{crit} \times 100$ que oscila en diferentes entornos entre el 30,1% y el 85,0% [30]. Las diferencias en comportamientos culturales, densidades de población, estructura demográfica, edad y asociación con comorbilidades influyen en la transmisión y severidad de la pandemia [29]. En España para un R_t provisional del 5,17% el $P_{crit} \times 100$ estimado es del 80,7% [30] (es decir al menos cuatro quintas partes de la población deberían estar inmuno-protegidas). La incidencia post-pandémica de COVID-19 durante los próximos años dependerá de forma importante de la duración de la inmunidad generada por la infección [31]. Dada la alta tasa de letalidad por COVID-19 la adquisición de un P_{crit} suficientemente elevado solamente mediante el contagio natural no es asumible y se debe abogar por medidas como la inmunización masiva [29, 32]. Hasta que se disponga de programas de inmunización con vacunas seguras y eficaces que confieran inmunidad de grupo es preciso mantener los programas de protección de grupos vulnerables y retomar, en su caso, actuaciones de aislamiento y distanciamiento social, en especial ante la eventual emergencia de re-brotes.

INMUNIZACIÓN

Entre las características esenciales de las vacunas habría que mencionar su seguridad (reducida posibilidad de aparición de efectos adversos y reacciones indeseables) y su eficacia (beneficios derivados de su aplicación por su capacidad protectora). En el desarrollo clínico de nuevas vacunas se suceden cuatro fases de evaluación [33]. La fase 1, que es experimental, se ejecuta en pocos sujetos sanos y examina básicamente la reactogenicidad más evidente. La fase 2, en ensayos clínicos controlados, se amplía a cientos de voluntarios y monitoriza la inmunogenicidad y la aparición de efectos adversos comunes. La fase 3 está destinada a determinar la eficacia y seguridad sobre eventos adversos más raros en grupos de cientos

Tabla 1 Distribución, según la metodología empleada para su diseño, de las vacunas candidatas frente a SARS-CoV-2 en el registro de la OMS de fecha 31 de julio de 2020 [38].

Tipo de vacuna	Evaluación clínica	Evaluación pre-clínica	En cualquier evaluación
Subunidades proteicas	7 (4,2%)	50 (30,3%)	57 (34,5%)
Vectores víricos no replicativos	4 (2,4%)	20 (12,1%)	24 (14,5%)
ARN	6 (3,6%)	16 (9,7%)	22 (13,3%)
Vectores víricos replicativos	0 (0%)	18 (10,9%)	18 (10,9%)
ADN	4 (2,4%)	11 (6,7%)	15 (9,1%)
Vacunas inactivadas	4 (2,4%)	9 (5,5%)	13 (7,9%)
Partículas similares a virus	1 (0,6%)	12 (7,3%)	13 (7,9%)
Vacunas vivas atenuadas	0 (0%)	3 (1,8%)	3 (1,8%)
Total	26 (15,8%)	139 (84,2%)	165 (100%)

Tabla 2

Vacunas frente a SARS-CoV-2 de acuerdo con sus características y fase de evaluación clínica [37, 38].

Tipo de vacuna	Ventajas	Inconvenientes	Ejemplo Vacunas de este tipo en Fase 3 ^a	Ejemplo Vacunas de este tipo en Fase 2 ^a	Ejemplo Vacunas de este tipo en Fase 1/2 o Fase 1 ^a
Subunidades proteicas	No incluye material infeccioso Intensa respuesta humoral	Precisa co-adyuvantes		Anhui Zhifei Longcom Biopharmaceutical/Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences	Novavax Kentucky Bioprocessing, Inc Clover Biopharmaceuticals Inc./GSK/Dynavax Vaxine Pty Ltd/Medvax University of Queensland/CSI/Seqirus Medigen Vaccine Biologics Corporation/NIAD/Dynavax
Vectores víricos no replicativos	Experiencia en el campo de terapia genética Intensa respuesta humoral Intensa respuesta celular	Riesgo de integración cromosómica y oncogénica Posibilidad de anticuerpos pre-existentes frente al vector Potencial inflamatorio	University of Oxford/AstraZeneca (ChAdOx1-S)	CanSino Biological Inc./Beijing Institute of Biotechnology	Janssen Pharmaceutical Companies Gamaleya Research Institute
ARN	No incluye material infeccioso No potencial de mutagénesis Diseño y producción rápidos Intensa respuesta humoral Intensa respuesta celular Posibilidad de formulación multivalente	Escasa experiencia Posibles reacciones inflamatorias Suele precisar "booster"	Moderna/NIAD BioNTech/Fosun Pharma/Pfizer		Acturus/Duke-NUS Imperial College London Curevac People's Liberation Army (PLA) Academy of Military Sciences/Walvax Biotech
Vectores víricos replicativos	Experiencia en el campo de terapia genética Intensa respuesta de anticuerpos Intensa respuesta celular	Riesgo de integración cromosómica y oncogénica Posibilidad de anticuerpos pre-existentes frente al vector Potencial inflamatorio			Por el momento no hay vacunas de este tipo en fase de evaluación clínica
ADN	No incluye material infeccioso Posibilidad de uso en inmunocomprometidos Diseño y producción rápidos Estabilidad prolongada Posibilidad de formulación multivalente	Escasa experiencia Inmunidad de mucosas variable Riesgo de integración cromosómica			Inovio Pharmaceuticals/ International Vaccine Institute Osaka University/ AnGes/ Takara Bio Cadila Healthcare Limited Genexine Consortium
Vacunas inactivadas	Tecnología conocida Fuerte respuesta inmune Multivalencia Formulación simple No precisa co-adyuvantes	Requerimientos de bioseguridad Dificultad de fabricación	Sinovac Wuhan Institute of Biological Products/ Sinopharm Beijing Institute of Biological Products/ Sinopharm		Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences Bharat Biotech
Partículas similares a virus	No incluye material infeccioso Intensa respuesta humoral				Medicago Inc
Vacunas vivas atenuadas	Tecnología conocida Fuerte respuesta inmune Multivalencia Formulación simple No precisa co-adyuvantes Producción económica	Requerimientos de bioseguridad Riesgo de recuperación de la virulencia Dificultad de fabricación			Por el momento no hay vacunas de este tipo en fase de evaluación clínica

^aRegistro de la OMS (a fecha 31 de julio de 2020) de vacunas candidatas frente a SARS-CoV-2

a miles de personas (puede abarcar estudios controlados y no controlados). La fase 4 se amplía a grandes grupos de población (incluidos grupos vulnerables o de riesgo) para valorar la incidencia a largo plazo de reacciones indeseadas. A pesar de la urgencia derivada por la actual pandemia, la necesidad del cumplimiento secuencial de estas fases ralentiza la disponibilidad de nuevas vacunas. No obstante, los logros alcanzados tan brevemente (sólo unos meses tras el descubrimiento del virus) hacia la vacunación de la COVID-19 no son comparables a los de ninguna otra enfermedad infecciosa previa. Existen dos aproximaciones de inmunización: la pasiva y la activa. La inmunización pasiva tiene versiones tanto profilácticas como terapéuticas y puede efectuarse mediante transferencia de inmunoglobulinas (por ejemplo, con plasma de sujetos convalecientes, suero hiper-immune o anticuerpos neutralizantes monoclonales). Sin embargo, cuando se piensa en vacunación, en general se hace referencia realmente a la inmunización activa, a través de la inducción de una respuesta en el huésped por estimulación antigénica. En esta última estrategia es en la que nos centraremos a continuación. Idealmente las vacunas frente a SARS-CoV-2 deberían estimular tanto la inmunidad celular como la humoral. Tras la vacunación, la respuesta específica de células de T parece adelantarse al menos una semana respecto a la humoral [34]. La tecnología implementada en las vacunas frente a SARS-CoV-2 es diversa e incluye virus vivos enteros atenuados e inactivados, vectores virológicos (replicativos y no replicativos que expresen un antígeno relevante), partículas similares a virus, péptidos, proteínas recombinantes, células presentadoras de antígeno y ácidos nucleicos (ADN y ARN) [35-37]. Las vacunas de ácidos nucleicos constituyen la alternativa de inmunización más novedosa y se sustentan en la transferencia genética para la síntesis endógena de proteínas del virus por las células del receptor sin una estimulación antigénica directa. A fecha 31 de julio de 2020 la OMS [38] recopiló un registro de 165 vacunas en investigación. Ciento treinta y nueve de ellas estaban en fase preclínica y 26 se encontraban ya sujetas a evaluación clínica (5 en fase 3, 2 en fase 2, 10 en fase 1,2 y 9 en fase 1). De estas 165 vacunas la distribución según tipo se muestra en la tabla 1. En la tabla 2 se presentan varios ejemplos de vacunas frente a SARS-CoV-2 según sus bases metodológicas y etapas de valoración clínica. Las aproximaciones más frecuentes son las que implican subunidades proteicas, vectores víricos replicativos y ácidos nucleicos. Las vacunas clásicas con virus atenuados han sido menos investigadas por sus potenciales riesgos asociados. En las vacunas que emplean vectores, como adenovirus, aunque la respuesta inmune es dosis dependiente [39], la aparición de reacciones adversas es mayor al aumentar la carga viral [40]. En las vacunas de ácidos nucleicos las reacciones adversas también se incrementan en relación con la dosis [41]. En España, existen grupos punteros de investigación, con líneas de inmunización frente al virus de inmunodeficiencia humana [42, 43] y vectores vacunales para otros virus (como Zika) [44] y con modelos de coronavirus basados en sistemas genéticos de síntesis de ARN [45] con interacción con el huésped para dar lugar a respuestas protectoras [46]. Esto ha permitido

plantear varias vacunas que se encuentran en fase pre-clínica, como las de vectores víricos no replicativos MVA-S (del Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer [IDIBAPS] del Hospital Clínic de Barcelona) y la MVA con expresión de proteínas estructurales (del Centro Nacional de Biotecnología del Centro Superior de Investigaciones Científicas [CNB-CSIC]) y de ácidos nucleicos como la de ARNm (del DIBAPS) y de ARN derivado de virus SARS-CoV-2 defectivo (del CNB-CSIC) [38]. A nivel mundial, las vacunas que han alcanzado actualmente la etapa final de pruebas en humanos (antes de ser aprobadas para el uso público) son las inactivadas (de Sinovac, Wuhan Institute of Biological Products/Sinopharm, Beijing Institute of Biological Products/Sinopharm), las de ARN (de Moderna/NIAID y de BioNTech/Fosun Pharma/Pfizer) y la de vectores víricos no replicativos (de Oxford/AstraZeneca) [38]. Se espera que alguna de ellas pueda estar disponible este mismo año o comienzos del próximo.

En conclusión, los avances en el conocimiento de los determinantes antigénicos de SARS-CoV-2 y de su correspondiente respuesta inmune abren horizontes optimistas sobre las actuales perspectivas de vacunación y plantean un futuro cada vez más concreto para la atenuación, y en el mejor de los casos resolución, de la crisis sanitaria que estamos sufriendo. Las nuevas vacunas deberían cumplir con los requisitos deseables de accesibilidad económica y equidad socio-sanitaria que permitan idealmente su disponibilidad universal.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses que puedan influir en lo expresado en este texto.

BIBLIOGRAFÍA

1. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol.* 2015;1282:1-23. doi:10.1007/978-1-4939-2438-7_1
2. Wassenaar TM, Zou Y. 2019_nCoV/SARS-CoV-2: rapid classification of betacoronaviruses and identification of Traditional Chinese Medicine as potential origin of zoonotic coronaviruses. *Lett Appl Microbiol.* 2020;70(5):342-348. doi:10.1111/lam.13285
3. Zheng J. SARS-CoV-2: an Emerging Coronavirus that Causes a Global Threat. *Int J Biol Sci.* 2020;16(10):1678-1685. doi: 10.7150/ijbs.45053. <http://www.ijbs.com/v16p1678.htm>
4. Lan J, Ge J, Yu J, Shan S, Zhou H, Fan S, et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature.* 2020;581(7807):215-220. doi:10.1038/s41586-020-2180-5
5. Yi C, Sun X, Ye J, Ding L, Liu M, Yang Z, et al. Key residues of the receptor binding motif in the spike protein of SARS-CoV-2 that interact with ACE2 and neutralizing antibodies. *Cell Mol Immunol.* 2020;1-10. doi:10.1038/s41423-020-0458-z "en prensa"
6. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and

- TPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271-280.e8. doi:10.1016/j.cell.2020.02.052
7. Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veesler D. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*. 2020;181(2):281-292.e6. doi:10.1016/j.cell.2020.02.058
 8. Ni L, Ye F, Cheng ML, Feng Y, Deng YQ, Zhao H, et al. Detection of SARS-CoV-2-Specific Humoral and Cellular Immunity in COVID-19 Convalescent Individuals. *Immunity*. 2020;52(6):971-977.e3. doi:10.1016/j.immuni.2020.04.023
 9. Jiang S, Hillyer C, Du L. Neutralizing Antibodies against SARS-CoV-2 and Other Human Coronaviruses. *Trends Immunol*. 2020;41(5):355-359. doi:10.1016/j.it.2020.03.007
 10. Channappanavar R, Zhao J, Perlman S. T cell-mediated immune response to respiratory coronaviruses. *Immunol Res*. 2014;59(1-3):118-128. doi:10.1007/s12026-014-8534-z
 11. Lin L, Lu L, Cao W, Li T. Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection-a review of immune changes in patients with viral pneumonia. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):727-732. doi:10.1080/22221751.2020.1746199
 12. Azkur AK, Akdis M, Azkur D, Sokolowska M, van de Veen W, Brüggemann MC, et al. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy*. 2020;75(7):1564-1581. doi:10.1111/all.14364
 13. Rokni M, Ghasemi V, Tavakoli Z. Immune responses and pathogenesis of SARS-CoV-2 during an outbreak in Iran: Comparison with SARS and MERS. *Rev Med Virol*. 2020;30(3):e2107. doi:10.1002/rmv.2107
 14. Gorse GJ, Patel GB, Vitale JN, O'Connor TZ. Prevalence of antibodies to four human coronaviruses is lower in nasal secretions than in serum. *Clin Vaccine Immunol*. 2010;17(12):1875-1880. doi:10.1128/CVI.00278-10 <https://cvi.asm.org/content/cdli/17/12/1875.full.pdf>
 15. Ou X, Liu Y, Lei X, Li P, Mi D, Ren L, et al. Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. *Nat Commun*. 2020;11(1):1620. Published 2020 Mar 27. doi:10.1038/s41467-020-15562-9
 16. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM, Moderbacher CR et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell*. 2020;181(7):1489-1501.e15. doi:10.1016/j.cell.2020.05.015
 17. Pollán M, Pérez-Gómez B, Pastor-Barriuso R, Oteo J, Hernán MA, Pérez-Olmeda M, et al. ENE-COVID Study Group. Prevalence of SARS-CoV-2 in Spain (ENE-COVID): a nationwide, population-based seroepidemiological study. *Lancet*. 2020;S0140-6736(20)31483-5. doi:10.1016/S0140-6736(20)31483-5
 18. García-Basteiro AL, Moncunill G, Tortajada M, Vidal M, Guinovart C, Jiménez A, et al. Sero-prevalence of antibodies against SARS-CoV-2 among health care workers in a large Spanish reference hospital. *Nat Commun*. 2020;11(1):3500. doi:10.1038/s41467-020-17318-x
 19. Perera RA, Mok CK, Tsang OT, Lv H, Ko RL, Wu NC, et al. Serological assays for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), March 2020. *Euro Surveill*. 2020;25(16):2000421. doi:10.2807/1560-7917.ES.2020.25.16.2000421
 20. Nie J, Li Q, Wu J, Zhao C, Hao H, Liu H, et al. Establishment and validation of a pseudovirus neutralization assay for SARS-CoV-2. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):680-686. doi:10.1080/22221751.2020.1743767
 21. Manenti A, Maggetti M, Casa E, Martinuzzi D, Torelli A, Trombetta CM, et al. Evaluation of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies using a CPE-based colorimetric live virus micro-neutralization assay in human serum samples. *J Med Virol*. 2020;10.1002/jmv.25986. doi:10.1002/jmv.25986 "en prensa"
 22. Calderaro A, Arcangeletti MC, De Conto F, Buttrini M, Montagna P, Montecchini S, et al. SARS-CoV-2 infection diagnosed only by cell culture isolation before the local outbreak in an Italian seven-week-old suckling baby. *Int J Infect Dis*. 2020;96:387-389. doi:10.1016/j.ijid.2020.05.035 "en prensa"
 23. Manners C, Larios Bautista E, Sidoti H, Lopez OJ. Protective Adaptive Immunity Against Severe Acute Respiratory Syndrome Coronaviruses 2 (SARS-CoV-2) and Implications for Vaccines. *Cureus*. 2020;12(6):e8399. doi:10.7759/cureus.8399
 24. Won J, Lee S, Park M, Kim TY, Park MG, Choi BY, et al. Development of a Laboratory-safe and Low-cost Detection Protocol for SARS-CoV-2 of the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Exp Neurobiol*. 2020;29(2):107-119. doi:10.5607/en20009
 25. Cao Y, Su B, Guo X, Sun W, Deng Y, Bao L, et al. Potent neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 identified by high-throughput single-cell sequencing of convalescent patients' B cells. *Cell*. 2020;10.1016/j.cell.2020.05.025. doi:10.1016/j.cell.2020.05.025 "en prensa"
 26. Bryan A, Pepper G, Wener MH, Fink SL, Morishima C, Chaudhary A, et al. Performance Characteristics of the Abbott Architect SARS-CoV-2 IgG Assay and Seroprevalence in Boise, Idaho. *J Clin Microbiol*. 2020 Jul 23;58(8):e00941-20. doi:10.1128/JCM.00941-20
 27. Okba NMA, Müller MA, Li W, Wang C, GeurtsvanKessel CH, Corman VM, et al. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-Specific Antibody Responses in Coronavirus Disease 2019 Patients. *Emerg Infect Dis*. 2020;26(7):10.3201/eid2607.200841. doi:10.3201/eid2607.200841
 28. Melgaço JG, Azamor T, Ano Bom APD. Protective immunity after COVID-19 has been questioned: What can we do without SARS-CoV-2-IgG detection? *Cell Immunol*. 2020;353:104114. doi:10.1016/j.cellimm.2020.104114
 29. Randolph HE, Barreiro LB. Herd Immunity: Understanding COVID-19. *Immunity*. 2020;52(5):737-741. doi:10.1016/j.immuni.2020.04.012
 30. Kwok KO, Lai F, Wei WI, Wong SYS, Tang JWT. Herd immunity - estimating the level required to halt the COVID-19 epidemics in affected countries. *J Infect*. 2020;80(6):e32-e33. doi:10.1016/j.jinf.2020.03.027
 31. Kissler SM, Tedijanto C, Goldstein E, Grad YH, Lipsitch M. Projecting the transmission dynamics of SARS-CoV-2 through the postpandemic period. *Science*. 2020;368(6493):860-868. doi:10.1126/science.abb5793
 32. Clemente-Suárez VJ, Hormeño-Holgado A, Jiménez M, Benítez-

- Agudelo JC, Navarro-Jiménez E, Perez-Palencia N, et al. Dynamics of Population Immunity Due to the Herd Effect in the COVID-19 Pandemic. *Vaccines* (Basel). 2020;8(2):E236. doi:10.3390/vaccines8020236
33. Tozzi AE. Field evaluation of vaccine safety. *Vaccine*. 2004;22(15-16):2091-2095. doi:10.1016/j.vaccine.2004.01.013
34. Zhu FC, Li YH, Guan XH, Hou LH, Wang WJ, Li JX, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. *Lancet*. 2020;395(10240):1845-1854. doi:10.1016/S0140-6736(20)31208-3
35. Thanh Le T, Andreadakis Z, Kumar A, Gómez Román R, Tollefsen S, Saville M, et al. The COVID-19 vaccine development landscape. *Nat Rev Drug Discov*. 2020;19(5):305-306. doi:10.1038/d41573-020-00073-5
36. Chen WH, Strych U, Hotez PJ, Bottazzi ME. The SARS-CoV-2 Vaccine Pipeline: an Overview. *Curr Trop Med Rep*. 2020;1-4. doi:10.1007/s40475-020-00201-6
37. Funk CD, Laferrière C, Ardakani A. A Snapshot of the Global Race for Vaccines Targeting SARS-CoV-2 and the COVID-19 Pandemic. *Front Pharmacol*. 2020;11:937. doi:10.3389/fphar.2020.00937
38. World Health Organization. Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines. Available from: <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>
39. Folegatti PM, Ewer KJ, Aley PK, Angus B, Becker S, Belij-Rammerstorfer S, et al. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. *Lancet*. 2020;396:467-478. doi:10.1016/S0140-6736(20)31604-4
40. Zhu FC, Guan XH, Li YH, Huang JY, Jiang T, Hou LH, et al. Immunogenicity and safety of a recombinant adenovirus type-5-vectored COVID-19 vaccine in healthy adults aged 18 years or older: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet*. 2020;396:479-488. doi:10.1016/S0140-6736(20)31605-6
41. Jackson LA, Anderson EJ, Rouphael NG, Roberts PC, Makhene M, Coler RN, et al. An mRNA Vaccine against SARS-CoV-2 - Preliminary Report. *N Engl J Med*. 2020;NEJMoa2022483. doi:10.1056/NEJMoa2022483
42. Guardo AC, Alvarez-Fernández C, Arberas H, García-Pérez J, García F, Bargalló ME, et al. Use of RT-defective HIV virions: new tool to evaluate specific response in chronic asymptomatic HIV-infected individuals. *PLoS One*. 2013;8(3):e58927. doi:10.1371/journal.pone.0058927
43. García F, Plana M, Climent N, León A, Gatell JM, Gallart T. Dendritic cell based vaccines for HIV infection: the way ahead. *Hum Vaccin Immunother*. 2013;9(11):2445-52. doi:10.4161/hv.25876
44. Pérez P, Marín MQ, Lázaro-Frías A, Jiménez de Oya N, Blázquez AB, Escribano-Romero E, et al. A Vaccine Based on a Modified Vaccinia Virus Ankara Vector Expressing Zika Virus Structural Proteins Controls Zika Virus Replication in Mice. *Sci Rep*. 2018;8(1):17385. doi:10.1038/s41598-018-35724-6
45. Sola I, Almazán F, Zúñiga S, Enjuanes L. Continuous and Discontinuous RNA Synthesis in Coronaviruses. *Annu Rev Virol*. 2015;2(1):265-88. doi:10.1146/annurev-virology-100114-055218
46. Enjuanes L, Zúñiga S, Castaño-Rodríguez C, Gutierrez-Alvarez J, Canton J, Sola I. Molecular Basis of Coronavirus Virulence and Vaccine Development. *Adv Virus Res*. 2016;96:245-286. doi:10.1016/bs.aivir.2016.08.003

Alejandro de Arriba-
Fernández¹
Manuel Jesús Molina-
Cabrillana¹
Ana Hernández-Aceituno¹
Fernando José García-
López²

Evaluación de la formación sobre el programa de optimización del uso de antimicrobianos en médicos residentes de la provincia de Las Palmas

¹Servicio de Medicina Preventiva, Complejo Hospitalario Universitario Insular de Gran Canaria.

²Centro Nacional de Epidemiología, Instituto de Salud Carlos III.

Article history

Received: 21 June 2020; Revision Requested: 1 July 2020; Revision Received: 5 July 2020; Accepted: 22 July 2020;
Published: 12 August 2020

RESUMEN

Introducción. La resistencia a los antibióticos es una amenaza para la salud pública mundial. Esta situación hace imprescindible el establecimiento de programas de optimización del uso de antimicrobianos (PROA). Se identificaron las necesidades formativas en el PROA de los médicos residentes y se analizaron las asociaciones entre las variables de estudio y la formación en el uso racional y prudente de antibióticos.

Métodos. Estudio transversal y analítico a través de un cuestionario auto administrado a un colectivo de 506 médicos residentes de la provincia de Las Palmas. Se calculó la asociación entre las características de los residentes y la formación en el PROA mediante una regresión logística.

Resultados. Las asociaciones entre la varianza de las respuestas y el tipo de especialidad se observaron en la mayoría de los análisis de los componentes principales (oportunidad $p=0,003$, entrenamiento $p=0,007$, motivación $p=0,055$ e higiene de manos $p=0,044$), seguidas de la varianza según el sexo (capacidad $p=0,028$, conocimientos teóricos $p=0,013$, higiene de manos $p=0,002$). Muy pocas diferencias se asociaron con la edad (capacidad $p=0,051$ e higiene de manos $p=0,054$) o el año de especialidad (higiene de manos $p=0,032$).

Conclusiones. Las principales necesidades formativas de los médicos residentes incluyen salud integral, motivación, entrenamiento, higiene de manos e información. El tipo de especialidad seguido del sexo son los determinantes más importantes de las perspectivas sobre el uso y la resistencia a los antibióticos.

Palabras clave. PROA, resistencias a los antibióticos, médicos residentes.

Evaluation of training on the programs to optimize antimicrobial use in medical residents of the province of Las Palmas

ABSTRACT

Background. Antibiotic resistance is a threat to global public health. This situation makes essential to establish programs to optimize antimicrobial use (PROA). Training needs are identified in the PROA of resident physicians and the results of the analysis of the associations between study variables and training in the rational and prudent use of antibiotics are presented in this analysis.

Methods. Cross-sectional and analytical study through a self-administered questionnaire to a group of 506 medical residents of the province of Las Palmas. The association between resident's characteristics and PROA training was calculated through logistic regression.

Results. The associations between response variance and speciality were observed in most of the core component analysis (opportunity $p=0.003$, training $p=0.007$, motivation $p=0.055$ and hand hygiene $p=0.044$), followed by variance according to sex (capacity $p=0.028$, theoretical knowledge $p=0.013$, hand hygiene $p=0.002$). Very few differences were associated with age (capacity $p=0.051$ and hand hygiene $p=0.054$) or the year of expertise (hand hygiene $p=0.032$).

Conclusions. The main training needs of resident physicians include one health, motivation, training, hand hygiene and information. The type of speciality followed by sex are the most important determinants on antibiotic use and resistance for resident physicians.

Keywords. PROA, antibiotic resistance, resident physicians.

Correspondence:
Alejandro de Arriba-Fernández
Servicio de Medicina Preventiva, Hospital Insular de Gran Canaria
Avenida Marítima s/n, 35016. Las Palmas Gran Canaria.
Tfno. 928441444.
Fax. 928441580
E-mail: alejandradearribafdez@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) es una amenaza para la salud pública mundial [1]. El reducido número de nuevas alternativas terapéuticas unido al incremento exponencial de resistencias tanto en el medio hospitalario como ambulatorio ha creado una situación de alarma en los sistemas sanitarios de todo el mundo [2-3].

Cada año 33.000 personas mueren en Europa como consecuencia de infecciones hospitalarias causadas por bacterias resistentes. Según las cifras del Registro del Conjunto Mínimo Básico de Datos, en España se contabilizan alrededor de 3.000 muertes anuales por este mismo motivo [4]. Si no se toman medidas de carácter urgente, se estima que en 35 años, el número de muertes atribuibles a las infecciones multirresistentes alcanzará las 390.000 al año en toda Europa, unas 40.000 muertes anuales en España [5].

Según datos del informe EPINE de 2019 [6], un 45,85% de los pacientes hospitalizados recibieron al menos una dosis de antibiótico durante su estancia. Esta cifra sitúa a España por encima de la media europea que está en torno al 30% [7].

El tratamiento antibiótico inapropiado incrementa la morbilidad, produce reacciones adversas y aumenta la estancia hospitalaria, las infecciones secundarias y los microorganismos resistentes [8]. Esto supone un gasto sanitario añadido de 1.500 millones de euros anuales en la Unión Europea (UE) [5], lo que extrapolado a cifras nacionales representa un coste de alrededor de 150 millones de euros anuales [4]. Esta situación hace imprescindible el establecimiento de programas de optimización del uso de antimicrobianos (PROA) [9].

Los PROA han sido definidos como la expresión de un esfuerzo mantenido de una institución sanitaria para optimizar el uso de antimicrobianos en pacientes hospitalizados con la intención de mejorar los resultados clínicos de los pacientes con infecciones, minimizar los efectos adversos asociados a la utilización de antimicrobianos y garantizar la utilización de tratamientos coste-efectivos [10].

Si bien varios estudios han evaluado el conocimiento y la formación del público en general, estudiantes de atención médica y grupos profesionales individuales, hay una falta de literatura sobre el tema que estudie la formación de los médicos residentes.

Por considerar que el médico especialista en formación, que todavía no ha consolidado sus hábitos de prescripción, debe ser una de las dianas preferenciales de las actividades formativas de los PROA, fue nuestro objetivo principal identificar las necesidades formativas en el PROA de los médicos residentes de la provincia de Las Palmas. Secundariamente, se analizaron las asociaciones entre las variables de estudio y la formación en el uso racional y prudente de antimicrobianos y el conocimiento de la resistencia a los mismos. Además, el estudio tuvo como objetivo proporcionar información que respalde el diseño de estrategias para optimizar el cumplimiento de una buena administración de antibióticos.

MÉTODOS

Responsabilidades éticas. El estudio fue aprobado por el comité de Ética para la Investigación Clínica del Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín (número de registro 2020-024-1). Cada sujeto fue informado detalladamente de los objetivos y condiciones del estudio, y se solicitó su consentimiento informado de acuerdo con los principios recogidos en la Declaración de Helsinki [11].

Diseño del estudio. Estudio transversal y analítico en el que se valoraron los conocimientos, percepciones, y necesidades formativas de los médicos residentes de la provincia de Las Palmas. Los instrumentos utilizados fueron una entrevista semiestructurada y un cuestionario ad-hoc, en el que se recogen datos sociodemográficos (edad, sexo, centro de trabajo, año de residencia y tipo de especialidad). El grado de conocimiento de la RAM, las buenas prácticas sobre el uso de antibióticos y las percepciones de los médicos sobre el PROA son utilizadas como variables de resultado.

Tamaño de la muestra. La población de estudio es un colectivo de 506 médicos residentes, pertenecientes al Servicio Canario de Salud (Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil, Hospital Insular de Lanzarote y centros de Atención Primaria del Área de Salud de Gran Canaria, Fuerteventura y Lanzarote).

Desarrollo de la encuesta. Se elaboró un "Cuestionario de conocimientos teóricos, percepciones y necesidades formativas de los residentes médicos sobre el programa de optimización del uso de antimicrobianos (PROA)" basado en el modelo de cambio de comportamiento (COM-B), un marco teórico que se puede utilizar para comprender y cambiar el comportamiento. El estudio buscó comprender las Capacidades (C), Oportunidades (O) y Motivaciones (M) que permiten predecir el Comportamiento (B) sobre el uso de antibióticos [12].

Se trata de una encuesta anónima, voluntaria y auto cumplimentada sobre prescripción antibiótica, que consta de 24 preguntas de múltiples respuestas disponibles en el anexo. La fuente de las preguntas incluidas en el cuestionario se mostró en la tabla 1.

Esta encuesta se enfoca específicamente en antibióticos (es decir, agentes antibacterianos en lugar de todos los antimicrobianos). A continuación, se definen los componentes principales:

1. Las preguntas sobre capacidad incluyeron una evaluación del conocimiento y la comprensión de la RAM, y de las directrices y políticas que los médicos residentes conocen.

2. La oportunidad evaluó la disponibilidad de información y las presiones de tiempo observadas, incluye factores físicos y sociales que son externos al individuo y que hacen posible su comportamiento.

3. La motivación consideró si las consecuencias de la prescripción estaban incluidas en las decisiones de prescripción y si la administración de antibióticos desempeñaba un papel en las decisiones profesionales de los encuestados.

4. Comportamiento centrado en las medidas de IPC (infección, prevención y control) por ejemplo, información en el uso de pautas y provisión de recursos a pacientes; y entrenamiento en decisiones de prescripción de antibióticos en condiciones de incertidumbre clínica [12].

5. Salud integral. Estudió el conocimiento sobre la resistencia a los antibióticos en el contexto de los sectores animal, alimentario y medioambiental [13].

6. Higiene de manos. Evaluó el conocimiento y la competencia en los cinco momentos clave en los que se debe realizar higiene de manos [14].

7. Los conocimientos teóricos del Médico Interno Residente (MIR) consideraron la evaluación mediante un cuestionario objetivo de múltiples respuestas aprobado por el Ministerio de Sanidad.

En la tabla 2 se mostraron los componentes principales de la encuesta y las respuestas consideradas válidas.

Para el cálculo de la regresión logística se utilizaron aquellos puntajes considerados aptos en el análisis de los componentes principales. Los resultados en cada uno de los componentes principales se puntuaron añadiendo una calificación cualitativa según la siguiente escala: menor de dos tercios de preguntas consideradas válidas: No Apto; mayor o igual a dos tercios de las preguntas consideradas válidas: apto.

Todas las preguntas tenían el mismo peso en la calificación final. Las preguntas 6 y 13 no se tuvieron en cuenta en el análisis por ser consideradas variables no cuantificables.

Los criterios de puntuación de la escala y las preguntas y respuestas a tener en cuenta se consensuaron con especialistas

de Medicina Preventiva y Salud Pública en sesión clínica del Hospital Insular de Gran Canaria el 14 de enero de 2020.

Distribución de la encuesta. Se contactó por correo electrónico con los presidentes de las comisiones de docencia de los hospitales docentes y de las unidades docentes de atención primaria de la provincia de Las Palmas, a los que se les informó acerca del estudio, y se solicitó autorización y colaboración, y ellos reenviaron de manera individual la encuesta a los MIR a través de correo electrónico durante el periodo 15 de febrero – 31 de marzo de 2020. La solicitud de colaboración fue enviada dos veces, una inicialmente y otra a los 15 días en todos los casos. Al mes de la segunda convocatoria se cerró el plazo de respuesta. Al mismo tiempo se contó, con el compromiso de un equipo de residentes, quienes difundieron activamente el enlace al cuestionario dentro de sus círculos profesionales.

Criterios de inclusión/exclusión. Se incluyó a todos los médicos residente que ejercen activamente en la provincia de Las Palmas en el periodo en el que se distribuyó la encuesta y que decidieron participar voluntariamente. Se consideró criterio de exclusión cuando alguno de los médicos residentes no accediera a colaborar desde el inicio con la investigación.

Análisis estadístico. Se realizó un análisis descriptivo de los resultados utilizando medidas de frecuencia y porcentajes para las variables categóricas. El análisis bivalente para las variables cualitativas se llevó a cabo mediante la prueba de la χ^2 , utilizando la razón de verosimilitud (Likelihood Ratio) cuando fue necesario.

Para el análisis multivariable se realizó una regresión logística multivariable donde se añadieron las variables que

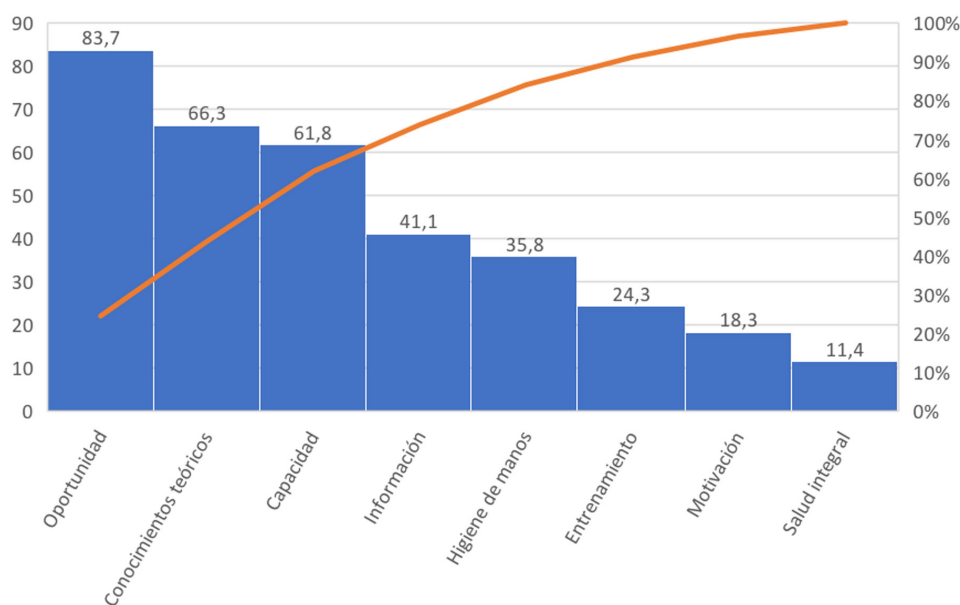


Figura 1 Diagrama de Pareto. Asignación del orden de prioridades más eficiente en el momento de realizar intervenciones en las dimensiones que influyeron en la cultura de prescripción de antimicrobianos

Tabla 1 Componentes del cuestionario de conocimientos y necesidades formativas de los residentes médicos sobre el programa de optimización del uso de antimicrobianos (PROA).

Fuente	Nº de preguntas
Encuesta de conocimientos, actitudes y comportamientos de los trabajadores de la salud sobre los antibióticos, el uso de antibióticos y la resistencia a los antibióticos en la UE / EEE.	15
Encuesta grupo PROA del Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil.	4
Examen MIR – Ministerio de Sanidad	3

Tabla 2 Descripción de los componentes principales de la encuesta. Dimensiones de la cultura de prescripción de antibióticos.

Categoría	No. de preguntas	Respuestas consideradas validas
Capacidad	3 (1, 2, 3)	1. A menudo, siempre 2. Sí 3. Sí
Higiene de manos	1 (4)	4. Sí, no estoy seguro
Salud integral	1 (5)	5. Sí, no estoy seguro
Oportunidad	2 (6, 7)	7. A menudo, siempre
Motivación	5 (8, 9, 10, 11, 12)	8. De acuerdo, totalmente de acuerdo 9. De acuerdo, totalmente de acuerdo 10. A menudo, siempre 11. A menudo, siempre 12. A menudo, siempre
Información	4 (13, 14, 15, 16)	14. Sí 15. Sí 16. Sí
Entrenamiento	3 (17, 18, 19)	17. Sí 18. Sí 19. Sí
Conocimientos teóricos (MIR)	3 (20, 21, 22)	20. 4 21. 1 22. 1

fueron significativas en el análisis bivariable. Las asociaciones entre las percepciones de los médicos en formación sobre el programa PROA y los conocimientos en buenas practicas sobre el uso de antibióticos se resumieron con odds ratios y su intervalo de confianza (IC) del 95%, obtenido de la regresión logística múltiple.

El nivel de significación estadística utilizado fue el 5% ($p < 0,05$), que equivale a una confianza del 95%.

Para detectar visualmente los problemas que tienen más relevancia entre los médicos residentes se utilizó el diagrama de Pareto (figura 1).

El tratamiento estadístico de los datos se ha realizado mediante la aplicación estadística Statistical Package for the Social Sciences, v 24 y Microsoft® Excel (2010).

RESULTADOS

De los 506 cuestionarios entregados nos fueron devueltos cumplimentados 246, lo que supuso un porcentaje de respuesta del 49%. Los residentes encuestados tuvieron una edad media de $27 \pm 1,9$ años y eran mayoritariamente de sexo femenino, La distribución de las características de los individuos

Tabla 3 Características de los médicos residentes incluidos en el análisis, n= 246 (Servicio Canario de la Salud, provincia de Las Palmas, marzo 2020).

N total participantes = 246	n (%)
Género	
Hombre	109 (44,3%)
Mujer	137 (55,7%)
Edad (años)	
<=27	152 (61,8)
>27	94 (38,2%)
Año de residencia	
R1 – R2	146 (59,3%)
R3 – R5	100 (40,7%)
Centro de trabajo	
Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín	82 (33,3%)
Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil	102 (41,5%)
Gerencia de Atención Primaria del Área de Salud de Gran Canaria	46 (18,7%)
Hospital General de Fuerteventura	7 (2,8%)
Hospital Doctor José Molina Orosa de Lanzarote	9 (3,7%)
Especialidad	
Médicas ^a	173 (70,3%)
Médico – quirúrgicas ^b	45 (18,3%)
Quirúrgicas ^c	28 (11,4%)
Prescriptor de antibióticos en su práctica habitual	
Al menos una vez en el mes	26 (10,6%)
Al menos una vez por semana	133 (54,1%)
Al menos una vez por día	59 (24%)
Nunca	27 (11%)
No recuerda	1 (0,3%)

^aEspecialidades médicas: Medicina Familiar y Comunitaria (59), Pediatría (15), Medicina Interna (14), Anestesiología y Reanimación, Cardiología (11), Endocrinología y Nutrición (6), Aparato Digestivo (6), Hematología (4), Neumología (4), Psiquiatría (4), Radiodiagnóstico (4), Medicina del Trabajo (3), Nefrología (3), Rehabilitación (3), Geriatria (3), Medicina Intensiva (3), Reumatología (2), Análisis Clínicos (2), Anatomía Patológica (2), Microbiología Parasitología (2), Oncología Médica (2), Alergología (1), Medicina Nuclear (1), Medicina Preventiva y Salud Pública (1), Neurofisiología clínica (1), Neurología (1), Oncología Radioterápica (1)

^bMédico – quirúrgica: Obstetricia y Ginecología (15), Otorrinolaringología (8), Oftalmología (7), Urología (6), Dermatología MQ Venereología (5), Angiología y cirugía vascular (3).

^cQuirúrgica: Cirugía Ortopédica y Traumatología (10), Cirugía General y del Aparato Digestivo (8), Cirugía Torácica (4), Neurocirugía (4), Cirugía Plástica, Estética y Reparadora (2)

según las variables de la encuesta se representó en la tabla 3.

Capacidad. En general, la mayoría de los encuestados estuvo de acuerdo o muy de acuerdo en que saben qué es la resistencia a los antibióticos (99%) y en que tenían suficiente conocimiento sobre cómo usar los antibióticos de manera adecuada en su práctica actual (63%). El 98% de los médicos residentes sabía que "Las personas sanas pueden portar bacterias resistentes a los antibióticos".

Conocimientos teóricos. El 77% de los encuestados respondió correctamente la afirmación "La rifampicina es un me-

dicamento que hay que administrarlo con otros antibióticos, para reducir el riesgo de una rápida selección de resistencias". Las declaraciones "Si ante el fracaso del tratamiento con claritromicina se utiliza posteriormente clindamicina" y "La presencia de alteraciones en las proteínas fijadoras de penicilinas" tuvieron un porcentaje menor de respuestas correctas (51% y 59%, respectivamente).

Salud integral. Solo el 11% sabía que es ilegal en la UE usar antibióticos para estimular el crecimiento en las granjas de animales; El 25% creía que era legal y el 64% no estaba seguro.

Tabla 4 A Distribución de las características de los residentes en función de los componentes de la encuesta.

Características de los residentes	Análisis de componentes principales											
	Capacidad			Oportunidad			Motivación			Información		
	SI n (%)	NO n (%)	p	SI n (%)	NO n (%)	p	SI n (%)	NO n (%)	p	SI n (%)	NO n (%)	p
Total	152 (61,8)	94 (38,2)		205 (83,3)	41 (16,7)		45 (18,3)	201 (81,7)		116 (47,2)	130 (52,8)	
Edad (años)												
≥27	104 (68,4)	40 (42,6)	0,000	120 (58,5)	24 (58,5)	1,000	24 (53,3)	120 (59,7)	0,433	70 (55,5)	74 (61,7)	0,331
<27	48 (31,6)	54 (57,4)		85 (41,5)	17 (41,5)		21 (46,7)	81 (40,3)		46 (38,3)	56 (44,4)	
Sexo												
Hombre	76 (50)	33 (35,1)	0,022	94 (45,9)	15 (36,6)	0,275	23 (51,1)	86 (42,8)	0,310	62 (49,2)	47 (39,2)	0,113
Mujer	76 (50)	61 (64,9)		111 (54,1)	26 (63,4)		22 (48,9)	115 (57,2)		64 (50,8)	73 (60,8)	
Año de residencia												
1 y 2	75 (49,3)	25 (26,6)	0,000	84 (41)	16 (39)	0,816	16 (35,6)	84 (41,8)	0,441	52 (41,3)	48 (40)	0,839
3 y 4	77 (50,7)	69 (73,4)		121 (59)	25 (61)		29 (64,4)	117 (58,2)		74 (58,7)	72 (60)	
Especialidad												
Medica	108 (71,1)	65 (69,1)	0,751	152 (74,1)	21 (51,2)	0,003	37 (82,2)	136 (67,7)	0,053	89 (70,6)	84 (70)	0,913
Qx y Médico-Qx	44 (28,9)	29 (30,9)		53 (25,9)	20 (48,8)		8 (17,8)	65 (32,3)		37 (29,4)	36 (30)	
Centro de trabajo												
H. Negrín	53 (34,9)	29 (30,9)	0,292	68 (33,2)	14 (34,1)	0,189	20 (44,4)	62 (30,8)	0,110	46 (36,5)	36 (30)	0,020
CHUIIMI	62 (40,8)	40 (42,6)		83 (40,5)	19 (46,4)		14 (31,1)	88 (43,8)		52 (41,3)	50 (41,7)	
AP -LPGC	31 (20,4)	15 (16)		38 (18,5)	8 (19,5)		9 (20)	37 (18,4)		21 (16,7)	25 (20,8)	
AP - FTV	3 (2)	4 (4,3)		7 (3,4)	0 (0)		2 (4,4)	5 (2,5)		6 (4,8)	1 (0,8)	
AP - LZT	3 (2)	6 (6,4)		9 (4,4)	0 (0)		0 (0)	9 (4,5)		1 (0,8)	8 (6,7)	

Qx : Quirúrgica; CHUIIMI: Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil, AP: Atención Primaria, LPGC: Las Palmas de Gran Canaria, FTV: Fuerteventura y LZT: Lanzarote

Higiene de manos. El 36% declaró que podía enumerar los "cinco momentos para la higiene de manos" de la OMS. El 48% no estaba seguro.

Oportunidad. El 89% de los médicos residentes recetó antibióticos en el último mes. La mayoría (83%) estuvo de acuerdo o muy de acuerdo con que tenían fácil acceso a las pautas de antibióticos que necesitan para tratar infecciones.

Motivación o actitud hacia la resistencia a los antibióticos. El 94% estuvo de acuerdo o muy de acuerdo en que tienen un papel clave para ayudar a controlar la resistencia a los antibióticos. La mayoría (89%) estuvo de acuerdo o muy de acuerdo en que había una conexión entre su prescripción, dispensación o administración de antibióticos y la aparición y propagación de bacterias resistentes a los antibióticos. El 29% valoró siempre cuestiones como la carga bacteriana, la presencia de bacteriemia, los criterios de gravedad o la enfermedad de base frente al 51% (a menudo), 14% (rara vez), 2% (nun-

ca). El 65% consideró la posibilidad de selección de resistencias bacterianas antes de prescribir un antibiótico siempre o a menudo frente al 26% (rara vez) y el 5% (nunca). El 15 % consideró el coste del antibiótico antes de prescribirlo frente al 80% que rara vez o nunca lo consideró.

Entrenamiento. El 28% estuvo de acuerdo en que había habido una buena promoción del uso prudente de antibióticos e información sobre la resistencia a los antibióticos en su país. Solo el 25% estuvo de acuerdo en que la campaña nacional había sido efectiva para reducir el uso innecesario de antibióticos y controlar la resistencia a los antibióticos. Menos de la mitad (38%) conocía la existencia de un plan de acción nacional sobre resistencia antimicrobiana.

Información. Las 'guías de práctica clínica' fueron el recurso más utilizado para influir en el manejo de las infecciones (citado por el 90%), seguido de 'experiencia clínica previa' (23%), 'cursos de capacitación en educación continua' (9%) y

Tabla 4 B Distribución de las características de los residentes en función de los componentes de la encuesta.

Características de los residentes	Análisis de componentes principales											
	Higiene de manos			Salud integral			Entrenamiento			Conocimientos teóricos		
	SI n (%)	NO n (%)	p	SI n (%)	NO n (%)	p	SI n (%)	NO n (%)	p	SI n (%)	NO n (%)	p
Total	207 (84,1)	39 (15,9)		219 (89)	27 (11)		59 (24)	187 (76)		163 (66,3)	83 (33,7)	
Edad (años)												
≥27	119 (57,5)	25 (64,1)	0,442	127 (58)	17 (63)	0,621	40 (67,8)	104 (55,6)	0,098	92 (56,4)	52 (62,6)	0,350
<27	88 (42,5)	14 (35,9)		92 (42)	10 (37)		19 (32,2)	83 (44,4)		71 (43,5)	31 (37,4)	
Sexo												
Hombre	83 (40,1)	26 (66,7)	0,002	99 (45,2)	10 (37)	0,420	23 (39)	86 (46)	0,345	81 (49,7)	28 (33,7)	0,017
Mujer	124 (59,9)	13 (33,3)		120 (54,8)	17 (63)		36 (61)	101 (54)		82 (50,3)	55 (66,3)	
Año de residencia												
1 y 2	88 (42,5)	12 (30,8)	0,171	87 (39,7)	13 (48,1)	0,401	26 (44,1)	74 (39,6)	0,540	60 (36,8)	40 (48,2)	0,086
3 y 4	119 (57,5)	27 (69,2)		132 (60,3)	14 (51,9)		33 (55,9)	113 (60,4)		103 (69,2)	43 (51,8)	
Especialidad												
Médicas	140 (67,6)	33 (84,6)	0,033	152 (69,4)	21 (77,8)	0,369	50 (84,7)	123 (65,8)	0,005	112 (68,7)	61 (73,5)	0,438
Qx y Médico-Qx	67 (32,4)	6 (15,4)		67 (30,6)	6 (22,2)		9 (15,3)	64 (34,2)		51 (31,3)	22 (26,5)	
Centro de trabajo												
H. Negrín	69 (33,3)	13 (33,3)		72 (32,9)	10 (37)		22 (37,3)	60 (32,1)		60 (36,8)	22 (26,5)	
CHUIMI	84 (40,6)	18 (46,2)		89 (40,6)	13 (48,2)		23 (39)	79 (42,2)		64 (39,3)	38 (45,8)	
AP -LPGC	39 (18,8)	7 (17,9)	0,497	44 (20,1)	2 (7,4)	0,395	8 (13,5)	38 (20,3)	0,517	31 (19)	15 (18,1)	0,349
AP - FTV	6 (2,9)	1 (2,6)		6 (2,7)	1 (3,7)		3 (5,1)	4 (2,2)		4 (2,5)	3 (3,6)	
AP - LZT	9 (4,3)	0 (0)		8 (3,7)	1 (3,7)		3 (5,1)	6 (3,2)		4 (2,5)	5 (6)	

Qx : Quirúrgica; CHUIMI: Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil, AP: Atención Primaria, LPGC: Las Palmas de Gran Canaria, FTV: Fuerteventura y LZT: Lanzarote.

'publicaciones o revistas científicas' (9%). La industria farmacéutica (representantes médicos o documentación) fueron los recursos menos utilizados (1%). En los últimos 12 meses, el 59% recibió información sobre cómo evitar prescripciones innecesarias o administrar o dispensar antibióticos. El 68% recibió formación (sesión general, en su servicio, durante la residencia, etc.) acerca del PROA en su centro de trabajo. El 60% afirmó que esta información contribuyó a cambiar sus puntos de vista acerca de evitar prescripciones innecesarias o administrar o dispensar antibióticos.

La distribución de las características de los individuos según las variables de la encuesta se representó en la tabla 4A y B.

El análisis mediante regresión logística puso de manifiesto que los factores de riesgo para obtener resultados no óptimos entre los médicos residentes son los siguientes:

Edad (< 27, ≥ 27): Se encontraron diferencias significativas que indican que los médicos jóvenes (<27 años) presentan niveles más bajos de capacidad ($p=0,051$) y mayores puntuaciones en higiene de manos ($p=0,054$) que los médicos más veteranos (≥27 años).

Sexo (Hombre, Mujer): Se hallaron diferencias significativas que indican que los hombres presentan niveles más altos de capacidad ($p=0,028$) y conocimientos teóricos ($p=0,019$) que las mujeres. Del mismo modo, se encontraron diferencias significativas que indican que las mujeres tienden a presentar mayores puntuaciones en higiene de manos ($p=0,002$).

Especialidad (Médica, Quirúrgica, Médico-quirúrgica): Los residentes de especialidades médicas muestran significativamente mayores niveles de oportunidad ($p=0,003$), entrenamiento ($p=0,007$) y motivación ($p=0,055$) que aquellos residentes de especialidades quirúrgicas y médico-quirúrgicas. Del mismo modo, se encontraron diferencias marginalmente significativas que indican que los residentes de especialidades quirúrgicas y médico-quirúrgicas tienden a presentar mayores puntuaciones en higiene de manos ($p<0,044$).

Año de residencia (<=2, ≥3): Se hallaron diferencias significativas que indican que los residentes de más antigüedad (3, 4 y 5º curso) presentan niveles más bajos de higiene de manos ($p=0,032$) que los residentes nuevos (1 y 2º curso).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativa-

Tabla 5 Asociación entre las características de los residentes y las dimensiones que influyeron en la cultura de prescripción de antibióticos.

Características de los residentes	Análisis de componentes principales					
	Capacidad		Oportunidad		Motivación	
	OR (IC95%)	p	OR (IC95%)	p	OR (IC95%)	p
Edad (≥ 27 años)	2,10 (0,99-4,14)	0,051	0,81 (0,31-2,09)	0,658	0,79 (0,31-1,97)	0,606
Sexo (Mujer)	0,54 (0,31-0,94)	0,028 ^a	0,63 (0,31-1,28)	0,197	0,67 (0,35-1,30)	0,235
Año de residencia (3, 4 y 5)	0,61 (0,28-1,34)	0,218	0,71 (0,27-1,87)	0,489	1,03 (0,40-2,65)	0,957
Especialidad (Qx, Médico-Qx)	0,79 (0,44-1,43)	0,439	0,34 (0,17-0,69)	0,003 ^a	0,44 (0,19-1,02)	0,055
	Higiene de manos		Entrenamiento		Conocimientos teóricos	
	OR (IC95%)	p	OR (IC95%)	p	OR (IC95%)	p
Edad (≥ 27 años)	0,42 (0,17-1,01)	0,054	2,00 (0,88-4,55)	0,098	1,13 (0,51-2,52)	0,755
Sexo (Mujer)	3,17 (1,51-6,65)	0,002 ^a	1,32 (0,72-2,44)	0,373	0,51 (0,29-0,89)	0,019 ^a
Año de residencia (3, 4 y 5)	0,36 (0,14-0,92)	0,032 ^a	1,17 (0,53-2,60)	0,695	1,84 (0,84-4,07)	0,127
Especialidad (Qx, Médico-Qx)	2,64 (1,02-6,78)	0,044 ^a	0,34 (0,16-0,75)	0,007 ^a	0,94 (0,71-2,37)	0,401

Qx : Quirúrgica, ^ap < 0,05

tivas según el centro de trabajo al que perteneciese el médico.

En la tabla 5 se mostraron los resultados obtenidos de la regresión logística múltiple resumidos con odds ratios (OR) y su intervalo de confianza (IC) del 95%.

DISCUSIÓN

Aquellos médicos residentes que recibieron formación acerca del PROA declararon mayoritariamente que la información recibida contribuyó a cambiar sus puntos de vista acerca de evitar prescripciones innecesarias.

En este estudio, además, se han visto reflejado distintos niveles de conocimiento entre los distintos componentes de la encuesta y las variables socio demográficas estudiadas. El tipo de especialidad seguido del sexo fueron los determinantes más importantes de las perspectivas de los médicos residentes sobre el uso y la resistencia a los antibióticos.

El análisis no mostró diferencias entre los entornos comunitarios y hospitalarios, lo que sugiere que este problema es común para los prescriptores, independientemente de su contexto de trabajo.

Además, dado que los problemas de la RAM no están limitados por especialidad, también es esencial una mejor comprensión de las prácticas de todas las especialidades [15]. Es por ello por lo que nuestra encuesta incluyó médicos de 38 especialidades agrupados en especialidades médicas, quirúrgicas y médico-quirúrgicas.

El diagrama de Pareto asignó el orden de prioridades más eficiente a la hora de realizar intervenciones en las dimensiones que influyeron en la cultura de prescripción de antimicro-

bios. Se considera prioritario aunar los esfuerzos formativos en las dimensiones que incluyen la salud integral, motivación, entrenamiento, higiene de manos e información, pues menos del 50% de los residentes obtuvo resultados óptimos en estas áreas.

Diversos estudios han demostrado que el uso prudente de antibióticos no está suficientemente cubierto en los planes de estudios durante la formación especializada [16, 17].

Los resultados de esta encuesta reflejan hallazgos anteriores que mostraron que la mayoría de los médicos sabían qué es la resistencia a los antibióticos, que las personas sanas pueden portar bacterias resistentes a los antibióticos, y que tenían suficiente conocimiento sobre cómo usar los antibióticos de manera adecuada en su práctica habitual [18]. Esto muestra que los residentes de la provincia de Las Palmas están conscientes y preocupados por la resistencia a los antibióticos.

Este estudio reveló que la prescripción de antibióticos estaba influenciada principalmente por guías de práctica clínica, en contraste con un estudio francés que reveló la influencia de la experiencia clínica previa de los residentes [19]. El papel de la industria farmacéutica en la educación sobre antibióticos se calificó como bajo, consistente con los hallazgos de otros estudios [15, 19, 20].

En general, la mayoría de los encuestados estuvo de acuerdo en que había una conexión entre su prescripción, dispensación o administración de antibióticos y la aparición y propagación de bacterias resistentes a los mismos, asimismo la mayoría estuvo conforme en que tiene un papel clave para ayudar a controlar la resistencia a los antibióticos. Estos hallazgos son consistentes con los de Navarro et al. [21] y otras encuestas publicadas previamente [15, 19, 22].

En lo referido a higiene de manos y salud integral, la gran pluralidad de los encuestados desconocía que es ilegal en la UE usar antibióticos para estimular el crecimiento en las granjas de animales. Para abordar eficazmente la resistencia a los antibióticos, es importante tener un enfoque holístico y multi-sectorial que considere la salud humana y animal, así como el medio ambiente. Esto se conoce como "Salud integral" [15, 16].

Además, solo una minoría de los encuestados declaró poder enumerar los "cinco momentos para la higiene de manos" de la OMS. Estos hallazgos son consistentes con la encuesta de conocimientos, actitudes y comportamientos de los trabajadores de la salud sobre los antibióticos, el uso de antibióticos y la resistencia a los mismos en la UE y el Espacio Económico Europeo [15].

Este es el primer estudio que se realiza en Canarias con el objetivo de evaluar la formación sobre el programa de optimización del uso de antimicrobianos en médicos residentes. Además, esta encuesta dio respuesta a la pregunta de si la formación PROA actual desde el punto de vista de los médicos residentes de la provincia de Las Palmas es la adecuada.

Es preciso la definición de una línea estratégica de formación en uso de antibióticos. Además, es necesario fomentar la creación de recursos y actividades educativas sobre utilización y optimización de uso de antibióticos que incentiven la participación de los residentes médicos. Es de interés, que la formación se lleve a cabo por pares, entendidos estos como profesionales del propio ámbito o de un ámbito próximo, idealmente que gocen de reconocimiento y aceptación por parte de los receptores de la actividad y que conozcan la realidad asistencial y las posibilidades de actuación [23].

Los centros de trabajo de la provincia de Las Palmas podrían considerar el uso de los datos de este estudio como una línea de base para reevaluar los conocimientos tras sesiones formativas y para futuros estudios que incluyan a más población.

Entre las fortalezas de este estudio se encuentra el análisis multivariado, el cual permite ajustar los factores de riesgo por posibles factores de confusión.

Los resultados de este estudio tienen varias limitaciones. Posiblemente la principal limitación sea que su ámbito geográfico se haya limitado a una determinada provincia, lo cual podría limitar su validez externa, aunque los resultados encontrados son concordantes con estudios previos [22]. La tasa de respuesta (cercana al 50%) podría parecer otra limitación, pero revisada la literatura la conclusión que se obtiene es que está dentro de los márgenes de lo esperado, ya que los estudios indican que la tasa de respuesta en encuestas por e-mail oscila entre un 25 y un 30%, pudiéndose duplicar mediante mensajes de seguimiento [24] (que fue lo que se realizó en el estudio).

En segundo lugar, la muestra capturó predominantemente a los médicos más jóvenes, el 59% eran residentes de primer o segundo año. Es necesario realizar más investigación en médicos más veteranos (residentes de años superiores y adjuntos) que tienen un tiempo limitado para la formación. Además, es

posible que hayamos capturado a aquellos residentes con más interés en el tema y, por lo tanto, más conocimiento o confianza para recetar antibióticos.

En tercer lugar, la fiabilidad y la validez de la encuesta pueden influir en la calidad de los datos obtenidos, algunas de las preguntas que se han introducido tienen un grado de dificultad superior al resto, esta variedad en las preguntas hace cuestionable el hecho de que se les asignara la misma puntuación. La validez aparente se evaluó discutiendo el cuestionario con expertos, incluidos los supervisores del grupo PROA del hospital insular de Gran Canaria, conformado por médicos especialistas en medicina preventiva, enfermedades infecciosas, microbiología clínica y farmacéuticos. Hubo acuerdo en que el cuestionario resultaría en la obtención de la información requerida.

Por último, la realización del estudio ha sido posible utilizando encuestas como medio de recogida de información, lo que puede provocar dudas sobre la veracidad de los datos obtenidos, pues existe la posibilidad de que los médicos que respondieron dieran las respuestas más socialmente deseables (sesgo de complacencia). Para minimizar esto, nos aseguramos de la anonimidad de las respuestas. Consideramos indicado un estudio observacional que evalúe objetivamente el conocimiento y el comportamiento en torno a la prescripción de antibióticos, además de la situación de resistencias en España de diversos microorganismos esenciales como *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, *Escherichia coli*, *Klebsiella* y cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido; así como también efectuar comparaciones frente a otros países [25].

Las principales necesidades formativas incluyen salud integral, motivación, entrenamiento, higiene de manos e información. Las dimensiones de conocimientos teóricos, capacidad y oportunidad fueron consideradas aptas.

El tipo de especialidad seguido del sexo son los determinantes más importantes de las perspectivas de los médicos residentes sobre el uso y la resistencia a los antibióticos. Estos datos proporcionan información útil para el diseño de estrategias para optimizar el cumplimiento de una buena administración de antibióticos.

AGRADECIMIENTOS.

Quiero dar las gracias por su participación a los médicos internos residentes que prestaron su colaboración de forma desinteresada en este estudio y cumplieron las encuestas cuyos datos han sido utilizados para la elaboración de este estudio.

FINANCIACIÓN

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

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

REFERENCIAS

- Nota informativa de la AEMPS 23 de septiembre de 2016. Disponible en: https://www.aemps.gob.es/informa/notasInformativas/laAEMPS/2016/docs/NI-AEMPS_11-2016-reunion-ONU-antibioticos.pdf
- Ruiz J, Salavert M, Ramírez P, et al. Implantación de un programa de optimización y uso racional de antimicrobianos en un modelo de área clínica médica. *Rev Esp Quimioter*. 2018;31(5):419-426. PMID: 30209931
- Pulcini C, Mohrs S, Beovic B, Gyssens I, Theuretzbacher U, Cars O, et al. Forgotten antibiotics: a follow-up inventory study in Europe, the USA, Canada and Australia. *Int J Antimicrob Agents*. 2016; 49:98-101. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2016.09.029.
- Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos (PRAN) 2019-2021. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS); 2019. Disponible en: http://resistenciaantibioticos.es/es/system/files/field/files/pran_2019-2021_0.pdf?file=1&type=node&id=367&force=0
- O'Neill J. Tackling drug-resistant infections globally: Final report and recommendations. Review on Antimicrobial Resistance. Mayo 2016. Disponible en: https://amrreview.org/sites/default/files/160518_Final%20paper_with%20cover.pdf
- Estudio de Prevalencia de las Infecciones Nosocomiales en España. Informe EPINE 2019. Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene. Disponible en: <https://epine.es/api/documento-publico/2019%20EPINE%20Informe%20España%2027112019.pdf/reports-esp>
- European Centre for Disease Prevention and Control. Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals. Stockholm: ECDC; 2013. Disponible en: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/healthcare-associated-infections-antimicrobial-use-PPS.pdf>
- Polk RE, Johmann SF, Medvedev S, Ibrahim OM. Benchmarking risk-adjusted adult antibacterial drug use in 70 US academic medical center hospitals. *Clin Infect Dis* 2011; 53: 1100-1110. doi: 10.1093/cid/cir672.
- Rodríguez J, Paño R, Álvarez L, Asencio A, Calvo E, Cercenado E, et al. Programas de optimización de uso de antimicrobianos (PROA) en hospitales españoles: documento de consenso GEIH-SEIMC, SEFH y SEMPSPH. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30(1): 22.e1-23. doi: 10.1016/j.eimc.2011.09.018.
- Gómez J, Bonillo C, Navarro LH, Hernández A, García Vázquez E. Estrategias para optimizar el uso de antibióticos en los hospitales. *Rev Esp Quimioter*. 2017;30(3):169-76. PMID: 28276228
- Asociación Médica Mundial. Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial - Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. Seúl, octubre de 2008. *J Oral Res* 2013;2(1):42-44.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Survey of healthcare workers' knowledge, attitudes and behaviours on antibiotics, antibiotic use and antibiotic resistance in the EU/EEA. Stockholm: ECDC; 2019.
- McEwen SA, Collignon PJ. Antimicrobial resistance: a One Health perspective. *Microbiol Spectr*. 2018;6(2). doi: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017
- World Health Organization. Hand Hygiene: Why, How & When? 2009. Disponible en: https://www.who.int/gpsc/5may/Hand_Hygiene_Why_How_and_When_Brochure.pdf
- Wester CW, Durairaj L, Evans AT, Schwartz DN, Husain S, Martinez E. Antibiotic Resistance: A Survey of Physician Perceptions. *Arch Intern Med*. 2002;162(19):2210-2216. doi:10.1001/archinte.162.19.2210.
- Beović B, Doušak M, Pulcini C, et al. Young doctors' perspectives on antibiotic use and resistance: a multinational and inter-specialty cross-sectional European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) survey. *J Antimicrob Chemother*. 2019;74(12):3611-3618. doi:10.1093/jac/dkz375.
- Rawson TM, Butters TP, Moore LP Setal. Exploring the coverage of antibiotic stewardship across UK clinical postgraduate training curricula. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71: 3284-92. doi: 10.1093/jac/dkw280
- McCullough AR, Rathbone J, Parekh S et al. Not in my backyard: a systematic review of clinicians' knowledge and beliefs about antibiotic resistance. *J Antimicrob Chemother* 2015; 70: 2465-73. doi: 10.1093/jac/dkv164.
- Pulcini C, Williams F, Molinari N et al. Junior doctors' knowledge and perceptions of antibiotic resistance and prescribing: a survey in France and Scotland. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17: 80-7. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03179.x.
- Sánchez-Fabra D, Dyar OJ, Del Pozo JL et al. Perspective of Spanish medical students regarding undergraduate education in infectious diseases, bacterial resistance and antibiotic use. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2019; 37: 25-30. doi: 10.1016/j.eimc.2017.12.003.
- Navarro-San Francisco C, Del Toro MD, Cobo J, De Gea-García JH, Vañó-Galván S, Moreno-Ramos F, Rodríguez-Baño J, et al. Knowledge and perceptions of junior and senior Spanish resident doctors about antibiotic use and resistance: results of a multicenter survey. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2013; 31:199-204. doi: 10.1016/j.eimc.2012.05.016
- Abbo L, Sinkowitz-Cochran R, Smith L, Ariza-Heredia E, Gómez-Marín O, Srinivasan A, et al. Faculty and resident physicians' attitudes, perceptions and knowledge about antimicrobial use and resistance. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2011; 32:714-8. doi: 10.1086/660761.
- Herramientas e intervenciones educativas a profesionales sanitarios. Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos (PRAN). 2017. Disponible en: http://www.resistenciaantibioticos.es/es/system/files/field/files/herramientas_e_intervenciones_educativas_a_profesionales_sanitarios.pdf?file=1&type=node&id=367&force=0
- J. Sánchez Fernández, F. Muñoz Leiva, F.J. Montoro Ríos ¿Cómo mejorar la tasa de respuesta en encuestas *on line*? *Rev Estud Empres*. 2009; 2: 45-62.

25. Gharbi M, Moore LSP, Castro-Sánchez E, Spanoudaki E, Grady C, Holmes AH, et al. A needs assessment study for optimizing prescribing practice in secondary care junior doctors: the antibiotic prescribing education among doctors (APED) BMC Infect Dis. 2016;16(1):456. doi: 10.1186/s12879-016-1800-z.

Javier Pardo Lledias¹
Laura Ayarza²
Pablo González-García²
Zaida Salmón González²
Jorge Calvo Montes³
Mónica Gozalo Marguello³
José Luis Hernández
Hernández¹
José Manuel Olmos
Martínez¹

Repetición de las pruebas microbiológicas en la sospecha de la infección por SARS-CoV-2: utilidad de un score basado en la probabilidad clínica

¹Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IDIVAL. Universidad de Cantabria. Santander. Cantabria.

²Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. Cantabria.

³Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IDIVAL. Santander. Cantabria.

Article history

Received: 23 July 2020; Revision Requested: 19 August 2020; Revision Received: 20 August 2020; Accepted: 23 August 2020; Published: 11 September 2020

RESUMEN

Introducción. El diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 presenta limitaciones. La RT-PCR en frotis nasofaríngeo es la prueba considerada como el patrón oro, aunque puede ofrecer falsos negativos. El objetivo de este trabajo ha sido evaluar la utilidad de repetir el frotis nasofaríngeo en pacientes con resultado negativo en función de las diferentes probabilidades clínicas.

Métodos. Estudio observacional retrospectivo de los primeros pacientes ingresados en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla en dos plantas COVID de Medicina Interna durante marzo-abril del 2020. La RT-PCR para la detección de al menos dos dianas de los principales genes (E, N, RdRP, ORF1) y el test de detección de anticuerpos para la detección de al menos IgG.

Resultados. Se analizaron 145 pacientes hospitalizados; 98 (67,5%) con el diagnóstico de SARS-CoV-2. Las variables predictivas independientes de SARS-CoV-2 fueron: contacto epidemiológico con otro paciente COVID-19, presentación clínica como neumonía, ausencia de neumonía en el año previo, inicio de síntomas >7 días al ingreso, ≥ 2 síntomas -tos, disnea y fiebre- y lactato deshidrogenasa >350 U/L ($p < 0,05$). Un score basado en estas variables presentó un área bajo la curva ROC (ABC ROC) de 0,89 (IC95 0,831-0,946; $p < 0,001$). El rendimiento de la RT-PCR en su primera determinación fue del 54,9%. La repetición de la prueba permitió detectar un 16% de casos adicionales. El rendimiento global de sucesivas RT-PCR en pacientes con baja probabilidad clínica fue inferior al 5%.

Conclusión. Hemos definido un score de probabilidad pre-prueba basado en datos epidemiológicos y clínicos con

una buena precisión para el diagnóstico por infección SARS-CoV-2. La repetición del frotis nasofaríngeo puede evitar errores de muestreo sólo en escenarios de intermedia-alta probabilidad clínica pre-prueba.

Palabras clave: SARS-CoV-2, COVID-19; probabilidad clínica, RT-PCR, anticuerpos, inmunoensayo

Repetition of microbiological tests in suspect of SARS-CoV-2 infection: utility of a score based on clinical probability

ABSTRACT

Background. The diagnosis of SARS-CoV-2 infection presents some limitations. RT-PCR in nasopharyngeal swabs is considered the gold standard for the diagnosis, although it can have false negative results. We aimed to analyze the accuracy of repeating nasopharyngeal swabs based on different clinical probabilities.

Methods. Retrospective observational study of the first patients admitted to a two COVID Internal Medicine wards at the University Hospital Marqués de Valdecilla, Santander, from March to April 2020. RT-PCR targeting E, N, RdRP and ORF1 genes and antibody tests detecting IgG.

Results. A total of 145 hospitalized patients with suspected SARS-Cov2 infection were admitted and in 98 (67.5%) diagnosis was confirmed. The independent predictive variables for SARS-CoV-2 infection were: epidemiological contact, clinical presentation as pneumonia, absence of pneumonia in the last year, onset of symptoms > 7 days, two or more of the following symptoms -dyspnea, cough or fever- and serum lactate dehydrogenase levels >350 U/L ($p < 0.05$). A score based on these variables yielded an AUC-ROC of 0.89 (CI95%, 0.831-0.946; $p < 0.001$). The accuracy of the first nasopharyngeal swabs was 54.9%. Repeating nasopharyngeal swabs two or three times allows to detect an additional 16% of positive cases. The overall accuracy of successive RT-PCR tests in patients with low pre-test probability was <5%.

Correspondencia:
Javier Pardo Lledias.
Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IDIVAL.
Santander. Cantabria.
C/ Avenida Valdecilla 25; 39008. Santander Cantabria
E-mail: Javier.pardo@scsalud.es

Conclusions. We have defined a pre-test probability score based on epidemiological and clinical data with a high accuracy for diagnosis of SARS-CoV-2. Repeating nasopharyngeal swabs avoids sampling errors, but only in medium of high probability pre-test clinical scenarios.

Palabras clave: SARS-CoV2, COVID-19; clinical probability, RT-PCR, antibodios; immunoassay.

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 en una situación de brote pandémico presenta ciertas limitaciones. En primer lugar, las manifestaciones clínicas cardinales de esta infección son también muy frecuentes en otros procesos respiratorios de etiología infecciosa. En segundo lugar, los hallazgos radiológicos pulmonares tanto en la radiología convencional como incluso en la tomografía computadorizada, inicialmente definidos como característicos de esta virosis, pueden plantear también otras alternativas diagnósticas. El empleo de pruebas microbiológicas precisas representa la piedra angular en el diagnóstico y manejo de la infección por SARS-CoV-2, así como en la toma de medidas de salud pública en la población general.

La detección de ácidos nucleicos mediante la prueba de la transcriptasa inversa de la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) en el frotis nasofaríngeo, se ha demostrado altamente rentable durante los 5 primeros días de la infección, aunque su sensibilidad puede reducirse al 30-40% a partir de ese período de tiempo [1]. El entrenamiento adecuado de equipos de personal especializado en la recogida de muestras y la repetición del frotis faríngeo [2] puede disminuir los falsos negativos derivados de los errores de muestreo. El procesamiento de otras muestras biológicas de las vías áreas bajas (esputo, lavado bronco-alveolar) aumenta el rendimiento diagnóstico por prueba realizada en la infección por SARS-CoV-2, a partir de la segunda semana del inicio de los síntomas [1,3]. Sin embargo, es conocido que la producción espontánea de esputo es escasa en las neumonías de origen viral, como la inducida por este coronavirus, y la aplicación de aerosoles micronizados para la inducción de esputo o el propio lavado bronco-alveolar implican un alto riesgo de diseminación nosocomial del virus.

Los métodos de diagnóstico basados en pruebas inmunocromatográficas constituyen métodos rápidos de detección de anticuerpos (Ac) frente a proteínas específicas del SARS-CoV-2 y se han mostrado altamente sensibles para el diagnóstico sólo a partir de los 7-14 días del comienzo de la clínica, con elevación frecuentemente y forma inicial de la IgM y después de la IgG [4].

Estas limitaciones en el diagnóstico pueden ser más importantes al finalizar el estado de alarma y el confinamiento de la población, momento a partir del cual la incidencia de nuevos casos de infección por SARS-CoV-2 será más atenuada y las probabilidades pre-prueba disminuirán. En este contexto, el diseño de algoritmos diagnósticos puede permitirnos optimizar los recursos materiales y humanos en los laboratorios de microbiología y en las plantas de hospitalización.

El objetivo del presente trabajo ha sido evaluar las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes hospitalizados por infección por SARS-CoV-2 durante el brote epidémico, definiendo un score con diferentes probabilidades clínicas y analizar la utilidad de la repetición de los frotis nasofaríngeos en función de éstas.

PACIENTES Y MÉTODOS

Se seleccionaron los pacientes ingresados por sospecha de infección por SARS-CoV-2 en el área COVID de las plantas de Medicina Interna del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla de Santander, desde el 24 de marzo al 14 de abril de 2020. Este centro es un hospital terciario que da cobertura a una población de unos 350.000 habitantes.

Se recogieron datos epidemiológicos y clínicos y se almacenaron en una base de datos informatizada. Para el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 se realizó la obtención de un exudado nasofaríngeo obtenido mediante una toma nasal profunda introduciendo el exudado en un medio de transporte universal para virus, siendo trasladada la muestra de inmediato al laboratorio de microbiología donde se realizó una RT-PCR para la detección de al menos dos dianas de los principales genes (E, N, RdRP, ORF4b1) mediante los kits VIASURE SARS-Cov" Real Time PCR detection Kit (CertTest Biotec, Zaragoza, Spain) y LightMix Modular SARS-CoV2 (Roche Diagnostics, Germany) [3]. Las pruebas inmunocromatográficas para la detección de anticuerpos IgG e IgM se realizaron según protocolo estandarizado (Hangzhou Alltest Biotech Co. Hangzhou. China).

El análisis de los datos se llevó a cabo mediante el paquete estadístico SPSS v21. Las variables categóricas se expresaron como números y porcentajes y las continuas como media y desviación estándar. Para las comparaciones entre las variables categóricas se utilizó la prueba de chi cuadrado y el test de Fisher según fuese apropiado. Se evaluó la asociación mediante la odds ratio (OR) con su intervalo de confianza al 95% (OR IC95). Se calculó el área bajo la curva (ABC) de cada una de las variables continuas con su IC95%. Para evaluar las variables independientes asociadas con infección por el SARS-CoV-2 se llevó a cabo un análisis de regresión múltiple multivariable introduciendo en el modelo aquellas que mostraron asociación en el análisis univariable. Se definió un score de riesgo clínico basado en las variables predictivas independientes de infección SARS-CoV2 en función de los odds ratio resultantes. El rendimiento del primer frotis faríngeo procesado con RT-PCR se calculó con la ratio entre el número de pruebas positivas y realizadas. La realización de sucesivos frotis (segundo y tercero) sólo se consideró en aquellos casos en los que los frotis faríngeos previos hubieran sido negativos.

RESULTADOS

Desde el 24 de marzo hasta el 12 de abril de 2020 ingresaron 145 pacientes con sospecha clínica de SARS-CoV-2, en dos de las plantas (área COVID) del Servicio de Medicina Interna.

Las características basales de los pacientes se muestran en la Tabla 1. Los pacientes tenían una media de edad de $66,9 \pm 18,6$ años y eran varones el 59,9%. El índice de comorbilidad de Charlson fue de $1,3 \pm 1,6$. Veinte pacientes (13,8%) relataban haber tenido un contacto reciente con algún sujeto diagnosticado de infección por SARS-CoV-2 confirmada mediante RT-PCR. Los pacientes ingresados habían comenzado con clínica $7,1 \pm 5,6$ días antes del ingreso. Un 78,6% (114) presentaba infiltrado radiológico compatible con neumonía en el momento del ingreso.

El diagnóstico microbiológico se estableció en 98 (67,5%) del total de pacientes con sospecha inicial de infección por SARS-CoV-2. En 95 de ellos (97%) el diagnóstico fue directo por RT-PCR y en 3 (3,0 %) casos se realizó mediante la prueba rápida de detección de anticuerpos (TDR). Los pacientes en los que se pudo confirmar el diagnóstico microbiológico de infección por coronavirus, presentaban características distintas al de los pacientes en los que no se pudo confirmar este diagnóstico. Las variables asociadas a un diagnóstico microbiológico positivo de infección por SARS-CoV-2 se muestran en la Tabla 2. Los diagnósticos más frecuentes en los pacientes que no presentaban SARS-CoV-2 fueron: infección respiratoria definida ($n=23$; 48%) incluyendo -infección por: metapneumovirus, influenza A, tuberculosis, neumococo y otras-, broncoaspiración ($n=3$; 6,6%), fiebre de origen no respiratorio ($n=3$; 6,6%) -artritis gotosa, infección urinaria y gastroenteritis-, insuficiencia cardíaca ($n=7$; 15,5%) y otras.

Se evaluó la rentabilidad de tres biomarcadores séricos considerados como característicos de infección por SARS-CoV-2: cifra total de linfocitos/ mm^3 , lactato deshidrogenasa -LDH- (U/L) y D-dímero (ng/mL). Se estimaron las curvas ROC y sus ABC para el diagnóstico final microbiológico, observándose que ni la cifra de linfocitos totales ni la elevación de D-dímero tenían utilidad como marcador de infección por coronavirus. Sólo el nivel sérico de LDH resultó ser un marcador débil de infección por SARS-CoV-2 con un ABC de 0,654 (IC95%, 0,53-0,72; $p=0,014$).

En el análisis de regresión multivariable sólo el contacto epidemiológico de riesgo, la existencia de infiltrado pulmonar en la radiografía de tórax, el comienzo de los síntomas >7 días, la presencia de al menos dos síntomas (tos, fiebre y/o disnea), y la ausencia de neumonía en el año previo fueron variables predictivas independientes de infección por SARS-CoV-2 ($p<0,05$). Se evaluó un score de riesgo de 8 puntos basándose en los factores predictores independientes y un nivel de LDH >350 (correspondiente al percentil 75) (Tabla 3). El ABC-ROC para este modelo predictivo fue de 0,89 (IC95, 0,831-0,946; $p<0,001$).

En todos los pacientes se realizó como técnica diagnóstica al menos un frotis faríngeo analizado con RT-PCR. En 65 pacientes (44,8%) se hizo un segundo frotis diagnóstico y en 26 (17,9%) casos se realizaron tres o más frotis diagnósticos por negatividad persistente en los previos. El diagnóstico microbiológico final se realizó en tres casos 3(3,0%) por la detección de IgG en la prueba de diagnóstico de anticuerpos.

Tabla 1 Principales variables demográficas, clínicas y de laboratorio de nuestra serie.

Variable	
Edad (años), media (DE)	66,9 (17,8)
Sexo (varón), n (%)	86 (59,9)
Procedencia de centro sociosanitario, n (%)	16 (11,3)
Contacto epidemiológico +, n (%)	20 (13,8)
Índice de Charlson, media (DE)	1,9 (1,63)
Días desde el inicio de síntomas, media (DE)	7,1(5,6)
Tos, fiebre o disnea (≥ 2), n (%)	101(61,6)
Neumonía en el año previo, n (%)	11 (7,6)
Infiltrado pulmonar radiológico, n (%)	114 (78,6)
Linfocitos (cél./ml), media (DE)	1.186 (760)
Lactato deshidrogenasa (U/L), media (DE)	292,1 (128,0)
D-dímero (ng/mL), media (DE)	2.709 (12.250)
Diagnostico final de SARS-CoV-2, n (%)	98 (67,5)

Tabla 2 Variables predictivas de infección por SARS-CoV-2 al ingreso (análisis bivariado).

Variable	OR (IC95)	P
Edad <65 años	3,1 (1,4-6,69)	0,002
Contacto epidemiológico	11,2 (1,4-86,4)	0,005 ^a
>7 días desde inicio síntomas	3,4 (1,4-8,1)	0,004 ^a
Ausencia de neumonía en año previo	3,9 (1,11-13,8)	<0,001 ^a
Tos, fiebre o disnea (≥ 2)	5,8 (2,6-12,6)	<0,001 ^a
Infiltrado pulmonar en radiodiagnóstico	27 (3,2-237)	<0,001 ^a
Índice de Charlson <2	4,9 (2,3-10,3)	<0,001
Lactato deshidrogenasa (LDH)>350 U/L	4,1 (1,35-12,66)	0,008
Linfocitos <1000/ mm^3	2,1 (1,17-4,5)	0,037

^aVariables predictivas independientes de SARS-CoV-2.

La positividad de los resultados en relación al diagnóstico final y el rendimiento de las pruebas diagnósticas microbiológicas se expresa en la Tabla 4.

Se evaluó el rendimiento del frotis faríngeo en relación a la puntuación obtenida en el score propuesto. Para una probabilidad clínica baja (score 0-3) el rendimiento de la primera, segunda y tercera determinación de RT-PCR fue del 13,6%, del 5,7% y del 0% respectivamente. En el caso de una probabilidad intermedia (score 4-5) estas cifras fueron del 69,9%, del 28,0% y del 21,4%. Finalmente para una probabilidad alta (score 6-8) el rendimiento de la RT-PCR en las tres sucesivas muestras fue del 87,5%, del 60,0% y del 33,3% respectivamente.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo, realizado al inicio del actual brote epidémico de infección por el SARS-CoV-2 en España, se evaluaron las características demográficas, epidemiológicas y clínicas de los pacientes ingresados por sospecha de esta infección. Los trabajos que han analizado los casos del brote inicial en China documentaron desde el principio el perfil clínico de los pacientes infectados por el SARS-CoV-2 que incluye sobre todo el desarrollo de neumonía con insuficiencia respiratoria y en algunos casos progresión a un síndrome de distrés respiratorio (SDR), con una mortalidad de los pacientes hospitalizados superior al 2% [5]. En el presente trabajo se compararon las características clínicas de los pacientes ingresados con un diagnóstico de confirmación de infección por SARS-CoV-2, con las de aquellos hospitalizados en los que no se obtuvo un diagnóstico de confirmación. Hemos observado diferencias significativas en relación con aspectos epidemiológicos y clínicos. Entre todos ellos, la existencia de contacto con otros casos positivos y la presentación con neumonía al ingreso fueron los factores más intensamente asociados con el diagnóstico final de infección por SARS-CoV-2. La menor edad, una baja carga de comorbilidad en el índice de Charlson o la ausencia de ingresos recientes por neumonía fueron, durante el brote epidémico, factores asociados con el diagnóstico final SARS-CoV-2. Estos datos epidemiológicos también fueron remarcados en el brote epidémico en Wuhan (China) en donde sólo el 15% de los pacientes ingresados tenían más de 65 años de edad y donde la comorbilidad fue relativamente baja salvo por la alta frecuencia de hipertensión [5]. Sin embargo, estos resultados en nuestro estudio pueden reflejar un cierto sesgo de selección dado que, al inicio de la pandemia, los pacientes ancianos ingresados en residencias fueron aislados en los propios centros socio-sanitarios e ingresaron con menor frecuencia en el hospital, como se señala en las características de la muestra estudiada en nuestro trabajo.

Otro hecho notable es que no hemos observado que las variables de laboratorio frecuentemente detectadas en la infección SARS-CoV-2, como la linfopenia o la elevación del D-dímero presentes en más del 40% de estos pacientes [5,6], tengan utilidad clínica como biomarcadores de esta infección.

Tabla 3 Variables consideradas en la evaluación del score de probabilidad pre-prueba.

Variables	Puntuación
Contacto epidemiológico con otro caso COVID	2
Infiltrado pulmonar en la radiografía de tórax	2
Presencia de dos o más síntomas (tos, fiebre o disnea)	1
Ausencia de neumonía en año previo	1
Inicio síntomas >7 días	1
Lactato deshidrogenasa (LDH) >350 U/L	1

Dado que estas determinaciones pueden presentar importantes variaciones durante el curso de la enfermedad y se han considerado, por ello, marcadores de gravedad de la infección por SARS-CoV-2, es posible que en otros momentos de la infección puedan constituir marcadores más precisos que los detectados al ingreso en nuestro trabajo. En relación al valor de la LDH, hemos objetivado que los niveles séricos >350 U/L podrían ser un marcador de utilidad en el diagnóstico de la infección SARS-CoV2.

Con estos datos hemos establecido un *score* de probabilidad pre-prueba, utilizando únicamente las variables predictivas independientes resultantes del modelo de regresión múltiple, incluyendo además la LDH. Se ha ponderado el contacto epidemiológico y la presencia de neumonía con 2 puntos en cada ítem, para un resultado máximo de 8 puntos. Así, detectamos que el *score* presentaba una alta precisión diagnóstica de infección por el SARS-CoV-2 (ABC cercana a 0,9) en los pacientes incluidos en nuestra serie. Aunque nos parece interesante considerar este *score* durante el brote epidémico, creemos que su utilidad puede ser incluso mayor en una segunda fase de la pandemia, en la que la probabilidad pre-prueba será inferior por el descenso esperable del número de casos. Finalmente, otro de nuestros objetivos fue evaluar la utilidad de la repetición del frotis nasofaríngeo en la reducción de los falsos negativos de la RT-PCR. Observamos globalmente un alto rendimiento de la primera determinación de RT-PCR. En la repetición del muestreo, el rendimiento se redujo en relación a los grupos de baja

Tabla 4 Rendimiento diagnóstico de la RT-PCR de la primera y sucesivas muestras analizadas en función de la diferente probabilidad pre-prueba.

	Rendimiento ^b score alta probabilidad n (%)	Rendimiento ^b score media probabilidad n (%)	Rendimiento ^b score baja probabilidad n (%)	Rendimiento ^b total n (%)	Diagnósticos ^c n (%)
Primer frotis NF (RT-PCR ^a)	21/24 (87,5)	51/73 (69,9)	6/44 (13,6)	79/145 (54,9)	79/98 (80,6)
Segundo frotis NF (RT-PCR ^a)	3/5 (60,0)	7/25 (28,0)	2/35 (5,7)	12/65 (18,4)	12/98 (12,2)
Tercer frotis NF (RT-PCR ^a)	1/3 (33,3)	3/14 (21,4)	0/9 (0)	4/26 (15,4)	4/98 (4,0)

^aFrotis nasofaríngeo (NF). RT-PCR. Reacción en cadena de la polimerasa.

^bRendimiento=número total de muestras positivas/número total de muestras analizadas (%).

^cDiagnósticos =número total de muestras positivas/número total de pacientes diagnosticados de infección SARS-CoV-2.

probabilidad, siendo residual en pacientes con probabilidades pre-prueba bajas. Este es un hecho relevante puesto que, un resultado negativo de un frotis debe ser interpretado como un falso negativo en pacientes con un score alto, pero en pacientes con score bajo es suficiente para descartar la infección. Nuestros datos apoyan las reflexiones de una editorial reciente en la que se señala la importancia de establecer una probabilidad preprueba en la interpretación de un resultado negativo en las pruebas RT-PCR para el SARS-CoV-2 [7]. Estos datos en situaciones de menor incidencia (situación post-brote epidémico) podrían contribuir a racionalizar el uso de los recursos disponibles y a facilitar el manejo de estos pacientes, especialmente en los servicios de urgencias de hospitales.

Nuestro estudio presenta las limitaciones inherentes a un estudio transversal. Además, se ha realizado en un solo centro hospitalario y con un número de pacientes limitado. Aún con la precisión detectada, creemos que este score debe ser validado en otras poblaciones de pacientes antes de su utilización.

En este estudio preliminar realizado en plena pandemia hemos desarrollado un score de probabilidad pre-prueba basado en datos epidemiológicos y clínicos, que ha mostrado una buena precisión para el diagnóstico de certeza de infección por el SARS-CoV-2. Repetir la toma de muestra del frotis nasofaríngeo y su procesamiento con RT-PCR puede evitar los frecuentes errores de muestreo, pero solamente en escenarios de intermedia y alta probabilidad clínica, consumiendo recursos y tiempo en pacientes con probabilidad pre-prueba baja.

FINANCIACIÓN

Los autores declaran la no existencia de financiación en relación con el presente artículo.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020;581(7809):465-469. doi: 10.1038/s41586-020-2196-x.
2. Loeffelholz MJ, Tang YW. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections - the state of the art. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):747-756. doi: 10.1080/22221751.2020.1745095.
3. Tang YW, Schmitz JE, Persing DH, Stratton CW. The Laboratory Diagnosis of COVID-19 Infection: Current Issues and Challenges. *J Clin Microbiol*. 2020; 00512-20. doi: 10.1128/JCM.00512-20.
4. Pan Y, Li X, Li, Yang G, Fan J, Tang Y, Zhao J, et al. Serological immunochromatographic approach in diagnosis with SARS-CoV-2 infected COVID-19 patients. *J Infect*. 2020. S0163-4453(20)30175-4. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.051.
5. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020;382(18):1708-1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032.
6. Rodríguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutiérrez-Ocampo E, Villamizar-Peña R, Holguín-Rivera Y, Escalera-Antezana JP, et al. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Travel Med Infect Dis*. 2020;34:101623. doi: 10.1016/j.tmaid.2020.101623.
7. Woloshin S, Patel N, Kesselheim AA. False Negative Tests for SARS-CoV-2 Infection Challenges and Implications. *N Engl J Med* 2020; 383(6):e38. doi: 10.1056/NEJMp2015897.

Maria Carmen Viñuela^{1,2,3}
Juan Antonio De León-
Luis^{1,2,3}

Roberto Alonso^{3,4,5}

Pilar Catalán^{3,4}

Santiago Lizarraga^{1,2,3}

Patricia Muñoz^{3,4,5,6*}

Emilio Bouza^{3,4,5,6*}

on behalf of the Gregorio
Marañón Obstetrics
and Gynecology and
Microbiology-ID COVID 19
Study Group

SARS-CoV-2 screening of asymptomatic women admitted for delivery must be performed with a combination of microbiological techniques: an observational study

¹Department of Obstetrics and Gynecology, University Hospital Gregorio Marañón, Madrid, Spain

²Department of Public and Maternal and Child Health, School of Medicine, Complutense University of Madrid

³Health Research Institute Gregorio Marañón

⁴Department of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, University Hospital Gregorio Marañón, Madrid, Spain

⁵Medicine Department, School of Medicine, Complutense University of Madrid

⁶CIBER of Respiratory Diseases (CIBERES CB06/06/0058)

Article history

Received: 4 August 2020; Revision Requested: 2 September 2020; Revision Received: 3 September 2020;

Accepted: 7 September 2020; Published: 18 September 2020

ABSTRACT

Introduction. The aim of this study is to assess the value of systematic screening in asymptomatic women admitted for spontaneous delivery with a combination of reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and cycle threshold (Ct) and serum antibodies.

Material and methods. Since May 6 all women admitted for spontaneous delivery underwent RT-PCR in nasopharyngeal swabs and specific antibodies IgG of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in serum that were performed as part of routine clinical care in our institution. Ct of the PCR was recorded. We analyzed the first 100 women consecutively admitted for spontaneous delivery at our institution.

Results. Nine women were positive for SARS-CoV-2 in nasopharyngeal samples (9%) and 13 (13%) presented positive specific antibodies of the coronavirus. Overall, SARS-CoV-2 prior exposure was 15%. The Ct determination (RT-PCR test) of our 9 positive patients ranged from 36 to 41 cycles with a median of 40. Vaginal delivery occurred in 94% of the cases and only 6% underwent a cesarean section, always for obstetric reasons. No fetal transmission was observed and maternal and neonatal prognosis was excellent.

Conclusions. During epidemic episodes in asymptomatic women in labor, universal testing with RT-PCR (considering Ct determination), and the detection of antibodies, permits a better interpretation of the results and avoid unnecessary isolation procedures.

Key-words: SARS-CoV-2, RT-PCR, specific antibodies, cycle threshold, delivery, screening.

Correspondence:

Maria Carmen Viñuela

Department of Obstetrics and Gynecology, University Hospital Gregorio Marañón, School of Medicine, Complutense University of Madrid, O'Donnell Street 48, 28009 Madrid, Spain.

Phone +34915290303.

E-mail: mcvinuela73@hotmail.com

*These authors shared senior authorship in this work.

El cribado de SARS-CoV-2 en mujeres asintomáticas admitidas en trabajo de parto se debe realizar con una combinación de técnicas microbiológicas: un estudio observacional

RESUMEN

Objetivo. El objetivo de este estudio es evaluar, en mujeres asintomáticas que acuden a urgencias en trabajo de parto, el valor de la detección sistemática con una combinación de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) y umbral del ciclo (Ct) y anticuerpos séricos.

Material y métodos. Desde el 6 de mayo, todas las mujeres ingresadas para parto espontáneo se sometieron a RT-PCR en hisopos nasofaríngeos y anticuerpos específicos IgG del síndrome respiratorio agudo severo por coronavirus 2 (SARS-CoV-2) en suero que se realizaron como parte de la atención clínica de rutina en nuestra institución. Se registró el Ct de la PCR. Analizamos las primeras 100 mujeres admitidas consecutivamente para parto espontáneo en nuestra institución.

Resultados. Nueve mujeres fueron positivas para SARS-CoV-2 en muestras nasofaríngeas (9%) y 13 (13%) presentaron anticuerpos específicos positivos del coronavirus. En general, la exposición previa a SARS-CoV-2 fue del 15%. La determinación de Ct (prueba de RT-PCR) de nuestros 9 pacientes positivos varió de 36 a 41 ciclos con una mediana de 40. El parto vaginal se produjo en el 94% de los casos y solo el 6% se sometió a una cesárea, siempre por razones obstétricas. No se observó transmisión fetal y el pronóstico materno y neonatal fue excelente.

Conclusiones. Durante los episodios epidémicos en mujeres asintomáticas en trabajo de parto, las pruebas universales con RT-PCR (considerando la determinación de Ct) y la detección de anticuerpos, permiten una mejor interpretación de los resultados y evitan procedimientos de aislamiento innecesarios.

Palabras clave: SARS-CoV-2, RT-PCR, anticuerpos específicos, umbral del ciclo, parto, valoración.

INTRODUCTION

Existing information on SARS-CoV-2 infection during pregnancy and delivery is still scarce and fragmentary [1]. Isolated cases, or small series of women with upper respiratory tract symptoms are usually reported, and the general idea is that the situation does not significantly increase the risk for either mother or infant [2,3]

However, the situation may not be as favorable as it appears, and in a series of 23 pregnant women with COVID-19, 2 required admission to the Intensive Care Unit (ICU) and one ended in ECMO therapy. In a systematic review of 33 studies involving 385 pregnant women with COVID-19 infection, 3.6% were severe cases and 0.8% reached critical status, 17 women required mechanical ventilation and one died. [4]. Cesarean sections were performed in 69% of cases and vaginal deliveries in 31%. It is clear, therefore, that COVID-19 is far from being an innocent disease in pregnant women and its presence should be monitored [5]

On the other hand, the large majority of the information regarding SARS-CoV-2 and pregnancy has been generated from symptomatic women and there is doubt as to whether or not systematic screening of asymptomatic mothers admitted for natural birth delivery is adequate [6,7] The potential benefits for universal testing approach include the ability to use COVID-19 status to determine hospital isolation practices and bed assignments, inform neonatal care, and guide the use of personal protective equipment. The screening is usually performed with RT-PCR tests, and positive women are usually put on isolation [8]

The aim of this study was to describe the results of systematic SARS-CoV-2 infection surveillance, using both RT-PCR and detection of antibodies in 100 asymptomatic women consecutively admitted for delivery in our center.

MATERIAL AND METHODS

Location of the study. Hospital General Universitario Gregorio Marañón (HGUGM) is a general and reference hospital, of Madrid University (Complutense University), with 1,350 beds, serving a population of approximately 350,000 inhabitants in the southeast area of Madrid. The Centre performs highly complex surgery, attends to patients with malignant diseases of both solid and hematological organs, has a very active HIV and transplant program and is one of the major referral centers for Obstetrics and Gynecology in our country. The Clinical Microbiology and Infectious Diseases Service is a multidisciplinary unit with a long history of care, teaching and research.

Design and patients. We performed an observational, cohort study. Since May 6 all patients admitted for spontaneous delivery underwent RT-PCR in nasopharyngeal swabs and specific antibodies IgG of SARS-CoV-2 in serum that were performed as part of routine clinical care in our institution.

Since that date we analyzed the first 100 women consec-

utively admitted for spontaneous delivery at the Department of Obstetrics and Gynecology of our institution.

All women were screened on the emergency room for specific signs and symptoms of COVID-19 and previous contact with a COVID-19 positive patient. Patients admitted for induction of labor or elective cesarean section were excluded.

Patient's classification

Clinical situation at the time of the study of the participating individuals was finally defined as:

-Group A: all pregnant women with a PCR positive test, irrespective of the presence of antibodies.

-Group B: all pregnant women with PCR negative test and presence of specific antibodies.

-Group C: all pregnant women with PCR negative test and absence of specific antibodies

Study outcomes. The primary endpoint was to assess the SARS-2-CoV status by RT-PCR and specific antibodies of SARS-CoV-2 during an ongoing pandemic. The secondary endpoints were: maternal and neonatal outcomes of positive pregnant women by PCR or specific antibodies and the indirect assessment of viral load of the RT-PCR test in positive women.

Diagnostic techniques. Nasopharyngeal swabs in viral transport media was tested for the presence of SARS-CoV-2 RNA using real time RT-PCR detecting gen N and Orf 1a1b (Thermo Fisher®).

The Ct (cycle threshold) is defined as the number of cycles required in the PCR technique until a detectable amplicon was achieved. If a high viral load is assumed, the number of cycles required until detection will logically be less than if a low viral load is assumed, which requires a higher number of cycles until detection. Ct cycle determination of the gen N of the PCR test was systematically assessed.

Detection of serum IgG antibodies against the SARS-CoV-2 nucleocapsid protein was carried out in the Architect analyser using Abbott's SARS-CoV-2 IgG assay (Abbott, Abbott Park, IL, USA) following manufacturer's instructions. The assay is based on a chemiluminescent microparticle immunoassay and determinations were considered negative or positive depending if results were <1.4 or ≥ 1.4 , respectively (cut-off index value).

Venipuncture samples and nasopharyngeal samples were processed in the Microbiology and Infectious Disease Service of our institution.

Variables. Collected variables that included age, comorbidities, RT-PCR performed previously to admission, previous history of infection, disease or contact by SARS-CoV-2 and symptoms attributable to coronavirus at admission were added to an electronic database designed specifically for this study in a standard case report form. Maternal and obstetric variables were also included such as parity, type of pregnancy, gestational age, hospital visits, maternal RT-PCR status, maternal specific antibodies status, Ct determination and type of delivery. Maternal outcomes, neonatal RT-PCR status and

Table 1 Baseline characteristics of pregnant women

Maternal and obstetrics characteristics	
Age-yr	
Median	32
Range	16-44
Parity - no. (%)	
Primiparous mother	48 (48.0)
No primiparous mother	52 (52.0)
Type of pregnancy - no. (%)	
Single	99 (99.0)
Multiple	1 (1.0)
Gestational age (weeks + days)	
Median	39+5
Range	33+3 - 41+2
Comorbidity - no. (%)	
No	100 (100.0)
Hospital visits-no. (%)	98
Group A+B: RT-PCR positive or serology positive	13/98 (13.3)
Median	2
Range	0-4
Group C: RT-PCR negative+serology negative	85/98 (86.7)
Median	1
Range	0-8
SARS-CoV-2 clinical characteristics	
Past history -no. (%)	
No previous history of SARS-CoV-2 infection or contact	86 (86.0)
Previous history of SARS-Cov-2 contact without infection	6 (6.0)
Probable infection ^b	6 (6.0)
Proven infection ^c	2 (2.0)
Current clinical situation at admission - no. (%)	
No signs or symptoms of SARS-CoV-2 infection.	100 (100.0)
Signs and symptoms of infectious disease no related to SARS-CoV-2.	0
Signs and symptoms compatible with SARS-CoV-2 infection.	0
Active and proven SARS-CoV-2 infection.	0
RT-PCR performed previously to admission- no. (%)	
No	79 (79.0)
Probable infection ^b or previous history of SARS-CoV-2 contact	8/79 (10.1)
Yes	21 (21.0)
RT-PCR performed by contact or clinically suspected SARS-CoV-2 infection	4/21 (19.0)
RT-PCR performed by institutional protocol ^d	17/21 (81.0)
Negative test result	19/21 (90.5)
Positive test result	2/21 (9.5)

^aTwo patients have been excluded due to a prior positive RT-PCR.

^bProbable infection was defined as patient with signs and symptoms compatible with SARS-CoV-2 in the appropriate epidemiological context but who for some reason had not undergone PCR test prior to admission

^cProven infection by coronavirus was defined as patients who have had signs or symptoms compatible with SARS-CoV-2 and the existence of a positive PCR test in nasopharyngeal swabs at some point, prior to the moment of admission.

^dInstitutional protocol previous to external cephalic version, induction of labor and elective cesarean section

Abbreviations: no.; Number. %: Percentage. yr: year. SARS-CoV-2: Severe acute Respiratory Syndrome coronavirus 2. RT-PCR: Reverse transcription polymerase chain reaction

neonatal outcomes were analyzed only in RT-PCR positive pregnant women.

Hospital visits were considered: appointments to outpatients clinic, admissions to hospital, performance of blood tests, visits to the emergency room and antenatal fetal monitoring visits since March 14th, when lockdown was announced in Spain. Multiple visits performed the same day were considered only once.

Statistical analysis. Descriptive statistics were performed to assess baseline characteristics. Quantitative variables were expressed as mean and range. Categorical variables are presented by the frequency distribution and percentages (%). The Mann-Whitney U test is used to compare differences in medians. Differences with $p < 0.05$ were considered statistically significant. All the statistical analysis was done with SPSS 25.

Ethical approval. The study protocol was approved by the Institutional Clinical Research Ethics Committee of University Hospital Gregorio Marañón on 3 June 2020 (act 15/2020).

RESULTS

Between May 6 and May 21, at a moment of decline of the COVID-19 epidemic in Spain, a total of 100 pregnant women were admitted for spontaneous delivery at our institution. Baseline characteristics are described in Table 1. None of them did have symptoms of SARS-CoV-2 infection at admission.

Nine women had nasopharyngeal swabs positive for SARS-CoV-2 (9.0%) and 13 women (13.0 %) presented positive specific antibodies against SARS-COV-2 (including 7 of the 9 PCR positive patients). The overall rate of patients with exposure to SARS-CoV-2 was 15.0%. The results of RT-PCR and serology are described in Table 2.

Only two of the nine RT-PCR positive patients had no specific antibodies. The first one had no contact or symptoms of SARS-CoV-2. The second one referred anosmia one month prior to delivery. Among seven RT-PCR positive women with specific antibodies against SARS-CoV-2 at admission, two of them had another positive RT-PCR for SARS-CoV-2 in the previous weeks. Of the remaining five patients, the first one had family contact seven weeks prior to delivery but she didn't had symptoms in the past; another one had family contact and presented anosmia four weeks prior to delivery and in the last three patients there were no symptoms of infection neither close contact with positive cases. The situation of the nine RT-PCR positive at admission is summarized in Table 3

Table 2 RT-PCR and serology results

	SARS-CoV-2 antibodies (+)	SARS-CoV-2 antibodies (-)	Total
	Number	Number	number
Number of RT-PCR (+)	7	2	9
Number of RT-PCR (-)	6	85	91
Total	13	87	100

Table 3 Description and clinical evolution of RT-PCR positive women.

RT-PCR positive women	Previous covid19 clinic/Family contact	Previous positive RT-PCR	RT-PCR positive test at admission	Ct	Specific antibodies	RT-PCR negative test date	Evolution
1	3-4 weeks before delivery/No	Yes	May 6th	41	Positive	Unrealized	Asymptomatic
2	No	No	May 6th	41	Negative	May 26th	Asymptomatic
3	4 weeks before delivery/No	No	May 9th	38	Negative	May 24th	Asymptomatic
4	No	No	May 10th	40	Positive	June 8th	Asymptomatic
5	No/7 weeks before delivery	No	May 10th	36	Positive	May 27th	Asymptomatic
6	4 weeks before delivery/Yes	No	May 14th	39	Positive	May 28th	Asymptomatic
7	No	No	May 17th	40	Positive	June 2nd	Asymptomatic
8	6 weeks before delivery/No	Yes	May 18th	41	Positive	June 5th	Asymptomatic
9	No	No	May 19th	36	Positive	June 4th	Asymptomatic

RT-PCR: Reverse transcription polymerase chain reaction. Ct: Cycle threshold

Among 91 RT-PCR negative women, six had specific antibodies against SARS-CoV-2.

The Ct determination of the PCR test of our 9 positive patients was assessed as a surrogate marker of the viral load. The Ct value was delayed (or very high) and ranged from 36 to 41 cycles, with a median of 40. The two RT-PCR positive women who had no specific antibodies had also delayed Cts of 38 and 41. These results and clinical evolution of the women are shown in Table 3.

In our series, if a previous history of contact with COVID-19 were used as a single indicator of COVID-19 testing we had lost 40.0% (6/15) of the patients with evidence of prior SARS-CoV-2 contact.

According to our predefined criteria, patients were classified in three risk categories regarding SARS-CoV-2 status: group A, 9.0%, group B, 6.0% and group C 85.0%. Excluding two patients with past history of positive RT-PCR test, we observed a non-significant trend towards an increase number of hospital visits in the group A+B compared to group C (median 2 versus 1; $p = 0.49$).

Vaginal delivery occurred in 94.0% of the cases and only 6.0% underwent a cesarean section, always for obstetric reasons. None of the RT-PCR positive pregnant women required

specific therapy against SARS-CoV2 or prolonged hospital stay. Maternal prognosis was excellent and they remained asymptomatic. No fetal transmission was observed and neonatal prognosis was excellent too. One newborn with a COVID-19 positive mother was admitted to neonatal unit due to prematurity. Type of delivery, maternal and neonatal outcomes is described in Table 4.

DISCUSSION

Our study shows that, during the COVID-19 pandemic, a high percentage (15%) of asymptomatic women in labor arrived at the hospital with evidence of past or present coronavirus infection. The simultaneous combination of epidemiological history, RT-PCR (Ct value) and antibodies allows a better classification of women by risk of transmission. During the follow-up time, all the women remained asymptomatic and also their newborns.

Pregnant women were not listed as a group at particular risk of poor outcomes for either mother or fetus in the earlier publications on COVID-19 [2,9-11], but more recent data are showing that this is not always the case and that COVID-19 in pregnant women are to be prevented and searched with care [1,12-17].

Table 4 Type of delivery, maternal and neonatal outcomes.

	n (%)
Type of delivery	
Eutocic	82 (82)
Instrumental	11 (11)
Cesarean section	6 (6)
Breech delivery	0
Twin delivery	1 (1)
Maternal outcomes (if RT-PCR maternal positive)	
No treatment	9/9 (100)
Medical treatment	0/9
Admission for ICU	0/9
Death	0/9
Neonatal RT-PCR status (if RT-PCR maternal positive)	
Positive	0/9
Negative	9/9 (100)
Neonatal outcomes (if RT-PCR maternal positive)	
No treatment	8/9 (88.9)
Admission to neonatal unit for SARS-2-CoV treatment	0
Admission to neonatal unit for other reasons.	1/9 (11.1)
Death	0

RT-PCR: Reverse transcription polymerase chain reaction. ICU: intensive care unit

Information at the height of the epidemic has come mainly from pregnant symptomatic population, where an etiological diagnosis was attempted only in hospitalized patients with physical complaints [12,18]. Reports are now appearing showing that more than 10% of symptomatic pregnant women may have severe forms of the disease requiring assistance in intensive care units. Cardiomyopathy, coagulopathy, premature rupture of membranes, preterm labor and fetal distress were the main prenatal complications reported [16,19,20]. Death from COVID-19 is extraordinarily rare in pregnant women but is no longer an unknown fact. In a recent systematic review, authors identified 33 studies reporting 385 pregnant women with COVID-19 infection: 14 (3.6%) were severe and 3 (0.8%) critical. Seventeen women were admitted to intensive care, including six who were mechanically ventilated and one maternal death occurred [4].

Our study evaluates the need of screening in asymptomatic pregnant women arriving for labor to the hospital, in order to properly classify patients and their offspring and direct them to the adequate hospital circuits.

The CDC and the ACOG Practice Advisory boards are not totally clear on the recommendation to screen asymptomatic women at the time of delivery [21], but others suggest that since there may be asymptomatic positive women, testing

should be considered at delivery [22]. Recently, Sutton et al [23], described a 13.5% positive RT-PCR test in asymptomatic pregnant women. A second report [24], also from New York City, showed an incidence of asymptomatic infection of 15.5 % among patients and 9.6% among support persons and another one, published on April 26, described an incidence of asymptomatic infection of 13% [25]. In all those series the detection was made only with PCR tests. The data is practically identical to our 9% PCR positivity and 15% overall positivity.

Our study is more comprehensive because we used not only RT-PCR but also IgG antibodies in all pregnant patients presenting for spontaneous delivery and an epidemiological questionnaire. This permits a better interpretation of the PCR test significance. Until relatively recently, a positive PCR test was considered equivalent to a risk of viral elimination and therefore associated with a potential for transmission. However, recent data have shown that it is extremely rare to transmit after day + 8 from the onset of symptoms and those patients who show elevated antibody titles are no longer transmitters [26-29]

The low possibility of viral excretion in our cases is further reinforced by the very high number of replication cycles (Ct) on the PCR tests of our patients (All Cts > 35). Recent studies show that the risk of transmission of the disease has to do with the excretion of live viruses and their quantity. A study carried out by Bullard et al showed that there was no viral growth in samples with a Ct > 24 [30].

With these results in hand, none of our 9 positive PCR women would have had to be really isolated or directed to any special circuit, which means a considerable saving of resources for the patients and the health system. The evolution of them and their children, in the absence of any treatment, was excellent and there was no evidence of transmission either to the children or to the healthcare personnel associated with these cases.

The main strength of our study is the use of a combination of techniques to properly interpret the results of a positive RT-PCR in asymptomatic women entering the hospital for delivery. A history of disease of more than 10 days duration, the absence of symptoms, a delayed Ct cycle and the presence of antibodies are all highly suggestive of a low risk of viral shedding.

Our study has several limitations. First, these results come from a unicentric study therefore they must be taken with caution regarding the generalizability to other populations. Second, our study reflects the situation at a certain point in the epidemic wave and shows that screening makes sense at earlier phases of the wave but probably not when the large majority of the positive cases are really past infections without risks of further transmission.

We can conclude that universal testing with RT-PCR should be performed on all women admitted to delivery, at least while the pandemic is active, but the screening, if performed, must include not only a PCR nasopharyngeal test but also consider Ct amplification cycle and the presence of anti-

bodies. With all the information, many unnecessary isolation procedures can be avoided.

ACKNOWLEDGMENTS

*Gregorio Marañón Obstetrics and Gynecology and Microbiology-ID COVID 19 Study Group: Luis Alcalá, Teresa Aldámiz, Beatriz Álvarez, Ana Álvarez-Uría, Juan Antonio Andueza, Alexi Arias, Luis Antonio Arroyo, Juan Berenguer, Elena Bermúdez, Almudena Burillo, Ana Candela, Raquel Carrillo, Emilia Cercenado, Alejandro Cobos, Ignacio Cueto, Cristina Díez, Pilar Escribano, Agustín Estévez, Chiara Fanciulli, Alicia Galar, Esther María García, M^a Dolores García, Darío García de Viedma, Paloma Gijón, Adolfo González, Jose Eugenio Guerrero, Helmuth Guillén, Jesús Guinea, Laura Haces Haces, Concepción Hernández, Martha Kestler, Juan Carlos López, Carmen Narcisa Losada, Marina Machado, M^a Victoria Manzanal, Mercedes Marín, Pablo Martín, Pedro Montilla, Zaira Moure, Mar Muñoz-Chápuli, Mar Olmedo, Belén Padilla, María Palomo, Francisco Parras, Pilar Payá, María Jesús Pérez-Granda, Laura Pérez, Leire Pérez, Paula Pescador, Luis Puente, Elena Reigadas, Cristina Rincón, Belén Rodríguez, Sara Rodríguez, Adriana Rojas, Francisco Javier Ruiz, María Jesús Ruiz-Serrano, Carlos Sánchez, Mar Sánchez, Julia Serrano, María del Carmen Tamarit, Francisco Tejerina, Maricela Valerio, M^a Cristina Veintimilla, Laura Vesperinas, Teresa Vicente, Sofía de la Villa.

FUNDING

None to declare.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflicts of interest

REFERENCES

- Mullins E, Evans D, Viner RM, O'Brien P, Morris E. Coronavirus in pregnancy and delivery: rapid review. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2020;55(5):586-592. doi: 10.1002/uog.22014.
- Chen H, Guo J, Wang C, Luo F, Yu X, Zhang W et al. Clinical characteristics and intrauterine vertical transmission potential of COVID-19 infection in nine pregnant women: a retrospective review of medical records. *Lancet.* 2020;395(10226):809-15. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30360-3
- Liu Y, Chen H, Tang K, Guo Y. Clinical manifestations and outcome of SARS-CoV-2 infection during pregnancy. *J Infect.* 2020 Mar 4. doi: 10.1016/j.jinf.2020.02.028.
- Elshafeey F, Magdi R, Hindi N, Elshebiny M, Farrag N, Mahdy S et al. A systematic scoping review of COVID-19 during pregnancy and childbirth. *Int J Gynaecol Obstet.* 2020;150(1):47-52. doi: 10.1002/ijgo.13182.
- Zaigham M, Andersson O. Maternal and Perinatal Outcomes with COVID-19: a systematic review of 108 pregnancies. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2020;99(7):823-829. doi: 10.1111/aogs.13867.
- Ceulemans D, Thijs I, Schreurs A, Vercammen J, Lannoo L, Deprest J et al. Screening for COVID-19 at childbirth: does it effective? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2020;56(1):113-114. doi: 10.1002/uog.22099.
- Chawla D, Chirila D, Dalwai S, Deorari AK, gantra A, Gandhi A et al. Perinatal-Neonatal Management of COVID-19 Infection - Guidelines of the Federation of Obstetric and Gynecological Societies of India (FOGSI), National Neonatology Forum of India (NNF), and Indian Academy of Pediatrics (IAP). *Indian Pediatr.* 2020;57(6):536-548. doi: 10.1007/s13312-020-1852-4.
- Qi H, Luo X, Zheng Y, Zhang H, Li J, Zou L et al. Safe Delivery for COVID-19 Infected Pregnancies. *BJOG.* 2020;127(8):927-929. doi: 10.1111/1471-0528.16231.
- Chen S, Liao E, Cao D, Gao Y, Sun G, Shao Y. Clinical analysis of pregnant women with 2019 novel coronavirus pneumonia. *J Med Virol.* 2020;10.1002/jmv.25789. doi: 10.1002/jmv.25789.
- Schwartz DA. An Analysis of 38 Pregnant Women with COVID-19, Their Newborn Infants, and Maternal-Fetal Transmission of SARS-CoV-2: Maternal Coronavirus Infections and Pregnancy Outcomes. *Arch Pathol Lab Med.* 2020 Mar 17. doi: 10.5858/arpa.2020-0901-SA.
- Martínez-Pérez O, Vouga M, Cruz Melguizo S, Forcen Acebal L, Panchaud A, Muñoz Chapuli M et al. Association Between Mode of Delivery Among Pregnant Women With COVID-19 and Maternal and Neonatal Outcomes in Spain. *JAMA.* 2020;e2010125. doi: 10.1001/jama.2020.10125.
- Rasmussen SA, Jamieson DJ. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) and Pregnancy: Responding to a Rapidly Evolving Situation. *Obstet Gynecol.* 2020;135(5):999-1002. doi: 10.1097/AOG.0000000000003873.
- Di Renzo GC, Giardina I. Coronavirus disease 2019 in pregnancy: consider thromboembolic disorders and thromboprophylaxis. *Am J Obstet Gynecol.* 2020;223(1):135. doi: 10.1016/j.ajog.2020.04.017.
- Buekens P, Alger J, Bréart G, Cafferata ML, Harville E, Tomasso G. A call for action for COVID-19 surveillance and research during pregnancy. *Lancet Glob Health.* 2020;8(7):e877-e878. doi: 10.1016/S2214-109X(20)30206-0.
- Della Gatta AN, Rizzo R, Piliu G, Simonazzi G. Coronavirus disease 2019 during pregnancy: a systematic review of reported cases. *Am J Obstet Gynecol.* 2020;223(1):36-41. doi: 10.1016/j.ajog.2020.04.013.
- Juusela A, Nazir M, Gimovsky M. Two cases of coronavirus 2019-related cardiomyopathy in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol MFM.* 2020;2(2):100113. doi: 10.1016/j.ajogmf.2020.100113.
- Knight M, Bunch K, Vousden N, Morris E, Simpson N, Gale C et al. Characteristics and outcomes of pregnant women admitted to hospital with confirmed SARS-CoV-2 infection in UK: national population based cohort study. *BMJ.* 2020;369:m2107. doi: 10.1136/bmj.m2107.
- Huntley B, Huntley ES, Di Mascio D, Chen T, Berghella V, Chauhan SP. Rates of Maternal and Perinatal Mortality and Vertical Transmission in Pregnancies Complicated by Severe Acute Respiratory

- Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Infection: A Systematic Review. *Obstet Gynecol.* 2020;136(2):303-312. doi: 10.1097/AOG.0000000000004010.
19. Muhidin S, Behboodi Moghadam Z, Vizheh M. Analysis of Maternal Coronavirus Infections and Neonates Born to Mothers with 2019-nCoV; a Systematic Review. *Arch Acad Emerg Med.* 2020;8(1):e49.
 20. Koumoutsea EV, Vivanti AJ, Shehata N, Benachi A, Le Gouez A, Desconclois C et al. COVID-19 and acute coagulopathy in pregnancy. *J Thromb Haemost.* 2020;18(7):1648-1652. doi: 10.1111/jth.14856.
 21. Barton JR, Saade GR, Sibai BM. A Proposed Plan for Prenatal Care to Minimize Risks of COVID-19 to Patients and Providers: Focus on Hypertensive Disorders of Pregnancy. *Am J Perinatol.* 2020;37(8):837-844. doi: 10.1055/s-0040-1710538.
 22. Gorshkov K, Chen CZ, Bostwick R, Rasmussen L, Xu M, Pradhan M et al. The SARS-CoV-2 cytopathic effect is blocked with autophagy modulators. *bioRxiv.* 2020;2020.05.16.091520. doi: 10.1101/2020.05.16.091520.
 23. Sutton D, Fuchs K, D'Alton M, Goffman D. Universal Screening for SARS-CoV-2 in Women Admitted for Delivery. *N Engl J Med.* 2020;382(22):2163-2164. doi: 10.1056/NEJMc2009316.
 24. Bianco A, Buckley AB, Overbey J, Smilen S, Wagner B, Dinglas C et al. Testing of Patients and Support Persons for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Infection Before Scheduled Deliveries. *Obstet Gynecol.* 2020;136(2):283-287. doi: 10.1097/AOG.0000000000003985.
 25. Vintzileos WS, Muscat J, Hoffmann E, John NS, Vertichio R, Vintzileos AM et al. Screening all pregnant women admitted to labor and delivery for the virus responsible for coronavirus disease 2019. *Am J Obstet Gynecol.* 2020;223(2):284-286. doi: 10.1016/j.ajog.2020.04.024.
 26. van Kampen JA, van de Vijver D, Fraaij P, Haagmans BL, Lamers M, Okba N et al. Shedding of infectious virus in hospitalized patients with coronavirus disease-2019 (COVID-19): duration and key determinants. *medRxiv.* 2020;2020.06.08.20125310.2020. doi:10.1101/2020.06.08.20125310
 27. Korea CfDCaP. Findings from investigation and analysis of Re-Positive cases. <https://www.cdc.go.kr/board/board.es?mid=a30402000000&bid=0030>. 2020; Press Release (accessed 3 September 2020)
 28. CDC. Duration of Isolation and Precautions for Adults with COVID-19. https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/duration-isolation.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fcoronavirus%2F2019-ncov%2Fcommunity%2Fstrategy-discontinue-isolation.html#references. 2020 (accessed 3 September 2020)
 29. Arons MM, Hatfield KM, Reddy SC, Kimball A, James A, Jacobs JR et al. Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility. *N Engl J Med* 2020; 382:2081-2090. doi: 10.1056/NEJMoa2008457
 30. Bullard J, Dust K, Funk D, Strong JE, Alexander D, Garnett L et al. Predicting infectious SARS-CoV-2 from diagnostic samples. *Clin Infect Dis.* 2020 May 22;ciaa638. doi: 10.1093/cid/ciaa638.

Jesús García-Cruces¹
Raúl López Izquierdo^{2,3}
Marta Domínguez-Gil⁴
Luis López-Urrutia⁴
Mónica de Frutos⁴
Belén Lorenzo⁴
Begoña Nogueira⁴
Antonio Puerta⁴
Marta Fernández-Esgueva⁴
Irene Merino⁴
María Carmen Ramos-Sánchez⁴
José María Eiros⁴

Análisis de la demanda de detección de SARS-CoV-2 en un área de salud de España

¹Servicio de Medicina Preventiva y Epidemiología. Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid. España

²Servicio de Urgencias. Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid. España.

³Departamento de Cirugía, Oftalmología, Otorrinolaringología y Fisioterapia. Universidad de Valladolid. España.

⁴Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid. España.

Article history

Received: 4 August 2020; Revision Requested: 1 September 2020; Revision Received: 3 September 2020;
Accepted: 7 September 2020; Published: 16 September 2020

RESUMEN

Introducción. Desde el descubrimiento del virus SARS-CoV-2 la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) se ha convertido en el método fundamental para el diagnóstico de la enfermedad en su fase aguda. El objetivo es describir la serie basada en la demanda de determinaciones de RT-PCR recibidas en un Servicio de Microbiología en un hospital de tercer nivel de referencia durante tres meses desde el inicio de la epidemia por SARS-CoV-2.

Material y métodos. Se realizó un análisis retrospectivo del total de las RT-PCR solicitadas en el servicio de microbiología analizado desde el 25 de febrero de 2020 al 26 de mayo de 2020 (90 días). Se agruparon por semanas epidemiológicas y servicio peticionario. Se realizó un análisis descriptivo por edad, género y número de solicitudes por paciente. Se consideró significativo un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$).

Resultados. Se recibieron un total de 27.106 de solicitudes que correspondían a 22.037 pacientes. Edad mediana 53,7 (RIC 40,9-71,7) años, mujeres: 61,3%. Proporción de pacientes con alguna RT-PCR positiva: 14%. Del total de peticiones de RT-PCR fueron positivas 3.710. La rentabilidad máxima fue la semana epidemiológica 13, con un 39,0%. El servicio peticionario que más RT-PCR ha solicitado de forma global ha sido atención primaria con 15.953 solicitudes. Pacientes con 3 o más RT-PCR: 565, de ellos, 19 pacientes presentaron un resultado positivo tras haber sido negativos.

Conclusiones. Las solicitudes han ido aumentando en función de la evolución de la epidemia. La RT-PCR posee un elevado rendimiento diagnóstico en las fases de mayor contagiosidad y/o transmisibilidad del virus.

Palabras Clave. SARS-CoV-2; diagnóstico; Epidemia

Analysis of the demand for detection of SARS-CoV-2 in a health area of Spain

ABSTRACT

Introduction. Since the discovery of the SARS-CoV-2 virus, the polymerase chain reaction technique (RT-PCR) has become the fundamental method for diagnosing the disease in its acute phase. The objective is to describe the demand-based series of RT-PCR determinations received at a Microbiology Service at a third-level reference hospital for a health area for three months spanning from the onset of the epidemic by SARS-CoV-2.

Methods. A retrospective analysis of the total of the RT-PCR requested in the Microbiology Service analyzed from 02/25/2020 to 05/26/2020 (90 days) has been carried out. They have been grouped by epidemiological weeks and by the petitioner service. A descriptive analysis was carried out by age, gender and number of requests for each patient. In the tests carried out, a confidence level of 95% ($p < 0.05$) was considered significant.

Results. A total of 27,106 requests was received corresponding to 22,037 patients. Median age 53.7 (RIC 40.9-71.7) years, women: 61.3%. Proportion of patients with any positive RT-PCR: 14%. Of the total requests for RT-PCR, positive 3,710. Week 13 had the highest diagnosis performance (39.0%). The primary care has been the service that has made the most requests (15,953). Patients with 3 or more RT-PCR: 565, of them, 19 patients had a positive result after previously having a negative one.

Conclusions. Requests have been increasing depending on the evolution of the epidemic. The RT-PCR has a high diagnostic performance in the phases of highest contagiousness and / or transmissibility of the virus.

Key-words: SARS-CoV-2; diagnosis; epidemic

Correspondencia:
Raúl López Izquierdo.
Servicio de Urgencias Hospital Universitario Río Hortega.
Dulzaina nº 2, 47012. Valladolid. España.
E-mail: rlopeziz@saludcastillayleon.es

INTRODUCCIÓN

El primer caso de enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) debido a la infección por el denominado Coronavirus-2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2) fue identificado en China en diciembre de 2019. Desde entonces su extensión ha sido continua por todo el mundo y con especial impacto en nuestro país en términos de morbimortalidad, afectando a alrededor de trescientos mil personas hoy en día [1, 2]. La aparición del SARS-CoV-2 supone un enorme reto para la comunidad científica y médica en general; a pesar de haber sido identificado y descrito tan solo hace seis meses, la información clínica disponible es muy profusa y rápidamente disponible.

Aunque todavía es pronto en el marco de la pandemia y mucha de la información disponible es preliminar, podemos afirmar que se trata de una nueva enfermedad con manifestaciones clínicas muy dispares y difíciles de asociar a un único mecanismo patogénico [3].

El método que mayor rentabilidad diagnóstica ofrece para realizar la identificación virológica del SARS-CoV-2 es su detección molecular mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Esta modalidad de diagnóstico directo se basa en la amplificación del material genético del virus y su posterior detección por múltiples métodos, en su mayoría enfocados en la identificación de genes como el de la polimerasa (RdRp), gen E y gen N del virus [4, 5].

La técnica diagnóstica de la PCR para determinación del ARN viral de muestras obtenidas mediante frotis nasofaríngeo y/o orofaríngeo ha emergido como la base para el manejo inicial de la enfermedad en nuestro medio y en la práctica clínica habitual, tanto desde el punto de vista epidemiológico como diagnóstico y terapéutico e incluso, como aproximación al pronóstico y evolución de la enfermedad [6-9]. En el momento actual se desconoce de qué manera han ido evolucionando las determinaciones de PCR de SARS-CoV-2 (RT-PCR) a lo largo del tiempo desde un punto de vista demográfico en función de las semanas epidemiológicas a partir del inicio de la epidemia en nuestro país; conocer estos aspectos relacionados con la enfermedad podría ayudar a valorar el comportamiento del virus en una población y al control de futuros brotes epidémicos [10]. El objetivo de la presente contribución es describir una serie basada en la demanda de determinaciones de RT-PCR recibidas en un Servicio de Microbiología en un hospital de tercer nivel de referencia para un área sanitaria de Castilla y León, con una población asignada de alrededor de 250.000 habitantes durante tres meses que abarcan el inicio de la pandemia por SARS-CoV-2.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado un análisis retrospectivo del total de las RT-PCR. Solicitadas y realizadas en el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Río Hortega de Valladolid desde el 25 de febrero de 2020 hasta el 26 de mayo de 2020, analizando el global de determinaciones realizadas agrupando, por la sema-

na epidemiológica y el servicio peticionario: Atención Primaria (AP), el Servicio de Urgencias Hospitalario (SUH), Centros hospitalarios ajenos al propio hospital, Servicios de hospitalización, consultas hospitalarias y el Servicio de Prevención de Riesgos Laborales (SPRL) adscrito a nuestro Hospital. Se estudiaron el total de pacientes a los que pertenecían las solicitudes realizadas, llevando a cabo un análisis descriptivo por edad, género y número de solicitudes de cada paciente.

Se realizó un análisis de aquellos pacientes a los que se les había hecho más de 3 determinaciones RT-PCR a lo largo del estudio y habían presentado un resultado positivo tras haber negativizado previamente en alguna de las pruebas realizadas anteriormente.

Las técnicas de PCR que se han ido implementando de modo cronológico fueron "Liferiver" (ZJ Bio-tech, Shanghai) [11], "Allplex, 2019-nCoV Assay" (Seegene Inc, Seúl, Korea) [12], "Cobas SARS-CoV-2 (RocheMolecular Systems, Inc, Branchburg, NJ, USA) [13] y "GeneFinder" Covid-19 Plus (Osang Healthcare Co Ltd, Gyeonggi-do, Korea) [14].

Toda la información se almacenó en una base de datos EXCEL finalmente tras la depuración de los datos mediante pruebas para determinar valores extremos; se llevó a cabo el análisis estadístico mediante el paquete SPSS 20.00 (SPSS Inc®, Chicago Ill, EE. UU.), con el que se realizó el análisis estadístico posterior. Las variables cuantitativas continuas se han descrito como mediana y rango si la distribución, al no seguir una distribución normal según la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las variables cualitativas se describieron mediante frecuencias absolutas y relativas (%). Para la comparativa de variables cuantitativas se utilizó la prueba de U-de-Mann-Whitney. Se utilizó la prueba de la chi-cuadrado para tablas de contingencia 2x2 o y contraste de proporciones para estipular la relación asociación o dependencia entre variables cualitativas o la prueba exacta de Fisher, en el caso que más de un 25% de las frecuencias esperadas sean menores de 5. En las pruebas realizadas se consideró significativo un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$).

RESULTADOS

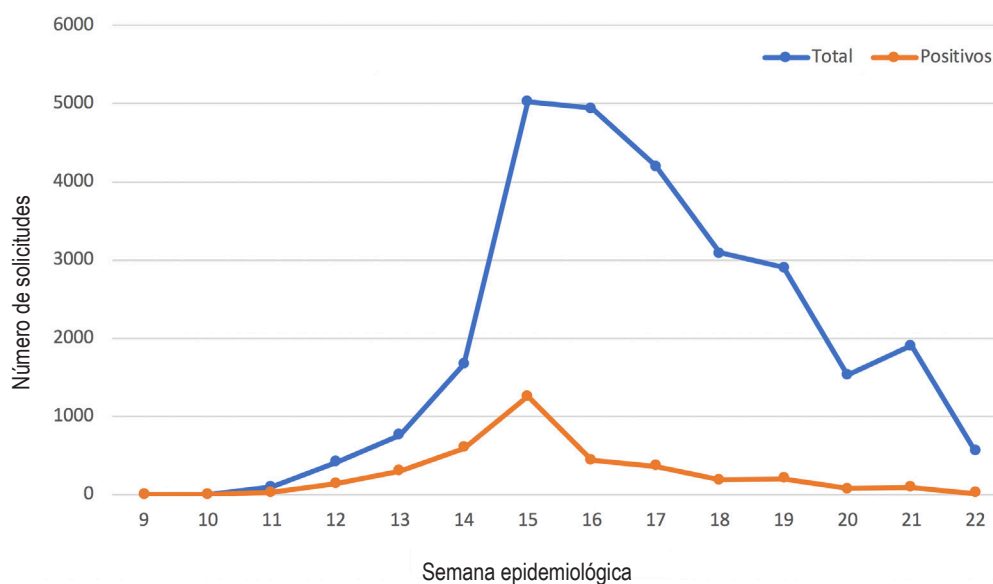
En el periodo de tiempo evaluado, 90 días, se han solicitado un total de 27.106 RT-PCR que correspondían a 22.037 pacientes, con una edad mediana de 53,7 (RIC 40,9-71,7) años y un porcentaje de mujeres del 61,3%. La proporción global de pacientes con alguna RT-PCR positiva fue del 14% lo que representa un total de 3083 personas. La edad mediana de los pacientes con alguna RT-PCR positiva fue de 65,9 (RIC 49,4-85,5) años mientras que la mediana de los negativos fue de 52,5 (40,0-67,7) años ($p < 0,001$). Según la distribución por sexo, se comprobó que el 13,4% de las mujeres tenía algún positivo frente al 14,9% de los varones ($p < 0,05$).

Del total de determinaciones RT-PCR solicitadas, resultaron positivas 3.710 lo que representa una rentabilidad diagnóstica de la técnica del 13,7%. La primera PCR se solicitó el 25 de febrero de 2020 (semana epidemiológica 9). Entre la semana epidemiológica 9 y 10 se solicitaron 9 RT-PCR, con 1 resultado

Tabla 1 Distribución temporal de las solicitudes de RT-PCR según las semanas epidemiológicas analizadas

Semana Epidemiológica	AP n (%) +	SUH n (%) +	Centros externos n (%) +	Hospitalización n (%) +	Consulta externa n (%) +	SPRL n (%) +	Total n (%) +
9	0 (0)	0 (0)	6 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6 (0)
10	0 (0)	1 (100)	0 (0)	2 (50)	0 (0)	0 (0)	3 (33)
11	0 (0)	79 (29,1)	1 (0)	22 (18,2)	1 (100)	1 (100)	104 (27,9)
12	29 (31%)	255 (40,8)	12 (50)	76 (22,4)	13 (15,4)	27 (11,1)	412 (34,2)
13	79 (29,1)	400 (51,5)	60 (28,3)	186 (23,1)	7 (14,3)	27 (22,2)	759 (39,0)
14	116 (33,6)	290 (34,5)	860 (41,7)	186 (24,7)	27 (40,7)	192(20,8)	1.671 (35,6)
15	3.000 (24,8)	363 (20,7)	1.180(31,9)	228 (17,1)	17 (5,9)	234(11,1)	5.022 (25,1)
16	3.514 (7,1)	305 (7,5)	575 (18,4)	197 (17,3)	123 (2,4)	230(12,2)	4.944 (9,0)
17	3.233 (9)	324 (5,2)	180 (11,7)	142 (17,6)	105 (1,9)	217 (4,1)	4.201 (8,7)
18	2.161 (6,4)	349 (6,6)	91 (0)	123 (17,1)	112 (0,9)	257 (1,2)	3.093 (6,0)
19	1.920 (8,2)	343 (6,4)	92 (1,1)	128 (14,1)	180 (1,1)	239 (0,8)	2.902 (7,0)
20	705 7,7)	335 (3,6)	58 (1,7)	106 (9,4)	235 (1,3)	92 (3,3)	1.531 (5,4)
21	963 (7,4)	361 (2,2)	45 (0)	114 (7,0)	237 (0,4)	190 (0,5)	1.910 (4,7)
22	233 (4,7)	107 (0,9)	24 (0)	39 (7,7)	125 (0)	20 (5)	548 (2,9)
Total	15.953 (11,2)	3.512 (17,5)	3.184(27,9)	1.549 (17,4)	1.182 (2,4)	1.726(7,1)	27.106 (13,7)

AP: atención primaria; SUH: servicio de urgencias hospitalarias; SPRL: servicio de prevención de riesgos laborales; n: número; %: porcentaje.

**Figura 1** Total, de solicitudes de RT-PCR de SARS-CoV-2 y positivos en función de la semana epidemiológica.

positivo (4 de marzo de 2020). Las semanas epidemiológicas 15 y 16 fueron las que se realizaron más peticiones: 5.022 y 4.944 respectivamente. La rentabilidad diagnóstica desde la semana epidemiológica 11 fue del 27,9% y fue máxima la semana 13

con un 39,0% de solicitudes positivas. A partir de la semana 16 la rentabilidad diagnóstica fue bajando del 9% hasta el 4,7% en la semana 21, que se correspondió con la última semana completa analizada (Figura 1 y Tabla 1)

Tabla 2 Distribución del número de solicitudes de RT-PCR según el grupo de edad y el sexo en el periodo de tiempo analizado.

Grupo Edad y número de Solicitudes	Total n (%)	Varón n (%)	Mujer n (%)	p
0-10 años				
1 Solicitud	369 (93,9)	181 (94,3)	188 (93,4)	>0,05
2 Solicitudes	21 (5,3)	10 (5,2)	11 (5,5)	
3 Solicitudes	2 (0,5)	0 (0)	2 (1)	
4 Solicitudes	1 (0,3)	1 (0,5)	0 (0)	
11-20 años				
1 Solicitud	460 (89,1)	220 (89,8)	240 (88,6)	>0,05
2 Solicitudes	43 (8,3)	18 (7,3)	25 (9,2)	
3 Solicitudes	9 (1,7)	5 (2)	4 (1,5)	
4 Solicitudes	4 (0,8)	2 (0,8)	2 (0,7)	
21-30 años				
1 Solicitud	1.374 (88,6)	475 (90,1)	899 (87,8)	>0,05
2 Solicitudes	134 (8,6)	38 (7,2)	96 (9,4)	
3 Solicitudes	33 (2,1)	11 (2,1)	22 (2,1)	
4 Solicitudes	8 (0,5)	3 (0,6)	5 (0,5)	
5 Solicitudes	1 (0,1)	0 (0)	1 (0,1)	
>=6 Solicitudes	1 (0,1)	0 (0)	1 (0,1)	
31-40 años				
1 Solicitud	2.421 (85,7)	858 (87,0)	1.563 (85)	<0,05
2 Solicitudes	305 (10,8)	88 (8,9)	127 (11,8)	
3 Solicitudes	78 (2,8)	27 (2,7)	51 (2,8)	
4 Solicitudes	15 (0,5)	9 (0,9)	6 (0,3)	
5 Solicitudes	4 (0,1)	3 (0,3)	1 (0,1)	
>=6 Solicitudes	2 (0,1)	1 (0,1)	1 (0,1)	
41-50 años				
1 Solicitud	3.507 (86,6)	1.315 (85,7)	2.192 (87,2)	<0,05
2 Solicitudes	404 (9,9)	149 (9,7)	255 (10,1)	
3 Solicitudes	95 (2,3)	52 (3,4)	43 (1,7)	
4 Solicitudes	32 (0,8)	14 (0,9)	18 (0,7)	
5 Solicitudes	7 (0,2)	3 (0,2)	4 (0,1)	
>=6 Solicitudes	3 (0,1)	2 (0,1)	1 (0)	
51-60 años				
1 Solicitud	3.443 (84,9)	1.206 (81,9)	2.237 (86,5)	<0,0001
2 Solicitudes	416 (10,3)	174 (11,8)	242 (9,4)	
3 Solicitudes	141 (3,5)	62 (4,2)	79 (3,1)	
4 Solicitudes	39 (1,0)	23 (1,6)	16 (0,6)	
5 Solicitudes	11 (0,3)	5 (0,3)	6 (0,2)	
>=6 Solicitudes	7 (0,2)	2 (0,1)	5 (0,2)	
61-70 años				
1 Solicitud	1.760 (78,5)	759 (75,1)	1.001 (81,3)	<0,001
2 Solicitudes	354 (15,8)	170 (16,8)	184 (14,9)	
3 Solicitudes	86 (3,8)	55 (5,4)	31 (2,5)	
4 Solicitudes	23 (1)	11 (1,1)	12 (1)	
5 Solicitudes	10 (0,4)	9 (0,9)	1 (0,1)	
>=6 Solicitudes	9 (0,4)	6 (0,6)	3 (0,2)	

Tabla 2 Distribución del número de solicitudes de RT-PCR según el grupo de edad y el sexo en el periodo de tiempo analizado. (Cont.)

Grupo Edad y número de Solicitudes	Total n (%)	Varón n (%)	Mujer n (%)	p
71-80 años				
1 Solicitud	1.312 (74,6)	641 (71,9)	671 (77,4)	
2 Solicitudes	301 (17,1)	169 (19,0)	132 (15,2)	
3 Solicitudes	93 (5,3)	51 (5,7)	42 (4,8)	
4 Solicitudes	23 (1,3)	9 (1)	14 (1,6)	
5 Solicitudes	16 (0,9)	12 (1,3)	4 (0,5)	
>=6 Solicitudes	13 (0,7)	9 (1)	4 (0,5)	<0,05
81-90 años				
1 Solicitud	1.831 (76,9)	671 (74,0)	1.160 (78,7)	
2 Solicitudes	372 (15,6)	147 (16,2)	225 (15,3)	
3 Solicitudes	120 (5,0)	60 (2,5)	60 (9,4)	
4 Solicitudes	42 (1,8)	23 (2,5)	19 (2,5)	
5 Solicitudes	10 (0,4)	4 (0,4)	6 (0,4)	
>=6 Solicitudes	6 (0,4)	2 (0,2)	4 (0,3)	<0,05
91-99 años				
1 Solicitud	953 (81,2)	240 (79,5)	713 (81,9)	
2 Solicitudes	164 (14,0)	48 (15,9)	116 (13,3)	
3 Solicitudes	36 (3,1)	10 (3,3)	26 (3,0)	
4 Solicitudes	11 (0,9)	1 (0,3)	10 (1,1)	
5 Solicitudes	8 (0,7)	3 (1)	5 (0,6)	
>=6 Solicitudes	1 (0,1)	0 (0)	1 (0,1)	>0,05
>=100 años				
1 Solicitud	38 (84,4)	5 (100)	33 (82,5)	
2 Solicitudes	6 (13,3)	0 (0)	6 (15,0)	
3 Solicitudes	1 (2,2)	0 (0)	1 (2,5)	>0,05
Desconocida				
1 Solicitud	997 (95,6)	419 (92,7)	578 (97,8)	
2 Solicitudes	39 (3,7)	29 (6,4)	10 (1,7)	
3 Solicitudes	6 (0,6)	4 (0,9)	2 (0,3)	
4 Solicitudes	1 (0,1)	0 (0)	1 (0,2)	<0,0001
Todos los grupos edad				
1 Solicitud	18.465 (83,8)	6.990 (82,0)	1.475 (85,9)	
2 Solicitudes	2.559 (11,6)	1.040 (12,2)	1.519 (11,2)	
3 Solicitudes	700 (3,2)	337 (4,0)	363 (2,7)	
4 Solicitudes	199 (0,9)	96 (1,1)	103 (0,8)	
5 Solicitudes	67 (0,3)	39 (0,5)	28 (0,2)	
>=6 Solicitudes	42 (0,2)	22 (0,3)	20 (0,1)	
Total	22.032 (100)	8.524 (38,7)	13.508 (61,3)	<0,0001

Las solicitudes se agruparon en función de su procedencia desde las requeridas por atención primaria (AP), el servicio de urgencias hospitalarias (SUH), hospitalización, centros externos hospitalarios y el servicio de prevención de riesgos laborales (SPRL). El servicio que más RT-PCR ha solicitado de forma global ha sido atención primaria con 15.953 solicitudes lo que representa el 58,9% del total, seguido del SUH (13,0%) y centros externos (11,7%). Desde la semana 9 hasta la 14 las RT-PCR se realizaron desde el SUH, mientras que a partir de la semana 15 la gran mayoría de las peticiones fueron realizadas

por el servicio de AP que globalmente presentó una rentabilidad diagnóstica del 11,2%. Los centros externos del centro hospitalario hicieron solicitudes de forma más llamativa desde la semana 14 (860) hasta la 16 (575) siendo su rendimiento diagnóstico el más elevado (27,9%). Las solicitudes del SUH se han mantenido muy constantes desde la semana 12; esa semana se solicitaron 255 con un 40,8% de positivos, mientras que la semana epidemiológica 13 fueron 400 peticiones con un 51,5% de positivos; la rentabilidad diagnóstica en el servicio de urgencias descendió paulatinamente hasta la semana

Tabla 3 | **Análisis de los pacientes a los que se ha solicitado cinco o más solicitudes**

Número de solicitudes	Todas PCR negativas N (%)	Alguna PCR positiva N (%)	Total N (%)
5	26 (38,8)	41 (61,2)	67 (61,5)
6	7 (26,9)	19 (73,1)	26 (23,9)
7	1 (10)	9 (90)	10 (9,2)
8	0 (0)	3 (100)	3 (2,8)
9	0 (0)	2 (100)	2 (1,8)
15	0 (0)	1 (100)	1 (0,9)
Total	34 (31,2)	75 (68,8)	109 (100)

PCR: reacción en cadena de la polimerasa; n: numero; %: porcentaje.

epidemiológica 22 que en la que se observaron un 0,9% de solicitudes positivas (Tabla 1).

Se realizó un análisis de los individuos a los que se les había solicitado más de una RT-PCR, observándose que a 18.470 (83,8%) personas se les realizó una única RT-PCR, a 2.559 sujetos (11,6%) dos solicitudes, a 700 personas (3,2%) tres solicitudes y a 42 (0,2%) personas 6 o más solicitudes; el máximo de RT-PCR realizadas en el periodo de estudio a un único paciente fue de 15. En el análisis por edad, sexo y número de RT-PCR realizadas por persona se ha observado que en todos los grupos se han hecho más solicitudes en el grupo de las mujeres mientras que de forma proporcional es a los varones a los que se les ha solicitado un mayor número de RT-PCR por persona; se ha descrito que existen variaciones según los grupos de edad analizados (Tabla 2).

En la Tabla 3 se muestra la distribución de los pacientes a los que se ha solicitado 5 o más RT-PCR observándose que a 67 personas se ha solicitado 5 PCR, de ellas 26 (38,8%) tenían todas las RT-PCR negativas, este porcentaje baja al 26,9% entre los que se han solicitado 6 RT-PCR y al 10% entre los que tienen 7 RT-PCR, mientras que en aquellos pacientes con 8, 9, y 15 RT-PCR realizadas (6 personas), todos han tenido algún positivo. El 56% del total de esta sub-muestra eran varones con una edad mediana de 70,1 (55,7-80,9) años.

Finalmente se han analizado a los pacientes a los que se les ha realizado 3 o más RT-PCR y han presentado el algún momento un resultado positivo, para después negativizar y volver a positivizarse posteriormente. De los 565 pacientes analizados con 3 o más RT-PCR y algún resultado positivo en 19 de ellos se ha presentado este fenómeno, con una edad mediana de 65,4 (RIC 48,0-85,8) años frente a los 58,5 (RIC 46,0-74,8) años del resto siendo varones 10 pacientes (52,6%) ($p>0,05$). La edad mediana de los varones en los que se observó este hallazgo fue de 69,3 (RIC 46,0-85,9) años mientras que en el grupo de mujeres bajaba a los 50,3 (RIC 47,8-81,8) años, sin observarse diferencias significativas entre ambos grupos ($p>0,05$). El porcentaje de paciente entre los que se observó este hallazgo fue subiendo desde el 0,8% entre los pacientes

a los que se solicitaron 3 RT-PCR hasta el 6%, 7,3% y 17,6% entre los pacientes a los que se solicitaron 4,5 y 6 o más RT-PCR respectivamente.

DISCUSIÓN

La enfermedad por Coronavirus ha supuesto un auténtico reto para los sistemas de salud y su aparición ha condicionado la actividad asistencial en la mayoría de los países y organizaciones, transformándose en un complejo problema que excede con creces al ámbito estrictamente sanitario [1, 2].

Desde el descubrimiento del virus, las técnicas de detección molecular basadas en PCR se han convertido en el método diagnóstico más fiable para determinar tanto un individuo con infección activa de un paciente como la posibilidad de que esa persona transmitiera la enfermedad [6-9]. Sin embargo, con los datos que exponemos se pone de manifiesto que, en nuestro medio, al inicio de la epidemia la solicitud de la RT-PCR se limitó a un determinado perfil de pacientes que tenían que cumplir una serie de criterios clínicos y epidemiológicos, lo que supuso una gran restricción de estas solicitudes. No sería hasta la semana epidemiológica 11 (9 de marzo de 2020), coincidiendo con la declaración del estado de alarma en nuestro país y la existencia de una transmisión comunitaria continuada en muchas zonas cuando se produjo un cambio en el criterio de solicitud de las PCR, convirtiéndose éste en el criterio clínico, lo cual determinó que el número de PCR a la semana se multiplicase por 10 al igual que los diagnósticos de enfermos.

Inicialmente durante las primeras cuatro semanas de epidemia las solicitudes de PCR fueron realizadas tanto por los SUH como por centros hospitalarios ajenos, lo que evidenció, por una parte, que los SUH fueron los que en esos momentos iniciales realizaron la mayor parte de los diagnósticos en nuestra área de salud y, por otra parte, respondía al hecho de que centros hospitalarios de otras áreas de salud que no tenían la capacidad diagnóstica remitían sus solicitudes a centros diagnósticos de referencia.

Otro punto de inflexión que tuvo lugar en nuestra área de salud fue la puesta en marcha de una tecnología capaz de atender la demanda de 700 RT-PCR al día, lo que permitió que a partir de la semana 15, (es decir 4 semanas después del inicio de la epidemia) cuando desde Atención Primaria se tuvo acceso a la solicitud de esta prueba de forma masiva, se pasó a realizar de forma global alrededor de 5.000 RT-PCR/semana [13].

Uno de los hechos que se ha analizado consistió en evaluar el rendimiento diagnóstico de la prueba, que fue muy elevado entre las semanas epidemiológicas 12-16, lo que evidencia que en un medio en el que existe una transmisión comunitaria continuada esta técnica detecta un porcentaje muy elevado de infectados, por lo que hoy en día se hace imprescindible para la detección y control de la infección. Teniendo en cuenta los periodos de incubación de la infección que actualmente se describen con un valor mediano de 5-6 días y

un máximo de 14 días [15], cabe apuntar que el SARS CoV-2 inició su circulación sobre la semana epidemiológica 9-10 o incluso antes; tal vez ese tendría que haber sido el momento de comenzar con una búsqueda activa del mismo y tal vez implementar restricciones más intensas a la circulación de personas que provenían en ese momento de las zonas de mayor riesgo. Actualmente se sabe que la transmisión de la infección entre las personas sintomáticas comienza 1-2 días antes del inicio de los síntomas, y se asume que los asintomáticos siguen un patrón muy similar [16, 17]. Todo ello unido al hecho de que las transmisiones más importantes se producen a nivel familiar o en contactos íntimos [18], y el conocimiento de que el número máximo de reproducción a nivel nacional (R_0) fue máximo entre los días 27 de febrero de 2020 y el 2 de marzo de 2020 [19]. En nuestro caso son dos semanas después a las señaladas con anterioridad cuando la técnica de la RT-PCR obtiene un mayor rendimiento diagnóstico.

Con estos hallazgos creemos que en el momento actual de la epidemia habría que mantener una búsqueda activa del virus, lo que puede optimizar la vigilancia epidemiológica y, si somos capaces de identificar nuevos pacientes, cabría inferir que cuando el rendimiento sube podríamos adelantarnos a la expansión del virus. Nuestros datos ponen de relieve que la infección se contiene cuando el rendimiento de la técnica se sitúa por debajo del 5%, aspecto que en este primer brote epidémico se ha prolongado durante 90 días. Es evidente que las medidas de aislamiento social de casos y contactos y la búsqueda exhaustiva de los infectados es la primera medida que cabe abordar para evitar acciones tendentes a un mayor confinamiento social como las adoptadas en nuestro país a partir del 14 de marzo y que prácticamente han durado 3 meses desde su inicio [13].

En el análisis de los pacientes a los que se solicitó esta prueba llama especialmente la atención que la gran mayoría de los pacientes fueron mujeres, pero la prevalencia de positivos fue mayor entre los varones [20]. Además, los positivos fueron significativamente personas de mayor edad, que representan el colectivo de mayor riesgo [18,19]. A la gran mayoría de los pacientes sólo se les solicitó una RT-PCR pero hemos documentado un número muy importante de individuos a los que se solicitaron 2, 3, 4 o más RT-PCR, llegando a 15 determinaciones a uno de los pacientes, datos similares a lo publicado en otras series [21]. Desde el punto de vista clínico, aunque inicialmente se estableció el criterio de repetir la RT-PCR entre los infectados que habían ingresado para poder realizar el alta hospitalaria, este criterio fue eliminado en el momento en que la infección se expandió, por lo que actualmente el único criterio sería el de valorar la posible infectividad de la persona positiva. Se observa que las repeticiones aumentan en los pacientes de mayor edad y pacientes varones: dichas pruebas repetidas, seguramente estén condicionadas por la posible gravedad de estos pacientes. Entre los pacientes más graves la carga viral es mucho mayor que en los pacientes asintomáticos u oligosintomáticos, por lo que es normal que inicialmente el número de repeticiones de RT-PCR aumentara entre estos individuos; otro hecho que ha podido condicionar estas solicitudes repetidas

entre la población anciana es que muchos de ellos seguramente residan en instituciones cerradas; dicho colectivo, como se ha demostrado, constituye uno de los de mayor riesgo con cifras de mortalidad muy superiores a las resto de la población y establecer que un residente no pueda transmitir la infección, resulta fundamental [22].

Un hallazgo que hemos constatado, ya descrito por otros autores [23-26], es que un número muy pequeño de pacientes en los que se han hecho PCR seriadas tras haber negativizado la PCR, vuelve a ser positiva en alguna PCR posterior; esta es una situación que puede tener una gran trascendencia, ya que estos pacientes, aun siendo pocos, una vez que los calificamos como negativos, las medidas de protección en muchos casos se hacen más laxas o desaparecen; sobre este aspecto se han publicado trabajos contradictorios en cuanto a la infectividad de estos pacientes [26]. En las series en las que se ha estudiado este fenómeno la carga viral observada o es muy baja o indetectable, sin que parezca que pueda haber repercusión clínica [25]. Si parece que este pequeño grupo de pacientes "re-positivos" son mayores, con una edad cercana a los 70 años. Son necesarios más estudios para poder conocer las características de estos pacientes y poder valorar su significado tanto desde el punto de vista clínico como microbiológico o epidemiológico.

La mayor limitación de nuestro estudio es que se trata de un análisis retrospectivo de un registro, llevado a cabo en un único servicio de microbiología, esto dificulta la extrapolación de los resultados obtenidos.

En conclusión, la demanda de solicitudes de la prueba de la RT-PCR fue incrementándose progresivamente a lo largo de las semanas epidemiológicas en función del brote y la disponibilidad y/o accesibilidad de la misma. Por otra parte, la rentabilidad diagnóstica de la misma ha ido evolucionando, siendo más elevada en las fases de mayor contagiosidad y/o transmisibilidad del virus. Finalmente hemos constatado la existencia de un reducido grupo de individuos que vuelven a ser positivos tras un período de negatividad sin que podamos actualmente dilucidar o esclarecer el papel que puedan desempeñar, entre otros, en la transmisibilidad del virus.

FINANCIACIÓN

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

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses

BIBLIOGRAFÍA

1. Coronavirus Update (Live): 10,824,258 Cases and 519,313 Deaths from COVID-19 Virus Pandemic - Worldometer n.d. <https://www.worldometers.info/coronavirus/> (accessed 2 July 2020).

2. Home. Johns Hopkins Coronavirus Resource Center <https://coronavirus.jhu.edu/>. (accessed 2 July 2020).
3. Pirofski L-A, Casadevall A. 2020. Pathogenesis of COVID-19 from the perspective of the damage-response framework. *mBio* 11: e01175-20. doi: 10.1128/mBio.01175-20.
4. Younes N, Al-Sadeq DW, Al-Jighefee H, Younes S, Al-Jamal O, DAAS HI et al. Challenges in Laboratory Diagnosis of the Novel Coronavirus SARS-CoV-2. *Viruses*. 2020; 12: E582. doi:10.3390/v12060582.
5. CDC 2019–Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-Time RT-PCR Diagnostic Panel. CDC-006-00019, Revision: 05. 07/13/2020. Disponible en www.fda.gov/media/134922/download. (accessed 26 July 2020)
6. Patel R, Babady E, Theel ES, Storch GA, Pinsky BA, St. George K, Smith TC, Bertuzzi S. 2020. Report from the American Society for Microbiology COVID-19 International Summit, 23 March 2020: Value of diagnostic testing for SARS-CoV-2/COVID-19. *mBio* 11: e00722-20. doi: 10.1128/mBio.00722-20.
7. Kai-Wang K, Tak-Yin O, Leung WS, Tam AR, Wu TC, Lung DC et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *Lancet Infect. Dis.* 2020; 20: 565–574. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30196-1.
8. Suo T, Liu X, Feng J, Guo M, Hu W, Guo D. et al. ddPCR: a more accurate tool for SARS-CoV-2 detection in low viral load specimens. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 9. doi: 10.1080/22221751.2020.1772678.
9. Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, et al. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. *N Engl J Med* 2020; 382: 1177–79. doi: 10.1056/NEJMc2001737.
10. CDC. Coronaviqrus Disease 2019 (COVID-19). Centers for Disease Control and Prevention. Disponible en www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/if-you-are-sick/end-home-isolation.html (2020). (accessed 13 July 2020)
11. Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real Time Multiplex RT-PCR Kit (Detection of 3 Genes). Disponible en www.mobitec.com/products/in-vitro-diagnostics/real-time-pcr-diagnostic-kits/10200/novel-coronavirus-2019-ncov-real-time-multiplex-rt-pcr-kit-detection-of-3-genes. (accessed 29 July 2020)
12. Allplex™ 2019-nCoV Assay. Disponible en www.seegene.com/press_release/seegene_s_allplex_2019_ncov_assay_receives_fda_emergency_use_authorization_2020. (accessed 29 July 2020)
13. The cobas® SARS-CoV-2 Test <https://diagnostics.roche.com/global/en/products/params/cobas-sars-cov-2-test.html>. (accessed 29 July 2020)
14. GeneFinder™ COVID - 19 PLUS Real Amp K it <http://www.listarfish.it/media/ifmr-45-covid-19-realamp-plus-kitfull-manualv1ivd.pdf>. (accessed 29 July 2020)
15. Lauer SA, Grantz KH, Bi Q, Jones FK, Zheng Q, Meredith HR et al. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. *Ann Intern Med.* 2020; 172:577-582. doi:10.7326/M20-0504
16. Anderson RM, Heesterbeek H, Klinkenberg D, Hollingsworth TD. How will country-based mitigation measures influence the course of the COVID-19 epidemic?. *Lancet.* 2020; 395: 931-934. doi:10.1016/S0140-6736(20)30567-5.
17. Hellewell JM, Abbott S, Gimma A, Bosse NI, Jarvis CI, Russell TW et al. Feasibility of controlling COVID-19 outbreaks by isolation of cases and contacts [published correction appears in *Lancet Glob Health.* *Lancet Glob Health.* 2020; 8: e488-e496. doi:10.1016/S2214-109X(20)30074-7.
18. World health Organization. Report of WHO. China Joint Mission Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Disponible en: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf>. (accessed 29 July 2020)
19. Centro de coordinación de alertas y emergencias sanitarias. Ministerio de Sanidad. Información científica-técnica Enfermedad por coronavirus, COVID-19. Actualización 3 de Julio del 2020. Disponible en: <https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov-China/documentos/ITCoronavirus.pdf>. (accessed 29 July 2020)
20. Borobia AM, Carcas AJ, Arnalich F, Alvarez-Sala R, Montserrat J, Quintana M et al. A Cohort of Patients with COVID-19 in a Major Teaching Hospital in Europe. *J Clin Med.* 2020; 9: 1733. Published 2020 Jun 4. doi:10.3390/jcm9061733.
21. Agarwal V, Venkatakrishnan AJ, Puranik A, Kirkup C, Lopez-Marque A, Douglas W et al. Long-term SARS-CoV-2 RNA Shedding and its Temporal Association to IgG Seropositivity. Preprint. medRxiv. 2020;2020.06.02.20120774. doi:10.1101/2020.06.02.20120774.
22. Fisman DN, Bogoch I, Lapointe-Shaw L, McCreedy J, Tuite AR. Risk Factors Associated With Mortality Among Residents With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Long-term Care Facilities in Ontario, Canada. *JAMA Netw Open.* 2020; 3: e2015957. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.15957.
23. Xing Y, Mo P, Xiao Y, Zhao O, Zhang Y, Wang F. Post-discharge surveillance and positive virus detection in two medical staff recovered from coronavirus disease 2019 (COVID-19), China, January to February 2020. *Euro Surveill.* 2020; 25: 2000191. doi:10.2807/1560-7917.ES.2020.25.10.2000191.
24. Lan L, Xu D, Ye G, Xia C, Wang S, Li Y et al. Positive RT-PCR Test Results in Patients Recovered From COVID-19. *JAMA.* 2020; 323: 1502-1503. doi:10.1001/jama.2020.2783.
25. Young BE, Ong SWX, Kalimiddin S, Low JG, Tan SY, Loh J et al. *JAMA.* 2020; 323: 1488-1494. doi:10.1001/jama.2020.3204.
26. Korea Centers for Disease Control & Prevention. Finding from investigation and analysis of re-positive cases. Disponible en https://is.cdc.go.kr/upload_comm/syview/doc.html?fn=159118745823700.pdf&trs=/upload_comm/docu/0030/. (accessed 22 July 2020).

Victoria García Zafra¹
Alicia Hernández Torres²
Elisa García Vázquez²
Teresa Soria Cogollos³
Manuel Canteras Jordana⁵
Joaquín Ruiz Gómez⁴
Joaquín Gómez Gómez²
Antonio Hernández
Martínez¹
José Barberán⁶

Risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacterales in patients with diabetic foot infections requiring hospital admission

¹Servicio de Endocrinología, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria, Murcia, Spain.

²Servicio de Medicina Interna-Infecciosas, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria, Murcia, Spain.

³Servicio de Cirugía General, Unidad Pie Diabético, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria, Murcia, Spain.

⁴Servicio de Microbiología, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria, Murcia, Spain.

⁵Departamento de Bioestadística, Facultad de Medicina, Murcia, Spain.

⁶Servicio de Medicina Interna-Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario HM Montepríncipe, Universidad San Pablo-CEU, Madrid, Spain

Article history

Received: 9 October 2020; Accepted: 16 October 2020; Published: 27 November 2020

ABSTRACT

Purpose. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacterales (ESBL-E) may complicate the treatment of diabetic foot infections (DFIs). The aim of this study was to determine the risk factors for these pathogens in DFIs.

Material and methods. This was a prospective observational study of 167 consecutive adult patients with DFIs. The diagnosis and severity of DFIs were based on the Infectious Disease Society of America (IDSA) classification system. Multivariate analyses were performed in order to identify risk factors for MRSA and ESBL-E infections.

Results. *S. aureus* was the most isolated pathogen (n= 82, 37.9 %) followed by *Escherichia coli* (n= 40, 18.5%). MRSA accounted for 57.3% of all *S. aureus* and 70% of *Klebsiella pneumoniae* and 25% of *E. coli* were ESBL producers, respectively. Deep ulcer [OR 8,563; 95% CI (1,068-4,727)], previous use of fluoroquinolones [OR 2,78; 95% CI (1,156-6,685)] and peripheral vasculopathy [OR 2,47; 95% CI (1,068-4,727)] were the independent predictors for MRSA infections; and osteomyelitis [OR 6,351; 95% CI (1,609-25,068)] and previous use of cephalosporins [OR 5,824; 95% CI (1,517-22,361)] for ESBL-E infections.

Conclusions. MRSA and ESBL-E have acquired a great clinical relevance in DFIs. The availability of their risk factors

is very convenient to choose the empirical treatment in severe forms.

Key words: diabetic foot infection, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, ESBL-producing Enterobacterales, risk factors, hospital admission

Factores de riesgo de infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y enterobacterias productoras de betalactamasas en infecciones de pie diabético que requieren hospitalización

RESUMEN

Objetivo. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) y las enterobacterias productoras de betalactamasas (ESBL-E) pueden complicar el tratamiento de las infecciones del pie del diabético (DFIs). El objetivo de este estudio fue determinar los factores de riesgo de las infecciones por estos microorganismos en el pie del diabético

Material y métodos. Estudio observacional prospectivo de 167 pacientes consecutivos con infecciones del pie del diabético. El diagnóstico y gravedad de las infecciones se basó en la guía de la *Infectious Disease Society of America* (IDSA). Para identificar los factores de riesgo de las infecciones por MRSA y (ESBL-E) se llevó a cabo mediante un estudio multivariante.

Resultados. *S. aureus* fue el microorganismo más aislado (n= 82; 37,9 %) seguido por *Escherichia coli* (n= 40; 18,5%). El 57,3% de *S. aureus* fueron MRSA y el 70% de *Klebsiella pneumoniae* y el 25% de *E. coli* eran productores ESBL, respectivamente. Los factores de riesgo independientes de las infecciones por MRSA fueron las úlceras profundas [OR 8,563; IC 95% (1,068-4,727)], uso previo de fluoroquinolonas [OR 2,78; IC 95% (1,156-6,685)] y la vasculopatía periférica [OR 2,47; IC 95% (1,068-4,727)], mientras que para las infecciones por (ESBL-E) lo

Correspondence:

José Barberán
Hospital Universitario HM Montepríncipe, Avda. Montepríncipe 25, 28660 Boadilla del Monte, Madrid, Spain
E-mail: jbarberan@ceu.es

Alternative corresponding author:

Joaquín Gómez Gómez,
Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Ctra. Madrid-Cartagena s/n, 30120, El Palmar, Murcia, Spain
E-mail: joagomez@um.es

fueron osteomielitis [OR 6,351; 95% IC 95% (1,609-25,068)] y el uso previo de cefalosporinas [OR 5,824; IC 95% (1,517-22,361)].

Conclusiones. MRSA y ESBL-E han adquirido una gran relevancia clínica en las DFI. La disponibilidad de sus factores de riesgo es muy conveniente para elegir el tratamiento empírico en las formas graves.

Palabras clave: Infección del pie diabético, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, enterobacterias productoras de ESBL, factores de riesgo, hospitalización

INTRODUCTION

Diabetic foot infections (DFIs) along with ischemia are the main underlying factors contributing to lower-extremity amputation in the United States and Europe [1,2]. The relative frequencies of microorganisms causing wound infections varying greatly among studies, type and severity of lesions, and geographic area [3]. Monomicrobial infections by aerobic gram-positive cocci (*Staphylococcus aureus* and *Streptococcus* spp.) are predominant organisms in acute and untreated ulcers, by contrast, chronic wounds infections are more frequently polymicrobial (aerobic Gram-positive cocci, Gram-negative bacilli and anaerobes) [3]. *S. aureus* is the most frequently isolated microorganism in diabetic foot ulcers in Spain, followed by Enterobacterales [1,4]. In addition, more than 30% of *S. aureus* are methicillin-resistant (MRSA) [4] and colonization or infection of chronic ulcers by MRSA can result in bacteremia between 8% and 22%, that is associated with a 30-day mortality of about 30% [5]. DFIs by extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacterales (ESBL-E) have been also described, but are less frequent in our environment [4,6,7]. Despite this, the information about multidrug-resistant organisms (MDROs) such as MRSA and ESBL-E as a cause of DFIs in patients requiring hospital admission, is not yet enough [8,9]. The emergence of MDROs can complicate the treatment of DFIs, and may even cause a worse course of the injury [10]. The aim of this study was to determine the bacterial profile and risk factors for MRSA and ESBL-E in patients with DFIs requiring hospital admission.

MATERIAL AND METHODS

A single-institutional prospective observational study was performed with the inclusion of all consecutive adult diabetic patients with infected foot ulcers admitted to the Infectious Disease Department or General Surgery Department of Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca in Murcia (Spain) from 2013 to 2017 for acute DFIs. The study was approved by the ethics committee of the hospital before conducting it (reference 2013-10-10-HCUVA). The patients were included after obtaining informed consents. The diagnosis and severity of DFIs were based on the Infectious Disease Society of America (IDSA) classification system. Diabetic foot ulcers were also classified into three groups: 1) neuropathic lesions, 2) ischemic lesions and 3) mixed or neuro-ischemic lesions. Diabetic foot ulcers with infection involving skin and subcutaneous tis-

sues were considered as deep ulcer [11]. Demographic data, hospitalization and antibiotic therapy within the previous 3 months, nursing home residence and underlying illnesses were recorded. A clinical evaluation including ulcer size and depth and neurological and vascular status was performed. Microbiological, laboratory, and radiographic evaluations were carried out during hospitalization, in keeping with the routine hospital practice. After washing surface of the ulcer with saline solution, three to five cultures were obtained at the time of admission by curetted material at the bottom of the wound, and bone biopsy was performed when osteomyelitis was suspected. Bacteria were isolated and identified by standard methods. Antimicrobial susceptibility testing of the isolates was performed by an automated system VITEK® 2 (bioMérieux, marcy l'étoile, France) with AFTN 112 cards. ESBL-producing strains were phenotypically identified according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) recommendations [12]. Obesity was defined according to body mass index criteria [13]. Glomerular filtration rate was estimated from serum creatinine using the equation of Cockcroft-Gault [14]. Toronto Consensus Panel on Diabetic Neuropathy was used for diagnosis of diabetic neuropathy [15]. Diabetic retinopathy was divided in two major forms: nonproliferative (mild and moderate-severe) and proliferative by the absence or presence of abnormal new blood vessels in the retina, respectively [16]. Patients were treated according to the hospital protocol with parenteral antibiotics together with concomitant surgical debridement, revascularization (bypass), and/or reconstruction (skin graft) techniques.

Statistical analysis was performed using SPSS version 18.0 software (SPSS Inc, Chicago, IL). Quantitative variables were expressed by mean \pm standard deviation, and qualitative variables by percentages. Significance was determined by the χ^2 test and Fisher's exact test, when necessary, for qualitative variables, and by t test or U-Mann-Whitney non-parametric tests, when necessary, for quantitative variables. Significance level was established at $p \leq 0.05$. A stepwise logistic regression multivariate analyses was performed in order to identify risk factors for MRSA and ESBL-E infections. All variables showing differences in bivariate analyses ($p < 0.1$) were considered for inclusion in the multivariate model.

RESULTS

The study included 167 consecutive diabetic patients with foot infections. Swab samples from the bottom of the ulcer were taken in all cases and bone biopsy was performed in 82 (49%). A total of 216 microorganisms were isolated. *S. aureus* was the most isolated pathogen ($n = 82$, 37.9%) followed by *Escherichia coli* ($n = 40$, 18.5%). Other *Enterobacteriaceae* other than *E. coli* ($n = 45$, 20.8%) and *Pseudomonas aeruginosa* ($n = 12$, 5.4%) were also common (Table 1). The number of aerobic gram-positive cocci was over aerobic gram-negative bacilli globally (110/100) and in samples taken from bone (51/35), but not in ulcers (60/65). Infections were polymicrobial in 95 cases (56.8%). Regarding bacterial resistance, 57.3% of *S. aureus* were MRSA ($n = 27$, 57.4% in ulcer) and 25% of *Enterobacte-*

Table 1	Isolated microorganisms from ulcer and bone		
Microorganisms	Total no. (%)	Ulcer no. (%)	Bone no. (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	82 (37.9) ^a	46 (56.9)	36 (43.9)
<i>Escherichia coli</i>	40 (18.5) ^b	26 (65)	14 (35)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	14 (6.4)	8 (57.1)	6 (42.8)
<i>Enterococcus faecalis</i>	13 (6)	5 (38.5)	8 (61.5)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12 (5.5)	9 (75)	3 (25)
<i>Morganella morganii</i>	12 (5.5)	5 (41.7)	7 (58.3)
<i>Proteus mirabilis</i>	11 (5)	10 (90.9)	1 (9.1)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10 (4.6) ^c	3 (30)	7 (70)
<i>Enterobacter cloacae</i>	7 (3.2)	6 (85.7)	1 (14.3)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3 (1.3)	3 (100)	0
<i>Acinetobacter baumannii</i>	3 (1.3)	1 (33.3)	2 (66.7)
<i>Providencia stuartii</i>	2 (0.9)	2 (100)	0
<i>Bacteroides urealyticus</i>	3 (1.3)	3 (100)	0
<i>Staphylococcus hominis</i>	1 (0.4)	1 (100)	0
<i>Peptostreptococcus</i> spp	1 (0.4)	1 (100)	0
<i>Clostridium perfringens</i>	1 (0.4)	0	1 (100)
<i>Candida albicans</i>	1 (0.4)	1 (100)	0
Total	216 (100)	130 (60.1)	86 (39.8)

^aMRSA: 47/82 (57.3%), 27 (57.4%) ulcer; ^bESBL-producing Enterobacterales: 17/68 (25%), 16/17 (94%) in bone, *E. coli* 10/40 (25%), *K. pneumoniae* 7/10 (70%)

riceae were ESBL producers (70% of *Klebsiella pneumoniae*, 25% of *E. coli* and 94% in bone) (Table 1). In addition, 25% of *E. coli* were resistant to ciprofloxacin, 22.5% to amoxicillin/clavulanic acid and 7.5% to carbapenems. *P. aeruginosa* shows resistance to ciprofloxacin (75%), piperacillin/tazobactam (75%), and carbapenems (50%). Surgical drainage and/or debridement was performed in all patients. One hundred (60%) patients need digital amputation and 13 (7.8%) major amputation. The most frequently used antibiotic regimens were: clindamycin plus piperacillin-tazobactam, cefepime or ertapenem (n= 118; 70.6%) and linezolid plus meropenem (n= 47; 28.1%).

Table 2 shows patient's characteristics, comorbidities, location of infection and severity distributed by main causative agents and development of antimicrobial resistance or not, respectively. The mean age of the subjects was 62.9±12.1 years and 77.6% of the patients were male. The mean time of diabetes evolution was 20±8.39 years and the mean of length of stay (LOS) 17.08±10.11 days. All patients had a Charlson index >3, 90% neuropathy, 85% deep ulcer and 91% previous ulcer. Moderate infections were present in 118 (70.7%) patients and osteomyelitis in 69 (41.3 %).

In the univariate analysis, smoking (p= 0.002), obesity (p= 0.05), proliferative retinopathy (p= 0.023), peripheral vasculopathy (p= 0.05), wound size > 2 cm² (p= 0.002), deep

wound (p= 0.022), left wounds (p= 0.04) and previous use of fluoroquinolones (3 months before) (p= 0.019) were the variables significantly associated with MRSA infections, while use of cephalosporins (p= 0.005), wound size > 2 cm² (p= 0.04), severity of infection (p= 0.05) and osteomyelitis (p= 0.012) were associated with ESBL-E infections (Table 2).

In the multivariate analysis, deep ulcer [OR 8,563; 95% CI (1,068-4,727)], previous use of fluoroquinolones [OR 2,78; 95% CI (1,156-6,685)] and peripheral vasculopathy [OR 2,47; 95% CI (1,068-4,727)] were the independent predictors for MRSA infections; and osteomyelitis [OR 6,351; 95% CI (1,609-25,068)] and previous use of cephalosporins (3 months before) [OR 5,824; 95% CI (1,517-22,361)] for ESBL-E infections (Table 3).

DISCUSSION

As in previous studies performed in Spain and in other industrialized countries, *S. aureus* continues to be the most common isolated pathogen in DFIs, followed by *E. coli* and other *Enterobacteriaceae*. Overall, about 75% of DFIs in Spain are due to *S. aureus* and *Enterobacteriaceae* [1,4] and the empiric treatment should consider their current rates of resistance. MRSA remains above 30%, but ESBL-E (25% globally), particularly *K. pneumoniae*, have emerged as a serious and common problem in patients with diabetic foot ulcer that is

Table 2	Patient's characteristics, comorbidities, location of infection and severity distributed by main causative agents and development of antimicrobial resistance or not, respectively. Data expressed as no. (%) or mean \pm SD						
	Overall n= 167	MSSA n= 35	MRSA n= 47	p	E n= 68	ESBL-E n= 17	p
Male sex, no. (%)	133 (79.6)	28 (80)	35 (74.4)	0.376	57 (83.8)	13 (76.4)	0.346
Age (years), mean \pm SD	62.6 \pm 12.1	62.4 \pm 15.4	60.1 \pm 14.9	0.645	53.3 \pm 15.6	65.7 \pm 12.3	0.558
LOS (days), mean \pm SD	17.08 \pm 10.1	15.8 \pm 8.7	18.36 \pm 11.2	0.872	7.4 \pm 11.3	32.6 \pm 8.8	0.234
Diabetes evolution (years), mean \pm SD	20.08 \pm 8.39	20.6 \pm 3.5	22.7 \pm 7.1	0.22	19.7 \pm 8.06	19.7 \pm 9.01	0.379
Diabetes type 2, no. (%)	149 (89.2)	32 (91.4)	43 (91.4)	0.645	60 (88.2)	14 (82.3)	0.382
Diabetes treatment, no. (%)							
OAA	19 (11.3)	4 (11.4)	1 (2.1)	0.14	7 (10.2)	7 (41.1)	0.87
Insulin+OAA	148 (88.6)	31 (88.5)	44 (93.6)	0.21	61 (89.7)	10 (58.8)	0.41
Glycated hemoglobin ^a , no.(%)	112 (67)	27 (77.1)	31 (65.9)	0.124	51 (75)	13 (76.4)	0.403
Smoking, no. (%)	83 (49.7)	16 (45.7)	38 (80.8)	0.002	22 (32.3)	7 (41.1)	0.576
Obesity, no. (%)	51 (30.5)	16 (45.7)	32 (68)	0.05	33 (48.5)	7 (41.1)	0.640
Hypertension, no. (%)	136 (81.4)	16 (45.7)	44 (93.6)	0.119	53 (77.9)	10 (58.8)	0.09
Vasculopathy, no. (%)	51 (30.5)	18 (51.4)	38 (80.8)	0.05	37 (54.4)	10 (58.8)	0.161
Neuropathy, no. (%)	151 (90.4)	31 (88.5)	45 (95.7)	0.157	59 (86.7)	16 (94.1)	0.614
Retinopathy, no. (%)							
Mild	8 (4.7)	1 (2.8)	1 (2.1)	0.365	3 (4.4)	3 (17.6)	0.103
Moderate-severe	70 (41.9)	14 (40)	16 (34)	0.246	33 (48.5)	7 (41.1)	0.636
Proliferative	56 (33.5)	21 (60)	36 (76.5)	0.023	-	-	-
Renal insufficiency, no. (%)							
Grade 1	14 (8.3)	2 (5.7)	3 (6.3)	0.349	3 (4.4)	6 (35.2)	0.358
Grade 2	53 (31.7)	14 (40)	16 (34)	0.332	29 (42.6)	1 (5.8)	0.186
Grade 3	39 (23.3)	3 (8.5)	8 (17)	0.392	21 (30.8)	7 (41.1)	0.259
Grade 4	23 (13.7)	5 (14.2)	7 (14.8)	0.173	8 (11.7)	3 (17.6)	0.331
Prior infection ^b , no. (%)	152 (91)	31 (88.5)	35 (74.4)	0.210	61 (89.7)	15 (88.2)	0.575
Prior antibiotics ^b , no. (%)	113 (67.6)	21 (60)	39 (82.9)	0.019	48 (70.5)	15 (88.2)	0.005
Ulcer, no. (%)							
Forefoot	122 (73)	29 (82.8)	29 (61.7)	0.111	52 (76.4)	12 (70.5)	0.413
Size > 2 cm ²	96 (57.4)	17 (48.5)	38 (80.8)	0.002	38 (55.8)	13 (76.4)	0.04
Deep ^c	143 (85.6)	29 (82.8)	46 (97.8)	0.022	57 (83.8)	11 (64.7)	0.081
Mixed	108 (64.6)	25 (71.4)	28 (59.5)	0.191	45 (66.1)	10 (58.8)	0.383
Supuration	112 (67)	25 (71.4)	29 (61.7)	0.248	45 (66.1)	13 (76.4)	0.306
Fetid odor	108 (64.6)	24 (68.5)	28 (59.5)	0.274	46 (67.6)	10 (58.8)	0.339
Left foot	78 (46.7)	15 (42.8)	32 (68)	0.04	24 (35.2)	7 (41.1)	0.444
Osteomyelitis, no. (%)	69 (41.3)	16 (45.7)	20 (42.5)	0.563	30 (44.1)	16 (94.1)	0.012
Severity infection, no. (%)							
Moderate	108 (64.6)	28 (80)	33 (70.2)	0.66	41 (60.2)	6 (35.2)	0.483
Severe	57 (34.1)	7 (20)	12 (25.5)	0.558	27 (39.7)	11 (64.7)	0.05
McCabe, no. (%)							
Nonfatal	142 (85)	31 (88.5)	33 (73.3)	0.754	64 (94.1)	14 (82.4)	0.401
Ultimately fatal	23 (13.7)	4 (11.4)	12 (25.5)	0.435	3 (4.4)	3 (17.6)	0.103

MSSA: methicillin-susceptible *S. aureus*; MRSA: methicillin-resistant *S. aureus*; E: non ESBL-producing Enterobacterales; ESBL-E: ESBL-producing Enterobacterales; LOS: Length of stay; OAA: oral antidiabetic agents; ^a> 7%; ^bExposure within 3 previous months; ^cerythema > 2 cm, or involving structures deeper than skin and subcutaneous tissues

consistent with the prevalence of these organisms in our environment [3,4,17]. Infections caused by MDROs are associated with higher morbidity and mortality than those caused by their susceptible counterparts [10], however, their coverage is not always suitable in all cases from ecologically and economically. Risk factors for MDROs infection are often common and include prior colonization, infection and use of antimicrobials, recent hospitalization, nursing-home residence and underlying diseases (diabetes mellitus, chronic renal failure in program of dialysis and hypoproteinemia) [18,19].

Previous retrospective and prospective studies in diabetic foot ulcers have also identified some risk factors for MRSA colonization or infection and for ESBL-E infection, such as wound size, osteomyelitis, history of MRSA foot colonization or infection, nasal carriage of MRSA, colonization and infection by others MDROs, prior use of antibiotics, long course of ulcer, chronic kidney disease, proliferative retinopathy, hypertension and poor glycemic control [6,8,20–26]. In the present prospective study with 167 patients included, we have identified three risk factors for MRSA infection (deep ulcer, prior treatment with fluoroquinolones and peripheral vasculopathy) that could explain 71.8% of them, and two for ESBL-E infection (osteomyelitis and previous use of cephalosporins), confirming some findings already described. The depth (tissue loss) of ulcer, one of the criteria used to develop the PEDIS system [27] and a recommendation from the IDSA to assess the DFIs [11], is the first time described as a risk factor for MRSA infection. However, there was no association between severity of lesion and MRSA infection. Peripheral vasculopathy neither has been identified as another risk factor for MRSA infection, but as a more common underlying condition [22]. Previous use of antibiotics was another predictive risk factor observed (fluoroquinolones for MRSA infections and cephalosporins for ESBL-E infections). The association between antibiotic exposure and MDROs has been frequently reported in DFIs and elsewhere [8,18,23,24,28,29]. The use of antimicrobial agents in diabetic foot ulcers, often excessive and unnecessary, can facilitate conditions in which bacteria with mechanisms of resistance experience a competitive advantage [18,25]. The mechanism for fluoroquinolones and cephalosporins to select MDROs remains unclear, but some authors believe it could be by selective inhibition or by killing of the more susceptible bacterial populations [18]. So far, osteomyelitis had only been recognized as a risk factor for MRSA infection in diabetic patients [8,22–24]. This finding in ESBL-E can help to know their risk factors, of which there are few data, mostly from Indian studies [6–8]. This fact is not surprising since *gran-negative bacilli* is an important cause of diabetic foot osteomyelitis and they have been associated with wounds caused by traumatic injury [30]. From a practical point of view, interventions directed at preventing the transmission of MDROs between diabetic patients and to reduce the inappropriate use of fluoroquinolones and cephalosporins in DFIs, should be attempted, as only modifiable variables.

Although this is one of the largest prospective series of DFIs to know risk factors for MDROs, the study was performed in a single centre, whose local epidemiology may limit the con-

clusions. However, the microbiological profile found in our series is very similar to that other previous Spanish studies [1–4].

In conclusion, MRSA and ESBL-E have currently acquired a great clinical relevance in the DFIs. The availability of risk factors for them is very convenient for the choice of empirical treatment, especially, in moderate-severe infections.

FUNDING

None to declare.

CONFLICT OF INTEREST

All authors have indicated they have no potential conflicts of interest to disclose.

REFERENCES

1. Barberán J, Granizo JJ, Aguilar L, Alguacil R, Sainz F, Menéndez MA et al. Predictive model of short-term amputation during hospitalization of patients due to acute diabetic foot infections. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010; 28:680–4. doi:10.1016/j.eimc.2009.12.017
2. van Battum P, Schaper N, Prompers L, Apelqvist J, Jude E, Piaggese A et al. Differences in minor amputation rate in diabetic foot disease throughout Europe are in part explained by differences in disease severity at presentation. *Diabet Med* 2011; 28:199–205. doi:10.1111/j.1464-5491.2010.03192.x.
3. Citron DM, Goldstein EJ, Merriam CV, Lipsky BA, Abramson MA. Bacteriology of moderate-to-severe diabetic foot infections and in Vitro activity of antimicrobial agents. *J Clin Microbiol*. 2007; 45:2819–28. doi:10.1128/JCM.00551-07
4. Martínez-Gómez DA, Ramírez-Almagro C, Campillo-Soto A, Morales-Cuenca G, Pagán-Ortiz, Aguayo-Albasini JL. Infecciones del pie diabético. Prevalencia de los distintos microorganismos y sensibilidad a los antimicrobianos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009; 27:317–21. doi:10.1016/j.eimc.2008.07.004
5. Gurusamy KS, Koti R, Toon CD, Wilson P, Davidson BR. Antibiotic therapy for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in non surgical wounds. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;18;(11):CD010427. doi: 10.1002/14651858.CD010427.
6. Shakil S, Khan AU. Infected foot ulcers in male and female diabetic patients: a clinico-bioinformative study. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2010; 9:2. doi: 10.1186/1476-0711-9-2.
7. Zubair M, Malik A, Ahmad J. Study of plasmid-mediated extended-spectrum β -lactamase-producing strains of Enterobacterales, isolated from diabetic foot infections in a North Indian tertiary-care hospital. *Diabetes Technol Ther*. 2012;14:315–24. doi:10.1089/dia.2011.0197.
8. Eleftheriadou I, Tentolouris N, Argiana V, Jude E, Boulton AJ. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in diabetic foot infections. *Drugs*. 2010; 70:1785–97. doi:10.2165/11538070-000000000-00000.
9. Zubair M, Malik A, Ahmad J. Clinico-bacteriology and risk factors for the diabetic foot infection with multidrug resistant microor-

- ganisms in North India. *Biol Med*. 2010; 2: 22-34. doi:10.1016/j.foot.2010.10.003.
10. Vardakas KZ, Horianopoulou M, Falagas ME. Factors associated with treatment failure in patients with diabetic foot infections: an analysis of data from randomized controlled trials. *Diabetes Res Clin Pract* 2008; 80:344-51. doi:10.1016/j.diabres.2008.01.009.
 11. Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB, Pile JC, Peters EJG, Armstrong DG et al. Infectious Diseases Society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Clin Infect Dis*. 2012; 54:132-73. doi:10.1093/cid/cis460.
 12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. In: 20th informational supplement (June 2010 Update). Approved standard M100-S20-U. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2010. [accessed 12 december 2019].
 13. Deurenberg P, Weststrate JA, Saidell JC. Body mass index as a measure of body fatness: age and sex specific prediction formulas. *Br J Nutr*. 1991;65:105-14. doi: 10.1079/bjn19910073.
 14. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976; 16:31-41. doi:10.1159/000180580.
 15. Tesfaye S, Boulton AJM, Dyck PJ, Freeman R, Horowitz M, Kempner P et al. Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity and treatments. *Diabetes Care*. 2010; 33: 2285-93. doi: 10.2337/dc10-1303.
 16. Frank RN. Diabetic retinopathy. *N Engl J Med*. 2004; 350:48-58. doi: 10.2337/dc10-1303.
 17. Ruiz de Alegría C, Rodríguez Baño J, Cano ME, Hernández Bello JR, Calvo J, Román E et al. *Klebsiella pneumoniae* Strains Producing Extended-Spectrum β -Lactamases in Spain: Microbiological and Clinical Features. *J Clin Microbiol*. 2011; 49:1134-6. doi:10.1128/JCM.02514-10.
 18. Tacconelli E, De Angelis G, Cataldo MA, Pozzi E, Cauda R. Does antibiotic exposure increase the risk of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolation? A systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61:26-38. doi: 10.1093/jac/dkm416.
 19. Rodríguez-Baño J, Picón E, Gijón P, Gijón P, Hernández JR, Ruíz M, Peña C et al. Community-onset bacteremia due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: risk factors and prognosis. *Clin Infect Dis* 2010; 50:40-8. doi: 10.1086/649537.
 20. Tentolouris N, Petrikos G, Vallianou N, Zachos C, Daikos GL, Tsapogas P et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in infected and uninfected diabetic foot ulcers. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 186-90. doi: 10.1111/j.1469-0691.2005.01279.x.
 21. Yates C, May K, Hale T, Allard B, Rowlingnd N, Freeman A et al. Wound chronicity, inpatient care, and chronic kidney disease predispose to MRSA infection in diabetic foot ulcers. *Diabetes Care*. 2009; 32:1907-9. doi: 10.2337/dc09-0295.
 22. Wang SH, Sun ZL, Guo YJ, Yang BQ, Yuan Y, Wei Q et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from foot ulcers in diabetic patients in a Chinese care hospital: risk factors for infection and prevalence. *J Med Microbiol*. 2010; 59(Pt 10):1219-24. doi: 10.1099/jmm.0.020537-0.
 23. Ding Q, Li DQ, Wang PH, Chu YJ, Meng SY, Sun Q. Risk factors for infections of methicillin-resistant *Staphylococci* in diabetic foot patients. *Zhonghua yi xue za zhi*. 2012; 92:228-31.
 24. Feng SH, Chu YJ, Wang PH, Jun X, Min D, Li XM. Risk factors and gene type for infections of MRSA in diabetic foot patients in Tianjin, China. *Int J Low Extrem Wounds* 2013; 12:106-12. doi: 10.1177/1534734613489991.
 25. Larvey LA, La Fontaine J, Bhavan K, Kim PJ, Williams JR, Hunt NA. Risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in diabetic foot infections. *Diabet Foot Ankl*. 2014;5. doi:10.3402/dfa.v5.23575.
 26. Reveles KR, Duhon BM, Moore RJ, Hand EO, Howell CK. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* diabetic foot infections in a large academic hospital: implications for antimicrobial Stewardship. *Plos ONE*. 2016; 11(8):e0161658. doi: 10.1371/journal.pone.0161658
 27. Schaper NC. Diabetic foot ulcer classification system for research purposes: a progress report on criteria for including patients in research studies. *Diabetes Metab Res Rev*. 2004; 20 Suppl 1:S90-5. doi: 10.1002/dmrr.464.
 28. Kandemir O, Akbay E, Sahin E, Milcan A, Gen R. Risk factors for infection of the diabetic foot with multi-antibiotic resistant microorganisms. *J Infect*. 2007; 54:439-45. doi: 10.1016/j.jinf.2006.08.013.
 29. Bell BG, Schellevis F, Stobberingh E, Goossens H, Pringle M. A systematic review and meta-analysis of the effects of antibiotic consumption on antibiotic resistance. *BMC Infect Dis*. 2014; 14:13. doi: 10.1186/1471-2334-14-13.
 30. Aragón-Sánchez J, Lipsky BA, Lázaro-Martínez JL. Gram-negative diabetic foot osteomyelitis: risk factors and clinical presentation. *Int J Low Extrem Wounds*. 2013; 12:63-8. doi: 10.1177/1534734613477423.

Rosa Escudero-Sánchez¹
S. Scarleth Mendoza
Lizardo¹
Elena Batlle López²
Carolina Campelo Gutierrez³
Juan Emilio Losa García¹
María Velasco Arribas¹

Impacto de la cirugía en la mortalidad de la endocarditis infecciosa en un hospital sin cirugía cardíaca

¹Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Madrid (España).

²Servicio de Cardiología, Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Madrid (España).

³Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Madrid (España).

Article history

Received: 18 January 2020; Revision Requested: 24 February 2020; Revision Received: 14 August 2020; Accepted: 29 September 2020; Published: 13 October 2020

RESUMEN

Introducción. La endocarditis infecciosa tiene una alta morbilidad y precisa un manejo médico-quirúrgico coordinado. El objetivo fue analizar la mortalidad en un hospital sin cirugía cardíaca.

Material y métodos. Evaluación de una cohorte prospectiva de pacientes con endocarditis infecciosa diagnosticada entre agosto de 2011 y enero de 2016 según los criterios de Duke modificados.

Resultados. Se incluyeron 64 pacientes, de los cuales fueron intervenido diecisiete (26,6%). La mortalidad fue 32,8% y se asoció con el antecedente de enfermedad pulmonar obstructiva crónica y la presencia de complicaciones, como la insuficiencia valvular y los embolismos en el sistema nervioso central; la cirugía cardíaca no fue un factor relacionado con la mortalidad. Cuatro pacientes (6,6%) no fueron intervenidos a pesar de tener indicación de cirugía cardíaca. El principal motivo para no ser intervenido fue el mal pronóstico prequirúrgico (44,7%).

Conclusiones. La mortalidad por endocarditis infecciosa en un hospital sin cirugía cardíaca es elevada. La complejidad de la patología fortalece la necesidad de equipos multidisciplinares e interhospitalarios.

Palabras clave: Endocarditis, endocarditis infecciosa, cirugía cardíaca, valvulopatía.

Impact of surgery on the mortality of infective endocarditis in a hospital without cardiac surgery

ABSTRACT

Background. Infective endocarditis has a high morbidity and mortality and requires a coordinated medical-surgical management. The objective was to analyse the impact of surgery on mortality in a hospital without cardiac surgery.

Material and methods. Evaluation of a prospective cohort of patients with infective endocarditis diagnosed between August 2011 and January 2016 according to modified Duke's criteria.

Results. Sixty-four patients were included, of whom seventeen patients were operated (26.6%). Mortality was 32.8% and it was associated with chronic obstructive pulmonary disease history, staphylococci coagulase-negative and the appearance of complications, as valvular insufficiency and embolisms in the central nervous system; cardiac surgery was not associated with mortality. Four patients (6.6%) were not operated despite indication of cardiac surgery. The main reason for not been intervened was the poor presurgical prognosis (44.7%).

Conclusions. Mortality due to infective endocarditis in a hospital without cardiac surgery is high. The need for interhospital teams is strengthened.

Keywords: endocarditis, infective endocarditis, cardiac surgery, valvulopathy.

INTRODUCCIÓN

La endocarditis infecciosa (EI) es una enfermedad con una alta morbilidad, estimada en algunos estudios en torno al 25% en los 6 meses tras la cirugía [1-3]. En los últimos años se han realizado avances en el diagnóstico y manejo de

Correspondencia:
Rosa Escudero Sánchez
Servicio Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Ctra Colmenar Viejo
Km 9,1 (28034) Madrid (España)
Tfno.: +34646686090
E-mail: rosa.escudero0@gmail.com

esta patología [4], y se han establecido escalas de predicción de mortalidad [1]. A pesar de ello, la evolución clínica de los pacientes es muy variable y su pronóstico depende, en muchas ocasiones, de la posibilidad de cirugía cardíaca realizada precozmente [5]. Por el contrario, la disponibilidad de cirugía cardíaca se encuentra limitada a hospitales terciarios, lo que podría retrasar el tratamiento adecuado en pacientes subsidiarios de cirugía cardíaca o incluso disminuir la probabilidad de aplicarse. Aunque existen datos de grandes registros de endocarditis, no se ha evaluado con profundidad la evolución de los pacientes en centros donde los pacientes deben ser derivados para ser intervenidos quirúrgicamente.

La evaluación del impacto de la cirugía en centros donde no se dispone de este servicio es muy pertinente, ya que son muchos los hospitales en España que se encuentran en este supuesto. Debido a que la mayoría de información se deriva de cohortes y registros multicéntricos, la evolución de los pacientes en centros sin cirugía queda oscurecida. El objetivo primario del estudio fue analizar el impacto de la cirugía cardíaca sobre la mortalidad de los pacientes con EI en un hospital sin servicio de cirugía cardíaca.

MATERIAL Y MÉTODOS

Realizamos un estudio de cohorte observacional prospectivo de todos los pacientes ingresados por EI de agosto de 2011 a enero de 2016, de forma consecutiva, en un hospital con un área de 170.000 pacientes [6]. El centro dispone de un protocolo específico y de un comité multidisciplinar de manejo de endocarditis; el hospital de referencia para la cirugía fue el mismo durante todo el estudio.

Los criterios de inclusión fueron los pacientes con diagnóstico o sospecha de EI que aportaron su consentimiento para la recogida de datos. La definición de EI se basó en los criterios de Duke modificados [7]. La curación fue definida como ausencia de sintomatología y hemocultivos estériles tras finalizar el tratamiento. La indicación de cirugía se consideró según guías actuales [4,8]. La comorbilidad se cuantificó según el índice de Charlson [9].

Las tasas se calcularon por casos incidentes entre la población del área sanitaria. Las variables cualitativas se describieron a través de frecuencia absoluta y relativa, mientras que las variables cuantitativas se describieron a través de media y desviación estándar (DS) para aquellas variables con desviación normal, y mediana y rango intercuartil (RIQ) para aquellas que no lo eran. Para la identificación de los factores de riesgo asociados a la mortalidad se utilizó la prueba Chi cuadrado para las variables cuantitativas, y la prueba t-Student y ANOVA para el análisis de una variable cualitativa frente a una variable cuantitativa según el número de categorías. Se evaluó la mortalidad intrahospitalaria. La probabilidad de muerte debido a la cirugía fue realizado por la escala RISK-E [10]. Las variables clínicamente relevantes y significativas en el análisis univariante fueron incluidas en el modelo multivariante con la mortalidad como variable dependiente. Se definió la significación

estadística como $p < 0,05$. El análisis de supervivencia se realizó mediante el método de Kaplan Meier. El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del hospital y la información se recogió disociada de la identidad del paciente.

RESULTADOS

En el periodo observado se incluyeron un total de 64 pacientes con diagnóstico o sospecha de EI, de los cuales 40 eran hombres (62,5%). La edad media fue de $73,0 \pm 11,9$ años. Cumplían criterios de EI definida 51 pacientes (79,7%). La tasa anual se mantuvo entre 6,5-11,2 casos/100.000 habitantes/año durante el periodo observado, y hubo dos casos de recidiva de EI (3,1%).

La localización más frecuente fue sobre la válvula mitral en 25 pacientes (39,1%) y sobre válvula nativa en 31 pacientes (48,4%). Los microorganismos más frecuentes fueron los cocos grampositivos en 57 pacientes (89,1%), siendo *Staphylococcus aureus* el microorganismo más habitual, seguido de *Streptococcus* spp. y estafilococos coagulasa negativos (SCN). La mediana del índice de Charlson fue 3 puntos (RIQ 1-5). Las variables relacionadas con los microorganismos, comorbilidad, clínica y complicaciones se muestran en la tabla 1. Presentaron complicaciones 43 pacientes (67,2%), siendo los fenómenos embólicos lo más frecuente (34,4%), seguido de la insuficiencia cardíaca (23,4%), anomalías en la conducción (10,9%) e infarto de miocardio (6,3%).

Tenían indicación de cirugía cardíaca 21 pacientes, aunque únicamente fueron intervenidos diecisiete (26,6%). Las razones por las que no fueron intervenidos los cuatro pacientes, a pesar de tener indicación, fueron la complejidad de la técnica, el mal pronóstico independiente de la EI, la negativa del paciente a ser intervenido y un paciente que falleció antes de operarse. Los motivos más habituales (no exclusivos) por los que sí fueron intervenidos los 17 pacientes fueron: 10/17 pacientes presencia de prótesis (58,9% respecto a los pacientes operados), 8/17 pacientes insuficiencia valvular por insuficiencia cardíaca y/o perforación válvula (47,1%), 7/17 pacientes invasión del miocardio por abscesos y/o bloqueo en la conducción (41,2%), 7/17 pacientes embolización a pesar de antibioterapia adecuada (41,2%) y 3/17 pacientes por sepsis persistente (17,6%). Las características de estos pacientes con indicación de cirugía cardíaca según fueron o no intervenidos quirúrgicamente, y según mortalidad se muestra en la tabla 2.

Se consideró que no cumplían criterios quirúrgicos y no fueron intervenidos 43 pacientes (67,2%). Entre ellos, los motivos fueron en 14 pacientes la situación basal deteriorada (32,6%), en 10 pacientes la posibilidad de curación sólo con antibiótico y el mal pronóstico quirúrgico (23,3%), en 5 pacientes la complejidad de la técnica quirúrgica (11,6%), en 2 pacientes la inestabilidad hemodinámica (4,7%), en 2 pacientes el exitus temprano antes de solicitar la valoración de cirugía cardíaca (4,6%), y en 17 pacientes otros motivos no especificados (39,5%); algunos pacientes tenían varios motivos para no ser intervenidos. El tiempo hasta la cirugía fue de 17 días de mediana (RIQ 9-62) desde la fecha de ingreso.

Tabla 1 Características de los pacientes con endocarditis infecciosa.

Variable	Total n (%)	Cirugía cardíaca	No cirugía cardíaca	Análisis univariante
N	64	17	47	p
Hombre	40 (62,5)	11 (64,7)	29 (61,7)	1
Edad (años; media, DS)	73,0±11,9	67,1±13,4	75,1±10,7	0,66
Tipo de válvula				
Natural	31 (48,4)	7 (41,2,4)	24 (51,1)	0,58
Prótesis	24 (37,5)	8 (47,1)	16 (34,9)	0,39
Localización de la endocarditis				
Mitral	25 (39,1)	8 (47,1)	17 (36,2)	0,56
Aórtica	20 (31,3)	8 (47,1)	12 (25,5)	0,13
Tricúspide	2 (3,1)	0 (0)	2 (4,3)	1
Dispositivo intravascular	7 (10,9)	1 (5,9)	6 (12,8)	1
Antecedentes personales				
Índice Charlson (mediana, RIQ)	3 (1-5)	2 (1-3)	3 (1-5)	0,73
Criterios Duke definida	51 (79,7)	16 (94,1)	35 (74,5)	0,16
EPOC	6 (9,4)	1 (5,9)	5 (10,6)	1
Enfermedad coronaria	10 (15,6)	3 (17,6)	7 (14,9)	1
Fibrilación/flutter auricular	27 (42,2)	6 (35,3)	21 (44,7)	0,58
Insuficiencia cardíaca-NYHA	14 (21,9)	3 (17,6)	11 (23,4)	0,74
Diabetes	23 (35,9)	8 (47,1)	15 (31,9)	0,38
Accidente cerebrovascular	11 (17,2)	1 (5,9)	10 (21,3)	0,26
Leucemia/ linfoma	3 (4,7)	0 (0)	3 (6,4)	0,56
Neoplasia ^a	19 (29,7)	5(47,1)	14 (29,8)	0,98
Insuficiencia renal	27 (42,2)	8 (47,1)	19 (40,4)	0,78
Endocarditis previa	5 (7,8)	1 (5,9)	4 (8,5)	1
Cirugía cardíaca previa	14 (21,9)	4 (23,5)	10 (21,3)	1
Valvulopatía natural	28 (43,8)	7 (41,2)	21 (44,7)	1
Microorganismo				
<i>Staphylococcus aureus</i>	17 (26,6)	2 (11,8)	15 (31,9)	0,20
SARM	4 (6,3)	0 (0)	4 (8,5)	0,57
<i>Streptococcus</i> spp. ^b	16 (25)	2 (11,8)	14 (29,8)	0,20
Estafilococo coagulasa negativos ^c	14 (21,9)	7 (41,2)	7 (14,9)	0,04
<i>Enterococcus</i> spp. ^d	9 (14,1)	3 (17,6)	6 (12,8)	0,69
Levaduras	2 (3,1)	2 (11,8)	0 (0)	0,07
Cultivo negativo	4 (6,3)	0 (0)	4 (8,5)	
Clínica				
Fiebre	49 (76,6)	13 (76,5)	36 (76,6)	1
Fenómenos vasculares ^e	22 (34,4)	14 (29,8)	8 (47,1)	0,2
Fenómenos inmunológicos ^f	13 (20,3)	5 (29,4)	8 (17,0)	0,31
Esplenomegalia	2 (3,1)	0 (0)	2 (4,3)	1
Nuevo soplo o empeoramiento	11 (17,2)	7 (41,2)	4 (8,5)	0,005
Mortalidad	21 (32,8)	7 (41,2)	14 (29,8)	0,54
Tiempo supervivencia ^g (días; mediana, DS)	26,5 (16-58)	35 (19-66)	25 (13-58)	0,46

SARM: *S. aureus* resistente meticilina; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; DS: desviación estándar; RIQ: rango intercuartil. ^aNeoplasia de órgano sólido y neoplasia hematológica; ^bLos aislados de *Streptococcus* fueron: 11 pacientes con *S. viridans* y 5 pacientes con *S. bovis*. ^cLos estafilococos coagulasa negativos aislados fueron *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. hominis* y *S. lugdunensis*. ^dLos aislados de *Enterococcus* aislados fueron: 8 pacientes con *E. faecalis* y un paciente con *E. raffinosus*. ^eFenómenos vasculares: embolismo, aneurisma micótico, hemorragia intracraneal, hemorragia conjuntival, lesiones Janeway, hemorragias en astilla, petequias. ^fFenómenos inmunológicos: glomerulonefritis, nódulos Osler, manchas Roth, factor reumatoide elevado. ^gPacientes fallecidos.

Tabla 2 Características de los pacientes con indicación de cirugía cardíaca

Variable	Total	Según cirugía realizada		p	Mortalidad		p
	n (%)	Cirugía cardíaca	No cirugía cardíaca		Exitus	Vivo	
N	21	17	4		8	13	
Hombre	16 (76,2)	12 (70,6)	4 (100)	0,21	5 (62,5)	11 (84,6)	0,25
Edad (años; media, DS)	68,8±13,2	67,1±13,4	76,0±10,8	0,34	71,7±11,2	66,9±14,4	0,55
Tipo de válvula							
Natural	6 (28,6)	5 (29,4)	1 (25,0)	0,86	1 (12,5)	5 (38,5)	0,20
Prótesis	13 (61,9)	10 (58,8)	3 (75,0)	0,55	7 (87,5)	6 (46,2)	0,06
Localización de la endocarditis							
Mitral	9 (42,9)	7 (41,2)	2 (50,0)	0,75	4 (50,0)	5 (38,5)	0,60
Aórtica	11 (52,4)	9 (52,9)	2 (50,0)	0,92	5 (62,5)	6 (46,2)	0,47
Antecedentes personales							
Índice Charlson (mediana, RIQ)	2 (1-3)	2 (1-3)	1,5 (0,5-3,5)	0,89	3 (2-4,5)	1 (0-3)	0,39
Charlson ≥3 puntos	9 (42,9)	8 (47,1)	1 (25,0)	0,42	5 (62,5)	4 (30,8)	0,15
Criterios Duke definida	19 (90,5)	16 (94,1)	3 (75,0)	0,24	7 (87,5)	12 (92,3)	0,72
EPOC	1 (4,8)	1 (5,9)	0	0,62	1 (12,5)	0	0,19
Enfermedad coronaria	4 (19,1)	3 (17,7)	1 (25,0)	0,74	2 (25,0)	2 (15,4)	0,59
Fibrilación/flutter auricular	9 (42,9)	7 (41,2)	2 (50,0)	0,75	5 (62,5)	4 (30,8)	0,15
Insuficiencia cardíaca	3 (14,3)	2 (11,8)	1 (25,0)	0,50	1 (12,5)	2 (15,4)	0,85
Diabetes	7 (33,3)	7 (41,2)	0	0,12	3 (37,5)	4 (30,8)	0,75
Accidente cerebrovascular	1 (4,8)	1 (5,9)	0	0,62	1 (12,5)	0	0,19
Neoplasia ^a	6 (28,6)	5 (29,4)	1 (25,0)	0,86	3 (37,5)	3 (23,1)	0,48
Insuficiencia renal	9 (42,9)	8 (47,1)	1 (25,0)	0,42	6 (75,0)	3 (23,1)	0,02
Endocarditis previa	3 (14,3)	2 (11,8)	1 (25,0)	0,50	1 (12,5)	2 (15,4)	0,85
Cirugía cardíaca previa	7 (33,3)	5 (29,4)	2 (50,0)	0,43	4 (40,0)	3 (23,2)	0,20
Valvulopatía natural	9 (42,9)	8 (47,1)	1 (25,0)	0,42	6 (75,0)	3 (23,1)	0,02
Microorganismo							
<i>Staphylococcus aureus</i>	2 (9,5)	2 (11,8)	0	0,47	1 (12,5)	1 (7,7)	0,72
SARM	0	0	0		0	0	
<i>Streptococcus</i> spp.	3 (14,3)	2 (11,8)	1 (25,0)	0,50	0	3 (23,1)	0,14
SCN	7 (33,3)	7 (41,2)	0	0,12	2 (25,0)	5 (38,5)	0,53
<i>Enterococcus</i> spp.	5 (23,8)	3 (17,7)	2 (50,0)	0,17	3 (37,5)	2 (15,4)	0,25
Levaduras	2 (9,5)	2 (11,8)	0	0,47	1 (12,5)	1 (12,5)	0,72
Clínica							
Fiebre	15 (71,4)	14 (82,4)	1 (25,0)	0,02	6 (75,0)	9 (69,2)	0,78
Fenómenos vasculares ^b	10 (47,6)	9 (52,9)	1 (25,0)	0,31	2 (25,0)	8 (61,5)	0,10
Fenómenos inmunológicos ^c	5 (23,8)	5 (29,4)	0	0,21	2 (25,0)	3 (23,2)	0,92
Nuevo soplo o empeoramiento	7 (33,3)	6 (35,3)	1 (25,0)	0,69	3 (37,5)	4 (30,8)	0,75
Mortalidad	8 (38,1)	7 (41,2)	1 (25,0)	0,55			
Tiempo supervivencia ^d (días; mediana, DS)	28 (19,5-53,5)	35 (19-66)	20 (20-20)	0,33			

SARM: *S. aureus* resistente meticilina; SCN: Estafilococo coagulasa negativos; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; DS: desviación estándar; RIQ: rango intercuartil. ^aNeoplasia de órgano sólido y neoplasia hematológica; ^bFenómenos vasculares: embolismo, aneurisma micótico, hemorragia intracraneal, hemorragia conjuntival, lesiones Janeway, hemorragias en astilla, petequias. ^cFenómenos inmunológicos: glomerulonefritis, nódulos Osler, manchas Roth, factor reumatoide elevado; ^dPacientes fallecidos.

Tabla 3 Características de los pacientes fallecidos.

Variable	Total n (%)	Cirugía cardíaca	No cirugía cardíaca	Análisis univariante
N	21	7	14	P
Hombre	14 (66,7)	4 (57,1)	10 (71,4)	0,51
Edad (años; media, DS)	76,0±10,3	70,0±10,8	79,1±8,9	0,07
Tipo de válvula				
Natural	10 (47,6)	1 (14,3)	9 (64,3)	0,03
Prótesis	11 (52,4)	6 (85,7)	5 (35,7)	0,03
Localización de la endocarditis				
Mitral	9 (42,9)	4 (57,1)	5 (35,7)	0,35
Aórtica	8 (38,1)	4 (57,1)	4 (28,6)	0,20
Antecedentes personales				
Índice Charlson (mediana, RIQ)	3 (2-4)	3 (2-4)	3 (1-5)	0,66
Criterios Duke definida	17 (81,0)	6 (85,7)	11 (78,6)	0,69
EPOC	5 (23,8)	1 (4,3)	3 (21,4)	0,69
Enfermedad coronaria	4 (19,1)	1 (4,3)	3 (21,4)	0,69
Fibrilación/flutter auricular	10 (47,6)	5 (71,4)	5 (35,7)	0,12
Insuficiencia cardíaca	5 (23,8)	1 (14,3)	4 (28,6)	0,47
Diabetes	7 (33,3)	3 (42,9)	4 (28,6)	0,51
Accidente cerebrovascular	11 (52,4)	1 (14,3)	0 (0)	0,15
Neoplasia ^a	6 (28,6)	3 (42,9)	3 (21,4)	0,31
Insuficiencia renal	12 (57,1)	5 (71,4)	7 (50,0)	0,35
Endocarditis previa	1 (4,8)	1 (14,3)	0 (0)	0,15
Cirugía cardíaca previa	6 (28,6)	3 (42,9)	3 (21,4)	0,31
Valvulopatía natural	13 (61,9)	5 (71,4)	8 (57,1)	0,53
Microorganismo				
<i>Staphylococcus aureus</i>	4 (19,1)	1 (14,3)	3 (21,4)	0,69
SARM	1 (4,8)	0 (0)	1 (7,1)	0,47
<i>Streptococcus</i> spp.	3 (14,3)	0 (0)	3 (21,4)	0,19
Estafilococo coagulasa negativos	8 (38,1)	2 (28,6)	6 (42,9)	0,53
<i>Enterococcus</i> spp.	3 (14,3)	2 (28,6)	1 (7,1)	0,19
Levaduras	1 (4,8)	1 (14,3)	0 (0)	0,15
Clínica				
Fiebre	18 (85,7)	6 (85,7)	12 (85,7)	1
Fenómenos vasculares ^b	9 (42,9)	2 (28,6)	7 (50,0)	0,35
Fenómenos inmunológicos ^c	4 (19,1)	2 (28,6)	2 (14,3)	0,43
Nuevo soplo o empeoramiento	5 (23,8)	2 (40,0)	3 (60,0)	0,72

SARM: *S. aureus* resistente meticilina; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; ACV: accidente cerebrovascular. DS: desviación estándar; RIQ: rango intercuartil; ^aNeoplasia de órgano sólido y neoplasia hematológica; ^bFenómenos vasculares: embolismo, aneurisma micótico, hemorragia intracraneal, hemorragia conjuntival, lesiones Janeway, hemorragias en astilla, petequias. ^cFenómenos inmunológicos: glomerulonefritis, nódulos Osler, manchas Roth, factor reumatoide elevado.

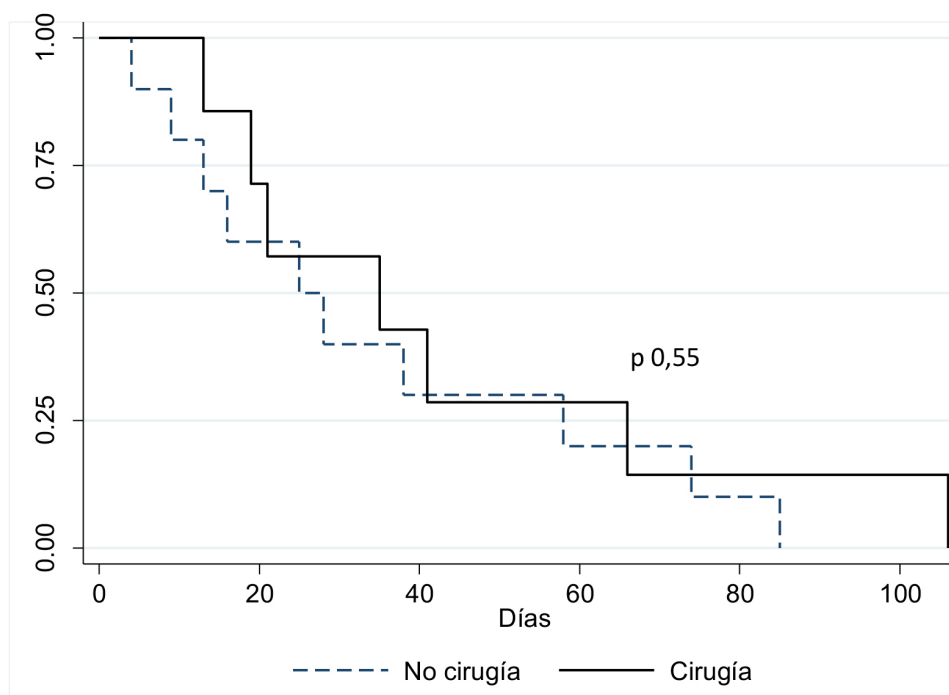


Figura 1 Curva supervivencia en el análisis de Kaplan Meier.

Diecisiete pacientes fallecieron durante el ingreso (26,6%) y cuatro tras el alta hospitalaria (6,3%). Las características de los pacientes fallecidos se muestran en la tabla 3 (global y por subgrupos según la realización de cirugía cardíaca). Las complicaciones postquirúrgicas ocurrieron en 11 pacientes (64,7% respecto a los 17 pacientes intervenidos), siendo el fracaso hemodinámico, la aparición o empeoramiento de un ictus o las infecciones postquirúrgicas las más frecuentes.

En el análisis univariable, las variables relacionadas con la mortalidad global de la cohorte fueron el antecedente de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) (OR 13,1; IC95% [1,4-121,2], $p=0,02$) y la presencia de complicaciones (OR 4,3; IC95% [1,1-16,9], $p=0,03$) concretamente secundarias a insuficiencia valvular (OR 4,9; IC95% [1,2-19,2], $p=0,04$) y embolismo en el sistema nervioso central (SNC) (OR 3,8; IC95% [1,0-14,0], $p=0,05$). Manteniéndose significativas en el análisis multivariable el desarrollo de complicaciones (OR 4,2; 95% [1,0-17,5], $p=0,05$) y la EPOC (OR 12,5; 95% [1,3-124,4], $p=0,03$). El análisis de supervivencia se muestra en la figura 1. El tiempo hasta la cirugía no fue un factor relacionado con la mortalidad (OR 0,01, IC95% [1-1,02], $p=0,51$). Tampoco hubo diferencias en la mortalidad en los pacientes que tenían indicación de cirugía cardíaca y fueron intervenidos frente aquellos que no se operaron teniendo indicación quirúrgica (7/17 [41,2%] versus 1/4 [25,0%]; $p=0,55$). De forma global, la mortalidad en los pacientes con indicación de cirugía car-

diaca frente a los que no tenían indicación no mostró diferencias estadísticamente significativas (8/21 [38,1%] versus 13/43 [30,2%]; $p=0,53$). Este valor es superior al estimado según la escala Risk-E, para evaluar el riesgo de la mortalidad postquirúrgica, concretamente $22,3 \pm 10,3$ puntos, lo que predice un probabilidad de fallecer en torno el 25% tras el procedimiento. Por otro lado, el bajo número de eventos (exitus) limitó el análisis de los factores asociados a la mortalidad.

DISCUSIÓN

Nuestro trabajo muestra una cohorte de pacientes con EI con una baja tasa de intervención quirúrgica. Esta tasa se encuentra muy por debajo de lo que se describe en una encuesta europea realizada en 2005, donde el 50% de los pacientes eran intervenidos [11]. Sin embargo, se asemeja a las cifras publicadas por algunos centros españoles sin cirugía cardíaca [12]. Es por ello que se han desarrollado varias escalas que pretenden establecer el riesgo quirúrgico en los pacientes con EI [10,13].

La mortalidad en nuestra serie es elevada, aunque muestra resultados similares a los datos publicados por otros hospitales, con tasas en torno 30-35% [3,11,12]. La demora en la cirugía cardíaca podría suponer un aumento en la mortalidad debido a la ausencia del control del foco y un incremento en la probabilidad de complicaciones propias de la EI o relacionadas

con el ingreso hospitalario. En nuestra serie, la realización de cirugía cardíaca y el tiempo hasta la cirugía no se relacionaron con la mortalidad. En cambio el antecedente de EPOC y la presencia de complicaciones, concretamente la presencia de insuficiencia valvular y/o embolismo en el SNC, fueron factores de riesgo independiente de la mortalidad. Estos datos reflejan cómo el pronóstico de los pacientes está influido por la propia EI, y quizás en menos grado por la disponibilidad de cirugía en el centro.

Un metaanálisis en 2011 mostró una disminución de la mortalidad de la cirugía frente al tratamiento antibiótico (OR 0,47, IC 95% [0,38-0,58]), aunque los estudios incluidos eran muy heterogéneos entre sí [14]. Otro metaanálisis más reciente, demostraba que la cirugía temprana tenía menos mortalidad que la tardía, sin observarse diferencias en aquellos pacientes intervenidos en los primeros 7 días (OR 0,61; 95% IC[0,16-0,54] $p=0,001$) [15].

Recientemente se han comercializado nuevas alternativas terapéuticas que podrían ser útiles en aquellos pacientes con EI sin opción quirúrgica, como la administración ambulatoria de antibióticos [16], la administración con reservorio o en infusor [17,18] o nuevos fármacos de duración prolongada, como la dalbavancina o la rezafungina [19,20]. Además, la implicación de un equipo multidisciplinar e interhospitalario resulta imprescindible para un adecuado manejo de la endocarditis infecciosa en hospitales sin cirugía cardíaca.

Las limitaciones del estudio son fundamentalmente aquellas referidas al pequeño tamaño muestral y al carácter unicéntrico del estudio. Finalmente, la modificación de la técnica quirúrgica y pautas de antibiótico podrían también haber influido en los resultados.

En conclusión, la comorbilidad del paciente es un factor pronóstico fundamental en la EI. La intervención quirúrgica no se relacionó con mayor mortalidad en aquellos pacientes que tenían indicación de cirugía cardíaca. El desarrollo de nuevos antibióticos de administración prolongada podría utilizarse como alternativa terapéutica en aquellos pacientes no subsidiarios a cirugía cardíaca.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido realizado junto con la colaboración de los miembros del Comité de Endocarditis del HUFA, P. Robles, O. Martín, C. Fuente y G. Navarro, además de L. Moreno, R. Heras, E. España y J.F. Valverde.

FINANCIACIÓN

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

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Park LP, Chu VH, Peterson G, Skoutelis A, Lejko-Zupa T, Bouza E, et al. Validated risk score for predicting 6-month mortality in infective endocarditis. *J Am Heart Assoc*. 2016;5(4):1-13. DOI: 10.1161/JAHA.115.003016
2. Cresti A, Chiavarelli M, Scalese M, Nencioni C, Valentini S, Guerrini F, et al. Epidemiological and mortality trends in infective endocarditis, a 17-year population-based prospective study. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2017;7(1):27-35. DOI: 10.21037/cdt.2016.08.09
3. Varela Barca L, López-Menéndez J, Navas-Elorza E, Moya Sur JL, Centella Hernández T, Redondo Palacios A, et al. Long-term prognosis after surgery for infective endocarditis: Distinction between predictors of early and late survival. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2019;37(7):435-40. DOI: 10.1016/j.emc.2018.10.017
4. Baddour LM, Wilson WR, Bayer AS, Fowler VG, Tleyjeh IM, Rybak MJ, et al. Infective endocarditis in adults: Diagnosis, antimicrobial therapy, and management of complications: A scientific statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation*. 2015;132:1435-86. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000296
5. Kang D-H, Kim Y-J, Kim S-H, Sun BJ, Kim D-H, Yun S-C, et al. Early Surgery versus Conventional Treatment for Infective Endocarditis. *N Engl J Med*. 2012;366:2466-73. DOI: 10.1056/nejmoa1112843
6. Ministerio de sanidad. Memoria del Hospital Universitario Fundación Alcorcón. 2017;
7. Bayer AS, Ward JI, Ginzton LE, Shapiro SM. Evaluation of New Clinical Criteria for the 'Diagnosis of Infective Endocarditis. *Am J Med*. 1994;96:211-19. DOI: 10.1056/nejmoa1112843
8. Habib G, Lancellotti P, Antunes MJ, Bongiorni MG, Casalta JP, Del Zotti F, et al. Guía ESC 2015 sobre el tratamiento de la endocarditis infecciosa. *Rev Esp Cardiol*. 2016;69(1):69.e1-e49. DOI: 10.1093/eurheartj/ehv319
9. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis*. 1987;40(5):373-83. DOI: 10.1016/0021-9681(87)90171-8
10. Olmos C, Vilacosta I, Habib G, Maroto L, Fernández C, López J, et al. Risk score for cardiac surgery in active left-sided infective endocarditis. *Heart*. 2017;103:1435-42. DOI: 10.1136/heartjnl-2016-311093
11. Tornos P. Infective endocarditis in Europe: lessons from the Euro heart survey. *Heart*. 2005;91(5):571-5. DOI: 10.1136/hrt.2003.032128
12. Rodríguez-Esteban M, Anguita M, Miranda-Montero S, Castillo JC, Álvarez-Acosta L, Castillo F, et al. Endocarditis infecciosa en 2 hospitales universitarios españoles que difieren en su localización y en la presencia de servicio quirúrgico. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2014;32(5):297-301. DOI: 10.1016/j.eimc.2013.04.019
13. Rasmussen R V., Bruun LE, Lund J, Larsen CT, Hassager C, Bruun NE. The impact of cardiac surgery in native valve infective endocarditis: Can euroSCORE guide patient selection? *Int J Cardiol*. 2011;149(3):304-9. DOI: 10.1016/j.ijcard.2010.02.007

14. Head SJ, Mostafa Mokhles M, Osnabrugge RLJ, Bogers AJJC, Pieter Kappetein A. Surgery in current therapy for infective endocarditis. *Vasc Health Risk Manag.* 2011;7(1):255–63. DOI: 10.2147/VHRM.S19377
15. Narayanan MA, Haddad TM, Kalil AC, Kanmanthareddy A, Suri RM, Mansour G, et al. Early versus late surgical intervention or medical management for infective endocarditis: A systematic review and meta-analysis. *Heart.* 2016;102:950–7. DOI: 10.1136/heartjnl-2015-308589
16. Norris AH, Shrestha NK, Allison GM, Keller SC, Bhavan KP, Zurlo JJ, et al. 2018 IDSA Clinical Practice Guideline for the Management of Outpatient Parenteral Antimicrobial Therapy. *Clin Infect Dis.* 2019;68:1–4. DOI: 10.1093/cid/ciy745
17. Nakamura T, Enoki Y, Uno S, Uwamino Y, Iketani O, Hasegawa N, et al. Stability of benzylpenicillin potassium and ampicillin in an elastomeric infusion pump. *J Infect Chemother.* 2018;24(10):856–9. DOI: 10.1016/j.jiac.2018.04.003
18. Hase R, Hosokawa N, Uno S, Mikawa T, Uwamino, Yoshifumi Muranaka K. The first trial of OPAT (outpatient parenteral antimicrobial therapy) with continuous infusions in Japan. *J Japanese Assoc Infect Dis.* 2014;88(3):269–74. DOI: 10.11150/kansenshogakuzasshi.88.269
19. Bouza E, Valerio M, Soriano A, Morata L, Carus EG, Rodríguez-González C, et al. Dalbavancin in the treatment of different gram-positive infections: a real-life experience. *Int J Antimicrob Agents.* 2018;51(4):571–7. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2017.11.008
20. Sofjan AK, Mitchell A, Shah DN, Nguyen T, Sim M, Trojcek A, et al. Rezafungin (CD101), a next generation echinocandin: A systematic literature review and assessment of possible place in therapy. *J Glob Antimicrob Resist.* 2018;14:58–64. DOI: 10.1016/j.jgar.2018.02.013

Daniel Pablo-Marcos¹
Ana Rodríguez-Fernández¹
Mónica Gozalo¹
Jesús Agüero¹
Francisco Arnaiz de Las
Revillas²
Jorge Calvo¹

Descripción de la epidemia estacional por Gripe B en Cantabria durante los inicios de la pandemia por SARS-CoV-2

¹Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IDIVAL. Santander, España.

²Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander, España.

Article history

Received: 21 July 2020; Revision Requested: 1 September 2020; Revision Received: 6 September 2020;
Accepted: 7 September 2020; Published: 22 September 2020

RESUMEN

Introducción. La cocirculación de los dos linajes de gripe B dificulta la predicción de la cepa a incluir en la vacuna trivalente. Comunidades autónomas (CCAA) como Cantabria continúan sin suministrar la vacuna tetravalente. El objetivo de este estudio fue analizar las características epidemiológicas de la gripe B en Cantabria (temporada 2019-2020), y determinar el linaje predominante y su relación con la vacuna recomendada.

Métodos. Estudio retrospectivo en el que el diagnóstico de gripe y los linajes de gripe B se determinaron mediante RT-PCR.

Resultados. Todas las muestras pertenecieron al linaje Victoria. La coinfección vírica más frecuente fue por SARS-CoV-2. La población afectada por gripe B fue fundamentalmente pediátrica y los pacientes no vacunados requirieron más frecuentemente ingreso hospitalario.

Conclusión. La gripe B presenta una mayor incidencia sobre población pediátrica, y la gripe A afecta más a población adulta. Sólo el 28,8% de los pacientes con gripe B que presentaban algún factor de riesgo estaban vacunados, existiendo la necesidad de aumentar la cobertura con vacunas tetravalentes para reducir la carga de enfermedad asociada al virus gripal B.

Palabras clave: gripe, epidemiología, vacunación

Description of Influenza B in seasonal epidemic in Cantabria during the beginning of the pandemic due to SARS-CoV-2

ABSTRACT

Introduction. Co-circulation of the two Influenza B lineages hinders forecast of strain to include in trivalent vaccine. Autonomous Communities such as Cantabria continue without supplying tetravalent vaccine. The aim of this study was to analyse epidemiological characteristics of influenza type B in Cantabria (2019-2020 season) as well as to establish the predominant lineage and its relation to the recommended vaccine.

Methods. Retrospective study whereby flu diagnosis and lineage analysis were determined by RT-PCR.

Results. All samples belonged to the Victoria lineage. Most prevalent viral co-infection was due to SARS-CoV-2. The population affected by influenza B was mainly paediatric and non-vaccinated patients more frequently required hospital admittance.

Conclusions. Influenza type B has a higher incidence in the paediatric population and type A affects more the adult population. Only 28.8% of patients with Influenza B that presented with some underlying condition or risk factor were vaccinated. This shows the need to increase coverage with tetravalent vaccines in order to reduce the burden of disease associated with the Influenza B virus.

Key-words: Influenza, epidemiology, vaccination.

INTRODUCCIÓN

Las epidemias anuales de gripe constituyen un problema de salud pública global. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) cada año mueren hasta 650 mil personas por infecciones respiratorias relacionadas con la gripe estacional [1].

Correspondencia:
Daniel Pablo Marcos
Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IDIVAL. Santander, España
E-mail: daniel.pablo@scsalud.es

Si bien se cree que la enfermedad por gripe B es más leve que la de tipo A, estudios demuestran que las infecciones causadas por ambos virus son clínicamente indistinguibles [2], presentando el virus B, y sobre todo el linaje Victoria, una mayor incidencia entre adultos-jóvenes y niños [3].

La cocirculación de dos linajes de gripe B, genética- y antígenicamente distintos: Victoria y Yamagata [4-5], dificulta la predicción de la cepa de virus B a incluir en la composición de la vacuna trivalente [6]. Desde 2013 se dispone de una vacuna tetravalente que incluye ambos linajes. Sin embargo, no es hasta 2018 cuando la OMS incluye en las recomendaciones de la vacuna la opción tetravalente como prioritaria [7]. A pesar de ello, durante la temporada pasada 2019-2020 algunas CC.AA. como Cantabria continuaron administrando la vacuna trivalente.

El objetivo de este estudio fue analizar la carga y epidemiología de la gripe B circulante en Cantabria durante el periodo 2019-2020, coexistente con la pandemia por SARS-CoV-2, y determinar el linaje predominante y su relación con la vacuna recomendada en dicha temporada.

MÉTODOS

Estudio retrospectivo observacional, donde se analizaron los casos de gripe B confirmados microbiológicamente en Cantabria durante el periodo noviembre 2019-marzo 2020. Se recogieron los siguientes datos de interés: variables clínico-epidemiológicas (datos demográficos, comorbilidades, síntomas clínicos, etc.) de los casos de gripe B, variables demográficas de los casos de gripe A para comparar los grupos etarios afectados por ambos virus y datos de gestión correspondientes al periodo epidémico previo (noviembre 2018-marzo 2019) en términos de número de peticiones con solicitud de gripe para compararlos con el periodo pandémico actual.

El diagnóstico de gripe se realizó a partir de muestras de lavado/aspirado y frotis nasofaríngeos mediante qPCR usando el sistema Cobas influenza A/B & RSV nucleic acid test (LIAT; Roche Molecular Systems, Inc.). El estudio de los linajes de gripe B se realizó mediante RT-PCR a tiempo real usando los cebadores descritos por B. Biere *et al* [8], que tienen como diana la hemaglutinina (HA) del virus de la gripe B.

Las diferencias entre las variables clínicas y demográficas fueron analizadas utilizando la prueba Chi-cuadrado para variables categóricas y U-Mann-Whitney para variables continuas. Se consideraron significativos aquellos *p*-valores <0,05. El análisis se realizó utilizando el programa SPSS versión 20.0 (IBM-SPSS, Chicago, IL, USA).

RESULTADOS

Durante el periodo de estudio se observa una circulación predominante de virus tipo A, habiéndose diagnosticado un total de 652 casos de gripe, correspondiendo 472 a gripe A (72,4%) y 180 (27,6%) a gripe B.

De las 180 muestras positivas para gripe B, 13 (7,2%) no pudieron ser subtipadas por falta de muestra. De las 167 muestras restantes, se detectaron 161 (96,4%) correspondientes al linaje Victoria y 6 (3,6%) no tipables. No se obtuvo ninguna gripe B del linaje Yamagata.

El 36,7% (n=66) de los pacientes presentaron al menos un factor de riesgo de complicaciones de gripe. Los factores de riesgo más prevalentes fueron asma (13,9%) y patología cardiovascular crónica (10,6%) (Tabla 1). Del total de pacientes que presentaban algún factor de riesgo, sólo 19 (28,8%) estaban vacunados. El 18,2% (n=12) de los pacientes con factores de riesgo recibieron tratamiento con oseltamivir.

Los síntomas clínicos más comunes fueron fiebre (92,4%), seguido de tos (84,9%) y odinofagia (27,9%). Otros síntomas menos destacables fueron los gastrointestinales (23,8%), mialgias (22,7%) y cefalea (19,2%).

Requirieron ingreso hospitalario 25 pacientes (13,9%), de los que sólo 1 ingresó en UCI, siendo significativamente mayor el número de ingresados en el grupo de no vacunados (*p*=0,008). Ninguno precisó de ventilación mecánica. En cuanto a las complicaciones, 8 (4,4%) presentaron neumonía y 6 (3,3%) otitis aunque no se encontraron diferencias significativas en el desarrollo de neumonía (*p*=0,384) ni otitis (*p*=0,664). Sólo 1 paciente desarrolló sepsis por *Streptococcus pyogenes*, que se complicó con síndrome del shock tóxico estreptocócico. Se observó una tasa de mortalidad del 0,6%.

Un total de 20 pacientes (11,1%) presentaron alguna coinfección, vírica o bacteriana, observándose un mayor número de coinfecciones en las personas no vacunadas (*p*=0,042). Las coinfecciones víricas más frecuentes fueron producidas por SARS-CoV-2 (n=3) y Virus Respiratorio Sincitial (VRS, n=2). Ninguno de los pacientes coinfectados con SARS-CoV-2 requirió ingreso hospitalario. Dentro de las coinfecciones bacterianas, predominaron las producidas por *S. pyogenes* (n=5), *Haemophilus influenzae* (n=4) y *Streptococcus pneumoniae* (n=4).

Se observó un aumento significativo en el número de peticiones durante el mes de marzo en época pandémica (n=1417) respecto a la temporada 2018-2019 (n=391) lo que supuso un incremento del 20%. Esto se vio reflejado en el número de casos diagnosticados de gripe B en población adulta, que aumentó un 31,6% en el mes de marzo en relación con la temporada anterior.

En cuanto a las diferencias etarias entre pacientes infectados por gripe A o B, la mediana de edad de los pacientes con gripe A fue significativamente mayor que la de los pacientes con gripe B [49(68) versus 8(18)] [mediana, (RIQ)], (*p*<0,001), de modo que la población afectada por gripe A fue fundamentalmente adulta (64,8%) y la población afectada por gripe B, principalmente pediátrica (69,44%).

DISCUSIÓN

La gripe estacional es una enfermedad inmunoprevenible que supone un importante problema de salud pública

Tabla 1 Variables clínico-epidemiológicas de los pacientes diagnosticados de gripe B durante la epidemia 2019-2020. Las variables cualitativas se expresan en n (%) y las variables continuas en mediana (RIQ).

	Vacunados (n=19)	No vacunados (n=159)	Total (n= 180)	p
Género (Mujer)	7 (36,8)	84 (52,8)	91 (50,6)	0,149
Edad (años)	10 (24)	7 (16)	8 (18)	0,061
Pediátricos (≤16)	11 (57,9)	115 (72,3)	127 (70,6)	0,348
Comorbilidades				
Patología respiratoria crónica	9 (47,4)	26 (16,4)	35 (19,4)	<0,001
Asma	5 (26,3)	20 (12,6)	25 (13,9)	<0,001
EPOC	1 (5,3)	2 (1,3)	3 (1,7)	<0,001
Patología cardiovascular crónica	6 (31,6)	13 (8,2)	19 (10,6)	<0,001
Cardiopatías	5 (26,3)	4 (2,5)	9 (5)	<0,001
HTA	1 (5,3)	7 (4,4)	8 (4,4)	<0,001
Patología renal crónica	3 (15,8)	6 (3,8)	9 (5)	<0,001
Patología neurológica crónica	3 (15,8)	9 (5,7)	12 (6,7)	<0,001
Diabetes	2 (10,5)	2 (1,3)	4 (2,2)	<0,001
Cáncer	1 (5,3)	4 (2,5)	5 (2,8)	<0,001
Prematuridad	1 (5,3)	3 (1,9)	4 (2,2)	<0,001
Ninguna	2 (10,5)	112 (70,4)	114 (63,3)	<0,001
Embarazo	2 (10,5)	0 (0)	2 (1,1)	<0,001
Síntomas clínicos				
Fiebre	16 (84,2)	143 (93,5)	159 (92,4)	0,160
Tos	17 (89,5)	129 (84,3)	146 (84,9)	0,742
Odinofagia	3 (15,8)	45 (29,4)	48 (27,9)	0,283
Clínica gastrointestinal ^a	4 (21,1)	37 (24,2)	41 (23,8)	1
Mialgia	6 (31,6)	33 (21,6)	39 (22,7)	0,383
Cefalea	2 (10,5)	31 (20,3)	33 (19,2)	0,536
Coinfección vírica	1 (5,3)	7 (4,4)	8 (4,4)	0,940
SARS-CoV-2	0 (0)	3 (1,9)	3 (1,7)	
VRS	1 (5,3)	1 (0,6)	2 (1,1)	
Influenzavirus A	0 (0)	1 (0,6)	1 (0,6)	
VEB	0 (0)	1 (0,6)	1 (0,6)	
Bocavirus	0 (0)	1 (0,6)	1 (0,6)	
Coinfección bacteriana	5 (26,3)	5 (5)	13 (7,2)	0,003
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2 (10,5)	3 (1,9)	5 (2,8)	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2 (10,5)	2 (1,3)	4 (2,2)	
<i>Streptococcus constellatus</i>	0 (0)	1 (0,6)	1 (0,6)	
<i>Haemophilus influenzae</i>	1 (5,3)	3 (1,9)	4 (2,2)	
Complicaciones				
Neumonía	2 (10,5)	6 (3,8)	8 (4,4)	0,384
Otitis	0 (0)	6 (3,8)	6 (3,3)	0,664
Sepsis	1 (5,3)	0 (0)	1 (0,6)	0,014
Otras	2 (10,5)	3 (1,9)	5 (2,8)	0,064
Ingreso Hospitalario	7 (36,8)	18 (11,3)	25 (13,9)	0,008
Ingreso en UCI	1 (5,3)	0 (0)	1 (0,6)	0,014
Éxito	0 (0)	1 (0,6)	1 (0,6)	0,936

RIQ: Rango Intercuartílico; EPOC: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica; HTA: Hipertensión Arterial;

VEB: Virus Eipstein Barr; VRS: Virus Respiratorio Sincitial.

^aClínica gastrointestinal (náuseas, vómitos, diarrea).

*No se incluyeron los datos de síntomas clínicos de 8 pacientes de los que no había registro.

en términos de morbilidad y costes relacionados, afectando a personas de todas las edades. La enfermedad clínica producida por los diferentes tipos y subtipos del virus de la gripe no muestra diferencias significativas [9]. Sin embargo, en nuestro trabajo se observan diferencias entre los distintos grupos etarios, demostrando mayor incidencia en población pediátrica por el virus tipo B, tal y como se observa en otras series [10].

La vacunación en España está recomendada para grupos específicos con elevado riesgo de complicaciones de gripe (por ejemplo, mayores de 65 años, embarazadas o mayores de 6 meses con enfermedades basales crónicas) [11]. Sin embargo, en nuestra serie observamos solo un 28,8% de vacunación de la población con gripe B con factores de riesgo, lo que no alcanza la cobertura anual del 75% recomendada por la OMS [12]. Por tanto, es necesario que tanto profesionales sanitarios como la población general, conozca el impacto de esta enfermedad y los beneficios de su prevención, para poder reducir la carga sanitaria y social de la gripe estacional [13].

Del total de casos diagnosticados de gripe B, en el 100% de los casos tipados se confirmó la infección por el linaje Victoria. Esto muestra total concordancia con los datos emitidos en el Informe de Vigilancia de la Gripe del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) y con la cepa incluida en la vacuna trivalente y la circulante durante la temporada 2019-2020 [14].

El aumento del número de peticiones de gripe durante la pandemia del SARS-CoV-2 evidenció un aumento del número de diagnósticos de gripe B, sobre todo en población adulta ambulatoria, en los que no estaba indicada la realización de técnicas moleculares para su confirmación, puesto que el diagnóstico de gripe es fundamentalmente clínico [5].

Este estudio pone de manifiesto que el linaje Victoria de la gripe B ha afectado principalmente a población pediátrica durante la epidemia gripal 2019-2020. Dado el impacto en la carga de enfermedad debida al virus gripal B, la dificultad en la estimación del linaje de virus B que circulará en cada temporada y la subóptima protección cruzada entre los linajes en caso de incluir la cepa equivocada, justifica el uso de vacunas tetravalentes que contengan los dos linajes, Victoria y Yamagata [6]. Existe una necesidad actual tanto de aumento de cobertura vacunal antigripal como del uso de vacunas tetravalentes que garanticen una mayor protección de todo el personal de riesgo y disminuir así el impacto de la carga de enfermedad asociada al virus gripal tipo B.

FINANCIACIÓN

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

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Organización Mundial de la Salud. Cada año, hasta 650.000 personas mueren por enfermedades respiratorias relacionadas con la gripe estacional. 2017 <https://www.who.int/es/news-room/detail/14-12-2017-up-to-650-000-people-die-of-respiratory-diseases-linked-to-seasonal-flu-each-year> [accessed 03 June 2020]
2. Irving SA, Patel DC, Kieke BA, Donahue JG, Vandermause MF, Shay DK et al. *Comparison of clinical features and outcomes of medically attended influenza A and influenza B in a defined population over four seasons: 2004-2005 through 2007-2008*. Influenza Other Respir Viruses. 2012. 6; 37-43. DOI: 10.1111/j.1750-2659.2011.00263.x
3. Reina J, López de Bilbao C, Riera M. Predominio de la gripe B linaje Yamagata en los adultos en la temporada gripal 2017-2018. Med Clin. 2020. 1; 29-31. DOI: 10.1016/j.medcli.2018.09.003
4. Krammer F, Smith G, Fouchier R, Peiris M, Kedzierska K, Doherty P, et al. Influenza. Nat. Rev. 2018. 4 (3); 1-21 DOI: 10.1038/s41572-018-0002-y
5. Ortiz de Lejarazu R. Los virus de la gripe. Pandemias, epidemias y vacunas. Amazing Books. 2019.
6. Ortiz de Lejarazu R, Díez J, Gil de Miguel A, Martín F, Guzmán C, Guillén JM, et al. Descripción de la gripe B en las epidemias estacionales de España. Rev Esp Quimioter. 2018. 31; 511-519. PMID: 30421881
7. WHO. Recommendations for the composition of next season's influenza vaccine released. 2018. <http://www.euro.who.int/en/health-topics/communicable-diseases/influenza/news/news/2018/3/recommendations-for-the-composition-of-next-seasons-influenza-vaccine-released> [accessed 03 June 2020]
8. Biere B, Bauer B, Schwiager B. Differentiation of Influenza B virus lineages Yamagata and Victoria by Real-Time PCR. J Clin Microbiol. 2010. 1425-1437. DOI: 0.1128/JCM.02116-09
9. Monsier A, Caini S, Daviaud I, Nauleau E, Tai Bui T, Debost E et al. Clinical characteristics are similar across type A and B Influenza virus infections. Plos One. 2015. 10 (9); 1-13. DOI: 10.1371/journal.pone.0136186
10. Eiros-Bouza JM, Pérez-Rubio A. Impacto del virus gripal tipo B y divergencia con la cepa B incluida en la vacuna antigripal en España. Rev Esp Quimioter. 2015. 28; 39-46 PMID: 25690144
11. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Recomendaciones de vacunación frente a la gripe. 2020. https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/Preguntas_respuestas_gripe_profesionarios_2019-2020.htm [accessed 16 June 2020].
12. Ortiz de Lejarazu R. Actualización anual de la gripe. Vacuna a vacuna. Amazing Books. 2018.
13. García A, Fernández-Prada M, Aristegui J, Moreno D, Redondo E, Jimeno I et al. Resumen ejecutivo del documento de actualización y reflexión sobre vacunación antigripal en España. Vacunas. 2018. 19; 85-98. DOI: 10.1016/j.vacun.2018.10.001
14. Instituto de Salud Carlos III. Sistema de Vigilancia de Gripe en España 2019-2020. Informes semanales y anuales. <http://vgripe.isciii.es/inicio.do> [accessed 11 June 2020].

Ismael Mora-Guzmán¹
Inés Rubio-Pérez²
Diego Domingo-García³
Elena Martín-Pérez⁴

Infecciones asociadas a enterobacterias productoras de carbapenemasas OXA-48 en pacientes quirúrgicos: consumo de antibióticos y evolución de sensibilidades

¹Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo. Hospital General La Mancha Centro. Alcázar de San Juan.

²Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo. Hospital Universitario La Paz. Madrid.

³Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Universitario de La Princesa. Madrid.

⁴Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo. Hospital Universitario de La Princesa. Madrid.

Article history

Received: 25 July 2020; Revision Requested: 23 August 2020; Revision Received: 23 August 2020; Accepted: 16 September 2020; Published: 16 October 2020

RESUMEN

Objetivos. Analizar la administración de antibióticos, la evolución temporal de sensibilidades y el tratamiento dirigido de las infecciones asociadas a enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC) OXA-48 en un servicio de Cirugía General y Digestivo.

Material y métodos. Estudio observacional retrospectivo, incluyendo pacientes con cultivo positivo de OXA-48 y datos clínicos de infección activa, hospitalizados en un servicio de Cirugía General y Digestivo entre enero 2013 y diciembre 2018.

Resultados. Se incluyeron 65 pacientes, con 66 aislamientos de OXA-48: *Klebsiella pneumoniae*, 57 (86,5%); *Enterobacter cloacae*, 5 (7,6%); *Escherichia coli*, 3 (4,5%); *Morganella morganii*, 1 (1,5%). La infección intraabdominal fue la más común (n=39, 60%), y el consumo previo de antibióticos fue: piperacilina-tazobactam (48%), meropenem (45%), ciprofloxacino (25,5%), ertapenem (16,5%), imipenem (12%), amikacina (12%), tigeciclina (12%). La evolución temporal (2013/14, 2015/16 y 2017/18) de las sensibilidades (porcentajes) según antibiograma fue: ceftazidima-avibactam X-X-100; amikacina 100-96-84 ($p=0,518$); tigeciclina 100-92-80 ($p=0,437$); colistina 100-67-66 ($p<0,001$); meropenem 37-64-72 ($p=0,214$); imipenem 51-41-77 ($p=0,109$); gentamicina 13-19-18 ($p=0,879$); ertapenem 35-0-0 ($p<0,001$). El tratamiento dirigido tuvo una mediana de duración de 14 [RIQ 9-20] días, destacando en frecuencia: tigeciclina (57%); meropenem (40,5%); amikacina (37,5%); ceftazidima-avibactam (9%); imipenem (7,5%); colistina (7,5%). La mortalidad global a 30 días fue del 12% (8 individuos). El tratamiento dirigido fue adecuado según antibiograma en el 87,7%, utilizando un régimen de

terapia combinada en el 76,9%, régimen que incluyó algún carbapenémico en el 49,2%.

Conclusiones. En Cirugía General y Digestivo destaca la infección intraabdominal asociada a OXA-48, con elevado consumo previo de antibióticos de amplio espectro. El tratamiento dirigido con mayor sensibilidad de cepas productoras de OXA-48 incluye ceftazidima-avibactam, amikacina, tigeciclina, meropenem e imipenem.

PALABRAS CLAVE: Carbapenemasa; Enterobacterias; Resistencia

Infections by OXA-48 carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in surgical patients: antibiotic consumption and susceptibility patterns

ABSTRACT

Objective. To assess antibiotic consumption, susceptibility patterns and targeted treatment for OXA-48 carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE) related infections in surgical patients in a General Surgery Department.

Material and methods. Retrospective review of patients with a positive culture for OXA-48 and associated clinical data of infection, while hospitalized in a General Surgery Department from January 2013 to December 2018.

Results. Sixty-five patients with 66 isolations (OXA-48) were included: *Klebsiella pneumoniae*, 57 (86.5%); *Enterobacter cloacae*, 5 (7.6%); *Escherichia coli*, 3 (4.5%); *Morganella morganii*, 1 (1.5%). The most frequent source was intra-abdominal infection (n=39, 60%), and previous antibiotic consumption was: piperacillin-tazobactam (48%), meropenem (45%), ciprofloxacin (25.5%), ertapenem (16.5%), imipenem (12%), amikacin (12%), tigecycline (12%). Temporal trends (2013/14, 2015/16 and 2017/18) in susceptibility patterns were (percentages): ceftazidime-avibactam X-X-100; amikacin 100-96-84 ($p=0.518$); tigecycline 100-92-80 ($p=0.437$); colistin

Correspondencia:
Ismael Mora Guzmán
Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo. Hospital General La Mancha Centro.
Avda. de la Constitución, 3. 13600-Alcázar de San Juan (Ciudad Real).
E-mail: moraguzman.dr@gmail.com

100-67-66 ($p<0.001$); meropenem 37-64-72 ($p=0.214$); imipenem 51-41-77 ($p=0.109$); gentamicin 13-19-18 ($p=0.879$); ertapenem 35-0-0 ($p<0.001$). Median duration of the targeted antibiotic therapy was 14 [IQR 9-20] days; antibiotics used were: tigecycline (57%); meropenem (40.5%); amikacin (37.5%); ceftazidime-avibactam (9%); imipenem (7.5%); colistin (7.5%). Global mortality rate at 30 days was 12% (8 patients). Targeted treatment was appropriate (antibiogram) in 87.7%, and targeted combination scheme was administered in 76.9%, which included a carbapenem in 49.2%.

Conclusions. OXA-48-related-intra-abdominal infection is significant in surgical patients, with substantial broad-spectrum antibiotic consumption. Useful targeted therapy includes ceftazidime-avibactam, amikacin, tigecycline, meropenem, and imipenem.

KEYWORDS: Carbapenemase; *Enterobacteriaceae*; Resistance

INTRODUCCIÓN

Las infecciones asociadas a enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC) suponen un grave problema sanitario a nivel mundial, existiendo una prioridad de primer nivel actualmente para el desarrollo de nuevos antibióticos [1,2]. Los factores de riesgo de adquisición de estas infecciones han sido ampliamente detallados en la literatura, siendo la administración de antibióticos el factor clave, sobre todo antibióticos de amplio espectro destacando los carbapenémicos [3].

Las infecciones nosocomiales asociadas a EPC traen consigo elevados porcentajes de morbilidad; teniendo lugar habitualmente en pacientes con múltiples comorbilidades, sometidos a procedimientos diagnóstico-terapéuticos y con estancia hospitalaria prolongada [4,5]. Existen unas recomendaciones acerca del tratamiento frente a EPC, si bien son opciones limitadas debido al reducido abanico de antibióticos disponibles frente a cepas sensibles [6].

Los estudios publicados acerca de la incidencia y el perfil de las infecciones por EPC en pacientes quirúrgicos son escasos hasta la fecha [7,8], incluyendo la mayoría pacientes quirúrgicos en unidad de cuidados intensivos o algunos casos de infección intraabdominal (IIA). Al añadir una intervención quirúrgica, se incrementa el riesgo de morbilidad, y potencialmente la probabilidad de requerir nuevos tratamientos, reintervenciones, antibióticos de amplio espectro; y con todo ello, un incremento en estancia y costes sanitarios [8,9].

El objetivo de este estudio fue analizar el perfil de la administración previa de antibióticos, la evolución temporal de sensibilidades y el tratamiento dirigido en pacientes con infecciones asociadas a EPC de clase OXA-48 de un departamento de Cirugía General y Digestivo (CGD).

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio observacional retrospectivo, incluyendo pacientes con infecciones asociadas a EPC OXA-48 en un departamento de CGD entre enero 2013 y diciembre 2018. Los criterios de in-

clusión fueron: adultos mayores de 18 años de edad, presencia de al menos un cultivo positivo a partir de 48 horas tras el ingreso, asociado a datos clínicos de infección activa. Para realizar una revisión completa de la evolución de cada paciente, se excluyeron aquellos pacientes con aislamientos de EPC no ingresados en CGD o trasladados a otros servicios, pacientes con información incompleta de datos microbiológicos y pacientes colonizados por EPC sin expresión clínica. Los datos quedaron recogidos en una base de datos informatizada y anónima, incluyendo a los pacientes exclusivamente una vez, revisando la evolución hasta el alta hospitalaria o el fallecimiento.

Las variables analizadas se recogieron mediante la revisión del historial médico de los pacientes. Se registraron factores intrínsecos (comorbilidades, datos demográficos) y extrínsecos del paciente, incluyendo en este caso factores de riesgo de infección por EPC presentes en los 30 días previos al diagnóstico. Se recogieron los antibióticos administrados previamente al aislamiento de EPC (durante al menos 48 horas, administrados en los 30 días previos a EPC). Se evaluó la presencia de infecciones nosocomiales según la fuente principal de infección (la infección nosocomial se definió como una infección que tiene lugar al menos 48 horas tras el ingreso hospitalario actual, o una infección que ya existía dentro de las dos semanas anteriores en relación con un ingreso previo [10]). El foco infeccioso más probable se registró según datos microbiológicos y según la evaluación clínica reflejada por al menos dos facultativos, teniendo en cuenta criterios de las definiciones de CDC estadounidenses (*Centers for Disease Control and Prevention*) [10]. Las variables microbiológicas analizadas incluyeron especie, presencia y clase de carbapenemasa [11], antibiograma con patrón de sensibilidades y presencia en la cepa de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Se registró la terapia dirigida para EPC según antibiograma, y la relación con la mortalidad (tasa de mortalidad global a 30 días). El tratamiento dirigido apropiado se definió así al mostrar actividad *in vitro*, incluyendo una duración mínima de 48 horas [12]. El régimen de monoterapia o terapia combinada se definió según el número de antibióticos activos incluidos.

El protocolo para la realización de este trabajo obtuvo la aprobación correspondiente por el Comité Ético de Investigación Clínica del centro (referencia nº registro 3454).

El cribado de EPC y la determinación del antibiograma se realizó utilizando el sistema MicroScan "Walk away"® (Beckman Coulter). Se estudiaron todas las cepas con concentración mínima inhibitoria (CMI) $>0,125$ mg/L para ertapenem y meropenem, y CMI >1 mg/L para imipenem, según las recomendaciones EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*). La caracterización de las cepas de EPC identificadas en los años 2013 y 2014 tuvieron estudio de fenotipo empleando métodos colorimétricos CARBA NP, realizando el estudio genotípico en el Centro Nacional de Microbiología (Instituto de Salud Carlos III). A partir del año 2015, el estudio fenotípico se realizó utilizando inmunocromatografía (OXA-48 Card Letitest, Coris BioConcept Belgium), y en caso de resultado negativo tras inmunocromatografía, empleando la técnica de la reacción en cadena de polimerasa (PCR) en tiem-

po real Xpert Carba-R (Cepheid Sunnyvale, CA).

En el caso de las variables categóricas, los resultados se expresaron como porcentajes, y como media y desviación estándar para variables continuas, utilizando mediana y rango intercuartílico (RIQ) para variables con distribución asimétrica. La comparación de variables continuas se realizó utilizando la prueba de Mann-Whitney. Se consideraron diferencias estadísticamente significativas de forma bilateral con valores de $p < 0,05$. El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS® v. 25.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

RESULTADOS

En los seis años de estudio se incluyeron 65 pacientes con infecciones asociadas a OXA-48. La edad media fue de $68,7 \pm 13$ años y la mediana del índice de comorbilidad de Charlson de 4 [RIC 1-6], incluyendo 37 pacientes de sexo masculino (57%).

Se registraron 66 aislamientos: *Klebsiella pneumoniae*, 57 (86,5%); *Enterobacter cloacae*, 5 (7,6%); *Escherichia coli*, 3 (4,5%); *Morganella morganii*, 1 (1,5%) (aislamiento simultáneo en un individuo de *K. pneumoniae* y *E. coli*). El aislamiento previo de bacterias productoras de BLEE (beta-lactamasas de espectro extendido) tuvo lugar en el 18% de individuos, existiendo 5 cepas coproductoras de OXA-48 y BLEE en un mismo individuo (7,6%). Las infecciones asociadas a OXA-48 se clasificaron según la fuente principal: IIA 39 (60%), infección de herida quirúrgica 16 (24,5%), infección de tracto urinario 7 (11%), neumonía 2 (3%), bacteriemia primaria/bacteriemia asociada a catéter 1 (1,5%).

Todos los pacientes recibieron tratamiento antibiótico en los 30 días previos a la infección por OXA-48, destacando en orden (Tabla 1): piperacilina-tazobactam (48%), meropenem (45%), ciprofloxacino (25,5%), ertapenem (16,5%), imipenem (12%), amikacina (12%), tigeciclina (12%). La evolución de las sensibilidades (porcentajes) según antibiograma a lo largo del periodo estudiado se presenta en la figura 1.

Analizando el tratamiento dirigido a infecciones por OXA-48, la mediana de duración fue de 14 [RIQ 9-20] días, y los antibióticos empleados con mayor frecuencia fueron (Tabla 1): tigeciclina (57%); meropenem (40,5%); amikacina (37,5%); ceftazidima-avibactam (9%); imipenem (7,5%); colistina (7,5%). La mortalidad a 30 días de las infecciones por OXA-48 fue del 12% (8 pacientes). El tratamiento dirigido (Tabla 2) fue adecuado según antibiograma en el 87,7%, utilizando un régimen de terapia combinada en el 76,9%, régimen que incluyó algún carbapenémico en el 49,2%.

DISCUSIÓN

El presente trabajo incluye una descripción detallada del consumo de antibióticos previo al desarrollo de infecciones por EPC en CGD, destacando elevados porcentajes de antibioterapia de amplio espectro, incluyendo algún carbapenémico en más del 60% de individuos. El empleo de antibióticos es el

Tabla 1 Antibioterapia recibida según el momento respecto a la infección por EPC.

Antibiótico	Previa (n, %)	Dirigida (n, %)
Amikacina	8 (12)	24 (37,5)
Amoxicilina-ácido clavulánico	6 (9)	0
Aztreonam	1 (1,5)	0
Cefotaxima	0	0
Ceftazidima	1 (1,5)	0
Ceftazidima-avibactam	0	6 (9)
Ceftolozano-tazobactam	1 (1,5)	0
Ceftriaxona	2 (3)	0
Cefuroxima	1 (1,5)	0
Ciprofloxacino	17 (25,5)	2 (3)
Colistina	1 (1,5)	5 (7,5)
Cotrimoxazol	2 (3)	3 (4,5)
Ertapenem	11 (16,5)	1 (1,5)
Fosfomicina	0	3 (4,5)
Gentamicina	3 (4,5)	2 (3)
Imipenem	8 (12)	5 (7,5)
Levofloxacino	5 (7,5)	1 (1,5)
Meropenem	30 (45)	26 (40,5)
Metronidazol	4 (6)	0
Piperacilina-tazobactam	31 (48)	1 (1,5)
Rifaximina	0	0
Tigeciclina	8 (12)	37 (57)
Tobramicina	1 (1,5)	0

factor de riesgo de adquisición de EPC más mencionado en la literatura, entre los que destacan sobre el resto los carbapenémicos [13]. *K. pneumoniae* fue la especie identificada más común (86%), en la misma línea con los datos internacionales [2,4], y también en España, donde OXA-48 es la clase más común en los aislamientos de EPC [14].

De forma similar a los resultados publicados en estudios multicéntricos sobre los antibióticos con mayor sensibilidad de cepas productoras de OXA-48 en España [4,14], nuestros resultados fueron: amikacina (84%-100%), tigeciclina (80%-100%) y colistina (66%-100%). En el caso de los carbapenémicos los porcentajes se encuadraron en el siguiente rango de sensibilidad: meropenem 37%-72%, imipenem 41%-77%. Respecto a la evolución temporal, podemos realizar algunas afirmaciones. Ceftazidima-avibactam es un antibiótico de introducción reciente, sin identificación de resistencia en nuestras cepas, aunque ya se han comunicado mecanismos de resistencia en OXA-48 [15]. Amikacina y tigeciclina notan un descenso, rondando el 80%, y sobre todo colistina (66%). Imipenem y meropenem

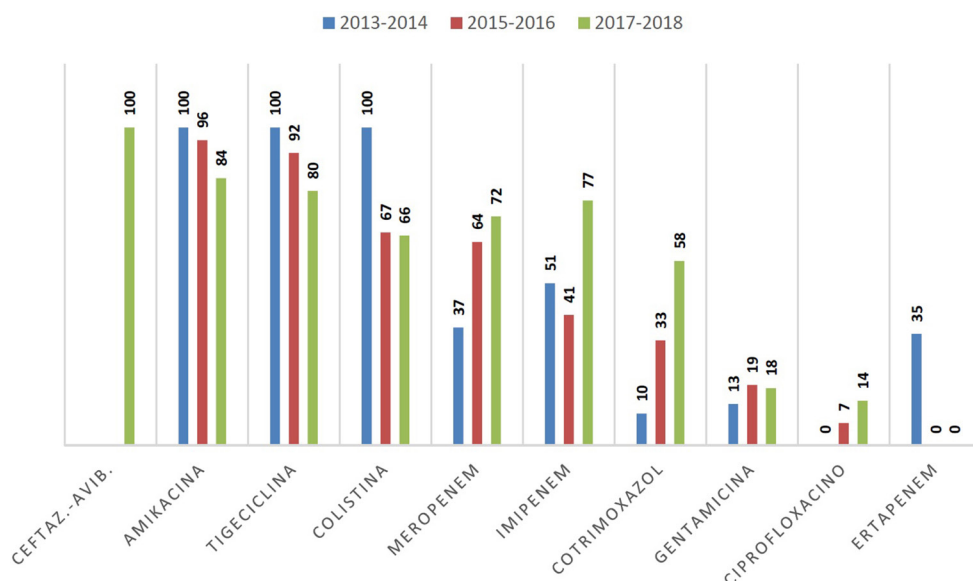


Figura 1 Evolución temporal de las sensibilidades según antibiograma (porcentajes).

Tabla 2 Antibioterapia dirigida a EPC.

Variable	Total = 65 n (%)
Antibioterapia dirigida adecuada	57 (87,7)
Antibioterapia dirigida en monoterapia	15 (23,1)
Tigeciclina	9 (13,8)
Colistina	1 (1,5)
Amikacina/gentamicina	1 (1,5)
Carbapenémico	4 (6,2)
Antibioterapia dirigida combinada	50 (76,9)
Combinación de dos antibióticos	45 (69,2)
Combinación de tres antibióticos	5 (7,7)
Incluye carbapenémico	32 (49,2)
Incluye meropenem	26 (40)

mantienen una sensibilidad estable en el periodo de estudio.

Los antibióticos más utilizados en el tratamiento dirigido a OXA-48 fueron tigeciclina, meropenem y amikacina, además de ceftazidima-avibactam (sobre todo en los últimos años), coincidiendo con los antibióticos habitualmente más sensibles y eficaces [16]. En nuestra serie el tratamiento dirigido se administró mayormente siguiendo una terapia combinada, si bien no se realizaron comparaciones según aparición o no de mortalidad debido al bajo número de pacientes fallecidos (8

sobre 65 pacientes). En relación a ello diferentes trabajos han objetivado diferencias significativas en la mortalidad [3,12], recomendándose su uso en guías clínicas [3,6,17]. Por otro lado, algún estudio ha detallado la posibilidad del tratamiento dirigido con monoterapia en pacientes con bajo riesgo según modelos de mortalidad [5], sin olvidar tampoco la utilidad de los nuevos fármacos en investigación [18]. La IIA incluyó la mayoría de pacientes con infección por OXA-48 en este trabajo, siendo infecciones con potencial gravedad y morbimortalidad, debiendo adaptarse el tratamiento antibiótico con un control adecuado del foco [16,17].

Entre las principales limitaciones de este trabajo cabe mencionar el carácter retrospectivo con las limitaciones que ello conlleva. Sin embargo, la revisión de las historias clínicas fue exhaustiva y rigurosa. Por otra parte, es un estudio unicéntrico y con un número limitado de casos, lo que podría afectar a la detección de pequeñas diferencias estadísticamente significativas. Los pacientes incluidos proceden de un área concreta de una comunidad autónoma, con población quirúrgica y unas características microbiológicas concretas (patrón de sensibilidades de OXA-48). Los resultados obtenidos deben extrapolarse cautelosamente a otras poblaciones, si bien los datos finales son concordantes con la literatura.

En resumen, debemos conocer que las infecciones asociadas a OXA-48 también están presentes en pacientes quirúrgicos, destacando la IIA y una probable selección de resistencias por antibióticos de amplio espectro. Entre los antibióticos más útiles en nuestro medio como tratamiento dirigido cabe mencionar ceftazidima-avibactam, amikacina, tigeciclina, meropenem e imipenem; y a tener en cuenta un descenso en el tiempo de algunas sensibilidades.

FINANCIACIÓN

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

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran la no existencia de conflictos de intereses en el presente estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Harbarth S, Mendelson M, Monnet DL, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect Dis*. 2018;18(3):318-27. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30753-3.
- Brolund A, Lagerqvist N, Byfors S, Struelens MJ, Monnet DL, Albiger B, et al. Worsening epidemiological situation of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe, assessment by national experts from 37 countries, July 2018. *Euro Surveill*. 2019;24(9). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.9.1900123.
- Martin A, Fahrback K, Zhao Q, Lodise T. Association Between Carbapenem Resistance and Mortality Among Adult, Hospitalized Patients With Serious Infections Due to *Enterobacteriaceae*: Results of a Systematic Literature Review and Meta-analysis. *Open Forum Infect Dis*. 2018;5(7):ofy150. doi: 10.1093/ofid/ofy150.
- Grundmann H, Glasner C, Albiger B, Aanensen DM, Tomlinson CT, Andrasevic AT, et al. Occurrence of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the European survey of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (EuSCAPE): a prospective, multinational study. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(2):153-63. doi: 10.1016/S1473-3099(16)30257-2.
- Cano A, Gutierrez-Gutierrez B, Machuca I, Gracia-Ahufinger I, Perez-Nadales E, Causse M, et al. Risks of Infection and Mortality Among Patients Colonized With *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Producing *K. pneumoniae*: Validation of Scores and Proposal for Management. *Clin Infect Dis*. 2018;66(8):1204-10. doi: 10.1093/cid/cix991.
- Sheu CC, Chang YT, Lin SY, Chen YH, Hsueh PR. Infections Caused by Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*: An Update on Therapeutic Options. *Front Microbiol*. 2019;10:80. doi: 10.3389/fmicb.2019.00080.
- Di Carlo P, Gulotta G, Casuccio A, Pantuso G, Raineri M, Farulla CA, et al. KPC - 3 *Klebsiella pneumoniae* ST258 clone infection in postoperative abdominal surgery patients in an intensive care setting: analysis of a case series of 30 patients. *BMC Anesthesiol*. 2013;13(1):13. doi: 10.1186/1471-2253-13-13.
- Mora-Guzmán I, Rubio-Perez I, Domingo-García D, Martín-Pérez E. Intra-Abdominal Infections by Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in a Surgical Unit: Counting Mortality, Stay and Costs. *Surg Infect (Larchmt)*. 2020. doi: 10.1089/sur.2020.137.
- Bartsch SM, McKinnell JA, Mueller LE, Miller LG, Gohil SK, Huang SS, et al. Potential economic burden of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) in the United States. *Clin Microbiol Infect*. 2017;23(1):48.e9-48.e16. doi: 10.1016/j.cmi.2016.09.003.
- Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am J Infect Control*. 1988;16(3):128-40. doi: 10.1016/0196-6553(88)90053-3.
- Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20(3):440-58, table of contents. doi: 10.1128/CMR.00001-07.
- Zarkotou O, Pournaras S, Tselioti P, et al. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* and impact of appropriate antimicrobial treatment. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17:1798-1803. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03514.x.
- van Loon K, Voor In 't Holt AF, Vos MC. A Systematic Review and Meta-analyses of the Clinical Epidemiology of Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;62(1):e01730-17. doi: 10.1128/AAC.01730-17.
- Oteo J, Ortega A, Bartolome R, Bou G, Conejo C, Fernandez-Martinez M, et al. Prospective multicenter study of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* from 83 hospitals in Spain reveals high in vitro susceptibility to colistin and meropenem. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(6):3406-12. doi: 10.1128/AAC.00086-15.
- Fröhlich C, Sørum V, Thomassen AM, Johnsen PJ, Leiros H-KS, Samuelsen Ø. OXA-48-mediated ceftazidime-avibactam resistance is associated with evolutionary trade-offs. *mSphere*. 2019;4(2):e00024-19. doi: 10.1128/mSphere.00024-19.
- Stewart A, Harris P, Henderson A, Paterson D. Treatment of infections by OXA-48-producing *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018;62(11):e01195-18. doi:10.1128/AAC.01195-18.
- Mazuski JE, Tessier JM, May AK, et al. The Surgical Infection Society Revised Guidelines on the Management of Intra-Abdominal Infection. *Surg Infect (Larchmt)*. 2017;18(1):1-76. doi: 10.1089/sur.2016.261.
- Karaiskos I, Lagou S, Pontikis K, et al. The "old" and the "new" antibiotics for MDR gram-negative pathogens: For whom, when, and how. *Front Public Health*. 2019;7:151. doi: 10.3389/fpubh.2019.00151.

Eduardo Gutiérrez-Abejón^{1,2}
Francisco Herrera-Gómez^{1,3}
Ignacio J. Ayestarán-
Martínez¹
Francisco Javier Álvarez^{1,4}

Trend in the use of topical ocular anti-infectives in a region of Spain between 2015 and 2019: a population-based registry study

¹Pharmacological Big Data Laboratory, Faculty of Medicine, University of Valladolid, Valladolid, Spain.

²Technical Direction of Pharmaceutical Care, Gerencia Regional de Salud de Castilla y León, Valladolid, Spain.

³Nephrology, Hospital Virgen de la Concha, Zamora, Spain.

⁴CEIm, Hospital Clínico Universitario de Valladolid, Valladolid, Spain.

Article history

Received: 14 August 2020; Revision Requested: 16 September 2020; Revision Received: 19 September 2020; Accepted: 21 September 2020; Published: 26 October 2020

ABSTRACT

Objectives. This study presents the use and trends of use of topical ocular anti-infectives into a European population in the current decade (2015 to 2019) with an analysis of concomitant use with other ocular drugs, considering distribution by age and gender.

Patients and Methods. A population-based registry study was carried out to assess the ocular anti-infectives use from 2015 to 2019. All dispensations of these medicines at pharmacies in the largest region of Spain, Castile and León, was accessed. The number of packages dispensed, the percentage of the population under treatment, diagnosis, and the concomitant use with other ocular medicines was observed. For all analyses, the population distribution by age and gender was considered.

Results. An average of 198,000 packages of topical ocular anti-infectives were dispensed annually to 5.38% of the population, and more commonly for women than for men (5.83% vs. 4.91%). Children and the elderly used more these medicines. Tobramycin, alone or in combination, accounted for more than 68% of the total consumption (135,000 packages per year), and was the most widely used anti-infective in almost all identified diagnoses. Conjunctivitis (50.12%), and sty (11.51%) were the most frequent diagnoses. The consumption of ocular anti-infectives increased by 8.23% from 2015 to 2019, and more among men than in women.

Conclusions. Our findings show that the most used topical ocular anti-infective was tobramycin, in accordance with the clinical practice guidelines recommendations. However, ocular infections are sometimes treated empirically, especially conjunctivitis.

Key words: drug utilization, topical ocular anti-infectives, ophthalmic infections.

Tendencia en el uso de antiinfecciosos tópicos oculares en una región de España entre 2015 y 2019: un estudio de registro basado en la población

RESUMEN

Objetivos. Evaluar el uso y tendencia de consumo de anti-infecciosos tópicos oftálmicos en una población europea entre 2015 y 2019, analizando el uso concomitante de otros medicamentos oculares y considerando la distribución por sexo y edad.

Pacientes y Métodos. Se ha realizado un estudio de registro basado en la población sobre el uso de antiinfecciosos tópicos oculares entre 2015 y 2019. Se han tenido en cuenta todas las dispensaciones realizadas en farmacias en Castilla y León. Se ha evaluado el número de envases dispensados, el porcentaje de población en tratamiento, el diagnóstico y el uso concomitante con fármacos oftálmicos. Para todos los análisis se tuvo en cuenta la distribución por sexo y edad.

Resultados. Anualmente se dispensaron de media 198.000 envases de antiinfecciosos tópicos oculares al 5,38% de la población, con mayor consumo en mujeres que en hombres (5,83% vs. 4,91%). El uso de estos medicamentos fue mayor en niños y en ancianos. La tobramicina, sola o en combinación supuso más del 68% del consumo (135.000 envases anuales), y fue el antiinfeccioso más utilizado en la mayoría de los diagnósticos. La conjuntivitis (50,12%), y el orzuelo (11,51%) fueron los diagnósticos más frecuentes. El consumo de antiinfecciosos oculares aumentó en un 8,23% de 2015 a 2019, siendo mayor en hombres que en mujeres.

Conclusiones. Los resultados muestran que el antiinfeccioso más utilizado fue la tobramicina, en consonancia con las recomendaciones de las guías de práctica clínica. No obstante, en ocasiones, las infecciones oculares son tratadas de forma empírica, especialmente la conjuntivitis.

Palabras clave: utilización de medicamentos, antiinfecciosos tópicos oculares, infecciones oftálmicas.

Correspondence:
Eduardo Gutiérrez-Abejón,
Pharmacological Big Data Laboratory, Faculty of Medicine,
University of Valladolid, Valladolid, Spain.
Phone: +34 983423077
E-mail: egutierrez@saludcastillayleon.es

INTRODUCTION

Ocular infections are a worldwide health and economic problem [1], which, in the absence of an adequate treatment can cause vision loss and even blindness [2]. The most common ocular infection is still acute conjunctivitis, accounting for about 1% of primary care consultations. Conjunctivitis is very frequent in adults, and in 50 to 75% of cases bacteria are the cause [3], as for other common ocular infections, such as keratitis, blepharitis, endophthalmitis and dacryocystitis [4]. Such infections require treatment using topical ocular anti-infectives, easily administered in eye drops and at high concentrations [1,5]. However, frequent and inappropriate use of these medications can develop antibiotic resistance [2].

According to the data published in our country before 2010, consumption of topical ocular anti-infectives was almost 6 million packages per year and a trend toward increase was perceivable (8% from 2004) [1], but incompletely understood. This study aimed to clarify the use of these medicines and its trends into a European population in the current decade (2015 to 2019), with an analysis of concomitant use with other ocular drugs, and by considering distribution by age and gender.

MATERIAL AND METHODS

An epidemiological population-based registry study was carried out between 2015 and 2019 to evaluate the use of topi-

cal ocular anti-infectives into the population of Castile and León, adhering current guidelines when real-world data is presented, specifically RECORD (Reporting of studies Conducted using Observational Routinely-collected Data) recommendations [6].

According to the Anatomical Therapeutic Chemical classification (ATC) [7], the use of subgroups S01A (i.e., anti-infectives) and S01C (i.e., anti-inflammatory agents and anti-infectives in combination) was studied (Table 1). Information on the use of these medicines was obtained from the Castile and León pharmaceutical care database CONCYLIA [8] that retrieve all dispensations of medicines to the population covered by the Spanish health insurance system (2,376,717 in 2015 and 2,323,770 in 2019).

Dispensation was assumed equivalent to consumption. Distribution by age and gender was considered for all calculations concerning the following variables: 1) packages consumed, 2) frequency of consumption of topical ocular anti-infectives, 3) diagnosis and 4) concomitant use of ocular anti-infectives with other ocular medicines.

Percentages with their corresponding 95% confidence interval and means accompanied with their standard deviation (SD) are presented. T-Student test (t) was used to evaluate differences between continuous variables and Chi-square test (χ^2) for differences between categorical variables, and Cochran-Armitage Test (Z) to evaluate trends of medicines use. The level of statistical significance was set at $p \leq 0.05$. SPSS version 24.0 was used for all analyses.

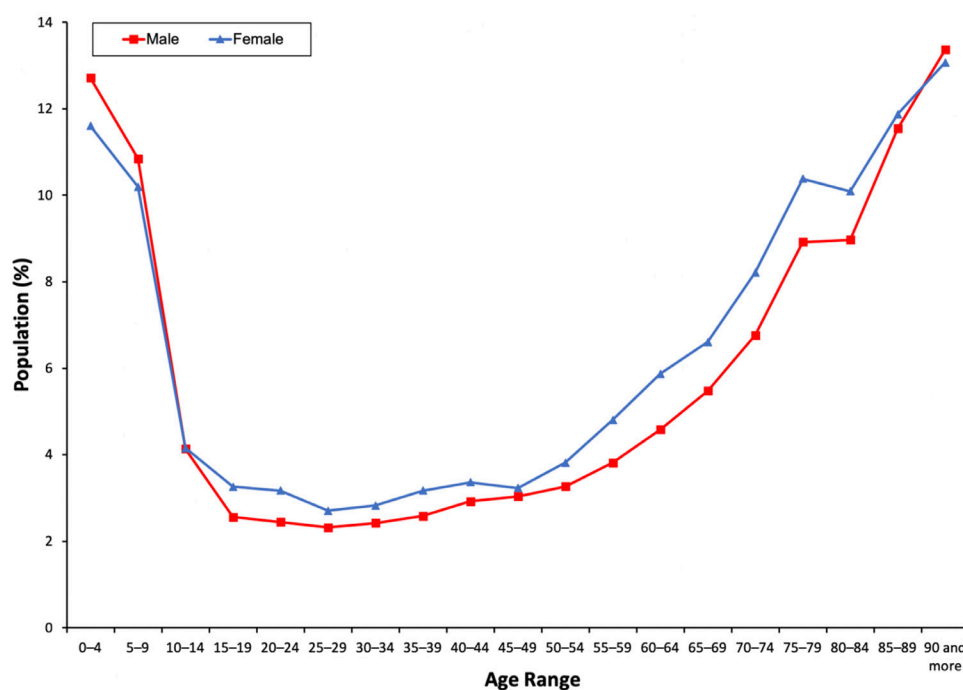


Figure 1 Frequency of topical ocular anti-infectives use by gender and age group.

Table 1 Evolution of topical ocular anti-infectives use in Castile and León (2015 – 2019).

	Population using topical ocular anti-infectives % (95CI)				
	2015	2016	2017	2018	2019
Total	5.17 (5.14-5.2)	5.29 (5.27-5.32)	5.31 (5.28-5.34)	5.52 (5.5-5.55)	5.59 (5.56-5.62)
Male	4.65 (4.61-4.69)	4.79 (4.75-4.83)	4.85 (4.81-4.89)	5.06 (5.02-5.1)	5.19 (5.15-5.23)
Female	5.67 (5.63-5.71)	5.79 (5.74-5.83)	5.75 (5.71-5.79)	5.97 (5.93-6.01)	5.98 (5.94-6.03)
	$\chi^2=1646.76$; $p=0.001$	$\chi^2=1715.241$; $p=0.001$	$\chi^2=1579.54$; $p=0.001$	$\chi^2=1599.867$; $p=0.001$	$\chi^2=1737.104$; $p=0.001$
Packages average per patient					
Total	1.55 \pm 1.39	1.58 \pm 1.53	1.6 \pm 1.56	1.6 \pm 1.64	1.58 \pm 1.53
Male	1.54 \pm 1.44	1.56 \pm 1.61	1.57 \pm 1.6	1.58 \pm 1.7	1.57 \pm 1.59
Female	1.57 \pm 1.34	1.6 \pm 1.46	1.61 \pm 1.52	1.61 \pm 1.59	1.6 \pm 1.48
	$t=-3.644$; $p=0.001$	$t=-4.356$; $p=0.001$	$t=-4.317$; $p=0.001$	$t=-3.605$; $p=0.001$	$t=-2.896$; $p=0.001$
Drug use (% Population/Packages)					
Tobramycin + dexamethasone	2.2/72,868	2.23/75,250	2.19/75,387	2.25/78,466	2.25/77,195
Tobramycin	1.72/52,228	1.81/55,023	1.94/58,771	2.18/66,094	2.25/68,098
Antibiotics combination ^a	0.38/10,697	0.38/10,712	0.32/8,826	0.32/9,107	0.31/8,645
Chlortetracycline	0.31/8,350	0.33/9,015	0.33/9,091	0.35/9,757	0.36/9,916
Gentamicin	0.26/7,250	0.25/6,973	0.24/6,571	0.24/6,779	0.25/6,885
Ciprofloxacin	0.25/8,759	0.26/9,099	0.24/8,411	0.2/6,959	0.18/6,439
Fusidic acid	0.29/7,861	0.25/6,870	0.23/6,229	0.19/5,104	0.17/4,644
Ofloxacin	0.17/6,123	0.17/6,341	0.19/7,124	0.19/6,293	0.19/6,206
Erythromycin	0.14/3,801	0.15/4,181	0.16/4,534	0.19/5,360	0.22/6,131
Moxifloxacin	0.15/5,281	0.18/6,015	0.18/6,266	0.18/6,129	0.17/5,671
Azithromycin	0.1/3,218	0.1/3,451	0.09/3,066	0.09/3,069	0.07/2,721
Tobramycin + Diclofenac	0.09/2,359	0.11/2,883	0.07/1,917	0/6	0/0
Oxytetracycline	0.04/1,127	0.04/1,174	0.05/1,540	0.05/1,583	0.05/1,503
Aciclovir	0.01/132	0.03/871	0.04/1,540	0.04/1,698	0.04/1,578
Chloramphenicol	0.02/709	0.01/388	0.01/297	0.01/274	0.01/296
Norfloxacin	0/10	0/10	0/15	0/42	0/63

^aNeomycin/gramicidin/polymyxin B. Abbreviations: 95CI, confidence interval

RESULTS

From 2015 to 2019, around one million packages of topical ocular anti-infectives was consumed, with an average of more than 198,000 annually. Overall, these findings show that 5.38% of the population was treated with ocular anti-infectives each year and consumed an average of 1.58 \pm 1.53 packages. Women consumed these medicines more frequently than men (5.83% vs. 4.91%, $\chi^2=8185.016$, $p=0.001$; Table 1), and the highest consumption occurred in the 0 to 9 years age group and in groups of 80 years and more (Figure 1).

Tobramycin alone (Code ATC S01AA12) or in combination with dexamethasone (S01CA01) or diclofenac (S01CC01) were consumed by more than 4% of population and represented al-

most 68% of use of total topical ocular anti-infectives, with an average of more than 135,000 packages per year. Neomycin + gramicidin + polymyxin B (S01AA30) and chlortetracycline (S01AA02) were each consumed by 0.34% of the population. Fluroquinolones accounted for 10.11% of total use of topical ocular anti-infectives, with ciprofloxacin (S01AE03) as their main representative, being consumed by 0.23% of the population (Table 1).

In half the cases, the diagnosis was conjunctivitis, with 74% bacterial origin, 24% acute and only 1% were considered viral. Other diagnoses were found such as sty (11.51%), other ophthalmic diseases (5.34%), postsurgical infections (5.1%), blepharitis (4.74%), eye damage (i.e., abrasion, erosion, laceration...) (3.57%), and others with a lower incidence. It is impor-

Table 2 Ophthalmic diagnoses and frequency of topical ocular anti-infectives use according to the diagnosis.

	Ophthalmic diagnoses % (95% CI)									
	Conjunctivitis	No diagnosis	Stye	Other ophthalmic diseases	Postsurgical infection	Blepharitis	Eye damage	Eye ulcer	Dacryocystitis	Viral infection
% of total ophthalmic diagnosis	50.12 (49.68-50.57)	14.48 (14.17-14.79)	11.51 (11.23-11.8)	5.34 (5.14-5.54)	5.1 (4.9-5.3)	4.74 (4.55-4.93)	3.57 (3.4 - 3.74)	3.15 (2.99-3.3)	1.22 (1.12-1.32)	0.77 (0.69-0.85)
Drug use for diagnosis (% Population)										
Tobramycin (alone and in combination)	66.14 (65.55-66.74)	52.79 (51.62-53.96)	35.64 (34.38-36.9)	41.48 (39.59-43.38)	17.2 (15.71-18.69)	37.64 (35.66-39.62)	53.63 (51.27 - 55.98)	53.81 (51.3-56.31)	43.9 (39.89-47.9)	19.25 (15.26-23.25)
Antibiotics combination ^a	7.56 (7.23-7.89)	9 (8.33-9.66)	0.48 (0.3-0.67)	5.02 (4.18-5.86)	19.87 (18.3-21.44)	1.39 (0.91-1.87)	3.71 (2.82 - 4.61)	1.51 (0.9-2.12)	3.05 (1.66-4.44)	0.8 (0.1-1.7)
Chlortetracycline	4.34 (4.08-4.59)	7.03 (6.43-7.63)	28.67 (27.48-29.85)	12.05 (10.8-13.31)	0.53 (0.24-0.81)	20.63 (18.97-22.28)	14.28 (12.63 - 15.93)	16.47 (14.61-18.33)	8.14 (5.93-10.34)	1.34 (0.17-2.5)
Gentamicin	4.98 (4.71-5.25)	5.6 (5.06-6.14)	5.38 (4.79-5.97)	4.4 (3.61-5.19)	11.49 (10.24-12.75)	5.35 (4.43-6.27)	7.02 (5.82 - 8.23)	6.76 (5.5-8.02)	11.36 (8.8-13.92)	0.27 (0.02-0.54)
Ciprofloxacin	5.05 (4.78-5.33)	4.75 (4.25-5.24)	2.01 (1.64-2.38)	6.14 (5.22-7.07)	9.47 (8.32-10.62)	3.66 (2.89-4.42)	4.47 (3.49 - 5.44)	5.58 (4.43-6.73)	10.68 (8.19-13.17)	3.21 (1.42-4.99)
Fusidic acid	2.88 (2.67-3.09)	3.42 (3-3.85)	9.39 (8.63-10.16)	5.06 (4.22-5.9)	0.24 (0.05-0.44)	7.4 (6.33-8.47)	3.19 (2.36 - 4.02)	1.84 (1.16-2.51)	3.73 (2.2-5.26)	1.07 (0.03-2.11)
Ofloxacin	3.76 (3.52-4)	4.46 (3.98-4.95)	0.66 (0.45-0.88)	4.4 (3.61-5.19)	9.71 (8.55-10.88)	1.78 (1.24-2.33)	1.92 (1.27 - 2.56)	2.3 (1.54-3.05)	6.27 (4.31-8.23)	1.34 (0.17-2.5)
Erythromycin	2.19 (2-2.37)	3.49 (3.06-3.92)	12.37 (11.51-13.23)	6.49 (5.54-7.44)	0.77 (0.42-1.11)	16.23 (14.72-17.74)	5.92 (4.81 - 7.03)	4.92 (3.84-6.01)	3.56 (2.06-5.05)	2.41 (0.85-3.96)
Moxifloxacin	1.06 (0.93-1.19)	5.09 (4.57-5.6)	0.11 (0.02-0.19)	8.73 (7.64-9.82)	29.38 (27.58-31.18)	0.7 (0.36-1.04)	1.92 (1.27 - 2.56)	1.97 (1.27-2.67)	4.24 (2.61-5.86)	1.87 (0.5-3.25)
Azithromycin	1.39 (1.24-1.54)	1.6 (1.3-1.89)	0.43 (0.26-0.6)	3.82 (3.09-4.56)	1.09 (0.68-1.5)	2.48 (1.84-3.12)	0.7 (0.3 - 1.09)	0.66 (0.25-1.06)	1.53 (0.54-2.51)	0.53 (0.2-0.76)
Oxytetracycline	0.36 (0.28-0.43)	1.68 (1.38-1.98)	4.55 (4.01-5.1)	1.62 (1.14-2.11)	0.04 (0.01-0.08)	2.39 (1.77-3.02)	2.73 (1.96 - 3.5)	1.97 (1.27-2.67)	1.69 (0.65-2.74)	0.27 (0.02-0.54)
Aciclovir	0.12 (0.07-0.16)	0.78 (0.58-0.99)	0.05 (0.01-0.1)	0.39 (0.15-0.63)	0.08 (0.02-0.12)	0.04 (0.01-0.07)	0.12 (0.01 - 0.23)	1.77 (1.11-2.43)	0.17 (0.01-0.33)	67.65 (62.91-72.39)
Chloramphenicol	0.14 (0.09-0.19)	0.27 (0.15-0.39)	0.18 (0.07-0.29)	0.35 (0.12-0.57)	0.08 (0.02-0.12)	0.22 (0.03-0.41)	0.41 (0.11 - 0.71)	0.46 (0.12-0.8)	1.36 (0.42-2.29)	-
Norfloxacin	0.04 (0.01-0.06)	0.04 (0.01-0.06)	0.07 (0-0.14)	0.08 (0.01-0.15)	0.04 (0.0-0.08)	0.09 (0.02-0.16)	-	-	0.34 (0.05-0.52)	-

^aNeomycin/gramicidin/polymyxin B. Abbreviations: 95CI, confidence interval

tant to note that in 14% of cases there was no specific diagnosis in the patient's medical record (Table 2). No significant differences were found between men and women.

Tobramycin alone or in combination was consumed by 3-fifths of the population for the conjunctivitis treatment and was the most widely used anti-infective in almost all diagnoses. Tetracyclines (chlortetracycline and oxytetracycline) were mainly used in cases of stye (33.22%) and Neomycin + gramicidin + polymyxin B, and fluoroquinolones, especially moxifloxacin, in postsurgical infections. On the other hand, as is to be

expected, acyclovir was the most widely used anti-infective in viral infections (67.65%) (Table 2).

During the covered period the use of ocular anti-infectives was increased by 8.23% ($Z=30.26$, $p<0.0001$, 5.17% in 2015 vs. 5.38% in 2019), with an increase of 11.64% in men ($Z=50.21$, $p<0.0001$, 4.65% in 2015 vs. 4.91% in 2019) and of 5.49% in women ($Z=60.43$, $p<0.0001$, 5.67% in 2015 vs. 5.83% in 2019) (Table 1). Furthermore, users took 1.48 ± 0.95 different ocular medicines, with higher values in men than in woman (1.5 vs. 1.46, $t=6.28$, $p=0.001$), and represented by anti-inflammatory

agents (Subgroup S01B, 11.67%), decongestants and antiallergics (S01G, 7.38%), antiglaucoma preparations and myotics (S01E, 4.85%), and mydriatics and cycloplegics (S01X, 2.68%).

DISCUSSION

Between 2015 and 2019 an increase in the use of topical ocular anti-infectives in Castile and León, the largest region of Spain, was noted. Indeed, more than 5% of the population were under treatment with these medicines, with an increase in use among men, although a higher consumption was noted among women compared to men. As expected, conjunctivitis was the most common diagnosis among the population. In addition, a concomitant use with other ocular medicines was noted, especially anti-inflammatory agents and decongestants, and antiallergics.

Our findings show a higher use of ocular topical anti-infectives in children and the elderly, being consistent with the prevalence data found [3]. In addition, higher use of tobramycin is consistent with available evidence showing this anti-infective as a first-line medication in acute bacterial conjunctivitis [9]. Fluoroquinolones, especially ciprofloxacin, neomycin + gramicidin + polymyxin B, and azithromycin, are also considered first-line treatments. Indeed, the rest anti-infectives analyzed in this study are considered currently as second-line medications due to the appearance of microbial resistance (i.e., erythromycin, fusidic acid, etc.) [10] or due to safety concerns (e.g., chloramphenicol, tetracyclines) [5,11]. In this sense, the use of chlortetracycline in different diseases, especially in stye, is surprising, when tetracyclines are reserved for the treatment of infections secondary to Trachoma [5]. On the other hand, the low use of antivirals may be explained by the fact that more than 90% of viral conjunctivitis are caused by human adenoviruses and antivirals are not recommended for their treatment [12], while less than 4.8 % are caused by Herpes simplex virus, and topical acyclovir is recommended [9].

Importantly, no all ocular anti-infectives are approved for all types of infections. These medicines are indicated for bacterial conjunctivitis, few ones for keratitis, and none for endophthalmitis [2].

The fact that 74% of the conjunctivitis diagnosed were bacterial origin and 14% of anti-infectives were not prescribed for a specific diagnosis, suggests that treatment is often empirical. This may be because a bacterial origin is commonly indistinguishable from viral origin at the first consultation: physicians prescribe preemptively antibiotics in 95% of cases and re-evaluate patients thereafter [3], even if an important proportion of these infections are self-limited without treatment [9].

Finally, with the considerations of an observational study and the limits of the database accessed that did not contain information on consumption of the medicines assessed in hospitals and in other settings (e.g., private practice) accounting for less than 3% of the population, our findings show a significant increase in the use of topical ocular anti-infectives between

2015 and 2019 in our region, that is represented basically by tobramycin in accordance with current recommendations. The profile of trends is different from that observed in the use of systemic antibiotics whose are also more and more used in recent years [13]. Our findings reinforces the idea that mostly ocular infections are treated empirically [3,9], leading to an increased risk microbial resistance, treatment failure, and limit of future therapeutic options [1].

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the Technical Direction of Pharmaceutical Care of Gerencia Regional de Salud de Castilla y León for access to CONCYLIA database.

FUNDING

None to declare.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that they have no conflicts of interest.

REFERENCES

1. García S, Mori P, López A, Alou L, Martínez D, Ramos C, et al. Impact of the consumption of ophthalmic topical antibiotics. *Rev Esp Quimioter*. 2010;23(4):201–205. PMID: 21191559
2. Bertino JS. Impact of antibiotic resistance in the management of ocular infections: the role of current and future antibiotics. *Clin Ophthalmol*. 2009;3:507–521. PMID: PMC2754082
3. Andersson J, Hofslø M, Gade UL, Heegaard S, Pottegård A. Use of topical ocular antibiotics in young children: a Scandinavian drug utilization study. *Acta Ophthalmol*. 2018;96(8):789–794. PMID: 29885649
4. Teweldemedhin M, Gebreyesus H, Atsbaha AH, Asgedom SW, Saravanan M. Bacterial profile of ocular infections: a systematic review. *BMC Ophthalmol*. 2017;17(1):212. PMID: 29178851
5. Gaynor BD, Chidambaram JD, Cevallos V, Miao Y, Miller K, Jha HC, et al. Topical ocular antibiotics induce bacterial resistance at extraocular sites. *Br J Ophthalmol*. 2005;89(9):1097–1099. PMID: PMC1772818
6. Benchimol EI, Smeeth L, Guttman A, Harron K, Moher D, Petersen I, et al, RECORD Working Committee. The REporting of studies Conducted using Observational Routinely-collected health Data (RECORD) statement. *PLoS Med*. 2015;12(10):e1001885. PMID: PMC4595218
7. WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology. ATC/DDD Index [Internet]. [cited 2020 Aug 12]. Available from: https://www.whocc.no/atc_ddd_index/
8. CONCYLIA. Sistema de Información de Farmacia. Gerencia Regional de Salud de Castilla y León. Valladolid, Spain: Junta de Castilla y León. [Internet]. Available from: <http://www.saludcastillayleon.es/>

portalmedicamento/es/indicadoresinformes /concylia

9. Azari AA, Barney NP. Conjunctivitis: a systematic review of diagnosis and treatment. *JAMA*. 2013;310(16):1721–1729. PMID: PMC4049531
10. Duncan K, Jeng BH. Medical management of blepharitis. *Curr Opin Ophthalmol*. 2015;26(4):289–294. PMID: 26058027
11. Bremond-Gignac D, Chiambaretta F, Milazzo S. A European Perspective on Topical Ophthalmic Antibiotics: Current and Evolving Options. *Ophthalmol Eye Dis*. 2011;3:29–43. PMID: PMC3661455
12. Alfonso SA, Fawley JD, Alexa Lu X. Conjunctivitis. *Prim Care*. 2015;42(3):325–345. PMID: 26319341
13. Simó Miñana J. Utilización de medicamentos en España y en Europa. *Aten Primaria*. 2012;44(6):335–347. PMID: PMC7025249

Rafael Rubio Díaz¹
Isabel Nieto Rojas¹
Agustín Julián-Jiménez^{2,3}

Importancia de los resultados de los hemocultivos: especial atención para los solicitados desde los Servicios de Urgencias

¹Servicio de Urgencias – Área de Medicina Interna, Complejo Hospitalario Universitario de Toledo. Toledo, España.

²Servicio de Urgencias-Coordinador de Docencia, Formación, Investigación y Calidad. Complejo Hospitalario Universitario de Toledo, Toledo, España.

³Universidad de Castilla La Mancha, España.

Article history

Received: 16 July 2020; Accepted: 1 September 2020; Published: 10 September 2020

Sr. Editor: Hemos leído con gran interés el reciente artículo publicado en su revista por Ruiz-Azcona et al [1], que pone de manifiesto la importancia de conocer la etiología de las bacteriemias para adecuar y optimizar la elección del tratamiento antibiótico empírico, hecho que hoy en día se considera uno de los puntos clave en los programas de optimización del uso de antimicrobianos (PROA) [2,3]. En esta línea, este conocimiento cobra especial importancia en los servicios de urgencias hospitalarios (SUH), donde la extracción de hemocultivos (HC) para confirmar la existencia de bacteriemia tiene una gran trascendencia para el paciente, su evolución y para el sistema (la propia toma de HC, la administración adecuada y precoz del antimicrobiano, decisión de alta o ingreso, seguimiento de los asilamientos para desescalar, cambiar o mantener la pauta, etc.) [3,4].

Valoramos y reconocemos la relevancia del estudio de Ruiz-Azcona et al [1], que ofrece un mapa muy preciso de la etiología de las bacteriemias en la Comunidad Valenciana (sobre 5 millones de personas) durante 5 años (2013-2017), donde se obtienen más de 92.000 aislamientos. Pero, al hilo de esta afirmación, nos gustaría hacer unas consideraciones y plantear distintas cuestiones, ya que creemos que los resultados del estudio comentado pueden no reflejar la realidad del mapa epidemiológico y etiológico de los aislamientos obtenidos en los HC solicitados desde los SUH [5]. Este hecho se puede comprobar en distintos estudios [6-9], ya que en ellos se atiende un perfil de pacientes y de procesos infecciosos distintos a los hospitalarios (mayoritariamente de origen nosocomial), como es el caso del estudio de Ruiz-Azcona et al [1].

En primer lugar, nos gustaría señalar que ya desde hace años se acuñó y se considera dentro del concepto de "sospe-

cha de infección grave en los SUH", además de aquellos casos que cumplan criterios diagnósticos de sepsis/shock séptico, que afecten a pacientes inmunodeprimidos, ancianos, con comorbilidad significativa, con factores de riesgo para patógenos multirresistentes, entre otros, a aquellos procesos con sospecha de bacteriemia con foco conocido o no [2,3]. De ahí, el creciente interés de muchos autores por intentar encontrar un modelo predictivo de bacteriemia sencillo, rápido y útil para los SUH que además pueda relacionarse con la existencia de sepsis y pronosticar gravedad del proceso [5,9,10].

En segundo lugar, si bien el trabajo de Ruiz-Azcona et al [1], tiene un universo y una potencia extraordinaria, no se especifica la procedencia de los HC y en particular el porcentaje o peso de los procedentes de pacientes hospitalizados y comunitarios (la inmensa mayoría de los de los SUH). ¿Se incluyen todos los procesados en los laboratorios de microbiología?, ¿solo los hospitalarios?, ¿los obtenidos en los SUH, planta de hospitalización, medicina intensiva, posquirúrgicos?, ¿cuáles son los focos de origen o procesos primarios?. Creemos que es muy importante para interpretar correctamente los resultados tener en cuenta estos aspectos. En nuestro centro y en recientes estudios realizados sobre los HC solicitados desde el SUH, se estima que estos podrían representar entre el 30-45% del total de los HC procesados en los Servicios de Microbiología de distintos hospitales [4-9]. Y en ellos, hemos observado resultados diferenciales respecto a los obtenidos en los pacientes ingresados, producto de unos determinantes epidemiológicos de los procesos infecciosos diagnosticados en los SUH, que muestran aspectos etiológicos particulares. Por este motivo, creemos que merecen una especial atención, para que sirvan de herramienta útil a la hora de tomar decisiones urgentes y empíricas, sobre el manejo y elección de la terapia antimicrobiana y en el desarrollo de los PROA. En este sentido, y aprovechando las bases de datos de distintos estudios elaborados sobre HC y bacteriemias de nuestro SUH y el de Ferreras et al [7], hemos elaborado una tabla comparativa de la etiología de estos (tabla 1), para después poder establecer una comparación con los datos de Ruiz-

Correspondencia:
Agustín Julián-Jiménez.
Servicio de Urgencias-Coordinador de Docencia, Formación, Investigación y Calidad.
Complejo Hospitalario Universitario de Toledo, Toledo, España.
Avda. de Barber nº 30. C.P.: 45.004. Toledo
Teléfono: 925269200-ext 48560. FAX: 925269372
E-mail: agustinj@seccam.jccm.es

Tabla 1 Comparativa de algunos resultados de distintos estudios sobre hemocultivos

	Estudio 1 Ruiz-Azcona et al [1]	Estudio 2 Zafar et al [6]	Estudio 3 Ferrerías et al [7]	Estudio 4 Zafar et al [8]	Estudio 5 Julián-Jiménez et al [9]
Periodo de estudio	2013-2017 (5 años)	2016-2017 (2 años)	2017-2018 (2 años)	1-1-2018 a 30-6-2018 (6 meses)	1-7-2018 a 31-3-2019 (9 meses)
Universo poblacional	4.397.476 habitantes de la Comunidad Valenciana	240.336 pacientes atendidos en el SUH	107.747 pacientes atendidos en el SUH	56.089 pacientes atendidos en el SUH	85.178 pacientes atendidos en el SUH
Total HC positivos	92.097	1.604	902	463	580
Rendimiento (% de HC positivos frente a los solicitados) ^a	nd	10,79%	12,2%	12%	12,6%
Focos/diagnósticos clínicos más frecuentes en SUH	nd	Urinario: 47,9% Respiratorio: 19,8% Abdominal: 12,7%	Urinario: 49,2% Respiratorio: 20,4% Abdominal: 20,8%	Urinario: 46,6% Respiratorio: 21,1% Abdominal: 10,8%	Urinario: 47,1% Respiratorio: 22,3% Abdominal: 11,7%
Proporción de aislamientos de ECN sobre total de HC positivos	44,5%	43,45%	40,35%	39,09%	38,44%
Proporción de Enterobacterias ^a	48,92%	63,4%	67,4%	60,3%	59,7%
Proporción de <i>Streptococcus</i> spp. ^a	13,78%	5,4%	3,7%	5,1%	5,3%
Algunos de los aislamientos encontrados más frecuentes por orden	<i>E. coli</i> (29,35%) <i>Streptococcus</i> spp. (13,78%) <i>S. aureus</i> (9,32%) <i>Enterococcus</i> spp. (8,62%) <i>Pseudomonas</i> spp. (5,64%)	<i>E. coli</i> (39,8%) <i>S. pneumoniae</i> (11,9%) <i>Klebsiella</i> spp. (8,2%) <i>S. aureus</i> (6,3%) <i>Enterococcus</i> spp. (5,3%)	<i>E. coli</i> (44,4%) <i>Klebsiella</i> spp. (8,8%) <i>S. pneumoniae</i> (7,9%) <i>S. aureus</i> (6,7%) <i>Enterococcus</i> spp. (4,5%)	<i>E. coli</i> (38,1%) <i>S. pneumoniae</i> (13,6%) <i>Klebsiella</i> spp. (8,2%) <i>S. aureus</i> (7,9%) <i>Streptococcus</i> spp. (5,1%)	<i>E. coli</i> (37,9%) <i>S. pneumoniae</i> (13,8%) <i>Klebsiella</i> spp. (9,9%) <i>S. aureus</i> (6,9%) <i>Enterococcus</i> spp. (5,3%)

SUH: servicio de urgencias hospitalario; HC: hemocultivos; ECN: *Staphylococcus coagulans*-negativo (casi en su totalidad considerados como contaminantes); nd: datos no disponibles

^aConsiderando solo las bacteriemias significativas (o verdaderas) y excluyendo a los considerados contaminantes (ECN)

Azcona et al [1]. Entre otros datos, la media de la rentabilidad de los HC en el SUH es del 12%. Como se puede observar, hay un dato constante y preocupante en todos los estudios, la altísima tasa de HC considerados como contaminados (del 38%-45%) que deben obligarnos a todos a tomar medidas formativas y de control de la técnica para hacerla más efectiva, eficaz y eficiente, de forma que el objetivo prioritario sería aumentar la rentabilidad y disminuir la tasa de HC contaminados [3-5].

Al comparar el estudio de Ruiz-Azcona et al [1]. con los 4 elaborados en los SUH podemos observar como las enterobacterias son el grupo más frecuente en todos, aunque significativamente con mayor peso en todos los procedentes de los SUH. *Streptococcus* spp. (2º grupo más frecuente) tiene un peso mucho menor en los SUH. En cuanto a los 5 microorganismos más frecuentes, salvando el primero que es *Escherichia coli* en todos (pero también más frecuente en los estudios de los SUH), el mapa cambia y para los SUH se repite el mismo patrón a lo largo de las distintas estaciones: 1.- *E. coli*, 2.- *Streptococcus pneumoniae*, 3.- *Klebsiella* spp., 4.- *Staphylococcus aureus*, 5.- *Enterococcus* spp. Lo que se debe a que los focos más frecuentes son el urinario, respiratorio y abdominal. Además, en invierno en todos los estudios de los SUH se observa que de forma significativa ($p<0,001$): aumentan el foco respiratorio y *S. pneumoniae* (de forma que casi igualan al foco urinario y a

E. coli, respectivamente), se solicitan más HC y disminuye la rentabilidad diagnóstica.

Aunque, estos resultados deben confirmarse en estudios actuales y multicéntricos, creemos que son reflejo de la realidad de los SUH y, por lo tanto, deberíamos conocerlos y tenerlos en cuenta a la hora de proponer los PROA para los SUH.

FINANCIACIÓN

Los autores declaran la no existencia de financiación en relación con el presente artículo.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran la no existencia de conflictos de intereses en relación con el presente artículo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ruiz-Azcona L, Santibañez M, Gimeno A, Roig FJ, Vanaclocha H, Ventero MP, et al. Etiology of bloodstream infections at a population level during 2013-2017 in the Autonomous Community of Valencia, Spain. Rev Esp Quimioter. 2020;33:200-206. doi:10.37201/req/024.2020

2. Candel FJ, Borges Sa M, Belda S, Bou G, Del Pozo JL, Estrada O, et al. Current aspects in sepsis approach. Turning things around. *Rev Esp Quimioter.* 2018;31(4):298-315. PMID: 29938972
3. Julián-Jiménez A, Supino M, López Tapia JD, Ulloa González C, Vargas Téllez LE, González del Castillo J, et al. Puntos clave y controversias sobre la sepsis en los servicios de urgencias: propuestas de mejora para Latinoamérica. *Emergencias* 2019;31:123-135. PMID: 30963741
4. Julián-Jiménez A, Rubio-Díaz R. Hemocultivos en el servicio de urgencias: ¿podemos predecir las bacteriemias?. *Emergencias.* 2019;31:375-376. PMID: 31777207
5. Julián-Jiménez A, Candel González FJ, González del Castillo J. Utilidad de los biomarcadores para predecir bacteriemia en los pacientes con infección en urgencias. *Rev Esp Quimioter.* 2017;30:245-56. PMID: 28276227
6. Zafar Iqbal-Mirza S, Serrano Romero de Ávila V, Estévez-González R, Rodríguez-González D, Heredero-Gálvez E, Julián-Jiménez A. Capacidad de la procalcitonina para diferenciar bacteriemia verdadera de los hemocultivos contaminados en el servicio de urgencias. *Enferm Infecc Micro biol Clin.* 2019; 37:560-8. doi: 10.1016/j.eimc.2019.01.012.
7. Ferreras Amez JM, Arribas Entrala B, Aspiroz C, Ezpeleta Galindo A, Boned Juliani B. Estacionalidad de las bacteriemias en urgencias. *Emergencias.* 2019;31:399-403. PMID: 31777211
8. Zafar Iqbal-Mirza S, Estévez-González R, Serrano Romero de Ávila V, De Rafael González E, Heredero-Gálvez E, Julián-Jiménez A. Factores predictivos de bacteriemia en los pacientes atendidos en el servicio de urgencias por infección. *Rev Esp Quimioter.* 2020; 33: 32-43. doi:10.37201/req/075.2019
9. Julián-Jiménez A, Zafar Iqbal-Mirza S, De Rafael González E, Estévez-González R, Serrano-Romero de Ávila V, Heredero-Gálvez E, et al. Modelo predictivo de bacteriemia en los pacientes atendidos en el servicio de urgencias por infección (5MPB-Toledo). *Emergencias.* 2020;32:81-89 PMID: 32125106
10. Contenti J, Occelli C, Lemoel F, Ferrari P, Levraut J. Capacidad diagnóstica de presepsina comparada con otros biomarcadores para predecir sepsis y shock séptico en pacientes con infección, basada en la definición de Sepsis-3 (estudio PREDI). *Emergencias.* 2019. 31:311-317. PMID: 31625302

Inés Olaya García
Rodríguez¹
Ana Madueño Alonso¹
Vanessa Felipe Díaz²
María Lecuona Fernández¹

Absceso pancreático en paciente con pancreatitis alcohólica crónica

¹Servicio de Microbiología y Control de la Infección. Hospital Universitario de Canarias.

²Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario de Canarias.

Article history

Received: 27 July 2020; Revision Requested: 21 August 2020; Revision Received: 8 September 2020; Accepted: 14 September 2020; Published: 28 October 2020

Sr. Editor: *Eikenella corrodens* es un bacilo gram negativo de crecimiento lento anaerobio facultativo. Es una de las bacterias del grupo HACEK (*Haemophilus parainfluenzae*, *Aggregatibacter spp.*, *Cardiobacterium spp.*, *Eikenella corrodens* and *Kingella spp.*) [1,2]. De carácter oportunista, forma parte de la microbiota orofaríngea, vías respiratorias superiores, tracto gastrointestinal y genitourinario [3]. Al tratarse de un microorganismo de difícil crecimiento, el aislamiento e identificación son complejos [4]. Generalmente se aísla como parte de una infección polimicrobiana de evolución lenta en especial de cabeza y cuello, pero también infecciones del tracto respiratorio, heridas por mordedura humana y bacteriemias, siendo inusual que formen parte de abscesos en diferentes localizaciones, e infecciones intraabdominales [3,5].

Presentamos el caso de un paciente varón de 53 años, bebedor de alcohol a dosis tóxicas hasta hace cinco meses, diabético mal controlado y que ha precisado varios ingresos por pancreatitis alcohólica crónica y colecciones pancreáticas que requirieron drenaje. Acude al hospital por empeoramiento de dolor abdominal en flanco izquierdo de varias semanas de evolución con febrícula y náuseas. Se le pauta piperacilina-tazobactam como tratamiento antibiótico empírico.

A su valoración por el Servicio de Digestivo, se le realiza TC de abdomen y pelvis donde se observa una nueva colección en la cola pancreática con realce periférico sugestivo de sobreinfección. Por vía endoscópica se realiza drenaje de la colección, aspirando material de aspecto hemático y purulento, que es enviado a estudio microbiológico.

Las muestras se sembraron en los medios de cultivo convencionales y en la tinción de Gram se observaron abundantes células polimorfonucleares pero sin microorganismos. A las 48

horas en todas las muestras se observa crecimiento de colonias blanquecinas en agar BBA (Brucella Blood Agar, Biomerieux®) para el estudio de anaerobios. Son identificadas por MALDI-TOF (Biomerieux®) como *E. corrodens*. También se observa crecimiento de otro microorganismo anaerobio, que es identificado como *Parvimonas micra*. *E. corrodens* resulta sensible a imipenem, trimetoprim-sulfametoxazol, cefotaxima y amoxicilina-clavulánico, según las normas EUCAST (versión 9.0) y CLSI (2017).

El paciente evoluciona favorablemente manteniéndose afebril, sin dolor abdominal y con mejor tolerancia a dieta. El drenaje de la colección se reduce hasta ser nulo por lo que se indica retirada de catéter. Se le da el alta pautándole amoxicilina-clavulánico durante seis días.

Los abscesos pancreáticos son una complicación inusual aunque de las más graves de la pancreatitis que ocurre entre un 2 y un 5% de las ocasiones [6]. Están causados principalmente por bacilos gramnegativos tipo enterobacterias [7]. Hay pocos casos descritos de abscesos pancreáticos causados por *E. corrodens*. Los pacientes tenían en común como antecedente personal, alcoholismo crónico con historia de pancreatitis crónica. Presentaban una clínica similar consistente en dolor abdominal, fiebre y leucocitosis. En la mitad de los casos la infección era polimicrobiana. El tratamiento consistió en la realización de un drenaje quirúrgico, además de entre dos y seis semanas de tratamiento antibiótico consistente en betalactámicos asociados en ocasiones con metronidazol [7-9].

A nivel microbiológico, la introducción en la rutina diaria de los equipos de espectrofotometría de masas ha sido un gran avance, que ha permitido identificar estos microorganismos de crecimiento fastidioso con mayor facilidad. Se debe tener en cuenta este tipo de patógenos y otros microorganismos anaerobios en el procesamiento de las muestras, sobre todo en pacientes complicados con antecedentes personales de alcoholismo. Para el correcto manejo de estos abscesos es importante tanto el tratamiento farmacológico prolongado con antibióticos, como el drenaje de los mismos [9].

Correspondencia:
Inés Olaya García Rodríguez
Servicio de Microbiología y Control de la Infección. Hospital Universitario de Canarias.
Crtra Ofra s/n. 38320. La Cuesta. La Laguna. España
Teléfono 922679066.
Fax 922679078
E-mail: inesgarro@gmail.com

En definitiva, se ha reducido la dificultad de aislamiento de este microorganismo en muestras clínicas gracias a las nuevas técnicas de identificación, siendo *E. corrodens* un patógeno a tener en cuenta ante posibles nuevos casos en pacientes con antecedentes de alcoholismo.

FINANCIACIÓN

Los autores declaran la no existencia de financiación en relación con el presente artículo.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mühlhauser M. *Eikenella corrodens*. Rev Chil Infectol. 2013; 30(2):163-4. doi: 10.4067/S0716-10182013000200007.
2. Nordholm AC. *Eikenella corrodens* endocarditis and liver abscess in a previously healthy male, a case report. BMC Infect Dis. 2018; 18(1):35. doi: 10.1186/s12879-018-2949-4.
3. Junquera S. et al. Bacteriemia por *Eikenella corrodens* secundaria a infección periodontal en paciente neutropénico. An Sist Sanit Navar. 2012; 35(1): 155-158. doi: 10.4321/S1137-66272012000100017
4. Millán Díaz B. et al. Peritonitis por *Eikenella corrodens* y *Prevotella oralis* en pacientes en diálisis peritoneal. Nefrología. 2018; 38(3):341-342. doi: 10.1016/j.nefro.2017.11.012.
5. Correa L. et al. Absceso tubo-ovárico por *Eikenella corrodens*. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2018; 36(5):319-320. doi: 10.1016/j.eimc.2017.09.009.
6. Vitale G. et al. Natural orifice transluminal endoscopic drainage for pancreatic abscesses. Surg endosc. 2009; 23(1):140-6. doi: 10.1007/s00464-008-0101-z.
7. Lutwick LI. Pancreatic abscess with *Haemophilus influenzae* and *Eikenella corrodens*. JAMA. 1976; 236:2091-2. PMID: 789926
8. Stein A. et al. *Eikenella Corrodens*, a Rare Cause of Pancreatic Abscess: Two Case Reports and Review. Clin Infect Dis. 1993; 17(2):273-5. doi: 10.1093/clinids/17.2.273.
9. Kralovic, S. M et al. Pancreatic abscess due to *Eikenella corrodens* in association with severe ethanolism. Clin Infect Dis. 1995; 20(1), 198-199. doi:10.1093/clinids/20.1.198

María José González-Abad
Mercedes Alonso SanzVigilancia activa de cepas de *Salmonella enterica* no tifoidea con fenotipo no clásico de resistencia a quinolonas (2014-2019)

Sección de Microbiología, Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Madrid, España

Article history

Received: 13 August 2020; Revision Requested: 7 September 2020; Revision Received: 19 September 2020; Accepted: 21 September 2020; Published: 3 November 2020

Sr. Editor: Tras la comunicación en 2005 por Hakanen et al. de un patrón no convencional de resistencia a quinolonas en *Salmonella enterica* no tifoidea (SNT), que siendo sensibles a ácido nalidíxico mostraban sensibilidad disminuida a ciprofloxacino, se ha constatado progresivamente un incremento de este fenotipo [1]. Este patrón requiere la administración de mayores concentraciones de fluoroquinolonas para prevenir la selección *in vivo* de mutaciones adicionales que resulten en resistencia de alto nivel, por lo que su detección es importante [2]. En 2015 publicamos un estudio en el que su incidencia en la serie pediátrica estudiada (2011-2013) era escasamente relevante [3]. Sin embargo, apoyábamos la necesidad de su vigilancia periódica para detectar cualquier cambio de tendencia, aun cuando clínicamente pudiera ser una cuestión poco trascendente al desaconsejarse, de existir otra alternativa, el uso de quinolonas en el paciente pediátrico. Con esta finalidad de búsqueda activa, y partiendo del estudio mencionado, se analizan los datos de sensibilidad *in vitro* a ciprofloxacino de cepas de SNT responsables de gastroenteritis aguda. En el Hospital Infantil Universitario Niño Jesús de Madrid, se estudiaron de forma prospectiva 324 cepas de SNT correspondientes al periodo 2014-2019. Para establecer periodos comparables en número de años al estudio previamente realizado, se definieron dos tramos temporales: 2014-2016 y 2017-2019, estudiándose 192 y 132 cepas, respectivamente. El cultivo y la identificación de los aislados se realizaron mediante medios de cultivo y pruebas habituales. El estudio de sensibilidad a ácido nalidíxico se determinó mediante microdilución (Vitek® 2 Compact, bioMérieux, Inc.; Durham, North Carolina, USA). La sensibilidad a ciprofloxa-

cino se realizó mediante difusión en gradiente (E test MIC Evaluator™, Oxoid Ltd. Basingstoke, Hants, England) aplicando, de acuerdo a publicaciones previas, un valor de CMI de 0.125-1 mg/L como definición de sensibilidad disminuida a ciprofloxacino [4-6]. En cada periodo de estudio se consideró solo el primer episodio de gastroenteritis aguda por SNT de cada paciente. Se detecta una tendencia global en el tiempo al incremento de aislados de SNT que exhiben un fenotipo no clásico de resistencia a quinolonas. Esta deriva se manifiesta en el último periodo estudiado en el que un 17% de las cepas lo exhiben frente a un 3% y 4% de las cepas estudiadas en los periodos 2011-2013 y 2014-2016, respectivamente. Se observa además que en el intervalo 2017-2019, un 37% de las cepas muestran el fenotipo clásico de resistencia a quinolonas frente a un 63% con fenotipo no convencional, de modo que este último parece tender no sólo a incrementarse en el tiempo sino a superar además al fenotipo clásico (tabla 1). Estos resultados evidencian y confirman, tal como apuntábamos en el estudio previo, la importancia de una vigilancia activa para detectar cambios o tendencias en su incidencia. La determinación de la CMI de ciprofloxacino en cepas sensibles a ácido nalidíxico sería eficiente en nuestro medio en el momento actual, si bien es cierto que en pediatría no se recomienda el empleo de ciprofloxacino de existir otras alternativas terapéuticas. Sin embargo, la evolución detectada en este estudio constituye una llamada de atención a conocer su incidencia y a promover su vigilancia sobre todo en pacientes no pediátricos, más si cabe cuando este fenotipo está mediado por plásmidos, con su consiguiente capacidad de diseminación y repercusión clínico/epidemiológica, y cuando se ha detectado la coexistencia de determinantes plasmídicos de resistencia a quinolonas (DPRQ) con β -lactamasas de espectro extendido en el mismo plásmido de modo que la presión selectiva por fluoroquinolonas podría conducir a la aparición y expansión de cepas de *Salmonella* spp. multirresistentes [7,8].

Correspondencia:
María José González-Abad
Sección de Microbiología, Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Madrid, España
Avda. Menéndez Pelayo, 65 - 28009 Madrid
Teléfono 915035900
E-mail: mjglezabad@yahoo.es

Tabla 1		Sensibilidad de <i>Salmonella enterica</i> no tifoidea a ácido nalidíxico y ciprofloxacino			
2011-2013 ^a	CMI NAL ≥ 32 mg/L		CMI NAL ≤ 16 mg/L		
	(38)		(108)		
	CMI CIP	CMI CIP	CMI CIP	CMI CIP	
	$\leq 0,06$ mg/L	0,125-1 mg/L	$\leq 0,06$ mg/L	0,125-1 mg/L	
	(0)	(38)	(104)	(4)	
2014-2016	CMI NAL ≥ 32 mg/L		CMI NAL ≤ 16 mg/L		
	(55)		(137)		
	CMI CIP	CMI CIP	CMI CIP	CMI CIP	
	$\leq 0,06$ mg/L	0,125-1 mg/L	$\leq 0,06$ mg/L	0,125-1 mg/L	
	(0)	(55)	(130)	(7)	
2017-2019	CMI NAL ≥ 32 mg/L		CMI NAL ≤ 16 mg/L		
	(13)		(119)		
	CMI CIP	CMI CIP	CMI CIP	CMI CIP	
	$\leq 0,06$ mg/L	0,125-1 mg/L	$\leq 0,06$ mg/L	0,125-1 mg/L	
	(0)	(13)	(97)	(22)	

NAL ácido nalidíxico. Sensible: CMI ≤ 16 mg/L, resistente: CMI ≥ 32 mg/L

CIP ciprofloxacino. Sensible: CMI $\leq 0,06$ mg/L, sensibilidad disminuida: CMI 0,125-1 mg/L

^aDatos de González-Abad et al [3]

FINANCIACION

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

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFIA

- Hakanen AJ, Lindgren M, Huovinen P, Jalava J, Siitonen A, Kotilainen P. New quinolone resistance phenomenon in *Salmonella enterica*: nalidixic acid-susceptible isolates with reduced fluoroquinolone susceptibility. J Clin Microbiol. 2005;43:5775-8. doi: 10.1128/JCM.43.11.5775-5778.2005
- de Toro M, Rojo-Bezares B, Vinué L, Undabeitia E, Torres C, Sáez Y. In vivo selection of *aac(6')-Ib-cr* and mutations in the *gyrA* gene in a clinical *qnrS1*-positive *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104B strain recovered after fluoroquinolone treatment. J Antimicrob Chemother. 2010;65:1945-9. doi: 10.1093/jac/dkq262
- González-Abad MJ, Alonso Sanz M. *Salmonella enterica* con fenotipo no clásico de resistencia a quinolonas en pacientes pediátricos. Rev Esp Quimioter. 2015;28:36-8. PMID: 25690143
- Aarestrup FM, Wiuff C, Mølbak K, Threlfall EJ. Is it time to change fluoroquinolone breakpoints for *Salmonella* spp.?. Antimicrob Agents Chemother. 2003;47:827-9. doi: 10.1128/aac.47.2.827-829.2003
- Crump JA, Barrett TJ, Nelson JT, Angulo FJ. Reevaluating fluoroquinolone breakpoints for *Salmonella enterica* serotype Typhi and for Non-Typhi salmonellae. Clin Infect Dis. 2003;37:75-81. doi: 10.1086/375602
- Accou-Demartin M, Gaborieau V, Song Y, Roumagnac P, Marchou B, Achtman M, et al. *Salmonella enterica* serotype Typhi with non-classical quinolone resistance phenotype. Emerg Infect Dis. 2011;17:1091-4. doi: 10.3201/eid1706.101242
- Gunell M, Webber MA, Kotilainen P, Lilly AJ, Caddick JM, Jalava J, et al. Mechanisms of resistance in nontyphoidal *Salmonella enterica* strains exhibiting a nonclassical quinolone resistance phenotype. Antimicrob Agents Chemother. 2009;56:3832-6. doi: 10.1128/AAC.00121-09
- González F, Aranque M. Association of transferable quinolone resistance determinant *qnrB19* with extended-spectrum β -lactamases in *Salmonella* GIVE and *Salmonella* Heidelberg in Venezuela. Int J Microbiol. 2013;2013:628185 doi: 10.1155/2013/628185

Francisco Javier Candel¹
Pablo Barreiro²
Jesús San Román³
Juan Carlos Abanades⁴
Raquel Barba⁵
José Barberán⁶
Carlos Bibiano⁷
Jesús Canora⁸
Rafael Cantón⁹
Cristina Calvo¹⁰
Mar Carretero¹¹
Fernando Cava¹²
Rafael Delgado¹³
Julio García-Rodríguez¹⁴
Juan González del Castillo¹⁵
Cristina González de
Villaumbrosia¹⁶
Montserrat Hernández¹⁷
Juan Emilio Losa¹⁸
Francisco Javier Martínez-
Peromingo¹⁹
José María Molero²⁰
Patricia Muñoz²¹
Elena Onecha²²
Mamiko Onoda²³
Juan Rodríguez²⁴
Marta Sánchez-Celaya²⁵
José Antonio Serra²⁶
Antonio Zapatero²⁷

Recommendations for use of antigenic tests in the diagnosis of acute SARS-CoV-2 infection in the second pandemic wave: attitude in different clinical settings

¹Servicio de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Hospital Universitario San Carlos. (SEQ, SEMES)

²Servicio de Medicina Interna. Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario La Paz.

³Departamento de Medicina. Universidad Rey Juan Carlos.

⁴Centro de Salud Universitario Monóvar. (SEMFYC)

⁵Dirección-Gerencia. Hospital Universitario Rey Juan Carlos (SEMI)

⁶Unidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Montepíncipe (SEQ, SEMI)

⁷Servicio de Urgencias. Hospital Infanta Leonor. (SEMES)

⁸Viceconsejería de Salud Pública y COVID19. (SEMI)

⁹Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Universitario Ramón y Cajal-IRYCIS (SMMC)

¹⁰Servicio de Pediatría. Hospital Universitario La Paz (SEIP)

¹¹Laboratorio Regional de Salud Pública

¹²Laboratorio Central BR Salud. Microbiología Clínica.

¹³Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Universitario 12 de octubre (SMMC)

¹⁴Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Universitario La Paz (SMMC)

¹⁵Servicio de Urgencias. Hospital Universitario San Carlos. (SEMES, SEQ)

¹⁶Servicio de Geriátrica. Hospital Universitario Rey Juan Carlos (SEGG)

¹⁷Gerencia Atención Primaria. SERMAS (SEMFYC)

¹⁸Servicio de Medicina Interna. Enfermedades Infecciosas. Fundación Hospital Alcorcón (SEMI)

¹⁹Dirección General de Coordinación Sociosanitaria. Viceconsejería de Salud Pública y COVID19 (SEGG)

²⁰Centro de Salud de San Andrés (SEMFYC)

²¹Servicio de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Hospital Universitario Gregorio Marañón (SMMC)

²²Centro de Salud Monterozas (SEMFYC)

²³Centro de Salud Valde las Fuentes (AEPap)

²⁴Centro de Salud Alpedrete

²⁵Gerencia Atención Primaria. SERMAS (SEMFYC)

²⁶Servicio de Geriátrica. Hospital Universitario Gregorio Marañón. (SEGG).

²⁷Viceconsejería de Salud Pública y COVID19. (SEMI)

Article history

Received: 13 October 2020; Accepted: 14 October 2020; Published: 19 October 2020

SUMMARY

The high transmissibility of SARS-CoV-2 before and shortly after the onset of symptoms suggests that only diagnosing and isolating symptomatic patients may not be sufficient to interrupt the spread of infection; therefore, public health measures such as personal distancing are also necessary. Additionally, it will be important to detect the newly infected individuals who remain asymptomatic, which may account for 50% or more of the cases. Molecular techniques are the "gold

standard" for the diagnosis of SARS-CoV-2 infection. However, the massive use of these techniques has generated some problems. On the one hand, the scarcity of resources (analyzers, fungibles and reagents), and on the other the delay in the notification of results. These two facts translate into a lag in the application of isolation measures among cases and contacts, which favors the spread of the infection. Antigen detection tests are also direct diagnostic methods, with the advantage of obtaining the result in a few minutes and at the very "point-of-care". Furthermore, the simplicity and low cost of these tests allow them to be repeated on successive days in certain clinical settings. The sensitivity of antigen tests is generally lower than that of nucleic acid tests, although their specificity is comparable. Antigenic tests have been shown to be more valid in the days around the onset of symptoms, when the viral load in the nasopharynx is higher. Having a rapid and real-time viral detection assay such as the antigen test has been shown to be more useful to control the spread of the infection than more sensitive tests, but with greater cost and response time, such as in case of molecular tests. The main health institutions such as the WHO, the CDC and the Ministry of Health of the Government of Spain propose the use of antigenic tests

Correspondence:

Francisco Javier Candel MD PhD
Clinical Microbiology and Infectious Diseases.
Hospital Clínico San Carlos. IdISSC and IML Health Institutes.
Associate Professor. School of Medicine. UCM. Madrid.
E-mail: franciscojavier.candel@salud.madrid.org

Scientific Societies

Sociedad Madrileña de Microbiología Clínica (SMMC), Sociedad Española de Medicina Familiar y Comunitaria (SEMFYC), Sociedad Española de Medicina de Urgencias y Emergencias (SEMES), Sociedad Española de Medicina Interna (SEMI), Sociedad Española de Quimioterapia (SEQ), Sociedad Española de Geriátrica y Gerontología (SEGG), Sociedad Española de Infectología Pediátrica (SEIP), Asociación Española de Pediatría de Atención Primaria (AEPap)

in a wide variety of strategies to respond to the pandemic. This document aims to support physicians involved in the care of patients with suspected SC2 infection, in the context of a growing incidence in Spain since September 2020, which already represents the second pandemic wave of COVID-19.

Key words: SARS-COV-2, COVID-19, diagnosis, antigenic test, PCR, primary care, pediatrics, nursing home and long-term facilities, emergency departments, microbiology.

INTRODUCTION

Hand in hand with the increase in transmissibility, the request for diagnostic tests against SC2 has increased, for the study of cases and contacts. The need to measure the kinetics of transmission among contacts has also led to the use of telephone applications, which further increases the diagnostic demand in all health areas. Social and health centers require screening strategies that allow workers and residents to live together safely. Hospitals block or delay their activity because they do not have diagnostic techniques that allow a wide range of medical procedures to be safely performed. Microbiology laboratories have endured great work pressure for months and are rapidly consuming resources that will be needed shortly with the resurgence of the second epidemic wave we are now witnessing. The situation is further complicated by the imminent appearance of other seasonal respiratory viruses (influenza A and B, parainfluenza, syncytial respiratory virus, metapneumovirus, adenovirus, rhinovirus...) that overlap their symptoms with mild forms of SC2. The conclusion is that even with the continuous increase in the capacity and robotization of the microbiology laboratories in the Community of Madrid (CM), it is impossible to meet the diagnostic demand only with molecular techniques based on polymerase chain reaction (PCR) and transcription mediated amplification (TMA), which until now undoubtedly constitute the tests of reference. The action protocols recommended by the Ministry of Health in Spain propose home isolation for all cases and all contacts, with symptomatic treatment for the former [1]. However, the high level of demand, and economic and logistical limitations make it difficult to always comply with the aforementioned recommendations in time and form. Rapid antigenic tests (RAT) have recently been incorporated in an attempt to overcome the practical limitations of PCR or TMA, although a sufficient level of evidence on the former is still lacking. The objective of this document is to measure the current epidemiological and diagnostic problem, describe the advantages and disadvantages of diagnostic techniques to optimize them according to clinical contexts, and establish recommendations for common and practical use that allow us to manage clinical processes safely and efficiently.

METHODOLOGY

During the month of September 2020, the coordinating group (FJC, PB and JSR) selected experts from different scientific societies representing various health fields that support a

greater demand for COVID-19 care (Primary Care, Pediatrics, Hospital Emergencies, Internal Medicine, Geriatrics, Infectious Diseases and Microbiology). Two face-to-face meetings were held two weeks apart. Before the first meeting, a script was sent to the experts to algorithmically discuss the diagnosis and management of the main clinical situations in their area of expertise. In the same way, the epigraphs of the document were distributed among the specialists, assigning a person in charge of writing and handing over to the coordinating group. In the second meeting, all the scenarios were shared with all the experts. A period of another week was subsequently left to clarify doubts of interpretation and to consult new recommendations from WHO, ECDC, CDC or other health institutions, which may have appeared within this period. The document and the recommendation algorithms were completed in the first week of October 2020. The sections developed were: i) situation and clinical-epidemiological concepts of SC2 infection in Spain and the Community of Madrid; ii) capacity and current value of the main microbiological techniques in the diagnosis of the disease; iii) procedure for collecting, transporting and storing the nasopharyngeal smear for the detection of SC2 (PCR, TMA and RAT); and iv) algorithms on the implementation of microbiological techniques in the diagnosis of SC2 infection in different clinical contexts. The completed Document was sent for approval to the Vice-Ministry of Public Health and the COVID-19 Plan of the Community of Madrid.

CURRENT CLINICAL-EPIDEMIOLOGICAL SITUATION AND CONCEPTS OF SC2 INFECTION IN SPAIN AND IN THE COMMUNITY OF MADRID

Since the last day of 2019, when the World became aware of the existence of the first cases of infection by SC2, until September 30th 2020, almost 33 million confirmed cases of this infection have been registered worldwide; these figures have been in Europe of more than 5 million, in Spain of almost 750,000 and in the CM of almost 237,000. The lockdown of the Spanish population established between March and May 2020 has divided the progression of new cases of SC2 infection into two pandemic waves, the first with a total of about 310,000 cases [2] and the second, in which we are now found, of around 460,000 cases throughout the national territory. In the second wave, 4.8% of the cases have been hospitalized, 0.4% have been admitted to the ICU (up to 7.4% of patients admitted to hospitals) and 0.6% have died. The highest proportion of COVID-19 cases now occurs in the 15-59 age group (making-up a 69% of the total), with the 15-29 age group being the most represented, with 23% of the cases. The percentage of hospitalizations and deaths by COVID-19 increases with age, now reaching 23.7% and 7.9% in those older than 79 years, respectively [3] (Table 1).

At this time, 50% of cases are diagnosed through the study of contacts, namely in asymptomatic people. An increase in the proportion of asymptomatic people between the first and second waves has been observed, which may be 40% before and 80% now, according to some studies in the USA [4].

Table 1 Comparison of demographics in first and second SC2 pandemic waves in Spain (data in the Community of Madrid) [2, 3].		
	First wave (RENAVE 11-5-20) [2]	Second wave (RENAVE 23-9-20) [3]
Cases below 30 years-old	6.5%	34%
Cases above 60 years-old	51%	18%
Asymptomatic cases	50%	50% (43%)
Contact with known COVID case	53%	60% (93%)
Hospitalized	44%	4.8% (3.7%)
In ICU	5%	7.4% (3.9%)
Deaths	7.9%	0.6% (0.5%)

SC2: SARS-CoV-2

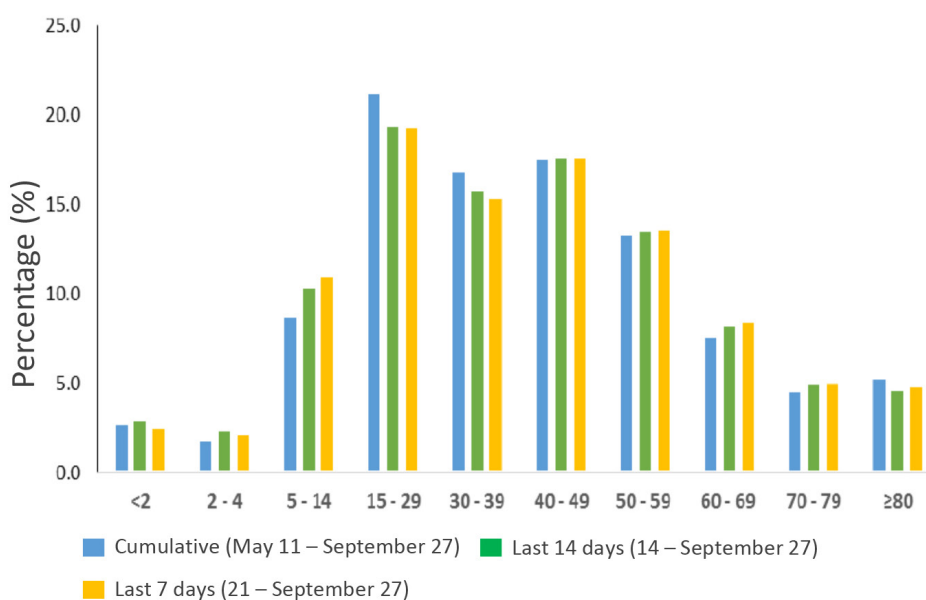


Figure 1 **Confirmed cases by age group along the second wave in the Community of Madrid (<https://www.comunidad.madrid/servicios/salud/2019-nuevo-coronavirus#situacion-epidemiologica-actual>)**

Up to 40.7% of those diagnosed did not report known contact with a diagnosed case of COVID-19. The most frequent field of exposure is at home among cohabitants (33.8%). As high as 97.2% of recent diagnoses were made with molecular techniques, PCR in most cases.

In the CM, the second epidemic wave has peaked to more than 165,000 cases, of which slightly more than 40% have been symptomatic. The distribution of cases by sex is homogeneous, and a third of infections occur in young people (between 15 and 59 years old) (Figure 1). As seen in the first wave, at this time advanced age continues to be a major risk factor

for suffering more serious disease (Figure 2). The cumulative incidence rate in the region is 760 cases per 100,000 inhabitants in the previous 14 days, with important differences according to neighborhoods, health areas, and municipalities (Figure 3). In the first weeks of October a decrease in incidence rates has been observed in many areas of the CM. At the present time, about 12,000 patients with COVID are evaluated in the CM, of which 75% are treated in Primary Care and 25% in Hospitals in the region. The number of hospital admissions in the CM has been growing since the first week of August, although in the first weeks of October it seems to have stabi-

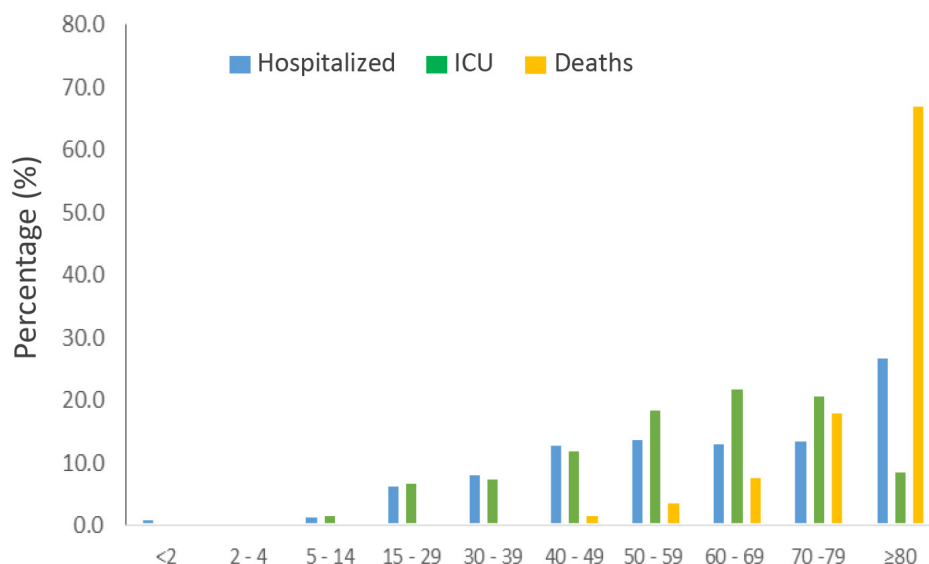
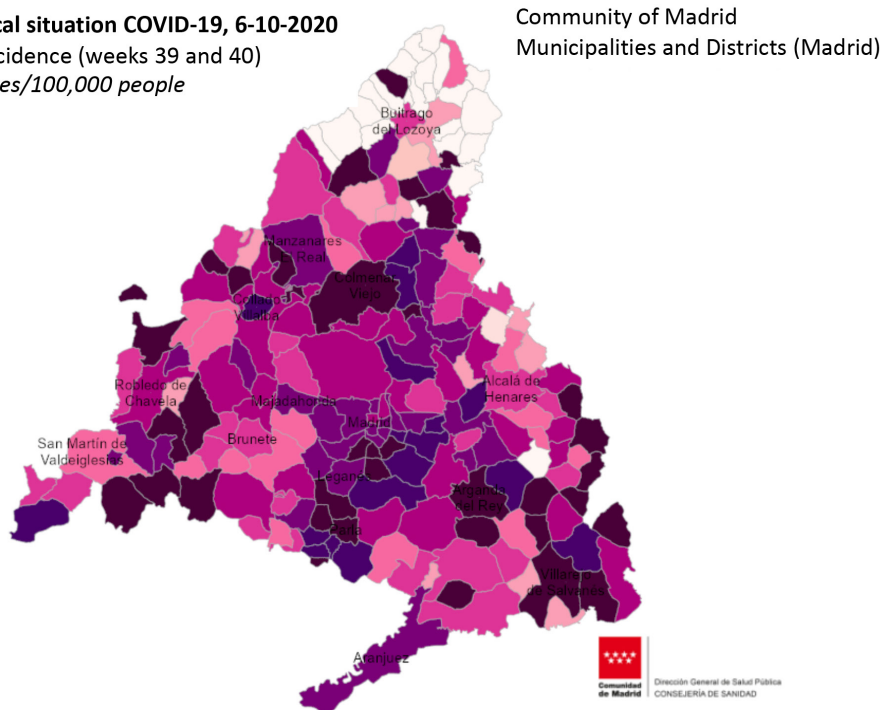
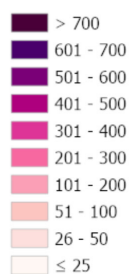


Figure 2 Distribution of severe cases and deaths by age group in the Community of Madrid (<https://www.comunidad.madrid/servicios/salud/2019-nuevo-coronavirus#situacion-epidemiologica-actual>).

Epidemiological situation COVID-19, 6-10-2020

Cumulative incidence (weeks 39 and 40)

Confirmed cases/100,000 people



Fuente: Red de Vigilancia Epidemiológica de la Comunidad de Madrid, Dirección General de Salud Pública, Consejería de Sanidad, Comunidad de Madrid

Figure 3 Cumulative incidence of confirmed cases in the previous 14 days in the Community of Madrid, as of October 6, 2020 (<https://www.comunidad.madrid/servicios/salud/2019-nuevo-coronavirus#situacion-epidemiologica-actual>).

lized at around 3,000 people, with a clear downward trend. The proportion of those admitted to ICU is 4% [5].

In the pediatric setting and during the first wave of the pandemic, SC2 infections have accounted for no more than 1-2% of the cases diagnosed worldwide. In China, considering "cases" not only those diagnosed by PCR but also clinically probable, the figures reached 2% [6,7], while in the US according to the CDC, here only including confirmed diagnoses, they accounted for 1.7% [8]. These figures have been similar in Spain, with a proportion of pediatric cases of less than 1%, which has led to the accounting of around 1,300 children with confirmed PCR infection until May 2020, according to data from the Ministry of Health; 26% of these children required hospitalization and 14% of them were admitted to pediatric intensive care units (PICU) [9-10]. Mortality from COVID-19 has been very low (0.2% of children diagnosed). However, with the increase in diagnostic tests and contact screening in recent months, this situation has changed significantly; currently, children account for around 10% of the positive cases detected by PCR, so that between May 10 and the end of August 2020, more than 20,000 positive children have been identified in Spain. However, hospitalization rates have been much lower than in the first period, around 5%, and with admission to the PICU in less than 1% [3]. All of this shows that a very important percentage of detected cases corresponds to children either asymptomatic or with mild symptoms, mainly because of contact studies.

We are facing two challenges with uncertainty, the beginning of the school year and the beginning of autumn-winter, with the usual circulation of respiratory viruses in children. Pediatric services will be in a situation of stress, at a time of the year when the occupation of hospital beds and PICU it is usually complete.

The dynamics of SC2 transmission depends primarily on the concentration of virus in respiratory secretions. It is known that an infected person begins to shed significant amounts of virus from 3 days before of becoming symptomatic, with the maximum peak of viral load found throughout the 24 hours prior to clinical manifestations [11]. In asymptomatic people, it is estimated that the contagion period would be about 8 to 15 days after infection [12,13].

SC2 infection occurs in the majority of cases without symptoms, or as a mild picture affecting the general state and with respiratory or digestive manifestations, with an average incubation period of approximately 5 days (IC95%: 4.5-6 days), with a range of 1 to 14 days. Ninety-seven point five percent of those who develop symptoms will do so within 11.5 days on average (95% CI: 8-16 days) [14]. Only in a low percentage of infected people, particularly in the elderly or patients with other comorbidities, does COVID-19 have a serious course that may require hospital admission (in approximately 2-5% of cases) and cause the death of the patient (in approximately 0.5-1% of cases) [15-17].

Recommendations on periods of isolation in contacts and cases are based on the knowledge of the natural history of COVID-19 [1,18]:

- **Study of contacts:** risk of infection by SC2 should be considered whenever an undiagnosed person has had contact with another person diagnosed or under study of infection by SC2, if any of the following circumstances are met: i) having been face to face within 1 meter with a case, particularly if it was exposed to coughing or sneezing; ii) a conversation was held or there was physical contact; iii) having shared a small, closed area (room, vehicle, elevator, etc.) with a confirmed case; iii) remain in the same place as a case, at a distance of less than 2 meters and for more than 15 minutes, without protective measures such as a mask and hand washing by both. Symptomatic or asymptomatic persons can be excluded from the diagnostic process of contacts if, for no longer than three months, there is history of a serological test that indicates positive SC2-IgG or of positive SC2-PCR.

The main preventive action on contacts consists of quarantine for 10 days after the last contact with the case. If the contact occurred in the workplace with guarantees that the preventive measures (use of a mask and hand hygiene) were complied with, it is possible to de-isolate the contact if there is negative PCR during the aforementioned quarantine. If a contact develops symptoms during the quarantine period, they will be handled as a case, as indicated below. The period to consider for the study of contacts will be from 2 days before the onset of symptoms of the case until the moment in which the case is isolated. In asymptomatic cases confirmed by PCR, contacts will be sought from 2 days before the date of diagnosis. No special measures are necessary between partners or contacts of quarantined contacts, unless the contact develops symptoms and presents a positive diagnostic test for infection. If this circumstance occurs, the contact becomes a case and the partners or contacts will have to quarantine for 10 days as indicated above. For epidemiological purposes, it is recommended to carry out molecular tests on the contacts under study. As a general rule, it is not necessary to carry out a diagnostic test to confirm its negativity after successful quarantine.

- **Case study:** a suspected case of SC2 infection should be considered in any person with a clinical picture of respiratory infection (fever, cough, muscle aches, general malaise). Other suspected symptoms are a sore throat (odynophagia), loss of smell (anosmia), or loss of taste (ageusia). Contacts of cases who develop symptoms are also considered suspected cases.

The main preventive action on suspected or probable cases is isolation at home for ten days, and at least 3 days after the disappearance of symptoms. A viral detection diagnostic test should be proposed to confirm the infection whenever possible, to broaden the circle of isolation measures, and particularly in health or social health personnel, or in people who live with a vulnerable population. It is necessary to obtain a negative result in a molecular technique before health personnel, social health workers or people in contact with a vulnerable population come into contact with a population at risk.

Taking into account the knowledge generated about the COVID-19 pandemic, the diagnosis of the disease fulfills two functions, one aimed at the general population and the other

at the patient. the first, with an epidemiological focus, to detect those infected and indicate the isolation measures that contain the expansion of the epidemic, and the second, of a more clinical nature, to identify the most serious cases and be able to make medical decisions (admission, treatment, prognosis) in addition to isolation. This distinction can also lead to consider that on the one hand there is the detection of infected people and, as a subgroup of these, the identification of those infected who are themselves infectious.

CAPACITY AND CURRENT VALUE OF THE MAIN MICROBIOLOGICAL TECHNIQUES IN THE DIAGNOSIS OF ACUTE DISEASE DUE TO SC2

Molecular techniques. To date, the gold standard tests for the virological diagnosis of SC2 infection are based on the detection of nucleic acids in nasopharyngeal secretions. The most widely used technique is PCR and TMA, that has subsequently been incorporated. The sensitivity and specificity of these techniques is very high, both around 99%, which makes them very useful for diagnosing infection [19].

However, the positivity of molecular techniques can extend for weeks, well beyond the infective period that is currently established at 10 days from the first positive molecular test in asymptomatic patients, or additionally three days without symptoms in patients with clinical manifestations. It can therefore be said that molecular techniques are "excessively sensitive" to establish infectivity, since they are capable of detecting very low viral loads, between 20 and 100 copies of RNA per mL according to the techniques [20], while sample infectivity is found in concentrations greater than 100 RNA copies/mL [21-23].

Taking into account that the risk of contagion is directly related to the viral concentration in the secretions, it has been proposed that the number of PCR cycles (Ct) necessary for the test to be positive would be inversely related to the infectivity of the sample [24]. In patients with a higher viral load, PCR positivity would be achieved with a lower number of cycles (around 20 cycles) than in patients with a lower viral load, who would give a positive result at higher cycles (greater than 30 cycles). Since the TMA technique is isothermal, it does not allow the estimation of viral concentration to be applied through the cycles.

This approximation by the Ct index to establish the degree of infectivity of the patient is subject to numerous factors of variability that make homogeneity of diagnostic criteria difficult: i) the quality of the sample obtained, ii) the presence of inhibitors, iii) the delay in processing, iv) the difference in the number of cycles that each commercialized system works with, and iv) differences in the cycle in which the various amplification targets, often two or three, are reached.

The delay in issuing results delays decisions about isolating infected people. This problem is exacerbated when the volume of tests requested increases and the laboratories are not able to absorb the demand within the usual deadlines. If this overload is associated with the growing problem in the supply

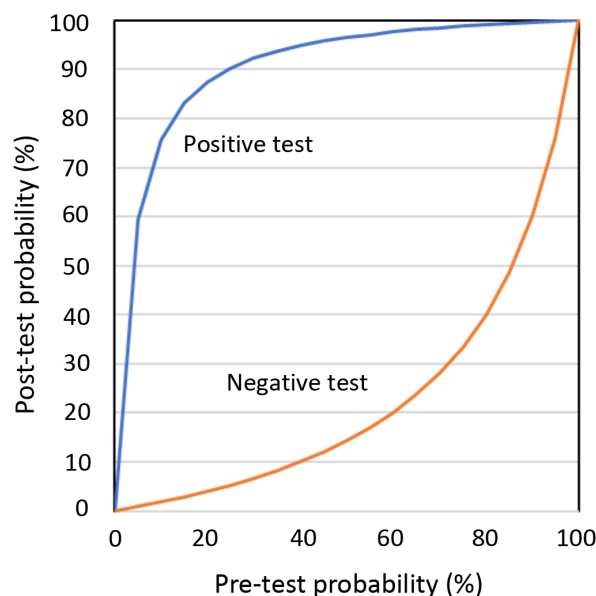


Figure 4 Pre-test and post-test probability of infection according to results of test with 83.8% sensitivity and 97% specificity

of equipment, reagents or consumables, it is very possible that in a short time the indications of PCR and TMA will have to be restricted to most complex medical procedures (diagnostic techniques, hospitalization, admission to ICU, surgery) and may not be suitable in settings with less clinical severity, which are nevertheless those with the highest viral transmissibility.

Difficulties in carrying out molecular tests in the study of contacts and diagnosis of cases without or with few symptoms make it necessary to apply temporary criteria for isolation (10 days from contact, or at least 10 days from the onset of the clinical picture, always ensuring no symptoms for the last 3 days), which in many circumstances can cause personal and financial costs. These added burdens could be reduced if isolation periods are shortened after ruling out infection by viral screening tests.

Antigenic techniques. The limitations derived from the use of molecular techniques for the epidemiological and clinical purposes of the diagnosis of SC2 infection have recently led to the exploration of other alternatives. Antigen detection tests (ADT) are rapid diagnostic methods, based on lateral immunochromatography, already in use for other respiratory viruses (e.g. influenza virus, syncytial virus). Diagnostic capacity of ADT in these other viral processes is limited due to the low viral load in its acute phase. However, in the case of SC2, the viral load is high in the nasopharynx of infected patients within the first week of disease progression, which makes it possible to detect the virus with high sensitivity in this period. Throughout August 2020 the FDA has authorized the use of four trademarks based on various scientific evidences that are summarized below.

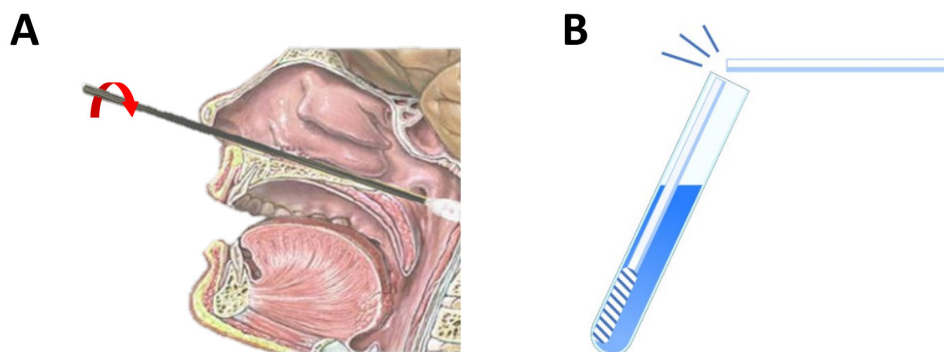


Figure 5 Nasopharyngeal smear technique to perform the antigenic test against SARS-COV-2. A: The swab must reach the posterior wall of the nasopharynx or cavum. Once there, it should be turned on its own axis to collect as many epithelial cells as possible. B: The swab must be stirred well in order to get a good emulsion in the medium and break at the notch.

The sensitivity of the first antigenic tests was significantly lower than that detected by the nucleic acids (56.2% (IC95%: 29.5-79.8%)) with a comparable specificity (99.5% (IC95%: 98.1%-99.9%)) [25]. However, the new generation of antigenic tests present, during the first week of infection, comparable values of sensitivity and specificity [26-28]. It has been shown that for viral loads below 2 log copies/mL the correlation between antigen and molecular techniques is 100%, while it drops to 60% with viral loads of 1-2 log copies/mL, and to 33% with viral loads <1 log copies/mL. As a consequence, other factors related to viral load can be used as surrogate markers of the validity of antigen tests: i) duration of infection: during the first week of symptoms the sensitivity of the ADT is on average 93.9% (95% CI: 86.5-97.4%) [28]; ii) Ct index: the sensitivity of ADT is 98% (95% CI: 90-100%) for Ct \leq 25, and 57% (95% CI: 48-65%) for Ct \geq 30 [26,27]. According to these data it can be affirmed that ADT have special clinical utility in suspected cases during the first 5-7 days of symptoms.

Having a test with high sensitivity and specificity are necessary, but not sufficient, conditions for an accurate individual diagnosis in environments such as COVID-19 with changing prevalence depending on the place and time. In settings in which the probability of SC2 infection is high, such as in community-transmission settings, high prevalence of COVID-19, or patients with compatible clinical symptoms or previously exposed to SC2, a positive result on the ADT probably indicates acute infection. However, in this same scenario, a negative result cannot be interpreted with equal certainty, so a second test would be necessary, either another ADT a few days later or a molecular test. On the contrary, in settings with a low prevalence or when there is little suspicion of SC2 infection, ADT are associated with a high negative predictive value, therefore they reliably rule out infection (Figure 4).

Apparently, ADT would not be suitable in the study of contacts or asymptomatic cases, since in general in this clinical con-

text the levels of viral load are low. However, the simplicity and low cost of this test allow them to be repeated frequently, even daily. Having a viral detection analysis in real time and being able to confirm the negative result in the following days (antigen test), has proven more useful to control the spread of infection in closed populations than to perform a more sensitive test, but with longer delay time and cost (molecular test) [28].

PROCEDURE FOR COLLECTING, TRANSPORTING AND STORING THE NASOPHARYNGEAL SMEAR FOR THE DETECTION OF SC2 (MOLECULAR TECHNIQUE AND ANTIGENIC DETECTION)

A series of preconditions are necessary for performing the nasopharyngeal and oropharyngeal smear in the diagnosis of SC2 infection, by molecular technique or antigen detection: i) personal protective equipment, ii) ventilated and isolated space, iii) semi-flexible swabs with preservative medium for viruses, without inactivators (for molecular study), or without preservative medium (for antigen detection).

The procedure for collecting, transporting and storing clinical samples for SC2 is set out in numerous official documents [29-32]. Although the sample collection technique for PCR is simple, some experience is required to ensure that the exudate obtained is representative and is not artifacted by the presence of blood or other substances. The patient must enter the extraction point with an individual mask. The sample will be taken with the patient sitting and with his head tilted back, blowing his nose first to avoid traces of mucus in the sample. In the case of a nasopharyngeal smear, the swab will be introduced through a nostril, parallel to the floor of the nasal cavity. If any obstacles are encountered, the swab should be rotated slowly to proceed. Finally, the swab should reach the posterior wall of the nasopharynx or cavum. Once in this location, the swab should be rotated on its own axis to collect

Table 2	Probability of COVID-19 according to presenting symptoms [Modified from reference 33]
Symptoms with high predictive value	Symptoms with low predictive value
Type A (acute in the lower respiratory tract): Dry or productive cough, dyspnea with no other cause	Type C: Throat ache, intestinal symptoms (nausea, vomits, diarrhea), nasal symptoms (congestion, runny nose, sneezing), ocular symptoms (red eyes, dry eyes, foreign body sensation).
Type B: Fever (Temp $\geq 38^{\circ}\text{C}$) o high temperature (Temp $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$) with/without chills, myalgia/arthromyalgia, asthenia, headache, hyposmia-anosmia, hypogeusia-dysgeusia	
High probability of SC2 infection	Low probability of SC2 infection
Any type A symptom, with/without type B or C symptoms ≥ 2 type B symptoms, with/without type C symptoms ≥ 3 type C symptoms	Type C symptoms, without type A or B symptoms

SC2: SARS-CoV-2

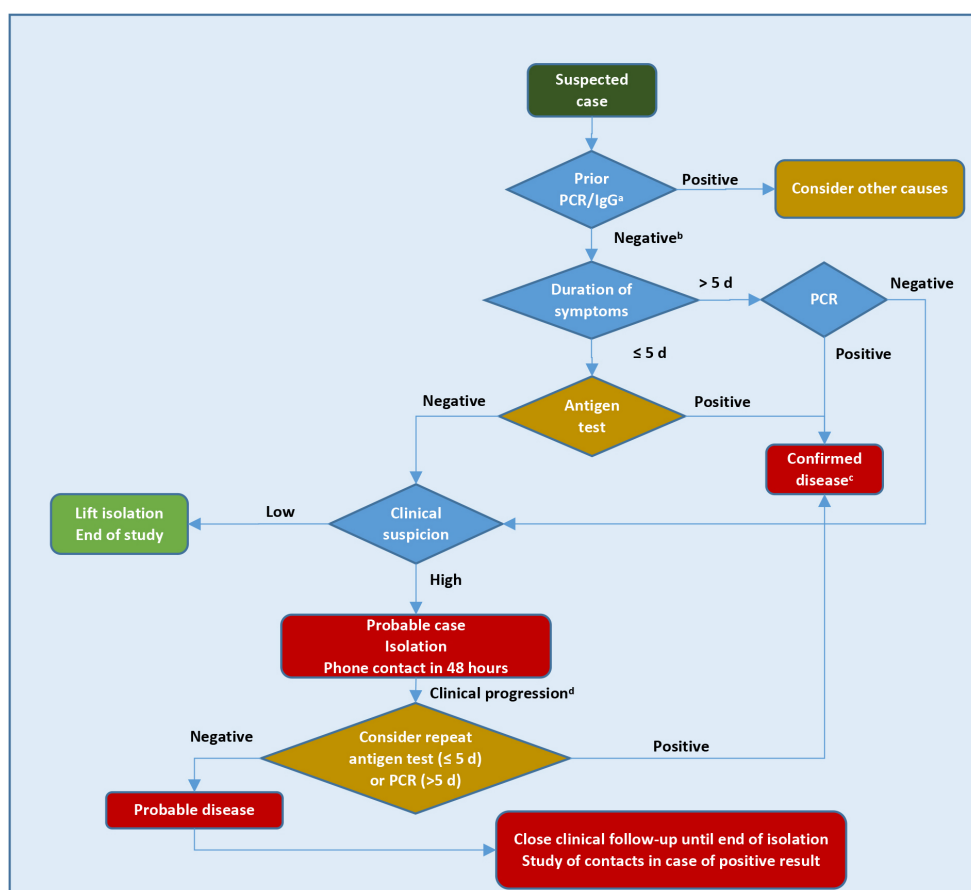
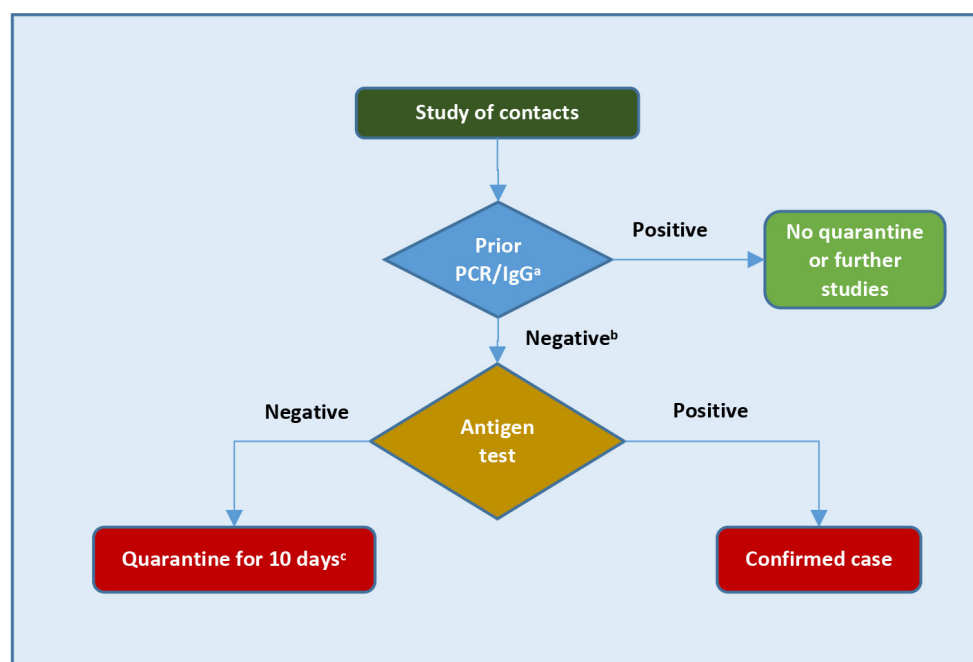


Figure 6 | Work-up algorithm for the study of suspected cases of acute SC2 infection in Primary Care.

^aDone in the previous 3 months, except in special cases; ^bOr not done; ^cPositive antigen test does not require confirmation with PCR; ^dNew symptoms or worsening of previous ones, without severity criteria (severe dyspnea, tachypnea ≥ 30 rpm, Sat O₂ $\leq 93\%$, and/or pulmonary infiltrates $\geq 50\%$) [34]

Table 3 Factors related with poorer COVID-19 outcome [Modified from references 35–40]

Comorbidities	Other factors
Severe cardiovascular disease (heart failure, ischemic heart, myocardiopathies)	Greater than 70 years old
HBP	Greater than ≥ 60 years old with ≥ 1 comorbidities
Diabetes Mellitus	Any age with ≥ 2 comorbidities
COPD	Institutionalized people
Autoimmune disease	
Immunodepression (HIV infection, solid organ or bone marrow transplant, corticoids or other immune suppressive drugs)	
Sickle cell disease	
Obesity (BMI>30)	
Solid organ or blood cancer	
Chronic liver or kidney disease	
Alzheimer's disease	
Depression	

**Figure 7** Work-up algorithm for the study of close contacts of SC2 infection in Primary Care.^aDone in the previous 3 months, except in special cases; ^bOr not done; ^cConsider PCR in health or social care personnel

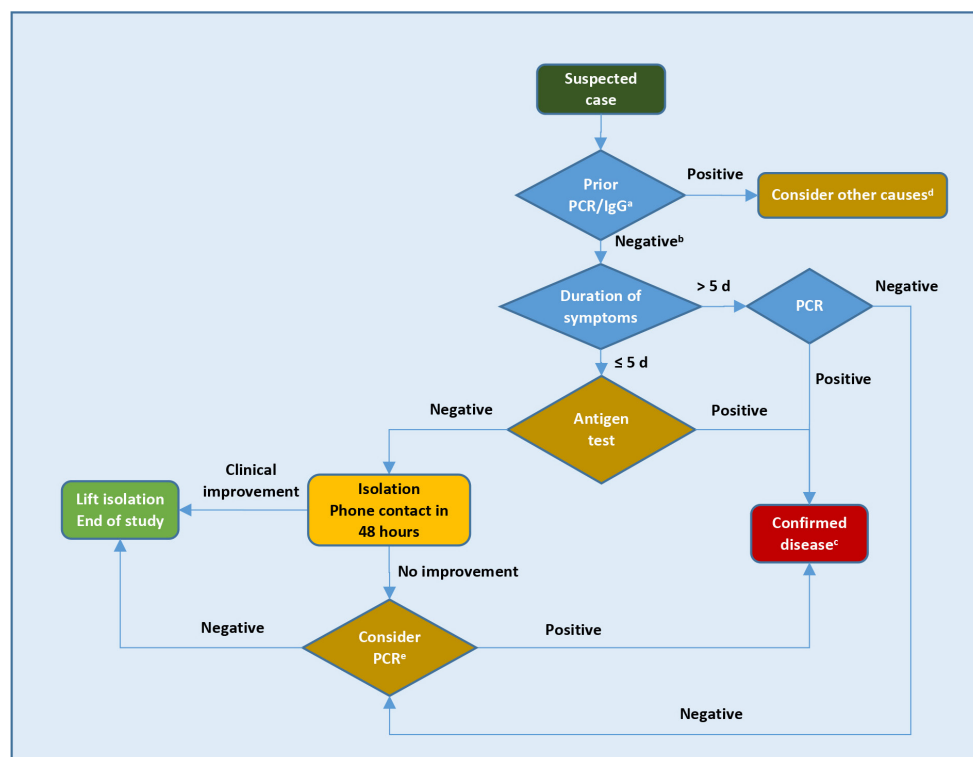


Figure 8 Work-up algorithm for the study of suspected cases of acute SC2 infection in Primary Pediatric Care.

^aDone in the previous 3 months, except in special cases; ^bOr not done; ^cWith positive antigenic test no PCR confirmation is required. The presence of fever, cough, odynophagia, respiratory distress, ageusia, anosmia, gastrointestinal symptoms are considered suggestive symptoms of COVID-19. Isolated rhinorrhea would not be considered clinically suggestive (also take into account the family epidemic environment and context); ^dIf the patient already had an infection confirmed by PCR or presents positive SC2-IgG in the previous 3 months, it is not recommended to perform the antigenic test or PCR, except in special cases (immunosuppressed or at-risk cohabitants or need for admission); ^eConsider PCR if there is no improvement, persisting clinical or epidemiological suspicion.

as many epithelial cells as possible (Figure 5A). Later, the swab will be removed and inserted through the other nostril with the same technique. For the oropharyngeal smear, the sample will be taken by introducing the swab through the mouth until it reaches the posterior wall of the pharynx, where it will be rotated several times to collect a sample of epithelial cells.

The sample swab will be inserted into the vial containing the virus preservative medium. The swab must be stirred well into the medium to achieve a good emulsion, and then broken at the notch (Figure 5B). Subsequently, the vial is closed with a screw cap to prevent leakage. The samples must be placed in triple biological safety containers or similar, and kept at 4°C until collected. The samples must be correctly identified with the patient data. In the same way, they must be sent with the corresponding petitioner leaflet containing the complete demographic data of the patient, as well as the origin of the petitioner.

The nasopharyngeal smear procedure for antigenic study is very similar to that described above. The precautions and bi-

osafety requirements are the same and the collection of the sample will be carried out in a similar way, but using the swabs that incorporate the commercial tests. The swab should be processed immediately, by placing it in a tube with extraction buffer. If sample processing cannot be done immediately after collection, the swab can be stored in the collection tube at room temperature for up to 2 hours.

It is necessary to establish a computerized system in the laboratory of microbiology for recording the sampling and results also for antigenic tests, regardless of the place where they were carried out, outpatient setting, emergency room or hospitalization. The versatility of ADT lends itself to the fact that the results may not be adequately recorded, which generates errors in patient management and additional costs.

If there is needed to store or transport the samples to another institution, since blows or spills may occur, they must be treated as potentially infectious (category B), therefore they must be transported in triple packaging (UN3373 standard). It is not essential that the transport of clinical samples with

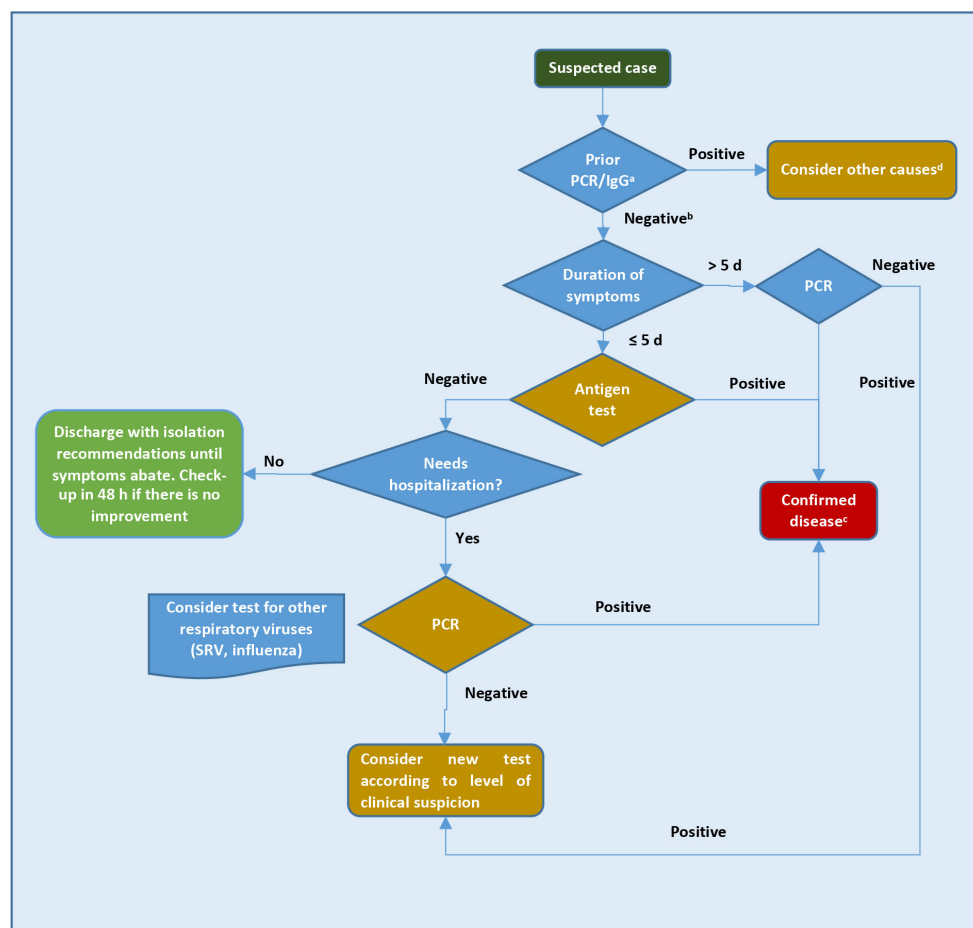


Figure 9 Work-up algorithm for the study of suspected cases of acute SC2 infection in Pediatric Emergency Room.

^aDone in the previous 3 months, except in special cases; ^bOr not done; ^cWith positive antigenic test, no PCR confirmation is required. The presence of fever, cough, odynophagia, respiratory distress, ageusia, anosmia, and gastrointestinal symptoms are considered suggestive symptoms of COVID-19. Isolated rhinorrhea would not be considered clinically suggestive (also take into account the family epidemic environment and context); ^dIf the patient already had a confirmed infection by PCR or presents positive SC2-IgG in the previous 3 months, it is not recommended to perform the antigenic test or PCR, except in special cases (immunosuppressed or cohabitants at risk or need for admission).

SC2 be carried out by specialized companies. Packing of the samples shall be carried out in accordance with the packing instruction P650 of the ADR agreement, which applies to the UN3373 standard for the packing of hazardous substances (the packing instruction P650 is equivalent to the IATA instruction 650).

The package must consist of three layers. A first container or tube, which will contain the infectious substance, which must be airtight and impermeable to the substance it contains. There will be a second hermetic and impermeable container (plastic bag with the corresponding marks and pocket for the petition flyer), spill-proof and with sufficient absorbent material in case of breakage or leakage. Finally, a third layer or packaging, which will be used to protect the secondary con-

tainers or plastic bags from physical damage during transport, if necessary.

There are a series of criteria for acceptance or rejection of samples to guarantee the traceability, quality, conservation and representativeness of the sample received in the laboratory, since all these factors affect the results of the sample and have a clinical and epidemiological impact.

The most frequent incidents in the arrival of a sample to the microbiology laboratory are listed below:

- **Poorly identified sample:** an unidentified, misidentified or sample in which the identification of the request leaflet does not coincide with that of the sample should not be accepted. In any case, the requesting service will be contacted to

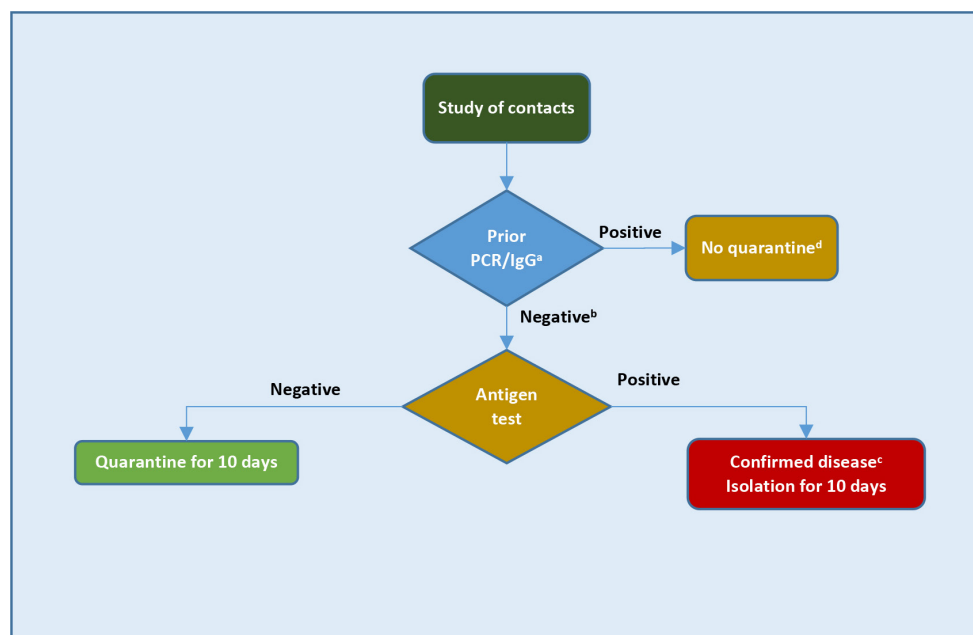


Figure 10 Work-up algorithm for the study of close contacts of SC2 infection in the pediatric field, including schools.

^aDone in the previous 3 months, except in special cases; ^bOr not done; ^cPositive antigenic test does not require PCR confirmation; ^dIf the patient already had a confirmed infection by PCR or presents positive SC2-IgG in the previous 3 months, it is not recommended to perform the antigenic test or PCR, except in special cases (immunosuppressed or cohabitants at risk or need for admission). In case of close contact at school test not generally indicated, but a test is to be done if the patient develops symptoms during quarantine, vulnerable people according to the criteria of their pediatrician or family doctor, or in situations of special risk, prior public health indication.

inform them of the need for them to proceed with the correct identification of the sample. If possible, the error will be corrected or the sample will be collected again.

- **Spilled or deteriorated samples:** spilled samples will not be accepted, a new sample will be requested. If it is not possible to obtain a new sample, an attempt will be made to clean the outside of the container with antiseptic in order to then obtain the best possible sample, leaving a record of the status of the sample upon arrival at the laboratory.

- **Inappropriate transport or storage:** if the above-mentioned transport and storage requirements are not met, a new sample will be requested. In the case of samples that cannot be collected again, you can choose to process them by informing the requesting service in writing of the incident that affects the sample, and warning that the results obtained must be interpreted with the corresponding caution.

ALGORITHMS ON THE IMPLEMENTATION OF MICROBIOLOGICAL TECHNIQUES IN THE DIAGNOSIS OF ACUTE INFECTION BY SC2 IN DIFFERENT CLINICAL CONTEXTS

Primary Care (PC)

a) Suspected case of SC2 infection (Figure 6)

Antigen detection (ADT) or genetic (PCR or TMA) tests will be carried out on all persons aged 14 years and over if considered suspected cases of SC2 infection (see definition above). There is not enough evidence at the moment about the possibility of SC2 reinfections (32), so in people with a history of COVID-19 in the previous 3 months it is necessary to consider other diagnostic possibilities before considering antigen or molecular tests for SC2.

The choice of technique (ADT, PCR, TMA) will depend on the time elapsed since the onset of symptoms. In patients with symptoms of 5 or less days of evolution, ADT will be preferred. Any positive result in ADT, PCR or TMA should be treated as a confirmed case, indicating home isolation, study of close contacts and clinical follow-up. If there is not a high suspicion of COVID-19, if there is a negative result in these tests, infection with SC2 will be ruled out, and the isolation may be interrupted. If the suspicion of COVID-19 is still high (typical symptoms -ageusia or anosmia-, analytical parameters or compatible radiological findings, recent contact with a confirmed case, etc.) the patient will be considered as a probable case, therefore isolation and study of contacts will be indicated. Although there are no specific symptoms and signs of SC2 infection, the frequency of clinical manifestations in the different published

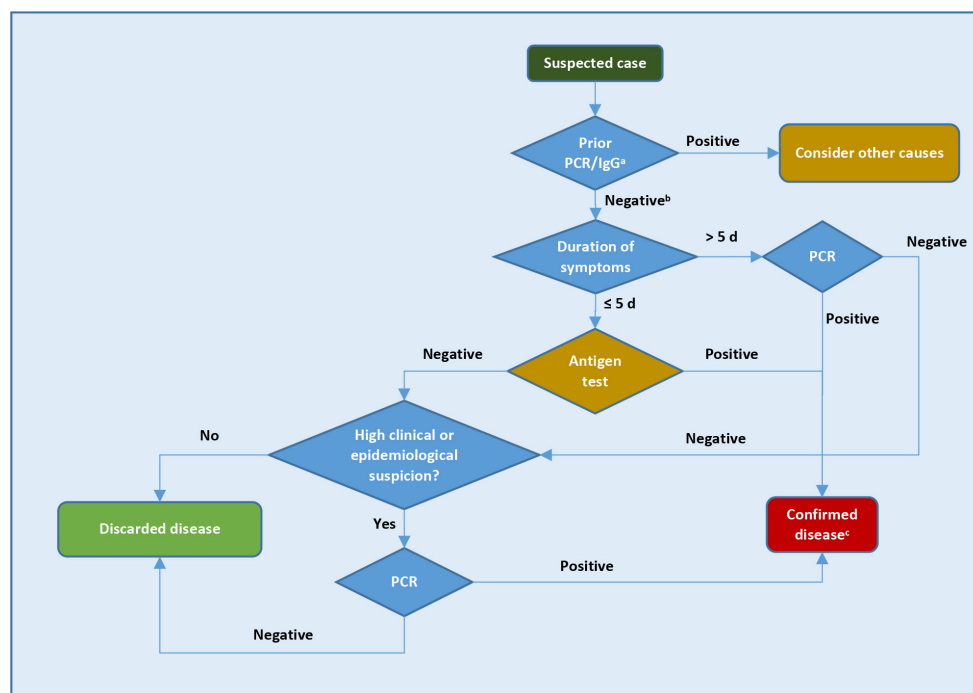


Figure 11 Work-up algorithm for the study of suspected cases of acute SC2 infection in Emergency Services.

^aDone in the previous 3 months, except in special cases; ^bOr not done; ^cPositive antigenic test does not require PCR confirmation.

series makes it possible to classify the symptoms and signs that in adults better predict the probability of positivity in a screening test for SC2 (Table 2) [33,34].

Clinical monitoring from PC will be carried out, whenever possible, in a non-face-to-face way (by telephone or telematics), to reduce the risk of contagion of health care personnel. A SC2 test will be repeated if 48 hours after the first test was done the patient presents clinical progression (worsening or the appearance of new symptoms). The choice of the diagnostic test will depend on the time elapsed since the beginning of symptoms. A positive microbiological result will definitely confirm the case; if the result is negative, since the clinical suspicion of COVID-19 remains high, isolation will be maintained until 3 days after the resolution of the fever and the significant improvement in the clinical picture, with a minimum of 10 days from the onset of symptoms. It will not be necessary to perform a microbiological technique to finalize the isolation. Both in the case of positive and negative microbiological results, in patients with symptoms clinical follow-up will continue from PC.

b) Close contact with infected with SC2 (Figure 7)

Any person considered close contact will be studied and monitored at PC. People with a history of SC2 infection in the previous 3 months, confirmed by serological, molecular or antigen tests, can be excluded from the contact study.

Surveillance and home quarantine will be indicated for all close contacts of a confirmed case for 10 days after the last contact. In addition, with the main objective of detecting new positive cases of COVID-19 in asymptomatic phase, an ADT or a PCR or TMA will be performed after the identification of the contact. PCR or TMA are preferable in people who may be at higher risk of evolving into serious, critical or fatal disease (Table 3) [35-40], their caregivers and partners, and in health workers, or workers in social health centers or essential services. In the rest of the cases ADT may be of choice. Any positive result of any of the mentioned tests must be treated as a confirmed case. If the result is negative, the home quarantine will also continue until day 10.

If during the follow-up period the contact develops symptoms, this person will be considered as a suspected case and the SC2 detection test will be repeated. The choice of technique will be made based on the time elapsed since the initial exposure to the case. Taking into account the average incubation period for SC2 (4-5 days) and that from the theoretical point of view the viral load levels are lower in asymptomatic patients, ADT should be used within the first 7 days from the initial exposure to the case, and provided that the duration of the symptoms is less than 5 days. Outside of these periods, a molecular technique will be used. Any positive result of molecular or

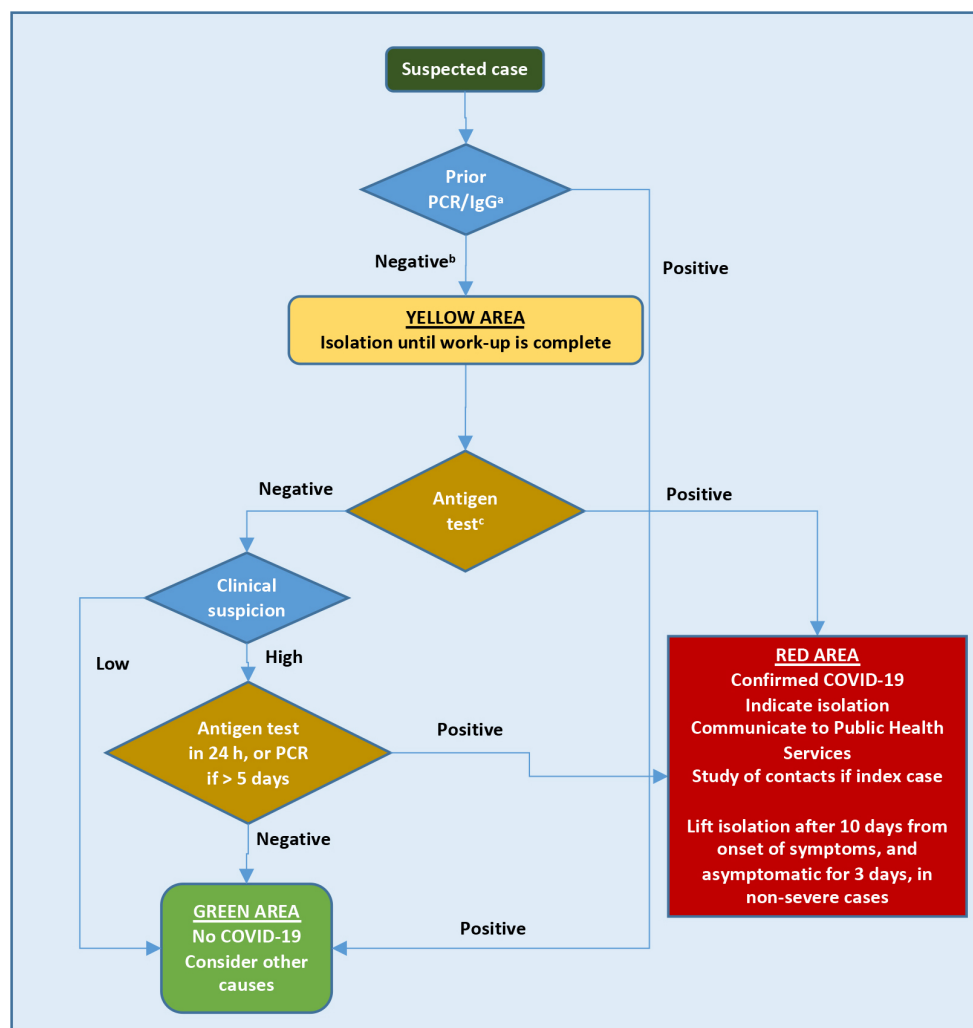


Figure 12 Work-up algorithm for the study of suspected cases of acute SC2 infection in sociosanitary centers (residents or professionals).

^aDone in the previous 3 months, except in special cases; ^bOr not done; ^cPositive antigenic test does not require PCR confirmation.

antigenic tests should be treated as a confirmed case. Despite the result of the SC2 detection tests were negative, the quarantine will continue until day 10.

Pediatric field

Pediatric cases have been described in all age groups, although the median age is around 8 years and without a clear predominance of sex [7,41–42]. The incubation period is similar in children to that of adults, although the majority of pediatric cases are asymptomatic or have mild symptoms, and may manifest as an upper respiratory infection or a gastrointestinal infection. The most frequent symptoms of COVID-19 in children are fever and cough, which are observed in around 50% of symptomatic cases. Minors can also present odynophagia, rhinorrhea and diarrhea, as well as more nonspecific symp-

toms such as myalgia, fatigue or abdominal pain. Anosmia and ageusia are less common in children and adolescents [43]. In nurslings COVID-19 can present as a fever without a source.

It has been considered that isolated rhinorrhea may be attributable to a multitude of viruses; in the case of SC2 infection, it should be assessed whether this symptom is associated with other symptoms more characteristic of COVID-19, leaving open the possibility of not performing an SC2 test; each case will be assessed individually, taking into account the epidemiological context.

The clinical picture associated with greater severity and the need for intensive care is the pediatric multisystemic inflammatory syndrome (MIS-C) linked to SC2 [44–46], which could correspond to a late inflammatory response infection and which has accounted for around 17 % of hospitalizations in PICU in Spain [47].

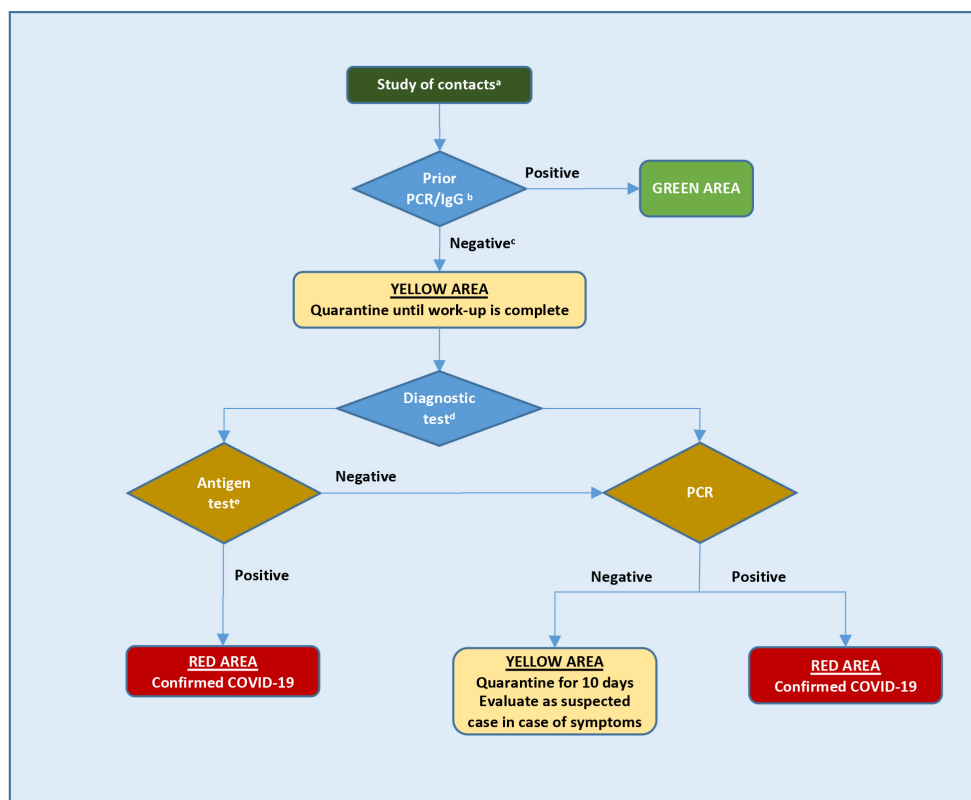


Figure 13 Work-up algorithm for the study of close contacts of SC2 infection in sociosanitary centers.

^aDocumented history of COVID-19 in the previous 3 months; ^bDone in the previous 3 months, except in special cases; ^cOr not done; ^dAntigenic test or PCR depending on the availability of the tests. If the lag for PCR result is expected to be less than 24 hours, it is preferable to perform a baseline PCR. Otherwise, it will be preferable to choose antigen test, having to confirm negative results with PCR; ^ePositive antigenic test does not require PCR confirmation.

Among the most frequent radiographic findings are patchy infiltrates and bilateral ground glass opacities on chest X-rays, although other radiographic patterns are possible [48]. Regarding admissions, children under one year of age are the group with the highest incidence of hospitalization. Severity risk factors are age less than 1 year or greater than 10 years, in addition to the presence of comorbidities and obesity [7]. Data on the possible vertical transmission of SC2 are still limited, although it seems highly unlikely [49].

In the pediatric area we consider three situations that include the care of the child with suspected SC2 infection in PC (Figure 8), in Hospital Emergencies (Figure 9) and the study of contacts, including the school setting (Figure 10). In the algorithm, we highlight that when evaluating a child, the family epidemiologic environment is important, since at home transmission is especially relevant, with around 70% of intra-family cases [42,50].

Hospital emergency

The criteria shown in the corresponding algorithm (Figure 11) to carry out the ADT for SC2 in the adult emergency department

are proposed in accordance with international recommendations [51–53]. We must take into account a series of considerations: i) if a patient has suffered from COVID-19 in the last 3 months, according to molecular technique (PCR or TMA positive) or positive SC2-IgG, other diagnostic alternatives should be considered before requesting any diagnostic test for SC2 (molecular or antigenic). In the emergency services, the performance of any type of screening test for SC2 in the nasopharynx (antigenic or molecular) will be considered indistinctly, availability, experience in use and care overload will be taken into account. ADT will be recommended preferentially in patients who come to the emergency room without hospitalization criteria with symptoms for 5 or less days.

A positive ADT result confirms COVID-19; if the ADT is negative and the patient does not have criteria for hospital admission, active infection will be considered reasonably ruled out, especially in patients with mild symptoms. In a population like in the CM, with a prevalence of infection that ranges between 10% and 30%, the positive predictive value of ADT is between 97.2% and 99.3%, and the negative predictive value is between 94.5% and 98.5%. If the ADT result is negative, the

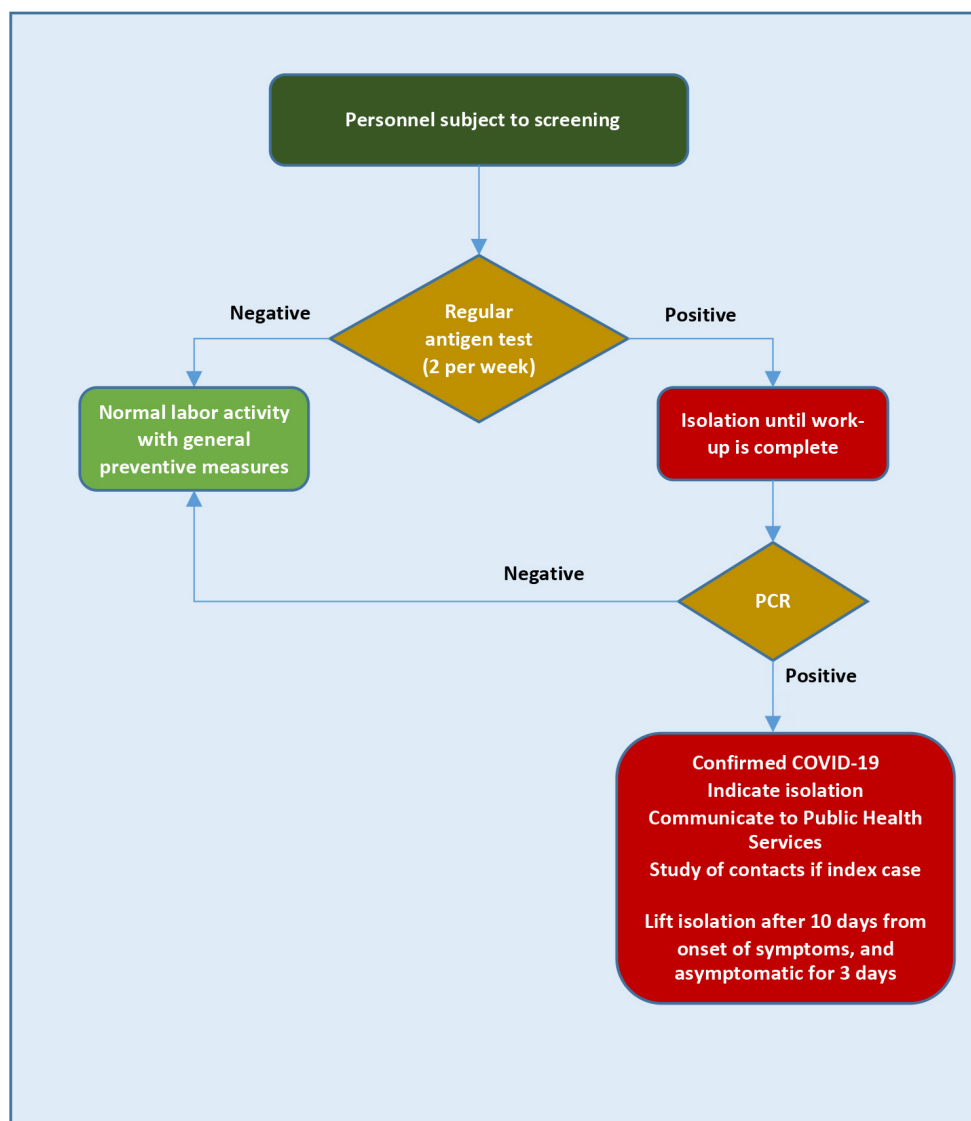


Figure 14 Work-up algorithm for the screening of SC2 infection in personnel in sociosanitary centers.

patient has hospital admission criteria and there is a high clinical or epidemiological suspicion of SC2 infection, a molecular technique should be repeated in nasopharyngeal exudate (PCR or TMA). If the duration of symptoms is greater than 5 days, a molecular technique will be preferred. At the present time, ADT are not indicated in symptomatic patients with more than 5 days of evolution or as a screening of patients treated in the Emergency Department for a pathology other than COVID-19.

Sociosanitary Centers

To carry out ADT for SC2 in the field of social health centers, the procedure shown in the algorithms in Figures 12, 13 and 14 will be followed depending on whether it is the

study of a suspected case, of a close contact or of the screening of a worker [1,18]. A suspected case will be defined as any person with a clinical picture of respiratory infection of any severity, which, depending on the symptoms, can be graded as follows: i) high clinical suspicion: if they present two or more typical symptoms (fever, cough, dyspnea, odynophagia, anosmia, ageusia, myalgia, diarrhea, chest pain or headache); ii) low clinical suspicion: if it presents only a typical symptom or presents with atypical symptoms for an SC2 infection (general malaise, fall, asthenia, confusional syndrome) [54]. A patient will be defined as having a documented history of SC2 infection if they present in the last 3 months positive SC2-IgG and / or a positive SC2 PCR or TMA. So far there is no evidence on the possibility of reinfection by SC2, however, in the event that

a patient presents symptoms highly compatible with COVID-19 and a documented history of SC2 infection, an expert should be consulted to study the possibility remote reinfection [32].

Close patient-in-residence contacts will be considered to be any person who has provided care (health or social-health personnel, family members or people who have other similar types of physical contact) to a confirmed case without adequate protection measures, or to any person who has been in the same place as a case at a distance of less than 2 meters and for more than 15 minutes. The period to be considered will be from 2 days before the onset of symptoms of the case until the moment in which the case is isolated. In asymptomatic cases confirmed by PCR, contacts will be sought from 2 days before the date of diagnosis.

Antigenic vs PCR test will be chosen depending on the availability of the tests. If the waiting time for the PCR result is expected to be less than 24 hours, it is preferable to perform an initial PCR. Otherwise, the antigen test will be preferred and negative results will have to be confirmed by PCR.

The screening of workers in social health centers (Figure 14) will be considered in residences that have a seroprevalence (percentage of IgG+) among residents of less than 50%, have nursing staff, and are not in the active outbreak phase.

The antigenic tests could not be suitable in the study of asymptomatic cases, since in this clinical context it is not possible to specify the age and the nasopharyngeal viral load could already be low. However, the simplicity and low cost of this test allows to repeat them frequently (twice a week). Having a viral detection test in real time, and being able to confirm the negative result in the following days, has been shown to be even more useful to control the expansion of the infection in closed populations than performing a more sensitive test, but with a longer delay and higher cost (molecular test) [28].

REFERENCES

1. Instituto de Salud Carlos III. Estrategia de detección precoz, vigilancia y control de COVID-19. 25 de septiembre de 2020. Disponible en (consultado el 1 de octubre de 2020): https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/COVID19_Estrategia_vigilancia_y_control_e_indicadores.pdf
2. Instituto de Salud Carlos III. Informe nº 30. Situación de COVID-19 en España. 11 de mayo de 2020. Disponible en (consultado el 29/09/2020): <https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/INFORMES/Informes%20COVID-19/Informe%20n%C2%BA%2030.%20Situaci%C3%B3n%20de%20COVID-19%20en%20Espa%C3%B1a%20a%2011%20de%20mayo%20de%202020.pdf>
3. Instituto de Salud Carlos III. Informe nº 47. Situación de COVID-19 en España. Casos diagnosticados a partir 10 de mayo. 7 de octubre de 2020. Disponible en (consultado el 10/10/2020): <https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/INFORMES/Informes%20COVID-19/Informe%20n%C2%BA%2045.%20Situaci%C3%B3n%20de%20COVID-19%20en%20Espa%C3%B1a%20a%2023%20de%20septiembre%20de%202020.pdf>
4. Gandhi M, Rutherford G. Facial Masking for Covid-19. Potential for "variolation" as we await a vaccine. *N Eng J Med* 2020 doi: 10.1056/NEJMp2026913.
5. Red de Vigilancia Epidemiológica de la CM. Semana 39. Infección por el nuevo coronavirus COVID-19 (Datos provisionales). 29 de septiembre de 2020: Disponible en (consultado el 29/09/2020): https://www.comunidad.madrid/sites/default/files/doc/sanidad/epid/informe_epidemiologico_semanal_covid.pdf
6. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72 314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA* 2020; 323:1239-1242. doi: 10.1001/jama.2020.2648
7. Dong Y, Mo X, Hu Y, Qi X, Jiang F, Jiang Z. et al. Epidemiological characteristics of 2143 pediatric patients with 2019 coronavirus disease in China. *Pediatrics* 2020; 145:e20200702. doi: 10.1542/peds.2020-0702.
8. Centers for Disease Control. Coronavirus disease 2019 in children - United States. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2020; 69:422-426 doi: 10.15585/mmwr.mm6914e4
9. Tagarro A, Epalza C, Santos M, Sanz-Santaeuemia FJ, Otho E, Moraleda C, et al. Screening and severity of COVID-19 in children in Madrid, Spain. *JAMA Pediatr* 2020; e201346. doi: 10.1001/jama-pediatrics.2020.1346.
10. De Ceano-Vivax M, Martín-Espín I, del Rosal T, Bueno-Barriocanal M, Plata-Gallardo M, Ruiz-Dominguez JA, et al. SARS-CoV-2 infection in ambulatory and hospitalized Spanish children. *Arch Dis Child* 2020 105:808-809. doi: 10.1136/archdischild-2020-319366
11. He X, Lau E, Wu P, et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med* 2020; 26:672-5. doi: 10.1038/s41591-020-0869-5.
12. Aguirre-Duarte N. Can people with asymptomatic or pre-symptomatic COVID-19 infect others?: a systematic review of primary data. *medRxiv* 2020. doi: 10.1101/2020.04.08.20054023
13. Sakurai A, Sasaki T, Kato S, et al. Natural History of Asymptomatic SARS-CoV-2 Infection. *N Engl J Med* 2020; 383:885-6. doi: 10.1056/NEJMc2013020.
14. Lauer S, Grantz K, Bi Q, et al. The incubation period of coronavirus disease 2019 (COVID-19) from publicly reported confirmed cases: estimation and application. *Ann Intern Med* 2020; 172:577-82. doi: 10.7326/M20-0504
15. Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet* 2020; 395:507-13. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
16. Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 Novel Coronavirus infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA* 2020; 323:1061-9. doi: 10.1001/jama.2020.1585
17. Guan W, Ni Z, Hu Y, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med* 2020; 382:1708-20. doi: 10.1056/NEJMoa2002032.

18. Consejería de Sanidad. Estrategia de detección precoz, vigilancia y control de COVID-19 adaptada a la Comunidad de Madrid, 14 de agosto 2020. Disponible en (consultado el 29/9/2020): https://www.comunidad.madrid/sites/default/files/doc/sanidad/epid/estrategia_vigilancia_y_control_adaptada_cm_agosto_2020_v2.pdf
19. Smith E, Zhen W, Manji R, Schron D, Duong S, Berry G. Analytical and clinical comparison of three nucleic acid amplification tests for SARS-CoV-2 detection. *J Clin Microbiol* 2020; 58:e01134-20
20. Vogels C, Brito A, Wyllie A, et al. Analytical sensitivity and efficiency comparisons of SARS-CoV-2 qRT-PCR assays. *Nat Microbiol* 2020; 5:1299-1305. doi: 10.1038/s41564-020-0761-6.
21. Quicke K, Gallichote E, Sexton N, Young M, Janich A, Gahm G, et al. Longitudinal surveillance for SARS-CoV-2 RNA among asymptomatic staff in five Colorado skilled nursing facilities: epidemiologic, virologic and sequence analysis. *medRxiv* 2020. doi: 10.1101/2020.06.08.20125989
22. Wölfel R, Corman V, Guggemos W, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-19. *Nature* 2020; 581:465-9. doi: 10.1038/s41586-020-2196-x
23. La Scola B, Le Bideau M, Andreani J, et al. Viral RNA load as determined by cell culture as a management tool for discharge of SARS-CoV-2 patients from infectious disease wards. *Eur J Clin Microb Infect Dis* 2020; 39:1059-61. doi: 10.1007/s10096-020-03913-9.
24. Tom M, Mina M. To interpret the SARS-CoV-2 test, consider the cycle threshold value. *Clin Infect Dis* 2020; May 21;ciaa619. doi: 10.1093/cid/ciaa619
25. Dinnes J, Deeks J, Adriano A, et al. Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Cochrane Database Sys Rev* 2020; Aug 26;8:CD013705. doi: 10.1002/14651858.CD013705.
26. Porte L, Legarraga P, Vollrath V, et al. Evaluation of novel antigen-based rapid detection test for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples. *Intern J Infect Dis* 2020 99:328-333. doi: 10.1016/j.ijid.2020.05.098
27. Hirotsu Y, Maejima M, Shibusawa M, et al. Comparison of automated SARS-CoV-2 antigen test for COVID19 infection with quantitative RT-PCR using 313 nasopharyngeal swabs including from 7 serially followed patients. *Int J Infect Dis* 2020; 99:397-402. doi: 10.1016/j.ijid.2020.08.029
28. Larremore D, Wilder B, Lester E, et al. Test sensitivity is secondary to frequency and turnaround time for covid-19 surveillance. *medRxiv* 2020. doi: 10.1101/2020.06.22.20136309.
29. García-Lechuz JM, González JJ, Orta N, Sánchez MI. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el Laboratorio de Microbiología. *Procedimientos en Microbiología Clínica*. Cencenado E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 2017. Disponible en (consultado el 29/9/2020): <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientosmicrobiologia1b.pdf>
30. Centers for Disease Control. Interim guidelines for collecting, handling, and testing clinical specimens from persons for coronavirus disease 2019 (COVID-19), 8 de octubre 2020. Disponible en (consultado el 29/9/2020): <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html>
31. World Health Organization. Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays, 11 de septiembre 2020. Disponible en (consultado el 29/9/2020): <https://www.who.int/publications/i/item/antigen-detection-in-the-diagnosis-of-sars-cov-2infection-using-rapid-immunoassays>
32. Kang H, Wang Y, Tong Z, Liu X. Retest positive for SARS-CoV-2 RNA of "recovered" patients with COVID-19: Persistence, sampling issues, or re-infection? *J Med Virol* 2020; Jun 3;10.1002/jmv.26114. doi: 10.1002/jmv.26114.
33. Clemency BM, Varughese R, Scheafer DK, et al. Symptom criteria for COVID-19 testing of health care workers. *Acad Emerg Med* 2020; 27:469-474. doi: 10.1111/acem.14009.
34. Lan FY, Filler R, Mathew S, et al. COVID-19 symptoms predictive of healthcare workers' SARS-CoV-2 PCR results. *PLoS One* 2020; 15:e0235460. doi: 10.1371/journal.pone.0235460.
35. Centers for Disease Control. Evidence used to update the list of underlying medical conditions that increase a person's risk of severe illness from COVID-19, 6 octubre 2020. Disponible en (consultado el 10/10/2020): <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/need-extra-precautions/evidence-table.html>
36. Sisó-Almirall A, Kostov B, Mas-Heredia M, et al. Prognostic factors in Spanish COVID-19 patients: A case series from Barcelona. *PLoS ONE* 2020; 15:e0237960. doi: 10.1371/journal.pone.0237960
37. Gil-Rodrigo A, Miró Ò, Piñera P, et al. Analysis of clinical characteristics and outcomes in patients with COVID-19 based on a series of 1000 patients treated in Spanish emergency departments. Evaluación de las características clínicas y evolución de pacientes con COVID-19 a partir de una serie de 1000 pacientes atendidos en servicios de urgencias españoles. *Emergencias* 2020; 32:233-241. PMID: 32692000
38. Casas-Rojo JM, Antón-Santos JM, Millán-Núñez-Cortés J, et al. Características clínicas de los pacientes hospitalizados con COVID-19 en España: resultados del Registro SEMI-COVID-19. *Rev Clin Esp* 2020; Jul 19;S0014-2565(20)30206-X. doi: 10.1016/j.rce.2020.07.003.
39. Vageesh J, Yuan JM. Predictive symptoms and comorbidities for severe COVID-19 and intensive care unit admission: a systematic review and meta-analysis. *Int J Public Health* 2020; 65:533-546. doi: 10.1007/s00038-020-01390-7.
40. Guan W, Liang W, Zhao Y, et al. Comorbidity and its impact on 1590 patients with Covid-19 in China: a nationwide analysis. *Eur Respir J* 2020; 55:2000547. doi: 10.1183/13993003.00547-2020
41. Hoang A, Chorath K, Moreira A, et al. COVID-19 in 7780 pediatric patients: A systematic review. *EClin Med* 2020; 24:100433. doi: 10.1016/j.eclinm.2020.100433
42. Lu X, Zhang L, Du H, et al. SARS-CoV-2 infection in children. *N Engl J Med* 2020; 382:1663-1665. doi: 10.1056/NEJMc2005073.
43. Mak PQ, Chung KS, Wong JS, Shek CC, Kwan MY. Anosmia and ageusia: not an uncommon presentation of COVID-19 infection in children and adolescents. *Pediatr Infect Dis J* 2020; 39:e199-e200. doi: 10.1097/INF.0000000000002718.

44. Feldstein LR, Rose EB, Horwitz SM, et al. Multisystem inflammatory syndrome in U.S. children and adolescents. *N Engl J Med* 2020; 383:334-346. doi: 10.1056/NEJMoa2021680.
45. Jiang L, Tang K, Levin M, et al. COVID-19 and multisystem inflammatory syndrome in children and adolescents. *Lancet Infect Dis* 2020; 17:S1473-3099. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30651-4.
46. Gruber C, Patel R, Trachtman R, et al. Mapping systemic inflammation and antibody responses in multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C). *Cell* 2020; 183:1-14. doi: 10.1016/j.cell.2020.09.034
47. Moraleda C, Serna-Pascual M, Soriano-Arandes A, et al. Multi-inflammatory syndrome in children related to SARS-CoV-2 in Spain. *Clin Infect Dis* 2020; Jul 25;ciaa1042. doi: 10.1093/cid/ciaa1042
48. Posfay-Barbe KM, Wagner N, Gauthey M, et al. COVID-19 in children and the dynamics of Infection in families. *Pediatrics* 2020; 146:e20201576. doi: 10.1542/peds.2020-1576
49. Dong L, Tian J, He S, et al. Possible vertical transmission of SARS-CoV-2 from an infected mother to her newborn. *JAMA* 2020; 323:1846-1848. doi: 10.1001/jama.2020.4621.
50. Liguoro I, Pilotto C, Bonanni M, et al. SARS-CoV-2 infection in children and newborns: a systematic review. *Eur J Pediatr* 2020; 179:1029-1046. doi: 10.1007/s00431-020-03684-7
51. European Center for Disease Control. Latest evidence on COVID-19: diagnostic testing and screening for SARS-CoV-2. Disponible en (consultado el 29/9/2020): <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/diagnostic-testing>
52. Centers for Disease Control. Standard operating procedure (SOP) for triage of suspected COVID-19 patients in non-US healthcare settings: early identification and prevention of transmission during triage, 11 de septiembre 2020. Disponible en (consultado el 29/9/2020): <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/non-us-settings/sop-triage-prevent-transmission.html>
53. World Health Organization. Country & Technical Guidance- Coronavirus disease (COVID-19): public health surveillance for COVID-19: interim guidance, 7 de Agosto de 2020. Disponible en (consultado el 29/9/2020): <https://www.who.int/publications/i/item/who-2019-nCoV-surveillanceguidance-2020.7>
54. Liu K, Chen Y, Lin R, Han K. Clinical features of COVID-19 in elderly patients: A comparison with young and middle-aged patients. *J Infect* 2020; 80:e14-18. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.005.

In Memoriam

20 AÑOS SIN MANOLO GOMIS: Infectólogo, Humanista y Amigo-Hermano

En septiembre del 2000, el Prof. Dr. Manuel Gomis Gavilán, tuvo que ingresar en el Hospital de La Princesa de Madrid, afectado de una complicación del trasplante de medula ósea realizado para el tratamiento de su grave enfermedad. Casualmente coincidió, con nuestro viaje al ICAAC de EE.UU y fui a verlo para darle un abrazo. Me dijo que estaba muriéndose y yo, como no sabía que decirle, le regalé el II Volumen de los Ensayos de Michel de Montaigne, que tanto le gustaban. En ese momento expresó su deseo de despedirse de todos sus íntimos amigos. Entramos uno a uno, su hermano José Luis, tristemente fallecido el pasado año, su discípulo predilecto Pepe Barberán, su gran amigo Ubaldo y yo, unido a él por el arte de la lírica antimicrobiana. A cada uno nos dijo algo muy personal y distinto de unos a otros, expresando como su máximo deseo, que permaneciéramos siempre unidos para entrega de servicio a los demás, a través de su espíritu,

El 19 de octubre de ese año, subió al cielo, nuestro querido Manolo Gomis, con solo 50 años y toda una grandísima trayectoria científico-lírico-humanística a sus espaldas. Era un auténtico DIVO de la Infectología, ya que dominaba todos los registros. Desde su esencia clínica, como especialista de máximo relieve, en el apartado de las infecciones de partes blandas del diabético y osteoarticulares, pasando por su espíritu creativo, como investigador de las infecciones óseas, especialmente a las asociadas con cuerpos extraños (prótesis, implantes) y finalmente, por su dominio en el escenario de la Docencia Universitaria y en Congresos, Symposium, Reuniones, etc, donde siempre destilaba la fragancia de su conocimiento científico, con una base humanista, casi evangélica. Su ausencia era muy sentida, porque faltaba su espíritu, lleno de bondad, nobleza y con una personalidad de grandeza aristocrática. Es decir, faltaba, el líder más carismático de la Edad de Oro de la Infectología.

Durante su corta, pero intensa trayectoria histórica profesional científica y humana, tuvo el reconocimiento de las principales sociedades científicas de nuestro país: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC), Sociedad Española de Medicina Interna (SEMI) y Sociedad Española de Quimioterapia (SEQ), de cuya revista era revisor y formaba parte del equipo de redacción. Asimismo, era muy respetado por las compañías farmacéuticas multinacionales, que realizaban programas de investigación, del mayor impacto en el mundo de la terapéutica antimicrobiana y que posteriormente, eran presentados en forma de charlas coloquio por toda España.

En este apartado hay que citar al Dr. Mensa, creador de las mejores presentaciones científicas, con gráficos y dibujos, realmente modélicos, que explicaban muy bien los mecanismos de acción de los antibióticos. Después llegaba el Dr. Gomis, con una exposición llena de brillo esmaltico, tan majestuoso, que le daba un colorido, como componiendo un cuadro antológico, que mezclaba la profundidad de Velázquez (su pintor fetiche), con el color natural de Rembrandt, la luz y alegría de Sorolla, sin olvidar la realidad dramática de Caravaggio. Era todo un espectáculo, lleno de ciencia a través de su arte, como una inspiración, que suscitaba el entusiasmo de los asistentes, que respondían al final, con una gran ovación, como si se tratara de Plácido Domingo (su artista preferido).

Tras su introducción en esta área, a través de Don Emilio Bouza, pionero de la investigación de Infecciosas en España, se traslado al Hospital Gomez Ulla. Allí, confirmó sus grandes virtudes, siendo el motor de corriente continua de la Unidad de Infecciosas de dicho centro, organización de muchos cursos, simposios, reuniones, en los que siempre me distinguía por su gran amistad y esculpiendo los inicios de su escuela, cuyo genuino y máximo representante, es su hijo adoptivo, el eminente y afectuoso Pepe Barberan. Asimismo, participó activamente en los comienzos de la Especialidad de Infecciosas, transmitiendo un entusiasmo desbordante, que contagiaba a todos sus colaboradores, residentes, alumnos, como los grandes maestros clínicos.

Después fue captado y formado para la Universidad, de la mano de sus menores, los Profesores José Prieto, Juan Picazo y José Ángel García Rodríguez, Catedráticos emblemáticos de Microbiología y por el Profesor JM Martínez Vázquez, ilustre Catedrático de Medicina Interna-Infecciosas. Todos ellos vieron, que la Universidad no podía prescindir de una personalidad tan completa, como el Prof. Dr. Manuel Gomis Gavilán.

A Manolo Gomis, lo podemos recordar por innumerables hechos y anécdotas, ya que su formación y cultura eran tan amplias, que podía haber sido un enciclopedista, ya que, hasta contaba chistes muy buenos.

De su amplísima andadura, quiero significar:

1.- La brillantez de sus presentaciones científicas. Su estilo, me hacia recordar al emblemático Prof. Harold C. Neu, de la Universidad de Columbia de New York y considerado en su momento, como el número UNO del mundo de la Antibiotico-terapia. Estaba lleno de ciencia y bondad, como Manolo Gomis, ¿verdad Pepe Barberán?

2.- El dominio de la música sinfónica y conciertos, siendo gran conocedor del arte lírico, tocando bien el piano, pero no cantaba. Su vicio, era el comprar muchísimos discos de música sinfónica y operas, en todas las ciudades del mundo que visitábamos durante los congresos.

Al cabo de los años, se erigió en el mayor coleccionista de discos de estas artes. Su piso de Atocha, lo tenía todo completamente lleno, dominando la entrada un poster de María Callas. Esta pasión, se tradujo, en uno de los libros más bellos realizados, titulado "Las Enfermedades Infecciosas y la Música". Esto pudo realizarse, gracias a la excepcional colaboración de la Dra. Beatriz Sánchez Artola, junto con el apoyo logístico y de difusión nacional de Bristol-Myers-Squibb. Su presentación, tuvo lugar en Murcia en abril del 2000, unos meses antes de fallecer y contando, con la presencia de la egregia figura de su queridísima madre. Fue de una emoción inusitada, ver como la madre abrazaba a su hijo y viceversa. Fue su última presentación y la única con su madre presente. Todo un gran momento histórico, que Manolo, nunca olvidó y siempre me lo recordaba, como señal de agradecimiento, por nuestra amistad fraternal.

3.- Finalmente, la noche inolvidable del paseo en barco por el lago Michigan en el ICAAC de Chicago, en la que Manolo toco el piano como los ángeles y llamo la atención de la gente, pidiendo que yo cantara. Después lo que sucedió, lo cuenta todo el mundo, pero solo unos pocos, tuvimos la fortuna de

estar allí. Manolo, aunque han pasado veinte largos años, tu persona y tu espíritu, siguen vivos, constituyendo, todo un mito de la Infectología moderna y en estos momentos, creo sinceramente, que forma parte de la leyenda de las Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica en España y en el mundo entero.

Nunca olvidaré, cuando lo llamábamos por teléfono y su contestador, decía "Siento no poder atenderlo, pero el Dr. Gomis está muy ocupado, se encuentra con Verdi" y sonaba los acordes de "La donna e mobile". Era genial y creo se lo compuso Ubaldo, un gran amigo de los conciertos musicales.

Su leyenda, sigue tan viva, que siguen realizándose periódicamente las denominadas, comidas del Dr. Gomis, con la participación de todos los amigos. Pero lo más trascendente, es que consiguió lo mas importante: SU CONTINUIDAD, en la figura de su más entrañable y fiel colaborador, Dr. José Barberan, que ha seguido sus pasos al pie de la letra, imprimiendo a toda su actividad, su impulso vital, lleno de fe y esperanza, como le enseñó su ilustre maestro, a través de un gran espíritu de sacrificio y así, llegar a la cumbre por el camino del servicio a los demás, obrando, sin darse cuenta, el milagro que Manolo, vuelva a estar con nosotros, hasta la eternidad.

Dr. Joaquín Gómez Gómez