



REVISTA ESPAÑOLA DE Quimioterapia

SPANISH JOURNAL
OF CHEMOTHERAPY

ISSN: 0214-3429

Volumen 34

Número 6

Diciembre 2021

Páginas: 525-688



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 2021
Sociedad Española de
Quimioterapia

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



Sociedad Española de Quimioterapia

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

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

Consulte nuestra página web
www.seq.es

Publicación que cumple los requisitos de
soporte válido

ISSN
0214-3429

e-ISSN
1988-9518

Depósito Legal
M-32320-2012

Maquetación
Vic+DreamStudio

Impresión
España

Esta publicación se imprime en papel no ácido.
This publication is printed in acid free paper.

LOPD
Informamos a los lectores que, según lo previsto
en el Reglamento General de Protección
de Datos (RGPD) 2016/679 del Parlamento
Europeo, sus datos personales forman parte de
la base de datos de la Sociedad Española de
Quimioterapia (si es usted socio)

Si desea realizar cualquier rectificación o
cancelación de los mismos, deberá enviar una
solicitud por e-mail a la Sociedad Española de
Quimioterapia (info@seq.es)

REVISTA ESPAÑOLA DE Quimioterapia

Director
J. Barberán López

Secretario de Redacción
Luis Alou Cervera

Comité Editorial

F. Álvarez Lerma (Barcelona)
F. Baquero Mochales (Madrid)
E. Bouza Santiago (Madrid)
J. A. García Rodríguez (Salamanca)
M. Gobernado Serrano (Valencia)

J. Mensa Pueyo (Barcelona)
J. J. Picazo de la Garza (Madrid)
J. Prieto Prieto (Madrid)
B. Regueiro García (Santiago de Compostela)
A. Torres Martí (Barcelona)

Consejo Editorial

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

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

M. Ortega (Barcelona)
J. Oteo (Madrid)
J. A. Oteo (Logroño)
E. Palencia Herrejón (Madrid)
A. Pascual Hernández (Sevilla)
J. Pasquau (Sevilla)
J. Pemán (Valencia)
J. L. Pérez-Arellano (Las Palmas)
B. Pérez-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)

Xydalba®
dalbavancina



**XYDALBA®, EL ÚNICO ANTIBIÓTICO
QUE PERMITE TRATAR TODO EL CURSO
DE LA INFECCIÓN* CON 1 SOLA DOSIS
INTRAVENOSA EN 30 MINUTOS^{1,2}**

Xydalba®

*Indicado para el tratamiento de infecciones bacterianas agudas de piel y de los tejidos blandos de la piel en adultos.¹


ANGELINI
PHARMA

BIBLIOGRAFÍA:

1- Ficha técnica Xydalba
2- Centro de información online de medicamentos de la AEMPS (CIMA). Criterios de búsqueda: Principio activo (dalbavancina), cantidad de principios activos (1) y comercializado. Disponible en [último acceso febrero 2021]: <https://cima.aemps.es/cima/publico/lista.html>.

Sumario

REVISTA ESPAÑOLA DE **Quimioterapia**

Volumen 34
Número 6
Diciembre 2021

Revisión	Visión general de las relaciones entre virus y cáncer: documento de posición 525 Emilio Bouza, Miguel Martín Jiménez, Laia Alemany, Joaquín Arribas, Rafael Bañares, M ^a Begoña Barragán, José María Eiros Bouza, Enriqueta Felip, Oscar Fernández-Capetillo, Diego Gracia, Rogelio López-Vélez, Juan Bautista Mollar, Patricia Muñoz, Luis Paz-Ares, Aureli Torné, Javier Tovar, Eulalia Valencia, Esteban Palomo
	Vacuna frente al COVID-19 556 Juan J. Picazo
	Gripe y eventos cardiorrespiratorios: una revisión clínico-epidemiológica multidisciplinar 569 Amelia Carro Hevia, Francisco Sanz Hernández, Javier Álvarez Aldeán, Manuel García Cenoz, Isabel Jimeno Sanz, Esther Redondo Margüello, M ^a Teresa Vidán Astiz, Amós García Rojas
	Neumonía comunitaria: selección del tratamiento empírico y terapia secuencial. Implicaciones del SARS-CoV-2 599 Juan González del Castillo, Agustín Julián Jiménez, Francisco Javier Candel
Revisión sistemática	Programas de optimización de uso de antimicrobianos en los servicios de urgencias: ¿cómo medimos el uso de antimicrobianos? Una revisión sistemática 610 Jesus Ruiz-Ramos, Emili Vallvé Alcón, Francisco Moreno Ramos, Rosario Santolaya-Perrin, Jose María Guardiola Tey
Originales	Evaluación de la validez del Ag PANBIO-COVID19 de Abbott en el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 en pacientes asintomáticos o con infección leve 618 Paula Gras-Valenti, Inmaculada Vidal, Inés Montiel-Higuero, Isabel Escribano, Natividad Algado-Selles, Pablo Chico-Sánchez, María Paz Ventero, Natali Jiménez-Sepulveda, Carmen Molina-Pardines, Esperanza Merino-Lucas, José Sánchez-Payá, Juan Carlos Rodríguez
	Asociación entre la presión antibiótica y el riesgo de colonización/infección por <i>Acinetobacter baumannii</i> complex multirresistente: análisis de series temporales 623 María Huertas Vaquero, María Ángeles Asencio Egea, Rafael Carranza González, Antonio Padilla Serrano, María Carmen Conde, García, José María Tenias Burillo, Olga Redondo González
	Elección de vacuna antigripal en personas mayores de 65 años. Análisis de informes de comités asesores de vacunación internacionales 631 Alberto Pérez-Rubio, José Javier Castrodeza, José María Eiros
	Manejo clínico de las ITUc, IIAc y NAH/ NAVM atribuidas a bacterias gramnegativas resistentes a carbapenémicos en España 639 Ricard Ferrer, María Carmen Fariñas, Emilio Maseda, Miguel Salavert, German Bou, Jazmín Díaz-Regañón, Diego López, Virginia Lozano, David Gómez-Ulloa, Raquel Fenoll, Nuria Lara, Eilish Mccann
Originales breves	Comparación de dos frascos de hemocultivo para la recuperación de enterobacterias 651 Ana de Malet, Marisol García-Merino, Silvia Velasco, Carlos Ruiz de Alegría Puig

Sumario

REVISTA ESPAÑOLA DE Quimioterapia

Volumen 34
Número 6
Diciembre 2021

Originales breves	Infección de piel y partes blandas por <i>Streptococcus pneumoniae</i>: presentación de 15 casos	655
	Sara Pérez de Madrid, Alba María Rodrigo, Daniel Tena	
	Diagnóstico retrospectivo de tuberculosis linfática en muestras congeladas utilizando dos métodos de amplificación genética, Xpert MTB/RIF ULTRA y Abbott RealTime MTB Assay	660
	Mariana Fernandez-Pittol, Yuliya Zboromyrska, Angely Román, Griselda Tudó Vilanova, Miguel Ángel Benítez, Julián Gonzalez-Martin	
Cartas al Director	Mayor gravedad de la infección por SARS-CoV-2 en minorías en España	664
	Adrián Valls Carbó, Juan González del Castillo, Oscar Miró, Pedro Lopez-Ayala, Sonia Jimenez, Javier Jacob, Carlos Bibiano, F. Javier Martín-Sánchez	
	Actividad <i>in vitro</i> de imipenem/relebactam en aislados clínicos de gramnegativos en dos hospitales terciarios españoles	668
	Marina Peñuelas, Cristina García-Salguero, Melania Iñigo, Jose Manuel Viñuela-Prieto, Francisco Javier Candel, José Luis del Pozo, Esther Culebras	
	Micofenolato como ahorrador de corticoides en paciente con neumonía organizada por COVID-19	672
	María José Esteve Gimeno, Celia Roig Martí, Ignacio Pérez Catalán, Núria Tornador Gaya, Jorge Usó Blasco	
	Artritis séptica por <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>: informe de un caso y revisión de la Literatura	675
	David Brandariz-Núñez, Jessica Gálvez-López	
	Grangrena de Fournier secundaria a un absceso inguinoperineal por <i>Acidaminococcus intestini</i> y <i>Streptococcus gallolyticus</i> spp. <i>pasteurianus</i>	679
	Ismail Zakariya-Yousef Breval, Noelia Trujillo Díaz, Pablo de La Herranz Guerrero	
	Primer caso de reinfección confirmada por SARS-CoV-2 en el área sur de Gran Canaria	682
	María Aroca-Ferri, Tomás Tosco-Núñez, Araceli Hernández-Betancor, Isabel De-Miguel-Martínez	
	Sepsis fulminante tras instilaciones vesicales con <i>Mycobacterium bovis</i> en paciente con infección por SARS-CoV-2	684
	Pedro Manuel García-Ceberino, Emilio Guirao-Arrabal, Francisco Ferrer Amate, José Hernández-Quero	
	Piomiositis glútea con absceso del obturador interno en contexto de infección aguda por <i>Bartonella henselae</i>	687
	María Isabel Sánchez-Códez, Estrella Peromingo-Matute	



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.

Contents

REVISTA ESPAÑOLA DE **Quimioterapia**

Volumen 34
Number 6
December 2021

Review	Overview of virus and cancer relationships. Position paper	525
	Emilio Bouza, Miguel Martín Jiménez, Laia Alemany, Joaquín Arribas, Rafael Bañares, M ^a Begoña Barragán, José María Eiros Bouza, Enriqueta Felip, Oscar Fernández-Capetillo, Diego Gracia, Rogelio López-Vélez, Juan Bautista Mollar, Patricia Muñoz, Luis Paz-Ares, Aureli Torné, Javier Tovar, Eulalia Valencia, Esteban Palomo	
	Vaccine against COVID-19	556
	Juan J. Picazo	
	Influenza and cardiorespiratory events: a clinical-epidemiological review with a multidisciplinary point of view	569
	Amelia Carro Hevia, Francisco Sanz Hernández, Javier Álvarez Aldeán, Manuel García Cenoz, Isabel Jimeno Sanz, Esther Redondo Margüello, M ^a Teresa Vidán Astiz, Amós García Rojas	
	Community-acquired pneumonia: selection of empirical treatment and sequential therapy. SARS-CoV-2 implications	599
	Juan González del Castillo, Agustín Julián Jiménez, Francisco Javier Candel	
Systematic review	Antimicrobial stewardship programs in emergency departments: how do we measure antimicrobial use? A systematic review	610
	Jesús Ruiz-Ramos, Emili Vallvé Alcón, Francisco Moreno Ramos, Rosario Santolaya-Perrin, Jose María Guardiola Tey	
Originals	Evaluation of the validity of Ag PANBIO-COVID19 in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection in asymptomatic or mildly infected patients	618
	Paula Gras-Valenti, Inmaculada Vidal, Inés Montiel-Higuero, Isabel Escribano, Natividad Algado-Selles, Pablo Chico-Sánchez, María Paz Ventero, Natali Jiménez-Sepulveda, Carmen Molina-Pardines, Esperanza Merino-Lucas, José Sánchez-Payá, Juan Carlos Rodríguez	
	Association between antibiotic pressure and the risk of colonization/infection by multidrug-resistant <i>Acinetobacter baumannii</i> complex: a time series analysis	623
	María Huertas Vaquero, María Ángeles Asencio Egea, Rafael Carranza González, Antonio Padilla Serrano, María Carmen Conde, García, José María Tenias Burillo, Olga Redondo González	
	Choice of influenza vaccine in people over 65 years old. Analysis of reports from international vaccination advisory committees	631
	Alberto Pérez-Rubio, José Javier Castrodeza, José María Eiros	
	Clinical management of cUTI, cIAI, and HABP/VABP attributable to carbapenem-resistant Gram-negative infections in Spain	639
	Ricard Ferrer, María Carmen Fariñas, Emilio Maseda, Miguel Salavert, German Bou, Jazmín Díaz-Regañón, Diego López, Virginia Lozano, David Gómez-Ulloa, Raquel Fenoll, Nuria Lara, Eilish McCann	
Brief report	Comparison two blood culture bottles for the recovery of <i>Enterobacteriaceae</i>	651
	Ana de Malet, Marisol García-Merino, Silvia Velasco, Carlos Ruiz de Alegría Puig	

Contents

REVISTA ESPAÑOLA DE Quimioterapia

Volumen 34
Number 6
December 2021

Brief report	Skin and soft tissue infection caused by <i>Streptococcus pneumoniae</i>: report of 15 cases	655
	Sara Pérez de Madrid, Alba María Rodrigo, Daniel Tena	
	Retrospective diagnosis of lymphatic tuberculosis in frozen samples using two genetic amplification methods, Xpert® MTB/RIF ULTRA and Abbott RealTime MTB Assay	660
	Mariana Fernandez-Pittol, Yuliya Zboromyrska, Angely Román, Griselda Tudó Vilanova, Miguel Ángel Benítez, Julián Gonzalez-Martin	
	Increased severity in SARS-CoV-2 infection of minorities in Spain	664
	Adrián Vallés Carbó, Juan González del Castillo, Oscar Miró, Pedro Lopez-Ayala, Sonia Jimenez, Javier Jacob, Carlos Bibiano, F. Javier Martín-Sánchez	
	In vitro activity of imipenem/relebactam against Gram-negative clinical isolates in two Spanish tertiary hospitals	668
	Marina Peñuelas, Cristina García-Salguero, Melania Iñigo, Jose Manuel Viñuela-Prieto, Francisco Javier Candel, José Luis del Pozo, Esther Culebras	
Letters to the editor	Mycophenolate as a corticoid saver in a patient with pneumonia organized by COVID-19	672
	María José Esteve Gimeno, Celia Roig Martí, Ignacio Pérez Catalán, Núria Tornador Gaya, Jorge Usó Blasco	
	Septic arthritis caused by <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>: A case report and review	675
	David Brandariz-Núñez, Jessica Gálvez-López	
	Fournier's gangrene secondary to inguinoperineal abscess caused by <i>Acidaminococcus intestini</i> and <i>Streptococcus gallolyticus</i> spp. <i>pasteurianus</i>	679
	Ismail Zakariya-Yousef Breval, Noelia Trujillo Díaz, Pablo de la Herranz Guerrero	
	First case of SARS-CoV-2 confirmed reinfection in the southern area of Gran Canaria	682
	María Aroca-Ferri, Tomás Tosco-Núñez, Araceli Hernández-Betancor, Isabel de-Miguel-Martínez	
	Fatal sepsis months after bladder instillations with <i>Mycobacterium bovis</i> in patient with SARS-CoV-2 infection	684
	Pedro Manuel García-Ceberino, Emilio Guirao-Arrabal, Francisco Ferrer Amate, José Hernández-Quero	
	Gluteal pyomyositis with abscess of the internal obturator in relation to <i>Bartonella henselae</i> infection	687
	María Isabel Sánchez-Códez, Estrella Peromingo-Matute	



VABOREM®
meropenem/vaborbactam

¿SOSPECHA DE CRE-KPC? UNA NUEVA Y VALIOSA OPCIÓN PARA CRE!



GRUPO
MENARINI

www.menarini.es

▼ Este medicamento está sujeto a seguimiento adicional, es prioritaria la notificación de sospechas de reacciones adversas asociadas a este medicamento.

1. Wunderink RG, Giamarellos-Bourboulis EJ, Rahav G, et al. Effect and Safety of Meropenem-Vaborbactam versus Best-Available Therapy in Patients with Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Infections: The TANGO II Randomized Clinical Trial. *Infect Dis Ther* 2018;7:439–455.

Para un uso correcto ver Ficha Técnica:
www.menarini.es/fts/vaborem/

Emilio Bouza^{1*}
Miguel Martín Jiménez^{2*}
Laia Alemany³
Joaquín Arribas⁴
Rafael Bañares⁵
M^a Begoña Barragán⁶
José María Eiros Bouza⁷
Enriqueta Felip⁸
Oscar Fernández-Capetillo⁹
Diego Gracia¹⁰
Rogelio López-Vélez¹¹
Juan Bautista Mollar¹²
Patricia Muñoz¹³
Luis Paz-Ares¹⁴
Aureli Torné¹⁵
Javier Tovar¹⁶
Eulalia Valencia¹⁷
Esteban Palomo¹⁸

Overview of virus and cancer relationships. Position paper

¹Department of Medicine, Universidad Complutense. Department of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Gregorio Marañón Health Research Institute, and Respiratory Diseases CIBER (CIBERES CB06/06/0058), Madrid.

²Department of Medicine, Universidad Complutense. Head of the Oncology Department, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Gregorio Marañón Health Research Institute, Madrid.

³Cancer Epidemiology Research Programme. Instituto Catalán de Oncología, IDIBELL. Barcelona; CIBERESP

⁴Catalan Institution for Research and Advanced Studies (ICREA). Director of the Preclinical Research Programme, Vall d'Hebron Oncology Institute (VHIO), Barcelona. Scientific Director of CIBERONC.

⁵Department of Medicine, Universidad Complutense. Head of the Gastroenterology Department at the Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. CIBER of Diseases of the Digestive System.

⁶Spanish Cancer Patient Group, GEPAC.

⁷Universidad de Valladolid. Head of the Microbiology Department at the Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid.

⁸Hospital Vall d'Hebron. Barcelona

⁹Director of the Molecular Oncology Programme, Head of the Genomic Instability Group, National Cancer Research Centre (CNIO), Madrid, Spain. Professor of Antitumour Therapies, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden.

¹⁰Faculty of Medicine of the Complutense University of Madrid. President of the Health Sciences Foundation. Madrid.

¹¹National Centre for Expertise in Tropical Diseases of the Infectious Diseases Department of the Hospital Universitario Ramón y Cajal in Madrid.

¹²Preventive Medicine Department, Hospital La Fè, Valencia.

¹³Department of Medicine, Universidad Complutense, Madrid (UCM), Department of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Gregorio Marañón Health Research Institute, and Respiratory Diseases CIBER (CIBERES CB06/06/0058), Madrid.

¹⁴Medical Oncology Department, Hospital Universitario 12 de Octubre. Department of Medicine. Complutense University. Madrid.

¹⁵Gynaecological Oncology Unit. ICGON Endocrinology, Gynaecology and Human Reproduction, IDIBAPS Hospital Clinic de Barcelona

¹⁶EFE Salud.

¹⁷Internal Medicine Department - HIV Unit. Hospital Universitario La Paz. Madrid.

¹⁸Health Sciences Foundation. Madrid

Article history

Received: 27 April 2021; Accepted: 15 May 2021; Published: 5 August 2021

ABSTRACT

The role of certain viruses in the etiology of some tumors is today indisputable, but there is a lack, however, of an overview of the relationship between viruses and cancer with a multidisciplinary approach. For this reason, the Health Sciences Foundation has convened a group of professionals from different areas of knowledge to discuss the relationship between viruses and cancer, and the present document is the result of these deliberations. Although viruses cause only 10-15% of cancers, advances in oncology research are largely due to the work done during the last century on tumor viruses. The

clearest cancer-inducing viruses are: HPV, HBV, HCV, EBV and, depending on the geographical area, HHV-8, HTLV-1 and HIV. HPVs, for example, are considered to be the causative agents of cervical carcinomas and, more recently, of a proportion of other cancers. Among the Herpes viruses, the association with the development of neoplasms is well established for EBV and HHV-8. Viruses can also be therapeutic agents in certain neoplasms and, thus, some oncolytic viruses with selective tropism for tumor cells have been approved for clinical use in humans. It is estimated that the prophylaxis or treatment of viral infections could prevent at least 1.5 million cancer deaths per year.

Keywords: Virus, Cancer, Tumours, Human Papillomavirus, HPV, Hepatitis B, Hepatitis C, HBV, HCV, Epstein-Barr Virus, EBV, Human Herpes Virus 8, HHV-8, Human T Lymphotropic Virus 1, HTLV-1, Human Immunodeficiency Virus, HIV, Vaccines, Oncolytic virus, Oncogenes, Cancer mortality, Cancer-prevention, Cancer-economy

Visión general de las relaciones entre virus y cáncer: documento de posición

RESUMEN

El papel de ciertos virus en la causalidad de algunos tu-

Correspondence:
Emilio Bouza MD, PhD.
Gregorio Marañón Health Research Institute.
C/ Dr. Esquerdo, 46
28007 Madrid, Spain
Telephone: +34- 91- 586 84 53/Fax: +34- 91- 504 49 06
E-mail: emilio.bouza@gmail.com

Alternative corresponding author
Esteban Palomo, PhD.
Director. Fundación de Ciencias de la Salud.
C/ Severo Ochoa, 2,
28760 Tres Cantos. Madrid
Telephone: +34 91 3530150

*Both authors have equally contributed to this work

more es hoy indiscutible, pero se carece, sin embargo, de una visión general de las relaciones virus y cáncer con una aproximación multidisciplinar. Por ello, la Fundación de Ciencias de la Salud ha convocado a un grupo de profesionales de distintas áreas del conocimiento para discutir sobre la relación virus y cáncer y el presente documento es el resultado de dichas deliberaciones. A pesar de que los virus causan sólo un 10-15% de los cánceres, los avances en la investigación oncológica se deben, en gran medida, al trabajo que se realizó durante el siglo pasado sobre los virus tumorales. Los virus más claramente inductores de cáncer son: VPH, VHB, VHC, VEB y, en función de la zona geográfica, VHH-8, HTLV-1 y VIH. Los VPH, por ejemplo, se consideran los agentes causantes de los carcinomas de cérvix y, más recientemente, de una proporción de otros cánceres y entre los virus Herpes, la asociación con el desarrollo de neoplasias está bien establecida para VEB y VHH-8. Los virus pueden ser también agentes terapéuticos en determinadas neoplasias y, así, algunos virus oncolíticos con tropismo selectivo para células tumorales, han sido aprobados para su uso clínico en humanos. Se estima que la prevención o tratamiento de las infecciones virales podría evitar no menos de un millón y medio de muertes anuales por cáncer.

INTRODUCTION

The success in human longevity achieved in recent decades is impressive and could be even greater if the major challenges of neurodegenerative diseases, cardiovascular disease and cancer could be controlled.

Of the three challenges above, cancer treatment is perhaps achieving more success than the other two, not only because of better prevention and earlier diagnosis, but also because of increasingly effective and better-tolerated treatment.

Viruses offer a first approximation to the aetiological diagnosis in the case of cancer and the role some of them play in the pathogenesis of certain tumours is today indisputable. Their prevention, such as in the case of HPV and cervical cancer, has radically changed our expectations for the future and allows us to envision the eradication of this tumour. Unfortunately, the virus-cancer relationship is not so clear-cut in many other tumours and when we look for global data on that relationship, we find scattered and inaccurate, irregular literature of a very uneven nature and quality.

For this reason, the Health Sciences Foundation has proposed examining the virus-cancer relationship more generally, in a multidisciplinary forum, aiming to obtain answers to a series of simple questions from experts in different aspects of the problem. This meeting has included oncologists, gastroenterologists, internists, gynaecologists, specialists in infectious diseases and HIV, microbiologists, basic biologists, representatives of patient associations and the media, and specialists in preventive medicine and ethics.

A first block of questions was aimed at putting the dimension of the Virus-Cancer relationship, the cancers most clearly caused by viruses, the great historical milestones of this re-

lationship and some aspects of oncogenesis into perspective.

In a second block, some potential solutions ranging from vaccines to the treatment of hepatitis C were addressed and the possible role of bacteria and parasites as alternative oncogenic agents was also discussed. We also wanted to understand the importance that cancer patient associations place on this relationship, the understanding that the media has of the problem and the ethical aspects that all this raises.

MATERIAL AND METHODS

The members of the Board of Trustees of the Health Sciences Foundation proposed a series of questions on the relationship between viruses and cancer that would answer the main uncertainties of the problem at present. The questions were accepted by a multidisciplinary panel of experts. Each question was reported by one of the experts and subsequently the text and its conclusions were discussed by the working group until conclusions were reached that were accepted by all.

We now turn to the questions and their development. The views expressed are not intended to set out any particular recommendation or therapeutic indication and represent only the opinion of the group's speakers and not necessarily that of the institutions in which they work.

QUESTION: WHAT ARE THE MAJOR HISTORICAL MILESTONES IN THE VIRUS AND CANCER RELATIONSHIP?

In the early 1970s, most tumours were assumed to be caused by viruses, so much of the research into cancer revolved around tumour viruses. This assumption was eventually discarded and today it is estimated that only 10-15% of cancers are caused by viruses. However, research into viruses and cancer, the milestones of which are summarised below, proved decisive in understanding the aetiology of the disease [1-4].

Discovery of the avian sarcoma virus

In the early 1900s, Peyton Rous, working at the Rockefeller Institute in New York, showed that a type of sarcoma affecting chickens was transmissible through homogenate filtrates that could only contain viruses. Years later, the causative virus was isolated and named *Rous Sarcoma Virus* (RSV). This discovery marks the beginning of research into tumour viruses.

Transformation in cell cultures

During the 1960s, Harry Rubin and Howard Temin managed to establish a new experimental model to study tumour viruses at the California Institute of Technology. It consisted of the infection of fibroblasts in culture with the *Rous Sarcoma Virus*. The infection caused radical changes in the phenotype of the cells, which acquired capacities characteristic of tumour cells, such as: reduced dependence on growth factors, immortality, anchorage-independent growth, motility, invasiveness,

loss of contact inhibition, metabolic reprogramming and the ability to form tumours in syngeneic or immunosuppressed mice. These changes were called cellular transformation. The new experimental system ushered in a new era in tumour virus research [5, 6].

Discovery of DNA tumour viruses

In 1960, at the Rockefeller Institute in New York, Richard Shope identified the virus that causes papillomas in rabbits. Papillomas are benign tumours that rarely progress to squamous cell carcinomas of the skin. Unlike Rous Sarcoma Virus, whose genetic material is RNA, papillomaviruses are made of DNA. There are currently more than 100 human papillomaviruses (HPV) described. The discovery of HPV was followed by the discovery of more tumour viruses whose genetic material is DNA, including: i) Polyomavirus, which when infecting mice caused tumours of various origins, hence its name, ii) *Simian Virus 40* (SV40), which is a lytic virus in some primate cell types and silent in rodent cells and is therefore called non-permissive. In non-permissive cells, SV40 produces cellular transformation, although at a very low frequency [7-9].

Papillomavirus, polyomavirus, and SV40 are known as papovaviruses. Their DNA is a small circular molecule.

Other viruses with oncogenic capabilities include: i) Adenovirus, which infects the airways and can produce tumours when it infects hamster cells, ii) Herpesvirus, which produces different tumours in human cells, iii) Epstein Barr Virus (EBV), which can produce Burkitt's lymphomas or nasopharyngeal carcinomas. Compared to the papovaviruses, the latter three are very large.

Integration of the virus into the host cell genome

Several lines of evidence showed that the tumour viruses had to remain active in the tumour cells to maintain the transformed phenotype. The inactivation of the virus produced a return to the normal cellular state.

Different viruses use different mechanisms to keep tumour cells from dividing after division. Some, like EBV or HPV, become integrated, becoming a part of the cell genome. Almost all cervical tumours are produced by HPVs, which make up the part of their genome necessary for cell transformation (the E6 and E7 oncogenes) [10].

Herpesviruses use two strategies to perpetuate their genome in tumour cells. Some, such as human herpesvirus-6 (HHV-6) integrate into the telomeric regions of the chromosomes, which are transcriptionally silenced, making the virus able to remain latent for long periods of time. Others, such as the herpesvirus that produces Kaposi's sarcoma (HHV-8), replicate episodically, i.e., extrachromosomally, but are able to bind to chromosomes temporarily to ensure replication.

While DNA virus integration solved how they could remain in the tumour cells, it created a seemingly unsolvable problem. How did RNA viruses like Rous Sarcoma Virus remain? The solution to this problem led to one of the most surprising discoveries in biology: retrotranscription. Howard Temin and

David Baltimore showed that RNA viruses copy their genome into double-stranded DNA, which integrates into the host cell's genome. Retrotranscription violated the dogma proposed by Francis Crick by which the flow of biological information follows the DNA-RNA-Protein direction. In fact, retrotranscription is a mandatory step in the life cycle of retroviruses; as the RNA viruses that undergo this process are called. In contrast, the integration of DNA viruses is a very rare event (< 1 in 1,000 infections).

Identifying the first of a long list of oncogenes

Rous Sarcoma Virus, like most retroviruses, has a reduced genome (~10 kb). In it are encoded the genes necessary for its retrotranscription and integration, as well as the proteins that form part of its capsid. This simplicity made them very useful tools in identifying the elements required for cell transformation. By comparing viral variants capable of replication but not transformation, with variants capable of transformation but not replication, it was concluded that a single gene, called *src*, was responsible for cell transformation.

Characterising the *src* oncogene, in 1974 Harold Varmus and Michael Bishop, working at the University of California, San Francisco, obtained a totally unexpected result [11-13]. They found copies of *src* in cells that had not been transformed by Rous Sarcoma Virus. Actually, *src* is a gene present in totally normal cells that was hijacked by the tumour virus Rous Sarcoma Virus. This result was an authentic revolution and led to several conclusions that have revolutionised the way we think about cancer, some of which are detailed below:

- The cellular version of *src*, known as *c-src* had to play a role in the homeostasis of healthy cells.
- An ancestral form of the Rous Sarcoma Virus acquired the *src* after infecting a normal cell. In fact, there is ALV (avian leukosis virus) which is infectious but not tumoral and has the same genes as Rous Sarcoma Virus, except *src*.
- The identification of *c-* and *v-src* opened the possibility that in the normal genome there were numerous proto-oncogenes that could have been co-opted by other tumour retroviruses.
- A single oncogene, *v-src* was sufficiently pleiotropic to modify the 20-30 characteristics that differentiate a normal cell from a tumour cell.

The discovery of *src* initiated a race to identify oncogenes carried by retroviruses, which led to the characterisation of oncogenes involved in the pathogenesis of numerous tumours. These are two examples:

- The avian myelomatosis virus, which produces transformation of marrow cells by means of the *v-myc* oncogene. In this case the original non-tumour virus was also the AVL.
- The Harvey and Kirsten sarcoma viruses, which led to the identification of the H-Ras and K-Ras oncogenes.

Currently the list of oncogenes associated with retroviruses exceeds two dozen [14].

Conclusion

Despite the fact that viruses cause only 10–15% of cancers, advances in the understanding of this disease are largely due to research that has been conducted over the past century on tumour viruses. For example, oncogenes were discovered through research into the Rous sarcoma virus.

QUESTION: AT PRESENT, WHAT PROPORTION OF MALIGNANT TUMOURS IN GENERAL HAVE A PROVEN OR PROBABLE CAUSALITY IN A VIRAL INFECTION?

It is accepted that one out of six tumours in the world is probably associated with an infection. It is important to highlight that in the series published on this subject, the sources of information and the criteria for detecting infectious agents are heterogeneous and this conditions the reliable approach to the subject.

The International Agency for Research on Cancer (IARC) in Lyon [15] through the Epidemiology and Infections Group has made significant contributions that underpin some of the current knowledge in this area. In a study by Plummer et al [16], published with data from 2012, it is established that of the 14 million new cases of cancer per year, 2.2 million (15.4%) were attributed to infections. Excluding one bacterium (*Helicobacter pylori* with 770,000 cases), which proved to be predominant, the next four most important infectious agents worldwide were HPV (640,000), Hepatitis B Virus (HBV, 420,000), Hepatitis C Virus (HCV, 170,000) and EBV (120,000). Furthermore, in sub-Saharan Africa, Kaposi's Sarcoma (caused by HHV-8) emerged as the second largest contributor to the cancer burden. In 2008, there were 7.5 million deaths from this type of tumour. Two-thirds of these deaths occur in poor countries. To these can be added the role of certain retroviruses linked to oncogenic capabilities such as HTLV-1 and Human Immunodeficiency Viruses (HIV) [17].

It should be noted that the role of the virus as an aetiological agent of tumours is conditioned by its prevalence, by its detection methods and by the estimation of the attributable risk in exposed populations. The accuracy of the measurement of exposure is critical as it ensures that the different methods for calculating attributable risk provide results that are compatible with reality. The experience of the "Global burden of cancers attributable to liver flukes" group shows that infections capable of becoming carcinogenic have demonstrated that biomarkers that are sensitive and capable of distinguishing high-risk from low-risk infections are essential in elucidating the true strength of their role in cancer [18, 19].

In the light of the contributions made in this regard, it seems appropriate to refer to an assessment of the cancer burden in France in 2015 attributable to infectious agents [20]. The authors conduct a systematic review of representative series on the prevalence of infectious agents in the main associated cancer types. They tracked original studies published up to September 2016 in PubMed and performed a random-effects

meta-analysis. Cancer incidence data were obtained from the French Network of Cancer Registries, allowing the calculation of national incidence estimates in accordance with validated methods. Of the 352,000 new cancer cases in France in 2015, 14,336 (4.1% of all new cancer cases) were attributable to infectious agents. The largest contribution by infectious agents was represented by HPV and *Helicobacter pylori*, responsible for 6,333 and 4,406 new tumour cases (1.8 and 1.3% of all new cancer cases) respectively.

An additional aspect that supports the robustness of the contributions is that three main groups of infectious agents and cancer modalities were used for the estimation of tumours attributable to the infection. Firstly, cancer sites where infectious agents are assumed to contribute to almost 100% of all cases (cervical cancer due to high-risk HPV). Secondly, cancer sites attributable to infection whenever the infectious agent is detected in the tumour tissue using sensitive and validated detection methods (oral, oropharyngeal, anal, laryngeal, vulvar, vaginal and penile cancers due to high-risk HPV; nasopharyngeal cancers, Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphomas due to EBV and - although it is a bacterial infection - gastric MALT lymphoma due to *H. pylori*). Thirdly, cancer cases where infectious agents increase the risk of developing a tumour, but are not responsible for all new cancer cases, even when antibodies to the infectious agent are detected in the serum.

The proportion of new cancer cases in France associated with infectious agents is comparable to that of other high-income countries [21, 22]. The estimates of this study are overall slightly higher (4.1%) than those of the specific analyses for the United Kingdom [21] and Australia [22] in 2010, where gender categorisation showed that 2.5% and 2.4% of all new cancer cases among men were attributable to infectious agents in both countries, respectively, and 3.5% and 3.7% of all new cancer cases among women were also attributable to infectious agents. These differences with previous studies are due, in part, to differences in the risk of infection between areas, as well as differences in what is considered the gold standard for measuring the prevalence of infection in association with specific cancers [23].

There are important global differences, depending on health and sociocultural conditions, in how these infections are responsible for tumour genesis. Thus, in Australia and New Zealand the infectious origin of a cancer is in 3.3% of cases compared to 32.7% in Sub-Saharan Africa [24]. Improving the quality and quantity of knowledge seems essential so as to prioritise preventive programmes and reduce the disease burden.

Conclusion

It is estimated that one in six tumours in the world is probably or demonstrably associated with an infection. The role of viruses as an aetiological agent of tumours is conditioned by their prevalence, detection methods and the estimate of attributable risk in exposed populations. The most relevant agents are HPV, HBV, HCV, EBV and depending on the zone HHV-8, HTLV-1 and the Human Immunodeficiency Viruses.

QUESTION: WHICH ARE THE TUMOURS WITH THE MOST CLEARLY DEMONSTRATED VIRAL AETIOLOGY?

Infections by certain microorganisms (viruses, bacteria, and parasites) are risk factors for developing certain cancers. According to the latest update of the IARC monograph on biological agents associated with cancer, the following microorganisms were classified as carcinogenic (group 1) (Table 1).

In 2016, the estimate of the burden of cancers associated with infectious agents was published [17]. In this estimate, the number of new cases diagnosed in 2012 attributed to the infections previously described in the table by country was calculated by combining the incidence rates of the different cancers with estimates of the attributable fractions of the different infectious agents. The attributable fractions for each infection are calculated with the infection prevalence in cancer cases and the relative risk. These attributable fractions are highly variable depending on the infectious agent and country. Of 14 million new cancer cases diagnosed in 2012, according to GLOBOCAN 2012, 2.2 million (15%) were attributable to infections. This percentage varies greatly by region, from 5% in the USA, Canada, Australia and some European

countries, to over 50% in some Sub-Saharan African countries. The most important infectious agents were *Helicobacter pylori* (770,000 cases), HPV (640,000 cases), HBV (420,000 cases), HCV (170,000 cases) and EBV (120,000 cases). For many of these infections-cancers there are clearly effective preventive strategies such as vaccines and early detection programmes. Vaccination and early detection programmes with treatment should be established to reduce the incidence of these cancers associated with infections.

Conclusion

Overall, 15% of cancers are associated with an infectious causal agent. The most important viral agents according to the number of new cancer cases diagnosed are Human Papilloma Virus, Hepatitis B Virus, Hepatitis C Virus and Epstein-Barr Virus.

There are major differences in the incidence of these tumours according to geographical region and socio-economic development.

Vaccines and early detection programmes could dramatically reduce the incidence of cancer associated with viruses, such as HPV and hepatitis B and C viruses.

Table 1 Infectious agents associated with cancer. Adapted from Monograph 100. Review IARC; The Lancet Oncology. 2009

Group 1. Agent	Cancers with sufficient evidence of association in humans	Cancers with limited evidence of association in humans	Mechanistics
Epstein-Barr virus (EBV)	Nasopharyngeal cancer, Hodgkin's lymphoma, Burkitt's lymphoma	Gastric carcinoma, lymphoepithelioma-like carcinoma	Cell proliferation, apoptosis inhibition, genomic instability, cell migration
Hepatitis B virus (HBV)	Liver cancer	Non-Hodgkin's lymphoma, cholangiocarcinoma	Inflammation, liver cirrhosis, chronic hepatitis
Hepatitis C virus (HCV)	Liver cancer, non-Hodgkin's lymphoma	Cholangiocarcinoma	Inflammation, liver cirrhosis, liver fibrosis
Kaposi's Sarcoma associated Herpesvirus (HHV-8)	Kaposi's sarcoma, primary cavity lymphoma	Castleman's disease	Cell proliferation, apoptosis inhibition, genomic instability, cell migration
Human Immunodeficiency Virus (HIV)	Kaposi's sarcoma, Hodgkin's lymphoma, non-Hodgkin's lymphoma, cancer of the cervix, anus, conjunctiva	Cancer of the vulva, vagina, penis, liver, non-melanoma skin cancer	Immunosuppression (indirect mechanism)
High-risk Human Papillomavirus (HPV)	Carcinoma of the cervix, vulva, vagina, penis, anus, oropharynx, oral cavity and larynx	-	Immortalisation, genomic instability, inhibition of DNA repair response, anti-apoptotic activity
Human T-cell Lymphotropic Virus (HTLV)	Adult T-cell leukaemia and lymphoma	-	Immortalisation and transformation of T-cells
<i>Helicobacter pylori</i>	Gastric Carcinoma	-	Inflammation, oxidative stress, altered cell proliferation and gene expression, mutation, methylation
<i>Clonorchis sinensis</i>	Cholangiocarcinoma	-	Inflammation, oxidative stress, cell proliferation
<i>Opisthorchis viverrini</i>	Cholangiocarcinoma	-	Inflammation, oxidative stress, cell proliferation
<i>Schistosoma haematobium</i>	Urinary Bladder Cancer	-	Inflammation, oxidative stress, cell proliferation

QUESTION: IS IT POSSIBLE TO BROADLY UNDERSTAND THE PATHOGENESIS OF VIRUS-MEDIATED ONCOGENESIS? WHAT ARE BRADFORD HILL'S PRINCIPLES OF CAUSALITY?

As described above, viruses can transform normal cells into tumour cells by activating oncogenes. In some cases, such as Rous Sarcoma Virus, the virus itself contains the oncogene. In others, such as EBV, the virus causes the proliferation of lymphoid cells that eventually remodel their genome so that the expression of the c-Myc oncogene becomes aberrantly high. HPVs integrate pieces of their genome randomly into cells. When these pieces include the oncogenes E6 and E7, they transform the cells, as happens in the vast majority of cervical and some oropharyngeal tumours [2-4, 7, 14, 25-31].

In 1965, Sir Austin Bradford Hill [1] listed nine principles that must be demonstrated epidemiologically in order to establish a causal relationship between an event and the observed effect. Bradford Hill's principles of causality have been used frequently in public health research. None of the principles proves a causal relationship *per se*; the more principles are fulfilled, the more the notion of a causal relationship is strengthened. Of particular relevance was the application of Bradford Hill principles in the demonstration of the causal relationship between tobacco use and cancer.

The following is a list of principles and how they demonstrate the recently proposed cause-and-effect relationship between HPV and oropharyngeal tumours [10]:

1. The power of the association. While a small association does not mean that there is no causal effect, a larger association makes it more plausible. For example, the risk of oral squamous cell cancer is 2.8 times higher in patients infected with certain strains of HPV.

2. Consistency. If the findings of different observers in different populations are consistent, the probability of causality increases. Different independent studies, conducted in entirely different populations, came to the same conclusion about the relationship between HPV and oral cancers.

3. Specificity. HPV is associated with oropharyngeal cancers, where HPV infections have been identified.

4. Temporality. The effect has to occur after the cause. HPV infections precede the development of oropharyngeal tumours. In fact, the longer the infection has lasted, the greater the risk of cancer.

5. Biological gradient. Greater exposure should generally lead to greater incidence of the effect. However, in some cases, the mere presence of the factor can trigger the effect. In the case of HPV infections the gradation is difficult to establish.

6. Plausibility. A mechanism that explains how the cause can generate the possible effect is very useful, although it depends on the state of our knowledge. The fact that HPV contains oncogenes, whose action mechanism is very well characterised, increases the possibilities of a causal relationship.

7. Coherence. Coherence between epidemiological and

laboratory findings increases the likelihood of causality. HPV oncogenes can transform cells in the laboratory.

8. Experimental evidence. It's very much related to the previous point. There is ample experimental evidence of the ability of HPV to direct malignant transformation in various experimental models.

9. Analogy. The effect is seen in analogous situations. Certain oncogenic variants of HPV, such as HPV16, have a clear causal relationship with oral cancer, while very low tumorigenic variants are difficult to find in this type of tumour.

Conclusion

The Bradford Hill principles are a widely used tool for establishing a causal relationship between an event and a disease. Some tumour viruses such as the Human Papilloma Virus meet these criteria and are therefore considered to be the causative agent of cervical and, more recently, oropharyngeal carcinomas.

QUESTION: HOW COULD THE INVOLVEMENT OF HPV IN GENITAL TUMOURS BE SUMMED UP IN FIGURES?

HPV is one of the main causative agents of cancer as it is implicated in 4.5% (640,000 cases) of all new cancer cases worldwide each year (8.6% women; 0.9% men). It is estimated that in 2012 it caused more than half of all cancers attributable to infections in women (570,000 cases) [32]. The vast majority of HPV-related neoplasms develop in the anogenital tract (primarily cancer of the cervix and less frequently cancer of the vagina, vulva, and anus).

Cervical cancer is the fourth most common cancer among women and the fourth leading cause of cancer death worldwide (the second in women aged 15-44). In 2012 the number of new cases was estimated at 528,000 and the number of deaths at 266,000 [33]. More than 84% of the cases are diagnosed in developing countries. The age-standardised incidence rate is 14.0 cases and the mortality rate is 6.8 deaths per 100,000 women/year, with large variations between geographical regions and countries, especially depending on the extent of screening.

All other anogenital cancers that affect both women and men have a lower incidence. Worldwide, 115,000 cases are diagnosed, of which 68,500 are attributable to HPV. In men, 30,000 cases are diagnosed (17,000 in the anus and 13,000 in the penis) and in women 38,500 cases (18,000 in the anus, 8500 in the vulva and 12,000 in the vagina) [32]. In both the penis and the vulva there is a clear distinction between basaloid or "warty" tumours clearly causally related to HPV and keratinizing tumours that are seen at older ages and are not related to HPV. Moreover, in these locations it is also more difficult to establish in which cases HPV is the attributable factor. In this sense, most studies accept in addition to the detection of DNA-HPV in the tumour, other transforming activity markers such as the presence of E6 or E7 mRNA or p16. Based on these data, it is estimated that the

cases attributable to HPV are approximately 88% of anal cancer, 51% of penile cancer, 78% of vaginal cancer, and between 15% and 48% of vulvar cancer [17].

Data on the burden of HPV-related neoplastic disease in 32 countries in Europe have recently been published for 2015. The estimated number of new cases per year for cervical cancer is 34,939 cases, for 31 countries as a whole (assuming that HPV is causative for practically 100% of cases). In vulvar cancer, there are an estimated 9,776 cases (1,554 if we take into account a fraction attributable to HPV of 15.8%). For vaginal cancer, there are an estimated 2,224 cases (1,562 if we have the 70.2% fraction attributable to HPV). In anal cancer, 4,663 cases (2,801 with a fraction attributable to HPV of 87.1%). Finally, for penile cancer, 4,231 cases (1,227 cases with a fraction attributable to HPV of 20.9%) [34].

Although anogenital premalignant lesions are much more frequent than cancer, their lack of recording makes it very difficult to estimate their prevalence. A recent analysis provides data on Europe for 2015. It is estimated that between 263,227 and 503,010 cases of grade 2+ cervical intraepithelial neoplasia (CIN) are diagnosed annually; 1,549 cases in women and 1,097 cases in men of grade 2/3 anal intraepithelial neoplasia (AIN), between 13,997 and 27,773 cases of grade 2 and 3 vulvar intraepithelial neoplasia (VIN), and between 2,596 and 4,751 cases of grade 2 and 3 vaginal intraepithelial neoplasia (VaIN).

High quality cancer incidence data are essential. Such information is currently only available to a small fraction of the world's population. The absence of this information may lead to a misinterpretation of the actual disease burden, as well as to a possible delay or neglect in the implementation of preventive measures or an impossibility to evaluate such measures.

Conclusion

The neoplastic and pre-neoplastic disease burden related to HPV is very high, affecting women in particular.

In Europe, although most countries have cervical cancer screening programmes, HPV-related neoplasms account for more than 53,000 cases annually and pre-cancerous lesions for approximately 680,000 – 844,000 cases.

HPV-related cancers, despite the availability of multiple preventive strategies, remain a major cause of morbidity and mortality in many parts of the world, particularly in less developed countries. A very high fraction of these neoplasms are preventable by screening and detection of precursor lesions and with the currently available vaccines.

QUESTION: WHAT WOULD BE THE IMPACT OF HPV AS A CAUSAL AGENT OF EXTRAGENITAL TUMOURS?

Beyond anogenital locations, HPV is associated with head and neck cancer. The term "head and neck cancer" has been

widely adopted in recent literature to include lesions at several anatomical sites: the lip, oral cavity, nose and sinuses, nasopharynx, oropharynx, hypopharynx, and larynx [35]. HPV is predominantly associated with oropharyngeal cancer and within that with tonsil cancer.

The classic risk factors for head and neck cancer are tobacco and alcohol use, but recent decades have seen an increase in the proportion of HPV-associated oropharyngeal cancer cases. This increase may be due to changes in sexual behaviour as well as a decrease in the prevalence of smoking.

Annually, 24,000 new cases of HPV-associated oropharyngeal cancer are diagnosed in men and 5,500 in women [32]. Globally, the proportion of HPV-associated cases in oropharyngeal cancer is 30% (and of the tonsil about 50%) with a large difference depending on countries-regions, being more than 80% in countries such as the USA or Northern Europe, and less than 10% in countries in Africa or other regions [16, 19]. HPV 16 is the most prevalent type found in more than 80% of HPV-positive tumours. It should be noted that HPV-related oropharyngeal cancers differ from unrelated cancers in both epidemiological and clinical and molecular characteristics. Patients with positive HPV16 tumours appear to have better overall and disease-specific survival compared to the negative group. Laryngeal squamous cell papilloma and recurrent respiratory papillomatosis are well established HPV-induced tumours, primarily 6 and 11.

Conclusion

HPV causes a high proportion of head and neck cancers, particularly those of the oropharynx and within the oropharynx especially those of the tonsil.

QUESTION: IS IT POSSIBLE TO MEASURE THE IMPACT OF THE HEPATITIS B AND C VIRUSES ON THE INCIDENCE OF LIVER TUMOURS?

Within the natural history of chronic hepatitis of viral origin, the chronic hepatitis-cirrhosis-cancer sequence has been well known for decades. This incontrovertible data allows us to pose different questions of great relevance, such as whether it is possible to know the epidemiological impact of this association.

The question is not simple; unlike the unidirectional and almost linear relationship between other types of viral infection and the development of cancer, the oncogenic capacity of hepatotropic viruses is modulated by different factors, as listed below.

i) Cirrhosis is an oncogenic element "per se"

A differential and characteristic data of hepatocellular carcinoma is that in more than 85 % of cases it occurs in a liver affected by cirrhosis. Strikingly, it is common to find hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis of non-viral cause (such as alcoholism and particularly metabolic fatty liver disease). This fact, besides having a marked influence on

Table 2 Incidence of hepatocellular carcinoma in different geographical areas and risk factors						
Geographical region	Adjusted incidence /100,000 inhabitants		Risk factors			
	Male	Female	HCV (%)	HBV (%)	Alcohol (%)	Others (%)
Europe	6.7	2.3	60-70	10-15	20	10
Southern Europe	10.5	3.3				
Northern Europe	4.1	1.8				
North America	6.8	2.3	50-60	20	20	10 (NASH)
Asia and Africa	21.6	8.2	20	70	10	10 (Aflatox)
China	23	9.6				
Japan	20.5	7.8	70	10-20	10	10
Africa	1.6	5.3				
Worldwide	16	6	31	54	15	?

the treatment strategy, indicates that the mechanisms associated with the development of cirrhosis (inflammation, angiogenesis, fibrogenesis, etc.) generate a micro-environment with its own oncogenic potential independent of the viral infection itself.

ii) Each virus has its own oncogenic potential

Regardless of the relatively similar natural history of chronic hepatitis associated with virus B and virus C, both viruses are very different in terms of their own character (DNA or RNA virus), their replicative cycle (with or without integration into the host cell genome) and the different degrees of production of necrosis, oxidative stress, expression of viral proteins etc. Furthermore, the relationship between the intensity of viral replication and the risk of cancer is clearly different; while it is clear in virus B, it does not exist in the case of virus C [36, 37]. Finally, the possibility of liver cancer in patients without cirrhosis is markedly more frequent in patients with hepatitis B, especially in Asia.

iii) There are significant geographical differences

The contribution of the different risk factors linked to the development of hepatocellular carcinoma has clear geographical differences that are related to the most frequent cause(s) of cirrhosis in each area. Thus, the incidence of hepatocellular carcinoma in Europe is mostly associated with patients with cirrhosis due to virus C, while in Asia this association is with virus B (Table 2).

iv) Chronic viral infection is associated with other risk conditions

It is well known that the progression of chronic liver disease is affected by different factors that are often present in patients with viral origin chronic liver disease, such as alcohol consumption, the presence of metabolic syndrome, or tobacco use. It should be noted that they are all well-known co-factors involved in the development of cancer. Therefore, the precise

contribution of each of the factors involved (viral and non-viral) in the development of liver neoplasms is difficult to define [38].

In any case, there is no doubt that both by direct and indirect mechanisms (through the presence of cirrhosis, as mentioned above) the association between hepatotropic viruses and liver cancer is of unquestionable relevance, being possibly responsible for more than 60% of primary liver tumours.

Conclusion

Hepatitis B and C viruses have an undisputed oncogenic power, but their relative role is difficult to ascertain when other independent oncogenic elements such as cirrhosis, fatty liver, alcohol or tobacco are factored in.

QUESTION: WHAT HAVE HTLV-I AND HIV MEANT AS DIRECT OR INDIRECT CANCER-CAUSING AGENTS?

HTLV-1 and HIV are two viruses first described in the 1980s and directly or indirectly involved in human oncogenesis. Both share the same transmission routes (breast milk, sexual relations, blood products), the integration of their genome into the T cell and a long latency period, more pronounced in the HTLV-1, between infection and disease development.

Human T lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)

HTLV-1 infects 10-20 million people worldwide and its main geographical distribution is Japan, the Caribbean, South America and sub-Saharan Africa. Only 5% of infected people develop disease and the 2 conditions that it causes are adult T-cell leukaemia-lymphoma (ATL) and HTLV-1-associated myelopathy or tropical spastic paraparesis [39].

People with HTLV-1 positive serology have a 2-5% risk of

Subtype	Affectation	Leukaemia cells	Hypercalcaemia	LDH	Survival
Acute leukaemia (60%)	Lymphadenopathy Extranodal Visceromegalies	Yes	Yes	Elevated	6 months
Lymphoma (20%)	Lymphadenopathy Extranodal Visceromegalies	No (< 1%)	Yes	Elevated	10 months
Chronicle (15%)	Skin, liver, spleen, lung, lymphadenopathy	Occasionally	No	< 2.5	24 months
Indolent (5%)	Skin, lung	Occasionally (>5%)	No	< 1.5	Years

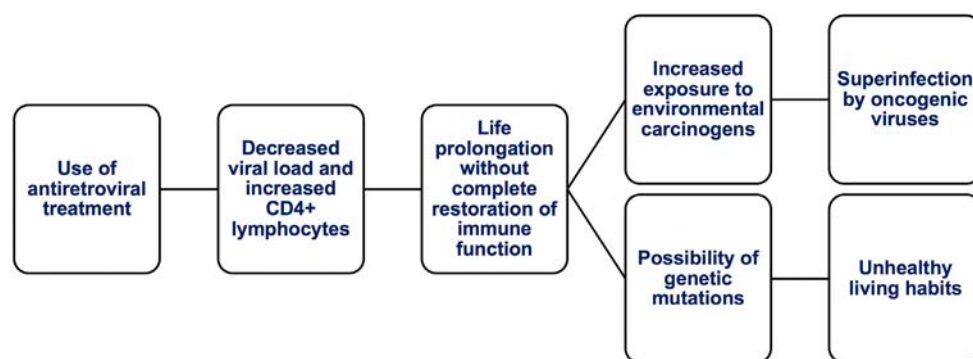


Figure 1 Effects of ART on the immunity that condition the appearance of neoplasms in HIV+ patients under treatment.

developing ATL over their lifetime. The risk is greater in males and typically appears 4–5 decades after infection in subjects who acquire it in childhood, with rare occurrence in those who become infected in adulthood [40].

The HTLV-1 genome is composed of a single strand of RNA that is integrated into the cell. It then expresses 2 oncogenic proteins: the transcriptional transactivator protein (Tax) and the HBZ protein. Both proteins, Tax and HBZ, are specifically and directly involved in oncogenesis with Tax being the initiator of tumour genesis and HBZ being in charge of maintenance [40].

ATL is characterised by a clonal proliferation of CD4+ T cells with the HTLV-1 integrated. These cells, morphologically, have a dentate nucleus with dense chromatin and basophilic (flower-like) cytoplasm. There are 4 clinical forms, the characteristics of which are summarised in Table 3. Treatment is not very effective in any of the stages and, although in aggressive cases there is an initial response with chemotherapy, early relapses with fatal outcomes occur in short periods of time. The combination of AZT with interferon has been used in some patients with variable results.

Human Immunodeficiency Virus (HIV)

The origin of tumour diseases in patients with HIV infection is multifactorial, the most important factors being HIV itself, immunosuppression, co-infection with oncogenic viruses and increased survival due to the use of antiretroviral treatment (ART) (Figure 1). HIV is a necessary but not sufficient condition, as it is not strictly considered an oncogenic virus. However, fragments of its genome have been found in some patients with NHL, and the tat gene appears to be involved in the growth of Kaposi's sarcoma cells. For all these reasons, it is considered an essential agent, but not the only one for the development of the tumours that appear in these patients [43].

Immunosuppression and uncontrolled HIV viremia increase the risk of developing neoplasms, such that an undetectable viral load and CD4+ lymphocytes >500 per mm³ are factors that protect against the development of some tumours, which explains why a decrease in the number of AIDS-defining malignancies (ADM) has been observed with the use of ART. On the other hand, paradoxically, there is an increase in non-AIDS-defining malignancies (NADM) due,

Table 4	Differences and similarities between HTLV-1 and HIV	
	HTLV-1	HIV
Classification	Retrovirus	Retrovirus
Target cell	CD4+ lymphocytes	CD4+ lymphocytes
Mechanism of action	T-cell proliferation and transformation	T-cell death
Genome integration	Yes	Yes
Routes of infection	Sexual	Sexual
	Breastfeeding	Breastfeeding
	Transfusion	Transfusion
Latency	Yes	Yes
Oncogenesis	Direct	Indirect
Associated Neoplasm	Adult T-cell leukaemia-lymphoma	Relationship with ADM and NADM

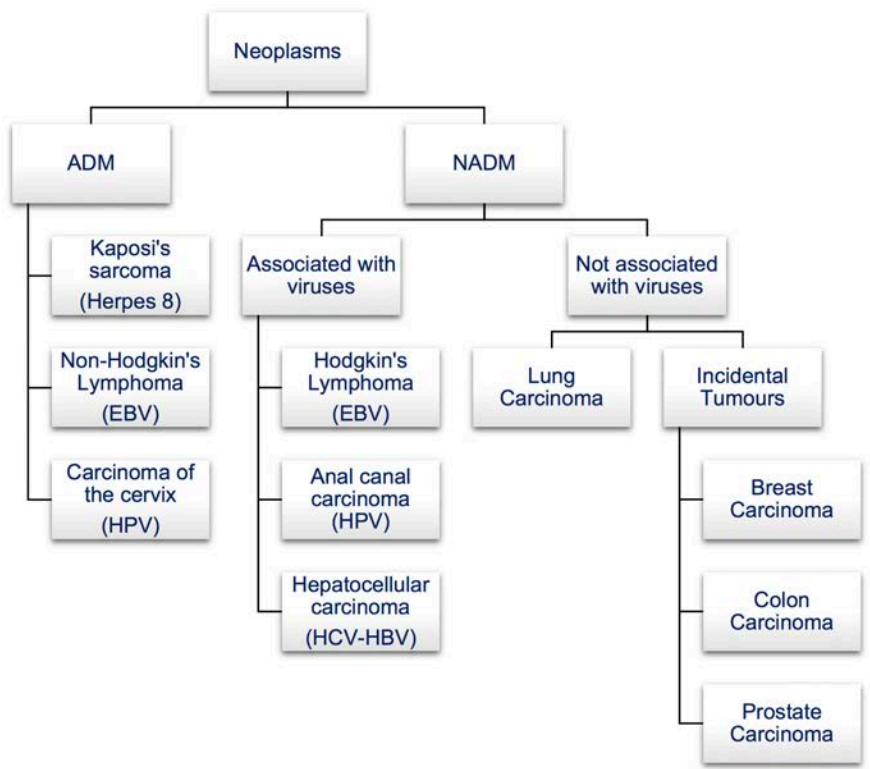


Figure 2 Classification of the tumours that appear in HIV+ patients.

in part, to the increased survival of patients as a result of the use of ART, which prolongs life without completely restoring immune function (Figure 2). All of this conditions a greater exposure to environmental carcinogens (tobacco,

ultraviolet light), a greater possibility of superinfection by oncogenic viruses and an increase in the possibilities of genetic mutations appearing in patients with a family history of cancer, giving rise to the appearance of neoplasms that

in other times did not develop due to the early mortality of the patients (Figure 1) [43, 44].

Another important point is that the presence of HIV causes a persistent stimulation of B lymphocytes, which alters anti-tumour immunity, facilitates the expression of oncogenic genes and allows superinfection by viruses with oncogenic capacity, such as EBV, HHV-8, HBV, HCV or HPV. All ADM are associated with viral diseases, as well as the most frequent ones within NADM except for pulmonary carcinoma directly related to smoking (Figure 2) [44].

Table 4 shows the differences and similarities between HTLV-1 and HIV.

Conclusion

Both viruses, HTLV-I and HIV share the transmission routes, infect CD4+ T-lymphocytes and are involved in human oncogenesis. The HTLV-I in a direct way, originating the T cell Leukaemia-Lymphoma and HIV, favouring the appearance of Tumours, both AIDS defining and non-defining.

QUESTION: WHAT PROPORTION OF HIV PATIENTS WHO DIE DO SO BECAUSE OF AN HIV-ASSOCIATED NEOPLASM?

Since the introduction of ART in 1996, mortality among people living with HIV (PLHIV) has decreased significantly (Figure 3) so that in 2016, 498 people died while in the initial years of the epidemic the numbers were much higher, reaching 5,857 deaths in 1995. However, immune reconstitution is

generally not complete, so patients are exposed to the effects of chronic inflammation and persistent immune activation. Both processes favour the appearance of the so-called non-AIDS diseases, whose importance has progressively increased in recent years and which are one of the main causes of morbidity and mortality among PLHIV. This broad group of diseases includes most comorbidities, which in some cases become more important than the HIV infection itself. Among other processes, cardiovascular pathology, renal disease, osteoporosis and bone fractures, neurocognitive impairment and tumour pathology stand out.

Malignant neoplasms are a major cause of hospitalisation and death in PLHIV as a result of ART use and a decrease in opportunistic infections. Today, cancer can be diagnosed in 25-40% of patients, and while in the pre-ART era only 10% of deaths were of tumour origin, now up to 30% are. In our environment, according to data from the CORIS cohort, neoplasms were the most frequent cause of death by non-AIDS diseases between 2004 and 2015. In this same study it is important to note that 38.2% of the tumours diagnosed were AIDS-defining malignancies (ADM) and 61.8% were non-AIDS-defining malignancies (NADM) (Table 5) [45].

At the EACS Congress, the results obtained from the review of neoplasms diagnosed from 1986 to 2018 in a Spanish centre were communicated [46]. 643 out of 5,411 patients (12%) suffered at least one neoplasm. NADM increased over time with a decrease in the ADM/NADM ratio (Figure 4). 101 patients (15.9%) died due to tumour progression, with higher mortality among NADM 25.3% vs. ADM 10.6% ($p < 0.001$). The highest mortality was seen in tumours of the pancreas (90%), lung (68%) and colon (69%).

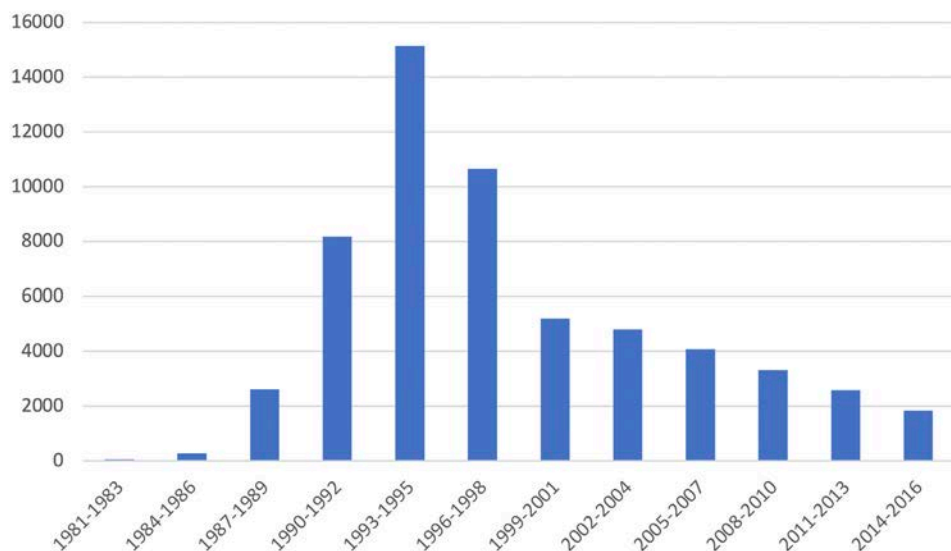


Figure 3 Evolution of mortality in people living with HIV in Spain from 1991 to 2016 (data taken from the National Institute of Statistics)

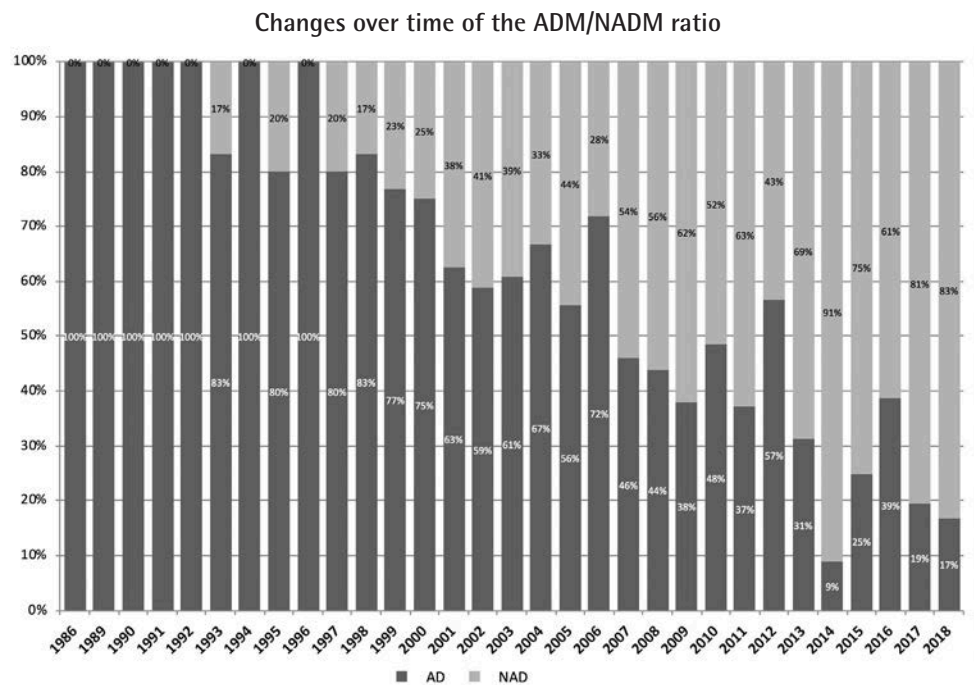


Figure 4 Changes observed over time in the AIDS-defining malignancies (ADM) / non-AIDS-defining malignancies (NADM) ratio

Table 5 Mortality of tumour origin in different series of people living with HIV			
Author	Study	Years	Results
Gotti et al [49]	Analysis of survival	1998-2012	866 tumours were diagnosed in 13,388 patients: - 435 ADM (51%) - 431 NADM (49%) 40% deaths due to tumour at the end of the analysis
Trepka et al [50]	Mortality	2000-2014	Monitoring of 89,171 PLHIV Died due to cancer - 419 females (8.2%) - 1,062 males (9.1%)
Cevallos et al [51]	Mortality	2007-2014	1,999 patients died (11.7%) - 336 due to NADM (16.8%) - 115 due to ADM (5.8%)
Croxford et al [52]	Mortality	2016	There were 206 deaths among 38,700 patients NADM resulted in 40 deaths (19.4%)

Another Spanish group [47] analysed the mortality in 157 PLHIV and found that 56 deaths were directly related to AIDS and 13 of them (23.2%) were due to a ADM. In the same series another 86 deaths occurred due to non-AIDS related processes and 14 (16.4%) were as a result of a NADM. Therefore, the overall mortality due to a neoplasm in this series was 17%.

In other series outside our scope, the results are similar. Thus, Engels et al [48] found that approximately 10% of deaths in PLHIV receiving ART during the period 1995 to 2009 were due to a neoplasm with a progressive increase over time. A large proportion of the deaths were due to non-Hodgkin's lymphomas, lung cancer and hepatocellular carcinoma. As in our environment, it is observed that deaths due to NADM are

increasing in importance while there is a decrease in the number of deaths due to AIDS itself.

All these studies show a decrease in mortality from AIDS-indicating diseases and a predominance of deaths from non-AIDS diseases in recent years, with neoplasms being one of the most frequent causes in all the series, even though the patients are on ART and virologically suppressed.

In Table 1 we see reflected the importance of death of tumour origin in PLHIV in other series different from those described in the text

Conclusion

Non-AIDS defining malignancies are one of the most frequent causes of death in HIV-infected patients despite the fact that the sick receive effective antiretroviral treatment.

QUESTION: WHAT IS THE INVOLVEMENT OF HERPESVIRUS IN THE CAUSALITY OF CANCER?

The human herpes virus (HHV) group includes herpes simplex virus (HSV) 1 and 2, varicella zoster virus (VZV), cytomegalovirus (CMV), Epstein Barr Virus (EBV), HHV-6, 7 and 8. In general, they are characterised by producing primary infection at an early age and subsequently establishing latency in different tissues, from which they are able to reactivate, producing clinical manifestations again. In Table 6 we have summarised their most frequent clinical manifestations, including the tumour processes with which they have been associated.

Involvement in tumour processes is well established for EBV and HHV-8, and we will devote most of our review to them [53-55]. The rest of the herpes viruses are not considered to directly cause any type of cancer, although their role as co-factors is discussed. For example, there is some evidence to suggest that HSV-2 may increase the risk of cervical cancer after HPV infection and that it may play a role in the tumour genesis of serous ovarian carcinoma and in some prostate tumours [56]. Associations between HHV6 and different tumours have also been sought, but these have not yet been confirmed.

We will focus on the **involvement of EBV in the development of tumour processes**. EBV is the primary agent of infectious mononucleosis. It establishes latency asymptotically in virtually all adults, in B cells, T cells, epithelial cells and myocytes and usually does not cause a cytopathic effect. However, it shows a clear ability to transform cells and is associated with the development of B-cell lymphomas, T-cell lymphomas, Hodgkin's lymphomas and nasopharyngeal and other head and neck carcinomas [57]. In transplant recipients, it produces a Post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD) that can be very aggressive [58].

- **Burkitt's lymphoma (BL)**, is the most common childhood malignancy in equatorial Africa (8-10 cases/105 annually) [57] and characteristically affects the jaw. The relationship between BL and EBV is practically 100% in endemic cases, 10-80% in sporadic cases and 30-40% in HIV-related cases. The cells usu-

ally express EBNA and CD20. It is considered that malaria may also be a co-factor in the production of this tumour, although the mechanism is not clear (immunosuppression of specific T cells, increased EBV viral load, or favouring reactivation of the virus in B lymphocytes, among other theories).

- **Nasopharyngeal carcinoma** is a rare tumour in most parts of the world, except in southern China, where it is one of the most common cancers [59]. Unlike Burkitt's lymphoma, EBV is present in all anaplastic nasopharyngeal carcinoma cells, in both high- and low-incidence areas [60]. However, other co-factors are necessary (exposure to environmental carcinogens in food, genetic alterations, etc.), since the seroprevalence of EBV infection is much higher than the incidence of the tumour. Nasopharyngeal carcinoma cells express dormant proteins of EBV, including EBNA-1 and two membrane proteins, LMP-1 and LMP-2, along with the BamHI-A fragment of the EBV genome.

- HIV+ patients have a **lymphoma** incidence 60-100 times higher than expected and 70% of them are associated to EBV infection, usually of monoclonal origin. The profound immunosuppression of these patients facilitates the failure of EBV control by decreasing specific cytotoxic lymphocytes. **Non-Hodgkin's lymphomas** in HIV+ patients often affect the CNS. In B-cell lymphomas, EBV-coded proteins promote cell immortalisation and proliferation by stimulating the NF- κ B pathway and increasing the expression of anti-apoptotic genes. In HIV+ children, EBV infection has been linked to the development of **smooth muscle tumours** (leiomyoma and leiomyosarcoma). The non-Hodgkin's lymphoma most frequently associated with EBV is diffuse large cell.

- As early as the 1980s it was shown that the EBV genome is found in more than 50% of **Hodgkin's lymphomas**, including Reed-Sternberg cells [61]. It is also demonstrated in patients with HL-induced hemophagocytic syndrome. The proportion of HL with EBV is even higher in children under 10. The two most frequent markers in HL are EBER-1 and the latent membrane protein (LMP) [53].

- EBV infection is also associated with **T-cell lymphomas**, including fulminant forms of T-cell lymphoma after acute EBV infection. In the context of mature T/NK lymphomas, with the possible exception of extranodal NK/T cell lymphoma, the role played by EBV infection is even more complex than in B lymphomas and exceeds the intention of this review. It has been proposed that the type of infected cell, the EBV viral load in plasma, and the degree of viral lymphatic replication have prognostic value in T/NK cell lymphomas.

- Another lymphoma associated with EBV infection is **nasal angiocentric lymphoma**, which is endemic in Asia, Central and South America. This tumour affects the nasal septum, palate, gastrointestinal tract and, less frequently, the skin, testicles and peripheral nerves. EBV is detected in virtually all neoplastic cells that are probably derived from NK cells [62].

- PTLD is associated in most cases with EBV. The term includes a continuum of abnormalities ranging from benign polyclonal B-cell proliferation to malignant B-cell lymphoma. In these disorders the virus directly induces the transformation of *naïve* or mature mem-

Table 6	Taxonomy of Human Herpes Viruses and the diseases they cause	
Subfamily	Species	Related diseases (in bold for tumour diseases)
<i>Alfa-herpesvirinae</i>	Herpes Simplex	Herpes labialis
	HSV-Type 1	Herpetic stomatitis, encephalitis
	HSV-Type 2	Genital herpes, encephalitis
	Varicella-Zoster	Chickenpox Herpes Zoster
<i>Beta-herpesvirinae</i>	Cytomegalovirus	Pneumonia, hepatitis, viral syndrome, etc.
	Herpesvirus 6	Exanthema subitum
	Herpesvirus 7	
<i>Gamma-herpesvirinae</i>	Epstein Barr	Infectious mononucleosis, Burkitt's lymphoma , nasopharyngeal carcinoma , Hodgkin's lymphoma , PTLD , diffuse large-cell B-cell lymphoma , angioimmunoblastic T-cell lymphoma , NK nasal T-cell lymphoma , plasmablastic lymphoma ,...
	Herpesvirus 8	Kaposi's sarcoma Castleman's disease Cavity Lymphoma

ory cells. The frequency of PTLD is related to post-transplant immunosuppression and is more frequent in EBV-negative recipients who develop primary infection, and therefore in transplanted children. Recovery of T-immunity or administration of specific T-cells (adoptive immunity) will bring the disease back.

- Other entities related to this virus are **hemophagocytic lymphohistiocytosis**, **lymphomatoid granulomatosis** or **X-linked lymphoproliferative disease**.

The treatment of all these tumours does not include the administration of antivirals since the cells are not in the lytic cycle, which is necessary for Acyclovir to be effective. The usefulness of cell therapy with specific cytotoxic T-lymphocytes against EBV and Rituximab is being studied.

Conclusion

Among herpes viruses the association with the development of neoplasms is well established for EBV and HHV-8. EBV is capable of promoting tumour transformation in multiple cells and is associated, among others, with B-cell lymphomas, including Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphomas, T-cell lymphomas, nasopharyngeal carcinomas, other head and neck carcinomas, and post-transplantation lymphoproliferative disease.

QUESTION: WHAT IS THE RELATIONSHIP BETWEEN KAPOSI'S SARCOMA AND HERPES VIRUS?

Kaposi's sarcoma (KS) is an angioproliferative tumour

and one of the clearest examples of a tumour that requires infection by a virus and that is also modulated by the patient's immune status. The pathogenesis of the tumour requires infection with human herpesvirus 8 (HHV-8), also called Kaposi's sarcoma associated herpesvirus (KSHV)[63]. It is named after Moritz Kaposi, a Hungarian dermatologist who first described the entity in 1872.

Before briefly describing some of the characteristics of the KS, it should be noted that the HHV8 also causes two other tumours: **cavity lymphoma or primary effusion lymphoma (PEL)** and **Castleman's disease**. Cavity lymphoma is a B-cell non-Hodgkin's lymphoma that has a preference for the peritoneal, pleural, and pericardial spaces. Castleman's disease is also a very rare lymphoproliferative disorder that causes fever, splenomegaly, hepatomegaly, and lymphadenopathy, and can affect both HIV-negative and HIV-positive patients.

KS is characterised by vessel proliferation (angiogenesis), accompanied by inflammation and proliferation of spindle cells. HHV-8 infects the cells and the gene products of the virus influence both the regulation of the cell cycle and the control of apoptosis. The infection induces a disordered proliferation of cells that mostly do not express a lytic cycle, but a latent infection. In addition, the function of the tumour suppressor genes is interrupted and recognition by the host immune system is prevented, thus promoting tumour growth. By performing a PCR in the biopsy, it is possible to amplify viral DNA sequences and also to identify, using immunohistochemistry, latent viral antigen in spindle cells (membrane proteins).

Four types of KS are recognised depending on the type of patients affected: 1) Classic or sporadic KS, which corre-

sponds to the form originally described by Kaposi and which is extraordinarily rare (0.03% per year among HIV-positive males over 50 in the Mediterranean area). It usually occurs in males over 50-60 years of age and mainly affects people from the Mediterranean area (Sardinia, Sicily, etc.) or with Jewish ancestry; 2) Endemic KS prevalent in sub-Saharan Africa before the AIDS epidemic. It affects children and adults and it is believed that continuous exposure to certain types of soil facilitates the appearance of the disease; 3) iatrogenic KS, associated with the use of immunosuppressants and described mainly in solid organ transplant recipients; 4) finally, AIDS-associated KS (epidemic KS) [64]. With better control of the AIDS epidemic, incidence in the US has dropped from rates that reached 47 cases per year per million people. Since then, Kaposi's sarcoma has become less common, producing about 6 cases per million people each year. The different epidemiological and clinical aspects of these four types are summarised in Table 7.

Infection with the HHV8 virus is a necessary condition for the development of KS, but not sufficient, since other cofactors are required for its appearance, such as genetic predisposition (sporadic form), and above all immunosuppression, either iatrogenic (organ transplant) or due to HIV infection. Thus, the prevalence of seropositivity in the population is much higher than that of Kaposi's sarcoma.

The most common **clinical presentation** of KS, especially in the early stages of the tumour, is **skin and mucosal** lesions. It is characterised by the appearance of raised violet lesions that mainly affect the lower extremities, the face (especially the nose), the oral mucosa and the genitals. They may be accompanied by significant oedema, reflecting vascular obstruction by lymphadenopathy or the action of cytokines involved in the pathogenesis of the tumour. Oral lesions appear in one-third of patients and mainly affect the gums and palate and may interfere with nutrition and speech. It is important to

remember that KS can also have **extracutaneous manifestations**, mainly in advanced stages, affecting mainly the gastrointestinal and respiratory tracts. The gastrointestinal system is now less frequently affected. Its diagnosis is difficult in the absence of concomitant skin lesions. Clinical manifestations of gastrointestinal KS include weight loss, abdominal pain, nausea and vomiting, gastrointestinal bleeding, malabsorption, intestinal obstruction, and diarrhoea. As for lung disease, it can appear with highly variable radiological findings, including nodules, single or multiple, interstitial or alveolar infiltrates, pleural effusion, adenopathy or solitary nodules. The diagnosis is based on the characteristic appearance of the lesions in endoscopy or bronchoscopy and is confirmed by biopsy.

The incidence of KS in **solid organ transplant recipients** is 0-5-1% and represents approximately 6% of post-transplant tumours, excluding skin cancer. This incidence is much higher than that of the general population and is justified by the chronic immunosuppression required by transplant patients. Although KS is mostly described in HIV-positive patients, primary infection after transplantation has been shown to be the most important risk factor in our environment [65]. This primary infection can be acquired through the transplanted organ, or through the administration of blood products or other routes. About half of the KS diagnosed in transplant recipients respond only by reducing immunosuppression, or by switching to Sirolimus (Rapamycin) which has anti-tumour and anti-angiogenic effects [66].

In the patient with HIV infection, KS has been described in all risk groups, although with a higher incidence among homosexual or bisexual men, in relation to a higher seropositivity rate among these patients (close to 40%) [67]. KS rates in some studies reached 18%-50% 10 years after the diagnosis of HIV infection, if the CD4 figure was <200 cells/mm³ [68]. However, although the rate of HHV-8 infection has not changed, early

Table 7 Classification of the different Kaposi's Sarcoma

Type	Risk groups	Cutaneous involvement	Profound involvement (visceral)	Evolution
CLASSIC (Sporadic)	Male/Female 3:1 Age>60 Mediterranean, Central or Eastern European or Middle Eastern origin	Distal lower limbs	Rarely	Normally indolent Rare rapidly progressive
ENDEMIC (Africa)	Adult males; children of both sexes. Equatorial Africa	Similar to classic (sometimes more aggressive, with adult lymphoedema)	Children: deep ganglia and organs Adults: more rare	Indolent or locally invasive in adults Aggressive in children
IATROGENIC Immunosuppression	Exogenous IS, SOT Age >50 Cyclosporin A	Distal lower limbs or scattered	Common	May disappear on modification of IS. May be aggressive
AIDS-related	MSM in developed countries Heterosexual men and women in Africa	Localised or scattered	Common if poorly controlled HIV	Aggressive or indolent. May disappear with HIV control

MSM: men who have sex with men; IS: immunosuppression; SOT: solid organ transplant

and effective antiretroviral treatment has significantly reduced the frequency of this tumour. The standardised incidence rate (SIR) for Kaposi's sarcoma compared to the general population was 22,100, and declined to 3,640 with widespread use of antiretroviral treatment [69].

Some HIV+ patients with Kaposi's sarcoma present with a **systemic inflammatory syndrome due to cytokine release** (KICS) that is characterised by fever, gastrointestinal, respiratory and neurological manifestations and is associated with an elevated KSHV tumour load.

Treatment of KS depends on the extent of the tumour and its location and symptoms. As with solid organ transplant recipients, HIV-positive patients may respond to immune recovery from the initiation of highly active antiretroviral therapy (HAART), although others may also require local or systemic chemotherapy. It has also been observed that KS is less frequent in patients who have received Ganciclovir or Foscarnet, demonstrating the relative sensitivity of the virus to these antivirals. The relative survival over five years is over 75%.

Conclusion

Kaposi's Sarcoma is a tumour that requires prior infection with Human Herpes Virus type 8 as a necessary, but not sufficient, cause. Tumour development requires associated factors that may be genetic or due to immunosuppression. It exists in four clinical versions: Classic, Endemic, Iatrogenic or HIV-associated Kaposi's Sarcoma.

QUESTION: DO MICROORGANISMS OTHER THAN VIRUSES HAVE AN ONCOGENIC ROLE?

Viruses are certainly the most oncogenic infectious agents. However, there are other non-viral microorganisms that are clearly related. A bacterium: *Helicobacter pylori*; and three parasites (the so-called "Oriental liver flukes"): *Schistosoma haematobium*, *Clonorchis sinensis* and *Opisthorchis viverrini*, are classified in Group I of carcinogens by the International Agency for Research on Cancer

Cancer-related bacteria

-*Helicobacter pylori* is a helical bacillus that lives exclusively in the human gastric epithelium. *H. pylori* infection can cause inflammation of the gastric mucosa that can progress, leading to gastritis, peptic ulcers and mucous-associated lymphoid tissue lymphoma (MALT). Because of its spiral shape, it can literally "screw itself in" to colonize the stomach epithelium, in addition to having the urease that allows it to neutralise its acidic environment. The bacteria generates free radicals, injects a cytotoxin known as CagA that alters the structure of the cells lining the stomach and generates locally high levels of molecules signalling inflammation such as TNF-alpha or interleukin 6 that could induce mutation of the epithelial cells of the stomach. *Tropheryma whipplei*, another bacteria in the digestive tract that causes Whipple's disease, may be associated in a similar way with neoplasms.

Salmonella typhi has been linked with hepatobiliary and gall bladder tumours and -*Chlamydia pneumoniae* and *Mycobacterium tuberculosis* have been linked with lung cancer.

Chronic Bacterial Osteomyelitis and hidradenitis suppurativa are associated with squamous cell carcinoma of the skin also [70-74].

Cancer-related parasites

Millions of people in the world, especially those living in the tropics, suffer from some form of parasitic disease. The oncogenic role of certain parasites has been known for many decades. Three parasites, trematode helminths, cause urinary or hepatobiliary tumours [75, 76]:

-*Schistosoma haematobium* is very prevalent in sub-Saharan Africa and is a major cause of urinary bladder carcinoma. The disease is acquired after skin contact with fresh water infected with larvae. Adults invade the urinary venous plexuses and the eggs are expelled with the urine after passing through the bladder wall, causing haematuria, fibrosis and calcifications. Granulomas form on the wall of the bladder and evolve into nodules or masses that ulcerate, degenerating into both benign and malignant tumours. In addition, bladder lesions may increase the exposure of the epithelium to carcinogenic substances. *Schistosoma japonicum* may be oncogenic and produce colorectal cancer [77].

-*Clonorchis sinensis* is very prevalent in South East Asia (China, Thailand, Korea, Vietnam, Laos and Cambodia) and *Opisthorchis viverrini* (also found in Russia), to a lesser extent, causes cholangiocarcinoma [78, 79]. The disease is acquired by eating raw freshwater fish. Adults invade the bile ducts and occasionally the gallbladder and pancreatic duct, where they cause cholangitis and cholecystitis and can lead to cirrhosis. In massive and chronic infections, inflammation, scaling, metaplasia and ductal fibrosis can degenerate into cholangiocarcinoma and liver carcinoma, especially in patients exposed to carcinogenic agents such as nitrosamines. *Opisthorchis felinus* could perhaps be equally oncogenic.

- Other parasites may have a putative or indirect oncogenic role. The association between *Plasmodium falciparum* and the Epstein-Barr virus is not entirely clear in the oncogenesis of Burkitt's lymphoma in Africa. *Toxoplasma gondii* has been detected in some patients with intraocular lymphoma. *Strongyloides stercoralis* may be associated with gastric lymphoma and adenocarcinoma of the colon.

-A new form of neoplasm associated with a parasite, namely *Hymenolepis nana*, has been reported in 2015 in an immunosuppressed patient: the transformation of the parasite into a tumour that subsequently spreads [80]. It is the first and only known case of a person suffering from cancer originating from a parasite (the cancer cells were not human but parasitic).

But, how can a parasite cause cancer? Adult helminths are constantly moving, burrowing and laying eggs that secrete toxic proteins; the host tries to get rid of them, which induces chronic inflammation that can eventually degenerate into metaplasia.

However, some parasites may be protective in tumour genesis, inducing apoptosis phenomena and inhibiting signals of inflammatory regulation and angiogenesis. Certain proteins excreted by *Fasciola hepatica*, *Echinococcus granulosus*, *Trichinella spiralis*, *Toxoplasma gondii*, and *Trypanosoma cruzi* are capable of inhibiting tumour cell growth *in vitro*, and may be used as anti-cancer therapy in the future.

Conclusion:

A bacterium: *Helicobacter pylori*; and three parasites: *Schistosoma haematobium*, *Clonorchis sinensis* and *Opisthorchis viverrini*, are classified in Group I of carcinogens by the International Agency for Research on Cancer. *Helicobacter pylori* is clearly associated with gastric cancer and mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma (MALT).

Some parasites such as *Schistosoma haematobium*, *Clonorchis sinensis* and *Opisthorchis viverrini* are classified by the WHO as group 1 oncogenic agents (those of proven aetiology). Other parasites have a less defined role such as *Plasmodium falciparum*.

A new and exceptional human tumour disease has been described after the transformation of *Hymenolepis nana* into a tumour.

QUESTION: COULD THE CONCEPTS OF ONCOGEN AND ONCOPROTEINS BE SUMMARISED? AND THE CONCEPT OF GENOMIC INSTABILITY?

Studies on chicken sarcoma in the first decade of the 20th century suggested that the origin of the tumours was viral. For example, pioneering studies by Peyton Rous showed how filtering pulverized chicken sarcoma through a sieve that did not allow cells to pass, only viruses, then injecting the extract, transmitted the sarcoma to the recipient chicken. Throughout almost two thirds of the century this viral theory of the origin of cancer was the main driving force behind cancer research and, in fact, a good number of viruses capable of triggering tumour processes were found. As oncologist Ludwik Gross said in 1970, "*The viral origin of most malignant tumours has already been documented beyond any reasonable doubt. It would be quite difficult to assume a fundamentally different aetiology for human tumours*" [81]. However, some observations did not fit with this model. For example, trying to explain the high incidence of tumours among miners, the Japanese pathologist Katsuburo Yamagiwa [82] observed that repeated exposure of the skin to charcoal induced sarcomas in rabbits. This suggested that the carbon must have some chemical agent that induced a change in the animal's skin cells, and made them grow out of control, but how?

The answer finally came in the 1980s with the discovery of **oncogenes**. The concept of oncogenes derives from the presence of genes that are mutated in tumour cells, and which are responsible for transforming them into malignant ones.

These genes perform normal functions in the cell such as stimulating growth, increasing survival, or defining identity. However, the presence of certain mutations in them means that, once translated into protein, they have an altered capacity capable of transforming a normal cell into a malignant one. The genes that, once mutated, give rise to oncogenes are called **proto-oncogenes**, and the proteins that are generated from these are called **oncoproteins**. The discovery of the first oncogene was published in 1982 by 3 independent laboratories, those directed by the doctors Robert Weinberg, Michael Wigler and the Spaniard Mariano Barbacid, [83] who managed to sequence transforming oncogenes isolated from bladder cancer cells [84].

The first oncogene discovered was *RAS*, which we know today is a family of genes whose function is to regulate cell growth in response to growth factors. Many others were later discovered, notable cases such as *MYC* or cyclin E (*CCNE*) which, as in the case of *SAR*, control cell growth. We now know that many of the oncogenes are related to genes that control cell growth in such a way that oncogenic mutations promote the uncontrolled proliferation characteristic of tumours. While for several decades it was thought that most oncogenes were related to cell proliferation or their increased survival, tumour genome sequencing studies revealed, not without surprise, that in fact the class of genes most represented among oncogenes are those related to chromatin and epigenetics. Although in many cases we still do not fully understand how these alterations in epigenetic-related genes can trigger tumour processes, the most accepted idea is that these mutations change the identity of cells and generate undifferentiated states. This undifferentiated cell, which has lost its identity, is the one that subsequently -and thanks also to other mutations that promote its growth- gives rise to tumours. As expected, oncogenic mutations are often targets of tumour treatments, and the development of drugs that target all types of oncogenes, including those epigenetic-related genes, is currently a very active field within drug development and new anti-tumour therapies.

In addition to the presence of oncogenes, another characteristic present in practically all tumour cells is genomic instability. First described by Teodor Boveri at the beginning of the 20th century [85], genomic instability is defined as the presence of genomes with multiple chromosomal aberrations in tumour cells such as: the gain or loss of entire chromosomes, chromosomal translocations, or the loss or duplication of regions of one or more chromosomes. Genomic instability is caused by failures in DNA replication [86] or in the distribution of chromosomes during mitosis, processes that are often involved in tumour cells. Furthermore, it has recently been discovered that oncogenes are also a source of genomic instability, as they promote abnormal replication that leads to DNA damage. Fortunately, all cells have mechanisms that suppress genomic instability and normal cells keep their genome stable. The fact that genomic instability is a distinctive feature of tumour cells has opened the door to anti-tumour strategies based on selectively killing cells with genomic instability. One

known example is the poly(ADP)-ribose polymerase (PARP) inhibitors that have been shown to be effective in killing tumour cells with deficiencies in DNA repair in breast, ovarian and prostate tumours [87]. Another alternative that is now being clinically studied, and in which the laboratory of one of us played an important role, is that of ATR kinase inhibitors, which are mainly responsible for the type of genomic instability initiated by oncogenes [88].

Conclusion

Both the presence of oncogenes and genomic instability are features of tumour cells that distinguish them from normal cells, and thus they are being exploited for the development of therapies capable of selectively killing cancer cells.

QUESTION: WHAT PROPORTION OF CANCER DEATHS CAUSED BY VIRUSES COULD BE PREVENTED BY EXISTING VACCINES?

Cancer mortality series offer an uneven picture between regions of the world, due to the multiplicity of factors involved in their genesis. A global approach estimates that about 1.5 million cancer deaths could be avoided annually if the underlying infections that led to the development of the tumour were prevented or treated [17,22,89].

A pioneering contribution in this area is that of Catherine de Martel et al [89] who published their analysis of the incidence of 27 types of cancer in 184 countries in *Lancet Oncology* in 2012, describing the fact that two thirds of these deaths occur in less developed countries. These authors carried out an analysis to estimate the proportion of cancers globally that could be attributed to infections and have calculated, by categorising the planet into eight regions, the population that could be affected by new tumours and which could have been prevented by a specific intervention against exposure. They point out that of the 12.7 million new cancers worldwide in 2008, about 2 million were attributable to infections, and of these, 1.6 million (80%) were in developing countries. Of the 7.5 million deaths that occurred in 2008 attributable to an oncological process, an estimated 1.5 million were due to potentially preventable and treatable infections. An upwardly weighted estimate of 172 deaths worldwide could be prevented every hour from tumours caused by infectious agents potentially preventable by immunisation.

There are significant contrasts between different areas of the planet in how these infections are responsible for oncogenesis. Thus, in Australia and New Zealand the infectious origin of a cancer is identified in 3.3% of cases compared to 32.7% in Sub-Saharan Africa. In women, cervical cancer accounted for approximately half of the cancer burden related to infection; in men, liver and gastric cancers accounted for more than 80%. About 30%

of cases attributable to infections occur in people under 50. In a smaller scope, a Spanish group has been able to describe, in a series of 190,203 cervical smears collected between 2012 and 2014, in women screened for Human Papillomavirus (HPV) in Castilla y León, that its prevalence in foreign women was 23.51%, significantly higher than in Spanish women (9.6%; $p < 0.001$) and that the presence of morphological changes in the foreign women was also higher [90].

The application of preventive public health methods which already exist, such as vaccines (or anti-infective treatments in another conceptual framework), could have a significant effect on the global burden of cancer in the future. In the specific field of viral agents, it is worth noting that we already have vaccines with proven effectiveness against HPV and Hepatitis B Virus (HBV) [91,92]. "Increasing vaccine coverage should be a priority for health systems in high-burden countries," as G Danaei [93] states in an editorial accompanying the aforementioned study [89].

A significant proportion of cancer cases attributable to infections can be prevented through improvements in vaccination and screening programmes. Expansion of vaccination (for HBV and HPV), screening and treatment programmes (e.g., for Hepatitis C Virus -HCV-) could greatly reduce mortality due to them.

An additional aspect of vaccination programmes is to describe their acceptance by the population, to carry out economic assessment studies that verify their suitability and availability from the perspective of the social funder, and to establish their accessibility.

In developed countries, in the context of patients co-infected with the Human Immunodeficiency Virus (HIV), very suggestive lines of work have been established by De Martel and Plummer's own group [94]. These authors indicate that, although HPV and hepatotropic viruses such as HBV and HCV do not represent a differentiated weight in this category of patients in the USA, they do constitute the Human Herpesvirus-8 (HHV-8) at the expense of its aetiological involvement in Kaposi's Sarcoma and Epstein-Barr Virus (EBV) due to its causal relationship with lymphoid pathology. There is no doubt that the research applied to vaccines that can be extended to the *Herpesviridae* family will represent a decisive impulse towards minimising their impact on patients co-infected with HIV.

Conclusion

Cancer mortality series offer an uneven picture between regions of the world, due to the multiplicity of factors involved in their genesis. From a global perspective, at a low estimate, around one and a half million deaths from cancer (of which two thirds occur in underdeveloped countries) could be avoided each year if the underlying infections that led to tumour development were prevented or treated.

QUESTION: WHAT IMPACT IN NUMBERS HAS HPV VACCINATION HAD ON REDUCING FEMALE GENITAL CANCER?

Vaccines against human papillomavirus (HPV) induce an elevated production of antibodies capable of neutralising the virus and preventing infection of the anogenital tract and, therefore, the possible development of precancerous lesions and cancer. Given the natural history of infection, which requires years or decades from initiation to development of cancer, protection against persistent infection and pre-malignant lesions is considered a surrogate marker of protection against cancer.

More than 10 years after the commercialisation of HPV vaccines, many studies provide data on their effectiveness (effectiveness in the general population and in real life) [95-99]. The fact that there is a reduction in the prevalence of vaccine genotypes or a reduction in the rate of pre-malignant lesions in the vaccinated population is certainly indicative of protection against cancer.

A recent systematic review and meta-analysis assesses the population-level impact of vaccine effectiveness in the real-world setting. Since 2007, a total of 99 countries and territories have initiated vaccination programmes. In 2016, WHO expanded the recommendation in favour of promoting the vaccination of multiple cohorts of girls over single-cohort vaccination. The analysis of 1,702 potential articles allowed the final inclusion of 65 articles carried out in 14 high-income countries (23 articles to assess HPV infection, 29 for anogenital warts and 13 for CIN2+ lesions). This meta-analysis of over 60 million individuals and 8 years of post-vaccination follow-up provides compelling evidence of the substantial impact of vaccination programmes on reducing HPV infection, and the diagnosis of anogenital warts and CIN2+ lesions [100].

Specifically, the prevalence of HPV 16 and 18 decreased significantly by 83% (RR 0-17, 95% CI 0-11-0-25) among girls aged 13-19, and 66% (RR 0-34, 95% CI 0-23-0-49) among women aged 20-24. Also, the prevalence of HPV 31, 33 and 45 decreased significantly by 54% (RR 0-46, 95% CI 0-33-0-66) among girls aged 13-19 years. Five to nine years after vaccination, diagnosis of CIN2+ lesions decreased significantly by 51% (RR 0-49, 95% CI 0-42-0-58) among girls aged 15-19 years and by 31% (RR 0-69, 95% CI 0-57-0-84) among women aged 20-24 years.

This meta-analysis demonstrates a stronger and faster direct impact, as well as a herd effect, in countries with high coverage and which included multiple vaccine cohorts. Therefore, these real-world data confirm that both the cause (high-risk HPV infection) and the immediate pre-cancer condition (CIN2+) are decreasing significantly among vaccinated populations and therefore the vaccine is effective in preventing cervical and other HPV-related cancers [100].

Another recent study in the U.S. assessed the type of HPV present in cytology samples from women aged 20-29 years assessed at Kaiser Permanente Northwest in 2007 and in two

periods of the vaccine era: 2012-2013 and 2015-2016. The prevalence of vaccine HPV types went from 13.1% in 2007 to 2.9% in 2015-2016. After 9-10 years from the introduction of the vaccine, the prevalence of HPV vaccine types decreased by 78% among 20-24 years old and by 38% among 25-29 years old. This decrease was observed in both vaccinated and unvaccinated women, which is evidence of both direct and herd protection [101].

In the same vein, data from Scotland from nine cohorts of women aged 20 years have been published to evaluate the effectiveness of the bivalent vaccine in preventing precancerous lesions. The analysis confirms an 89% reduction in prevalent CIN3+; an 88% reduction in CIN2+; and a 79% reduction in CIN1 in vaccinated women born in 1995 and 1996 compared to unvaccinated women born in 1988. Unvaccinated women also showed a lower prevalence of CIN3+ lesions, supporting a herd protection effect. Because of this effect, a reduction in HPV 16/18 infections would not only impact women themselves but also the overall network of sexual relationships between men and women. The fact that the vaccination programme reduced all types of CIN3+ lesions, and not only those related to types 16 and 18 included in the bivalent vaccine, indicates strong cross-protection against other common oncogenic types such as HPV 31/33/45, in accordance with previous clinical trials [102].

Finally, data from registries showing a decrease in cervical cancer are still at a very early stage. Specifically, in Finland, monitoring of cancer registries in vaccinated women in clinical trials and their comparison with unvaccinated cohorts (period 2002/2007-2015) confirms that not a single case was diagnosed in the vaccinated cohort versus 10 cases of HPV-related cancer in the unvaccinated cohort (8 cases of cervical cancer, one vulvar cancer and one oropharyngeal cancer). However, in this analysis the vaccinated and unvaccinated cohorts were not comparable, which limits the interpretation of the data [97].

Another study of the annual incidence of invasive cervical cancer in the United States compares the four years prior to the introduction of the vaccine (2003-2006) with the vaccine era (2011-2014). There was a significant 29% reduction in average annual incidence rates during the study period (6.0 versus 8.4 per 1,000,000 people, rate ratio = 0.71, 95% CI: 0.64-0.80) among women aged 15 to 24 years, and 13.0% lower among women 25 to 34 years. During these years, vaccine coverage increased to 55.3% in the younger cohorts. Although incidence rates had already declined prior to the introduction of the vaccine, these strongly declining data suggest that it may be partly attributable to the introduction of the HPV vaccine [98].

In relation to the impact on non-genital tumours, in the case of both anal and oropharyngeal cancer, more than 80% of HPV-associated cases are caused by HPV16, and more than 90% by at least one of the types 16/18/31/33/45/52/58/6/11. The currently available vaccines would have a very high reduction impact on these two types of cancer.

Conclusion

Studies show that with high vaccine coverage (vaccination of more than half of the female population), the burden of HPV infection and related precancerous lesions can be significantly reduced.

The cross-protection against other types not included in the vaccine and the herd effect significantly expand the effect of the vaccines and confer protection to unvaccinated people.

QUESTION: IN AN IDEAL WORLD IN WHICH HEPATITIS C IS ERADICATED, COULD WE ESTIMATE THE DECREASE IN MORTALITY ATTRIBUTABLE TO LIVER TUMOURS? WHAT WOULD BE THE IMPACT ON TUMOUR MORTALITY IN A WORLD WHERE HEPATITIS B VACCINATION WAS UNIVERSAL?

The question posed is an interesting "epidemiology-fiction" exercise of great future importance and of enormous potential value in terms of public health.

The theoretical substrate of the question is essentially based on the fact that there is no reservoir other than human beings for viruses B and C, which encourages the logical hope that their elimination (by the implantation of universal vaccination or by means of antiviral treatment applied to all possible patients) would be capable of clearly attenuating, even until its disappearance, liver diseases associated with chronic viral infection, including primary liver cancer. This attractive concept would be particularly true in an ideal scenario of no new patients with hepatitis B due to vaccination, although the risk of cancer would persist in those patients already infected, in whom screening would still be essential

However, there are several elements that mitigate the undoubted potential impact on the incidence of hepatocellular carcinoma.

i) In patients with advanced hepatitis C, viral suppression does not negate the risk of liver disease progression

Different studies have clearly shown that the sustained viral response in patients treated with direct antivirals has a marked effect on the progression of liver disease in patients in the early stages of infection and that it reduces the risk of complications in patients with more advanced disease. However, in patients with significant portal hypertension (over 10 mmHg), i.e. those with more advanced disease and at risk of developing complications of cirrhosis, antiviral treatment fails to lower portal pressure below the risk threshold in a significant proportion of patients, the higher it is, the greater the degree of deterioration. Therefore, the risk of developing hepatocellular carcinoma (clearly influenced by the presence of cirrhosis with severe portal hypertension) is not eliminated despite the elimination of the virus in patients with advanced disease.

Therefore, as long as there are patients treated in whom there is basically advanced fibrosis, the risk of developing hepatocellular carcinoma is not zero. There are no data, however, to quantify the safe threshold of fibrosis below which screening would not be necessary

ii) Is antiviral treatment of hepatitis C capable of triggering hepatocellular carcinoma?

This is a very controversial issue arising from the observation in a Spanish multicentre study of an increased frequency of hepatocellular carcinoma recurrence and in its severity in patients with hepatocellular carcinoma treated with radical intent and who immediately afterwards received antiviral treatment for hepatitis C. The researchers speculated about the possible impact of the abrupt suppression of the chronic immune response associated with the cure of the C virus infection with a loss of "anti-tumour surveillance" mediated by immune system cells. Information for and against this hypothesis has emerged since this study. In general, it can be considered that anti-viral treatment does not per se increase the risk of developing hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis with no known tumour. However, delaying the attempt to eradicate the virus in patients recently treated for hepatocellular carcinoma is recommended [103-106].

iii) There are other causes of cirrhosis and hepatocellular carcinoma

As discussed in previous questions, the presence of cirrhosis per se, regardless of its cause, is a pro-oncogenic factor. This is extremely important in patients who are carriers of fatty metabolic liver disease, which is a real epidemic in the Western world. Strikingly, this disease, whose pathogenic complexity and systemic inflammatory substrate are widely known, has its own pro-oncogenic mechanisms. From the epidemiological point of view, it is important to note that patients with hepatocellular carcinoma associated with fatty metabolic liver disease are more frequently observed than in other non-cirrhotic liver aetiologies, are diagnosed in more advanced stages, and are therefore less likely to receive treatment with curative intent. The future impact in terms of increased incidence of hepatocellular carcinoma associated with this disease is not known with certainty, but if the forecasts of increased prevalence worldwide are true, a dramatic increase can be expected in the medium term. In fact, recent studies [107] clearly reinforce this trend.

Ultimately, the impact of a universal elimination of hepatotropic viruses on the development of liver cancer would be of great importance, although it would not completely eliminate this dreaded disease

Conclusion

In patients with hepatitis C, treated and cured medically, the risk of hepatocellular carcinoma does not disappear and therefore surveillance must be continued.

The hypothetical disappearance of chronic hepatitis B and C virus infections would have an enormous impact on the decrease in liver tumours, which we are unable to put a figure on at present.

QUESTION: IS THERE A PROSPECT FOR AN EPSTEIN-BARR VIRUS VACCINATION?

The relationship between viruses and cancer is clearly underestimated and little known, both at the professional level and at the population level, despite such strong data as the fact that the second carcinogen demonstrated worldwide at present is a virus (HPV) [108-115].

Successful and widespread vaccines have been achieved against HBV and HPV, but a widespread vaccine against EBV remains elusive. EBV, as already mentioned, is an oncogenic virus as proven by its association with Burkitt's lymphoma and its ability to transform B cells in vitro [116], through the expression of Epstein-Barr nuclear antigens (EBNA) and latent membrane protein (LMP). EBV-infected cells are also capable of withstanding the cellular lysis of acute infection and this also contributes to neoplastic development.

The lifelong persistence of EBV in humans is a complex multi-step process that begins with infection of the oropharynx, and culminates in the maintenance of EBV in circulating memory B cells. EBV probably uses the normal B-cell differentiation pathway to achieve persistence because it is able to implement various latency and lytic transcription programmes, assuming different antigenic states within infected individuals. However, despite the wide variety of antigens that predominate throughout the EBV life cycle, EBV candidate vaccines have traditionally focused on only a limited number of EBV antigens [117].

Both therapeutic and prophylactic vaccines have been explored.

Therapeutic vaccines aim to enhance and maintain the immune response in patients with EBV-associated disorders and have been studied mainly in nasopharyngeal carcinoma using dendritic cells with specific CD8 epitopes against LMP2 and using the MVA (Modified Vaccinia Ankara) platform including LMP2 and EBNA 1 antigens [118-120]. The data suggests that tumour growth can be controlled by the immune system [121,122]. These studies have led to trials with different therapeutic vaccines that have been well tolerated and the results of phase I and II trials are encouraging but suggest that they are not in themselves the solution for nasopharyngeal carcinoma (the main carcinoma on which these types of vaccines have been tested) as they have an effect on only a low proportion of patients and on a temporary basis [123-126].

The largest number of studies have focused on prophylactic vaccines.

In 1995, a first test was performed with the recombinant attenuated virus itself and did not induce antibodies in seropositive adults. The experts, faced with these results, decided that vaccination was not an appropriate approach to control this virus

Over the past two decades, trials have been based on glycoprotein 350, which led to a phase II trial with a sample size of 181 people. With a three-dose protocol, antibodies re-

mained for 18 months and the incidence of infectious mononucleosis was reduced by 78% but the vaccine did not reduce the risk of acquiring EBV infection [117].

Work has also been done with a vaccine based on glycoprotein 350 for its pre-kidney transplant application in children that was not very immunogenic [127,128].

Similar data were obtained to the Phase II trial with a vaccine using the toxoid conjugated EBNA3 nuclear antigen designed to elicit specific T-cell responses to EBV, but it also failed to prevent EBV infection. It should be noted that this vaccine is very simple to perform due to the simplicity of the antigen [129].

Antigen-antibody conjugates, or antigen-armed antibodies (AgAbs), which specifically deliver antigenic peptides to antigenic cells [130], have also been used as vaccine candidates without conclusive results.

EBV antigens have also been introduced in virus-like particles [107, 108] and in self-assembling nanoparticles. These platforms allow monomeric antigens to be similar to EBV, but as they lack DNA they are not infectious. Chimeric viruses are also achieved by the fusion of EBV antigens with the structural proteins of Newcastle disease virus. In these structures, for example, gp350 induces a greater response to vaccination [116, 131-137].

All these studies leave us a long way from achieving an effective vaccine against EBV and its primary diseases and, more importantly, against its ability to induce tumour processes.

Conclusion

Despite promising results, neither therapeutically oriented vaccines for nasopharyngeal carcinoma nor preventive vaccines to avoid primary infection by EBV have yet demonstrated sufficient levels of protection to be considered close to market entry.

QUESTION: WHAT ARE ONCOLYTIC VIRUSES? WHAT ARE THE PROSPECTS FOR TREATMENT WITH THEM?

An oncolytic virus is a virus that preferentially infects and kills cancer cells. As the infected cancer cells are destroyed, the oncolysis releases new viral particles that help destroy the remaining tumour.

The potential of viruses as anti-cancer agents was first discovered in the early 20th century, although coordinated research efforts did not begin until the 1960s. Several viruses, including adenovirus, reovirus, measles virus, HVS, Newcastle disease virus, and others, have been clinically tested as oncolytic agents.

Most current oncolytic viruses are designed to be selective against tumour cells, although there are naturally occurring examples, such as Reovirus and Senecavirus, that have been used in clinical trials.

The acquisition of virus selectivity by the tumour cell can be obtained by modifying the proteins of the viral capsid, giving it a high selectivity by the tumour cells. It can also be achieved by modifying the virus genome so that replication only takes place inside the tumour cell. This is achieved either by modifying the transcription in the target cell, or by attenuation, which involves introducing deletions in the viral genome to favour its entry into the tumour cells and eliminate its ability to penetrate healthy cells. It is also possible to introduce genes into oncolytic viruses that encode the synthesis of endostatin and angiostatin, natural proteins that inhibit angiogenesis, with the consequent necrosis of the tumour.

Oncolytic viruses not only cause direct destruction of tumour cells, but also stimulate the host's anti-tumour immune system responses. Most are genetically modified to increase tumour tropism and reduce virulence for non-neoplastic host cells [138]. Thus, they can stimulate a pro-inflammatory environment by improving antigen release/recognition and subsequent immune activation to counteract immune evasion by malignant cells. In fact, oncological viruses also aim to take advantage of the tumour's tolerance mechanisms, which can facilitate viral infection and the death of cells that are not protected by the immune system. This allows for a theoretical domino effect involving chained viral transfer between the neoplastic cells and increased immune activation.

There are currently numerous viral species in different stages of research for immuno-oncological use. Possibly the best studied so far are herpes viruses, of which some strains have been found to have a tropism for natural tumour cells while others have been designed to improve selectivity [139-143]. Initial scans using herpes have shown promising results in murine glioblastoma. Additional efficacy has been seen in prostate cancer, using a recombinant smallpox-vaccine virus capable of regulating prostate-specific antigen and the expression of three co-stimulating factors involved in the presence of the antigen and activation of T cells [144, 145]. In addition, several strains of recombinant vaccine virus have shown promise as antineoplastic agents. One strain has anti-tumour angiogenesis, another has shown efficacy against hepatocellular carcinoma in animal models and the third improves the recognition of tumour cells [146-149]. Other viruses have been or are being explored as possible vehicles of immunomodulation in cancer, such as Newcastle disease virus, coxsackievirus, reovirus, and even the measles virus [150-153].

Among those approved for treatment by the FDA is Talimogene laherparepvec (OncoVEX GM-CSF), also known as T-vec, from Amgen which successfully completed phase III trials for advanced melanoma in March 2013. In October 2015, the U.S. Food and Drug Administration approved T-vec, under the brand name Imlygic®, for the treatment of melanoma in patients with inoperable tumours, becoming the first approved oncolytic agent in the Western world. It is based on the Herpes simplex virus (HSV-1). It has also been tested in a Phase I trial for pancreatic cancer and in a Phase III trial in head and neck cancer along with chemotherapy and radiotherapy with cisplatin.

Oncolytic viruses are generally associated therapeutically with other therapeutic strategies such as association with checkpoint inhibitors, Ipilimumab, Pembrolizumab, Atezolizumab, anti-tumour lymphocytes (CAR-T) or associations of oncolytic viruses with tumour epitopes: vaccines.

Clinical trials with oncolytic viruses in entities as different as colorectal cancer, glioblastoma, tumours with widespread metastases, pancreatic cancer, bladder cancer, ovarian cancer or primary tumours of the peritoneum are underway and represent a hope for the therapeutic future of these malignancies.

Conclusion

Oncolytic viruses are natural viruses, or artificially engineered in the laboratory, with selective tropism for tumour cells. They belong to different viral groups, acting selectively with different action mechanisms. Some have been approved for clinical use in humans and are already being used in some tumours, usually in association with chemotherapy or monoclonal antibodies.

QUESTION: WHAT IS THE COST TO HEALTH CARE SYSTEMS OF TUMOURS DUE TO VIRUSES THAT COULD HAVE BEEN AVOIDED? WHAT ROLE SHOULD HEALTH AUTHORITIES PLAY IN APPROACHING THIS ISSUE?

In addition to the human cost of cancer, the financial cost is considerable. Direct costs include treatment expenses as well as the cost of care and rehabilitation. Indirect costs include the loss of economic output due to work lost and premature death. There are also costs that are difficult to quantify such as non-medical costs. The exact global cost of cancer is unknown but is expected to increase due to the increase in the number of new cancer cases, as well as the rising cost of cancer therapies [17,154,155].

The health authorities must act on this issue, fundamentally modifying the prevention of risk factors and implementing preventive strategies.

The risk factors for the most immediate intervention are the decrease in genital HPV infections where, among other means, it is possible to intervene with vaccines and vaccination and the treatment of hepatitis virus infections [156,157].

Conclusion

The expenditure associated with cancers caused by infectious agents and particularly by viruses is difficult to quantify, but is high and clearly increasing.

The health authorities can intervene by means of prevention and vaccination campaigns, preferably with vaccination against HPV and Hepatitis B and through the treatment of Hepatitis C.

QUESTION: IS THE PRESS AWARE OF THIS ISSUE? WHAT ROLE SHOULD IT PLAY?

Over the last ten years, the press and media have reduced the resources, spaces and personnel dedicated to generating, producing and writing health and medical content as a result of the economic crisis that affected them both through the closure of companies and newspaper titles, as well as through financial adjustments and staff cuts.

Training and specialisation levels have also been reduced in the health, sanitation and science sections for the same reasons.

Despite the variability of the economic crisis, the media have not recovered lost ground and continue to be immersed in situations of weakness and economic-financial fragility.

The impact of new technologies -no longer so new- and the possibilities they have offered for opening up the publication of content to society, as well as the appearance of new communication channels, have posed a risk for the media and threat of loss or dissolution of their preponderant role as the central and principal reference of information for society, having to compete with platforms such as the internet -in its broadest facet of distribution of all kinds of products-, social networks and so-called citizen journalism.

Despite these circumstances, the press and media have placed cancer and everything related to this disease at the forefront of relevance and interest with respect to health and healthcare issues and content, giving it a media prominence above other diseases, with a broad and compact informative approach that considers angles and approaches ranging from health policy, the variety of tumours, the role of patients, research and scientific advances, the work of medical-scientific societies and the oncology sector, the activity of health or pharmaceutical centres and companies, the commemoration of World Days, etc.

"Journalism loves cancer" would be the quick and easy headline.

Having thus explained and exposed the prominence of cancer in the press and media with a broad, diversified and comprehensive scope, it must also be said that viruses, infections, their prognosis, their effects and their medical and social impact as a public health issue are also a subject of strong media coverage, such as flu, AIDS and hepatitis.

However - and here we have the paradox of two related worlds that are disconnected both in the media and in society -, despite the many studies and evidence that link and concatenate the viruses with cancer, the information, dissemination, knowledge and content provided by the media in their health and cancer information to society hardly connect these two aspects, unlike others such as cancer-smoking, or cancer-ageing.

The role of vaccines, at a time when the anti-vaccine movements are rearming and advancing, first on social networks and then in society, is also decisive in this issue, and

while the big question in the popular imagination continues to be whether a cancer vaccine will ever be discovered, medicine has some that serve to curb certain tumours.

Thus, the press and the media neither transmit nor have great knowledge about the binomial subject of study of this Symposium; they do not dedicate special time, space, resources or contents (informative or educational) to this specific angle of the many news stories they publish about cancer.

We suggest, therefore, some measures from the media to report on cancer and viruses

- Include in the news coverage on cancer - which is widespread and frequent - information related to its relationship with viruses, either as emergent or underlying information. It is an aspect that matters to society and so the media should not ignore it.
- Investigate and activate content on the virus / cancer binomial from the editorial planning boards, with reliable and specialised sources.
- To broaden the sense of disclosure on medicine, diseases, prevention and research, beyond the information resulting from announcements, reports or campaigns; and to emphasise this treatment of the contents.
- Combat health and cancer myths and 'fake news' with rigorous, clear and accurate verification practices to stop confusion, poor news and information gaps.
- The press and media are undoubtedly committed to the fight against cancer and include news coverage in their agendas and work strategies, but the relationship between oncological diseases and viruses must have greater incidence, reach, development and presence.

Conclusion

Despite frequent and relevant information in the media about cancer on the one hand and viral infections on the other, information about the association between viruses and cancer in the media rarely connects these two aspects, unlike others such as cancer-smoking or cancer-ageing.

QUESTION: HOW IS THE VIRUS CANCER RELATIONSHIP EXPERIENCED, FROM THE PERSPECTIVE OF THE SPANISH PATIENTS WITH CANCER GROUP, GEPAC?

The Virus and Cancer association is little known by the population and information from cancer patient associations is also partial and deficient in this respect. Therefore, a great deal of educational and informative work remains to be done in this area. This absence often forces one to turn to "Doctor Google" for information, which can lead to misinformation, since one does not know which sites are reliable, or does not have sufficient knowledge to fully understand and interpret the data that appear.

Probably what resonates most with patients, families and society at large are associations such as HPV, HBV or HIV and cancer. According to the U.S. National Cancer Institute, "Certain infectious germs, including viruses, bacteria and parasites, can cause cancer or increase the risk of tumour formation. Also, some infections weaken the immune system, making the body less able to fight other infections that cause cancer. Some viruses, bacteria and parasites also cause chronic inflammation that can lead to cancer [158-160].

With no knowledge of these basic facts, it should not be surprising that the social demand and requirement by patients and associations for adequate vaccines, when they exist, is also not of an appropriate intensity. It is often ignored that protection with a condom is not always sufficient for the prevention of all types of sexually transmitted viruses, in addition to limiting sexual partners.

GEPAC wants to highlight the need for sex education for the prevention of STDs, to teach safe sexual practices, care for personal health and our sexual partners. If we are informed, we know all the ways of contagion and we are aware of the importance of medical check-ups if we live in dangerous situations; we can reduce the number of people affected by this type of illness.

It should be noted that most of the viruses that can pose a cancer risk can be transmitted through certain body fluids or blood. And not only that, this type of virus and thus disease, in addition to the health problems they entail, are linked to psychological repercussions that will depend on the severity of your situation, symptoms and treatment received.

In addition, it can lead to anxiety, depression, or feelings of guilt or fear of criticism due to the social stigma. Perhaps guilt is the most difficult emotion to handle in a situation where the contraction of a virus seems to be linked to risky sexual practices.

For all these reasons, we can conclude that only by educating young people and working with the groups most at risk will we be able to have informed adults in the future and thus reduce cases of infection.

Conclusion

Patient associations should contribute to the dissemination of the relationship between viruses and cancer and of existing preventive measures, including vaccines, which have been shown to be effective in preventing avoidable cancers.

QUESTION: WHAT ARE THE REFLECTIONS ON THE VIRUS CANCER RELATIONSHIP FROM AN ETHICAL PERSPECTIVE?

Classical medical training, the one we received in medical schools, has been and is the victim of a bias that vitiates many of our approaches to issues such as the one raised here, that of the relationship between viruses and cancer. It is a bias

that did not exist in classical medicine but has become invasive since the early 19th century. The advances in experimental research made it possible from that moment on to describe with great precision the pathognomonic symptoms of some diseases, almost at the same time as their causal agents were found. Think, for example, of the microorganisms that were identified by the dozens in the late 19th century, and which led to the utopia of thinking that each morbid species would be produced by a specific agent: meningitis by meningococcus, pneumonia by pneumococcus, etc. On the other hand, the advances in experimental pharmacology allowed the identification of the first "specific" drugs that acted against the aetiological agents that produced diseases, leaving all other organic structures unharmed. It was the dream of Béchamp's "atoxyl" and Ehrlich's "magic bullets".

At the heart of all this was an unconscious presupposition, that of "specificity". Diseases were species like those in botany and zoology. A catalogue of diseases similar to Linnaeus's *Systema Naturæ*, the catalogue of "morbid species", could therefore be drawn up. Each of them would have a "specific aetiology", which, for example, microbiology would discover, and "specific therapeutics" would also begin to be found, which by attacking the cause of the disease, would restore the state of health. It was therefore a linear process, starting with a specific cause, continuing with the clinical picture of a morbid species and ending with the application of a specific treatment. It was the chain of specificity. The role of medicine was to find the remedies, usually pharmacological, that would act on the specific agent and allow "restitutio ad integrum". A paradigmatic example of this is pulmonary tuberculosis. The clinical picture of this disease, which was very common at the time of the industrial revolution, was described with great precision by the great masters of the anatomical clinical method, including Laënnec. Koch identified the bacillus that caused it, and later, in the mid-20th century, the first specific treatment, streptomycin, was developed. From that moment on, every doctor knew what he had to do: use that antibiotic, and the tuberculosis and TB drugs that came soon after, to kill the Koch bacillus and thus cure the disease.

But the example of tuberculosis is very illustrative of the limitations of this way of understanding the disease. I still remember the debates about tuberculosis from my time as a medical student in the 1960s. Could it be said that TB was caused by Koch's bacillus? Wasn't it also true that pauperism, malnutrition, poor hygiene, etc., played a role? What was the cause of the tuberculosis? Was it just one or was it many? And how to articulate them?

I have brought this example to mind because it is very illustrative of the way in which school medicine has understood illness, and because it expresses very well the so-called "chain of specificity". TB is caused by Koch's bacillus. If we eradicated it, there would be no pulmonary tuberculosis, even with pauperism, malnutrition, etc. These, on the other hand, are not strictly medical issues, but social ones.

Let us now turn to our problem, that of viruses and can-

cer. It is clear that cancer is the result of genetic dysregulation. This alteration is produced by various agents, including viruses. If we were able to eliminate these or correct the alterations, they produce in the genome by means of gene editing techniques, some, if not all, of the important types of cancer would disappear. That is the goal of medicine, and that is the aim of the research being done today. It is, again, the linear scheme, the chain of specificity.

Things are, however, more complex. There is no single causal factor. In fact, this term should disappear from our vocabulary, or at least become a discreet second term. Cause is what necessarily produces an effect, so that even if all the concomitant factors were to disappear, the effect would be produced by it alone. Something impossible to affirm in the empirical world. What we know are not causes, even if they seem to be, but functional correlations. In fact, all experimental research aims to identify them as precisely as possible. They are correlations, not causes. And among these correlations, there is no doubt that the Koch bacillus plays an important role, but so do immunity and environmental conditions, etc. In fact, not every person infected with Koch's bacillus develops tuberculosis.

Rather than establishing a linear relationship between cause, clinical picture and therapy, it is necessary to make use of more complex schemes, of a circular or at least spiral nature. In the genesis of cancer, endogenous factors intervene, such as the genome we have, but also exogenous factors. The fact is that viruses are some of those exogenous factors that infect cells and alter their genetic information. There are many other exogenous factors that produce similar results. Think of radiation, for example, or tobacco. These are the factors that can be called direct. But there are many other indirect factors. Thus, tobacco is a direct agent in the case of certain lung cancers but acts as an indirect agent in hepatocellular carcinoma. And along with tobacco and alcohol, place sexual habits in the case of infection by the human papillomavirus, food habits in fatty liver and the increased likelihood of liver cancer, etc.

The conclusion of all this already long journey is that life habits are important factors in the genesis of cancer, in some cases indirectly, through viruses, and in others directly. This seems elementary, but it is far from clear, not only in the population, but even among doctors. We believe that what is important is the control of the gene alterations that trigger uncontrolled cell reproduction, and that the other is not a question of medicine. And we lose sight of the fact that rather than being curative, medicine should be preventative. The dizzying increase in its therapeutic capacity is making us forget this primary truth. The primary role of the physician is not cure but prevention; health education is preferable. Otherwise, we arrive at the absurdity that we live and suffer every day. This is the case of the diabetic who eats cakes because this can be fixed by increasing the dose of insulin, or the loss of respect for HIV because we already have effective therapies.

Prevention, or rather, health education, is not just about information. That is one of the great mistakes that have be-

come almost universal. Educating is far more difficult and complicated than informing. Education is always about knowing how to manage one's own life autonomously and prudently. It's knowing how to make the right decisions. Or to put it another way, it's making the choices we have to make. And here's the ethics. The aim of this discipline is none other than to teach us how to make decisions, the right decisions, so that we do what we have to do. The big question of ethics is always the same: what should I do? And there can only be one answer: among all the possible courses of action in a given situation, only the decision that leads to the optimal course is good or correct, that is, the one which adheres to the values at stake most and injures them least. Only the optimum course is good. Everything else is bad. A good surgeon is the one who performs the best possible operation, and a good judge is the one who passes the best possible sentence, etc. To know how to do this, and do it well, is to be educated. This is not easy, because the human mind is full of dark areas, those that Freud called unconscious, that skew our decisions without us noticing. Good education is the art of managing all these factors properly so that our decisions are the best they can possibly be. This, and no other, is the goal of ethics.

Conclusion

Even though cancer does have a genetic basis, the triggers, including viruses, are always external to the genome itself. A very common mentality in medicine leads to linear thinking, reducing the aetiology to the genetic disorder and the therapy to the correction of that disorder. However, things are more complicated. The genome itself is the result of interactions with the environment, meaning that health depends not only on the genome but also on our lifestyle. And that is precisely the objective of ethics: to educate in the prudent and responsible management of the body, health, life and death.

REFERENCES

1. Hill AB. The Environment and Disease: Association or causation? *Proc R Soc Med*. 1965;58:295-300. PMID: 14283879
2. Martin D, Gutkind JS. Human tumor-associated viruses and new insights into the molecular mechanisms of cancer. *Oncogene*. 2008;27 Suppl 2:S31-42. DOI: 10.1038/onc.2009.351
3. Mukherjee S. Cancer, Our Genes, And The Anxiety Of Risk-Based Medicine. *Health affairs (Project Hope)*. 2018;37(5):817-20. DOI: 10.1377/hlthaff.2018.0344
4. Weinberg RA. *The Biology of Cancer*. The Biology of Cancer, second edition. 2013. :
5. Rubin H, Temin HM, Rubin H, Temin HM, Temin HM, Rubin H, et al. Infection with the Rous sarcoma virus in vitro. A radiological study of cell-virus interaction in the Rous sarcoma. Characteristics of an assay for Rous sarcoma virus and Rous sarcoma cells in tissue culture. A kinetic study of infection of chick embryo cells in vitro by Rous sarcoma virus. *Fed Proc*. 1958;17(4):994-1003. DOI: 10.1016/0042-6822(59)90178-3.

6. Rubin H, Temin HM. A radiological study of cell-virus interaction in the Rous sarcoma. *Virology*. 1959;7(1):75-91. DOI: 10.1016/0042-6822(59)90178-3
7. DiMaio D, Liao JB. Human papillomaviruses and cervical cancer. *Adv Virus Res*. 2006;66:125-59. DOI: 10.1016/s0065-3527(06)66003-x
8. Stone RS, Shope RE, Moore DH. Electron microscope study of the development of the papilloma virus in the skin of the rabbit. *J Exp Med*. 1959;110(4):543-6. DOI: 10.1084/jem.110.4.543
9. Moore DH, Stone RS, Shope RE, Gelber D. Ultrastructure and site of formation of rabbit papilloma virus. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1959;101(3):575-8. DOI: 10.3181/00379727-101-25022
10. Raj AT, Patil S, Gupta AA, Rajkumar C, Awan KH. Reviewing the role of human papillomavirus in oral cancer using the Bradford Hill criteria of causation. *Disease-a-month : DM*. 2019;65(6):155-63. DOI: 10.1016/j.disamonth.2018.09.007
11. Varmus HE, Guntaka RV, Fan WJ, Heasley S, Bishop JM. Synthesis of viral DNA in the cytoplasm of duck embryo fibroblasts and in enucleated cells after infection by avian sarcoma virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1974;71(10):3874-8. DOI: 10.1073/pnas.71.10.3874
12. Bishop JM, Quintrell N, Medeiros E, Varmus HE. Of birds and mice and men: comments on the use of animal models and molecular hybridization in the search for human tumor viruses. *Cancer*. 1974;34(4 Suppl):suppl:1421-6. DOI: 10.1002/1097-0142(197410)34:8+<1421::aid-cn-cr2820340813>3.0.co;2-O
13. Varmus HE, Heasley S, Bishop JM. Use of DNA-DNA annealing to detect new virus-specific DNA sequences in chicken embryo fibroblasts after infection by avian sarcoma virus. *J Virol*. 1974;14(4):895-903. DOI: 10.1016/s0022-5367(74)90033-7
14. Brower V. Connecting viruses to cancer: how research moves from association to causation. *J Natl Cancer Inst*. 2004;96(4):256-7. DOI: 10.1093/jnci/96.4.256
15. Organization. IAFRoCWH. Section of Infections Infections and Cancer Epidemiology Group Rationale. [cited 10 April 2021] <https://www.iarcfr/research-groups-inf-ice-rationale/>. 2019.
16. Plummer M, de Martel C, Vignat J, Ferlay J, Bray F, Franceschi S. Global burden of cancers attributable to infections in 2012: a synthetic analysis. *Lancet Glob Health*. 2016;4(9):e609-16. DOI: 10.1016/s2214-109x(16)30143-7
17. Clifford GM, de Vuyst H, Tenet V, Plummer M, Tully S, Franceschi S. Effect of HIV Infection on Human Papillomavirus Types Causing Invasive Cervical Cancer in Africa. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2016;73(3):332-9. DOI: 10.1097/qai.0000000000001113
18. Qian MB, Zhou XN. Global burden of cancers attributable to liver flukes. *Lancet Glob Health*. 2017;5(2):e139. DOI: 10.1016/s2214-109x(16)30301-1
19. Plummer M, de Martel C, Franceschi S. Global burden of cancers attributable to liver flukes - Authors' reply. *Lancet Glob Health*. 2017;5(2):e140. DOI: 10.1016/s2214-109x(16)30293-5
20. Shield KD, Marant Micallef C, de Martel C, Heard I, Megraud F, Plummer M, et al. New cancer cases in France in 2015 attributable to infectious agents: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Epidemiol*. 2018;33(3):263-74. DOI: 10.1007/s10654-017-0334-z
21. Parkin DM. 11. Cancers attributable to infection in the UK in 2010. *Brit J Cancer*. 2011;105 Suppl 2:S49-56. DOI: 10.1038/bjc.2011.484
22. Antonsson A, Wilson LF, Kendall BJ, Bain CJ, Whiteman DC, Neale RE. Cancers in Australia in 2010 attributable to infectious agents. *Aust N Z J Public Health*. 2015;39(5):446-51. DOI: 10.1111/1753-6405.12445
23. Ndiaye C, Mena M, Alemany L, Arbyn M, Castellsague X, Laporte L, et al. HPV DNA, E6/E7 mRNA, and p16INK4a detection in head and neck cancers: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol*. 2014;15(12):1319-31. DOI: 10.1016/s1470-2045(14)70471-1
24. Parkin DM, Hammerl L, Ferlay J, Kandelhardt EJ. Cancer in Africa 2018: The role of infections. *Int J Cancer*. 2020;146(8):2089-103. DOI: 10.1002/ijc.32538
25. Kim SM. Human papilloma virus in oral cancer. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg*. 2016;42(6):327-36. DOI: 10.5125/jkaoms.2016.42.6.327
26. Morales-Sanchez A, Fuentes-Panana EM. Epstein-Barr Virus-associated Gastric Cancer and Potential Mechanisms of Oncogenesis. *Curr Cancer Drug Targets*. 2017;17(6):534-54. DOI: 10.2174/1568009616666160926124923
27. Saeed M, Alshammari FD, Alam MJ, Sarim KM, Ahmad K, Hussain T, et al. A Synopsis on the Role of Human Papilloma Virus Infection in Cervical Cancer. *Curr Drug Metab*. 2018;19(9):798-805. DOI: 10.2174/1389200219666180302160317
28. Cobbs C. Cytomegalovirus is a tumor-associated virus: armed and dangerous. *Curr Op Virol*. 2019;39:49-59. DOI: 10.1016/j.coviro.2019.08.003
29. Yang Z, Wang J, Zhang Z, Tang F. Epstein-Barr Virus-Encoded Products Promote Circulating Tumor Cell Generation: A Novel Mechanism of Nasopharyngeal Carcinoma Metastasis. *Oncotargets Ther*. 2019;12:11793-804. DOI: 10.2147/ott.S235948
30. Fernandes Q, Gupta I, Vranic S, Al Moustafa AE. Human Papillomaviruses and Epstein-Barr Virus Interactions in Colorectal Cancer: A Brief Review. *Pathogens*. 2020;9(4). DOI: 10.3390/pathogens9040300
31. Islam MS, Chakraborty B, Panda CK. Human papilloma virus (HPV) profiles in breast cancer: future management. *Ann Transl Med*. 2020;8(10):650. DOI: 10.21037/atm-19-2756
32. de Martel C, Plummer M, Vignat J, Franceschi S. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *Int J Cancer*. 2017;141(4):664-70. DOI: 10.1002/ijc.30716
33. Ervik M et al. Cancer Today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.. *Cancer Today*. 2016; [cited 10 April 2021] -><http://go.iarc.fr/today>.
34. Hartwig S, St Guily JL, Dominiak-Felden G, Alemany L, de Sanjose S. Estimation of the overall burden of cancers, precancerous lesions, and genital warts attributable to 9-valent HPV vaccine types in women and men in Europe. *Infect Agents Cancer*. 2017;12:19. DOI: 10.1186/s13027-017-0129-6
35. Syrjänen S. Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer. *J Clin Virol*. 2005;32 Suppl 1:S59-66. DOI: 10.1016/j.jcv.2004.11.017
36. Virzi A, Roca Suarez AA, Baumert TF, Lupberger J. Oncogenic Signa-

- ling Induced by HCV Infection. *Viruses*. 2018;10(10). DOI: 10.3390/v10100538
37. Kanwal F, Singal AG. Surveillance for Hepatocellular Carcinoma: Current Best Practice and Future Direction. *Gastroenterology*. 2019;157(1):54-64. DOI: 10.1053/j.gastro.2019.02.049
 38. Kanda T, Goto T, Hirotsu Y, Moriyama M, Omata M. Molecular Mechanisms Driving Progression of Liver Cirrhosis towards Hepatocellular Carcinoma in Chronic Hepatitis B and C Infections: A Review. *Int J Mol Sci*. 2019;20(6). DOI: 10.3390/ijms20061358
 39. Zhang LL, Wei JY, Wang L, Huang SL, Chen JL. Human T-cell lymphotropic virus type 1 and its oncogenesis. *Acta Pharmacol Sin*. 2017;38(8):1093-103. DOI: 10.1038/aps.2017.17
 40. Phillips AA, Harewood JCK. Adult T Cell Leukemia-Lymphoma (ATL): State of the Art. *Curr Hematol Malig Rep*. 2018;13(4):300-7. DOI: 10.1007/s11899-018-0458-6
 41. Shimoyama M, Kagami Y, Shimotohno K, Miwa M, Minato K, Tobinai K, et al. Adult T-cell leukemia/lymphoma not associated with human T-cell leukemia virus type I. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986;83(12):4524-8. DOI: 10.1073/pnas.83.12.4524
 42. Shimoyama M, Minato K, Tobinai K, Nagai M, Setoya T, Takenaka T, et al. Atypical adult T-cell leukemia-lymphoma: diverse clinical manifestations of adult T-cell leukemia-lymphoma. *Jpn J Clin Oncol*. 1983;13 Suppl 2:165-87. DOI:
 43. Brickman C, Palefsky JM. Cancer in the HIV-Infected Host: Epidemiology and Pathogenesis in the Antiretroviral Era. *Curr HIV/AIDS Rep*. 2015;12(4):388-96. DOI: 10.1007/s11904-015-0283-7
 44. Shepherd L, Borges Á, Ledergerber B, Domingo P, Castagna A, Rockstroh J, et al. Infection-related and -unrelated malignancies, HIV and the aging population. *HIV Med*. 2016;17(8):590-600. DOI: 10.1111/hiv.12359
 45. Garcia-Abellan J, Del Rio L, Garcia JA, Padilla S, Vivancos MJ, Del Romero J, et al. Risk of cancer in HIV-infected patients in Spain, 2004-2015. The CoRIS cohort study. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2019;37(8):502-8. DOI: 10.1016/j.eimc.2018.11.011
 46. Montejano R, Alejos B, Bernardino JI, De Miguel Buckley R, Martín-Carbonero L, Busca C, et al., editors. Aids defining and non-defining cancers in persons living with HIV in a single centre cohort followed since 1986. 17th European AIDS Conference; 2019; Basel.
 47. Lopez C, Masia M, Padilla S, Aquilino A, Bas C, Gutierrez F. [Deaths due to non-AIDS diseases among HIV infected patients: A 14-year study (1998-2011)]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2016;34(4):222-7. DOI: 10.1016/j.eimc.2015.04.010
 48. Engels EA, Yanik EL, Wheeler W, Gill MJ, Shiels MS, Dubrow R, et al. Cancer-Attributable Mortality Among People With Treated Human Immunodeficiency Virus Infection in North America. *Clin Infect Dis*. 2017;65(4):636-43. DOI: 10.1093/cid/cix392
 49. Gotti D, Raffetti E, Albini L, Sighinolfi L, Maggiolo F, Di Filippo E, et al. Survival in HIV-infected patients after a cancer diagnosis in the cART Era: results of an Italian multicenter study. *PloS one*. 2014;9(4):e94768. DOI: 10.1371/journal.pone.0094768
 50. Trepka MJ, Auf R, Fennie KP, Sheehan DM, Maddox LM, Niyonsenga T. Deaths Due to Screenable Cancers Among People Living With HIV Infection, Florida, 2000-2014. *Am J Prev Med*. 2017;53(5):705-9. DOI: 10.1016/j.amepre.2017.05.018
 51. Cevallos ea. Causas de mortalidad en la población infectada por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana en la Comunidad de Madrid (2007-2014). Lin at <https://www.revistamultidisciplinardelsida.com/causas-de-mortalidad-en-la-poblacion-infectada-por-el-virus-de-la-inmunodeficiencia-humana-en-la-comunidad-de-madrid-2007-2014/>.
 52. Croxford S, Miller RF, Post FA, Harding R, Lucas SB, Figueroa J, et al. Cause of death among HIV patients in London in 2016. *HIV Med*. 2019;20(9):628-33. DOI: 10.1111/hiv.12761
 53. Ozoya OO, Sokol L, Dalia S. EBV-Related Malignancies, Outcomes and Novel Prevention Strategies. *Infect Disord Drug Targets*. 2016;16(1):4-21. DOI: 10.2174/1871526516666160407113536
 54. Manners O, Murphy JC, Coleman A, Hughes DJ, Whitehouse A. Contribution of the KSHV and EBV lytic cycles to tumourigenesis. *Curr Op Virol*. 2018;32:60-70. DOI: 10.1016/j.coviro.2018.08.014
 55. Kanda T, Yajima M, Ikuta K. Epstein-Barr virus strain variation and cancer. *Cancer Sci*. 2019;110(4):1132-9. DOI: 10.1111/cas.13954
 56. Smith JS, Herrero R, Bosetti C, Munoz N, Bosch FX, Eluf-Neto J, et al. Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2002;94(21):1604-13. DOI: 10.1093/jnci/94.21.1604
 57. Thorley-Lawson DA, Gross A. Persistence of the Epstein-Barr virus and the origins of associated lymphomas. *New Eng J Med*. 2004;350(13):1328-37. DOI: 10.1056/NEJMra032015
 58. Dierickx D, Habermann TM. Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorders in Adults. *New Eng J Med*. 2018;378(6):549-62. DOI: 10.1056/NEJMra1702693
 59. Chua MLK, Wee JTS, Hui EP, Chan ATC. Nasopharyngeal carcinoma. *Lancet (London, England)*. 2016;387(10022):1012-24. DOI: 10.1016/s0140-6736(15)00055-0
 60. Andersson-Anvret M, Forsby N, Klein G, Henle W, Biorklund A. Relationship between the Epstein-Barr virus genome and nasopharyngeal carcinoma in Caucasian patients. *Int J Cancer*. 1979;23(6):762-7. DOI: 10.1002/jjc.2910230605
 61. Pallesen G, Hamilton-Dutoit SJ, Rowe M, Young LS. Expression of Epstein-Barr virus latent gene products in tumour cells of Hodgkin's disease. *Lancet (London, England)*. 1991;337(8737):320-2. DOI: 10.1016/0140-6736(91)90943-j
 62. Cheung MM, Chan JK, Lau WH, Foo W, Chan PT, Ng CS, et al. Primary non-Hodgkin's lymphoma of the nose and nasopharynx: clinical features, tumor immunophenotype, and treatment outcome in 113 patients. *J Clin Oncol*. 1998;16(1):70-7. DOI: 10.1200/jco.1998.16.1.70
 63. Purushothaman P, Uppal T, Sarkar R, Verma SC. KSHV-Mediated Angiogenesis in Tumor Progression. *Viruses*. 2016;8(7). DOI: 10.3390/v8070198
 64. Martin JN, Ganem DE, Osmond DH, Page-Shafer KA, Macrae D, Kedes DH. Sexual transmission and the natural history of human herpesvirus 8 infection. *New Eng J Med*. 1998;338(14):948-54. DOI: 10.1056/nejm199804023381403
 65. Munoz P, Alvarez P, de Ory F, Pozo F, Rivera M, Bouza E. Incidence

- and clinical characteristics of Kaposi sarcoma after solid organ transplantation in Spain: importance of seroconversion against HHV-8. *Medicine*. 2002;81(4):293-304. DOI: 10.1097/00005792-200207000-00005
66. Stallone G, Schena A, Infante B, Di Paolo S, Loverre A, Maggio G, et al. Sirolimus for Kaposi's sarcoma in renal-transplant recipients. *New Eng J Med*. 2005;352(13):1317-23. DOI: 10.1056/NEJMoa042831
 67. Dittmer DP, Damania B. Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus (KSHV)-Associated Disease in the AIDS Patient: An Update. *Cancer Treat Res*. 2019;177:63-80. DOI: 10.1007/978-3-030-03502-0_3
 68. Lodi S, Guiguet M, Costagliola D, Fisher M, de Luca A, Porter K. Kaposi sarcoma incidence and survival among HIV-infected homosexual men after HIV seroconversion. *J Natl Cancer Inst*. 2010;102(11):784-92. DOI: 10.1093/jnci/djq134
 69. Engels EA, Pfeiffer RM, Goedert JJ, Virgo P, McNeel TS, Scoppa SM, et al. Trends in cancer risk among people with AIDS in the United States 1980-2002. *AIDS (London, England)*. 2006;20(12):1645-54. DOI: 10.1097/01.aids.0000238411.75324.59
 70. Jung JM, Lee KH, Kim YJ, Chang SE, Lee MW, Choi JH, et al. Assessment of Overall and Specific Cancer Risks in Patients With Hidradenitis Suppurativa. *JAMA Dermatol*. 2020. DOI: 10.1001/jamadermatol.2020.1422
 71. Lapins J, Ye W, Nyrén O, Emtestam L. Incidence of cancer among patients with hidradenitis suppurativa. *Arch Dermatol*. 2001;137(6):730-4. DOI:
 72. Zhan P, Suo LJ, Qian Q, Shen XK, Qiu LX, Yu LK, et al. Chlamydia pneumoniae infection and lung cancer risk: a meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2011;47(5):742-7. DOI: 10.1016/j.ejca.2010.11.003
 73. Engler HS, Fernandez A, Bliven FE, Moretz WH. Cancer arising in scars of old burns and in chronic osteomyelitis, ulcers, and drainage sites. *Surgery*. 1964;55:654-64. DOI:
 74. Pfarschner W. Fistulous cancer in chronic osteomyelitis in its pathogenetic and histological aspects. *Dtsch Med J*. 1964;15:200-7. DOI:
 75. Samaras V, Rafailidis PI, Mourtoukou EG, Peppas G, Falagas ME. Chronic bacterial and parasitic infections and cancer: a review. *J Infect Dev Ctries*. 2010;4(5):267-81. DOI: 10.3855/jidc.819
 76. Botelho MC, Richter J. Editorial: Parasites and Cancer. *Front Med*. 2019;6:55. DOI: 10.3389/fmed.2019.00055
 77. Schwartz DA. Helminths in the induction of cancer II. *Schistosoma haematobium* and bladder cancer. *Trop Geogr Med*. 1981;33(1):1-7. DOI:
 78. Kim TS, Pak JH, Kim JB, Bahk YY, Oh JK, Weiderpass E, et al. *Clonorchis sinensis*, an oriental liver fluke, as a human biological agent of cholangiocarcinoma: a brief review. *BMB Rep*. 2016;49(11):590-7. DOI: 10.5483/bmbrep.2016.49.11.109.
 79. Sripa B, Brindley PJ, Mulvenna J, Laha T, Smout MJ, Mairiang E, et al. The tumorigenic liver fluke *Opisthorchis viverrini*--multiple pathways to cancer. The systematics and population genetics of *Opisthorchis viverrini sensu lato*: implications in parasite epidemiology and bile duct cancer. *Trends Parasitol*. 2012;28(10):395-407. DOI: 10.1016/j.pt.2012.07.006
 80. Muehlenbachs A, Bhatnagar J, Agudelo CA, Hidron A, Eberhard ML, Mathison BA, et al. Malignant Transformation of *Hymenolepis nana* in a Human Host. *New Eng J Med*. 2015;373(19):1845-52. DOI: 10.1056/NEJMoa1505892
 81. Gross L. Viral etiology of cancer, leukemia and allied diseases. *CA Cancer J Clin*. 1970;20(4):242-7. DOI: 10.3322/canjclin.20.4.242
 82. Yamagiwa K, Ichikawa K. Experimental study of the pathogenesis of carcinoma. *CA Cancer J Clin*. 1977;27(3):174-81. DOI: 10.3322/canjclin.27.3.174
 83. Pulciani S, Santos E, Lauver AV, Long LK, Robbins KC, Barbacid M. Oncogenes in human tumor cell lines: molecular cloning of a transforming gene from human bladder carcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1982;79(9):2845-9. DOI: 10.1073/pnas.79.9.2845
 84. Goldfarb M, Shimizu K, Perucho M, Wigler M. Isolation and preliminary characterization of a human transforming gene from T24 bladder carcinoma cells. *Nature*. 1982;296(5856):404-9. DOI: 10.1038/296404a0
 85. Boveri T. Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren. Info at: <https://www.worldcat.org/title/zur-frage-der-entstehung-maligner-tumoren/oclc/10215868>. 1914. DOI:
 86. Shih C, Weinberg RA. Isolation of a transforming sequence from a human bladder carcinoma cell line. *Cell*. 1982;29(1):161-9. DOI: 10.1016/0092-8674(82)90100-3
 87. Yap TA, Plummer R, Azad NS, Hellday T. The DNA Damaging Revolution: PARP Inhibitors and Beyond. American Society of Clinical Oncology educational book American Society of Clinical Oncology Annual Meeting. 2019;39:185-95. DOI: 10.1200/edbk_238473
 88. Lecona E, Fernandez-Capetillo O. Targeting ATR in cancer. *Nature reviews Cancer*. 2018;18(9):586-95. DOI: 10.1038/s41568-018-0034-3
 89. de Martel C, Ferlay J, Franceschi S, Vignat J, Bray F, Forman D, et al. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *Lancet Oncol*. 2012;13(6):607-15. DOI: 10.1016/s1470-2045(12)70137-7
 90. Garcia-Villanueva S, Dominguez-Gil Gonzalez M, Gayete Martinez J, Munoz Bellido JL, Salas Valien JS, Echevarria Iturbe C, et al. Comparative study of the prevalence of the human papilloma virus in Spanish and foreign women participating in a population screening programme in Castilla y Leon. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2019;37(5):314-8. DOI: 10.1016/j.eimc.2018.09.007
 91. Small W, Jr., Bacon MA, Bajaj A, Chuang LT, Fisher BJ, Harknider MM, et al. Cervical cancer: A global health crisis. *Cancer*. 2017;123(13):2404-12. DOI: 10.1002/cncr.30667
 92. Romano L, Paladini S, Galli C, Raimondo G, Pollicino T, Zanetti AR. Hepatitis B vaccination. *Hum Vaccin Immunother* 2015;11(1):53-7. DOI: 10.4161/hv.34306
 93. Danaei G. Global burden of infection-related cancer revisited. *Lancet Oncol*. 2012;13(6):564-5. DOI: 10.1016/s1470-2045(12)70176-6
 94. de Martel C, Shiels MS, Franceschi S, Simard EP, Vignat J, Hall HI, et al. Cancers attributable to infections among adults with HIV in the United States. *AIDS (London, England)*. 2015;29(16):2173-81. DOI: 10.1097/qad.0000000000000808

95. Brown DR, Kjaer SK, Sigurdsson K, Iversen OE, Hernandez-Avila M, Wheeler CM, et al. The impact of quadrivalent human papillomavirus (HPV; types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine on infection and disease due to oncogenic nonvaccine HPV types in generally HPV-naïve women aged 16-26 years. *J Infect Dis*. 2009;199(7):926-35. DOI: 10.1086/597307
96. Eltoun IA, Roberson J. Impact of HPV testing, HPV vaccine development, and changing screening frequency on national Pap test volume: projections from the National Health Interview Survey (NHIS). *Cancer*. 2007;111(1):34-40. DOI: 10.1002/cncr.22487
97. Luostarinen T, Apter D, Dillner J, Eriksson T, Harjula K, Natunen K, et al. Vaccination protects against invasive HPV-associated cancers. *Int J Cancer*. 2018;142(10):2186-7. DOI: 10.1002/ijc.31231
98. Guo F, Cofie LE, Berenson AB. Cervical Cancer Incidence in Young U.S. Females After Human Papillomavirus Vaccine Introduction. *Am J Prev Med*. 2018;55(2):197-204. DOI: 10.1016/j.amepre.2018.03.013
99. de Sanjosé S, Serrano B, Tous S, Alejo M, Lloveras B, Quirós B, et al. Burden of Human Papillomavirus (HPV)-Related Cancers Attributable to HPVs 6/11/16/18/31/33/45/52 and 58. *JNCI Cancer Spectr*. 2018;2(4):pkv045. DOI: 10.1093/jncics/pky045
100. Drolet M, Benard E, Perez N, Brisson M. Population-level impact and herd effects following the introduction of human papillomavirus vaccination programmes: updated systematic review and meta-analysis. *Lancet (London, England)*. 2019;394(10197):497-509. DOI: 10.1016/s0140-6736(19)30298-3
101. Markowitz LE, Naleway AL, Lewis RM, Crane B, Querec TD, Weinmann S, et al. Declines in HPV vaccine type prevalence in women screened for cervical cancer in the United States: Evidence of direct and herd effects of vaccination. *Vaccine*. 2019;37(29):3918-24. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.04.099
102. Palmer T, Wallace L, Pollock KG, Cuschieri K, Robertson C, Kavanagh K, et al. Prevalence of cervical disease at age 20 after immunisation with bivalent HPV vaccine at age 12-13 in Scotland: retrospective population study. *BMJ (Clinical research ed)*. 2019;365:l1161. DOI: 10.1136/bmj.l1161
103. Reig M, Boix L, Mariño Z, Torres F, Forn X, Bruix J. Liver Cancer Emergence Associated with Antiviral Treatment: An Immune Surveillance Failure? *Semin Liver Dis*. 2017;37(2):109-18. DOI: 10.1055/s-0037-1601349
104. Reig M, Boix L, Bruix J. The impact of direct antiviral agents on the development and recurrence of hepatocellular carcinoma. *Liver Int*. 2017;37 Suppl 1:136-9. DOI: 10.1111/liv.13321
105. Reig M, Torres F, Mariño Z, Forn X, Bruix J. Reply to "Direct antiviral agents and risk for hepatocellular carcinoma (HCC) early recurrence: Much ado about nothing". *J Hepatol*. 2016;65(4):864-5. DOI: 10.1016/j.jhep.2016.05.036
106. Reig M, Mariño Z, Perelló C, Iñarrairaegui M, Ribeiro A, Lens S, et al. Unexpected high rate of early tumor recurrence in patients with HCV-related HCC undergoing interferon-free therapy. *J Hepatol*. 2016;65(4):719-26. DOI: 10.1016/j.jhep.2016.04.008
107. Younossi ea. Clinical Gastroenterology and Hepatology. Google Scholar. 2019;Lin at: https://scholar.google.co.uk/scholar?q=Younossi++Gastro+Hepatol+2019&hl=en&as_sdt=0&as_vis=1&oi=scholar&safe=active.
108. Scheffler RW. Following cancer viruses through the laboratory, clinic, and society. *Studies in history and philosophy of biological and biomedical sciences*. 2014;48 Pt B:185-8. DOI: 10.1016/j.shpsc.2014.09.004
109. Lang Kuhs KA, Porras C, Schiller JT, Rodriguez AC, Schiffman M, Gonzalez P, et al. Effect of different human papillomavirus serological and DNA criteria on vaccine efficacy estimates. *Am J Epidemiol*. 2014;180(6):599-607. DOI: 10.1093/aje/kwu168
110. Read SA, Douglas MW. Virus induced inflammation and cancer development. *Cancer Lett*. 2014;345(2):174-81. DOI: 10.1016/j.canlet.2013.07.030
111. Fuentes-Gonzalez AM, Contreras-Paredes A, Manzo-Merino J, Lizano M. The modulation of apoptosis by oncogenic viruses. *Viol J*. 2013;10:182. DOI: 10.1186/1743-422x-10-182
112. Butt AQ, Miggin SM. Cancer and viruses: a double-edged sword. *Proteomics*. 2012;12(13):2127-38. DOI: 10.1002/pmic.201100526
113. Hoppe-Seyler F, Hoppe-Seyler K. Emerging topics in human tumor virology. *Int J Cancer*. 2011;129(6):1289-99. DOI: 10.1002/ijc.26087
114. Moore PS, Chang Y. Why do viruses cause cancer? Highlights of the first century of human tumour virology. *Nat Rev Cancer*. 2010;10(12):878-89. DOI: 10.1038/nrc2961
115. Shors T. "Los virus y el cáncer", en *Virus. Estudio molecular con orientación clínica*, Buenos Aires, Editorial Médica Panamericana, pp. 242-279. [cited 10 April 2021]: https://www.researchgate.net/publication/324597928_Virus_y_Cancer. 2009.
116. van Zyl DG, Mautner J, Delecluse HJ. Progress in EBV Vaccines. *Front Oncol*. 2019;9:104. DOI: 10.3389/fonc.2019.00104
117. Cohen JL. Epstein-barr virus vaccines. *Clin Transl Immunol*. 2015;4(1):e32. DOI: 10.1038/cti.2014.27
118. Young LS, Dawson CW. Epstein-Barr virus and nasopharyngeal carcinoma. *Chin J Cancer*. 2014;33(12):581-90. DOI: 10.5732/cjc.014.10197
119. Taylor GS, Long HM, Brooks JM, Rickinson AB, Hislop AD. The immunology of Epstein-Barr virus-induced disease. *Annu Rev Immunol*. 2015;33:787-821. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032414-112326
120. Taylor GS, Steven NM. Therapeutic vaccination strategies to treat nasopharyngeal carcinoma. *Chin Clin Oncol*. 2016;5(2):23. DOI: 10.21037/cco.2016.03.20
121. Yao Y, Minter HA, Chen X, Reynolds GM, Bromley M, Arrand JR. Heterogeneity of HLA and EBER expression in Epstein-Barr virus-associated nasopharyngeal carcinoma. *Int J Cancer*. 2000;88(6):949-55. DOI: 10.1002/1097-0215(20001215)88:6<949::aid-ijc18>3.0.co;2-6
122. Hong M, Tang K, Qian J, Deng H, Zeng M, Zheng S, et al. Immunotherapy for EBV-Associated Nasopharyngeal Carcinoma. *Crit Rev Oncog*. 2018;23(3-4):219-34. DOI: 10.1615/CritRevOncog.2018027528
123. Lin CL, Lo WF, Lee TH, Ren Y, Hwang SL, Cheng YF, et al. Immunization with Epstein-Barr Virus (EBV) peptide-pulsed dendritic cells induces functional CD8+ T-cell immunity and may lead to tumor

- regression in patients with EBV-positive nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Res.* 2002;62(23):6952-8. DOI:
124. Chia WK, Wang WW, Teo M, Tai WM, Lim WT, Tan EH, et al. A phase II study evaluating the safety and efficacy of an adenovirus-ΔLMP1-LMP2 transduced dendritic cell vaccine in patients with advanced metastatic nasopharyngeal carcinoma. *Ann Oncol.* 2012;23(4):997-1005. DOI: 10.1093/annonc/mdr341
 125. Hui EP, Taylor GS, Jia H, Ma BB, Chan SL, Ho R, et al. Phase I trial of recombinant modified vaccinia ankara encoding Epstein-Barr viral tumor antigens in nasopharyngeal carcinoma patients. *Cancer Res.* 2013;73(6):1676-88. DOI: 10.1158/0008-5472.Can-12-2448
 126. Taylor GS, Jia H, Harrington K, Lee LW, Turner J, Ladell K, et al. A recombinant modified vaccinia ankara vaccine encoding Epstein-Barr Virus (EBV) target antigens: a phase I trial in UK patients with EBV-positive cancer. *Clin Cancer Res.* 2014;20(19):5009-22. DOI: 10.1158/1078-0432.Ccr-14-1122-t
 127. Rees L, Tizard EJ, Morgan AJ, Cubitt WD, Finerty S, Oyewole-Eletu TA, et al. A phase I trial of Epstein-Barr virus gp350 vaccine for children with chronic kidney disease awaiting transplantation. *Transplantation.* 2009;88(8):1025-9. DOI: 10.1097/TP.0b013e3181b9d918
 128. Lockett TD, Zhan X, Surman S, Sample CE, Hurwitz JL. Epstein-Barr virus vaccine development: a lytic and latent protein cocktail. *Front Biosci.* 2008;13:5916-27. DOI: 10.2741/3126
 129. Elliott SL, Suhrbier A, Miles JJ, Lawrence G, Pye SJ, Le TT, et al. Phase I trial of a CD8+ T-cell peptide epitope-based vaccine for infectious mononucleosis. *J Virol.* 2008;82(3):1448-57. DOI: 10.1128/jvi.01409-07
 130. Lunde E, Bogen B, Sandlie I. Immunoglobulin as a vehicle for foreign antigenic peptides immunogenic to T cells. *Mol Immunol.* 1997;34(16-17):1167-76. DOI: 10.1016/s0161-5890(97)00143-0
 131. Kanekiyo M, Bu W, Joyce MG, Meng G, Whittle JR, Baxa U, et al. Rational Design of an Epstein-Barr Virus Vaccine Targeting the Receptor-Binding Site. *Cell.* 2015;162(5):1090-100. DOI: 10.1016/j.cell.2015.07.043
 132. Ogembo JG, Muraswki MR, McGinnes LW, Parcharidou A, Sutiwis-esak R, Tison T, et al. A chimeric EBV gp350/220-based VLP replicates the virion B-cell attachment mechanism and elicits long-lasting neutralizing antibodies in mice. *J Transl Med.* 2015;13:50. DOI: 10.1186/s12967-015-0415-2
 133. Perez EM, Foley J, Tison T, Silva R, Ogembo JG. Novel Epstein-Barr virus-like particles incorporating gH/gL-EBNA1 or gB-LMP2 induce high neutralizing antibody titers and EBV-specific T-cell responses in immunized mice. *Oncotarget.* 2017;8(12):19255-73. DOI: 10.18632/oncotarget.13770
 134. Ruiss R, Jochum S, Wanner G, Reisbach G, Hammerschmidt W, Zeidler R. A virus-like particle-based Epstein-Barr virus vaccine. *J Virol.* 2011;85(24):13105-13. DOI: 10.1128/jvi.05598-11
 135. Delecluse HJ, Pich D, Hilsendegen T, Baum C, Hammerschmidt W. A first-generation packaging cell line for Epstein-Barr virus-derived vectors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96(9):5188-93. DOI: 10.1073/pnas.96.9.5188
 136. Feederle R, Shannon-Lowe C, Baldwin G, Delecluse HJ. Defective infectious particles and rare packaged genomes produced by cells carrying terminal-repeat-negative Epstein-Barr virus. *J Virol.* 2005;79(12):7641-7. DOI: 10.1128/jvi.79.12.7641-7647.2005
 137. Neuhierl B, Feederle R, Hammerschmidt W, Delecluse HJ. Glycoprotein gp110 of Epstein-Barr virus determines viral tropism and efficiency of infection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(23):15036-41. DOI: 10.1073/pnas.232381299
 138. Raja J, Ludwig JM, Gettinger SN, Schalper KA, Kim HS. Oncolytic virus immunotherapy: future prospects for oncology. *J Immunother Cancer.* 2018;6(1):140. DOI: 10.1186/s40425-018-0458-z
 139. Russell L, Peng KW. The emerging role of oncolytic virus therapy against cancer. *Chin Clin Oncol.* 2018;7(2):16. DOI: 10.21037/cco.2018.04.04
 140. Russell SJ, Peng KW. The utility of cells as vehicles for oncolytic virus therapies. *Curr Opin Mol Ther.* 2008;10(4):380-6. DOI:
 141. Larocca C, Schlom J. Viral vector-based therapeutic cancer vaccines. *Cancer J.* 2011;17(5):359-71. DOI: 10.1097/PP0.0b013e3182325e63
 142. Bommareddy PK, Patel A, Hossain S, Kaufman HL. Talimogene Laherparepvec (T-VEC) and Other Oncolytic Viruses for the Treatment of Melanoma. *Am J Clin Dermatol.* 2017;18(1):1-15. DOI: 10.1007/s40257-016-0238-9
 143. Liu BL, Robinson M, Han ZQ, Branstetter RH, English C, Reay P, et al. ICP34.5 deleted herpes simplex virus with enhanced oncolytic, immune stimulating, and anti-tumour properties. *Gene Ther.* 2003;10(4):292-303. DOI: 10.1038/sj.gt.3301885
 144. Drakes ML, Stiff PJ. Harnessing immunosurveillance: current developments and future directions in cancer immunotherapy. *Immunotargets Ther.* 2014;3:151-65. DOI: 10.2147/itt.S37790
 145. Antonarakis ES. Combining active immunotherapy with immune checkpoint blockade for the treatment of advanced prostate cancer. *Asian J Androl.* 2012;14(4):520-1. DOI: 10.1038/aja.2012.45
 146. Parato KA, Breitbach CJ, Le Boeuf F, Wang J, Storbeck C, Ilkow C, et al. The oncolytic poxvirus JX-594 selectively replicates in and destroys cancer cells driven by genetic pathways commonly activated in cancers. *Mol Ther.* 2012;20(4):749-58. DOI: 10.1038/mt.2011.276
 147. Xie Y, Xiang Y, Sheng J, Zhang D, Yao X, Yang Y, et al. Immunotherapy for Hepatocellular Carcinoma: Current Advances and Future Expectations. *J Immunol Res.* 2018;2018:8740976. DOI: 10.1155/2018/8740976
 148. Breitbach CJ, Arulanandam R, De Silva N, Thorne SH, Patt R, Daneshmand M, et al. Oncolytic vaccinia virus disrupts tumor-associated vasculature in humans. *Cancer Res.* 2013;73(4):1265-75. DOI: 10.1158/0008-5472.Can-12-2687
 149. Yoo SY, Jeong SN, Kang DH, Heo J. Evolutionary cancer-favoring engineered vaccinia virus for metastatic hepatocellular carcinoma. *Oncotarget.* 2017;8(42):71489-99. DOI: 10.18632/oncotarget.17288
 150. Goldufsky J, Sivendran S, Harcharik S, Pan M, Bernardo S, Stern RH, et al. Oncolytic virus therapy for cancer. *Oncolytic Virother.* 2013;2:31-46. DOI: 10.2147/ov.S38901
 151. Miyamoto S, Inoue H, Nakamura T, Yamada M, Sakamoto C, Urata Y, et al. Coxsackievirus B3 is an oncolytic virus with immunostimula-

- tory properties that is active against lung adenocarcinoma. *Cancer Res.* 2012;72(10):2609-21. DOI: 10.1158/0008-5472.Can-11-3185
152. Yaacov B, Eliahoo E, Lazar I, Ben-Shlomo M, Greenbaum I, Panet A, et al. Selective oncolytic effect of an attenuated Newcastle disease virus (NDV-HUJ) in lung tumors. *Cancer Gene Ther.* 2008;15(12):795-807. DOI: 10.1038/cgt.2008.31
153. Liu TC, Galanis E, Kirn D. Clinical trial results with oncolytic virotherapy: a century of promise, a decade of progress. *Nat Clin Pract Oncol.* 2007;4(2):101-17. DOI: 10.1038/ncponc0736
154. SEOM. Sociedad Española de Oncología Médica, Informe-SEOM-cifras-cancer. [cited 10 April 2021] <http://www.medicosypacientes.com/sites/default/files/Informe%20SEOM-cifras-cancer-2019.pdf>. 2019.
155. Lopez N, Torne A, Franco A, San-Martin M, Viayna E, Barrull C, et al. Epidemiologic and economic burden of HPV diseases in Spain: implication of additional 5 types from the 9-valent vaccine. *Infect Agents Cancer.* 2018;13:15. DOI: 10.1186/s13027-018-0187-4
156. MSCYBS. Ministerio de Sanidad Consumo y Bienestar Social - Vacunación en grupos de riesgo de todas las edades y en determinadas situaciones. [cited 10 April 2021] https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/VacGruposRiesgo/docs/VacGruposRiesgo_todas_las_edades.pdf. 2018.
157. ACS. American Cancer Society - Global Cancer Facts & Figures 4th Edition. [cited 10 April 2021] <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/global-cancer-facts-and-figures/global-cancer-facts-and-figures-4th-edition-pdf>. 2018.
158. NIH. Germen infeccioso. Instituto Nacional del Cancer. 2010; [cited 10 April 2021] <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/germenes-infecciosos>.
159. ACS. American Cancer Society. (09/10/2017) y VPH y cancer. 16/01/2020, [cited 10 April 2021] - <https://www.cancer.org/cancer/cancer-causes/infectious-agents/hpv/hpv-and-cancer-info.html>. 2017.:
160. NIH. Instituto Nacional del Cancer. (01/03/2019). VPH y el cancer. 16/01/2020, de Instituto Nacional del Cancer. [cited 10 April 2021] <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/germenes-infecciosos/vph-y-cancer>. 2019, 2020.

Amelia Carro Hevia¹
Francisco Sanz Hernández²
Javier Álvarez Aldeán³
Manuel García Cenoz⁴
Isabel Jimeno Sanz⁵
Esther Redondo Margüello⁶
M^a Teresa Vidán Astiz⁷
Amós García Rojas^{8*}

Gripe y eventos cardiorrespiratorios: una revisión clínico-epidemiológica multidisciplinar

¹Sociedad Española de Cardiología
²Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica
³Asociación Española de Pediatría
⁴Sociedad Española de Medicina preventiva, Salud Pública e higiene
⁵Sociedad Española de Médicos generales y de familia
⁶Sociedad Española de Médicos de Atención Primaria
⁷Sociedad Española de Geriatria y Gerontología
⁸Asociación Española de Vacunología

Article history

Received: 6 May 2021; Accepted: 30 May 2021; Published: 14 July 2021

RESUMEN

Existe una clara relación entre la infección por gripe y las enfermedades cardiorrespiratorias. La gripe se ha descrito como un factor capaz tanto de descompensar a pacientes con patologías crónicas como de desencadenar la aparición de nuevos eventos respiratorios y cardiovasculares. Como consecuencia, la infección por gripe y su comorbilidad asociada tienen un importante impacto en el sistema sanitario. En este documento, se ha revisado extensamente la literatura actual para describir los datos más relevantes sobre la relación entre la infección por gripe y las enfermedades cardiorrespiratorias. Asimismo, se exponen los posibles mecanismos fisiopatológicos que explicarían la asociación entre la infección por gripe y los eventos cardíacos y respiratorios. Finalmente, se han puesto los datos en perspectiva para resaltar la importancia de la vacunación frente a la gripe, una medida efectiva en la prevención de enfermedades cardiovasculares, especialmente en la población con enfermedades crónicas subyacentes.

Palabras clave: Gripe, eventos cardiovasculares, enfermedades respiratorias, vacuna antigripal

Influenza and cardiorespiratory events: a clinical-epidemiological review with a multidisciplinary point of view

ABSTRACT

There is accumulating evidence showing that influenza infection and cardiorespiratory diseases are closely associated.

Correspondencia:
Amós García Rojas
Sección de Epidemiología y Prevención, Servicio de Epidemiología y Prevención
Dirección General de Salud Pública
Servicio Canario de la Salud
Teléfono: 928 30 75 28 - Fax: 928 30 75 72
Email: agarroj@gobiernodecanarias.org

Influenza has been described as a triggering factor capable of both exacerbate underlying chronic diseases as well as inducing the appearance of new respiratory and cardiovascular events. Consequently, influenza infection and its associated comorbidity have a significant impact on the health system. In this document, we extensively reviewed the current literature to describe the most relevant data on the relationship between influenza infection and cardiorespiratory diseases. Likewise, we analyzed the possible pathophysiological mechanisms explaining the connection between influenza infection and cardiac and respiratory events. Finally, reviewed data has been put into perspective to highlight the importance of influenza vaccination as an effective measure in the prevention of cardiorespiratory diseases, especially in the population with underlying chronic diseases.

Keywords: Influenza, cardiovascular events, respiratory disease, influenza vaccine

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la esperanza de vida ha aumentado de forma significativa en todo el mundo. En España, según datos del Instituto Nacional de Estadística (INE), entre 1998 y 2018 ha pasado de 75,4 a 80,5 años en los hombres, y de 82,3 a 85,9 años en las mujeres [1]. Esto supone un aumento de la población de edad avanzada y, consecuentemente, un incremento de las comorbilidades asociadas a la edad. Enfermedades crónicas como el asma, la enfermedad coronaria, la bronquitis o la enfermedad cerebrovascular son muy prevalentes entre la población mayor de 65 años en nuestro país [2], lo que contribuye a un aumento de la complejidad en este grupo poblacional y un mayor riesgo de eventos adversos para la salud.

La gripe es uno de los factores que puede exacerbar estas comorbilidades, requiriendo hospitalización e incluso llegando a provocar la muerte [3]. Se trata de una enfermedad que afecta a más de mil millones de personas en todo el mundo

cada año. Se ha demostrado que la infección por gripe no solo puede descompensar a pacientes con patologías crónicas previas sino que, además, puede desencadenar la aparición de *no*vo de eventos respiratorios y cardiovasculares.

Existen suficientes datos que avalan una asociación clínicamente significativa entre la gripe y los acontecimientos cardiorrespiratorios. Respecto a los cardiovasculares, el riesgo de un infarto de miocardio o de un accidente cerebrovascular aumenta significativamente en temporada de gripe, incrementándose el número de hospitalizaciones por causas cardiovasculares [4-7]. Así, estudios recientes han demostrado que la infección por el virus de la gripe aumenta entre 6 y 10 veces el riesgo de sufrir un infarto de miocardio, y entre 3 y 8 veces el riesgo de accidentes cerebrovasculares [5,6,8]. En cuanto a acontecimientos respiratorios, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), hasta 650.000 personas murieron debido a enfermedades respiratorias asociadas a la gripe, como la neumonía y la bronquitis, en 2017 [9]. La infección por gripe es también una causa importante del exceso de mortalidad y morbilidad en personas con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) o asma, llegando incluso a afectar la progresión de la enfermedad y la frecuencia de exacerbaciones [10-12]. Además, las personas con EPOC tienen un aumento del riesgo de hospitalización relacionada con enfermedades respiratorias durante los brotes de gripe, independientemente de la edad y el grado de morbilidad [13]. Por lo tanto, la infección por gripe y su comorbilidad asociada representa un problema de salud pública con un enorme coste social y económico.

La evidente relación entre la infección por gripe y las enfermedades cardiorrespiratorias refuerzan la necesidad de medidas que mitiguen la incidencia de la infección por el virus de la gripe, especialmente en aquellos pacientes con un elevado riesgo cardiovascular, o con enfermedades cardiovasculares o respiratorias subyacentes. Las medidas preventivas adoptadas frente a la reciente pandemia por COVID-19 parecen haber mediado una reducción de la actividad gripal en 2020 en comparación con temporadas previas [14]. Sin embargo, la manera más efectiva de prevenirla es mediante la vacunación anual [15-18]. La efectividad global de la vacuna frente a la gripe se sitúa alrededor del 65 %, dependiendo de múltiples factores, como el grado de concordancia entre las cepas presentes en la vacuna y las cepas circulantes ese año, el tipo de vacuna, o la vía de administración, entre otras características [19-22]. Además, las vacunas antigripales inactivadas presentan excelentes perfiles de seguridad y los acontecimientos adversos, cuando aparecen, suelen ser locales o sistémicos leves [18]. Es destacable que, a pesar de su disponibilidad y de que los 28 países de la Unión Europea actualmente recomiendan la vacunación frente a la gripe en personas con enfermedades crónicas, las tasas de vacunación en los grupos de riesgo son muy variables, oscilando entre el 15,7 % y el 57,1 % en la temporada 2016-17, con una mediana del 44,9 % [23]. En España, los datos del Ministerio de Sanidad recogen que, en la campaña 2018-19, la cobertura en mayores de 65 años varió entre el 49 % y el 65 % según CC.AA.; fue del 17 %- 30 % entre los 60-64 años en las CC. AA. que la administraban a este rango de edad y osciló

entre el 22 % y el 55 % en las embarazadas [24]. En estos informes no se recogen datos de cobertura de vacunación antigripal en enfermos crónicos menores de 65 años.

En este contexto, este documento pretende resumir la evidencia actual sobre la relación entre la infección por gripe y las enfermedades cardiorrespiratorias. Se muestran los datos más relevantes para determinar el impacto real de los eventos cardiorrespiratorios en el sistema sanitario. Asimismo, se exponen los posibles mecanismos fisiopatológicos que explicarían la asociación entre la infección por gripe y los eventos cardíacos y respiratorios. Finalmente, todos estos datos se pondrán en perspectiva para resaltar la importancia de la vacunación frente a la gripe, especialmente en esta población con enfermedades crónicas subyacentes.

GRIPPE Y ENFERMEDADES CARDIOPULMONARES: UNA RELACIÓN DEMOSTRADA

Gripe y eventos cardiovasculares. Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son un conjunto de patologías que se deben a trastornos del corazón o de los vasos sanguíneos y que tienen un origen multifactorial. Aunque existen muchos tipos de ECV, las que se han visto más relacionadas con la infección por gripe son la cardiopatía isquémica, la insuficiencia cardíaca, la fibrilación auricular y los accidentes cerebrovasculares.

La asociación entre la gripe y las complicaciones cardiovasculares se conoce desde hace más de 80 años. En un estudio en el que se analizaron los datos históricos del exceso de mortalidad en los EE. UU. entre 1915-1929, se encontró que el exceso de mortalidad por cualquier causa durante las epidemias de gripe fue sensiblemente mayor [25]. Entre las causas de muerte se incluían las cardiopatías orgánicas que, en el periodo estudiado, alcanzaron sus máximos niveles de forma simultánea a los picos de gripe en prácticamente todas las epidemias [25]. De forma similar, una reciente investigación en Rusia entre las temporadas 2013-2014 y 2018-2019 ha demostrado que existe una asociación entre la presencia de gripe y el aumento de la mortalidad por causas cardiovasculares (Figura 1) [26].

Otros estudios observacionales han demostrado una sólida relación entre la gripe o la enfermedad de tipo gripal (ILI, de sus siglas del inglés) y la muerte u hospitalización por causas cardiovasculares. En uno de ellos se analizaron series temporales de mortalidad por ECV e informes de ILI en Nueva York entre 2006 a 2012, y se observó que las temporadas con más ILI tenían un mayor exceso de mortalidad por ECV. La mayoría de muertes fueron por cardiopatía isquémica (72 %) e infarto de miocardio (12 %) [27]. Un estudio realizado en Escocia con el objetivo de analizar el efecto de la gripe como desencadenante de infarto de miocardio o accidente cerebrovascular en una cohorte de pacientes mostró un aumento del riesgo de infarto de miocardio de 9 veces a los 1-3 días después de la infección, y de 8 veces el riesgo de accidente cerebrovascular tras el mismo tiempo postinfección [28]. Estos datos se han corroborado en otras investigaciones independientes. En Canadá, un estu-

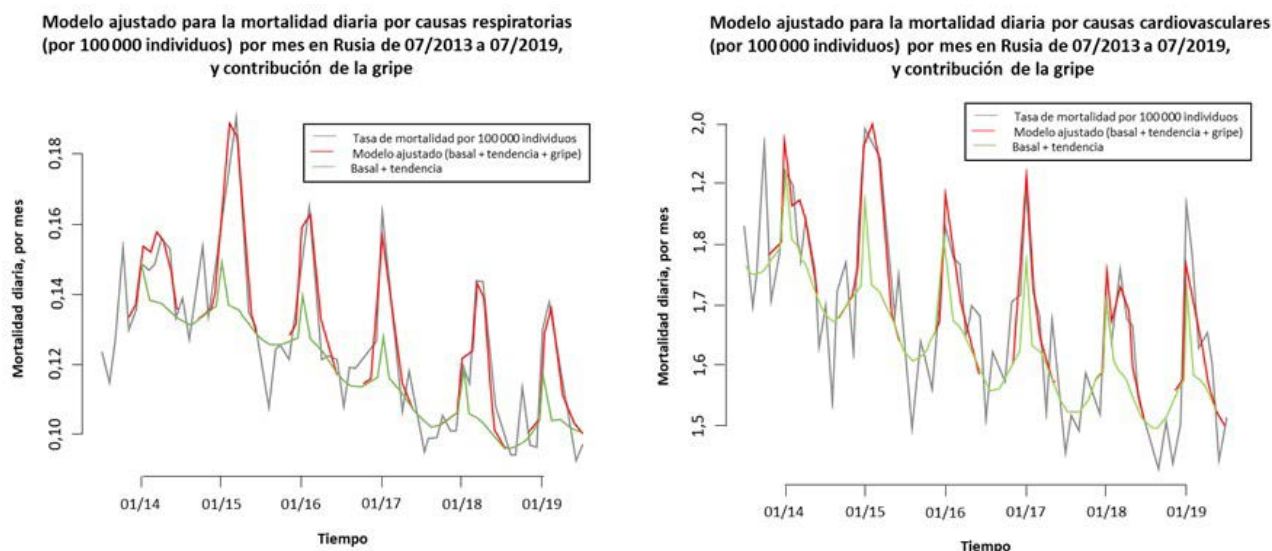


Figura 1 Modelo ajustado para las tasas de mortalidad por causas respiratorias (gráfico izquierdo) o cardiovasculares (gráfico derecho) por 100 000 individuos por mes en Rusia durante las temporadas entre julio de 2013 y julio de 2019. Figura adapta de Goldstein E. (2019) [26]. Los picos muestran el exceso de mortalidad coincidentes además con la época invernal.

dio en el que se evaluaba la asociación entre la infección por gripe confirmada en laboratorio y la hospitalización por infarto de miocardio en adultos mayores de 35 años demostró que el riesgo de ingreso por infarto de miocardio agudo era de entre 5 (para la gripe A) y 10 (para la gripe B) veces mayor durante los 7 días siguientes a la infección por gripe [8]. Además, en 2018 un estudio estadounidense confirmó también que la ILI aumentaba el riesgo de ictus isquémico unas 3 veces en los primeros quince días postinfección [6].

Por otro lado, la infección por gripe también se ha asociado a un aumento de la morbilidad y mortalidad hospitalaria en los pacientes con insuficiencia cardíaca [29]. Un estudio reciente ha comparado la actividad de ILI en cuatro regiones de los EE. UU. con la tasa de ingresos por insuficiencia cardíaca o infarto de miocardio en una muestra de más de 451.000 personas entre octubre de 2010 y septiembre de 2014. Los investigadores encontraron que, de media, un aumento del 5 % en la actividad mensual de ILI se asociaba a un incremento del 24 % en las tasas de hospitalización por insuficiencia cardíaca en el mismo mes. Además, la ILI se asoció temporalmente a un aumento en las hospitalizaciones por insuficiencia cardíaca en las cuatro temporadas de gripe [7].

También se ha demostrado que la infección por gripe aumenta el riesgo de eventos cardíacos en pacientes con enfermedad cardiovascular establecida. En un estudio de casos y controles en individuos con historia previa de infarto de miocardio, se comparó un grupo de pacientes que padecieron un infarto recurrente con respecto a un grupo control en el que no hubo empeoramiento de la enfermedad [30]. La vacuna frente a la gripe se asoció con una reducción del 67 % en el

riesgo de infarto durante la siguiente temporada de gripe [30]. Asimismo, múltiples ensayos clínicos y metaanálisis han mostrado los beneficios de la vacuna antigripal en la prevención secundaria de muerte cardiovascular, eventos cardiovasculares y hospitalización [31-37]. Por otra parte, muchos pacientes no vacunados desarrollan gripe o ILI que tratan sintómicamente con antiinflamatorios no esteroideos (AINE) como el ibuprofeno [38]. Sin embargo, el uso continuado de AINE puede producir efectos secundarios especialmente graves en pacientes con patologías cardiovasculares subyacentes. Estudios recientes han demostrado que el uso de AINE puede aumentar entre 3 y 4 veces el riesgo de un infarto agudo de miocardio, e incrementar en un 19 % el riesgo de ingreso hospitalario por insuficiencia cardíaca [39, 40].

En conclusión, la relación entre la gripe y los desenlaces cardiovasculares ha sido evidente durante muchos años e independientemente del planteamiento de los estudios, parece que existe una asociación clínicamente significativa.

Gripe y eventos respiratorios. A lo largo de la historia, la gripe se ha visto asociada a diversas enfermedades respiratorias, tanto crónicas como agudas. En esta revisión nos vamos a centrar en el asma, la EPOC y la neumonía.

El asma es una enfermedad crónica caracterizada por la inflamación de las vías respiratorias, producción excesiva de secreciones, hiperreactividad bronquial y una obstrucción reversible del flujo de aire que conduce a episodios recurrentes de sibilancias, disnea y tos [41]. Es común que curse con exacerbaciones que empeoren la situación basal del paciente e incluso puedan requerir su hospitalización. Se trata de la enfermedad subyacente más frecuente en pacientes hospi-

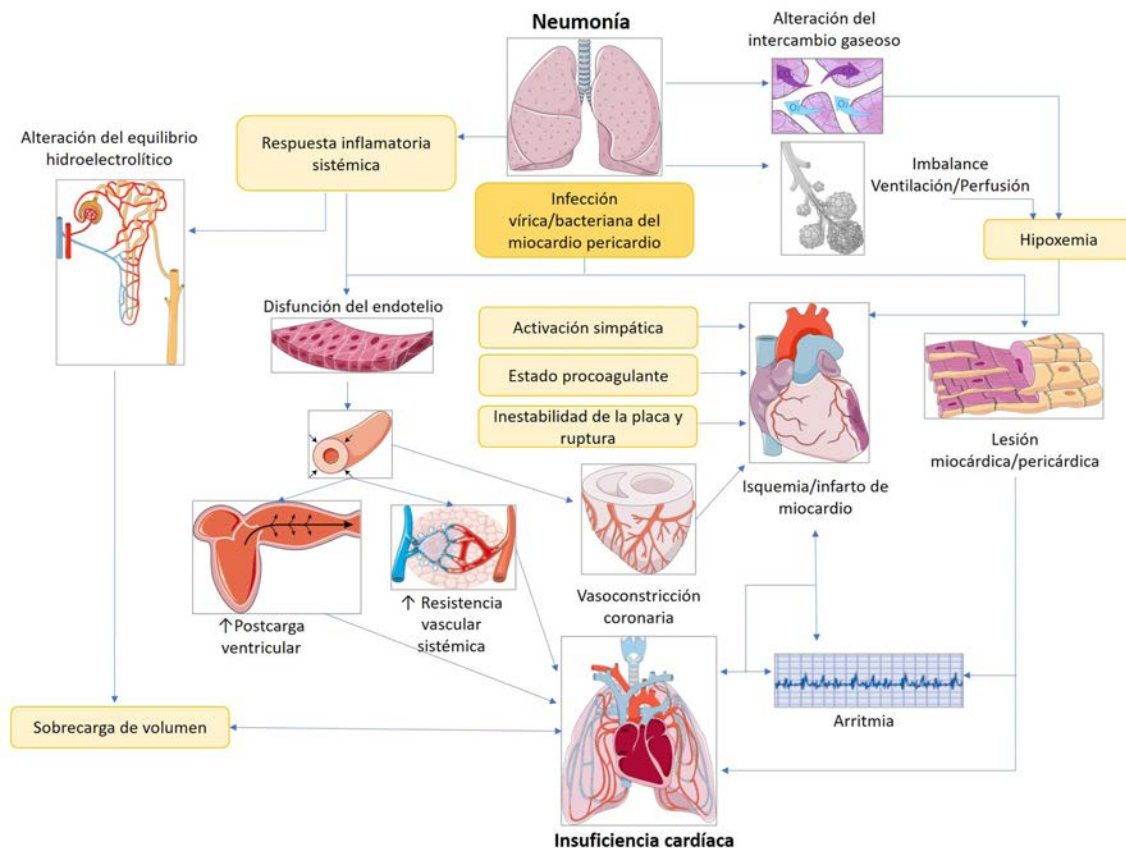


Figura 2 Resumen de los principales mecanismos implicados en las complicaciones cardíacas durante las infecciones respiratorias, especialmente la neumonía [111].

Esquema creado usando imágenes de Servier Medical Art (smart.servier.com)

talizados por gripe, tanto en adultos (7,6 %-46 %) como en niños (8,3 %-42 %)[42-44]. Asimismo, el asma representa un factor de riesgo de hospitalización durante las temporadas de gripe en la población general [43]. Lo mismo aplica en niños, en los que se ha determinado que el asma confiere un riesgo de hospitalización de 4 a 21 veces mayor [45-47]. Por otro lado, los pacientes con asma parecen tener un mayor riesgo de ser ingresados en la unidad de cuidados intensivos (UCI) y una peor evolución cuando están hospitalizados por gripe [43]. La infección gripal puede, además, conducir a exacerbaciones asmáticas. En dos estudios con pacientes ambulatorios adultos se encontró que la gripe estaba presente en el 32 % y el 9,8 % de los casos con exacerbaciones agudas. Entre los adultos hospitalizados con asma, se detectaron tasas de exacerbaciones inducidas por gripe entre un 10 % y un 37,9 % [48-51].

La EPOC se caracteriza por una limitación progresiva del flujo aéreo. Esta obstrucción del flujo aéreo está asociada con un proceso inflamatorio en la mucosa bronquial. La mayoría de los pacientes con EPOC son fumadores o ex fumadores. Existe un grupo de pacientes con EPOC que se caracteriza por presentar una o más exacerbaciones por año, que están aso-

ciadas con una disminución acelerada de la función pulmonar y una reducción de la calidad de vida. En pacientes con EPOC, la infección por virus respiratorios se ha asociado con una disminución acelerada de la función pulmonar, independientemente del tabaquismo, la frecuencia de exacerbaciones y la carga bacteriana de las vías respiratorias inferiores [52]. Así, se ha visto que la infección por gripe es causa de un exceso de morbilidad y mortalidad en la EPOC y puede afectar a la progresión de la enfermedad independientemente de la edad [53]. Asimismo, entre un 15 % y un 64 % de las exacerbaciones de la EPOC están asociadas con infecciones respiratorias de origen vírico [54-56]. En estudios en poblaciones que no recibieron la vacuna antigripal, las tasas de hospitalización por exacerbaciones agudas de EPOC fueron sustancialmente más altas en la temporada de gripe que en la temporada sin gripe [57].

La neumonía es una infección aguda de los pulmones que produce la inflamación de los espacios alveolares, lo que provoca tos productiva, fiebre y dificultad para respirar. Se trata de la principal causa de muerte en niños menores de cinco años en todo el mundo, con alrededor de 1,6 millones de muertes al año en este grupo de edad [58]; más del 99

% de todas las muertes por neumonía ocurren en países con baja renta. En Europa, las tasas de mortalidad por neumonía son sustancialmente más altas en niños de hasta cuatro años y en adultos mayores de 75 años que en otros grupos de edad [58]. En un metaanálisis reciente se determinó que la tasa de coinfección entre gripe y neumonía fluctúa entre un 2 % y un 65 % en función del país de origen y del estado de gravedad de los pacientes [59]. Además, la coinfección supone un factor de riesgo independiente de mortalidad en pacientes con gripe en la UCI [60].

Por otro lado, múltiples investigaciones clínicas y epidemiológicas han demostrado que la infección bacteriana secundaria a la infección por gripe puede aumentar significativamente la morbilidad y mortalidad en comparación con la infección solo por el virus de la gripe, especialmente en pacientes con neumonía grave [61,62]. La infección por el virus de la gripe puede provocar síntomas en el tracto respiratorio inferior, pero las infecciones bacterianas secundarias durante y después de la gripe son una causa mucho más común de neumonía. La incidencia de la enfermedad neumocócica invasiva se correlaciona estrechamente con la temporada de gripe y la vacunación antineumocócica no solo resulta en una reducción del número de casos de neumonía, sino que también conduce a una disminución de los casos de neumonía asociada a la gripe [63,64]. Aunque la neumonía bacteriana secundaria también se ha descrito para otros virus respiratorios, la morbilidad y la mortalidad son mucho más bajas que las observadas cuando existe coinfección por el virus de la gripe [65, 66]. Así pues, el virus gripal se presenta como un facilitador para la sobreinfección bacteriana, prin-

cialmente por el neumococo como se explica y desarrolla en la punto 3.1

ETIOPATOGENIA DE LOS EVENTOS CARDIORRESPIRATORIOS ASOCIADOS A LA GRIPE

Mecanismos fisiopatológicos de los eventos cardiovascularmente relacionados con la gripe. Ante el proceso infeccioso originado en el pulmón se producen diversas alteraciones fisiopatológicas que tendrán consecuencias sobre el sistema cardiovascular, tanto por sus implicaciones locales, como hipoxemia e hipoxia tisular, como por las derivadas de la inflamación sistémica (Figura 2).

La hipoxemia puede provocar daño miocárdico de origen no isquémico además de ser también potencial desencadenante de arritmias. Por otra parte, la inflamación sistémica puede afectar directamente a las placas de ateroma, generar un estado procoagulante y producir disfunción endotelial, que conduce a vasoconstricción coronaria e isquemia miocárdica.

La relación entre la infección por el virus de la gripe y el desarrollo de patologías del corazón, o el empeoramiento de éstas en pacientes con antecedentes cardiovasculares previos tiene varios mecanismos [67, 68]. Por un lado, se ha descrito un mecanismo indirecto por el cual la infección gripal provocaría la ruptura de las placas ateroscleróticas que culminan en eventos clínicos como infarto agudo de miocardio agudo o un accidente cerebrovascular (Figura 2) [69]. La infección actuaría como un estímulo inflamatorio y activaría el sistema inmunitario, cuya respuesta acelera el crecimiento causando la

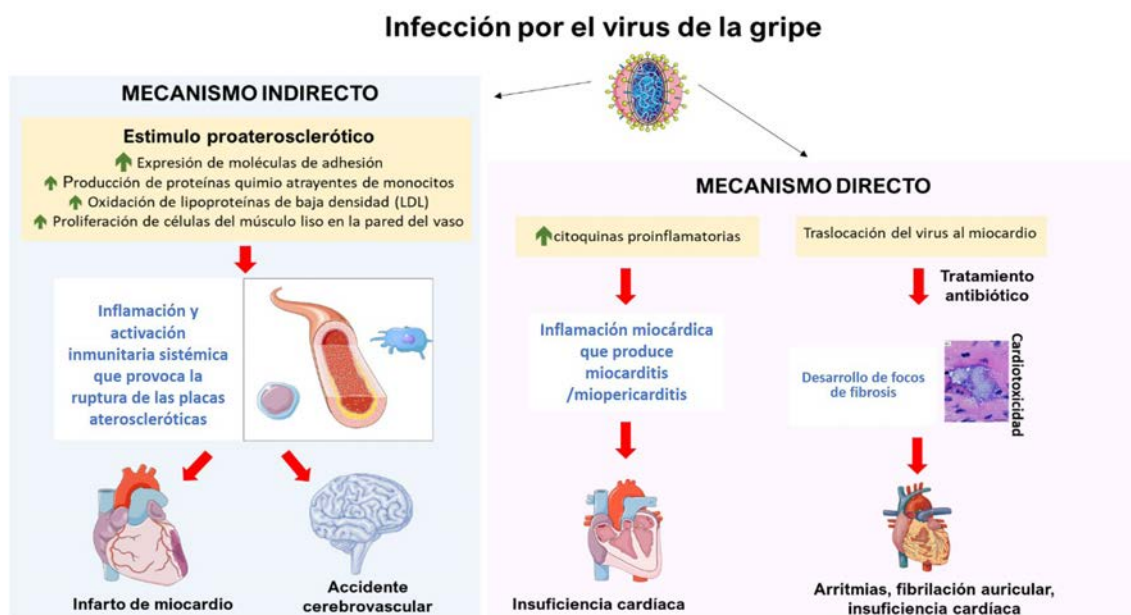


Figura 3 Etiopatogenia de los eventos cardiovasculares asociados a gripe [8, 67, 68, 74].

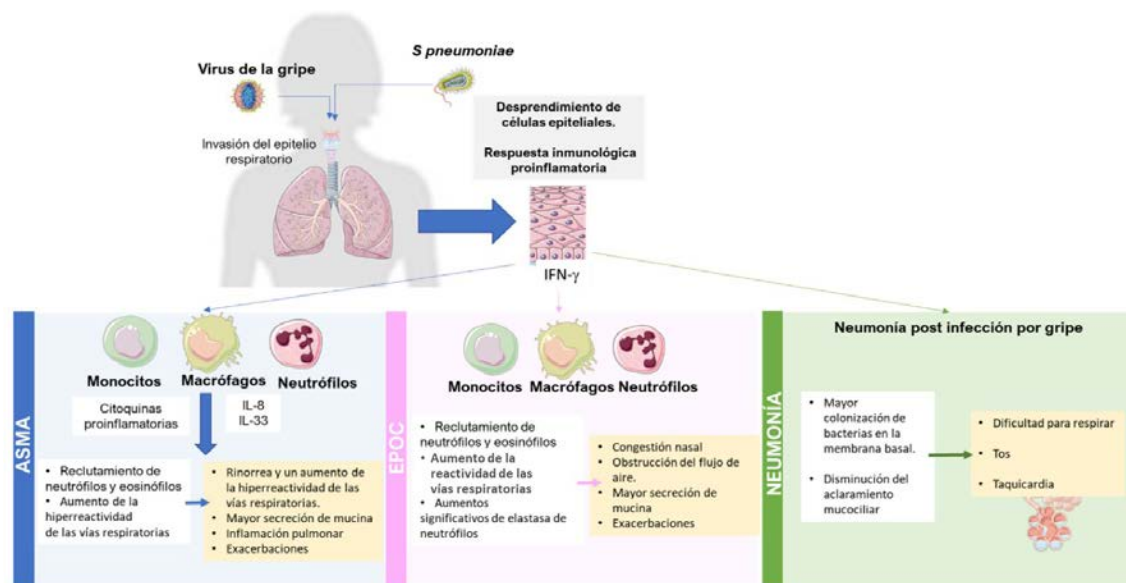


Figura 4 Etiopatogenia de los eventos respiratorios asociados a gripe [79, 80, 112]

Esquema creado usando imágenes de Servier Medical Art (smart.servier.com)

génesis, progresión e inestabilidad de las placas ateroscleróticas [70]. Múltiples agentes infecciosos, incluido el virus de la gripe, inducen mecanismos proateroescleróticos locales, como con la expresión de moléculas de adhesión, la producción de proteínas quimioatrayentes de monocitos o la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) que activan el endotelio, promueven la migración de leucocitos y eventualmente la formación del "core" lipídico de placas de ateroma de lípidos [70-73]. Además, las infecciones también se han asociado con una mayor proliferación de células del músculo liso en la pared del vaso del endotelio, lo que contribuye a la progresión de dichas placas [70].

Por otro lado, como se resume en la Figura 3, también se especula con un posible efecto directo de la infección vírica. La infección por el virus de la gripe produciría un aumento de las citoquinas proinflamatorias, que pueden dar lugar a pericarditis o miocarditis y, en última instancia, generar insuficiencia cardíaca [74,75]. Otro mecanismo propuesto más recientemente implica la cardiotoxicidad, descrita inicialmente en neumonías neumocócicas donde se ha observado una traslocación bacteriana al miocardio sin una expresión inflamatoria celular identificable, pero sí con la capacidad de que se produzcan focos de microfibrrosis en relación con la destrucción de la bacteria por los antibióticos y que pudiera dar lugar a patologías como arritmias, fibrilación auricular o insuficiencia cardíaca [76,77]. En este contexto, el virus de la gripe podría actuar en el miocardio de manera similar al neumococo. La gripe tiene una fuerte asociación con desarrollo de neumonía neumocócica que, por sí misma, ha demostrado aumentar el riesgo de eventos cardiovasculares tanto durante el episodio inicial como en el seguimiento a largo plazo [78].

Mecanismos fisiopatológicos de los eventos respiratorios asociados a la gripe. Los pacientes con asma presentan, en primer lugar, un mayor riesgo de desarrollar gripe y, en segundo lugar, complicaciones más graves asociadas con esta enfermedad [3,49]. Los síntomas respiratorios asociados a la gripe son básicamente el resultado de dos factores: i) destrucción del tejido que compone la vía aérea normal como consecuencia de los efectos directos del virus, y ii) la respuesta inflamatoria desencadenada por la infección. En el mecanismo propuesto, resumido en la Figura 4, la infección por gripe se inicia con la invasión del epitelio respiratorio, en el que se dan la replicación vírica y la respuesta inmunológica del huésped [79]. La replicación viral desencadena respuesta inmune innata y adaptativa predominantemente en la vía aérea que incluye la activación celular (macrófagos y monocitos) y la liberación de citoquinas proinflamatorias. La respuesta del huésped causa muchos de los síntomas propios de cualquier infección respiratoria viral y aquellos asociados con las exacerbaciones asmáticas. Por otra parte, la activación de neutrófilos aumenta la producción de elastasa y mucina por las células caliciformes de las vías respiratorias. Asimismo, las partículas virales también contribuyen a los síntomas al aumentar la hiperreactividad de las vías respiratorias, aunque se desconoce el mecanismo. El daño viral inducido en el epitelio respiratorio provoca también el desprendimiento de estas células hacia la luz de las vías respiratorias, lo que agrava el grado de la obstrucción y la manifestación en forma de sibilancias [80]. Además, una investigación reciente ha demostrado la implicación de la interleucina 33 (IL-33) en la aparición de exacerbaciones asmáticas inducidas por infecciones virales [81].

Los mecanismos de exacerbación de la EPOC inducida por

virus respiratorios siguen sin estar claros. Sin embargo, parece que serían similares a los descritos para el asma [82]. La infección vírica conduciría al desprendimiento de células epiteliales, dilatación microvascular, edema e infiltración de células inmunes. Se promovería una respuesta inmune, con la participación del receptor TLR-3 y con la producción de la citoquina IL-8, provocando congestión nasal [82]. Además, se han detectado aumentos significativos de elastasa de neutrófilos en el esputo de pacientes con EPOC tras sufrir una infección vírica, que se han relacionado con una mayor gravedad de los síntomas y con la obstrucción del flujo de aire en sujetos con EPOC [12,83].

La mayoría de los estudios sobre el mecanismo subyacente del desarrollo de neumonía bacteriana tras la infección gripal se han centrado en el deterioro de las defensas del huésped frente a una infección producida por un patógeno no relacionado. El daño inducido por el virus de la gripe en el epitelio de las vías respiratorias conduce a una mayor colonización de las bacterias en la membrana basal mediante el favorecimiento de la adhesión bacteriana e invasión [84]. Además, se ha demostrado que la gripe perjudica la función de los neutrófilos en múltiples niveles. Por otro lado, también provoca reducción del aclaramiento mucociliar, lo cual aumenta la producción de moco y supone una mayor cantidad de sustrato disponible para *Streptococcus pneumoniae* [85]. Todos estos datos corroboran que la infección viral facilita la invasión de *S. pneumoniae* y el desarrollo de la enfermedad en personas de todas las edades [85].

IMPACTO DE LOS EVENTOS CARDIORRESPIRATORIOS ASOCIADOS A LA GRIPE

Enfermedades cardiovasculares. Según datos de la OMS, entre 2013 y 2016 la prevalencia de ECV en adultos mayores de 20 años fue del 48,0 %, con un total de 121,5 millones de personas en 2016. Esta prevalencia aumenta con la edad, tanto en hombres como en mujeres. Las ECV siguen siendo la primera causa de muerte a nivel mundial, con 17,9 millones de muertes anuales en 2016, que representan el 31 % de todas las muertes globales [86]. Además, se espera que esta cifra incre-

mente hasta más de 23,6 millones en 2030 [86].

Las ECV representan el 29 % del total de muertes en España, afectando más a mujeres (54 %) que a hombres (46 %) según datos del INE para 2018 [87]. Específicamente, los infartos de miocardio agudos tienen una incidencia anual en España del 0,69 %, provocando casi 15.000 muertes en 2018. El número de ingresos por esta causa fue de 57.903 [87] (Tabla 1). Los valores son aún más elevados para los pacientes con insuficiencia cardíaca o accidentes cerebrovasculares, con 19.142 y 26.420 muertes anuales respectivamente [87].

Enfermedades respiratorias. En España, el asma es un problema de salud pública cada vez más frecuente. Tal y como se muestra en la Tabla 1, en 2017, la incidencia de asma en España fue de 4,7 %, con más de 22 600 ingresos hospitalarios. Por otro lado, en 2018, más de 1000 personas fallecieron a causa de esta patología en nuestro país [88].

Respecto a la EPOC, se estima una prevalencia a nivel mundial del 11,7 %, siendo la causante de alrededor de 3 millones de muertes anuales [89,90]. Además, teniendo en cuenta el mayor envejecimiento en la población y el aumento del tabaquismo, se espera que la prevalencia de EPOC aumente en los próximos 40 años y sea la causa de unos 5,4 millones de muertes anuales [91,92].

La EPOC representa el 6,95 % de las defunciones en España con 15.421 muertes anuales, por detrás de la cardiopatía isquémica (14,5 %) o el Alzheimer y otras demencias (13,6 %). Sin embargo, es más mortal que patologías muy prevalentes como el cáncer de pulmón, que figura como la quinta causa de muerte [93]. A nivel de morbilidad, se calcula que la EPOC supone unos 100 000 ingresos hospitalarios al año en nuestro país [94].

Los datos de un estudio en España sitúan la tasa de hospitalización por neumonía en 3,54 personas hospitalizadas por cada 1.000 habitantes, con un promedio de estancia en el hospital por año de 16,63 días [95]. Además, la tasa de incidencia anual media de neumonía adquirida en la comunidad (NAC) es 4,63 por 100.000 habitantes en adultos y alcanza los 1400 casos por cada 100 000 habitantes en > 65 años [96,97]. La letalidad debida a esta patología respiratoria fue del 19,56 % en-

Tabla 1 Impacto epidemiológico de eventos cardiorrespiratorios que se han asociado con la gripe en España [87]			
Evento	Códigos CIE-10	INE. Defunciones según la Causa de Muerte 2018	Mortalidad (x 100.000 hab) 2018
Asma	J45	1.111	2,05
EPOC	J44	3.169	6,95
Neumonía	J13	10.415	22,29
Infarto agudo de miocardio	I21	14.521	32,14
Insuficiencia cardíaca	I50	19.142	41,19
Enfermedades cerebrovasculares	I60-I69	26.420	57,89
Fibrilación auricular	I48	6.926	14,38

tre 2009-2014 [95]. Según datos del INE para el 2018, la neumonía causó más de 10 000 muertes y provocó unos 120.000 ingresos [87].

LA VACUNA FRENTE A LA GRIPE: UNA MEDIDA EFICAZ PARA EL CONTROL DE LOS EVENTOS CARDIORRESPIRATORIOS ASOCIADOS

Diversas investigaciones han analizado el posible efecto de la vacuna antigripal en la prevención primaria o secundaria de enfermedades cardiopulmonares asociadas. Un estudio retrospectivo en el que se agruparon los datos de 18 cohortes, con un total de 713.872 pacientes de edad avanzada por temporada, durante 10 temporadas de vacunación, demostró que la vacunación antigripal se asocia con reducciones significativas en el riesgo de hospitalización por neumonía o gripe (con un promedio de un 27 %) y una disminución del 48 % en el riesgo de muerte en pacientes vacunados [98]. Asimismo, un estudio prospectivo en el que se analizó el efecto de la vacunación antigripal en pacientes con EPOC mostró una reducción del 38 % en las hospitalizaciones relacionadas con el virus de la gripe en individuos vacunados frente a los no vacunados [99]. Por otro lado, los resultados de un estudio con 2.217 pacientes con ILI durante la temporada 2013-2014 indicaron que las tasas ajustadas de efectividad de la vacuna antigripal en la prevención del desarrollo de neumonía y la hospitalización fueron del 64 % (IC 95 % = 29 % -81 %) y del 35 % (IC 95 % = 12 % a 52 %), respectivamente [100].

Respecto a los eventos cardiovasculares, en un estudio de casos y controles, tras ajustar por factores de riesgo demográficos, clínicos y de comportamiento, la vacunación contra la gripe se asoció con una reducción del riesgo de paro cardíaco primario fuera del hospital [101]. Otro estudio, aleatorizó 301 pacientes ingresados por infarto de miocardio o intervención coronaria percutánea programada, a recibir la vacuna contra la gripe o no recibirla. La mortalidad por causas cardiovasculares fue menor en el grupo de pacientes vacunados (2 % frente a 8 %), y este efecto fue significativamente evidente tras 1 año de seguimiento (6 % vs. 17 %) [102]. También se redujo la variable secundaria compuesta, que incluía eventos cardiovasculares mayores (MACE), definidos como muerte cardiovascular, infarto de miocardio no fatal u hospitalización por isquemia (11 % frente 23 %) tras un seguimiento de 6 meses [102]. Otro metaanálisis en el que se incluyeron 12 ensayos clínicos aleatorizados siguió a 6.735 pacientes de alto riesgo cardiovascular durante una media de 7,9 meses [35]. En el subgrupo de pacientes con síndrome coronario agudo reciente (≤ 1 año) (n = 815), la vacuna contra la gripe redujo significativamente los MACE [35].

En conjunto, se calcula que la vacuna para la gripe reduce el riesgo relativo de infarto de miocardio entre un 15 % y un 45 % [103]. Este efecto protector es comparable con la eliminación de otros factores clásicos de riesgo cardiovascular, como el tabaquismo cuyo cese se estima tiene una reducción del riesgo cardiovascular de entre un 32 % y un 43 %; o con el uso de fármacos antihipertensivos y de fármacos hipocolesterol-

Tabla 2 Medidas de prevención secundaria para el infarto de miocardio [103]

Factores	Reducción del riesgo relativo (%)
Vacunación antigripal	15-45 %
Dejar de fumar	32-43 %
Tratamiento con estatinas	19-30 %
Terapia antihipertensiva	17-25 %

miantes, asociados a una de reducción de riesgo cardiovascular del 17-25 % y del 19-30 % respectivamente (Tabla 2) [103].

El mecanismo del efecto protector de la vacunación antigripal está relacionado con la prevención de las infecciones respiratorias y la reducción del estrés asociado [74,104]. Sin embargo, específicamente en su papel cardioprotector, la vacuna antigripal se ha relacionado con la modificación del modelo inmunoinflamatorio de la aterosclerosis. Existen estudios en los que se muestra una protección de la vacunación más allá de la temporada de gripe. Se ha propuesto un mecanismo de "imitación de antígeno" entre los agentes infecciosos y los antígenos de la placa aterosclerótica [75,104]; de tal forma que con la vacunación antigripal, se impediría el efecto del virus de la gripe sobre la alteración de la homeostasis de las placas de ateroma en pacientes vulnerables. Un estudio reciente ha propuesto un posible mecanismo molecular en el que algunos de los anticuerpos generados por las vacunas antigripales actuarían como agonistas del receptor de la bradiquinina-2, activando una vía de señalización (con activación del óxido nítrico y facilitación de la vasodilatación y de la natriuresis) que contribuiría a la protección contra las ECV [105].

La vacunación frente a la gripe no sólo supone beneficios clínicos para los pacientes con patologías cardiopulmonares subyacentes, sino que también implica beneficios a nivel económico. Estudios de coste-efectividad en los EE.UU. han demostrado que, un aumento de la tasa de vacunación hasta un 80 % entre los pacientes hospitalizados con síndrome coronario agudo, tiene un perfil económico favorable y supone un ahorro de los costes [106]. Otra investigación en Corea en la que se incluyeron 682.258 pacientes con síndrome coronario agudo mostró que la vacuna contra la gripe evitaba 16.514 hospitalizaciones relacionadas con eventos cardiovasculares mayores y 2.764 muertes prematuras en el país por año, lo que supondría una reducción global de los costes de 86,2 millones de dólares [107]. Asimismo, en Australia se determinó que la ampliación del programa de vacunación a todos los adultos de 50 a 64 años para prevenir las hospitalizaciones relacionadas con la gripe sería rentable económicamente. Con ello, se evitarían 314 hospitalizaciones anuales por gripe/neumonía, 388 hospitalizaciones debidas a otras enfermedades respiratorias y 1.482 infartos agudos de miocardio en un año, lo que supondría un ahorro de alrededor de 8 millones de dólares [108]. En España, un estudio realizado entre las temporadas de gripe 2013-2014 y 2014-15, en el que se registraron un total de 728

casos confirmados de gripe en mayores de 65 años, determinó que los costes medios por hospitalización relacionados con gripe fueron un 2,75 % más bajos en los pacientes vacunados. La vacuna antigripal mostró además una protección significativa frente al ingreso en la UCI y la infección por neumonía bacteriana secundaria, entre otros factores [109].

Existen pues, evidencias que demuestran que la vacunación antigripal puede prevenir los eventos cardiorrespiratorios y, como consecuencia, suponer un beneficio económico [10,11]. En relación con esto, hay una nueva vacuna antigripal disponible que ha demostrado una efectividad relativa del 20,9 % frente a la incidencia de ingresos hospitalarios por patologías en las vías respiratorias, siendo un 12,7 % mayor que la vacuna de dosis estándar tradicional [110]. Esto tiene una considerable importancia clínica y sanitaria, dada la infrautilización de la vacunación entre la población, a pesar de que actualmente tanto las autoridades sanitarias como las sociedades médicas y los organismos asesores recomiendan la vacuna frente a la gripe en los pacientes con enfermedades crónicas [12-14], las tasas de vacunación en esta población de riesgo clínico son muy variables y siguen siendo subóptimas. Según datos del Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social, en España la cobertura de la vacuna antigripal fue tan solo del 54,2 % en las personas mayores de 65 años y del 22,8 % en la población de entre 60 y 64 en la temporada 2018-2019 [15].

Esta revisión pone de manifiesto el gran impacto que tienen las complicaciones cardiorrespiratorias asociadas a la gripe, aumentando de forma significativa la morbilidad de los pacientes, y un incremento de los gastos sanitarios asociados. Incrementar la tasa de vacunación antigripal en estas poblaciones es una medida de eficacia probada para mejorar el control de los eventos cardiovasculares y respiratorios en relación con la infección gripal. En esta línea, la llegada de nuevas vacunas antigripales, con una previsible mayor efectividad frente a gripe y sus complicaciones cardiorrespiratorias, deberá suponer un nuevo avance en la prevención de la enfermedad gripal.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la ayuda de Vanessa Marfil, PhD (Medical Statistics Consulting, Valencia, España) en la redacción y edición de este manuscrito.

CONFLICTOS DE INTERESES

AGR ha recibido remuneración por actividades docentes y formativas para Sanofi Pasteur, GlaxoSmithKline y MSD. JAA ha colaborado en actividades docentes subvencionadas por GlaxoSmithKline, MSD, Pfizer y Sanofi Pasteur, como investigador en ensayos clínicos de GlaxoSmithKline, Novartis y Sanofi y como consultor en Advisory Board de GlaxoSmithKline, MSD, Pfizer y Sanofi Pasteur. ERM ha recibido honorarios como consultor/asesor y/o ponente, así como becada para asistir a conferencias o cursos por GlaxoSmithKline, Sanofi Pasteur, MSD, Pfizer y Novartis. MTVA ha recibido remuneración por actividades docentes

y formativas para Daiichy-Sankyo, Sanofi Pasteur, Fresenius-Kabi, Novartis. PS ha colaborado como consultor en Advisory board para Sanofi-Aventis. IJ ha recibido ayudas de viajes y/o honorarios por conferencias y/o el patrocinio de proyectos y/o consultorías de Sanofi Pasteur, Menarini, Seqirus y Pfizer. MGC y AC declaran no tener conflictos de intereses.

FINANCIACIÓN

Sanofi ha promovido el desarrollo de este trabajo financiando los servicios de medical writing y facilitando las reuniones del panel de expertos. Los autores han desarrollado y consensuado el contenido con independencia de la fuente de financiación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Instituto Nacional de Estadística. Esperanza de vida 2018 [cited 2020 February 11th]. Disponible en: https://www.ine.es/ss/Satellite?L=es_ES&cid=INESeccion_C&cid=1259926380048&tp=1254735110672&pagename=ProductosYServicios/PYSLayout.
2. Abizanda Soler P, Paterna Mellinas G, Martinez Sanchez E, Lopez Jimenez E. [Comorbidity in the elderly: utility and validity of assessment tools]. *Rev Esp Geriatr Gerontol*. 2010;45(4):219-28. DOI: 10.1016/j.regg.2009.10.009
3. Walker TA, Waite B, Thompson MG, McArthur C, Wong C, Baker MG, et al. Risk of Severe Influenza Among Adults With Chronic Medical Conditions. *J Infect Dis*. 2020;221(2):183-90. DOI: 10.1093/infdis/jiz570
4. Kwok CS, Aslam S, Kontopantelis E, Myint PK, Zaman MJS, Buchan I, et al. Influenza, influenza-like symptoms and their association with cardiovascular risks: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *International Journal of Clinical Practice*. 2015;69(9):928-37. DOI: 10.1111/ijcp.12646
5. Warren-Gash C, Smeeth L, Hayward AC. Influenza as a trigger for acute myocardial infarction or death from cardiovascular disease: a systematic review. *Lancet Infect Dis*. 2009;9(10):601-10. DOI: 10.1016/s1473-3099(09)70233-6
6. Boehme AK, Luna J, Kulick ER, Kamel H, Elkind MSV. Influenza-like illness as a trigger for ischemic stroke. *Annals of Clinical and Translational Neurology*. 2018;5(4):456-63. DOI: 10.1002/acn3.545
7. Kytomaa S, Hegde S, Claggett B, Udell JA, Rosamond W, Temte J, et al. Association of Influenza-like Illness Activity With Hospitalizations for Heart Failure: The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *JAMA Cardiol*. 2019;4(4):363-9. DOI: 10.1001/jamacardio.2019.0549
8. Kwong JC, Schwartz KL, Campitelli MA, Chung H, Crowcroft NS, Karnauchow T, et al. Acute Myocardial Infarction after Laboratory-Confirmed Influenza Infection. *N Engl J Med*. 2018;378(4):345-53. DOI: 10.1056/NEJMoa1702090
9. (WHO) WHO. Up to 650 000 people die of respiratory diseases linked to seasonal flu each year 2017 [Disponible en: <https://www.who.int/news-room/detail/14-12-2017-up-to-650-000-people-die-of-respiratory-diseases-linked-to-seasonal-flu-each-year>].

10. Rothbarth PH, Kempen BM, Sprenger MJ. Sense and nonsense of influenza vaccination in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;151(5):1682-5; discussion 5-6. DOI: 10.1164/ajrcrm/151.5_Pt_1.1682
11. Centanni S, Pregliasco F, Bonfatti C, Mensi C, Tarsia P, Guarnieri R, et al. Clinical efficacy of a vaccine-immunostimulant combination in the prevention of influenza in patients with chronic obstructive pulmonary disease and chronic asthma. *J Chemother*. 1997;9(4):273-8. DOI: 10.1179/joc.1997.9.4.273
12. Mallia P, Johnston SL. Influenza infection and COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2007;2(1):55-64. DOI: 10.2147/copd.2007.2.1.55
13. Monto AS. Influenza: quantifying morbidity and mortality. *Am J Med*. 1987;82(6A):20-5. DOI: 10.1016/0002-9343(87)90556-0
14. Sakamoto H, Ishikane M, Ueda P. Seasonal Influenza Activity During the SARS-CoV-2 Outbreak in Japan. *JAMA*. 2020. DOI: 10.1001/jama.2020.6173
15. Grohskopf LA, Sokolow LZ, Broder KR, Walter EB, Bresee JS, Fry AM, et al. Prevention and Control of Seasonal Influenza with Vaccines: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices - United States, 2017-18 Influenza Season. *MMWR Recomm Rep*. 2017;66(2):1-20. DOI: 10.15585/mmwr.rr6602a1
16. Garcia A, Ortiz de Lejarazu R, Reina J, Callejo D, Cuervo J, Morano Larragueta R. Cost-effectiveness analysis of quadrivalent influenza vaccine in Spain. *Hum Vaccin Immunother*. 2016;12(9):2269-77. DOI: 10.1080/21645515.2016.1182275
17. Cox NJ, Subbarao K. Influenza. *Lancet*. 1999;354(9186):1277-82. DOI: 10.1016/S0140-6736(99)01241-6
18. World Health Organization. Vaccines against influenza WHO position paper - November 2012. *Wkly Epidemiol Rec*. 2012;87(47):461-76.
19. Organización Mundial de la Salud. Evaluation of influenza vaccine effectiveness. A guide to the design and interpretation of observational studies. Ginebra: OMS; 2017. Disponible en: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/255203/1/9789241512121-eng.pdf>.
20. Nichol KL. Challenges in evaluating influenza vaccine effectiveness and the mortality benefits controversy. *Vaccine*. 2009;27(45):6305-11. DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.07.006
21. Diaz-Granados CA, Denis M, Plotkin S. Seasonal influenza vaccine efficacy and its determinants in children and non-elderly adults: a systematic review with meta-analyses of controlled trials. *Vaccine*. 2012;31(1):49-57. DOI: 10.1016/j.vaccine.2012.10.084
22. Ortiz de Lejarazu R, Tamames S. [Influenza vaccination. Effectiveness of current vaccines and future challenges]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2015;33(7):480-90. DOI: 10.1016/j.eimc.2015.06.011
23. European center for disease prevention and control (ECDC). Seasonal influenza vaccination and antiviral use in EU/EEA Member States 2018. Disponible en: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Seasonal-influenza-antiviral-use-EU-EEA-Member-States-December-2018_0.pdf.
24. Ministerio de Sanidad CyBS. Coberturas de vacunación frente a gripe en ≥65 años, personas de 60-64 años, embarazadas y personal sanitario. Campaña 2018-2019 2020 [Disponible en: <https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/docs/CoberturasVacunacion/Tabla13.pdf>].
25. Collins SD. Excess Mortality from Causes Other than Influenza and Pneumonia during Influenza Epidemics. *Public Health Reports* (1896-1970). 1932;47(46):2159. DOI: 10.2307/4580606
26. Edward G. Influenza-associated mortality for circulatory and respiratory causes during the 2013-2014 through the 2018-2019 influenza seasons in Russia. 2019.
27. Nguyen JL, Yang W, Ito K, Matte TD, Shaman J, Kinney PL. Seasonal Influenza Infections and Cardiovascular Disease Mortality. *JAMA Cardiology*. 2016;1(3):274. DOI: 10.1001/jamacardio.2016.0433
28. Warren-Gash C, Blackburn R, Whitaker H, McMenamin J, Hayward AC. Laboratory-confirmed respiratory infections as triggers for acute myocardial infarction and stroke: a self-controlled case series analysis of national linked datasets from Scotland. *European Respiratory Journal*. 2018;51(3):1701794. DOI: 10.1183/13993003.01794-2017
29. Panhwar MS, Kalra A, Gupta T, Kolte D, Khera S, Bhatt DL, et al. Effect of Influenza on Outcomes in Patients With Heart Failure. *JACC: Heart Failure*. 2019;7(2):112-7. DOI: 10.1016/j.jchf.2018.10.011
30. Naghavi M, Barlas Z, Siadat S, Naguib S, Madjid M, Casscells W. Association of influenza vaccination and reduced risk of recurrent myocardial infarction. *Circulation*. 2000;102(25):3039-45. DOI: 10.1161/01.cir.102.25.3039
31. Gurfinkel EP, Leon de la Fuente R, Mendiz O, Mautner B. Flu vaccination in acute coronary syndromes and planned percutaneous coronary interventions (FLUVACS) Study. *Eur Heart J*. 2004;25(1):25-31. DOI: 10.1016/j.ehj.2003.10.018
32. Wu HH, Chang YY, Kuo SC, Chen YT. Influenza vaccination and secondary prevention of cardiovascular disease among Taiwanese elders-A propensity score-matched follow-up study. *PLoS One*. 2019;14(7):e0219172. DOI: 10.1371/journal.pone.0219172
33. Phrommintikul A, Kuanprasert S, Wongcharoen W, Kanjanavanit R, Chaiwarith R, Sukonthasarn A. Influenza vaccination reduces cardiovascular events in patients with acute coronary syndrome. *European Heart Journal*. 2011;32(14):1730-5. DOI: 10.1093/eurheartj/ehr004
34. Clar C, Oseni Z, Flowers N, Keshtkar-Jahromi M, Rees K. Influenza vaccines for preventing cardiovascular disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2015. DOI: 10.1002/14651858.CD005050.pub3
35. Udell JA, Zawi R, Bhatt DL, Keshtkar-Jahromi M, Gaughran F, Phrommintikul A, et al. Association Between Influenza Vaccination and Cardiovascular Outcomes in High-Risk Patients: A Meta-analysis. *JAMA*. 2013;310(16):1711. DOI: 10.1001/jama.2013.279206
36. Vardeny O, Claggett B, Udell JA, Packer M, Zile M, Rouleau J, et al. Influenza Vaccination in Patients With Chronic Heart Failure: The PARADIGM-HF Trial. *JACC Heart Fail*. 2016;4(2):152-8. DOI: 10.1016/j.jchf.2015.10.012
37. Tsvigoulis G, Katsanos AH, Zand R, Ishfaq MF, Malik MT, Karapanayiotides T, et al. The association of adult vaccination with the risk of cerebrovascular ischemia: A systematic review and meta-analysis. *J Neurol Sci*. 2018;386:12-8. DOI: 10.1016/j.jns.2018.01.007
38. Kim SY, Chang YJ, Cho HM, Hwang YW, Moon YS. Non-steroidal

- anti-inflammatory drugs for the common cold. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013(6):CD006362. DOI: 10.1002/14651858.CD006362.pub3
39. Arfe A, Scotti L, Varas-Lorenzo C, Nicotra F, Zambon A, Kollhorst B, et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of heart failure in four European countries: nested case-control study. *BMJ*. 2016;354:i4857. DOI: 10.1136/bmj.i4857
 40. Wen YC, Hsiao FY, Chan KA, Lin ZF, Shen LJ, Fang CC. Acute Respiratory Infection and Use of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs on Risk of Acute Myocardial Infarction: A Nationwide Case-Crossover Study. *J Infect Dis*. 2017;215(4):503-9. DOI: 10.1093/infdis/jiw603
 41. Lai CK, Beasley R, Crane J, Foliaki S, Shah J, Weiland S, et al. Global variation in the prevalence and severity of asthma symptoms: phase three of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Thorax*. 2009;64(6):476-83. DOI: 10.1136/thx.2008.106609
 42. Silvennoinen H, Peltola V, Vainionpää R, Ruuskanen O, Heikkinen T. Admission diagnoses of children 0-16 years of age hospitalized with influenza. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012;31(3):225-31. DOI: 10.1007/s10096-011-1297-8
 43. Schwarze J, Openshaw P, Jha A, Del Giacco SR, Firinu D, Tsilochristou O, et al. Influenza burden, prevention, and treatment in asthma-A scoping review by the EAAI Influenza in asthma task force. *Allergy*. 2018;73(6):1151-81. DOI: 10.1111/all.13333
 44. Centers for Disease C, Prevention. Patients hospitalized with 2009 pandemic influenza A (H1N1) - New York City, May 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2010;58(51):1436-40.
 45. Leckerman KH, Sherman E, Knorr J, Zaoutis TE, Coffin SE. Risk factors for healthcare-associated, laboratory-confirmed influenza in hospitalized pediatric patients: a case-control study. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010;31(4):421-4. DOI: 10.1086/651311
 46. Libster R, Coviello S, Cavalieri ML, Morosi A, Alabart N, Alvarez L, et al. Pediatric hospitalizations due to influenza in 2010 in Argentina. *N Engl J Med*. 2010;363(25):2472-3. DOI: 10.1056/NEJMc1008806
 47. Lee MC, Kim HY, Kong SG, Kim YM, Park SE, Im YT, et al. Clinical Characteristics of Pandemic Influenza A (H1N1) 2009 Pediatric Infection in Busan and Gyeongsangnam-do: One Institution. *Tuberc Respir Dis (Seoul)*. 2012;72(6):493-500. DOI: 10.4046/trd.2012.72.6.493
 48. Iikura M, Hojo M, Koketsu R, Watanabe S, Sato A, Chino H, et al. The importance of bacterial and viral infections associated with adult asthma exacerbations in clinical practice. *PLoS One*. 2015;10(4):e0123584. DOI: 10.1371/journal.pone.0123584
 49. Teichtahl H, Buckmaster N, Pertnikovs E. The incidence of respiratory tract infection in adults requiring hospitalization for asthma. *Chest*. 1997;112(3):591-6. DOI: 10.1378/chest.112.3.591
 50. Tan WC, Xiang X, Qiu D, Ng TP, Lam SF, Hegele RG. Epidemiology of respiratory viruses in patients hospitalized with near-fatal asthma, acute exacerbations of asthma, or chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Med*. 2003;115(4):272-7. DOI: 10.1016/s0002-9343(03)00353-x
 51. Atmar RL, Guy E, Guntupalli KK, Zimmerman JL, Bandi VD, Baxter BD, et al. Respiratory tract viral infections in inner-city asthmatic adults. *Arch Intern Med*. 1998;158(22):2453-9. DOI: 10.1001/archinte.158.22.2453
 52. Mallia P, Johnston SL. How viral infections cause exacerbation of airway diseases. *Chest*. 2006;130(4):1203-10. DOI: 10.1378/chest.130.4.1203
 53. Gorse GJ, O'Connor T Z, Young SL, Habib MP, Wittes J, Neuzil KM, et al. Impact of a winter respiratory virus season on patients with COPD and association with influenza vaccination. *Chest*. 2006;130(4):1109-16. DOI: 10.1378/chest.130.4.1109
 54. Wedzicha JA. Role of viruses in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc*. 2004;1(2):115-20. DOI: 10.1513/pats.2306030
 55. Seemungal T, Harper-Owen R, Bhowmik A, Moric I, Sanderson G, Message S, et al. Respiratory viruses, symptoms, and inflammatory markers in acute exacerbations and stable chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164(9):1618-23. DOI: 10.1164/ajrccm.164.9.2105011
 56. Rohde G, Wiethege A, Borg I, Kauth M, Bauer TT, Gillissen A, et al. Respiratory viruses in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease requiring hospitalisation: a case-control study. *Thorax*. 2003;58(1):37-42. DOI: 10.1136/thorax.58.1.37
 57. Simonsen L, Fukuda K, Schonberger LB, Cox NJ. The impact of influenza epidemics on hospitalizations. *J Infect Dis*. 2000;181(3):831-7. DOI: 10.1086/315320
 58. World Health Organization (WHO). Pneumonia Fact Sheet 2019. Disponible en: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/pneumonia>.
 59. Klein EY, Monteforte B, Gupta A, Jiang W, May L, Hsieh YH, et al. The frequency of influenza and bacterial coinfection: a systematic review and meta-analysis. *Influenza Other Respir Viruses*. 2016;10(5):394-403. DOI: 10.1111/irv.12398
 60. Martin-Loeches I, M JS, Vincent JL, Alvarez-Lerma F, Bos LD, Sole-Violan J, et al. Increased incidence of co-infection in critically ill patients with influenza. *Intensive Care Med*. 2017;43(1):48-58. DOI: 10.1007/s00134-016-4578-y
 61. Morens DM, Taubenberger JK, Fauci AS. Predominant role of bacterial pneumonia as a cause of death in pandemic influenza: implications for pandemic influenza preparedness. *J Infect Dis*. 2008;198(7):962-70. DOI: 10.1086/591708
 62. Gupta RK, George R, Nguyen-Van-Tam JS. Bacterial pneumonia and pandemic influenza planning. *Emerg Infect Dis*. 2008;14(8):1187-92. DOI: 10.3201/eid1408.070751
 63. Khater F, Moorman JP. Complications of influenza. *South Med J*. 2003;96(8):740-3. DOI: 10.1097/01.SMJ.0000084984.13843.CO
 64. Oliveira EC, Marik PE, Colice G. Influenza pneumonia: a descriptive study. *Chest*. 2001;119(6):1717-23. DOI: 10.1378/chest.119.6.1717
 65. Talbot TR, Poehling KA, Hartert TV, Arbogast PG, Halasa NB, Edwards KM, et al. Seasonality of invasive pneumococcal disease: temporal relation to documented influenza and respiratory syncytial viral circulation. *Am J Med*. 2005;118(3):285-91. DOI: 10.1016/j.amjmed.2004.09.016
 66. Patel J, Faden H, Sharma S, Ogra PL. Effect of respiratory syncytial virus on adherence, colonization and immunity of non-typable *Haemophilus influenzae*: implications for otitis media. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 1992;23(1):15-23. DOI: 10.1016/0165-

- 5876(92)90075-z
67. Musher DM, Abers MS, Corrales-Medina VF. Acute Infection and Myocardial Infarction. *N Engl J Med*. 2019;380(2):171-6. DOI: 10.1056/NEJMra1808137
 68. Udell JA, Farkouh ME, Solomon SD, Vardeny O. Does influenza vaccination influence cardiovascular complications? Expert Review of Cardiovascular Therapy. 2015;13(6):593-6. DOI: 10.1586/14779072.2015.1044439
 69. Lee KR, Bae JH, Hwang IC, Kim KK, Suh HS, Ko KD. Effect of Influenza Vaccination on Risk of Stroke: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuroepidemiology*. 2017;48(3-4):103-10. DOI: 10.1159/000478017
 70. Pothineni NVK, Subramany S, Kuriakose K, Shirazi LF, Romeo F, Shah PK, et al. Infections, atherosclerosis, and coronary heart disease. *Eur Heart J*. 2017;38(43):3195-201. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx362
 71. Haidari M, Wyde PR, Litovsky S, Vela D, Ali M, Casscells SW, et al. Influenza virus directly infects, inflames, and resides in the arteries of atherosclerotic and normal mice. *Atherosclerosis*. 2010;208(1):90-6. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2009.07.028
 72. Park I-W, Wang J-F, Groopman JE. HIV-1 Tat promotes monocyte chemoattractant protein-1 secretion followed by transmigration of monocytes. *Blood*. 2001;97(2):352-8. DOI: 10.1182/blood.V97.2.352
 73. Li D, Mehta JL. Antisense to LOX-1 Inhibits Oxidized LDL-Mediated Upregulation of Monocyte Chemoattractant Protein-1 and Monocyte Adhesion to Human Coronary Artery Endothelial Cells. *Circulation*. 2000;101(25):2889-95. DOI: 10.1161/01.CIR.101.25.2889
 74. Vardeny O, Solomon SD. Influenza vaccination: a one-shot deal to reduce cardiovascular events. *Eur Heart J*. 2017;38(5):334-7. DOI: 10.1093/eurheartj/ehw560
 75. Madjid M, Naghavi M, Litovsky S, Casscells SW. Influenza and cardiovascular disease: a new opportunity for prevention and the need for further studies. *Circulation*. 2003;108(22):2730-6. DOI: 10.1161/01.CIR.0000102380.47012.92
 76. Aykac K, Ozsurekci Y, Kahyaoglu P, Basaranoglu ST, Ertugrul I, Alp A, et al. Myocarditis associated with influenza infection in five children. *J Infect Public Health*. 2018;11(5):698-701. DOI: 10.1016/j.jiph.2018.05.003
 77. Hekimian G, Jovanovic T, Brechot N, Lebreton G, Leprince P, Trouillet JL, et al. When the heart gets the flu: Fulminant influenza B myocarditis: A case-series report and review of the literature. *J Crit Care*. 2018;47:61-4. DOI: 10.1016/j.jccr.2018.06.001
 78. Corrales-Medina VF, Alvarez KN, Weissfeld LA, Angus DC, Chirinos JA, Chang CC, et al. Association between hospitalization for pneumonia and subsequent risk of cardiovascular disease. *JAMA*. 2015;313(3):264-74. DOI: 10.1001/jama.2014.18229
 79. Gern JE. Viral Respiratory Infection and the Link to Asthma. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 2008;27(Supplement):S97-S103. DOI: 10.1097/INF.0b013e318168b718
 80. Guilbert TW, Denlinger LC. Role of infection in the development and exacerbation of asthma. *Expert Review of Respiratory Medicine*. 2010;4(1):71-83. DOI: 10.1586/ers.09.60
 81. Ravanetti L, Dijkhuis A, Dekker T, Sabogal Pineros YS, Ravi A, Dierdorp BS, et al. IL-33 drives influenza-induced asthma exacerbations by halting innate and adaptive antiviral immunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2019;143(4):1355-70 e16. DOI: 10.1016/j.jaci.2018.08.051
 82. Linden D, Guo-Parke H, Coyle PV, Fairley D, McAuley DF, Taggart CC, et al. Respiratory viral infection: a potential "missing link" in the pathogenesis of COPD. *Eur Respir Rev*. 2019;28(151). DOI: 10.1183/16000617.0063-2018
 83. Mallia P, Message SD, Gielen V, Contoli M, Gray K, Kebabdz T, et al. Experimental rhinovirus infection as a human model of chronic obstructive pulmonary disease exacerbation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;183(6):734-42. DOI: 10.1164/rccm.201006-0833OC
 84. Plotkowski MC, Puchelle E, Beck G, Jacquot J, Hannoun C. Adherence of type I *Streptococcus pneumoniae* to tracheal epithelium of mice infected with influenza A/PR8 virus. *Am Rev Respir Dis*. 1986;134(5):1040-4. DOI: 10.1164/arrd.1986.134.5.1040
 85. Morris DE, Cleary DW, Clarke SC. Secondary Bacterial Infections Associated with Influenza Pandemics. *Front Microbiol*. 2017;8:1041. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01041
 86. World Health Organization (WHO). Fact Sheet Cardiovascular diseases (CVDs) [Disponible en: [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))].
 87. Instituto Nacional de Estadística (INE). Defunciones según la causa de muerte 2018. Defunciones por causas (lista detallada) sexo y edad. Disponible en: <https://www.ine.es/jaxiT3/Tabla.htm?t=7947&L=0>.
 88. Corduras Martinez A DLSJ. La sanidad española en cifras 20182019.
 89. Adeloye D, Chua S, Lee C, Basquill C, Papana A, Theodoratou E, et al. Global and regional estimates of COPD prevalence: Systematic review and meta-analysis. *J Glob Health*. 2015;5(2):020415. DOI: 10.7189/jogh.05-020415
 90. GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2015;385(9963):117-71. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61682-2
 91. Lopez AD, Shibuya K, Rao C, Mathers CD, Hansell AL, Held LS, et al. Chronic obstructive pulmonary disease: current burden and future projections. *Eur Respir J*. 2006;27(2):397-412. DOI: 10.1183/09031936.06.00025805
 92. World Health Organization (WHO). Projections of mortality and causes of death, 2016 to 2060 [Disponible en: https://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/projections/en/].
 93. Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR). Las cifras de la EPOC siguen creciendo en España2018. Disponible en: https://www.separ.es/sites/default/files/SEPAR_EPOC_Espa%C3%B1a.pdf.
 94. Instituto Nacional de Estadística. Altas hospitalarias según el sexo, el motivo del alta y el diagnóstico principal 2017 [Disponible en: <https://www.ine.es/jaxiT3/Datos.htm?path=/t15/p414/a2017/I0/&file=01006.px>].
 95. Lopez-Gobernado M, Perez-Rubio A, Lopez-Garcia E, Mayo-Iscar A, Eiros JM. [Burden of hospitalization for pneumonia in a Spanish tertiary hospital. Period 2009-2014]. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*.

- 2017;55(2):170-5.
96. Rivero-Calle I, Pardo-Seco J, Aldaz P, Vargas DA, Mascaros E, Redondo E, et al. Incidence and risk factor prevalence of community-acquired pneumonia in adults in primary care in Spain (NEUMO-ES-RISK project). *BMC Infect Dis*. 2016;16(1):645. DOI: 10.1186/s12879-016-1974-4
 97. Vila-Corcoles A, Ochoa-Gondar O, Rodriguez-Blanco T, Raga-Luria X, Gomez-Bertomeu F, Group ES. Epidemiology of community-acquired pneumonia in older adults: a population-based study. *Respir Med*. 2009;103(2):309-16. DOI: 10.1016/j.rmed.2008.08.006
 98. Nichol KL, Nordin JD, Nelson DB, Mullooly JP, Hak E. Effectiveness of influenza vaccine in the community-dwelling elderly. *N Engl J Med*. 2007;357(14):1373-81. DOI: 10.1056/NEJMoa070844
 99. Mulpuru S, Li L, Ye L, Hatchette T, Andrew MK, Ambrose A, et al. Effectiveness of Influenza Vaccination on Hospitalizations and Risk Factors for Severe Outcomes in Hospitalized Patients With COPD. *Chest*. 2019;155(1):69-78. DOI: 10.1016/j.chest.2018.10.044
 100. Song JY, Lee JS, Wie SH, Kim HY, Lee J, Seo YB, et al. Prospective cohort study on the effectiveness of influenza and pneumococcal vaccines in preventing pneumonia development and hospitalization. *Clin Vaccine Immunol*. 2015;22(2):229-34. DOI: 10.1128/CVI.00673-14
 101. Siscovick DS, Raghunathan TE, Lin D, Weinmann S, Arbogast P, Lemaitre RN, et al. Influenza vaccination and the risk of primary cardiac arrest. *Am J Epidemiol*. 2000;152(7):674-7. DOI: 10.1093/aje/152.7.674
 102. Gurfinkel EP, de la Fuente RL, Mendiz O, Mautner B. Influenza vaccine pilot study in acute coronary syndromes and planned percutaneous coronary interventions: the FLU Vaccination Acute Coronary Syndromes (FLUVACS) Study. *Circulation*. 2002;105(18):2143-7. DOI: 10.1161/01.cir.0000016182.85461.f4
 103. MacIntyre CR, Mahimbo A, Moa AM, Barnes M. Influenza vaccine as a coronary intervention for prevention of myocardial infarction. *Heart*. 2016;102(24):1953-6. DOI: 10.1136/heartjnl-2016-309983
 104. Ciszewski A. Cardioprotective effect of influenza and pneumococcal vaccination in patients with cardiovascular diseases. *Vaccine*. 2018;36(2):202-6. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.11.078
 105. Veljkovic V, Glisic S, Veljkovic N, Bojic T, Dietrich U, Perovic VR, et al. Influenza vaccine as prevention for cardiovascular diseases: Possible molecular mechanism. *Vaccine*. 2014;32(48):6569-75. DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.07.007
 106. Peasah SK, Meltzer MI, Vu M, Moulia DL, Bridges CB. Cost-effectiveness of increased influenza vaccination uptake against readmissions of major adverse cardiac events in the US. *PLoS One*. 2019;14(4):e0213499. DOI: 10.1371/journal.pone.0213499
 107. Suh J, Kim B, Yang Y, Suh D-C, Kim E. Cost effectiveness of influenza vaccination in patients with acute coronary syndrome in Korea. *Vaccine*. 2017;35(21):2811-7. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.04.016
 108. Raj SM, Chughtai AA, Sharma A, Tan TC, MacIntyre CR. Cost-benefit analysis of a national influenza vaccination program in preventing hospitalisation costs in Australian adults aged 50-64years old. *Vaccine*. 2019;37(40):5979-85. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.08.028
 109. Torner N, Navas E, Soldevila N, Toledo D, Navarro G, Morillo A, et al. Costs associated with influenza-related hospitalization in the elderly. *Hum Vaccin Immunother*. 2017;13(2):412-6. DOI: 10.1080/21645515.2017.1264829
 110. Gravenstein S, Davidson HE, Taljaard M, Ogarek J, Gozalo P, Han L, et al. Comparative effectiveness of high-dose versus standard-dose influenza vaccination on numbers of US nursing home residents admitted to hospital: a cluster-randomised trial. *Lancet Respir Med*. 2017;5(9):738-46. DOI: 10.1016/S2213-2600(17)30235-7
 111. Corrales-Medina VF, Musher DM, Shachkina S, Chirinos JA. Acute pneumonia and the cardiovascular system. *Lancet*. 2013;381(9865):496-505. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)61266-5
 112. van der Sluijs KF, van der Poll T, Lutter R, Juffermans NP, Schultz MJ. Bench-to-bedside review: bacterial pneumonia with influenza - pathogenesis and clinical implications. *Crit Care*. 2010;14(2):219. DOI: 10.1186/cc8893

Juan J. Picazo

Vacuna frente al COVID-19

Catedrático Emérito de Microbiología Médica. Facultad de Medicina. Universidad Complutense (Madrid)

Article history

Received: 8 June 2021; Accepted: 23 June 2021; Published: 28 June 2021

RESUMEN

La pandemia por COVID-19 ha producido en nuestra sociedad un colapso sanitario, económico y psicológico enorme. Los sanitarios han tenido que enfrentarse a uno de los mayores retos en la historia, tratando de señalar a la población cómo enfrentarse a esta enfermedad. Hemos aprendido que las vacunas suponen el gran instrumento para luchar contra las enfermedades infecciosas y empezaron a aparecer un gran número de ellas, no como producto de la casualidad sino como producto del enorme avance experimentado en los últimos años con las vacunas frente a nuevas enfermedades infecciosas, frente a otras enfermedades como el Alzheimer y especialmente frente al cáncer. Todo este conocimiento se ha aplicado a esta enfermedad. Los médicos se lamentaban de la escasa información que disponían ante las preguntas de los pacientes. Este documento quiso ser una respuesta ante esas inquietudes, con un afán científico, con evidencias que pusieran de lado los datos sin comprobar y los bulos. Ante una avalancha de información, mucha de ella sin la adecuada revisión por expertos, como se señala en la introducción, cualquier publicación queda obsoleta en el momento de publicarse, y optamos por una publicación "on line", con la incorporación de versiones. Esta publicación "on line" se ha ido publicando en los documentos de la Sociedad Española de Quimioterapia, en <https://seq.es/vacunacion-covid-19>.

Palabras clave: vacunas, COVID-19, variantes, SARS-CoV-2

Vaccine against COVID-19

ABSTRACT

The COVID-19 pandemic has produced a huge health, economic and psychological collapse in our society. Health workers have had to face one of the greatest challenges in history, trying to

show the population how to deal with this disease. We have learned that vaccines are the great instrument for the fight against infectious diseases and a large number of them began to appear, not as a product of chance but as a product of the enormous progress experienced in recent years with vaccines against new infectious diseases, against other diseases such as Alzheimer's and especially against cancer. All this knowledge has been applied to this disease. Practitioners lamented the little information available to them when asked questions from patients. This document wanted to be a response to these concerns, with a scientific desire, with evidence that put aside unverified data and hoaxes. Faced with an avalanche of information, most of it without the appropriate "peer review" as indicated in the introduction, any publication becomes obsolete at the time of publication, and we opted for an "online" publication, with the incorporation of versions. This online publication has been published in the documents of Spanish Society of Chemotherapy, at <https://seq.es/vacunacion-covid-19>.

Keywords: vaccines, COVID-19, variants, SARS-CoV-2

1. INTRODUCCIÓN

Según el estudio de las causas más frecuentes de muerte en Estados Unidos, en 2020 se ha comprobado un incremento de la mortalidad del 17,7% comparado con el 2019 [1]. La COVID-19 se ha convertido este año en la tercera causa de muerte en USA detrás de las enfermedades cardíacas y del cáncer (345.323 fallecimientos). El incremento por otras causas, especialmente cardíacas, Alzheimer y diabetes, puede reflejar también según estos autores la ruptura del sistema sanitario que impidió la detección precoz y el manejo terapéutico de estas enfermedades, junto al incremento en los fallecimientos por sobredosis de drogas.

Los casos en niños han incrementado en las estadísticas de USA [2, 3], y los datos a 31 de marzo de 2021, encontramos de un total de casos en todas las edades de 25.446.361, un número de casos en niños de 3.405.638, lo que supone un 13,4% del total de casos (4.524,8 casos por 100.000 niños). A estos datos debemos sumar que muchas de las infecciones en niños son silentes.

Correspondencia:

Juan J. Picazo

Catedrático Emérito de Microbiología Médica. Facultad de Medicina.
Universidad Complutense (Madrid)E-mail: jpicazo@microb.net

Los resultados preliminares del ensayo en fase 3 [4] indican que la vacuna Pfizer-BioNTech demuestra una eficacia del 100% frente al virus SARS-CoV-2 en niños de 12 a 15 años de edad. Estos datos suponen un avance extraordinario para alcanzar la deseada y necesaria inmunidad de la población, y se comentan de forma más ampliada en la vacuna Pfizer-BioNTech.

Hay aspectos de la infección por COVID-19, que no conocemos en profundidad. La enorme afectación que produce en las personas mayores se ha venido achacando al fenómeno de la inmunosenescencia, que indica que con la edad, la respuesta inmune es menos eficaz que afecta a la producción de células T por el timo. Se ha señalado también que la infección por Citomegalovirus, más frecuente en el anciano, en el que encontramos una seroprevalencia del 80%, podría conducir a un incremento de la respuesta frente al CMV produciendo una todavía menor respuesta inmune a nuevas infecciones virales, proporcionando una mayor susceptibilidad a lo que se ha denominado "tormenta de citoquinas" [5]. Recientemente se ha observado un incremento en edades más jóvenes.

La esperanza puesta en las vacunas ha conducido al desarrollo mundial de más de 200 vacunas en diferentes estados de investigación y al avance en novedosas formas de nuevas vacunas muy prometedoras que implican nuevas selecciones de antígenos y nuevas plataformas. La enorme morbilidad y mortalidad por esta pandemia en todo el mundo ha forzado la investigación en vacunas de una manera nunca antes experimentada, acortando los procesos de investigación y obligando a las entidades aprobadoras nacionales y supranacionales a realizar un seguimiento de los ensayos en directo para acelerar su disponibilidad. En cualquier caso, los científicos, los reguladores y los sanitarios deben permanecer firmes en su compromiso para mantener los estándares científicos, éticos y regulatorios necesarios para garantizar la seguridad y eficacia de las vacunas [6].

No hace falta subrayar que este campo está en constante movimiento y actualización. Por ello, publicarlo en una revista de la forma habitual hace que los datos incluidos puedan quedar obsoletos cuando el artículo sale publicado. Aprovechando las propiedades y el alcance de las plataformas informáticas en internet, hemos decidido publicarlo en formato "on line" y en la parte superior del documento aparecerá la versión actualizada correspondiente que anula a la anterior. Confiamos que con esta fórmula este documento se encuentre periódicamente actualizado y cumpla su objetivo de informar fielmente a las profesiones sanitarias. La inclusión de datos y evidencias se realizará exclusivamente de publicaciones científicas o de presentaciones en órganos reguladores con el debido rigor, con una revisión por pares adecuada ("peer review") evitando siempre que podamos la inclusión de "noticias" que pudieran conducirnos a error. Como señalamos al final de este trabajo, el papel que los sanitarios han tenido y tienen [7] en el manejo de esta pandemia es crucial y la información que proporcionen será decisiva para que la población que desea la vacuna cuanto antes, elimine las dudas, los miedos y los titubeos naturales y podamos conseguir niveles de vacunación óptimos que nos permitan alcanzar lo más rápidamente posible una protección de grupo. Todos queremos volver a vivir la vida de antes de la pandemia. Esta puede ser la forma.

2. EL VIRUS

Se trata de un virus con membrana que encierra un ARN positivo de una sola hélice, una proteína replicasa no estructural y proteínas estructurales, la proteína pico (S), de envoltura (E), de membrana (M) y nucleocápside (N).

Los anticuerpos neutralizantes y la respuesta inmune celular tiene como objetivo principal la proteína pico (S), porque se ha demostrado que esta proteína es responsable del reconocimiento del receptor celular, y de la unión y de la entrada del virus a la célula receptora. La proteína pico (S) se compone de dos subunidades S1, que reconoce y se une a los receptores celulares (fundamentalmente al enzima convertidor de angiotensina, aunque en menor medida por la vía del CD4147 descrita por Wang [8] y la subunidad S2 que permite la fusión de la envoltura del virus con la membrana celular del huésped. Se sabe que específicamente una parte de la proteína S1, concretamente el Dominio de Unión al Receptor (RBD) es el responsable de la unión a los receptores de la célula infectada y por lo tanto se trata de uno de los más importantes objetivos del desarrollo de vacunas (He et al., 2005). En efecto, la unión del RBD de la S1 al receptor ACE2 pone en marcha un cambio de la conformación de la proteína S2 que da lugar a la inserción de un péptido en la membrana de la célula huésped [9]. Por otra parte, se ha demostrado que la inmunización de ratones con RBD da lugar a respuesta de anticuerpos y de células inmunes frente al virus [10].

Se ha publicado una excelente revisión sobre este tema por Lanying Du et al. [11].

3. LAS VACUNAS

Sabemos que hay en investigación un gran número de vacunas en todo el mundo, hasta el punto de que realizar un seguimiento exacto de todas ellas sea complicado. La OMS dispone de una página web en la que se resumen las vacunas conocidas y su estado de investigación [12]. Aquí revisaremos aquellas vacunas que previsiblemente y de forma más inmediata estén disponibles en nuestro país.

La dificultad de elaborar una vacuna depende de varios factores, incluyendo identificación de antígenos que generen respuestas protectoras, la variabilidad de los microorganismos, la duración de la memoria inmunológica, además de la diferente respuesta que puede aparecer debido a factores genéticos, de edad o ambientales [13].

La aprobación de una vacuna en España depende de la EMA (Agencia Europea de Medicinas), que dispone de unos mecanismos de aprobación específicos para la vacuna frente al COVID-19 [14].

3.1. ASPECTOS GENERALES

La eficacia de una vacuna y la cobertura vacunal son dos conceptos fundamentales en general y en cualquiera que se trate. Una vacuna no protegerá a la población si no produce

una respuesta inmune suficiente frente a los antígenos protectores, es decir, aquellos antígenos que son fundamentales para que el virus penetre en la célula y la infecte. Por otra parte, para que la población quede protegida debe vacunarse en un número suficiente para que se produzca la protección de grupo, que dependerá de la población vacunada y de la población que haya padecido la infección (sintomática o asintomática), de la eficacia y duración de su inmunidad, así como de la capacidad del virus para reproducirse (R_0). El trabajo de Bartsch et al. estudia este tema en profundidad [15]. Al final de este documento se revisa brevemente el interesante tema de la protección de grupo.

La seguridad de las vacunas es un aspecto fundamental, que no sólo puede afectar a esta vacuna sino a todas ellas. Existen como sabemos grupos de personas que a pesar de la evidencia disponible no son proclives a la vacunación. Cualquier problema que surja con esta vacuna produciría una mayor inquietud y hay que recordar que no existe un sustituto mejor para certificar la seguridad de una vacuna que los ensayos clínicos bien planteados, doble ciego, prospectivos y aleatorizados [16]. Dada la gravedad de la pandemia, la autorización apresurada de alguna vacuna es contemplada con preocupación por las autoridades sanitarias de todo el mundo [17-20].

El trabajo de Edwards y Orenstein [21] resume de forma clara y breve los procesos a seguir en las distintas fases del ensayo clínico, así como aquellas preguntas que se deben contestar para el empleo apropiado de estas vacunas y que deben de contestarse a través de un sistema de vigilancia estricto:

- Duración de la protección y necesidad de dosis de recuerdo (boosters)
- Efectividad en grupos de población no estudiados durante los ensayos clínicos
- Los eventuales efectos adversos ¿están relacionados de forma causal con la vacuna?
- Cuál es el impacto de la vacunación en la comunidad (protección de grupo) Jeyanathan et al. [22] indican muy certeramente aquellas estrategias a considerar para la vacunación del COVID-19:

1. La selección del o de los antígenos

En este punto hay un acuerdo general en las vacunas en marcha: La proteína S del virus proporciona anticuerpos protectores que neutralizan al virus y evitan la infección, dando lugar a una respuesta celular que parece muy necesaria [11, 23, 24]. La inclusión además de algunos enzimas virales muy conservados en las diferentes cepas puede también proporcionar una mayor protección frente a este y otros posibles virus [25]. Por otra parte, en un importante estudio realizado en 76 países de seis continentes analizando un total de 30.983 genomas del virus se ha observado una baja capacidad de mutación del RBD que indica que le diferencia del virus de la gripe o del VIH. El SARS-CoV-2 con esta muy baja capacidad de mutación favorece la elaboración de una vacuna efectiva [26]. Esta baja capa-

cidad de mutación (inusual en los virus ARN), parece debida a la presencia de una proteína no estructural, nsp14 que elimina los nucleótidos incorporados erróneamente, evitando que los errores sean permanentes, y contribuyendo a que la capacidad de error de estos virus sea inferior a la de otros virus ARN [27-29]. No hace falta subrayar aquí la enorme trascendencia que para el empleo de vacunas frente a estos virus tienen estos datos. Sin embargo, cabe subrayar que las mutaciones son siempre posibles dando lugar a eventuales variantes de escape (especialmente en virus ARN) [30], por lo que la vigilancia epidemiológica en los posibles cambios en la estructura de estos virus tras la incorporación de las vacunas es esencial.

Las mutaciones

No es el objeto de este documento analizar el impacto que las mutaciones y las diferentes variantes del virus puedan tener en la epidemiología de la enfermedad. Hay buena evidencia que indica que algunas de estas variantes presentan mucha mayor transmisibilidad. El objeto de este apartado es revisar el impacto que estas mutaciones (especialmente aquellas que afectan a los antígenos que conforman las vacunas) pudieran tener en la eficacia de las vacunas que se están administrando en estos momentos [31]. La forma de analizar este impacto es evaluando la capacidad de neutralización de los sueros de pacientes convalecientes, o mejor, analizando la capacidad de neutralización de individuos plenamente inmunizados con las vacunas. En Medicina solemos decir que el paciente siempre tiene la razón. El estudio del problema en el laboratorio será de enorme utilidad, pero como se señala al final de este capítulo, la vigilancia epidemiológica de los individuos vacunados nos dará la clave del impacto real de este problema.

Es importante resaltar que los virus están en constante mutación y que lo hacen de forma aleatoria. A pesar de que algunos tienen mecanismos para evitar estos errores (mutaciones), los errores se producen. Algunos de ellos son incompatibles con la vida del virus y esta variante desaparece. La gran mayoría son errores menores que no conducen a una gran alteración del virus (variantes) y otras veces sufren cambios importantes (nueva cepa).

A pesar de la baja capacidad de mutación señalada anteriormente, se han detectado muchas mutaciones que han dado lugar a variantes del virus, algunas de estas mutaciones afectan a la proteína pico (S), concretamente al RBD, que es el lugar clave para la entrada del virus a la célula y por lo tanto el objetivo de todas las vacunas.

En la actualidad, el número de variantes se ha ido incrementado y parecía imprescindible disponer de una denominación común que evite confusiones. Por ello, el CDC de los Estados Unidos a través de un grupo de expertos inter-agencias ha elaborado una clasificación en tres grupos [32], recogiendo los datos publicados por varios autores [33-44] y otros. A continuación, se incluye un resumen de esta clasificación, con el nombre original, el nombre de la OMS, el lugar de su primer hallazgo y los atributos de las variantes (Tabla 1 y 2).

Tabla 1 Variantes de interés. Cambios en el receptor de unión, reducción en la neutralización por anticuerpos generados tras la infección o la vacunación [32]

Nombre	Nombre OMS	Identificado en primer lugar	Atributos
B.1.525	Eta	Reino Unido/Nigeria – Diciembre 2020	Reducción potencial en la neutralización por algunos tratamientos con anticuerpos monoclonales Reducción potencial en la neutralización por suero de convaleciente o post-vacunado
B.1.526	Iota	Estados Unidos (Nueva York) – Noviembre 2020	Eficacia reducida de la combinación del tratamiento con anticuerpos monoclonales bamlanivimab y etesevimab (se desconocen las implicaciones clínicas). Existen tratamientos alternativos con anticuerpos monoclonales Reducción en la neutralización por suero de convaleciente o post-vacunado
B.1.526.1		Estados Unidos (Nueva York) – Octubre 2020	Reducción potencial en la neutralización por algunos tratamientos con anticuerpos monoclonales Reducción potencial en la neutralización por suero de convaleciente o post-vacunado
B.1.617		India – Febrero 2021	Reducción potencial en la neutralización por algunos tratamientos con anticuerpos monoclonales Reducción potencial en la neutralización por suero de convaleciente o post-vacunado
B.1.617.1	Kappa	India – Diciembre 2020	Reducción potencial en la neutralización por algunos tratamientos con anticuerpos monoclonales Reducción potencial en la neutralización por suero post-vacunado
B.1.617.3		India – Octubre 2020	Reducción potencial en la neutralización por algunos tratamientos con anticuerpos monoclonales Reducción potencial en la neutralización por suero post-vacunado
P.2	Zeta	Brasil – Abril 2020	Reducción potencial en la neutralización por algunos tratamientos con anticuerpos monoclonales Reducción potencial en la neutralización por suero post-vacunado

Tabla 2 Variantes preocupantes. Además de los atributos de las variantes de interés, muestran evidencias de impacto en el diagnóstico, tratamiento y en las vacunas. Evidencia de incremento en la transmisión. Evidencia de incremento de la gravedad de la enfermedad [32]

Nombre	Nombre OMS	Identificado en primer lugar	Atributos
B.1.1.7	Alpha	Reino Unido	~50% incremento de transmisión Potencial incremento en la gravedad, basado en las tasas de hospitalización y de mortalidad No hay impacto en la eficacia de los anticuerpos monoclonales Mínimo impacto en la neutralización por suero de convaleciente o de post-vacunado
B.1.351	Beta	Sudáfrica	~50% incremento de transmisión Significativa reducción en la eficacia del tratamiento con anticuerpos monoclonales combinado con bamlanivimab y etesevimab. Existen tratamientos alternativos con anticuerpos monoclonales Reducción en la neutralización con suero de convaleciente o de post-vacunado
B.1.427	Epsilon	Estados Unidos (California)	~20% incremento de transmisión Ligera disminución de la eficacia de la combinación de bamlanivimab y etesevimab (se desconocen las implicaciones clínicas). Existen tratamientos alternativos con anticuerpos monoclonales Reducción en la neutralización con suero de convaleciente o de post-vacunado
B.1.429	Epsilon	Estados Unidos (California)	~20% incremento de transmisión Disminución de la eficacia de la combinación de bamlanivimab y etesevimab (se desconocen las implicaciones clínicas). Existen tratamientos alternativos con anticuerpos monoclonales Reducción en la neutralización con suero de convaleciente o de post-vacunado
B.1.617.2	Delta	India	Incremento de transmisión Potencial reducción de la neutralización con el tratamiento de algunos anticuerpos monoclonales Potencial reducción en la neutralización con sueros de post-vacunados
P.1	Gamma	Japón/Brasil	Importante disminución de la eficacia de la combinación de bamlanivimab y etesevimab. Existen tratamientos alternativos con anticuerpos monoclonales Reducción en la neutralización con suero de convaleciente o de post-vacunado

La aparición en Vietnam de una nueva variante muy transmisible y todavía no clasificada por la OMS será objeto de seguimiento.

VARIANTES CON GRAVES CONSECUENCIAS: Además de los atributos de las variantes preocupantes muestran evidencias de impacto en las medidas clínicas (demostración de fallos en el diagnóstico, evidencias de reducción significativa en la eficacia de las vacunas o un número desproporcionado de casos en vacunados o una muy baja protección vacunal frente a los casos graves, reducción significativa de la eficacia de los tratamientos aprobados, o una gravedad mayor en los procesos e incremento de las hospitalizaciones).

En la actualidad, no se han encontrado casos en este grupo de Variantes con Graves Consecuencias.

La situación epidémica en la India ha sido y es muy preocupante. Cabe señalar que el día 25 de abril pasado se produjeron un total de 352.991 nuevas infecciones [45], la mayor cifra diaria en el mundo, superando la de USA del 2 de enero que fue de 300.000. Se estima que la quinta parte de los ciudadanos indios han sido infectados (270 millones de un total de 1.400 millones). Se han detectado varios factores que pueden haber intervenido; la emergencia de nuevas variantes (se comentará a continuación), el incremento de las relaciones sociales sin restricciones (motivos políticos, religiosos, celebraciones, etc.) y las bajas coberturas vacunales. En cuanto a las nuevas variantes, la aparición de la variante B.1.617 se ha convertido en dominante en algunas regiones (similar a lo ocurrido con la variante P1 en Brasil) se ha detectado en otros países y contiene varias mutaciones, dos de ellas relacionadas con una mayor transmisibilidad y con una eventual resistencia a la respuesta inmune (L452R y E484Q). Sin embargo, una reciente publicación [46] indica que el suero de convalecientes y el suero de vacunados con la vacuna Covaxin son capaces de neutralizarla, aunque con un ligero descenso en la eficacia [47].

Esta variante India (B.1.617) se ha extendido rápidamente a docenas de países y ha dado lugar a 3 subtipos diferentes denominados B.1.617.1 (la original, kappa), B.1.617.2 y B.1.617.3 [48]. Las incógnitas a desvelar son la distinta capacidad de estos subtipos para transmitir la enfermedad, la capacidad para producir una enfermedad más grave y el potencial para evadir la respuesta inmune tras padecer la enfermedad o recibir la vacunación. La variante B.1.617.2 (delta) parece que incrementa la transmisibilidad y puede remplazar a la B.1.1.7. en el Reino Unido. Esta mayor transmisibilidad podría variar entre un 20% o un 50%, una diferencia que puede ser muy notable de cara a los próximos meses. En segundo lugar, parece que al menos el subtipo B.1.617.2 (variante delta) está implicado en una mayor gravedad, con incremento de hospitalización, y en tercer lugar, con respecto a la capacidad de evasión de las vacunas, por los datos disponibles, la mayoría de los hospitalizados por B.1.617.2 no estaban vacunados. Sin embargo, la B.1.617.1 contiene la mutación 484Q que está asociada con el escape a la vacuna [49], por lo que las vacunas podrían ser menos efectivas frente a este subtipo. En cualquier caso, el impacto de estas variantes en países con escasos recursos y bajo nivel de

vacunación puede ser grave y refuerza una vez más la urgencia en obtener elevados niveles de vacunación cuanto antes. La variante delta (B.1.617.2) es una variante preocupante, con un incremento del riesgo de hospitalización [50, 51]. En el Reino Unido, el incremento de esta variante que representa más del 85% de los nuevos casos, ha supuesto un aumento notable de visitas a los Servicios de Urgencia, duplicando los ingresos en el hospital, observándose especialmente en las escuelas de primaria y secundaria del Reino Unido. Este incremento está ocasionando un debate sobre la relajación de medidas, especialmente la necesidad de llevar mascarillas.

Los datos de casos confirmados en el Reino Unido [52] indican que de 806 hospitalizados con la variante delta, 527 estaban no vacunados y 84 (aproximadamente el 10%) habían recibido dos dosis de la vacuna. El impacto de estos datos está haciendo reflexionar sobre la relajación de las medidas frente al COVID-19.

Los resultados sobre la eficacia de la vacuna ChAdOx1 (Astra/Zeneca) ante la variante B.1.351 (Sudafricana) han sido muy reveladores sobre esta variante de escape [41], frente a la que se observa una eficacia del 10,4%. Estos resultados serán comentados con mayor detenimiento en la vacuna ChAdOx1. Se ha demostrado igualmente una disminución de la eficacia de las vacunas mRNA (Pfizer y Moderna) frente a esta variante, utilizando suero de vacunados en cuya resistencia interviene muy probablemente la mutación E484K, que se encuentra en la variante sudafricana (B.1.351) así como en la brasileña (P1), que afectarían igualmente a las vacunas de Novavax y de Janssen (Johnson & Johnson).

Las vacunas mRNA pueden modificarse con mayor facilidad para adaptarse a las nuevas variantes, y se han publicado resultados preliminares del ensayo clínico en fase 2 de una vacuna m-RNA-1273.351 de Moderna, adaptada a la variante B.1.351 [53]. Los resultados indican buena tolerancia y un incremento en la neutralización frente a esta variante y frente a la variante P1. El ensayo continúa evaluando una vacuna multivalente (mRNA-1273.211).

Necesitamos más evidencias clínicas sobre la eficacia de las vacunas frente a procesos leves o moderados e incluso graves de Covid-19, incluyendo las nuevas variantes. Como acabamos de ver, la industria productora de las vacunas está ya realizando los estudios pertinentes para actualizarlas a la situación epidemiológica actual, teniendo presente la posible pérdida de efectividad con el tiempo y por ello la necesidad en el futuro de eventuales revacunaciones.

El reciente trabajo de Funk et al. publicado en Eurosurveillance [54] compara 19.207 casos de variantes con casos no variantes en países europeos. Los casos producidos en individuos de edad media por cepas variantes B.1.1.7, B.1.351 y P1 presentaban un mayor riesgo de hospitalización y de ingreso en UCI, lo que subraya una vez más según los autores la necesidad de alcanzar cuanto antes elevadas coberturas de vacunación y cumplir con las medidas sanitarias necesarias para reducir la incidencia y prevenir casos graves. Otra medida importante es el incremento de pruebas y el seguimiento de los contactos, con enfoque especial

hacia estas variantes de interés. En el caso de la variante B.1.1.7, la introducción de la mutación E484K, proporciona una pérdida más importante de la actividad neutralizante de los anticuerpos producidos por la vacuna si lo comparamos con la actividad neutralizante de la variante B.1.1.7 sin esta mutación, representando una amenaza para la eficacia de la vacuna [49]. Es preocupante el hecho de que la mutación E484K aparezca de forma independiente y recurrente sobre la variante B.1.1.7, dada la extensión rápida y global de esta variante.

Por otra parte, aparecen datos muy alentadores de vacunas de segunda generación [55] que demuestran en ratones que tras la administración de dos dosis de vacuna modificada con la proteína S de la variante B.1.351, se producen respuestas inmunes capaces de neutralizar todas las variantes conocidas, incluyendo la cepa original. Una tercera dosis con esta vacuna incrementa el título de anticuerpos neutralizantes similares a los obtenidos frente a la cepa original.

Conviene recordar que la respuesta inmune celular (células T CD8+) puede mantener el reconocimiento de la mayoría de las variantes como se ha demostrado estudiando la respuesta inmune de individuos convalecientes [56].

En estos momentos, Las variantes que nos preocupan son la llamada británica (B.1.1.7), la variante llamada sudafricana (B.1.351), la variante llamada brasileña (P1), y recientemente las encontradas en el sur de California (B.1.427y B.1.429), y muy especialmente la variante B.1.617 encontrada en la India. En estos momentos no se han encontrado Variantes con graves consecuencias.

Se han publicado resultados preliminares de una vacuna mRNA (Moderna, mRNA-1273.351), con resultados muy prometedores frente a esta variante

Las mutaciones del virus son un hecho. La vigilancia epidemiológica de los individuos vacunados nos dará la clave del impacto real de este problema

2. Las plataformas de vacunación deben considerar que la respuesta inmune adecuada debe incluir anticuerpos neutralizantes así como una respuesta celular.

La clasificación realizada es:

- Virus vivo atenuado. No parece recomendable su uso
- Virus inactivado. Proporcionaría una respuesta inmune frente a todo el virus
- Proteínas virales (esenciales para la infección viral)
- Vacunas recombinantes incluidas en virus vectores

Estas vacunas administran los genes de la proteína viral (proteína pico o proteína S). Se elige como vector a una cepa de Adenovirus no patógena para el hombre, y recientemente se utiliza una cepa específica para el chimpancé, con la que la humanidad no ha tenido contacto. Por ello, no habrá inmunidad frente a este Adenovirus (que destruiría la vacuna) y podría eventualmente repetirse la dosis.

- Vacunas basadas en ácidos nucleicos (ADN o ARN)

Estas novedosas plataformas consisten en moléculas de ARN no replicativo, recubierta de una capa de nanopartículas lipídicas que protege al ARN (este ácido nucleico es muy susceptible a la degradación) que codifica la proteína del virus (en este caso, la proteína pico o proteína S). Dado que el ARN en sí mismo no es inmunogénico, la repetición de dosis es perfectamente posible. Las vacunas COVID-19 ARNm dan instrucciones para que nuestras células hagan una pieza inofensiva de lo que se llama la "proteína de pico", que se encuentra en la superficie del virus que causa COVID-19. Las vacunas COVID-19 ARNm se administran en la parte superior del músculo del brazo. Una vez que las instrucciones (ARNm) están dentro de las células musculares, las células las utilizan para hacer la pieza de proteína. Después de que se hace la pieza de proteína, la célula descompone las instrucciones y se deshace de ellas. A continuación, la célula muestra la pieza de proteína en su superficie. Nuestros sistemas inmunitarios reconocen que la proteína no nos pertenece y comienzan a construir una respuesta inmune y a producir anticuerpos, como lo que sucede en la infección natural contra COVID-19. Al final del proceso, nuestro organismo ha aprendido cómo protegerse frente a una futura infección [57]

3. Las vías y el régimen de vacunación

La vía aceptada prácticamente por todas las vacunas es la inyección intramuscular. Algunas vacunas necesitan una segunda dosis para proporcionar una respuesta booster adecuada. No obstante, se ha planteado también la vacunación intranasal como vía eficiente para controlar la presencia del virus en las vías altas respiratorias y por lo tanto su capacidad de infección a otras personas [58].

En cuanto al régimen de vacunación, ha producido controversia en el Reino Unido la orden del 30 de diciembre de 2020 de retrasar la segunda dosis de la vacuna (Oxford/Astra Zeneca o Pfizer/BioNTech) con objeto de conseguir en UK el mayor número de vacunados con una sola dosis. El argumento empleado es que "priorizar las primeras dosis de vacuna para tantas personas como sea posible persigue proteger al mayor número de personas en riesgo en general en el menor tiempo posible y tendrá mayor impacto en la reducción de la mortalidad, enfermedades graves y hospitalizaciones y en la protección del Servicio Nacional de Salud y servicios de salud equivalentes". La Asociación Británica de Médicos indica que la decisión es irracional y completamente injusta y causará enormes problemas logísticos en todos los Centros de Vacunación [59]. . Datos actuales de efectividad "en el mundo real", ponen en evidencia que una sola dosis de la vacuna BNT162B2 - BioNTech / Pfizer puede proteger hasta un 90% de las infecciones a los 21 días de la primera administración y mucho más (hasta un 100 %) de los casos graves (hospitalizaciones, ingresos en UVI, fallecimientos), permitiendo retrasar la segunda dosis. En el apartado de esta vacuna se indicará con mayor extensión este importante hallazgo [60, 61].

Recientemente [62] se ha puesto en evidencia que la

inoculación de una sola dosis de las vacunas mRNA en un individuo que haya padecido la infección da lugar a un incremento exponencial de la respuesta inmune. En otra publicación más extensa [63], encuentran que una sola dosis de una vacuna mRNA (Pfizer o Moderna), da lugar a una respuesta inmune inmediata en esas personas seropositivas, con títulos de anticuerpos post-vacunación similares o superiores a los de los participantes seronegativos que han recibido dos dosis de la vacuna. Además del interés que este dato puede tener en los individuos que la hayan padecido (sintómicamente o asintómicamente), tiene el valor del ahorro que supone en este colectivo (cada vez mayor) de una dosis de refuerzo. Los detractores del retraso en la segunda dosis indican que la administración de una segunda dosis probablemente alargue el tiempo de defensa inmunitaria frente al virus y proporciona un título de anticuerpos y en general de respuesta inmune mayor [64]. El retraso en la segunda dosis pudiera por tanto producir un descenso en la inmunidad que propicie el desarrollo de variantes de escape como se ha probado en individuos inmunodeprimidos [65]. Indudablemente, el impacto del régimen de vacunación en este escape dependerá de la eficacia inmunitaria conferida por una sola dosis [66], y como acabamos de señalar hay importantes datos de la respuesta con las vacunas mRNA. En cualquier caso, todo esto necesita más evidencias.

La posibilidad de añadir un adyuvante para mejorar la respuesta inmune, que se ha ensayado por ejemplo en la vacuna de Novavax.

Acceso prioritario a las vacunas

En cuanto al acceso prioritario a las vacunas, la Unión Europea [67], ha señalado los siguientes grupos:

- profesionales sanitarios
- personas mayores de 60 años
- personas que por su estado de salud se encuentran en situación de especial riesgo
- trabajadores esenciales fuera del sector sanitario
- trabajadores que no pueden distanciarse socialmente
- grupos socioeconómicos vulnerables y otros grupos de mayor riesgo

La experiencia de Israel, que con una estructura totalmente centralizada con una consolidada capacidad de respuesta ante emergencias ha conseguido vacunar a gran parte de la población en poco tiempo, ha sido estudiada por varios autores [68-70]. Además de la disposición de abundantes dosis de vacunas para toda la población, han evitado la utilización de parámetros muy complicados para la implementación de las vacunas, recurriendo al simple criterio basado en la edad, con un único punto de corte de los 60 años. En Holanda, por ejemplo, los tres grupos más representados en las UCI se encuentran entre los 60 y los 75 años de edad, y por lo tanto toda estrategia que ignore a estos grupos no conseguirá aliviar la presión del sistema sanitario. Es obvio que esta pandemia ha

enseñado a todas las autoridades internacionalmente a proceder en casos de emergencia nacional y prepararnos para una posible pandemia futura.

4. Vacunación de embarazadas

Las mujeres embarazadas tienen riesgos mayores en el caso de contraer la infección. Un riesgo ajustado de 3.0 de ser ingresadas en la UCI, un riesgo ajustado de necesitar ventilación invasiva de 2.9, un riesgo ajustado de necesitar oxigenación de 2.4 y un riesgo ajustado de fallecer de 1.7 si lo comparamos con el resto de la población [71]. Las embarazadas han sido excluidas de los ensayos clínicos previos, por lo que no hay datos sobre la eficacia de las vacunas en esta población ni de la protección eventual de los recién nacidos. Sin embargo, en USA han ocurrido a fecha de 1 de marzo pasado más de 73.600 infecciones y 80 fallecimientos en embarazadas. En dos Centros de USA se ha realizado un estudio prospectivo de cohortes [72] en 131 mujeres de 18-45 años (84 embarazadas, 31 en lactación y 16 no embarazadas) tras el consentimiento informado, que recibieron las vacunas mRNA (Pfizer/BioNTech, y Moderna), recogiendo todos los datos de efectos adversos, tomando muestras de sangre, de leche materna y sangre del cordón umbilical. Se encontraron importantes títulos de IgG frente al virus en las mujeres embarazadas, en las lactantes y en las no embarazadas (grupo control) superiores a los encontrados en las mujeres embarazadas que sufrieron la infección. Tras la dosis de refuerzo se encontraron niveles superiores de IgG en la sangre, que se trasladaron al feto a través de la placenta y al neonato a través de la leche materna. Todos estos datos que necesitan confirmación (Perl 2021, son muy alentadores y sugieren que la vacunación de las embarazadas y de las mujeres lactantes pueden dar lugar a una inmunidad robusta en la madre y en el recién nacido. Hay un documento general sobre este tema que puede consultarse [73].

Un trabajo reciente [74], empleando la base de datos VAERS de USA (sistema para reportar efectos adversos por las vacunas) ha revisado un total de 35.691 casos de mujeres embarazadas entre 16 a 54 años que recibieron vacunas mRNA comparando con el mismo grupo de edad de mujeres no embarazadas. La reactogenicidad fue muy similar a la observada en embarazadas antes de la pandemia; las mujeres embarazadas no reportaron mayor frecuencia de efectos adversos que las mujeres no embarazadas, excepto náuseas y vómitos, que fueron ligeramente más frecuentes tras la segunda dosis.

El Consejo Interterritorial acaba de publicar la actualización 7 de las Estrategias de vacunación, [75] y respecto a las embarazadas señala que teniendo en cuenta las evidencias disponibles [76], se propone vacunar a las embarazadas o en periodo de lactancia con vacunas de ARNm cuando les corresponda según el grupo de priorización al que pertenezcan.

5. El pasaporte de vacunación

La lenta resolución de la pandemia provoca en la pobla-

ción un cansancio y el rechazo a las normas para la prevención de su extensión y un deseo urgente en la "vuelta a la normalidad", con las implicaciones que para el comercio y el turismo supone. A la vista de la eficacia y efectividad de las vacunas disponibles, se está planteando el empleo de un "Pasaporte de Vacunación", que asegure que una determinada persona está vacunada y por tanto no supone un riesgo para sí mismo y para los demás si relaja las precauciones para evitar el contagio. Esta opción, que está ganando más aceptación, choca en estos momentos con algunos problemas [77, 78]:

1. No conocemos bien las posibilidades que un vacunado tiene de contagio. Sabemos por modelos animales y por estudios en individuos vacunados que la eliminación de virus es menor e incluso nula en estos casos, pero la posibilidad de transmisión no ha sido completamente descartada.

2. La disponibilidad de vacunas en el mundo y especialmente en nuestro país, es muy limitada por lo que como se ha señalado es moralmente cuestionable su empleo en estos momentos.

3. Habría que definir con claridad las actividades permitidas para aquellos que dispongan del "Pasaporte" (físico o digital), así como la identidad del regulador, aunque en nuestro caso se trataría probablemente del Ministerio de Sanidad con la participación de las Comunidades Autónomas. En algunos países este pasaporte no sería posible, por no disponer de una base de datos nacional o por considerarse información confidencial, aunque las Regulaciones Sanitarias Internacionales permiten en algunos casos (fiebre amarilla por ejemplo) requerir prueba de vacunación o de otra profilaxis.

4. Estas actividades permitidas deberían ser revisables a la vista de las evidencias disponibles en cuanto al riesgo para el vacunado y para sus contactos (efectividad dependiendo de la vacuna, efectividad en prevenir la transmisión, duración de la inmunidad, protección de grupo, aparición de nuevas variantes, etc.).

Existen ya algunas experiencias que pueden orientar esta iniciativa, especialmente el documento de levantamiento de restricciones para las personas que se han recuperado de una infección por Covid-19 [79]. En cualquier caso, ha pasado ya más de un año de pandemia con las restricciones importantes que han afectado a los individuos (con las alteraciones físicas y psicológicas que esto implica) y a la economía de los países. Estamos obligados a estudiar y evaluar medidas razonables que permitan volver a una relativa normalidad, manteniendo todas las garantías. La Unión Europea ha aprobado un 'certificado COVID-19' de la UE para los nacionales de la Unión que hayan sido vacunados frente a la COVID-19, que cuenten con un test PCR negativo, o que hayan superado la enfermedad recientemente, que estará en vigor únicamente durante un año. Este Certificado, que se emitirá en formato digital o en papel, se aprobará por procedimiento de urgencia, de modo que esté disponible para el verano y permita la libre circulación de los ciudadanos de la UE.

6. Alternar vacunas

Es una regla general que no deben alternarse las vacunas, de modo que, en este caso, si se administra la primera dosis con la vacuna BioNTech de Pfizer debe suministrarse la misma para la segunda dosis. Como veremos a continuación, disponemos en Europa de varias vacunas, aunque dada la elevada demanda, el suministro podría tener eventualmente problemas. Por ello, se está planteando la posibilidad de alternar vacunas y para ello es necesario efectuar el adecuado ensayo clínico que pruebe que el intercambio de vacunas es posible, obteniendo al menos la misma respuesta inmune que con la administración de la misma vacuna.

El Departamento de Salud y de Cuidados Sociales del Reino Unido acaba de comenzar ese ensayo Clínico [80]. Este estudio será el primero del mundo que analice los efectos de administrar diferentes vacunas en la primera y segunda dosis, obteniendo además datos de los efectos de diferentes intervalos entre ambas dosis.

El ensayo se realizará con 800 personas, mayores de 50 años y tendrá 8 brazos:

1. Dos dosis de Oxford/AstraZeneca con 28 días entre ellas
2. Dos dosis de Oxford/AstraZeneca con 12 semanas entre ellas (grupo control)
3. Dos dosis de Pfizer/BioNTech con 28 días entre ellas
4. Dos dosis de Pfizer/BioNTech con 12 semanas entre ellas (grupo control)
5. Primera dosis de Oxford/AstraZeneca y segunda dosis de Pfizer/BioNTech con 28 días entre ellas
6. Primera dosis de Oxford/AstraZeneca y segunda dosis de Pfizer/BioNTech con 12 semanas entre ellas
7. Primera dosis de Pfizer/BioNTech y segunda dosis de Oxford/AstraZeneca con 28 días entre ellas
8. Primera dosis de Pfizer/BioNTech y segunda dosis de Oxford/AstraZeneca con 12 semanas entre ellas

La revista Lancet, acaba de publicar los resultados preliminares de este estudio [81] multicéntrico, randomizado en el que se indica la reactogenicidad preliminar de 461 participantes que han recibido su segunda dosis de vacuna. La vacunación heteróloga produjo mayor reactogenicidad que la homóloga, con fiebre, escalofríos, cansancio, cefaleas, dolor articular, cefaleas y dolor muscular, aunque en todos los casos de forma leve o moderada (no necesitaron en ningún caso hospitalización), observada generalmente en las 48 horas posteriores a la inmunización. Los participantes necesitaron la toma de paracetamol en los siguientes casos:

1. Oxford/AstraZeneca, Oxford/AstraZeneca: 36%
2. Astra/Zeneca, BNT/Pfizer: 57%
3. BNT/Pfizer, BNT/Pfizer: 41%
4. BNT/Pfizer, Oxford Astra/Zeneca : 60%

Tomando los datos de la ingesta de paracetamol, resultan muy elevados si comparamos los resultados de la vacunación

homóloga BNT/Pfizer, BNT/Pfizer con los del ensayo clínico en fase 3 [82, 83], y superiores a los publicados en el ensayo prospectivo observacional de efectividad realizado en el Reino Unido [84] en el que se encontraban igualmente efectos secundarios con menor frecuencia que los publicados en los ensayos en fase 3 de estas vacunas (22% tras la segunda dosis de BNT/Pfizer).

Estamos pendientes de la publicación del estudio completo en el que se incluyan los resultados de la eficacia de las diferentes combinaciones, en los que los datos de inmunogenicidad serán claves para conocer el alcance real de estas combinaciones.

En España, el Instituto de Salud Carlos III ha realizado un ensayo clínico similar, administrando la segunda dosis a un número de vacunados con AstraZeneca con la vacuna BioNTech/Pfizer, y comparando los resultados con otro grupo de control. Los resultados en el grupo de intervención (segunda dosis con BioNTech/Pfizer), en relación a la seguridad, han sido reacciones fundamentalmente leves (68,3%) o moderadas (29,9%), con dolor en el sitio de inoculación, induración, cefalea y mialgia, sin reportar efectos adversos graves. Los resultados de inmunogenicidad, han sido excelentes con un incremento en la media geométrica de los títulos de IgG anti-RBD de 109% a los 14 días de la vacunación ($p < 0.0001$), un incremento frente a la proteína S del 37,4% y un incremento de cuatro veces en la inmunidad celular [85]. Se trata de un trabajo de referencia que será muy importante para relanzar la vacunación.

Se ha publicado la Nota a la Actualización 7 del Ministerio de Sanidad [75], en la que tras el informe del Comité de Bioética [86] y de la reunión de la Comisión de Salud Pública de 18 de mayo de 2021, se acordó la administración de Comirnaty (BNT/Pfizer) como segunda dosis en las personas menores de 60 años pendientes de completar la pauta de vacunación, obedeciendo a los datos recientes de seguridad y de respuesta inmune observada con esta vacunación. Posteriormente, en el pleno del Consejo Interterritorial del SNS, de 19 de mayo, se acordó que aquellas personas que rechazaran esta vacunación pudieran ser vacunadas con Vaxzevria (Astra/Zeneca) previo consentimiento informado.

7. Duración de la inmunidad

Los anticuerpos están producidos por las células B, que a su vez están reguladas por las células T. Los anticuerpos y las células T forman la respuesta inmune frente a los virus; los anticuerpos protegen a las células para ser infectadas, las células T actúan sobre las células infectadas. En estos momentos estamos fundamentalmente midiendo la respuesta inmune a través de los anticuerpos neutralizantes (son más sencillos de analizar que las células T), pero esto no es más que parte de nuestras defensas, conviene recordarlo.

Los títulos de anticuerpos frente al SARS-CoV-2 disminuyen lentamente con el tiempo [87]. Los títulos de anticuerpos específicos para determinados antígenos se mantienen en las células plasmáticas de larga vida en la médula ósea mucho

después de que desaparezca el antígeno. Efectivamente, las células B de memoria son el segundo instrumento de la memoria humoral. Si se produce una nueva exposición al antígeno, estas células se expanden rápidamente y se diferencian en plasmoblastos secretores de anticuerpos; los datos actualmente disponibles indican que infecciones inaparentes de SARS-CoV-2 generan una respuesta prolongada de células B de memoria [88].

La respuesta inmune tanto humoral como celular a las vacunas es muy importante. Esta última se ha puesto en evidencia en la respuesta ante los virus como patógenos intracelulares [89]. La reducción de esta respuesta es indicativa de gravedad de la enfermedad, y su impacto resulta de especial interés en el mantenimiento de una protección a largo plazo [90]. En 2003, se demostró que en la infección por SARS-CoV, las células T de memoria se mantenían durante al menos 6 años, y no así las células B [91]. Se ha demostrado que estas células T continúan reaccionando frente al SARS-CoV-2 al menos 17 años más tarde [92]. Las células T específicas frente a la infección por SARS-CoV presentan una reactividad cruzada potencial frente a los péptidos del virus SARS-CoV-2, soportando por lo tanto la noción de que los pacientes con COVID-19 puedan desarrollar una inmunidad celular de larga duración. En otra publicación [93], se demuestra que las células T (CD4 y CD8) con memoria específica frente a SARS-CoV-2 persisten y se espera que jueguen un importante papel protector frente a una re-exposición al virus.

Hay múltiples trabajos (en Alemania, Singapur, Reino Unido, Suecia, etc.) que indican la presencia de células T específicas frente a SARS-CoV-2 en el 20% al 50% de personas sin conocimiento de previa exposición al virus [94].

La respuesta inmune frente a las vacunas y la edad ha sido también motivo de múltiples trabajos indicando que la respuesta disminuye con la edad, debido al fenómeno de inmunosenescencia [95]. Hay que resaltar sin embargo, que este fenómeno no es bien conocido [96] y encontramos a veces una inmunidad frente a la infección muy positiva en personas mayores de 70 años.

3.2. VACUNAS

Con objeto de hacer más breve esta revisión, expondremos los datos de las vacunas que en estos momentos previsiblemente se encontrarán en nuestro país en breve. Dado que se trata de un documento "vivo", iremos añadiendo las nuevas vacunas que se incorporen.

Parece oportuno recordar aquí, que todo fármaco (me atrevería a decir que todo en la vida) no está exento de algún riesgo. En el caso de las vacunas, este riesgo se minimiza todo lo posible a través de ensayos en fase 1, en fase 2 en fase 3, e incluso en fases tras comercialización. Este exquisito control se debe a que estos productos se administran a personas habitualmente sanas, que no aceptarían (como es lógico) que un fármaco les produjera un efecto no deseado, y por otra parte en la mayoría de los casos los receptores son niños, en los en

los que estos efectos serían especialmente inaceptables. En el caso de esta enfermedad, se ha producido en la población un gran desasosiego, como es lógico, con la esperanza puesta en la vacunación. Por ello, el proceso de aprobación se ha realizado de forma novedosa y acelerada, implicando a las Agencias Reguladoras (que son en último término las que aprueban las vacunas) en todo el proceso de investigación. Estas Agencias han tenido acceso a todas las etapas de los ensayos y esto explica que puedan evaluar de modo acelerado las vacunas. La Vigilancia Epidemiológica tras la incorporación de las vacunas será igualmente fundamental.

Hay datos muy interesantes que comparan la inmunogenicidad y la eficacia de varias de las vacunas existentes en primates no humanos. Para aquellos interesados, hay una buena revisión publicada [97].

Como es habitual, las vacunas (como cualquier otro fármaco) deben administrarse con precaución a personas que hayan mostrado reacción a algún otro fármaco. Por ello, tras la administración de cualquiera de estas vacunas es recomendable mantener al vacunado en observación por una posible reacción durante unos 15 minutos. La EMA ha puesto en marcha un programa de control post-autorización, para evaluar la seguridad de las vacunas frente al COVID-19, preparando una infraestructura para el control de las coberturas, la seguridad y su efectividad.

En estos momentos, y tras millones de dosis administradas de la vacuna Pfizer-BioNTech y millones de dosis de la vacuna de Moderna administradas en USA, se han declarado cuadros de anafilaxis (niveles 1, 2 o 3) en 4,7 casos por millón de dosis de Pfizer-BioNTech y en 2,5 casos por millón de dosis de Moderna, sin mortalidad [98].

3.2.1. VACUNAS APROBADAS

3.2.1.1. BNT162B2 – BioNTech / Pfizer (BNT/Pfizer) (COMIRNATY)

Se trata de una vacuna desarrollada conjuntamente por BioNTech en Mainz (Alemania) y por Pfizer en USA que consiste en una molécula de ARN mensajero que codifica la proteína S (Spike) del virus, estabilizada, envuelta en una nanopartícula lipídica. Tiene la particularidad de la necesidad de conservarse a temperaturas de -60°C a -80°C , aunque soporta 5 días a temperaturas de 2°C a 8°C .

Fase 1. Se trata de evaluar la dosis óptima en individuos de 18 a 55 años y de 65 a 85 años, que reciben de forma aleatorizada la vacuna BNT162b2 en dosis de 10, 20 o 30 μg de la vacuna o placebo con otra dosis a los 21 días (Walsh et al., 2020). Los resultados permiten la elección de esta vacuna para continuar a la fase 2.

Fase 1/2. Con la participación de 45 individuos aleatorizados con placebo para recibir dos dosis (separadas 21 días) de 10 μg , 20 μg o 30 μg de la vacuna BNT162b1 que codifica al Dominio que se Une al Receptor (RBD) de la proteína pico del virus [99]. Los efectos adversos fueron más frecuentemente lo-

cales con dolor en el sitio de la inoculación, especialmente tras la dosis de refuerzo. Los efectos adversos sistémicos ligeros a moderados se produjeron dentro de los 7 días tras cada dosis, consistentes en cansancio y cefaleas. Escalofríos, dolor muscular y articular aparecieron en individuos que recibieron la vacuna, más frecuentemente tras la segunda dosis y en vacunados con la dosis más elevada (100 μg), al igual que la fiebre ($\geq 38^{\circ}\text{C}$), más frecuente en dosis mayores (30 μg), que desapareció generalmente a las 24 horas. No se detectaron efectos adversos de grado 4 y la mayoría de las reacciones locales sucedieron entre el día 2 y el día 7 tras la vacunación.

El título de anticuerpos neutralizantes dirigidos frente al Dominio que Une al Receptor (RBD) que hemos comentado con anterioridad, se analizaron tras la primera y la segunda dosis de 10 μg y 30 μg con resultados que comparativamente con los obtenidos de pacientes con COVID-19 fueron desde 8 veces hasta más de 45 veces superiores tras la segunda dosis, demostrando la gran inmunogenicidad de la vacuna. Un estudio ulterior para conocer la respuesta de inmunidad celular demostró que dos dosis de esta vacuna confirmaban importantes concentraciones de anticuerpos (IgG) frente al RBD así como una sólida respuesta de células T y de citoquinas que los autores sugieren podría proteger frente a la infección por múltiples mecanismos [100]. El 95,2% de los participantes incluyendo los que recibieron 10 μg de BNT162b1, desarrollaron respuesta específica celular CD4+T frente a RBD, demostrando además la importancia de la segunda dosis de refuerzo. En base a los resultados del estudio pivotal de Walsh, Frenck, Falsey y Kichin [101], se selecciona a BNT162b2 como candidato para evaluar la seguridad y la eficacia en la Fase 2/3.

Con fecha 10 de Diciembre de 2020 se ha publicado en el N Engl J Med el trabajo de Polack y cols. [82], y la Food and Drug Administration (FDA) de USA ha realizado y emitido públicamente vía YouTube (y otros canales) el 162 Meeting of The Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee [102] en la que se han revisado para su aprobación los últimos datos de la vacuna de Pfizer y muy concretamente los resultados de la Fase 3 [82, 103, 104]. Se trata de datos por lo tanto muy actuales y que han sufrido el *peer review* de la Agencia Reguladora y de varios expertos convocados a la reunión y que por ello sugerimos a los interesados su revisión. Señalaremos a continuación algunos de los datos que consideramos más relevantes.

Este ensayo en **Fase 3** se ha realizado en individuos de 16 años o mayores, con una concentración de la vacuna **BNT162b2 de 30 μg** , en dos dosis administradas con al menos 21 días entre ellas. La presentación es en un vial para 5 dosis. La vacuna debe almacenarse entre -60°C y -80°C , aunque puede mantenerse durante 5 días a 2°C - 8°C . Esta fase 2/3 se ha realizado en un total de más de 43.448 individuos de 16 años o más de edad.

En la reciente publicación [82] y en la misma reunión, la FDA, ha revisado los datos aportados, con las siguientes conclusiones:

En lo referente a **seguridad**, se observó una más frecuen-

te reactogenicidad tras la dosis 2, ligera o moderada, y remarcablemente menos frecuente y menos grave en los individuos adultos vacunados de más de 55 años de edad. Las reacciones locales fueron frecuentes en ambos grupos de edad (dolor ligero en el lugar de la inoculación). En cuanto a las reacciones sistémicas se observaron episodios de fiebre en el 15,8% de los individuos entre 18-55 años de edad, siendo muy infrecuentes en los mayores de esta edad (1,4%), especialmente cansancio y cefaleas. Tras la segunda dosis, la frecuencia en mayores de 55 años tras la vacuna apareció en el 10,9% de los vacunados. Fiebre ($\geq 38^{\circ}\text{C}$) apareció tras esta segunda dosis en el 16% de los jóvenes vacunados y en el 11% de los mayores. Todos estos efectos aparecieron en los primeros 2 días tras la vacunación y desaparecieron poco tiempo después. Un caso posiblemente relacionado con la vacuna consistió en dolor en el hombro. El control de la seguridad de la vacuna continuará durante los dos años posteriores a la administración de la segunda dosis.

En cuanto a la **eficacia**, la FDA ha resaltado que la totalidad de los datos sometidos a través del procedimiento de urgencia (EUA) ha obtenido los resultados esperados. En el análisis final de eficacia tras 7 días después de la dosis 2 ha sido del **95%** (95% CI 90,3; 97,6) en participantes sin evidencia previa de la infección por COVID-19. Esta eficacia es consistente entre todos los subgrupos analizados, igual o superior al 93%. Concretamente en el subgrupo de hipertensos la eficacia fue del 94,6%. Aunque el número de casos tras la primera dosis es limitado, la eficacia de COVID-19 grave tras la primera dosis fue del 88,9%. La eficacia en subgrupos por comorbilidad (procesos malignos, cardiovasculares, Enfermedad Crónica Pulmonar, diabetes, obesidad, e hipertensión) es igualmente muy importante (95,3%)

Obviamente, necesitaremos contar con más datos tras lo proyectos de Farmacovigilancia que los países, y que la propia Compañía están realizando, muy especialmente en cuanto a los efectos adversos y a la duración de la protección. La seguridad y eficacia en niños y en embarazadas no se conoce en estos momentos. Procede indicar aquí el trabajo de Edlow et al. [105], que estudian 64 embarazadas con PCR positiva frente a SARS-CoV-2, algunas de ellas con enfermedad grave (el 16%), y un 3% con enfermedad crítica en las que no se detectó la presencia del virus en la sangre del cordón ni en la placenta, concluyendo que no hay evidencia de transmisión vertical de la enfermedad. En cualquier caso, la eficacia y la seguridad de las vacunas en embarazadas es una prioridad.

Tras dos reacciones en individuos que padecían alergias graves, las autoridades sanitarias británicas han desaconsejado la inmunización mediante la vacuna de Pfizer a pacientes con historia de reacciones graves a fármacos y/o alimentos. La Sociedad Española de

Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC) ha emitido un comunicado [106], en el que se indica que no se puede generalizar la evitación de vacuna a todas aquellas personas que han tenido reacciones graves con medicamentos y/o alimentos, y que toda persona alérgica debe informar a su médico de su alergia antes de la administración de

cualquier fármaco, para que se pueda valorar la necesidad de remitir a un alergólogo. Por otra parte, se han publicado algunos casos raros de trombocitopenia (20 casos en total, 9 recibieron Pfizer y 11 Moderna) coincidiendo con la administración de estas vacunas de ARNm [107]. Algunos de estos pacientes presentaban una trombocitopenia previa a la vacunación y no está claramente establecida la causalidad.

La Agencia Europea de Medicamentos (EMA) en su reunión del Comité para Productos Médicos de uso Humano (CHMP) el día 21 de diciembre de 2020 para estudiar la aprobación de esta vacuna, ha recomendado conceder una autorización condicional de comercialización de la vacuna Comirnaty, desarrollada por BioNTech y Pfizer, para prevenir la enfermedad del coronavirus 2019 (COVID-19) en personas a partir de 16 años de edad [108]. El dictamen científico de la EMA allanaba el camino para la primera autorización de comercialización de una vacuna COVID-19 en la UE por parte de la Comisión Europea, con todas las salvaguardias, controles y obligaciones que ello implica. Efectivamente, la Comisión Europea ha aprobado la comercialización de la vacuna, por lo que Europa y por tanto, España disponen de ella. Comienza una estrategia compleja para la distribución de esta primera vacuna. Las normas para el uso apropiado han sido publicadas por Pfizer-BioNTech (PFIZER-BIONTECH COVID-19 VACCINE).

Como se ha señalado en el capítulo de vías y régimen de vacunación, los datos en Israel tras más de 500.000 administraciones de la primera dosis de la vacuna, número muy superior al de los ensayos clínicos [60, 61], se ha observado en el "mundo real" que el número de infectados aumentó en los 8 días posteriores a la vacuna (dato que los autores explican por la sensación de los vacunados de estar protegidos, cuando la respuesta inmune se desarrollará a partir de la tercera semana de la primera dosis). En efecto, cuando estudiamos los datos desde el día 14 al día 21 vemos una disminución de la incidencia, con una **efectividad del 91% con solamente una dosis de vacuna**. Esta reducción de la enfermedad es mucho más notable (superior al 90% y posiblemente muy cercana al 100%) si evaluamos los casos de enfermedad grave (hospitalizaciones, estancias en UCI, mortalidad) [82, 109, 110]. Estos datos confirmarían la estrategia británica de administración de una sola dosis, retrasando la segunda dosis, protegiendo a un mayor número de personas antes y reduciendo el número de infecciones graves. Estos datos obtenidos en la situación real, fuera de los ensayos clínicos, se vienen demandando tras el elevado número de vacunados en el mundo, y en este caso confirman que esta vacuna proporciona un alto nivel de protección, aunque sólo tras tres semanas después de la primera dosis. En este mismo sentido, la publicación de Skowronski et al. [111], señalan una eficacia del 92,6% antes de administrar la segunda dosis, similar a la obtenida tras la primera dosis de la vacuna de Moderna del 92,1% [112].

Están ya apareciendo datos de efectividad tras la vacunación de un elevado número de personas con las vacunas disponibles. En Israel, hay datos muy recientes del impacto que la vacunación masiva en la efectividad "en el mundo real" [113]. Un total de 596.618 personas vacunadas con BNT162b2 du-

rante el período del 20 de Diciembre de 2020 a 1 de Febrero del 2021, fueron controladas emparejándolas con el mismo número de individuos no vacunados (relación 1:1). Se obtuvieron resultados a los 14-20 días tras la primera dosis, a los 21-27 días tras la primera dosis y a los 7 días tras la segunda dosis. Los datos obtenidos incluían: Infección documentada, COVID-19 sintomático, Hospitalización, Enfermedad grave y Mortalidad (Tabla 3).

Tabla 3	Efectividad de la vacuna COMIRNATI (BionTech/Pfizer)		
	14-21 días tras 1 dosis	21-27 días tras 1 dosis	7 días tras 2 dosis
Infección documentada	46%	60%	92%
COVID-19 sintomático	57%	66%	94%
Hospitalización	74%	78%	87%
Enfermedad grave	62%	80%	92%
Mortalidad	72%	84%	-

Estos datos obtenidos a partir de una población de vacunados cercana a los 600.000, indican la elevada efectividad de la vacuna con resultados similares a los obtenidos en el ensayo aleatorizado [82] señalando una efectividad similar a la eficacia publicada en el ensayo. Otra publicación reciente [84] indica una reducción en el riesgo de infección con una sola dosis de esta vacuna del 69% a los 21-44 días y del 72% a los 45-59 días, comparados con los controles no vacunados. Otros datos de efectividad se han publicado en vacunados en Qatar [114], en los que había una presencia predominante de las variantes B.1.1.7 y de B.1.351. La efectividad frente a infección documentada por B.1.1.7 fue del 89,5%, y frente a B.1.351 fue del 75%. Frente a cualquier enfermedad grave, crítica o fatal fue del 97,4%. El estudio de cohortes realizado obtiene resultados muy similares, con una efectividad frente a la variante B.1.1.7 del 87% y frente a la variante B.1.351 del 72,1%. EL CDC ha publicado los resultados de la efectividad de las vacunas mRNA en USA para la prevención de la infección en personal sanitario (CDC-MMWR 2 de Abril 2021) [115]. De un total de 3.950 participantes, 2.479 (62,8%) recibieron dos dosis de estas vacunas y 477 (12,1%) una sola dosis. Entre los participantes no vacunados, 1,38 infecciones por SARS-CoV-2 por 1.000 personas-días fueron declaradas. La efectividad de la vacuna fue del 90% en total inmunización (dos dosis) y del 80% con inmunización parcial.

Como hemos señalado anteriormente, acaban de publicarse los resultados preliminares del ensayo en fase 3 [4] en los que se indica que la vacuna Pfizer-BioNTech demuestra una eficacia del 100% frente al virus SARS-CoV-2 en niños de 12 a 15 años de edad. Este estudio incluía 2.260 niños, encontrando 18 casos en el grupo placebo (n=1.129) y ninguno en el vacu-

nado (n=1.131). Se ha lanzado un ensayo similar en niños de 6 meses a 11 años de edad en el que se evaluará la seguridad e inmunogenicidad de la vacuna (dos dosis con 21 días de separación) en 3 grupos de edad: 6 meses a 2 años; 2 a 5 años; y 5 a 11 años. Estos datos suponen un avance extraordinario para alcanzar la deseada y necesaria inmunidad de la población. Con los datos disponibles [116], la Agencia Europea del Medicamento (EMA) ha aprobado esta vacuna para niños en edades de 12 a 15 años [117].

La tabla 4 resume la neutralización de las variantes por la vacuna COMIRNATI.

Tabla 4	Neutralización de las variantes por la vacuna COMIRNATI [47]	
	VARIANTE	NEUTRALIZACION
	B.1.1.7	Reino Unido +++
	P1	Brasil +++
	B.1.351	Sudáfrica ++
		Respuesta celular*

*La respuesta inmune celular reconoce múltiples variantes [114, 118, 119]

Almacenamiento: Necesita conservarse a temperaturas de -60° C a -80°C, aunque soporta 5 días a temperaturas de 2°C a 8°C, un máximo de 6 horas a 25°C (diluido) y un máximo de 2 horas a 25°C (concentrado) El vial contiene 5 dosis (6 dosis dependiendo de la jeringa). Necesita diluir el concentrado antes de su administración. Se administra en dos dosis intramusculares con 21 días o más de separación. En la actualidad, a la vista de los datos de inmunogenicidad y de la necesidad de cubrir cuanto antes a los no vacunados, el Ministerio de Sanidad recomienda que, por debajo de los 79 años, la segunda dosis de Pfizer y Moderna se administre a las 8 semanas

Para su correcta administración conviene revisar las normas (PFIZER-BIONTECH COVID-19 VACCINE) y recordar los siguientes puntos:

1. Actúe con cuidado, evite el transporte innecesario (el tiempo de transporte de la vacuna descongelada es limitado)
2. Gire el vial cuidadosamente. NO AGITE (Invierta el vial antes y después de la dilución 10 veces)
3. Trabaje sólo con un vial cada vez para evitar errores
4. Mantener la cadena del frío es esencial. Los viales descongelados no pueden volver a congelarse
5. Las condiciones de mantenimiento son:
 - 6 meses a -70 ± 10°C.
 - 5 días a 2-8°C.
 - 6 horas a un máximo de 25°C (diluido).

2 horas a un máximo de 25°C (concentrado).

6. Asegúrese de que los viales concentrados están separados de los diluidos

3.2.1.2 ARNm-1273 – MODERNA

La vacuna ARNm-1273 de Moderna, conceptualmente es muy similar a la anterior, se trata de una molécula de ARN mensajero que codifica al antígeno S-2P que incluye la glicoproteína, su lugar de anclaje a la membrana viral y el sitio de unión S1-S2. EL ARNm está envuelto en una cápsula nanoproteica de 4 lípidos que protege al ARNm de su degradación.

Conviene resaltar que necesita conservarse a temperaturas de -20° C, aunque soporta 30 días a temperatura de 5°C. El vial contiene 10 dosis. Una vez abierto el vial debe usarse dentro de las siguientes 6 horas. No necesita diluirse.

Fase 1. Se vacunaron 45 adultos sanos con 2 dosis (separadas por 28 días) con concentraciones de 25 µg, 100 µg y 250 µg, para determinar la seguridad, reactogenicidad e inmunogenicidad de la vacuna. Los efectos adversos sistémicos fueron más relevantes, como era de esperar, tras la segunda dosis, y especialmente con las dosis mayores. Hay que subrayar que no aparecieron casos de efectos adversos graves. Tras la segunda dosis se puso en evidencia una respuesta neutralizante en todos los vacunados. Las dosis de 25 µg y de 100 µg. dieron lugar a una respuesta de células CD4-T [120].

En otro estudio (Anderson et al., 2020), se utilizaron dos dosis, de 25 µg y de 100 µg. Se produjeron efectos adversos moderados o leves que incluían cansancio, escalofríos, cefalea, mialgia y dolor en el sitio de la inyección, más frecuentes tras la segunda dosis. La dosis de 100 µg dio lugar a mayores títulos de anticuerpos neutralizantes que apoyaron el empleo ulterior de esta dosis en la fase 3.

La vacuna dio lugar a una importante respuesta de células CD4 en todas las edades estudiadas con la dosis de 100 µg y en las edades de 56 a 70 años con la dosis de 25 µg. La aparición de anticuerpos neutralizantes en adultos mayores es muy positiva por mostrar protección. Para su obtención, en este trabajo de Anderson y cols., se ha demostrado la importancia de una segunda dosis de la vacuna en individuos de edades superiores a los 65 años. No es necesario insistir aquí del interés de obtener respuestas protectoras en las personas mayores, más expuestas a infecciones de mayor gravedad, muy especialmente en aquellas con enfermedades crónicas en las que cabe esperar una respuesta inmune peor (Andrew et al., 2017). En efecto, en este trabajo la fragilidad de algunos pacientes con procesos crónicos se evaluó utilizando una FI validada basada en una evaluación geriátrica integral de 39 impedimentos de salud y funcionales.

El estudio realizado en primates no humanos (macacos Rhesus) ha proporcionado también información sobre la respuesta inmune a 10 y 100 µg de ARNm-1273 [121], con la producción de anticuerpos y de células inmunes. Un dato muy interesante en cuanto a la posibilidad de contagiar de los

vacunados es que tras la administración de la vacuna con dosis de 100 µg, no se detectó la replicación del virus en las fosas nasales en ninguno de los ocho animales vacunados tras dos días de la inoculación de virus vivo en las fosas nasales. Esta investigación si se confirma puede tener un gran impacto en el descenso de la infección, por lo que la vigilancia epidemiológica de la presencia del virus en fosas nasales de los vacunados sería clave para complementar la protección proporcionada por la protección de grupo.

Ha despertado gran interés la reciente publicación de Widge et al.[122], en la que se evalúa la duración de la respuesta inmune tras la vacunación con ARNm-1273. Una de las grandes inquietudes en estas vacunas es la duración de la protección tras su administración, y en esta publicación se describe la inmunidad tras 119 días de la primera administración y 90 días tras la segunda en el contexto de la fase 1 [120]. En todos los participantes, tras 3 meses de la segunda dosis a la dosis de 100 µg se hallaron elevados niveles de anticuerpos neutralizantes, que se mantuvieron en el día 119, demostrando potencial para proporcionar una inmunidad humoral mantenida, así como una respuesta celular CD4 tipo 1 T_H, 43 días tras la primera dosis. Se indican los resultados de un análisis previo del ensayo en fase 3 que con la dosis de 100 µg muestra un 94,5% de eficacia.

Fase 2 y 3. El 17 de diciembre de 2020, la Food and Drug Administration (FDA) ha mantenido una reunión [112] (que se hizo pública a través de Internet, en la que se pudieron revisar con los responsables científicos de Moderna, los resultados preliminares del ensayo en fase 3 de su vacuna ARNm-1273, cuya grabación puede reproducirse a través del link que aportamos [112].

En lo referente a la seguridad se insiste en los importantes datos de que el ARNm no se auto-replica, no entra en el núcleo ni se integra con el ADN, y que el proceso de fabricación está libre de células, no contiene productos humanos o de animales, no contiene conservantes ni adyuvantes. La vacuna se almacena en un congelador normal (-20° C), se mantiene durante 30 días en la nevera (5° C) y a la temperatura de la habitación alrededor de 12 horas. El vial contiene 10 dosis, que una vez que se emplea la primera debe consumirse en 6 horas y que no necesita dilución. Los estudios en pediatría y en embarazadas están pendientes de su aprobación. El mecanismo de acción de esta vacuna es muy similar a la expuesta para la vacuna BNT162B2.

El estudio de **seguridad** (Estudio 301), recientemente publicado [110] es la Fase 3, aleatorizada, ciega para el observador, controlada con placebo y se basa en la aleatorización de 30.420 participantes, la mitad, 15.210 reciben **dos dosis intramusculares de 100 µg de la vacuna**, y la otra mitad reciben 2 inyecciones intramusculares de solución salina [123]. A las 9 semanas de la exposición a la segunda dosis, se realiza una evaluación preliminar, encontrando efectos adversos locales tras la primera dosis con dolor ligero a moderado en el sitio de la inyección en el 87% de los vacunados entre 18 a <65 años y en el 74% de los >65 años, y con la segunda inocula-

ción de 93% y de 80% respectivamente, a diferencia de los valores con el placebo de 19% y de 13% respectivamente. Estos efectos adversos fueron transitorios, comenzando alrededor de las 15 horas de la vacunación y desapareciendo en la mayoría de los vacunados a los 2 días, sin secuelas. En cuanto a la rara aparición de casos de trombocitopenia, nos referimos de nuevo al trabajo de Lee de 2021 y a la reciente comunicación de la EMA-JANSSEN sobre la alerta a los profesionales sanitarios para en su caso tratarlos.

En cuanto a los resultados de **eficacia** [124] (Miller 2020), los estudios en animales de experimentación ya demostraban que se trataba de una vacuna muy inmunogénica, dando lugar a protección en ratones, hámsteres y primates no humanos, sin desarrollar una enfermedad respiratoria incrementada y con respuesta celular frente al virus. El estudio 301, enfocado a su eficacia, inmunogenicidad y seguridad, ha demostrado anticuerpos neutralizantes a partir del día 29, que se incrementan a partir del día 43. Hay que resaltar que el 23% de los participantes sufrían 1 o más factores de riesgo (diabetes, obesidad, enfermedad crónica respiratoria o enfermedad crónica respiratoria). El 25% de los participantes tanto en el grupo de la vacuna (3.790) como en el de placebo (3.831) eran trabajadores sanitarios. La vacuna mostró una eficacia del **94,1%** (<0.0001), encontrando los valores más altos de eficacia en vacunados de 70 años o más, con o sin comorbilidades (100%), con 0 casos en los 630 vacunados y 7 casos en los 688 que recibieron placebo, y los más bajos en los vacunados entre 65 y 70 años con o sin comorbilidades (82,4%). Es importante resaltar que la aparición de casos graves de COVID-19, en estos resultados de la fase 3 demuestran 0 casos en los 14.134 vacunados y 30 casos en los 14.073 que recibieron placebo (eficacia del 100%). El impacto de este resultado en la prevención de casos graves puede ser muy significativo, dado que estos casos suponen una mayor carga del uso de los servicios sanitarios, de complicaciones y de fallecimientos. Es interesante resaltar que a los 14 días o más de la primera dosis, se diagnosticaron 11 casos sintomáticos de COVID-19 en los receptores de la vacuna, y 225 en los que recibieron placebo, demostrando cierta efectividad de la vacuna tras una sola dosis, que se incrementa con la segunda. La FDA americana aprobó con fecha 17 de diciembre 2020 la vacuna en USA [125], por lo que en USA están disponibles 2 vacunas frente al COVID-19.

Variantes: Al igual que la vacuna anterior, en estos momentos sabemos que la vacuna proporciona títulos de anticuerpos neutralizantes, sin reducción de la neutralización, frente a la variante británica (B.1.1.7) con una reducción moderada frente a la variante sudafricana (B.1.351) y desconocemos su actividad frente a la variante India (B.1.617). Moderna está estudiando la posibilidad de una tercera dosis para incrementar el título de anticuerpos neutralizantes y ha presentado datos de una nueva vacuna (mRNA-1273.351 con buena tolerancia y con efectividad frente a alguna variante, que podría incluirse en el futuro en una vacuna multivariante (mRNA-1273.211) [40, 53, 127].

No necesita diluirse. Almacenamiento: Debe conservarse a temperaturas de -20°C , aunque soporta 30 días a temperatura de $2-8^{\circ}\text{C}$. El vial contiene 10 dosis. Una vez abierto el vial debe usarse dentro de las siguientes 6 horas, y se mantiene a la temperatura de la habitación alrededor de 12 horas. Se administra en dos dosis intramusculares (deltoides) el día 1 y a los 28 días de la primera.

En cuanto a la efectividad, nos remitimos a la publicación del CDC [126] descrita en la anterior vacuna mRNA, en la que se señalaba una efectividad de la vacuna del 90% en total inmunización (dos dosis) y del 80% con inmunización parcial.

La Comisión Europea con fecha 6 de enero de 2021 y siguiendo la evaluación de la EMA ha aprobado la autorización de comercialización condicional de la vacuna ARNm-1273 de MODERNA como la segunda vacuna disponible en Europa frente al COVID-19. La EMA ha publicado un documento [128] (EMA-Moderna), que incluye información importante para pacientes y para profesionales.

3.2.1.3. ChAdOx1 – UNIVERSIDAD DE OXFORD/ASTRA ZENECA (ASTRA-ZENECA COVID-19 VACCINE)

El diseño de esta vacuna es diferente a las dos anteriores. Se trata de una vacuna recombinante que utiliza un virus como vector, que expresa los antígenos del virus. Esta plataforma da lugar a una importante respuesta de células T sin necesidad de adyuvante. Hay dos vectores que se han empleado fundamentalmente, el Ad5 y el ChAd. En este caso, se emplea el ChAd, Adenovirus del Chimpancé, que presenta la gran ventaja de que la inmunidad en el humano es mínima o nula, por lo que se puede evitar que la inmunidad preexistente frente al vector pudiera inutilizar la vacuna, que incluye el codón optimizado para la proteína S del Covid-19. Existe una amplia experiencia de la utilización de este vector para la administración de vacunas.

Con respecto al Coronavirus, esta vacuna tiene un antecedente muy interesante en la producida frente a un Coronavirus anterior, el MERS-CoV [129, 130]. En la fase 1 publicada, se administraron 3 diferentes dosis de partículas virales de adenovirus de simio como vector de la glicoproteína pico de la superficie de MERS. A pesar del número pequeño de sujetos inmunizados (propio de una fase 1), se demostró un mayor número de acontecimientos adversos en los individuos que recibieron dosis más elevadas. El seguimiento de los inmunizados se realizó por 12 meses, con resultados de 92% de respuesta de anticuerpos que persistió tras un año después de la vacunación, con una elevada frecuencia de células T secretoras de interferón γ . El incremento de las células T se comprobó durante un año en títulos superiores a 4 veces el anterior a la vacuna, frente a S2 y a RBD. Con el COVID-19, hay una experiencia de inmunogenicidad en animales en la que se demostró inmunogenicidad de anticuerpos específicos y de células T con una y dos dosis [131].

Con esta vacuna, en humanos, la fase 1/2 incluyó a 1.077 participantes, en muchos de los cuales se empleó de forma profiláctica paracetamol para evitar posibles efectos adversos leves o moderados. El análisis ajustado de su empleo demostró reducciones significativas en el dolor local, sensación febril, escalofríos, dolor muscular y malestar general. Se produjeron respuestas humorales de IgG frente a la proteína pico, que incrementaron con la dosis de recuerdo, los anticuerpos neutralizantes fueron positivos en el 91% de los individuos tras la primera dosis y en el 100% de ellos tras la segunda dosis, y las respuestas celulares de células T específicas frente a la proteína pico se demostraron en el día 14 tras la primovacunación [129].

En un estudio ulterior, en fase 2/3, se incluyeron también adultos mayores de 70 años, población que se encuentra en mayor riesgo de padecer una enfermedad grave por inmunosenescencia y por el incremento de posibilidades de padecer enfermedades crónicas, por lo que debe ser grupo prioritario de vacunación. Es de resaltar que los efectos adversos en esta población mayor fueron menos frecuentes que en los adultos jóvenes [132]. A los 14 días tras la segunda dosis, el 99% de los participantes mostró respuesta de anticuerpos neutralizantes. Las células T obtuvieron su pico a los 14 días de la primera dosis. Esperamos que la publicación del amplio ensayo clínico que tiene lugar en USA, nos proporcione más datos de la respuesta inmunitaria, especialmente de células T.

Voysey et al. han publicado en la revista Lancet un trabajo [109] sobre la seguridad y eficacia de la vacuna ChAdOx1 nCoV-19 en el que se reúnen las experiencias de 4 estudios aleatorizados y controlados en diferentes países: Brasil (COV003 en fase 3) Sudáfrica (COV005 en fase 1/2) y Reino Unido (COV001 en fase 1/2 y COV002 en fase 2/3). Hay que resaltar que menos del 4% de los participantes eran mayores de 70 años de edad, a pesar de la importancia que la edad tiene en esta infección, y que sólo una minoría presentaba comorbilidades. La ventaja de este análisis es que consigue reunir a un total de 11.636 participantes, la mayoría entre 18 a 55 años de edad (87,8%), la desventaja es que, al tratarse de varios estudios no completamente homogéneos, los resultados son más difíciles de evaluar [133]; por ejemplo en un estudio se administró, por error, una primera dosis con la mitad de la segunda dosis. Según estos datos combinados, la eficacia vacunal tras más de dos semanas desde la segunda dosis fue del **70,4%**, con 5.829 participantes vacunados y 5.829 en el grupo control. Otro dato interesante es que esta vacuna pudiera ser eficaz en un 59% frente a las infecciones asintomáticas [134].

Un dato sorprendente de este estudio es que la eficacia fue sustancialmente menor en el grupo que recibió dos dosis elevadas de antígeno (62,1%), que en la que se administró una dosis de la mitad en la primera inoculación (90%).

Sería conveniente disponer de más datos de esta vacuna, que expliquen estos resultados y que incluyan una población más importante de mayores de 70 años.

La Medicines and Healthcare Product Regulatory Agency de UK, comunicó la autorización temporal de esta vacuna el 30 de Diciembre, concluyendo que la vacuna es segura y efectiva

[135]. Esta vacuna está pendiente de los resultados del amplio ensayo clínico que se está realizando en USA, que se esperan para el primer trimestre de este año 2021. En UK se ha otorgado una autorización temporal de esta vacuna en el contexto de la emergencia en la que nos encontramos, que es diferente de la autorización de comercialización condicional que la Agencia Europea ha evaluado, con todas las salvaguardas, controles y obligaciones que ello impone y que garantizan que la vacuna dispone de los rigurosos estándares de seguridad, eficacia y calidad. El día 29 de enero de 2021, la Comisión Europea, basado en el informe de la Agencia Europea del Medicamento, ha aprobado el uso de esta vacuna en personas de 18 años o más, a través de una autorización de comercialización condicional, siendo por tanto la tercera vacuna aprobada en Europa para el COVID-19 [136]. Según la Agencia, la seguridad de la vacuna se ha basado evaluando un total de 24.000 personas (la mitad recibieron la vacuna y la otra mitad placebo). La eficacia se basó en el cálculo de los resultados del estudio COV002, realizado en el Reino Unido y el Estudio COV003, realizado en Brasil, que mostraron una reducción del 59,5% del número de casos sintomáticos.

En el importante aspecto de la protección frente a casos graves (hospitalizaciones) se encontraron 0 casos en los 5.258 vacunados con dos dosis. En los vacunados con al menos una dosis, no se encontraron hospitalizaciones a los 22 días de la primera dosis. En el estudio prospectivo observacional realizado en el Reino Unido [84], se ha observado una eficacia **con una sola dosis** de esta vacuna del 39% a los 12-20 días y del 60% a los 21-44 días tras la administración.

En el momento de la aprobación, no hay datos suficientes en pacientes de edades superiores a 55 años, por lo que algún país se ha planteado no emplear esta vacuna en individuos superiores a esta edad.

Datos recientes [41] que han sido comentados brevemente en el capítulo de las mutaciones, son la eficacia de esta vacuna frente a la variante B.1.351 (Sudafricana). En este ensayo de la vacuna frente a placebo se demuestra que tras dos dosis de la vacuna no se encontró eficacia frente a la variante B.1.351, en casos de Covid-19 leves o moderados (eficacia en general del 21,9% y eficacia frente a los casos producidos por la variante B.1.351 del 10,4%). No se ha podido analizar la eficacia frente a casos graves dado que no aparecieron estos casos ni en los vacunados ni en los que recibieron placebo. Hay que subrayar que los estudios anteriores en los que no se hallaron estos resultados fueron realizados antes de que esta variante emergiera en Sudáfrica. Estos datos son importantes dada la extensión global de esta variante y la otras variantes que incluyen mutaciones similares [137].

A la vista de la limitada información sobre la vacuna en personas mayores, España administrará la vacuna Covid-19 de AstraZeneca solo a la población entre los 18 y 55 años. Así lo decidió el viernes, 5 de febrero de 2021, la Comisión de Salud Pública del Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud (CISNS), aunque recientemente se ha ampliado su uso hasta los 65 años.

La aparición en varios países de procesos de trombosis, algunos combinados de trombosis y trombocitopenia tras la administración de esta vacuna ha despertado la inquietud en la población, especialmente en aquellos que han recibido la primera dosis y esperan la segunda, cuando las autoridades españolas suspendieron temporalmente el empleo de esta vacuna por un principio de precaución. La distinción que la EMA ha realizado es si se trata de un proceso casual (temporalidad, es decir que coincide en el tiempo pero que no está producido por la vacuna) o causal (producido por la vacuna). Por otra parte, debe valorarse el riesgo-beneficio a la vista del enorme impacto de la enfermedad. La Agencia Europea de Medicamentos, [138], ha indicado que la vacuna es segura y eficaz y en estos momentos no hay motivos para cancelar el uso de la misma por no encontrar una relación causal de estos efectos con la administración de la vacuna. Por otra parte, revisados los casos de trombo-embolismo acaecidos, el número es menor que los esperados en la población en general, sin relación con un lote determinado de la vacuna, por lo que se reiniciará su empleo dados los estudios de riesgo-beneficio que han realizado. Se incluirá en la ficha técnica de la vacuna un aviso sobre la vigilancia de estos procesos. Más recientemente, y a la vista de algunos nuevos casos de tromboembolismo [139, 140], la Agencia Europea ha vuelto a confirmar que el riesgo-beneficio de la vacuna continúa siendo positivo. Estos tipos muy raros de trombosis (con trombocitopenia) incluyeron trombosis venosa en sitios inusuales como trombosis sinusal venosa cerebral y trombosis venosa esplénica, así como trombosis arterial. La mayoría de los casos notificados hasta ahora se han producido en mujeres menores de 60 años y ocurrieron dentro de las 2 semanas posteriores a que la persona recibiera su primera dosis. Hay una experiencia limitada con la segunda dosis.

En cuanto al mecanismo, se cree que la vacuna puede desencadenar una respuesta inmune que conduce a un trastorno similar a una atípica trombocitopenia inducida por heparina, mediados por anticuerpos activadores de las plaquetas, anticuerpos frente al factor plaquetario 4 (PF4) [139, 141]. En base a estos datos, se ha indicado que el tratamiento con transfusiones de plaquetas debe ser evitado, y debe considerarse la administración de un anticoagulante no heparínico e inmunoglobulina intravenosa [142]. En este momento, no es posible identificar factores de riesgo específicos. Estos efectos que no pudieron ser detectados en los ensayos clínicos, por su rareza, se han observado ahora con más de 34 millones de vacunados, y deben contemplarse en el contexto de la incidencia de la trombosis del seno venoso cerebral en la población general que se encuentra entre 0,22 a 1,57 casos por 100.000 personas al año [143].

Según la EMA, los profesionales sanitarios deben estar atentos a los signos y síntomas del tromboembolismo y la trombocitopenia para que puedan tratar con prontitud a las personas afectadas de acuerdo con las directrices disponibles, e indicar a las personas que reciben la vacuna que deben buscar atención médica si desarrollan: síntomas de coágulos sanguíneos como dificultad para respirar, dolor torácico, hinchazón de las piernas, dolor abdominal persistente, síntomas

neurológicos como dolores de cabeza intensos y persistentes y visión borrosa o Petequias más allá del lugar de vacunación después de unos días. La FACME ha elaborado un documento muy completo sobre este problema [144]. No cabe duda que estos datos han producido en la población cierta desconfianza hacia esta vacuna, que resulta muy negativa para la vacunación en esta pandemia en general.

La EMA finaliza su informe señalando que los beneficios de la vacuna siguen superando los riesgos para las personas que la reciben. La vacuna es eficaz para prevenir el COVID-19 y reducir las hospitalizaciones y muertes. En nuestro país, en estos momentos, se restringe su uso a mayores de 60 años, hasta los 69 años. Por otra parte, como señalamos en el punto 3.6 (alternar vacunas), se está planteando la utilización de una segunda dosis a los que recibieron la primera de AstraZeneca con una vacuna de ARNm (PfizerBioNTech o Moderna), alternativa que ha propuesto la Autoridad Sanitaria Francesa y que se encuentra en estudio. El Ministerio de Sanidad ha publicado la Nota 7 [75], en el que indica la conveniencia de administrar la segunda dosis de esta vacuna con Comirnaty (BNT/Pfizer). Ver 3.1.6, alternar vacunas.

Se trata de viales multidosis, conteniendo 8 o 10 dosis de 0,5 ml

NO CONGELAR. Proteger de la luz

En España se utilizará de momento exclusivamente en la población de mayores de 60 años

Almacenamiento: Viales cerrados, 6 meses a 2°C-8°C. Viales abiertos (tras una primera vacunación): 48 horas a 2°C-8°C. Seis horas a temperatura ambiente (30°C)

Se utilizan 2 inyecciones intramusculares en el brazo (deltoides), la segunda dosis entre 4-12 semanas de la primera

3.2.1.4. Ad26.COV2.S – JANSSEN VACCINES

Se trata de una vacuna recombinante cuyo vector es un adenovirus serotipo 26 (Ad26) que codifica la proteína S, completa y estabilizada. Este vector, que es incapaz de replicarse, ha sido usado anteriormente para la vacuna frente al Ébola (aprobada por la Agencia de Medicina Europea) [18] y frente a otros virus. Estudios realizados en hámsteres indican que una sola dosis de la vacuna protegen a los animales frente a la inoculación intranasal del virus [145]. Por otra parte, los resultados de la inmunización en primates no humanos [146], ha alentado el estudio en Fase 1-2a de esta vacuna en humanos.

La estructura de la proteína S elegida para la vacuna es fundamental para obtener un antígeno estable y que dé lugar a una respuesta inmune adecuada. En este caso, la proteína elegida (S.PP), en estudios en ratones, dio lugar a un alto título de anticuerpos neutralizantes con elevada capacidad de unión, posiblemente debido al efecto estabilizante de las sustituciones elegidas [147].

Se ha publicado el ensayo en Fase 1-2a [148], vacunando a una cohorte de 18 a 55 años (cohorte 1) otra de 65 años o más (cohorte 3), cuyos resultados se publican aquí. Los inmunizados recibieron diferentes dosis, una alta y otra más baja. La cohorte 2 (cuyos resultados se publicarán posteriormente) trata de comparar la respuesta a largo plazo de una dosis frente a dos dosis.

Con respecto a la **seguridad**, los efectos adversos en la cohorte 1 (18-55 años de edad), los efectos locales (más frecuentemente dolor en el sitio de la inoculación) se observaron en el 64% de los inmunizados con baja dosis y en el 78% de los que recibieron alta dosis. En cuanto a los efectos adversos sistémicos en esta cohorte (más frecuentemente cansancio, cefaleas o mialgias) aparecieron en el 65% de los vacunados con baja dosis y en el 84% de los que recibieron dosis más alta. La cohorte 3 (65 años o más), los efectos adversos locales se dieron en el 41% de los receptores de baja dosis y en el 42% de los de alta dosis. Los efectos sistémicos se reportaron en el 46% de los de baja dosis y en el 55% de los de alta dosis.

Los efectos adversos sistémicos de grado 3 en la cohorte 1, aparecieron en el 9% de los de baja dosis y en el 20% de los de alta. En la cohorte 3, los respectivos porcentajes fueron del 1% y del 2%. Como se puede observar, los individuos de 65 años o más sufrieron menos efectos adversos que los más jóvenes.

Los resultados de **inmunogenicidad** han sido muy prometedores, con más del 90% de anticuerpos neutralizantes en el día 29 y del 100% en el día 57 en los voluntarios entre 18 a 55 años, con la única dosis.

La FDA acaba de analizar el día 26 de febrero de 2021 los resultados del ensayo en fase 3 para su aprobación en USA. Los datos aportados al 164 Meeting of the Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee [149], indican lo siguiente:

El estudio 3001, se ha realizado con una sola dosis de la vacuna Ad26.COV2.S, con un total de 43.783 individuos aleatorizados que recibieron la inoculación: 21.895 la vacuna y 21.888 placebo (salina). En cuanto a la edad de los vacunados en el estudio global, el 67% tenían entre 18-59 años, el 33% ≥ 60 años, el 19% ≥ 65 años y sólo el 4% de edad ≥ 75 años. Se incluyeron pacientes con comorbilidades (obesidad, hipertensión, diabetes mellitus tipo 2 y pacientes con alteraciones cardíacas graves).

En lo referente a la **seguridad**, se realizó un seguimiento de los vacunados durante una media de 58 días. Los efectos adversos locales fueron leves (grado 1 o 2) y desaparecieron a los 2-3 días tras la inoculación. Los efectos adversos sistémicos fueron poco frecuentes, con cansancio, cefaleas y mialgia.

Recientemente se han publicado datos sobre una posible asociación de esta vacuna con fenómenos trombóticos y trombocitopenia [150], similares a los publicados en el caso de la vacuna de AstraZeneca [139, 141], que han provoca-

do que la FDA y el CDC hayan recomendado una pausa en el uso de esta vacuna en los Estados Unidos (CDC-Janssen 2021) por un principio de precaución, a partir del martes 13 de abril de 2021, aunque no se haya demostrado una causalidad. El Comité Asesor de Prácticas de Inmunización (ACIP) celebrará su segunda reunión de emergencia para debatir la vacuna J&J/Janssen COVID-19 el 23 de abril de 2021. Señalan que las personas que hayan recibido la vacuna J&J/Janssen COVID-19 en las últimas tres semanas que desarrollen dolor de cabeza intenso, dolor abdominal, dolor en las piernas o dificultad para respirar deben buscar atención médica de inmediato. En su reunión de 20 de abril de 2021 (EMA-JANSSEN, 2021), el Comité de Seguridad de la EMA (PRAC), tras revisar 8 casos de trombosis en combinación con trombocitopenia en personas que recibieron la vacuna COVID-19 de Janssen en los Estados Unidos, concluyó que se debía añadir una advertencia sobre coágulos sanguíneos inusuales con plaquetas en sangre bajas a la información del producto para la vacuna COVID-19 Janssen. El Comité de Seguridad también concluyó que estos eventos deberían figurar como efectos secundarios muy raros de la vacuna. Los profesionales sanitarios deben indicar a las personas que reciben la vacuna que deben buscar atención médica si desarrollan: síntomas de coágulos sanguíneos como dificultad para respirar, dolor torácico, hinchazón de las piernas, dolor abdominal persistente, o síntomas neurológicos como dolores de cabeza intensos y persistentes y visión borrosa, o petequias más allá del lugar de vacunación después de unos días. La infección por Covid-19 se asocia con un riesgo de hospitalización y muerte. La combinación notificada de coágulos sanguíneos y plaquetas en sangre bajas es muy rara, y los beneficios generales de la vacuna COVID-19 Janssen en la prevención de COVID-19 superan los riesgos de efectos secundarios, por lo que los CDC recomiendan que se reanude el uso de la vacuna Janssen de Johnson & Johnson contra el COVID-19 [151].

Hay que resaltar que se han vacunado más de 7 millones de personas en el mundo con esta vacuna (con una incidencia inferior de estos casos de 1 en 1 millón) [152] y que los vectores empleados en estas vacunas son diferentes (humano en el caso de AstraZeneca y de chimpancé en el caso de Janssen). El empleo por lo tanto de estas dos vacunas continuará, acelerando todo el proceso de vacunación como necesitamos.

En lo referente a la **eficacia**, frente a COVID-19 sintomático de cualquier edad del **66,9%** (comienzo al menos de los 14 días de la vacunación) y del **66,5%** (comienzo al menos a los 28 días de la vacunación). Como se ve en la tabla 5, en el total de los casos se obtuvo una eficacia frente a **COVID-19 grave/crítica** a los 14 días del 76,7% y a los 28 días del 85,4%, con mejores resultados en la franja de edad de 18 a 59 años. **Menor eficacia para las personas de 60 o más años.** En este estudio no se encontraron fallecimientos por COVID-19 en los vacunados a partir del día 28 tras la vacunación. Se trata de resultados positivos, especialmente para una vacuna que requiere una sola dosis.

Tabla 5	Eficacia frente a COVID-19 Grave/Crítica (%)	
	Comienzo ≥ 14 días	Comienzo ≥ 28 días
TOTAL	76,7%	85,4%
18-59 años	80,5%	91,7%
≥ 60 años	68,5%	70,3%

Tabla 6	Empleando los datos de los diferentes países en los que se ensayó la vacuna, se obtienen los siguientes resultados [149]	
	PAIS	EFICACIA VACUNAL (>día 28)
	Variante (%)	
USA	Moderada-Grave/Crítica	72 %
96% D614G		
3% CAL.20C	Grave/Crítica	85,9 %
BRASIL	Moderada-Grave/Crítica	68,1 %
69% P.2		
31% D614G	Grave/Crítica	87,6 %
SUDAFRICA	Moderada-Grave/Crítica	64,0 %
95% B.1.351		
3% D614G	Grave/Crítica	81,7 %

En Sudáfrica, a pesar de la presencia de la variante B.1.351, a partir del día 28 tras la vacunación no hubo hospitalizaciones en los vacunados (frente a 6 en el grupo placebo) ni fallecimientos (frente a 5 en el grupo placebo), lo que indica que esta vacuna tiene una cierta protección frente a esta preocupante variante.

Hay que subrayar que en esta misma reunión de la FDA se puso en evidencia que la eficacia de la vacuna continuaba incrementándose hasta el día 56 alcanzando un valor medio del 92%, aunque este dato tiene escasa fiabilidad dado el bajo número de participantes en ese momento. En base a estos datos, el 26 de febrero de 2021, la FDA ha aprobado el uso en USA de la vacuna de Janssen.

La Agencia Europea de Medicamentos, ha aprobado esta vacuna con fecha de 11 de marzo de 2021, para la vacunación de personas a partir de los 18 años, en una sola inyección habitualmente en el músculo deltoides [153]. La protección comienza alrededor de los 14 días tras la inoculación, aunque se desconoce de momento la duración de la misma. La compañía seguirá durante dos años más a los vacunados en los ensayos para obtener mayor información. Se han observado algunos casos de alergia (hipersensibilidad) y como en el resto de las vacunas, está indicado el seguimiento de los vacunados durante 15 a 30 minutos tras la inoculación. En más de 1 por cada 10 personas se pueden observar efectos locales (dolor en el lugar de la inyección) cefaleas, cansancio y náusea, que desaparecen

en 1 o 2 días tras la inoculación. Otros efectos más infrecuentes (en menos 1 de cada 100 personas) pueden aparecer. Es por lo tanto la cuarta vacuna autorizada condicionalmente por la Agencia Europea, que confía una vez más en que la compañía pueda proporcionar el número de vacunas acordado.

Almacenamiento: Se mantiene en una nevera normal (2-8°C) 3 meses. En el congelador, (-15°C a -25°C) 2 años

Es una vacuna recombinante cuyo vector es un adenovirus serotipo 26 (Ad26) que codifica la proteína S, completa y estabilizada. No lleva adyuvantes, ni antibióticos ni conservantes.

El virus es incapaz de replicarse.

En España se administrará preferentemente entre 70 y 79 años de edad. La Comisión de Salud Pública ha ampliado con el grupo de 40 a 49 años

1 sola dosis (0,5 ml). 5 dosis por vial

3.2.2. VACUNAS EN FASE DE REVISION

3.2.2.1. CUREVAC (CVnCoV)

Se trata de una vacuna mRNA (similar a la BNT/Pfizer Comirnaty, y a la Astra/Zeneca ChAdOx1), que codifica la proteína S (Spike) del virus, estabilizada, que consiste exclusivamente de nucleótidos no modificados químicamente que puede en principio aplicarse a dosis menores comparativamente, envuelta en una nanopartícula lipídica, que se han empleado previamente en la inmunoterapia del cáncer [154, 155]. Ha sido ensayada en hámsteres y ratones, a los que tras la vacunación se les administró dosis del virus salvaje, con excelente protección [156], induciendo una respuesta potente, dependiente de dosis y del calendario de administración, dando lugar a una respuesta celular específica de CD4+ y CD8+ células T. Estas últimas se ha demostrado frente a la infección sintomática de la gripe en ausencia de anticuerpos protectores [157]. Esta tecnología la ha utilizado el laboratorio previamente para MERS-CoV y para SARS-CoV. Estos estudios permitían suponer una buena vacuna en términos de potencia y seguridad para pasar a la fase 2b/3.

Los ensayos realizados en primates no humanos (macacos Rhesus) [158], evidencian que la vacuna tiene un efecto protector frente a la inoculación in vivo del virus por vía intranasal o intratraqueal, demostrando ser una vacuna segura e inmunogénica, dando lugar a una respuesta inmune humoral y celular.

En los ensayos en Fase 1 en voluntarios humanos [159], se probaron dos dosis de la vacuna con 28 días de separación de 2 µg y de 12 µg por dosis, demostrando seroconversión (4 veces incremento del título de anticuerpos neutralizantes) a las dos semanas de la vacunación con 12 µg, por lo que esta dosis se selecciona para los ensayos posteriores.

Desafortunadamente, en los resultados preliminares del ensayo en fase 2b/3 con esta vacuna [160], en el que participaron 40.000 individuos de 10 países en Latinoamérica y en Europa, se observa un 47% de eficacia vacunal para la prevención de casos de COVID-19 de cualquier gravedad, eficacia inesperadamente baja y los resultados no permiten concluir una eficacia en los mayores de 60 años. Hay que subrayar que más de la mitad de los casos (57%) fueron causados por variantes preocupantes.

Curevac y GSK están trabajando en una vacuna de segunda generación, en los que en estudios en primates no humanos no publicados, dan lugar a una más potente respuesta precoz de anticuerpos neutralizantes, con la misma dosis de 12 µg en los días 0 y día 28. Se esperan datos clínicos de esta vacuna de segunda generación para el tercer trimestre del 2021 y eventualmente obtener la aprobación para 2022.

La ventaja de esta vacuna es que soporta 3 meses a la temperatura de envera (4°C.), lo que la convierte en idónea para países con dificultades de mantenimiento a muy bajas temperaturas. La eventual incorporación de Bayer en la producción de esta vacuna incrementará indudablemente las dosis disponibles.

3.2.2.2. NOVAVAX (NVX-CoV2373)

Se trata de una vacuna de subunidades, que contiene exclusivamente la proteína S en forma de nanopartículas termoestables, unida a un adyuvante Matrix-M, basado en saponina, que se ha comprobado que se une al receptor hACE2 [161].

Estos autores han realizado ensayos en ratones demostrando que tras su inoculación desarrollan anticuerpos frente a la proteína S, que bloquean la unión al receptor, neutralizan al virus y protegen frente a la infección por SARS-CoV-2. Da lugar también a respuesta inmune celular (CD4+, CD8+ y CD4+ células T helper, así como células B frente al antígeno. En monos babuinos producen una respuesta altamente inmunogénica que neutraliza la infección del virus y da lugar a células T específicas para el antígeno.

En otro ensayo [162], se inoculan monos macacos con la vacuna y posteriormente se les administra vía nasal e intratraqueal el virus SARS-CoV-2, (simulando la infección humana) demostrando que los animales se encuentran protegidos frente a la infección de vías altas, bajas y enfermedad pulmonar. Es importante subrayar que los primates demostraban escasa o nula presencia del virus tanto en el tracto respiratorio alto como en el bajo. Este dato hace pensar que la transmisibilidad de los vacunados sería nula o muy baja, con el impacto positivo sobre la inmunidad de grupo.

Otra reciente publicación [163] evalúa la respuesta inmune en monos macacos con una o dos dosis de 5 o 25 µg de la vacuna NVX-CoV2372. Los datos obtenidos con una dosis de vacuna indicaban una respuesta inmune protectora parcial, dependiendo de la dosis de antígeno administrada, pero tras la segunda dosis se obtenía una protección total a lo largo de

tracto respiratorio, independientemente de la dosis administrada. Los anticuerpos IgG frente al antígeno S se incrementaron significativamente 21-35 veces tras la segunda dosis, así como los anticuerpos obtenidos del lavado broncoalveolar de los macacos, que se incrementaron 8 a 22 veces tras la segunda dosis. Es interesante resaltar que todos los animales tratados presentaron tras la primera dosis títulos similares de anticuerpos neutralizantes, pero solamente algunos estaban protegidos de la infección viral, lo que probablemente indica que la neutralización no explica de manera suficiente la completa protección frente a la infección. Es probable que intervengan otros factores como la función anticuerpo-efector, la diferencia en los perfiles de unión de los receptores Fc de los macacos, la colaboración íntima entre el Fc y el Fab, demostrando la importancia de ambos extremos de la molécula en la protección inmune [146, 164]. En resumen, para obtener una respuesta protectora posiblemente necesitemos una colaboración entre la neutralización y las funciones Fc-efector y otros mecanismos inmunes que representan la clave para obtener la inmunidad en el tracto respiratorio alto y bajo. Hay que reconocer que la función de los receptores Fc, receptores específicos para los anticuerpos que se encuentran en la superficie de los leucocitos y reconocen a los anticuerpos unidos a células infectadas o a microorganismos patógenos, están teniendo mayor atención como elementos importantes en la respuesta inmune.

El ensayo en fase 1-2 de esta vacuna se ha publicado [165] para evaluar la seguridad y la inmunogenicidad de esta vacuna a las dosis de 5 y 25 µg, con y sin adyuvante Matrix-M1, arroja los siguientes resultados:

La evaluación de la **seguridad** demostró en la primera y segunda dosis (a los 21 días), reacciones locales y generales ausentes o muy ligeras en la mayoría de los vacunados, con una duración de dos días o menos.

En cuanto a la **inmunogenicidad**, se demostró la eficacia del adyuvante, con incrementos de la respuesta de la media geométrica de 10 veces superior o más a los obtenidos sin el adyuvante. A los 7 días de la segunda dosis, se incrementó esta respuesta 8 veces más, y a los 14 días, al doble otra vez. Las respuestas a las dosis de 5 y 25 µg fueron muy similares. Al comparar la respuesta de los anticuerpos neutralizantes tras la segunda dosis, se obtuvieron unos títulos de media geométrica 4 veces superiores a los obtenidos con los sueros de pacientes convalecientes y eran similares a los obtenidos en pacientes hospitalizados por COVID-19. Los regímenes con adyuvantes indujeron una respuesta de células T CD4+ polifuncional que se reflejó en la producción de IFN-γ, IL-2 y TNF-α. En resumen, el empleo del adyuvante estimula la respuesta de anticuerpos neutralizantes y de células T (con predominancia del fenotipo Th1), que sugieren su importancia en la selección de la vacuna.

Datos preliminares de la fase 3 de esta vacuna [163] sugieren que la protección frente a la enfermedad se puede observar a los 10 días de la primera dosis, antes de la aparición de una robusta presencia de altos niveles de anticuerpos neutralizantes

Se esperan en breve los resultados del ensayo en fase 3, que será presentados a la Agencia Europea del Medicamento para su aprobación. Los resultados preliminares indican una eficacia del 95,6 %, eficacia que aparentemente se mantiene frente a la variante británica (85,6%) y disminuye frente a la sudafricana (60%) [166, 167].

Almacenamiento: La vacuna puede almacenarse a 2°C-8°C.

Se trata de una vacuna glicoproteica que tiene toda la estructura de la proteína S del virus, que contiene adyuvante (Matrix-M) que potencia la respuesta inmune humoral y celular

Se administra en dos dosis

Presenta una eficacia frente a la cepa original del 95,6%, proporcionando protección frente a la variante británica (B.1.1.7) del 85,6% y menor protección frente a la cepa sudafricana (B.1.351) del 60% (según los datos preliminares de los ensayos)

Esperamos más referencias de esta vacuna, los resultados completos de ensayos en fase 3 y la eventual aprobación por la Agencia Europea del Medicamento

3.2.2.3. CORONAVAC: Vacuna COVID-19 (Vero Cell) Inactivada

Coronavac es una vacuna siguiendo el método tradicional, inactivada, conteniendo el virus SARS-CoV-2 inactivado, con hidróxido de aluminio como adyuvante, elaborada por Sinovac (China), de la que han publicado dos ensayos en fase 1/2 (el primero en adultos de 18-59 años y el segundo en adultos de 60 años o más) y un tercero en fase 3. Se conserva a la temperatura de refrigerador (2-8 °C) en un vial multidosis, conteniendo 40 dosis de 0,5 ml. cada una [168].

El primero [169], con vacunación a los 0 y 14 días y a los 0 y 28 días, con dosis de 3 µg y de 6 µg.

El efecto adverso más frecuente fue el dolor en el lugar de la inoculación (tabla 7).

Tabla 7 Efectos adversos en la Fase 1 (18-59 años)						
Dosis	0-14 días			0-28 días		
	3 µg	6 µg	Placebo	3 µg	6 µg	Placebo
Efectos adversos	29%	38%	8%	13%	17%	13%
Seroconversión ^a	8%	50%	0%	79%	83,3%	0%
Seroconversión ^b	25%	83%	0%	83,3%	79,2%	4,4%

^aA los 14 días de la segunda dosis

^bA los 28 días de la segunda dosis

El segundo, en individuos de 60 años o más [170], se demuestra que los títulos de anticuerpos neutralizantes obtenidos con la dosis de 3 µg son similares a los obtenidos con la de 6 µg y superiores a los de 1,5 µg, por lo que decide el uso de la vacuna de 3 µg para el ensayo en fase 3, que se está realizando en varios países (Chile, China, Turquía, Indonesia, Brasil, Filipinas y Hong Kong).

Los resultados muy preliminares de Chile se han presentado, con un número de total de participantes de 434 (397 de edades de 18-59 años and 37 de edades entre 60-75 años) [171], indicando que esta vacuna inoculada a personas de 18 años o más es segura e induce la producción de IgG frente a S1-RBD con capacidad de neutralización, así como la activación de células T segregando IFN-γ tras el reconocimiento de los antígenos de SARS-CoV-2. Indudablemente, necesitamos más datos de la fase 3 para conocer la seguridad y eficacia de esta vacuna.

3.2.2.4. Gam-COVID-Vac - SPUTNIK V

Se trata de una vacuna basada en adenovirus recombinante [172-174]. Emplea como vectores dos cepas de adenovirus, la Ad26 y la Ad5, que portan el gen de la proteína de pico (proteína S). Se administra la primera dosis con rAd26 y la segunda a los 21 días con rAd5. El principio de usar dos vectores para cada dosis no es nuevo [175] y se basa en la frecuencia con la que los adenovirus infectan a los humanos [176, 177]. Esto crea un problema a veces al utilizar estos virus como vectores (portadores) de los genes del virus (en este caso, coronavirus) porque puede existir una inmunidad previa en el receptor de la vacuna que provoque la destrucción del adenovirus y por lo tanto de la vacuna. Al utilizar dos vectores diferentes en la primovacuna y en la segunda vacunación, esta posibilidad prácticamente se elimina. Es importante subrayar que los vectores (adenovirus) han sido modificados y no pueden replicarse. La utilidad de esos vectores ha sido extensamente comprobada, dando lugar a una respuesta inmune elevada, de modo que con una sola dosis proporcionan inmunidad sin necesidad de adyuvantes [177].

En un ensayo en fase 1/2, [172] se demostró respuesta inmune con anticuerpos neutralizantes y respuesta celular en todos los participantes en el día 28 tras la vacunación, sin encontrar efectos adversos graves en ningún caso. Se evaluó la forma líquida de la vacuna y la forma liofilizada, eligiendo la primera que aportaba mejor respuesta inmune.

En el ensayo clínico en fase 3 [173], se incluyeron 21.977 adultos (mayores de 18 años) que se distribuyeron de forma aleatoria (3:1), 16.501 recibieron la vacuna y 5.476 placebo (el buffer de la vacuna sin el adenovirus), que se administraron en dos dosis con 21 días de separación. La organización y el control fueron realizados por una entidad externa independiente. El resultado primario fue la proporción de participantes diagnosticados de COVID-19 confirmado por PCR tras 21 días de la primera dosis. En esta publicación se muestran los resultados preliminares en lo que se refiere a la seguridad y a la inmuno-

Tabla 8 Vacunas aprobadas o en fase de aprobación

FABRICANTE	VACUNA	OBSERVACIONES
BioNtech/Pfizer (BNT162B2) APROBADA	ARN mensajero	Almacenamiento: Necesita conservarse a temperaturas de -60° C a -80°C, aunque soporta 5 días a temperaturas de 2°C a 8°C, una máximo de 6 horas a 25°C (diluido) y una máximo de 2 horas a 25°C (concentrado) El vial contiene 5 dosis (6 dosis dependiendo de la jeringa). Necesita diluir el concentrado antes de su administración. Se administra en dos dosis intramusculares con 21 días o más de separación
Moderna (ARNm-1273) APROBADA	ARN mensajero	No necesita diluirse. Almacenamiento: Debe conservarse a temperaturas de -20° C, aunque soporta 30 días a temperatura de 2-8°C. El vial contiene 10 dosis. Una vez abierto el vial debe usarse dentro de las siguientes 6 horas, y se mantiene a la temperatura de la habitación alrededor de 12 horas. Se administra en dos dosis intramusculares (deltoides) el día 1 y a los 28 días de la primera.
Astra-Zeneca (ChAdOx1) APROBADA	Vacuna recombinante que utiliza Adenovirus de chimpancé como vector	Viales multidosis, conteniendo 8 o 10 dosis de 0,5 ml. NO CONGELAR. Proteger de la luz. En España se utilizará de momento exclusivamente en la población a partir de los 60 años Almacenamiento: Viales cerrados, 6 meses a 2°C-8°C. Viales abiertos (tras una primera vacunación): 48 horas a 2°C-8°C. Seis horas a temperatura ambiente (30°C) Se utilizan 2 inyecciones intramusculares en el brazo (deltoides), la segunda dosis entre 4-12 semanas de la primera
Janssen (Ad26.COV2-S) APROBADA	Vacuna recombinante que utiliza un adenovirus como vector	1 sola dosis (0,5 ml.) 5 dosis por vial Almacenamiento: Se mantiene en nevera (2°C-8°C) 3 meses En el congelador (-15°C a -25°C) 2 años
Curevac (CVnCoV) PENDIENTE DE APROBACION (se está evaluando una vacuna de segunda generación)	ARN mensajero	Almacenamiento: Necesita conservarse a temperaturas de 5°C (3 meses) 2 dosis separadas 28 días
Novavax (NVX-CoV2373) PENDIENTE DE APROBACIÓN	Se trata de una vacuna de subunidades, que contiene la proteína S, unida a un adyuvante Matrix-M	Almacenamiento: La vacuna puede almacenarse a 2°C-8°C. Se trata de una vacuna glicoproteica que tiene toda la estructura de la proteína S del virus, que contiene adyuvante (Matrix-M) que potencia la respuesta inmune humoral y celular Se administra en dos dosis Presenta una eficacia frente a la cepa original del 95,6%, proporcionando protección frente a la variante británica (B.1.1.7) del 85,6% y menor protección frente a la cepa sudafricana (B.1.351) del 60% (según los datos preliminares de los ensayos) Esperamos más referencias de esta vacuna, los resultados completos de ensayos en fase 3 y la eventual aprobación por la Agencia Europea del Medicamento
Corona vac Covid 19-Vaccine (Vero cell) Sinovac Life Sciences Co, LTD PENDIENTE DE APROBACION	Es una vacuna inactivada	Emplea una vacuna con virus inactivados Se conserva a la temperatura de refrigerador (2-8 °C) en un vial multidosis, conteniendo 40 dosis de 0,5 ml. cada una. Necesitamos más datos de la Fase 3 para conocer la seguridad y eficacia de esta vacuna
Gam-COVID-Vac - SPUTNIK V PENDIENTE DE APROBACIÓN	Vacuna recombinante que utiliza un adenovirus como vector	Emplea como vectores dos cepas de adenovirus, la Ad26 y la Ad5, que portan el gen de la proteína de pico (proteína S). Se administra la primera dosis con rAd26 y la segunda a los 21 días con rAd5 Almacenamiento: a -18°C

genicidad de esta vacuna. Durante este estudio se empleó la vacuna en su forma líquida que requiere el almacenamiento a -18°C , aunque el Ministerio de Salud de la Federación Rusa ha aprobado el almacenamiento a $2-8^{\circ}\text{C}$.

En lo referente a la **seguridad** de la vacuna, no se apreciaron efectos adversos graves relacionados con la vacuna, aunque no relacionados con la vacuna se observaron en 45 participantes del grupo de la vacuna y en 23 participantes del grupo placebo.

La **eficacia** de la vacuna a los 21 días de la primera dosis fue del 91,6%, demostrando por otra parte una disminución de la gravedad de la infección en los casos vacunados; a las dos semanas de la primera dosis una diferencia significativa con el grupo placebo, que a partir del día 21 de la vacunación la eficacia frente a los casos graves fue del 100%. En cuanto a la eficacia en los individuos mayores de 60 años no fue significativamente menor que la encontrada en el grupo de 18 a 60 años de edad, dato importante de protección de poblaciones en mayor riesgo.

Esperamos los datos completos de la fase 3 [178, 179], con los correspondientes estudios de vigilancia de seguridad y eficacia [180], y la eventual aprobación de las Agencias Regulatorias.

En la tabla 8 figuran, a modo de resumen, todas las vacunas aprobadas o en fase de aprobación.

4. PROTECCIÓN DE GRUPO

La Protección de Grupo, también se ha denominado inmunidad de Grupo, aunque algunos consideramos que este nombre heredado de hace tiempo [181] no es correcto, ya que no se basa en la respuesta inmune del individuo sino en la protección que este tiene al verse rodeado de personas que no tienen la infección por estar inmunizadas (bien por haber pasado la infección y disponer de una respuesta inmune frente al virus o por haber sido inmunizadas por la vacunación). Ya hemos señalado al revisar los aspectos generales de la vacunación, que esta protección se relaciona con el número de reproducción del virus (capacidad infectiva), la eficacia vacunal, y la cobertura vacunal. Hemos indicado antes que la eficacia de las vacunas de las que ya disponemos es superior al 70% e incluso al 80% exigible, por lo que queda pendiente la cobertura vacunal.

En efecto, para que esta protección se produzca es por lo tanto necesario que una gran parte de la población esté vacunada (padecer la infección no es una alternativa, dados los efectos e incluso la mortalidad de ello) [182, 183]. En Estados Unidos con un número de vacunados completamente frente al COVID-19 de más de 100 millones de personas se han detectado casos de la infección en más de 10.000 de estos vacunados, casos que deben esperarse, especialmente hasta que la vacunación alcance los niveles suficientes para disminuir la transmisión [184].

No es el objetivo de esta publicación entrar en detalle en este tema, pero conviene indicar que efectivamente se trata de

la protección indirecta que proporciona un número suficiente de individuos inmunes a la infección, y me gustaría subrayar aquí la palabra suficiente, y que se aplica a aquellas infecciones con reservorio únicamente humano, ya que si hubiese otros reservorios, la inmunización de la población tendría escasa protección de grupo (los humanos podrían infectarse a través de otros reservorios).

Por ello, la fabricación de vacunas en cantidades suficientes y la concienciación de la población de la importancia de vacunarse, no sólo como protección individual sino para proteger a otros que no pudieran vacunarse es fundamental. Aquí, la labor de todos es importantísima, tratando de huir de los bulos y de las creencias. Estamos en el siglo XXI y debemos basarnos en los datos científicos, y en este caso en los resultados de los ensayos clínicos bien planteados y honestamente realizados, hechos públicos para que puedan ser revisados a fondo por expertos en este tema. Los sanitarios y los medios de información tenemos, como siempre, una gran responsabilidad.

El Centro para el Control de las enfermedades (CDC) de USA [185] ha publicado unas recomendaciones dirigidas a aquellas personas que han recibido la vacunación completa, en las que se indica que los individuos vacunados presentan un importante descenso en la carga viral, identificada como clave para la transmisión. No obstante, se insiste en la necesidad de mantener todas las precauciones, especialmente ante personas de especial riesgo no vacunadas. Cuando se consiga un nivel apropiado de personas vacunadas, se podrán revisar estas restricciones. Como señala Peter Doshi (2020), sea como consecuencia de la inmunidad natural desarrollada o como consecuencia de la vacunación, no venceremos al virus hasta que alcancemos el nivel de la protección de grupo.

CONCLUSIONES

La humanidad se enfrenta a uno de los retos infecciosos más importantes de su historia, con más de 180 millones de infectados y casi 4 millones de fallecidos al día de hoy (más de 8.500 Boeing 747, es decir, más de 23 al día estrellados con todos los pasajeros fallecidos). ¿Quién compraría un billete de avión si esto fuera así? Y sin embargo hay personas (una minoría) que compra un billete para el COVID-19 trasgrediendo las normas elementales de protección. La llegada de vacunas efectivas en un tiempo récord podría ser la forma de enfrentarse a este reto. Conviene recordar aquí que conseguir estas vacunas en tan poco tiempo no es producto de la suerte sino de años de investigación básica en múltiples áreas (biología, bioquímica, inmunología, virología, investigación del cáncer, etc.), que nos han conducido a este momento.

El seguimiento de los resultados de las vacunaciones es fundamental para entender la eficacia, la posible disminución de la respuesta inmune con el tiempo y los posibles efectos adversos. A fecha de hoy, más de 220 millones de dosis se han administrado en el mundo según la OMS con las vacunas disponibles (en España más de 1 millón han recibido 2 dosis), y por lo tanto tenemos experiencias de la seguridad y del mantenimiento de la respuesta

inmune de las vacunas en el mundo real. La vigilancia de los efectos de estas vacunas es posible y muy necesaria. La publicación de estos datos, debidamente contrastados, es una prioridad.

Quedan todavía algunas incógnitas que se irán desvelando. Es posible que las mutaciones del virus afecten a la inmunidad proporcionada por estas vacunas y será necesario hacer un seguimiento del impacto de estos cambios en la eficacia de las vacunas disponibles y en su caso realizar los cambios oportunos. Para ello sería muy importante seguir a los vacunados y comprobar si sufren infecciones por COVID-19, y secuenciar en su caso. Resultan especialmente preocupantes las variantes sudafricana (B.1.351), la brasileña (P.1) y la variante B.1.1.7 a la que se añade la mutación E484K, así como algunas variantes aparecidas en California y muy especialmente la recién aparecida variante India delta (B.1.617.2), frente a las que todas las vacunas en mayor o menor grado se encuentran afectadas. La industria productora de las vacunas está ya realizando los estudios pertinentes para actualizarlas si fuera necesario a la situación epidemiológica actual, diseñando vacunas de nueva generación que incluyan las secuencias mutadas y en su caso empleando antígenos virales alternativos. La duración de la protección habrá que evaluarla con el tiempo (aunque hay datos recientes que indican que puede ser duradera, Dan et al, 2020), así como la eventual contagiosidad de los vacunados. En este último caso, se ha señalado que posiblemente las vacunas proporcionan una respuesta IgM e IgG pero no IgA (en las mucosas) y que esto permitiría al virus mantenerse en las fosas nasales. Sin embargo, el estudio de AstraZeneca que incluía la toma semanal de muestras nasales, indica que en los individuos vacunados disminuye el número de infectados sintomáticos y el de asintomáticos, lo que nos hace pensar que las vacunas disminuyen la potencia del virus. En cualquier caso, la **vigilancia epidemiológica** que deben realizar los países y la industria de las vacunas, tras la inmunización en masa de la población, deben aportar respuestas. Los modelos para evaluar la protección de grupo se basan fundamentalmente en tres factores: la capacidad de reproducción del virus, la eficacia de la vacuna y las coberturas vacunales. En este último factor, la comunidad sanitaria puede aportar información a la población, que permita unos niveles de coberturas suficientes, recordando que la vuelta de la población a los comportamientos previos a la pandemia puede cambiar la protección que los modelos evaluados ofrecen.

Es indudable que el levantamiento de las medidas de protección generales (distanciamiento social de más de 2 metros, mascarillas y lavado de manos), sin los adecuados niveles de vacunación, producirán más hospitalizaciones y fallecimientos que podrían haberse evitado, especialmente a la vista de la aparición de nuevas variantes preocupantes. La propuesta de levantar las restricciones al ritmo de los niveles de vacunación parece muy sensata [186]. Más infecciones significan mayor posibilidad para la extensión y la evolución de variantes de escape y se ha demostrado que la vacunación debe acompañarse a las medidas de protección [187]. Es comprensible que la población sufra el síndrome de "fatiga del comportamiento" [188], pero los responsables sanitarios deben hacer llegar a la

población la importancia de estas medidas hasta que se alcancen los niveles adecuados de protección vacunal.

Las encuestas realizadas [189] indican que los ciudadanos no están bien informados de las medidas a tomar post-vacunación. Necesitan más datos sobre la eventual contagiosidad de los vacunados, y las informaciones que dispone la población son a veces confusas e incluso contradictorias. Es necesaria una mayor información con los aspectos fundamentales relacionados con las vacunas que han recibido y las precauciones a seguir tras la vacunación. Aquí las Sociedades Científicas pueden elaborar un sencillo documento de consenso que podría añadirse al documento que recibe la población vacunada. En otras palabras, las vacunas resolverán muchos problemas, pero las medidas generales de protección (distanciamiento social, protección individual, etc.) deberán mantenerse durante un tiempo, al menos hasta que se alcancen las coberturas necesarias y se compruebe el impacto que las nuevas variantes tienen en los vacunados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ahmad FB, Anderson RN. The Leading Causes of Death in the US for 2020. JAMA. 2021;325(18):1829-30. DOI: 10.1001/jama.2021.5469
2. American Academy of Pediatrics. Children and COVID-19: State-Level Data Report 2021 [Available from: <https://services.aap.org/en/pages/2019-novel-coronavirus-covid-19-infections/children-and-covid-19-state-level-data-report/>].
3. Franki R. New COVID-19 cases rise again in children. MDedge Pediatrics [Internet]. 2021. DOI: <https://www.mdedge.com/pediatrics/article/237894/coronavirus-updates/new-covid-19-cases-rise-again-children?sso=true>
4. Mahase E. Covid-19: Pfizer reports 100% vaccine efficacy in children aged 12 to 15. BMJ. 2021;373:n881. DOI: 10.1136/bmj.n881
5. Kadambari S, Klenerman P, Pollard AJ. Why the elderly appear to be more severely affected by COVID-19: The potential role of immunosenescence and CMV. Rev Med Virol. 2020;30(5):e2144-e. DOI: 10.1002/rmv.2144
6. Graepel K, Sonali Kochhar S, Ellen W. Clayton E, Edwards K. J Infect Dis. 2020;222:180-2. DOI: doi: 10.1093/infdis/jiaa234
7. Bloom BR, Nowak GJ, Orenstein W. "When Will We Have a Vaccine?" — Understanding Questions and Answers about Covid-19 Vaccination. New Eng J Med. 2020;383(23):2202-4. DOI: 10.1056/NEJMp2025331
8. Wang K, Chen W, Zhang Z, Deng Y, Lian J-Q, Du P, et al. CD147-spike protein is a novel route for SARS-CoV-2 infection to host cells. Signal Transduction and Targeted Therapy. 2020;5(1):283. DOI: 10.1038/s41392-020-00426-x
9. Sainz B, Jr., Rausch JM, Gallaher WR, Garry RF, Wimley WC. Identification and characterization of the putative fusion peptide of the severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus spike protein. J Virol. 2005;79(11):7195-206. DOI: 10.1128/jvi.79.11.7195-7206.2005
10. Zakhartchouk AN, Sharon C, Satkunarajah M, Auperin T, Viswa-

- nathan S, Mutwiri G, et al. Immunogenicity of a receptor-binding domain of SARS coronavirus spike protein in mice: implications for a subunit vaccine. *Vaccine*. 2007;25(1):136-43. DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.06.084
11. Du L, He Y, Zhou Y, Liu S, Zheng B-J, Jiang S. The spike protein of SARS-CoV – a target for vaccine and therapeutic development. *Nature Reviews Microbiology*. 2009;7(3):226-36. DOI: 10.1038/nrmicro2090
 12. OMS. Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines 2021 [Available from: [https://www.who.int/docs/default-source/blue-print/novel-coronavirus-landscape-covid-19-\(7\).pdf?sfvrsn=a4e55ae3_2&download=true](https://www.who.int/docs/default-source/blue-print/novel-coronavirus-landscape-covid-19-(7).pdf?sfvrsn=a4e55ae3_2&download=true).
 13. Plotkin SA. Increasing Complexity of Vaccine Development. *J Infect Dis*. 2015;212(suppl_1):S12-S6. DOI: 10.1093/infdis/jiu568
 14. European Medicines Agency. EMA considerations on COVID-19 vaccine approval (2020). DOI: https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/ema-considerations-covid-19-vaccine-approval_en.pdf
 15. Bartsch SM, O'Shea KJ, Ferguson MC, Bottazzi ME, Wedlock PT, Strych U, et al. Vaccine Efficacy Needed for a COVID-19 Coronavirus Vaccine to Prevent or Stop an Epidemic as the Sole Intervention. *Am J Prev Med*. 2020;59(4):493-503. DOI: 10.1016/j.amepre.2020.06.011
 16. Kostoff RN, Briggs MB, Porter AL, Spandidos DA, Tsatsakis A. [Comment] COVID-19 vaccine safety. *Int J Mol Med*. 2020;46(5):1599-602. DOI: 10.3892/ijmm.2020.4733
 17. Krause PR, Gruber MF. Emergency Use Authorization of Covid Vaccines – Safety and Efficacy Follow-up Considerations. *New Eng J Med*. 2020;383(19):e107. DOI: 10.1056/NEJMp2031373
 18. Anywine Z, Whitworth H, Kaleebu P, Praygod G, Shukarev G, Manano D, et al. Safety and Immunogenicity of a 2-Dose Heterologous Vaccination Regimen With Ad26.ZEBOV and MVA-BN-Filo Ebola Vaccines: 12-Month Data From a Phase 1 Randomized Clinical Trial in Uganda and Tanzania. *J Infect Dis*. 2019;220(1):46-56. DOI: 10.1093/infdis/jiz070
 19. Puthumana J, Egilman AC, Zhang AD, Schwartz JL, Ross JS. Speed, Evidence, and Safety Characteristics of Vaccine Approvals by the US Food and Drug Administration. *JAMA Internal Medicine*. 2021;181(4):559-60. DOI: 10.1001/jamainternmed.2020.7472
 20. Spinola SM, Zimet GD, Ott MA, Katz BP. Human Challenge Studies Are Unlikely to Accelerate Coronavirus Vaccine Licensure Due to Ethical and Practical Issues. *J Infect Dis*. 2020;222(9):1572-4. DOI: 10.1093/infdis/jiaa457
 21. Edwards KM, Orenstein WA. Anticipating Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Vaccine Testing, Licensure, and Recommendations for Use. *J Pediatr*. 2020;224:124-8. DOI: 10.1016/j.jpeds.2020.06.048
 22. Jeyanathan M, Afkhami S, Smaill F, Miller MS, Lichty BD, Xing Z. Immunological considerations for COVID-19 vaccine strategies. *Nat Rev Immunol*. 2020;20(10):615-32. DOI: 10.1038/s41577-020-00434-6
 23. Li CK-f, Wu H, Yan H, Ma S, Wang L, Zhang M, et al. T Cell Responses to Whole SARS Coronavirus in Humans. *The Journal of Immunology*. 2008;181(8):5490-500. DOI: 10.4049/jimmunol.181.8.5490
 24. Yang J, Wang W, Chen Z, Lu S, Yang F, Bi Z, et al. A vaccine targeting the RBD of the S protein of SARS-CoV-2 induces protective immunity. *Nature*. 2020;586(7830):572-7. DOI: 10.1038/s41586-020-2599-8
 25. Ahmed SF, Quadeer AA, McKay MR. Preliminary Identification of Potential Vaccine Targets for the COVID-19 Coronavirus (SARS-CoV-2) Based on SARS-CoV Immunological Studies. *Viruses*. 2020;12(3). DOI: 10.3390/v12030254
 26. Alouane T, Laamarti M, Essabbar A, Hakmi M, Bouricha EM, Che-mao-Elfihri MW, et al. Genomic Diversity and Hotspot Mutations in 30,983 SARS-CoV-2 Genomes: Moving Toward a Universal Vaccine for the "Confined Virus"? *Pathogens (Basel, Switzerland)*. 2020;9(10):829. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens9100829>
 27. Rausch JW, Capoferri AA, Katusiime MG, Patro SC, Kearney MF. Low genetic diversity may be an Achilles heel of SARS-CoV-2. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117(40):24614-6. DOI: 10.1073/pnas.2017726117
 28. Denison MR, Graham RL, Donaldson EF, Eckerle LD, Baric RS. Coronaviruses: An RNA proofreading machine regulates replication fidelity and diversity. *RNA Biology*. 2011;82(2). DOI: <https://doi.org/10.4161/rna.8.2.15013>
 29. Eckerle LD, Becker MM, Halpin RA, Li K, Venter E, Lu X, et al. Infidelity of SARS-CoV Nsp14-exonuclease mutant virus replication is revealed by complete genome sequencing. *PLoS Pathog*. 2010;6(5):e1000896. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000896
 30. Shah M, Ahmad B, Choi S, Woo HG. Mutations in the SARS-CoV-2 spike RBD are responsible for stronger ACE2 binding and poor anti-SARS-CoV mAbs cross-neutralization. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2020;18:3402-14. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.11.002>
 31. Callaway E. Could new COVID variants undermine vaccines? Labs scramble to find out. *Nature*. 2021;589(7841):177-8. DOI: 10.1038/d41586-021-00031-0
 32. Centers for Disease Control. SARS-CoV-2 Variant Classifications and Definitions 2021. Available from: https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-info.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fcoronavirus%2F2019-ncov%2Fcases-updates%2Fvariant-surveillance%2Fvariant-info.html.
 33. Gu H, Chen Q, Yang G, He L, Fan H, Deng Y-Q, et al. Adaptation of SARS-CoV-2 in BALB/c mice for testing vaccine efficacy. *Science*. 2020;369(6511):1603-7. DOI: 10.1126/science.abc4730
 34. Collier DA, De Marco A, Ferreira IATM, Meng B, Datt RP, Walls AC, et al. Sensitivity of SARS-CoV-2 B.1.1.7 to mRNA vaccine-elicited antibodies. *Nature*. 2021;593(7857):136-41. DOI: 10.1038/s41586-021-03412-7
 35. Shen X, Tang H, McDaniel C, Wagh K, Fischer W, Theiler J, et al. SARS-CoV-2 variant B.1.1.7 is susceptible to neutralizing antibodies elicited by ancestral Spike vaccines. *bioRxiv*. 2021. DOI: 10.1101/2021.01.27.428516
 36. Greaney AJ, Loes AN, Crawford KHD, Starr TN, Malone KD, Chu HY, et al. Comprehensive mapping of mutations to the SARS-CoV-2

- receptor-binding domain that affect recognition by polyclonal human serum antibodies. *bioRxiv*. 2021:2020.12.31.425021. DOI: 10.1101/2020.12.31.425021
37. Zhang W, Davis BD, Chen SS, Sincuir Martinez JM, Plummer JT, Vail E. Emergence of a Novel SARS-CoV-2 Variant in Southern California. *JAMA*. 2021;325(13):1324-6. DOI: 10.1001/jama.2021.1612
 38. Wise J. Covid-19: The E484K mutation and the risks it poses. *Bmj*. 2021;372:n359. DOI: 10.1136/bmj.n359
 39. Mascola JR, Graham BS, Fauci AS. SARS-CoV-2 Viral Variants-Tackling a Moving Target. *Jama*. 2021;325(13):1261-2. DOI: 10.1001/jama.2021.2088
 40. Wang P, Nair MS, Liu L, Iketani S, Luo Y, Guo Y, et al. Antibody resistance of SARS-CoV-2 variants B.1.351 and B.1.1.7. *Nature*. 2021;593(7857):130-5. DOI: 10.1038/s41586-021-03398-2
 41. Madhi SA, Baillie V, Cutland CL, Voysey M, Koen AL, Fairlie L, et al. Efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 Covid-19 Vaccine against the B.1.351 Variant. *New Eng J Med*. 2021;384(20):1885-98. DOI: 10.1056/NEJMoa2102214
 42. Plante JA, Liu Y, Liu J, Xia H, Johnson BA, Lokugamage KG, et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. *Nature*. 2021;592(7852):116-21. DOI: 10.1038/s41586-020-2895-3
 43. Baric RS. Emergence of a Highly Fit SARS-CoV-2 Variant. *New Eng J Med*. 2020;383(27):2684-6. DOI: 10.1056/NEJMcibr2032888
 44. Wang Z, Schmidt F, Weisblum Y, Muecksch F, Barnes CO, Fink S, et al. mRNA vaccine-elicited antibodies to SARS-CoV-2 and circulating variants. *Nature*. 2021;592(7855):616-22. DOI: 10.1038/s41586-021-03324-6
 45. Mallapaty S. India's massive COVID surge puzzles scientists. *Nature*. 2021;592(7856):667-8. DOI: 10.1038/d41586-021-01059-y
 46. Yadav PD, Sapkal GN, Abraham P, Ella R, Deshpande G, Patil DY, et al. Neutralization of variant under investigation B.1.617 with sera of BBV152 vaccinees. *bioRxiv*. 2021:2021.04.23.441101. DOI: 10.1101/2021.04.23.441101
 47. Liu Y, Liu J, Xia H, Zhang X, Fontes-Garfias CR, Swanson KA, et al. Neutralizing Activity of BNT162b2-Elicited Serum. *New Eng J Med*. 2021;384(15):1466-8. DOI: 10.1056/NEJMc2102017
 48. Adam D. What scientists know about new, fast-spreading coronavirus variants. *Nature*. 2021;594(7861):19-20. DOI: 10.1038/d41586-021-01390-4
 49. Collier DA, De Marco A, Ferreira I, Meng B, Datir RP, Walls AC, et al. Sensitivity of SARS-CoV-2 B.1.1.7 to mRNA vaccine-elicited antibodies. *Nature*. 2021;593(7857):136-41. DOI: 10.1038/s41586-021-03412-7
 50. Public Health England. Variants: distribution of case data, 18 June 2021: Updated 18 June 2021 [Available from: <https://www.gov.uk/government/publications/covid-19-variants-genomically-confirmed-case-numbers/variants-distribution-of-case-data-18-june-2021>].
 51. Torjesen I. Covid-19: Delta variant is now UK's most dominant strain and spreading through schools. *Bmj*. 2021;373:n1445. DOI: 10.1136/bmj.n1445
 52. GOV-UK. Latest updates on SARS-CoV-2 variants detected in UK. [Available from: <https://www.gov.uk/government/news/confirmed-cases-of-covid-19-variants-identified-in-uk>].
 53. Wu K, Choi A, Koch M, Ma L, Hill A, Nunna N, et al. Preliminary Analysis of Safety and Immunogenicity of a SARS-CoV-2 Variant Vaccine Booster. *medRxiv*. 2021:2021.05.05.21256716. DOI: 10.1101/2021.05.05.21256716
 54. Funk T, Pharris A, Spiteri G, Bundle N, Melidou A, Carr M, et al. Characteristics of SARS-CoV-2 variants of concern B.1.1.7, B.1.351 or P.1: data from seven EU/EEA countries, weeks 38/2020 to 10/2021. *Eurosurveillance*. 2021;26(16):2100348. DOI: [doi:https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2021.26.16.2100348](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2021.26.16.2100348)
 55. Su D, Li X, He C, Huang X, Chen M, Wang Q, et al. Broad neutralization against SARS-CoV-2 variants induced by a modified B.1.351 protein-based COVID-19 vaccine candidate. *bioRxiv*. 2021:2021.05.16.444369. DOI: 10.1101/2021.05.16.444369
 56. Redd AD, Nardin A, Kared H, Bloch EM, Pekosz A, Laeyendecker O, et al. CD8+ T cell responses in COVID-19 convalescent individuals target conserved epitopes from multiple prominent SARS-CoV-2 circulating variants. *medRxiv*. 2021:2021.02.11.21251585. DOI: 10.1101/2021.02.11.21251585
 57. Centers for Disease Control. Vaccines for COVID-19 (2021). Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/index.html>.
 58. Hassan AO, Kafai NM, Dmitriev IP, Fox JM, Smith BK, Harvey IB, et al. A Single-Dose Intranasal ChAd Vaccine Protects Upper and Lower Respiratory Tracts against SARS-CoV-2. *Cell*. 2020;183(1):169-84. e13. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.026>
 59. Mahase E. Covid-19: Order to reschedule and delay second vaccine dose is "totally unfair," says BMA. *BMJ*. 2020;371:m4978. DOI: 10.1136/bmj.m4978
 60. Chodick G, Tene L, Patalon T, Gazit S, Tov AB, Cohen D, et al. The effectiveness of the first dose of BNT162b2 vaccine in reducing SARS-CoV-2 infection 13-24 days after immunization: real-world evidence. *medRxiv*. 2021:2021.01.27.21250612. DOI: 10.1101/2021.01.27.21250612
 61. Hunter PR, Brainard J. Estimating the effectiveness of the Pfizer COVID-19 BNT162b2 vaccine after a single dose. A reanalysis of a study of 'real-world' vaccination outcomes from Israel. *medRxiv*. 2021:2021.02.01.21250957. DOI: 10.1101/2021.02.01.21250957
 62. Krammer F, Srivastava K, Simon V. Robust spike antibody responses and increased reactogenicity in seropositive individuals after a single dose of SARS-CoV-2 mRNA vaccine. *medRxiv*. 2021:2021.01.29.21250653. DOI: 10.1101/2021.01.29.21250653
 63. Krammer F, Srivastava K, Alshammery H, Amoako AA, Awawda MH, Beach KF, et al. Antibody Responses in Seropositive Persons after a Single Dose of SARS-CoV-2 mRNA Vaccine. *New Eng J Med*. 2021;384(14):1372-4. DOI: 10.1056/NEJMc2101667
 64. Moore JP. Approaches for Optimal Use of Different COVID-19 Vaccines: Issues of Viral Variants and Vaccine Efficacy. *JAMA*. 2021;325(13):1251-2. DOI: 10.1001/jama.2021.3465
 65. Kemp SA, Collier DA, Datir RP, Ferreira IATM, Gayed S, Jahun A, et al. SARS-CoV-2 evolution during treatment of chronic infection. *Nature*. 2021;592(7853):277-82. DOI: 10.1038/s41586-021-03291-y

66. Saad-Roy CM, Morris SE, Metcalf CJE, Mina MJ, Baker RE, Farrar J, et al. Epidemiological and evolutionary considerations of SARS-CoV-2 vaccine dosing regimes. *Science*. 2021;372(6540):363-70. DOI: 10.1126/science.abg8663
67. Comisión Europea. Estrategia de Vacunas de la UE 2021 [Available from: https://ec.europa.eu/info/live-work-travel-eu/coronavirus-response/public-health/eu-vaccines-strategy_es.
68. Rosen B, Waitzberg R, Israeli A. Israel's rapid rollout of vaccinations for COVID-19. *Israel Journal of Health Policy Research*. 2021;10(1):6. DOI: 10.1186/s13584-021-00440-6
69. Glied S. Strategy drives implementation: COVID vaccination in Israel. *Israel Journal of Health Policy Research*. 2021;10(1):9. DOI: 10.1186/s13584-021-00445-1
70. Cylus J, Panteli D, van Ginneken E. Who should be vaccinated first? Comparing vaccine prioritization strategies in Israel and European countries using the Covid-19 Health System Response Monitor. *Israel Journal of Health Policy Research*. 2021;10(1):16. DOI: 10.1186/s13584-021-00453-1
71. Zambrano L, Sascha Ellington S, Penelope Strid P, Galang R, Oduyebo T, Tong V, et al. Update: Characteristics of Symptomatic Women of Reproductive Age with Laboratory-Confirmed SARS-CoV-2 Infection by Pregnancy Status — United States, January 22–October 3, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020;69:1641-7. DOI: <https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/69/wr/mm6944e3.htm#suggestedcitation>
72. Gray KJ, Bordt EA, Atyeo C, Deriso E, Akinwunmi B, Young N, et al. Coronavirus disease 2019 vaccine response in pregnant and lactating women: a cohort study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2021.03.023>
73. GOV-UK. Guidance. COVID-19 vaccination: a guide for women of childbearing age, pregnant or breastfeeding (2020). Available from: <https://www.gov.uk/government/publications/covid-19-vaccination-women-of-childbearing-age-currently-pregnant-planning-a-pregnancy-or-breastfeeding/covid-19-vaccination-a-guide-for-women-of-childbearing-age-pregnant-planning-a-pregnancy-or-breastfeeding>.
74. Shimabukuro TT, Kim SY, Myers TR, Moro PL, Oduyebo T, Panagiotakopoulos L, et al. Preliminary Findings of mRNA Covid-19 Vaccine Safety in Pregnant Persons. *New Eng J Med*. 2021. DOI: 10.1056/NEJMoa2104983
75. Ministerio de Sanidad. COVID-19. Actualización 7 [Available from: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/covid19/docs/COVID-19_Actualizacion7_Nota_Segundadosis_Personasmenores60anos.pdf.
76. Collier A-rY, McMahan K, Yu J, Tostanoski LH, Aguayo R, Ansel J, et al. Immunogenicity of COVID-19 mRNA Vaccines in Pregnant and Lactating Women. *JAMA*. 2021. DOI: 10.1001/jama.2021.7563
77. Gostin LO, Cohen IG, Shaw J. Digital Health Passes in the Age of COVID-19: Are "Vaccine Passports" Lawful and Ethical? *JAMA*. 2021;325(19):1933-4. DOI: 10.1001/jama.2021.5283
78. Hall MA, Studdert DM. "Vaccine Passport" Certification — Policy and Ethical Considerations. *New Eng J Med*. 2021. DOI: 10.1056/NEJMp2104289
79. Centers for Disease Control. Interim Public Health Recommendations for Fully Vaccinated People (2021) [Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/fully-vaccinated-guidance.html>.
80. GOV-UK. Alternating doses of different vaccines (2021). Available from: <https://www.gov.uk/government/news/world-first-covid-19-alternating-dose-vaccine-study-launches-in-uk>.
81. Shaw RH, Stuart A, Greenland M, Liu X, Van-Tam JSN, Snape MD. Heterologous prime-boost COVID-19 vaccination: initial reactogenicity data. *Lancet*. 2021;397(10289):2043-6. DOI: 10.1016/s0140-6736(21)01115-6
82. Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, et al. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *New Eng J Med*. 2020;383(27):2603-15. DOI: 10.1056/NEJMoa2034577
83. Wollersheim S. FDA Review on Efficacy and Safety of Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine. Emergency Use Authorization Request 10 Diciembre 20202020 [Available from: <https://www.youtube.com/watch?v=owveMJBtc2I&feature=youtu.be>.
84. Menni C, Klaser K, May A, Polidori L, Capdevila J, Louca P, et al. Vaccine side-effects and SARS-CoV-2 infection after vaccination in users of the COVID Symptom Study app in the UK: a prospective observational study. *Lancet Infect Dis*. 2021. DOI: 10.1016/s1473-3099(21)00224-3.
85. Borobia A, Carcas A, Pérez Olmeda M, Castaño L, Beltrán M, García-Pérez J, et al. Reactogenicity and Immunogenicity of BNT162b2 in Subjects Having Received a First Dose of ChAdOx1s: Initial Results of a Randomised, Adaptive, Phase 2 Trial (CombiVacS). *The Lancet*. 2021;Preprint. DOI: https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3854768
86. de Montalvo Jääskeläinen F, Altisent Trota R, Bellver Capella V, Cadena Serrano F, de los Reyes López M, de la Gándara del Castillo A, et al. Informe del Comité de Bioética de España acerca de los fundamentos ético-legales de permitir a las personas menores de sesenta años que han sido vacunados con primera dosis de Vaxzevria, vacunarse , en segunda dosis, con la misma vacuna2021. DOI: <http://assets.comitedebioetica.es/files/documentacion/Informe%20CBE%20Eleccion%20Vacunas.pdf>
87. Wajnberg A, Amanat F, Firpo A, Altman DR, Bailey MJ, Mansour M, et al. Robust neutralizing antibodies to SARS-CoV-2 infection persist for months. *Science*. 2020;370(6521):1227-30. DOI: 10.1126/science.abd7728
88. Turner JS, Kim W, Kalaidina E, Goss CW, Raueo AM, Schmitz AJ, et al. SARS-CoV-2 infection induces long-lived bone marrow plasma cells in humans. *Nature*. 2021. DOI: 10.1038/s41586-021-03647-4
89. Plotkin SA. Correlates of protection induced by vaccination. *Clin Vaccine Immunol*. 2010;17(7):1055-65. DOI: 10.1128/CVI.00131-10
90. Cox RJ, Brokstad KA. Not just antibodies: B cells and T cells mediate immunity to COVID-19. *Nature Reviews Immunology*. 2020;20(10):581-2. DOI: 10.1038/s41577-020-00436-4
91. Tang F, Quan Y, Xin Z-T, Wrammert J, Ma M-J, Lv H, et al. Lack of Peripheral Memory B Cell Responses in Recovered Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome: A Six-Year Follow-Up Study.

- The Journal of Immunology. 2011;186(12):7264-8. DOI: 10.4049/jimmunol.0903490
92. Le Bert N, Tan AT, Kunasegaran K, Tham CYL, Hafezi M, Chia A, et al. SARS-CoV-2-specific T cell immunity in cases of COVID-19 and SARS, and uninfected controls. *Nature*. 2020;584(7821):457-62. DOI: 10.1038/s41586-020-2550-z
 93. Breton G, Mendoza P, Hagglof T, Oliveira TY, Babajew DS, Gaebler C, et al. Persistent Cellular Immunity to SARS-CoV-2 Infection. *bioRxiv* 9 Diciembre 2020. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.12.08.416636>
 94. Doshi P. Covid-19: Do many people have pre-existing immunity? *BMJ*. 2020;370:m3563. DOI: 10.1136/bmj.m3563
 95. Soiza RL, Scicluna C, Thomson EC. Efficacy and safety of COVID-19 vaccines in older people. *Age and Ageing*. 2020;50(2):279-83. DOI: 10.1093/ageing/afaa274
 96. Gustafson CE, Kim C, Weyand CM, Goronzy JJ. Influence of immune aging on vaccine responses. *J Allergy Clin Immunol*. 2020;145(5):1309-21. DOI: 10.1016/j.jaci.2020.03.017
 97. Mukhopadhyay L, Yadav P, Gupta N, Mohandas S, Patil D, Shete-Aich A, et al. Comparison of the immunogenicity & protective efficacy of various SARS-CoV-2 vaccine candidates in non-human primates. *Indian Journal of Medical Research*. 2021;153(1):93-114. DOI: 10.4103/ijmr.IJMR_4431_20
 98. Shimabukuro TT, Cole M, Su JR. Reports of Anaphylaxis After Receipt of mRNA COVID-19 Vaccines in the US—December 14, 2020–January 18, 2021. *JAMA*. 2021;325(11):1101-2. DOI: 10.1001/jama.2021.1967
 99. Mulligan MJ, Lyke KE, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, et al. Phase I/II study of COVID-19 RNA vaccine BNT162b1 in adults. *Nature*. 2020;586(7830):589-93. DOI: 10.1038/s41586-020-2639-4
 100. Sahin U, Muik A, Derhovanessian E, Vogler I, Kranz LM, Vormehr M, et al. COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and TH1 T cell responses. *Nature*. 2020;586(7830):594-9. DOI: 10.1038/s41586-020-2814-7
 101. Walsh EE, Frenck R, Falsey AR, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, et al. RNA-Based COVID-19 Vaccine BNT162b2 Selected for a Pivotal Efficacy Study. *medRxiv*. 2020:2020.08.17.20176651. DOI: 10.1101/2020.08.17.20176651
 102. FDA Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee meeting. 162nd Meeting of the Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee (2020) [Available from: <https://youtu.be/owwvMJBTc2l>].
 103. Jansen K. BNT162b2 Vaccine Candidate against COVID-19. Introduction [Available from: <https://www.youtube.com/watch?v=owwvMJBTc2l&feature=youtu.be>].
 104. Gruber W. 162nd. FDA Meeting of the Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee. Emergency authorization of the Pfizer BNT162B2 vaccine for the prevention of COVID-19 [Available from: <https://www.youtube.com/watch?v=owwvMJBTc2l&feature=youtu.be>].
 105. Edlow AG, Li JZ, Collier A-RY, Atyeo C, James KE, Boatín AA, et al. Assessment of Maternal and Neonatal SARS-CoV-2 Viral Load, Transplacental Antibody Transfer, and Placental Pathology in Pregnancies During the COVID-19 Pandemic. *JAMA Netw Open*. 2020;3(12):e2030455-e. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2020.30455
 106. Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica. Comunicado oficial tras la recomendación de la Agencia Reguladora de Medicamentos y Productos Sanitarios del Reino Unido de no poner la vacuna contra la COVID.19 de Pfizer a aquellos que tienen antecedentes de reacciones graves a Fármacos y/o alimentos (2021). Available from: <https://www.seaic.org/download/12344/>.
 107. Lee E-J, Cines DB, Gernsheimer T, Kessler C, Michel M, Tarantino MD, et al. Thrombocytopenia following Pfizer and Moderna SARS-CoV-2 vaccination. *American Journal of Hematology*. 2021;96(5):534-7. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajh.26132>
 108. European Medicines Agency. Extraordinary meeting of the Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) (2020). Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/events/extraordinary-meeting-committee-medicinal-products-human-use-chmp-21-december-2020>.
 109. Voysey M, Clemens SAC, Madhi SA, Weckx LY, Folegatti PM, Aley PK, et al. Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. *Lancet*. 2021;397(10269):99-111. DOI: 10.1016/s0140-6736(20)32661-1
 110. Baden LR, El Sahly HM, Essink B, Kotloff K, Frey S, Novak R, et al. Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N Engl J Med*. 2021;384(5):403-16. DOI: 10.1056/NEJMoa2035389
 111. Skowronski D, De Serres G. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *New Eng J Med*. 2021;384(16):1576-8. DOI: 10.1056/NEJMc2036242
 112. FDA Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee meeting. 163 Meeting of the Vaccines and Related Biological Products Products Advisory Committee. Moderna COVID-19 vaccine (2020) [17 Diciembre 2020: [Available from: <https://www.youtube.com/watch?v=I4psAfbUtCO> <https://www.fda.gov/media/144434/download>].
 113. Dagan N, Barda N, Kepten E, Miron O, Perchik S, Katz MA, et al. BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine in a Nationwide Mass Vaccination Setting. *New Eng J Med*. 2021;384(15):1412-23. DOI: 10.1056/NEJMoa2101765
 114. Abu-Raddad LJ, Chemaitelly H, Butt AA. Effectiveness of the BNT162b2 Covid-19 Vaccine against the B.1.1.7 and B.1.351 Variants. *New Eng J Med*. 2021. DOI: 10.1056/NEJMc2104974
 115. Thompson M, Burgess J, Naleway A, Tyner H, Yoon S. Interim Estimates of Vaccine Effectiveness of BNT162b2 and mRNA-1273 COVID-19 Vaccines in Preventing SARS-CoV-2 Infection Among Health Care Personnel, First Responders, and Other Essential and Frontline Workers — Eight U.S. Locations, December 2020–March 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2021;70:495–500 [Internet]. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm7013e3>
 116. Frenck RW, Klein NP, Kitchin N, Gurtman A, Absalon J, Lockhart S, et al. Safety, Immunogenicity, and Efficacy of the BNT162b2 Covid-19 Vaccine in Adolescents. *New Eng J Med*. 2021. DOI:

- 10.1056/NEJMoa2107456
117. European Medicines Agency. EMA's CHMP recommended extending the use of Comirnaty to include children aged 12 to 15 (2021); (28/05/2021). Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/news/first-covid-19-vaccine-approved-children-aged-12-15-eu>.
 118. Xie X, Zou J, Fontes-Garfias CR, Xia H, Swanson KA, Cutler M, et al. Neutralization of N501Y mutant SARS-CoV-2 by BNT162b2 vaccine-elicited sera. *bioRxiv*. 2021:2021.01.07.425740. DOI: 10.1101/2021.01.07.425740
 119. Muik A, Wallisch AK, Sanger B, Swanson KA, Muhl J, Chen W, et al. Neutralization of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 pseudovirus by BNT162b2 vaccine-elicited human sera. *Science*. 2021;371(6534):1152-3. DOI: 10.1126/science.abg6105
 120. 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;383(20):1920-31. DOI: 10.1056/NEJMoa2022483
 121. Corbett KS, Flynn B, Foulds KE, Francica JR, Boyoglu-Barnum S, Werner AP, et al. Evaluation of the mRNA-1273 Vaccine against SARS-CoV-2 in Nonhuman Primates. *New Eng J Med*. 2020;383(16):1544-55. DOI: 10.1056/NEJMoa2024671
 122. Widge AT, Rouphael NG, Jackson LA, Anderson EJ, Roberts PC, Makhene M, et al. Durability of Responses after SARS-CoV-2 mRNA-1273 Vaccination. *New Eng J Med*. 2020;384(1):80-2. DOI: 10.1056/NEJMc2032195
 123. Martin D. Study 301: ARNm 1273 100 µg. Safety 9 week Median Follow-up (2021) [Available from: <https://www.youtube.com/watch?v=l4psAfbUtCO&feature=youtu.be>].
 124. Miller J. ARNm-1273 Efficacy: FDA 163 Meeting of the Vaccines and Related Biological Products Products Advisory Committee; 2020 [Available from: <https://www.youtube.com/watch?v=l4psAfbUtCO&feature=youtu.be>].
 125. FDA Briefing Document. Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee Meeting December 17, 2020. Moderna COVID-19 Vaccine (2020). Available from: <https://www.fda.gov/media/144434/download>.
 126. Thompson M, Burgess J, Naleway A, Tyner H, Yoon S, Meece J, et al. Interim Estimates of Vaccine Effectiveness of BNT162b2 and mRNA-1273 COVID-19 Vaccines in Preventing SARS-CoV-2 Infection Among Health Care Personnel, First Responders, and Other Essential and Frontline Workers — Eight U.S. Locations, December 2020–March 2021. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2021;70. DOI: 10.15585/mmwr.mm7013e3
 127. Wu K, Werner AP, Moliva JL, Koch M, Choi A, Stewart-Jones GBE, et al. mRNA-1273 vaccine induces neutralizing antibodies against spike mutants from global SARS-CoV-2 variants. *bioRxiv*. 2021:2021.01.25.427948. DOI: 10.1101/2021.01.25.427948
 128. Agency EM. Informaci3n de la vacuna Moderna2021. DOI: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/covid-19-vaccine-moderna-epar-product-information_en.pdf
 129. Folegatti P, Ewer K, Aley P, 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 Infect Dis*. 2020;20(7):e148. DOI: [https://www.thelancet.com/journals/lan-cet/article/PIIS0140-6736\(20\)31604-4/fulltext#](https://www.thelancet.com/journals/lan-cet/article/PIIS0140-6736(20)31604-4/fulltext#)
 130. Folegatti P, Ewer K, Aley P, Angus B, Becker S, Belij-Rammerstorfer S, et al. Correction to Lancet Infect Dis 2019; published online April 20. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30160-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30160-2). *Lancet Infect Dis*. 2020;20(7):e148-e. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30393-5
 131. Graham SP, McLean RK, Spencer AJ, Belij-Rammerstorfer S, Wright D, Ulaszewska M, et al. Evaluation of the immunogenicity of prime-boost vaccination with the replication-deficient viral vectored COVID-19 vaccine candidate ChAdOx1 nCoV-19. *NPJ Vaccines*. 2020;5(1):69. DOI: 10.1038/s41541-020-00221-3
 132. Ramasamy MN, Minassian AM, Ewer KJ, Flaxman AL, Folegatti PM, Owens DR, et al. Safety and immunogenicity of ChAdOx1 nCoV-19 vaccine administered in a prime-boost regimen in young and old adults (COV002): a single-blind, randomised, controlled, phase 2/3 trial. *Lancet*. 2021;396(10267):1979-93. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)32466-1
 133. Knoll M, Wonodi C. Oxford–AstraZeneca COVID-19 vaccine efficacy. *Lancet*. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32623-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32623-4)
 134. Mahase E. Covid-19: Oxford vaccine could be 59% effective against asymptomatic infections, analysis shows. *BMJ*. 2020;371:m4777. DOI: 10.1136/bmj.m4777
 135. Mahase E. Covid-19: UK approves Oxford vaccine as cases of new variant surge. *BMJ*. 2020;371:m4968. DOI: 10.1136/bmj.m4968
 136. European Medicines Agency. EMA recommends COVID-19 Vaccine AstraZeneca for authorisation in the EU (2021) [Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-recommends-covid-19-vaccine-astrazeneca-authorisation-eu>].
 137. PANGO. Lineages. Global report investigating novel coronavirus haplotypes 2021 [Available from: https://cov-lineages.org/global_report.html].
 138. European Medicines Agency. AstraZeneca 18/03/2021 (2021) [Available from: <https://www.youtube.com/watch?v=Qkl3E0d3i38>].
 139. Greinacher A, Thiele T, Warkentin TE, Weisser K, Kyrle PA, Eichinger S. Thrombotic Thrombocytopenia after ChAdOx1 nCoV-19 Vaccination. *New Eng J Med*. 2021;384(22):2092-101. DOI: 10.1056/NEJMoa2104840
 140. European Medicines Agency. AstraZeneca's COVID-19 vaccine: EMA finds possible link to very rare cases of unusual blood clots with low blood platelets (2021); (07/04/2021). Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/news/astrazenecas-covid-19-vaccine-ema-finds-possible-link-very-rare-cases-unusual-blood-clots-low-blood>.
 141. Schultz NH, Sorvoll IH, Michelsen AE, Munthe LA, Lund-Johansen F, Ahlen MT, et al. Thrombosis and Thrombocytopenia after ChAdOx1 nCoV-19 Vaccination. *New Eng J Med*. 2021;384(22):2124-30. DOI: 10.1056/NEJMoa2104882
 142. Scully M, Singh D, Lown R, Poles A, Solomon T, Levi M, et al. Pathologic Antibodies to Platelet Factor 4 after ChAdOx1 nCoV-19 Vaccination. *New Eng J Med*. 2021;384(23):2202-11. DOI: 10.1056/

- NEJMoa2105385
143. Cines DB, Bussell JB. SARS-CoV-2 Vaccine-Induced Immune Thrombotic Thrombocytopenia. *New Eng J Med.* 2021;384(23):2254-6. DOI: 10.1056/NEJMe2106315
 144. Federación de Asociaciones Científico-Médicas Españolas (FACME). Recomendaciones relativas al seguimiento de sospecha de trombosis y trombocitopenia tras la vacunación frente al COVID-19; (2021). Available from: <https://facme.es/wp-content/uploads/2021/03/FACME-sobre-trombosis-trombocitopenicas-ASTRAZENECA-20210329.pdf>.
 145. Tostanoski LH, Wegmann F, Martinot AJ, Loos C, McMahan K, Mercado NB, et al. Ad26 vaccine protects against SARS-CoV-2 severe clinical disease in hamsters. *Nat Med.* 2020;26(11):1694-700. DOI: 10.1038/s41591-020-1070-6
 146. Mercado NB, Zahn R, Wegmann F, Loos C, Chandrashekar A, Yu J, et al. Single-shot Ad26 vaccine protects against SARS-CoV-2 in rhesus macaques. *Nature.* 2020;586(7830):583-8. DOI: 10.1038/s41586-020-2607-z
 147. Bos R, Rutten L, van der Lubbe JEM, Bakkers MJG, Hardenberg G, Wegmann F, et al. Ad26 vector-based COVID-19 vaccine encoding a prefusion-stabilized SARS-CoV-2 Spike immunogen induces potent humoral and cellular immune responses. *NPJ Vaccines.* 2020;5:91-. DOI: 10.1038/s41541-020-00243-x
 148. Sadoff J, Le Gars M, Shukarev G, Heerwegh D, Truysers C, de Groot AM, et al. Interim Results of a Phase 1-2a Trial of Ad26.COV2.S Covid-19 Vaccine. *New Eng J Med.* 2021;384(19):1824-35. DOI: 10.1056/NEJMoa2034201
 149. FDA. 164 Meeting of the Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee. 26 Febrero 2021. Available from: <https://www.fda.gov/media/146217/download>.
 150. Muir K-L, Kallam A, Koepsell SA, Gundabolu K. Thrombotic Thrombocytopenia after Ad26.COV2.S Vaccination. *New Eng J Med.* 2021;384(20):1964-5. DOI: 10.1056/NEJMc2105869
 151. Centers for Disease Control. Los CDC recomiendan que se reanude el uso de la vacuna contra el COVID-19 Janssen de Johnson & Johnson 2021 [Available from: <https://espanol.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/safety/JJUpdate.html>].
 152. Sadoff J, Davis K, Douoguih M. Thrombotic Thrombocytopenia after Ad26.COV2.S Vaccination — Response from the Manufacturer. *New Eng J Med.* 2021;384(20):1965-6. DOI: 10.1056/NEJMc2106075
 153. European Medicines Agency. Vacuna de Janssen: Ficha técnica (2021). Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/covid-19-vaccine-janssen-epar-product-information_es.pdf.
 154. Fotin-Mleczek M, Zanzinger K, Heidenreich R, Lorenz C, Thess A, Duchardt KM, et al. Highly potent mRNA based cancer vaccines represent an attractive platform for combination therapies supporting an improved therapeutic effect. *J Gene Med.* 2012;14(6):428-39. DOI: 10.1002/jgm.2605
 155. Kübler H, Scheel B, Gnad-Vogt U, Miller K, Schultze-Seemann W, Vom Dorp F, et al. Self-adjuvanted mRNA vaccination in advanced prostate cancer patients: a first-in-man phase I/IIa study. *J Immunother Cancer.* 2015;3:26. DOI: 10.1186/s40425-015-0068-y
 156. Rauch S, Roth N, Schwendt K, Fotin-Mleczek M, Mueller SO, Petsch B. mRNA-based SARS-CoV-2 vaccine candidate CVnCoV induces high levels of virus-neutralising antibodies and mediates protection in rodents. *NPJ Vaccines.* 2021;6(1):57. DOI: 10.1038/s41541-021-00311-w
 157. Sridhar S, Begom S, Bermingham A, Hoschler K, Adamson W, Carman W, et al. Cellular immune correlates of protection against symptomatic pandemic influenza. *Nature Medicine.* 2013;19(10):1305-12. DOI: 10.1038/nm.3350
 158. Rauch S, Gooch K, Hall Y, Salguero FJ, Dennis MJ, Gleeson FV, et al. mRNA vaccine CVnCoV protects non-human primates from SARS-CoV-2 challenge infection. *bioRxiv.* 2020:2020.12.23.424138. DOI: 10.1101/2020.12.23.424138
 159. Kremsner P, Mann P, Bosch J, Fendel R, Gabor JJ, Kreidenweiss A, et al. Phase 1 Assessment of the Safety and Immunogenicity of an mRNA- Lipid Nanoparticle Vaccine Candidate Against SARS-CoV-2 in Human Volunteers. *medRxiv.* 2020:2020.11.09.20228551. DOI: 10.1101/2020.11.09.20228551
 160. Curevac. CureVac Provides Update on Phase 2b/3 Trial of First-Generation COVID-19 Vaccine Candidate, CVnCoV (2021). Available from: https://www.curevac.com/wp-content/uploads/2021/06/20210617_Results-of-Second-Interim-Analysis-of-CureVacs-Pivotal-Phase-2b-3-HERALD-Study-Presentation_FINAL.pdf https://www.curevac.com/wp-content/uploads/2021/06/20210616_PR-CV_Update-on-Phase-2b-3-Clinical-Trial-HERALD_Final.pdf.
 161. Tian J-H, Patel N, Haupt R, Zhou H, Weston S, Hammond H, et al. SARS-CoV-2 spike glycoprotein vaccine candidate NVX-CoV2373 immunogenicity in baboons and protection in mice. *Nature Communications.* 2021;12(1):372. DOI: 10.1038/s41467-020-20653-8
 162. Guebre-Xabier M, Patel N, Tian J-H, Zhou B, Maciejewski S, Lam K, et al. NVX-CoV2373 vaccine protects cynomolgus macaque upper and lower airways against SARS-CoV-2 challenge. *Vaccine.* 2020;38(50):7892-6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.10.064>
 163. Gorman MJ, Patel N, Guebre-Xabier M, Zhu A, Atyeo C, Pullen KM, et al. Collaboration between the Fab and Fc contribute to maximal protection against SARS-CoV-2 in nonhuman primates following NVX-CoV2373 subunit vaccine with Matrix-M™ vaccination. *bioRxiv.* 2021:2021.02.05.429759. DOI: 10.1101/2021.02.05.429759
 164. Yu J, Tostanoski LH, Peter L, Mercado NB, McMahan K, Mahrokhian SH, et al. DNA vaccine protection against SARS-CoV-2 in rhesus macaques. *Science.* 2020;369(6505):806-11. DOI: 10.1126/science.abc6284
 165. Keech C, Albert G, Cho I, Robertson A, Reed P, Neal S, et al. Phase 1-2 Trial of a SARS-CoV-2 Recombinant Spike Protein Nanoparticle Vaccine. *New Eng J Med.* 2020;383(24):2320-32. DOI: 10.1056/NEJMoa2026920
 166. Mahase E. Covid-19: Novavax vaccine efficacy is 86% against UK variant and 60% against South African variant. *BMJ.* 2021;372:n296. DOI: 10.1136/bmj.n296
 167. Callaway E, Mallapaty S. Novavax offers first evidence that

- COVID vaccines protect people against variants. *Nature*. 2021;590(7844):17. DOI: 10.1038/d41586-021-00268-9
168. Organización Mundial de la Salud. Interim recommendations for use of the inactivated COVID-19 vaccine, CoronaVac, developed by Sinovac (2021). Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/341454/WHO-2019-nCoV-vaccines-SAGE-recommendation-Sinovac-CoronaVac-2021.1-eng.pdf>.
 169. Zhang Y, Zeng G, Pan H, Li C, Hu Y, Chu K, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine in healthy adults aged 18–59 years: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 clinical trial. *Lancet Infect Dis*. 2021;21(2):181–92. DOI: 10.1016/s1473-3099(20)30843-4
 170. Wu Z, Hu Y, Xu M, Chen Z, Yang W, Jiang Z, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine (CoronaVac) in healthy adults aged 60 years and older: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 clinical trial. *Lancet Infect Dis*. 2021;21(6):803–12. DOI: 10.1016/s1473-3099(20)30987-7
 171. Bueno SM, Abarca K, González PA, Gálvez NM, Soto JA, Duarte LF, et al. Interim report: Safety and immunogenicity of an inactivated vaccine against SARS-CoV-2 in healthy Chilean adults in a phase 3 clinical trial. *medRxiv*. 2021:2021.03.31.21254494. DOI: 10.1101/2021.03.31.21254494
 172. Logunov D, Dolzhikova I, Zubkova O, Tukhvatullin A, Shcheblyakov D, Dzharullaeva A, et al. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia. 2020. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31866-3
 173. Logunov DY, Dolzhikova IV, Shcheblyakov DV, Tukhvatulin AI, Zubkova OV, Dzharullaeva AS, et al. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *Lancet*. 2021;397(10275):671–81. DOI: 10.1016/s0140-6736(21)00234-8
 174. Jones I, Roy P. Sputnik V COVID-19 vaccine candidate appears safe and effective. *Lancet*. 2021;397(10275):642–3. DOI: 10.1016/s0140-6736(21)00191-4
 175. Geisbert TW, Bailey M, Hensley L, Asiedu C, Geisbert J, Stanley D, et al. Recombinant adenovirus serotype 26 (Ad26) and Ad35 vaccine vectors bypass immunity to Ad5 and protect nonhuman primates against ebolavirus challenge. *J Virol*. 2011;85(9):4222–33. DOI: 10.1128/jvi.02407-10
 176. Abbink P, Lemckert AA, Ewald BA, Lynch DM, Denholtz M, Smits S, et al. Comparative seroprevalence and immunogenicity of six rare serotype recombinant adenovirus vaccine vectors from subgroups B and D. *J Virol*. 2007;81(9):4654–63. DOI: 10.1128/jvi.02696-06
 177. Lu S. Heterologous prime-boost vaccination. *Curr Opin Immunol*. 2009;21(3):346–51. DOI: 10.1016/j.coi.2009.05.016
 178. Bucci EM, Berkhof J, Gillibert A, Gopalakrishna G, Calogero RA, Bouter LM, et al. Data discrepancies and substandard reporting of interim data of Sputnik V phase 3 trial. *Lancet*. 2021;397(10288):1881–3. DOI: 10.1016/s0140-6736(21)00899-0
 179. Logunov DY, Dolzhikova IV, Shcheblyakov DV. Data discrepancies and substandard reporting of interim data of Sputnik V phase 3 trial – Authors' reply. *Lancet*. 2021;397(10288):1883–4. DOI: 10.1016/s0140-6736(21)00894-1
 180. Pagotto V, Ferloni A, Soriano MM, Díaz M, Golde MB, González MI, et al. ACTIVE SURVEILLANCE OF THE SPUTNIK V VACCINE IN HEALTH WORKERS. *medRxiv*. 2021:2021.02.03.21251071. DOI: 10.1101/2021.02.03.21251071
 181. Topley WW, Wilson GS. The Spread of Bacterial Infection. The Problem of Herd-Immunity. *J Hyg (Lond)*. 1923;21(3):243–9. DOI: 10.1017/s0022172400031478
 182. Ashwanden C. The false promise of herd immunity for COVID-19. *Nature*. 2020;587(7832):26–8. DOI: 10.1038/d41586-020-02948-4
 183. Anderson RM, Vegvari C, Truscott J, Collyer BS. Challenges in creating herd immunity to SARS-CoV-2 infection by mass vaccination. *Lancet*. 2020;396(10263):1614–6. DOI: 10.1016/s0140-6736(20)32318-7
 184. CDC. COVID-19 Vaccine Breakthrough Infections Reported to CDC – United States, January 1–April 30, 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2021;70(21):792–3. DOI: 10.15585/mmwr.mm7021e3
 185. Christie A, Mbaeyi SA, Walensky RP. CDC Interim Recommendations for Fully Vaccinated People: An Important First Step. *JAMA*. 2021;325(15):1501–2. DOI: 10.1001/jama.2021.4367
 186. Contreras S, Priesemann V. Risking further COVID-19 waves despite vaccination. *Lancet Infect Dis*. 2021;21(6):745–6. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00167-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00167-5)
 187. Moore S, Hill EM, Tildesley MJ, Dyson L, Keeling MJ. Vaccination and non-pharmaceutical interventions for COVID-19: a mathematical modelling study. *Lancet Infect Dis*. 2021;21(6):793–802. DOI: 10.1016/s1473-3099(21)00143-2
 188. Petherick A, Goldszmidt R, Andrade E, Furst R, Pott A, Wood A. A Worldwide Assessment of COVID-19 Pandemic-Policy Fatigue (2021). DOI: <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3774252>
 189. Goldfarb JL, Kreps S, Brownstein JS, Kriner DL. Beyond the First Dose – Covid-19 Vaccine Follow-through and Continued Protective Measures. *New Eng J Med*. 2021. DOI: 10.1056/NEJMp2104527

Juan González del Castillo¹
Agustín Julián Jiménez²
Francisco Javier Candel³

Neumonía comunitaria: selección del tratamiento empírico y terapia secuencial. Implicaciones del SARS-CoV-2

¹Servicio de Urgencias. IdISSC. Hospital Clínico San Carlos. Madrid, España.

²Servicio de Urgencias. Universidad de Castilla La Mancha. Hospital Universitario de Toledo, España.

³Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Coordinación de Trasplantes. IdISSC e IML. Hospital Clínico San Carlos.

Article history

Received: 14 October 2021; Accepted: 22 October 2021; Published: 29 October 2021

RESUMEN

La neumonía es una causa importante de mortalidad global en los países desarrollados. La adecuación del tratamiento antibiótico es fundamental para la buena evolución de los pacientes. A la hora de seleccionar el antimicrobiano se debe considerar la gravedad del paciente, las características de los antibióticos y el perfil del paciente a tratar. Las recomendaciones para la selección del tratamiento antibiótico pueden diferir entre el paciente que requiere ingreso y el que puede ser tratado de forma ambulatoria. Los betalactámicos, las fluoroquinolonas y los macrólidos son los antimicrobianos más utilizados en esta última circunstancia. Sin embargo, no todos son iguales en términos de eficacia, seguridad e impacto ecológico. La presente revisión ahonda en los aspectos mencionados para mejorar la toma de decisiones y ofrece recomendaciones concretas para la selección del tratamiento antibiótico. Igualmente, recoge recomendaciones para la realización de terapia secuencial. Por último, se hace una breve reseña sobre el impacto de la infección por SARS-CoV-2 sobre esta patología.

Palabras clave: Neumonía adquirida en la comunidad, Terapia secuencial, Antibioterapia oral

Community-acquired pneumonia: selection of empirical treatment and sequential therapy. SARS-CoV-2 implications

ABSTRACT

Pneumonia is a major cause of global mortality in developed countries. The adequacy of the antibiotic treatment is essential for the good evolution of the patients. When selecting the antimicrobial, the severity of the patient, the characteristics of the antibiotics, and the profile of the patient to be treated should be considered. Recommendations for the selection of antibiotic treatment may differ between the patient who requires admission and the one who can be treated as out-patient. Beta-lactams, fluoroquinolones, and macrolides are the most widely used antimicrobials in this last circumstance. However, not all are the same in terms of efficacy, safety and ecological impact. This review delves into the aforementioned aspects to improve decision-making and offers concrete recommendations for the selection of antibiotic treatment. Likewise, it includes recommendations for performing sequential therapy. Finally, a brief review is made about the impact of SARS-CoV-2 infection on this pathology.

Keywords: Community-acquired pneumonia, Sequential therapy, Oral antibiotic therapy

INTRODUCCION

La neumonía es una causa importante de mortalidad global en los países desarrollados y la más frecuente de origen infeccioso, así como la primera causa de sepsis grave y shock séptico [1]. La incidencia de la neumonía se incrementa con la edad y se asocia a una elevada morbilidad y elevados costes sanitarios [2]. La valoración de los aspectos clínicos es clave para un correcto manejo inicial, la toma de decisiones clínicas y posterior planificación del plan de cuidados del anciano con neumonía. Se estima que la neumonía

Correspondencia:
Juan González del Castillo.
Servicio de Urgencias. Hospital Clínico San Carlos.
Calle Profesor Martín Lagos s/n
Madrid 28040
Tlf. 913303750 - Fax. 913303569
E-mail: jgonzalezcast@gmail.com

presenta una incidencia de 2-10 casos por 1.000 habitantes/año [1]. El riesgo se incrementa con el sexo, siendo más frecuentes en el varón, y dramáticamente con la edad [2]. Según los estudios europeos y norteamericanos alcanza una incidencia de 25-40 casos por 1.000 habitantes/año y un porcentaje mortalidad entre 7-35% en los pacientes de 65 años o más [3]. Esta vulnerabilidad incrementada con la edad es debida a las modificaciones fisiológicas de la respuesta inmunitaria que ocurren durante el envejecimiento y a una mayor carga de enfermedades crónicas asociadas que van siendo acumulativas con la edad [4,5].

La mortalidad global a 30 días es del 23% y al año del 28%, aunque depende de la edad y los factores de riesgo asociados, yendo del 1-2% en jóvenes sin comorbilidad hasta un 25-50% en los ancianos con un alto grado de comorbilidad y gravedad del episodio de neumonía [2]. La mortalidad a 30 días es tres veces mayor entre los mayores de 85 frente al grupo de pacientes entre 65-74 años [2]. Entre el 10% y el 20% de los pacientes hospitalizados requieren ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) [1]. La tasa de reingresos a 30 días es del 20% [6]. El coste del tratamiento está relacionado principalmente con la hospitalización del paciente, responsable del 80% de los recursos económicos destinados a esta patología [1].

A la hora de seleccionar nuestra prescripción debemos tener en cuenta fundamentalmente la etiología microbiana probable, la gravedad del paciente y las características de los posibles antibióticos a utilizar.

ETIOLOGÍA

El diagnóstico microbiológico es difícil de establecer incluso cuando se emplean métodos diagnósticos complejos e invasivos. La etiología suele ser monomicrobiana. De forma global, el agente más frecuente es *Streptococcus pneumoniae* (20-65%) [7], y siempre debe ser tenido en cuenta a la hora de establecer la cobertura antibiótica. Con el paso de la edad, disminuye la frecuencia de microorganismos denominados clásicamente como "atípicos" (*Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydia pneumoniae*) y se incrementa la incidencia de neumonía por *Haemophilus influenza* y bacilos gramnegativos [2]. En un menor porcentaje de los casos, puede aparecer los virus implicados (12-18%) y puede existir asociaciones de varios patógenos (8-14%) [7].

Se ha descrito que la etiología de la neumonía adquirida en la comunidad (NAC) está condicionada por la comorbilidad, la situación funcional basal, la gravedad del episodio agudo, los tratamientos antimicrobianos recibidos, el contacto con el sistema hospitalario o el lugar de residencia. Por tanto, también se recomienda realizar una aproximación etiológica según los factores de riesgo para microorganismos resistentes y el nivel de gravedad [8].

En referencia a la etiología viral, el virus influenza y respiratorio sincitial son los que causan mayor morbimortalidad en el anciano, con frecuencia en el contexto de brotes epidémicos en pacientes institucionalizados, y puede causar tanto neumo-

nías primarias virales como por sobreinfección bacteriana por *S. pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *H. influenzae*. Otros virus respiratorios, como parainfluenza, metapneumovirus, adenovirus, coronavirus y rinovirus son causa de infección respiratoria menos grave en el adulto inmunocompetente.

La epidemia de gripe estacional ocurre todos los años durante el invierno. La población susceptible a la infección disminuye en otoño debido a las campañas de vacunación y más tarde en invierno debido a la adquisición de inmunidad por infección natural. Las medidas no farmacológicas puestas en marcha por la pandemia por SARS-CoV-2, como la distancia social o el uso de mascarilla, han conseguido reducir la incidencia de gripe en la temporada 2020-2021. El relajamiento en estas medidas puede dar lugar, desde el punto de vista teórico, a que la próxima epidemia de gripe ocurra antes y con una incidencia mayor debido a la existencia de un porcentaje mayor de población susceptible ya que el pasado invierno no hubo circulación del virus de la Influenza y, por tanto, no se desarrolló inmunidad por vía natural [9].

Tabla 1 Condiciones clínicas y epidemiológicas relacionadas con microorganismos específicos.

Condición clínica o epidemiológica	Etiología
EPOC, tabaquismo	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>C. pneumoniae</i> , <i>L. pneumophila</i>
Bronquiectasias, fibrosis quística	<i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i>
Intoxicación por alcohol	<i>S. pneumoniae</i> , <i>K. pneumoniae</i> , anaerobios, <i>S. aureus</i>
Recluidos en prisión	<i>S. pneumoniae</i> , <i>M. tuberculosis</i>
Contacto con aves y animales de granja	<i>Chlamydia psittaci</i>
Contacto con conejos	<i>Coxiella burnetii</i>
Contacto con murciélagos o área endémica	<i>Histoplasma capsulatum</i>
Epidemia de gripe	Virus influenza, <i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>S. aureus</i>
Boca séptica, aspiración	Polimicrobiana, anaerobios
Infección por VIH avanzada	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>P. jirovecii</i> , <i>M. tuberculosis</i>
Usuarios de drogas intravenosas	<i>S. aureus</i> , anaerobios
Tratamiento esteroideo	<i>S. aureus</i> , <i>Aspergillus</i> spp, <i>L. pneumophila</i>
Comorbilidades (diabetes, enfermedad hepática, insuficiencia renal)	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , bacilos gramnegativos
Uso reciente de antibióticos	<i>S. pneumoniae</i> resistente, <i>P. aeruginosa</i>
Exposición a torres de refrigeración, aire acondicionado	<i>L. pneumophila</i>
Viaje al sudeste asiático	<i>B. pseudomallei</i> , gripe aviar

EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica

Por otro último, debemos recordar que existen una serie de condicionantes clínico-epidemiológicos que predisponen a los pacientes a padecer NAC por determinados agentes (Tabla 1).

Las neumonías pueden clasificarse en función del agente etiológico (neumonía neumocócica, neumonía estafilocócica, etc...) siendo poco práctico desde el punto de vista clínico ya que el patógeno causal generalmente no se conoce en el momento del diagnóstico y el tratamiento debe establecerse de manera empírica. En la práctica clínica resulta más útil tener en consideración otros aspectos como la inmunocompetencia del huésped, el lugar de adquisición, la presencia de factores de riesgo para microorganismos resistentes y el nivel gravedad del episodio agudo.

VALORACIÓN DE LA GRAVEDAD

La valoración de la gravedad es un procedimiento fundamental para diseñar el plan de cuidados individualizado del paciente con neumonía. Se han descrito diversos factores relacionados con la mortalidad, que incluyen la edad, la comorbilidad, la etiología microbiana y el tratamiento antibiótico adecuado administrado precozmente.

En la primera valoración del paciente se realizará una estratificación inicial de la gravedad en función del nivel de consciencia, la situación respiratoria y hemodinámica, comprobando la presencia de signos clínicos de gravedad y aunarlo con la situación médica, funcional y/o cognitiva basal de cara a la toma de medidas con carácter inmediato. Las quejas inespecíficas o la atipicidad clínica puede conllevar el ser clasificados con un nivel menor de gravedad en el triaje y una valoración médica inicial inadecuada en el Servicio de Urgencias siendo una de las principales razones del retraso en la administración precoz del antibiótico [10,11]. Se sabe que consecuencia de las modificaciones fisiológicas asociadas a la edad, los ancianos tienen menos frecuentemente fiebre, taquicardia y/o elevación de los leucocitos en comparación con los más jóvenes. Estos cambios pueden dificultar el diagnóstico clínico de sepsis condicionando un manejo terapéutico precoz adecuado. Un estudio reciente ha mostrado que la no alteración de las constantes vitales, como la frecuencia cardíaca y la temperatura, en los ancianos con sospecha de infección en el triaje retrasa el tiempo de administración de antibiótico y la probabilidad de ingreso hospitalario y en cuidados intensivos [12-14]. Por tanto, es clave la medición de la frecuencia respiratoria y la valoración del nivel de consciencia en un paciente con sospecha de infección ya que puede ser el único signo inicial indicativo de gravedad.

Se han publicado una serie de escalas pronósticas a corto plazo que son de ayuda para la valoración de la gravedad y, por tanto, para la toma de decisión de ingreso hospitalario. El Pneumoniae Severity Index (PSI) y el CURB-65 son escalas de estratificación del riesgo que muestran una capacidad predictiva similar para la mortalidad a los 30 días. No obstante, ambas tienen ciertas limitaciones. El PSI otorga un peso excesivo a la edad, relativo a la hipoxemia y no tiene en cuenta otros

factores asociados a resultados adversos como son la EPOC, la situación funcional, los factores sociales, la correcta ingesta oral del enfermo o la capacidad para un buen cumplimiento terapéutico. El CURB-65 presenta la limitación de no incluir en la valoración la hipoxemia y la situación funcional. De hecho, ciertos estudios han sugerido la oxigenación como el mejor indicador pronóstico en los ancianos. Ninguna de estas dos escalas son útiles para valorar la necesidad de ingreso en UCI. De cara a introducir en la práctica clínica escalas pronósticas es fundamental realizar un adecuado análisis de cómo se han elaborado para ver si representan a la población que atendemos y se ha elaborado de forma adecuada desde el punto de vista metodológico [17, 18].

De cara a la ayuda en la toma de decisión clínica de ingreso en UCI, se han desarrollado otras escalas como la Severity Community Acquired Pneumonia (SCAP), SMART-COP o ATS/IDSA [19-21]. La SCAP es una escala que permite identificar pacientes que precisan vigilancia y tratamiento más agresivo y es muy útil para determinar la mortalidad hospitalaria y/o la necesidad de ventilación mecánica o soporte inotrópico. SMART-COP nos ayuda a la decisión de un tratamiento más agresivo, aunque sin predecir necesariamente el ingreso en UCI. La mayoría de las Sociedades Científicas recomiendan los criterios ATS/IDSA de ingreso en UCI.

Además de las escalas señaladas, que confieren una valoración puntual y estática de la NAC, existen otros factores independientes y dinámicos que influyen en el pronóstico del paciente relacionados con la propia infección y la respuesta inflamatoria sistémica. Entre ellos cabe destacar la estimación de la probabilidad de bacteriemia, la existencia de sepsis o shock séptico como estadios de un proceso dinámico y la inclusión de los biomarcadores para colaborar en la toma de decisiones.

CARACTERÍSTICAS DE LOS ANTIBIÓTICOS

Las tres claves, para seleccionar el antibiótico oral adecuado en las infecciones respiratorias, son: 1) la efectividad, con el objetivo de lograr la máxima erradicación microbiológica utilizando el antibiótico con el espectro más restringido posible a los microorganismos más habitualmente aislados en este tipo de infección; 2) la seguridad, minimizando la probabilidad de aparición de efectos adversos relacionados con el antibiótico, especialmente aquellos más graves y 3) la microbiota, procurando tener el menor impacto posible sobre ella, ya que la pérdida de su diversidad conduce a una mayor vulnerabilidad a la infección y a la selección de resistencias [22].

Efectividad. En el tratamiento de una enfermedad infecciosa debemos intentar conseguir la erradicación microbiológica, para lo cual lo más conveniente es utilizar los antibióticos más activos frente a los posibles patógenos causales y los que mejor cumplan los parámetros PK/PD.

En la actualidad, cefditoreno, amoxicilina-clavulánico, moxifloxacino y levofloxacino poseen el espectro y las características PK/PD más adecuadas para el tratamiento de la NAC. Cefditoreno puede ser altamente eficaz en el tratamiento de

las infecciones respiratorias, al presentar un espectro antimicrobiano más ajustado a las necesidades de este modelo de infección que otras alternativas terapéuticas habituales, como amoxicilina-clavulánico o levofloxacino, pero logrando la misma o mayor tasa de erradicación que los comparadores. Respecto al espectro, engloba a los patógenos más frecuentes en la infección respiratoria comunitaria, con la excepción de los microorganismos atípicos (*Mycoplasma* spp., *Legionella* spp., *Chlamydia* spp.) [23-25].

La potencia de un antimicrobiano es el número de logaritmos de la microbiota bacteriana existente en el foco que el antibiótico es capaz de eliminar en un tiempo determinado. Se conviene en decir que un antibiótico es bactericida si su reducción bacteriana es de 103 logaritmos en 24 horas, y bacteriostático si es menor. Es un error frecuente confundir la potencia con el espectro (abanico de familias de bacterias sobre los que el citado antibiótico es efectivo). Consecuencia de este error, que impacta netamente en el nicho ecológico seleccionando por presión farmacológica el número de cepas resistentes, es elegir el antibiótico con el espectro más amplio sin pensar ni en su potencia ni en el impacto de selección bacteriana que genera en el entorno. Cefditoreno presenta una mayor actividad intrínseca que otros betalactámicos frente a la mayoría de las cepas de neumococo, independientemente de que sean sensibles o resistentes a la penicilina. Su actividad frente a *S. pneumoniae* es superior a la del resto de las cefalosporinas orales (cefaclor, cefuroxima y cefixima), cefotaxima, ceftriaxona y levofloxacino [26]. La actividad de cefditoreno frente a *H. influenzae* es también superior a la del resto de betalactámicos orales, y equiparable a la de levofloxacino.

La actividad bactericida es especialmente importante en el caso de infecciones graves o en pacientes con acúmulo de comorbilidades, de manera que se alcance lo antes posible la estabilidad clínica, intentando evitar la descompensación de la patología de base del paciente.

Seguridad. Los efectos adversos más habituales de los antibióticos betalactámicos son los de tipo gastrointestinal,

apareciendo con mayor frecuencia con la ampicilina dentro de las penicilinas, pero destacando sobre todo con el ácido clavulánico, en especial cuando se administran a dosis superiores a los 250 mg, algo que ocurre con la presentación disponible actualmente de amoxicilina-clavulánico de 875mg/125mg/8h.

En términos de seguridad, es importante recordar los recientes informes de posicionamiento de la Food and Drug Administration (FDA) y de la Agencia Europea del Medicamento (EMA) respecto al uso de fluoroquinolonas. Aunque poco frecuentes, los diversos efectos adversos descritos con esta familia de antibiótico pueden ser graves y permanentes, lo que ha conducido a las agencias reguladoras a recomendar no utilizar fluoroquinolonas cuando se disponen de otras alternativas terapéuticas [27].

Impacto ecológico. Por último, analizamos el impacto ecológico de los diferentes antibióticos, estudiando la afectación al microbioma tanto dentro (diseminación de resistencias) como fuera del foco de infección (microbiota intestinal principalmente, pero también en otras localizaciones).

Esos efectos sobre la microbiota pueden mantenerse mucho tiempo después de terminar el tratamiento antimicrobiano, incluso después de un ciclo corto [28]. Hasta la recuperación de la situación de la microbiota previa a la administración del antibiótico existe un periodo de riesgo en que: 1) existe una mayor susceptibilidad a la infección y a la diarrea; 2) un incremento en el riesgo de infecciones víricas; 3) selección de cepas resistentes al antibiótico administrado; 4) aumento de la transferencia de genes de resistencia que pueden persistir en ausencia de presión selectiva, aumentando la prevalencia de la resistencia a antibióticos con disminución de la posibilidad de éxito de siguientes tratamientos y consecuentemente aumentando los costes del proceso; y 5) incremento del riesgo de infección por *Clostridioides difficile*.

Ese periodo es distinto para cada clase de antibiótico pudiéndose entender que hay antibióticos más "ecológicos" que otros [28] (Figura 1). Las cefalosporinas orales tienen un menor

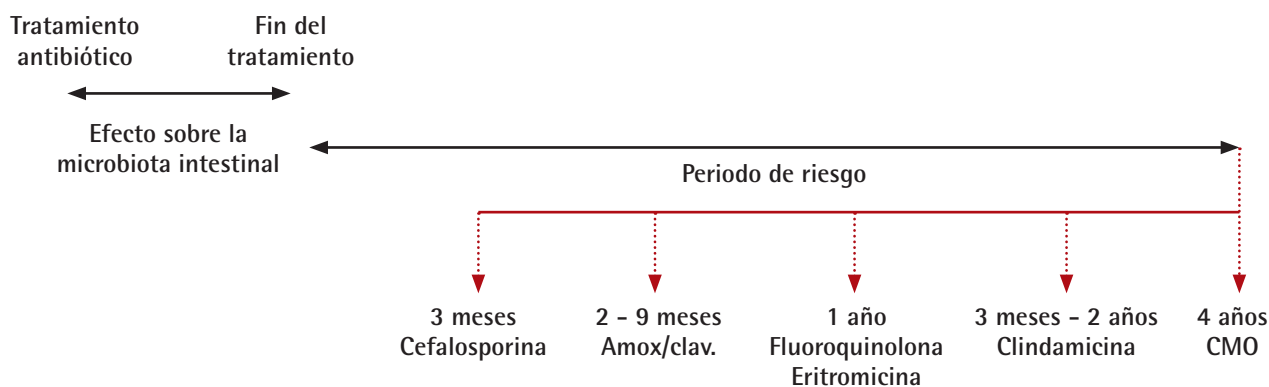


Figura 1 Impacto ecológico de los antibióticos sobre la microbiota.

Amox/clav: amoxicilina/clavulánico; CMO: claritromicina, metronidazol, omeprazol.

Tabla 2	Tratamiento antibiótico de la neumonía adquirida en la comunidad
TRATAMIENTO AMBULATORIO	
Cefditoreno (400mg/12h) o amoxicilina (1g/8h) o amoxicilina-clavulánico (875mg/125/8h) ± Azitromicina (500mg/24h 3-5 días)	
Alternativa ^a : Moxifloxacino (400mg/24h) o levofloxacino (500mg/12h, durante 24-72h, y posteriormente cada 24h)	
TRATAMIENTO HOSPITALIZADO	
Ceftriaxona iv (2g/24h) o amoxicilina-clavulánico iv (1-2g/8h) + Azitromicina iv (500mg/24h)	
Alternativa ^a : Moxifloxacino iv (400mg/24h) o levofloxacino iv (500mg/12h, durante 24-72h, y posteriormente cada 24h)	
TRATAMIENTO NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD GRAVE	
Ceftriaxona iv (2g/24 h) o cefotaxima iv (2g/6-8h) o amoxicilina-clavulánico iv (2g/8h) o ceftarolina (600mg/12h) + Azitromicina iv (500mg/24h) o moxifloxacino iv (400mg/24h) o levofloxacino iv (500mg/12h) ± Linezolid 600mg/12h ^b ± Oseltamivir 75mg/12h ^c	
TRATAMIENTO SOSPECHA DE PSEUDOMONAS	
Cefepima (2g/12h) o meropenem iv (1g/8h) o piperacilina-tazobactam iv (4/0,5g/6-8h) o ceftalozano-tazobactam (1-2g/0,5-1 cada 8h) o ceftazidima-avibactam (2g/0,5g/8h iv) + Levofloxacino iv (500mg/12h) o ciprofloxacino iv (400mg/8h) o tobramicina iv (6mg/Kg/24h) o amikacina iv (15mg/kg/24h) (plantear tratamiento nebulizado con aminoglucósidos o colistina)	
TRATAMIENTO SOSPECHA DE ASPIRACIÓN	
Ertapenem iv (1g/24h) o amoxicilina-clavulánico iv (2g/8h)	

^aFDA y EMA recomiendan evitar fluoroquinolonas si existe alternativa terapéutica debido a sus efectos adversos

^bSi factores de riesgo de riesgo de *S. aureus*.

^cValorar en caso de epidemia gripal en la comunidad.

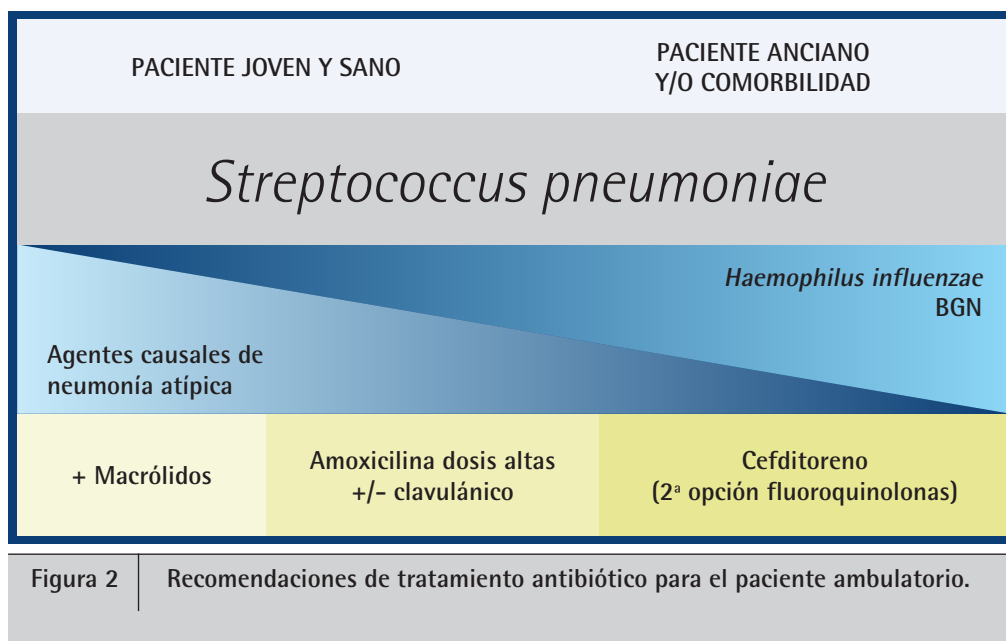
impacto ecológico que la amoxicilina-clavulánico o las fluoroquinolonas.

MANEJO TERAPÉUTICO

La dificultad en el diagnóstico etiológico hace que en la mayoría de las ocasiones se indique un tratamiento empírico. Las recomendaciones terapéuticas se establecen en general según clasificación del PSI o la CURB-65 y el destino del paciente decidido. Independientemente de la pauta y los antimicrobianos indicados, las primeras dosis adecuadas de antibiótico deberán administrarse siempre lo más precozmente posible en el propio SUH (de forma inmediata si existe sepsis o shock séptico), lo que disminuye la estancia hospitalaria y la mortalidad tanto en pacientes leves como en los que se presentan con

sepsis o con *shock* séptico [29,30]. El esquema terapéutico se resume en la Tabla 2.

Existe cierta controversia en relación al uso de terapia combinada en el paciente no grave. La SEPAR y el consenso GNAC realizado por varias sociedades coinciden en indicar la asociación de un betalactámico y un macrólido en lugar de la monoterapia [31, 32], tanto por las altas tasas de resistencia en nuestro país a los macrólidos, como por la prevalencia de bacterias atípicas y la mejor eficacia de esta asociación. Un metaanálisis destaca el escaso efecto beneficioso de los macrólidos en el tratamiento de los pacientes de menor gravedad. En el caso de la neumonía grave, el efecto del macrólido se ha mostrado beneficioso y el aspecto más debatido se centra en la duración necesaria cuando se utiliza en terapia combinada [22].



En el ámbito de la atención primaria, las recomendaciones de diferentes guías [32] abogan por el uso de terapia combinada solo cuando existen factores de riesgo para *L. pneumophila* [edad \geq 65 años, sexo masculino, inmunosupresión, incluida la ocasionada por fármacos (corticoides, terapia anti-TNF- α , quimioterapia), la asociada al trasplante de órganos, tumores hematológicos (leucemia de células pilosas), comorbilidad crónica múltiple (enfermedad cardíaca o pulmonar crónica, diabetes, insuficiencia renal terminal), sobrecarga de hierro, tabaquismo de larga evolución y abuso crónico de alcohol] [33-35]. La sospecha aumenta en una neumonía de rápida evolución hacia la gravedad en personas con algunas de estas características, o con independencia de la gravedad una neumonía que aparece en el contexto de un brote epidemiológico de legionelosis y existe riesgo de explosión ambiental (torres de enfriamiento para aire acondicionado, sistemas de agua fría y caliente, humidificadores e instalaciones de hidromasaje) [33,34].

Tratamiento ambulatorio. El 65% de los pacientes que acude a Urgencias por una patología infecciosa es dado de alta sin necesidad de ingreso hospitalario [36]. A la hora de la selección del tratamiento antibiótico oral debemos realizar las mismas consideraciones planteadas previamente. Los criterios de selección deben basarse en la sospecha etiológica, las características particulares del paciente (edad, comorbilidad) y en las características del antibiótico: espectro antibacteriano, índice de resistencias, actividad frente al patógeno, parámetros PK/PD, biodisponibilidad oral y tolerabilidad oral, comodidad posológica, seguridad e interacciones farmacológicas (Figura 2). Las cefalosporinas orales presentan la ventaja de los escasos efectos secundarios, la comodidad posológica y la buena tolerancia oral, pero debemos tener presente que no todas las cefalosporinas orales son iguales. Es importante señalar

las características diferenciadoras entre cefixima y cefuroxima con cefditoreno, para entender por qué este último es la única cefalosporina oral recomendada en las principales guías nacionales para el tratamiento de las infecciones respiratorias. Cefixima, posee escasa actividad frente a microorganismos grampositivos, motivo por el cual no debe ser utilizada en el tratamiento empírico de procesos como la NAC o la exacerbación de la EPOC, en los que el neumococo es uno de los agentes etiológicos principales. En cuanto a cefuroxima, se plantea el problema de su limitado perfil PK/PD en la infección pulmonar por *S. pneumoniae* que conlleva problemas de difusión al foco pulmonar [37]. De hecho, ninguna de estas dos cefalosporinas tiene indicación en su ficha técnica para el tratamiento de la NAC en adultos.

Tratamiento concomitante. En conjunción al tratamiento antibiótico se deben llevar a cabo otras medidas terapéuticas como la oxigenación adecuada, que incluye la valoración inicial de ventilación mecánica no invasiva especialmente en paciente con insuficiencia respiratoria global, el balance hídrico y la corrección de las alteraciones hidroelectrolíticas, el control glucémico, el manejo de las comorbilidades asociadas, el tratamiento de la desnutrición y la prevención de eventos tromboembólicos. Es muy importante la estimulación física y cognitiva de forma precoz en el paciente anciano. De hecho, se recomienda, incluso en el paciente ingresado, la movilización de forma precoz, a ser posible desde el primer día de ingreso, sentándolo un mínimo de 20 minutos fuera de la cama y aumentando posteriormente la movilización de forma progresiva [38-41].

Fallo terapéutico. El fracaso terapéutico se define como la ausencia de estabilidad clínica tras 3-4 días de tratamiento antibiótico o la aparición de deterioro clínico, insuficiencia res-

piratoria o shock séptico en las primeras 72 horas, y se asocia a un incremento de 5 veces en la mortalidad. Sin embargo, se puede tardar más tiempo en alcanzar la estabilidad clínica sin que esto implique un fracaso terapéutico en los ancianos con neumonía grave o presencia concomitante de EPOC grave o insuficiencia cardíaca descompensada.

Se han descrito como posibles causas de fracaso: las resistencias de los microorganismos al tratamiento antibiótico administrado, la implicación de patógenos no habituales en la etiología, la ausencia del control de la comorbilidad en el paciente o la existencia de un proceso concomitante no diagnosticado (embolia de pulmón, neoplasia de pulmón). Los factores de riesgo para que esta circunstancia concorra son la severidad inicial de la enfermedad, la presencia de comorbilidad significativa, la virulencia del microorganismo involucrado o la mala selección o dosificación del tratamiento antimicrobiano administrado.

En estas condiciones, se recomienda optar por un mejor control de la comorbilidad, consultar los estudios microbiológicos, evaluar la realización de nuevos estudios microbiológicos o la toma de muestras respiratorias con técnicas invasivas, solicitar nuevos estudios de imagen, evaluar la realización de estudios de inmunosupresión y considerar la ampliación del espectro antimicrobiano. Para ampliar el espectro antimicrobiano se debe reconsiderar los factores de riesgo que presente el paciente para patógenos no habituales o la posibilidad de infección por hongos, micobacterias, *Nocardia* spp. y otros patógenos no habituales. En pacientes con factores de riesgo de infección fúngica (EPOC grave, inmunodepresión grave, tratamiento con corticoides de larga evolución) y radiología compatible puede estar indicado el tratamiento empírico con voriconazol o anfotericina B liposomal [42]. De cara a la toma de decisiones siempre debe considerarse la situación basal funcional del paciente y su expectativa de supervivencia.

TERAPIA SECUENCIAL

La estabilización clínica se considera cuando se normalizan los signos vitales, el estado mental es normal o retorna a la condición basal y mejora el intercambio gaseoso disminuyendo los requerimientos de oxígeno. Los criterios que deben cumplir los pacientes para proceder al alta hospitalaria son: frecuencia cardíaca < 100 lpm, frecuencia respiratoria < 24 rpm, temperatura axilar < de 37,2°C, tensión arterial sistólica > de 90 mmHg, saturación de oxígeno > 90%, buen nivel de conciencia y tolerancia a la vía oral [43]. La mayoría de los pacientes con neumonía se suelen estabilizar clínicamente entre el tercer y cuarto día.

Tras alcanzar la estabilidad clínica se puede instaurar una terapia secuencial y, por tanto el cambio del antimicrobiano a la vía oral. Esto ha demostrado disminuir la estancia hospitalaria sin aumentar los riesgos para el enfermo [2]. La presencia de bacteriemia no parece ser un factor determinante para decidir prolongar el tratamiento antibiótico endovenoso una vez alcanzado los criterios de estabilidad.

Las ventajas de la instauración de la terapia secuencial son

la reducción de los costes del tratamiento antimicrobiano, la menor necesidad de accesorios y dispositivos para la preparación y administración del fármaco (agujas, equipos de infusión, jeringas, soluciones intravenosas, etc.), proporcionar al paciente mayor comodidad -movilidad e independencia-, la reducción de las complicaciones al disminuir la frecuencia de efectos adversos relacionados con la administración intravenosa, principalmente flebitis e infección nosocomial asociada a esta vía (bacteriemia secundaria, flebitis séptica), evitar la posibilidad de contraer cualquier tipo de infección nosocomial asociada a una larga hospitalización y la reducción de la estancia hospitalaria [44, 45].

Los objetivos de la terapia secuencial son reducir los riesgos y los costes inherentes a la administración parenteral de fármacos, mediante un procedimiento sistemático de intercambio a vía oral cuando las condiciones clínicas del paciente y la biodisponibilidad del fármaco lo permiten. La conversión del tratamiento parenteral a tratamiento oral debe realizarse lo antes posible, siempre que no se vea comprometida la respuesta terapéutica, y para ello, debe haberse producido una mejoría clínica inicial del paciente tratado. Al final del periodo de estado del proceso infeccioso tiene lugar la fase de estabilización clínica y éste será el momento óptimo para el inicio de la terapia secuencial sin riesgos para el paciente. No obstante, la decisión debe individualizarse y exige estabilidad hemodinámica, normalización o descenso de la temperatura, normalización o descenso de los marcadores de inflamación, tolerancia a la vía oral y que no exista compromiso en la absorción intestinal. Por último, debe existir un tratamiento oral adecuado al tipo de infección tratada.

Respecto a la selección del antimicrobiano adecuado, debe realizarse dependiendo de la posible etiología esperable (microorganismo causal), los patrones de sensibilidades y resistencias locales, las características PK/PD de cada familia y cada antibiótico, las situaciones epidemiológicas y las características particulares del paciente (edad, comorbilidad, contraindicaciones, historial alérgico, etc.).

Para que la terapia secuencial sea adecuada, conviene que los antibióticos orales sean de la misma familia que los endovenosos y, de hecho, la mayoría de los antibióticos usados en la NAC disponen de formulación intravenosa y oral (Tabla 3). En el caso de amoxicilina-clavulánico y fluoroquinolonas existen presentaciones del mismo antibiótico para ambas rutas.

Tabla 3

Tabla de equivalencias para la terapia secuencial el pacientes con neumonía adquirida en la comunidad.

Tratamiento endovenoso	Tratamiento oral
Amoxicilina-clavulánico	Amoxicilina-clavulánico/Cefditoreno
Fluoroquinolona	Fluoroquinolona
Macrólidos	Macrólidos
Cefalosporinas	Cefditoreno

No obstante, en el caso de la amoxicilina-clavulánico hay que considerar que el paso de una posología intravenosa a la formulación oral disponible (875 mg/125mg) implica un descenso de la dosis de amoxicilina, que quedaría dentro de la ventana de selección de resistencias y un incremento de clavulánico, por lo que puede ser también adecuado el realizar la terapia secuencial con cefditoreno. En el caso de las cefalosporinas intravenosas de 3ª generación, la terapia secuencial más adecuada es cefditoreno por presentar similar espectro y actividad intrínseca [22]. La cefixima no debe utilizarse en la terapia secuencial de la neumonía por su escasa actividad antineumocócica, al igual que la cefuroxima ya que no hay suficientes datos clínicos disponibles para apoyar esta indicación debido a que no alcanza niveles suficientes en tejido pulmonar.

Cefditoreno puede ser de utilidad tanto en el paso a terapia oral en régimen ambulatorio, como en los pacientes en régimen de hospitalización domiciliaria, ya que constituye la mejor sucesión a las cefalosporinas de tercera generación intravenosas (cefotaxima y ceftriaxona), por su similar espectro, mayor actividad intrínseca y cumplimiento del tiempo de concentración sérica por encima de la CMI. Así se refleja en el protocolo de tratamiento a domicilio endovenoso editado por la SEMI y la SEHAD, la guía de recomendaciones de la terapia secuencial antibiótica 2006 de la SEIMC, la Guía de la Sociedad Europea de Respiratorio del 2014 y en los últimos consensos de EPOC y NAC, entre otros documentos.

No obstante, el tratamiento secuencial no implica que deba realizarse con la formulación oral del antimicrobiano que se ha empleado por vía parenteral. Si no existe formulación oral, se emplea un antimicrobiano con un espectro equivalente. Además, se puede aprovechar la conversión a tratamiento oral para realizar un desescalamiento o reducción del espectro del tratamiento prescrito de forma empírica.

IMPLICACIONES DEL SARS-COV-2

Los pacientes con neumonía por COVID-19 tienen un elevado índice de ingreso hospitalario. Por datos indirectos, si tenemos en cuenta que la mortalidad de nuestra serie fue del 15.4%, podemos decir que la mortalidad en la neumonía por COVID-19 podría ser hasta un 50% superior a la neumonía de la comunidad [46].

Las diferentes escalas de riesgo utilizadas en NAC y mencionadas previamente, pueden no ser adecuadas para la estratificación del riesgo y tomar la decisión sobre el alta o ingreso del paciente. Existen diferencias entre la NAC y la neumonía por COVID19 que pueden implicar una evolución diferente.

Pronto durante la pandemia comenzaron a publicarse estudios que describían variables relacionadas con un incremento de la mortalidad [47, 48]. Posteriormente, se han publicado numerosos modelos de estratificación del riesgo presentados como herramientas de ayuda [17,49-53]. Estos modelos incluyen con frecuencia variables de signos vitales, edad, comorbilidad o hallazgos analíticos. La publicación de modelos de predicción para la COVID-19 sigue creciendo rápidamente en

la literatura científica, informando habitualmente de un rendimiento predictivo de moderado a excelente. Sin embargo, hay ya revisiones sistemáticas que ponen de manifiesto algunas limitaciones de los mismos [54]. Existen en ellos un riesgo alto o incierto de sesgo debido a una combinación del uso de datos retrospectivos con informes clínicos deficientes y una conducta metodológica deficiente.

Existe, por tanto, hasta este momento, dudas sobre su aplicabilidad en la práctica clínica habitual. Aún no se puede recomendar ninguno de ellos para un uso generalizado. No obstante, podrían ser una herramienta de ayuda en conjunción con el juicio clínico del profesional para tomar la mejor decisión para el sistema sanitario, evitando costes e ingresos innecesarios, pero también conjugándolo con la seguridad del paciente, evitando las altas inadecuadas con resultados clínicos negativos. Los estudios futuros deberían centrarse en validar, comparar, mejorar y actualizar los modelos de predicción disponibles.

En cuanto a la prescripción de tratamiento antibiótico en la neumonía por SARS-CoV-2, se sabe que es muy poco frecuente la sobreinfección bacteriana cuando el paciente se presenta en el servicio de urgencias, por lo que de manera general no esta recomendada su prescripción. No obstante, pueden existir condicionantes como la concurrencia de EPOC exacerbado con purulencia del esputo o un nivel de procalcitonina > 1 mg/mol que en función de la gravedad del paciente pueden llevar a su administración. En este caso, la pauta a seguir en la selección de la antibioterapia es la misma que la mencionada en el presente artículo.

CONFLICTOS DE INTERES

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

BIBLIOGRAFÍA

1. Cavallazzi R, Furmanek S, Arnold FW, Beavin LA, Wunderink RG, Niederman MS, et al. The Burden of Community-Acquired Pneumonia Requiring Admission to ICU in the United States. *Chest*. 2020;158(3):1008-1016. doi: 10.1016/j.chest.2020.03.051.
2. González-Castillo J, Martín-Sánchez FJ, Llinares P, Menéndez R, Muijal A, Navas E, et al; Spanish Society of Emergency Medicine and Emergency Care; Spanish Society of Geriatrics and Gerontology; Spanish Society of Chemotherapy; Spanish Society of Pneumology and Thoracic Surgery; Spanish Society of Home Hospitalization. Guidelines for the management of community-acquired pneumonia in the elderly patient. *Rev Esp Quimioter*. 2014;27(1):69-86. PMID: 24676248.
3. Peyrani P, Arnold FW, Bordon J, Furmanek S, Luna CM, Cavallazzi R, et al. Incidence and Mortality of Adults Hospitalized With Community-Acquired Pneumonia According to Clinical Course. *Chest*. 2020;157(1):34-41. doi: 10.1016/j.chest.2019.09.022.

4. Martín-Rodríguez F, Sanz-García A, Ortega Moreno L, del Pozo Vegas C, Castro-Villamor MA, Martín-Conty JL, et al. Modelo de riesgo de mortalidad precoz en pacientes ancianos con enfermedad aguda atendidos por servicios de emergencias prehospitalarias. *Emergencias*. 2020;32:177-84. PMID: 32395925
5. Taladriz-Sender I, Muñoz-García M, Montero-Errasquin B, Montero-Llorente B, Espadas-Hervás N, Delgado-Silveira E. Gravedad de los errores de conciliación producidos en el servicio de urgencias en pacientes ancianos. *Emergencias*. 2020;32:188-90. PMID: 32395927
6. Gutiérrez Gabriel S, Domínguez García MJ, Pérez Mañas G, Moreno García N, Silvan Domínguez M, Andrés EM. Marcadores y seguimiento tras alta de urgencias en neumonías COVID-19. *Emergencias*. 2021;33:174-80. PMID: 33978330
7. Jain S, Self WH, Wunderink RG, Fakhran S, Balk R, Bramley AM, et al; CDC EPIC Study Team. Community-Acquired Pneumonia Requiring Hospitalization among U.S. Adults. *N Engl J Med*. 2015;373(5):415-27. doi: 10.1056/NEJMoa1500245.
8. Shorr AF, Zilberberg MD, Reichley R, Kan J, Hoban A, Hoffman J, et al. Validation of a clinical score for assessing the risk of resistant pathogens in patients with pneumonia presenting to the emergency department. *Clin Infect Dis*. 2012;54(2):193-8. doi: 10.1093/cid/cir813.
9. Sanz-Muñoz I, Tamames-Gómez S, Castrodeza-Sanz J, Eiros-Bouza JM, de Lejarazu-Leonardo RO. Social Distancing, Lockdown and the Wide Use of Mask; A Magic Solution or a Double-Edged Sword for Respiratory Viruses Epidemiology? *Vaccines (Basel)*. 2021;9(6):595. doi: 10.3390/vaccines9060595.
10. Carbó M, Fresco L, Osorio G, Monclús E, Ortega M. Factores predictivos de mortalidad en los pacientes con sepsis y un valor del indicador 'Quick Sequential Organ Failure Assessment' (qSOFA) de 2 o 3 puntos atendidos en un servicio de urgencias. *Emergencias*. 2020;32:169-76. PMID: 32395924
11. Leey Echavarría C, Zorrilla-Riveiro J, Arnau A, Jaén-Martínez L, Lladó-Ortiz D, Gené E. Predicción de ingreso hospitalario en los pacientes con bajo nivel de prioridad de triaje atendidos en un servicio de urgencias. *Emergencias*. 2020;32:395-402. PMID: 33275359
12. Montero Pérez J, Lucena Aguilera C, González Jurado MC, Gracia Sabada MJ, Calderón de la Barca Gázquez JM, Jiménez Murillo LM. Implantación del Sistema Español de Triage (SET) en los servicios de urgencias generales de los hospitales públicos de Andalucía (España). *Emergencias*. 2020;32:314-9. PMID: 33006831
13. García-Martínez A, Carbó M, Aniyar V, Antolín A, Miró O, Gómez-Angelats E. Infratriaje en urgencias de pacientes que precisan ingreso directo en cuidados intensivos por enfermedades médicas: impacto en el pronóstico y factores asociados. *Emergencias*. 2021;33:361-7. PMID: 34581529
14. Arévalo-Buitrago P, Morales-Cané I, Olivares Luque E, Guler I, Rodríguez-Borrego MA, López-Soto PJ. Capacidad predictiva de las escalas de alerta temprana en los servicios de urgencias hospitalarios: revisión sistemática y metanálisis. *Emergencias*. 2021;33:374-81. PMID: 34581531
15. Fine MJ, Auble TE, Yealy DM, Hanusa BH, Weissfeld LA, Singer DE, et al. A prediction rule to identify low-risk patients with community-acquired pneumonia. *N Engl J Med*. 1997;336(4):243-50. doi: 10.1056/NEJM199701233360402.
16. Lim WS, van der Eerden MM, Laing R, Boersma WG, Karalus N, Town GI, Lewis SA, Macfarlane JT. Defining community acquired pneumonia severity on presentation to hospital: an international derivation and validation study. *Thorax*. 2003;58(5):377-82. doi: 10.1136/thorax.58.5.377.
17. González Del Castillo J. Claves en la interpretación de los modelos pronóstico en el paciente con COVID-19. *Emergencias*. 2021;33:251-3. PMID: 34251137
18. Julián-Jiménez A, Iqbal-Mirza SZ, de Rafael González E, Estévez-González R, Serrano-Romero de Ávila V, Heredero-Gálvez E, et al. Modelo 5MPB-Toledo para predecir bacteriemia en los pacientes atendidos por infección en el servicio de urgencias. *Emergencias*. 2020;32:81-9. PMID: 32125106
19. España PP, Capelastegui A, Gorordo I, Esteban C, Oribe M, Ortega M, et al. Development and validation of a clinical prediction rule for severe community-acquired pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;174(11):1249-56. doi: 10.1164/rccm.200602-1770C.
20. Charles PG, Wolfe R, Whitby M, Fine MJ, Fuller AJ, Stirling R, et al; Australian Community-Acquired Pneumonia Study Collaboration, Grayson ML. SMART-COP: a tool for predicting the need for intensive respiratory or vasopressor support in community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis*. 2008;47(3):375-84. doi: 10.1086/589754.
21. Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, Bartlett JG, Campbell GD, Dean NC, et al; Infectious Diseases Society of America; American Thoracic Society. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis*. 2007;44 Suppl 2(Suppl 2):S27-72. doi: 10.1086/511159.
22. Menéndez R, Cantón R, García-Caballero A, Barberán J. Tres claves para seleccionar el antibiótico oral adecuado en las infecciones respiratorias [Three keys to the appropriate choice of oral antibiotic treatment in the respiratory tract infections]. *Rev Esp Quimioter*. 2019;32(6):497-515. PMID: 31795630
23. Eiros Bouza JM, Valdés L, Bachiller MR. Contribución de la farmacodinamia en la elección del antimicrobiano para las exacerbaciones de la EPOC. *Rev Esp Quimioter* 2006;19:220-30. PMID: 17099790
24. Rodríguez González-Moro JM, Izquierdo Alonso JL. Tratamiento antibiótico oral de la exacerbación de la EPOC. Más allá de la COVID-19. *Rev Esp Quimioter*. 2021 34(5):429-440. doi: 10.37201/req/125.2021.
25. Fritsche TR, Biedendach DJ, Jones RN. Update of the activity of cefditoren and comparator oral beta-lactam agents tested against community-acquired *Streptococcus pneumoniae* isolates (USA, 2004-2006). *J Chemother* 2008;20:170-4. doi: 10.1179/joc.2008.20.2.170.
26. Cantón R, Morosini M, Loza E, Gomez G, de la Pedrosa EGG. Infecciones comunitarias. Patrones de sensibilidad a los antimicrobianos utilizados por vía oral de los microorganismos más comunes. *Rev*

- Clin Esp. 2008;208:S3-11.
27. European Commission, «Quinolone and fluoroquinolone Article-31 referral -Disabling and potentially permanent side effects lead to suspension or restrictions of quinolone and fluoroquinolone antibiotics,» 11 03 2019. [En línea]. Available: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2019/20190311143277/anx_143277_es.pdf. [Último acceso: 05 10 2021].
 28. Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, Jansson JK. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology (Reading)*. 2010;156(11):3216-3223. doi: 10.1099/mic.0.040618-0.
 29. González-Del Castillo J, Domínguez-Bernal C, Gutiérrez-Martín MC, Núñez-Orantos MJ, Candel FJ, Martín-Sánchez FJ. Effect of the inadequacy of antibiotic therapy in the Emergency Department on hospital stays. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2017;35(4):208-213. doi: 10.1016/j.eimc.2015.10.005.
 30. Freund Y, Philippon AL. Pacientes infectados en el servicio de urgencias: ¿qué debemos detectar?. *Emergencias*. 2020;32:75-6. PMID: 32125103
 31. Menéndez R, Cilloniz C, España PP, Almirall J, Uranga A, Méndez R, Rigau D, Torres A. Community-Acquired Pneumonia. Spanish Society of Pulmonology and Thoracic Surgery (SEPAR) Guidelines. 2020 Update. *Arch Bronconeumol*. 2020;56 Suppl 1:1-10. doi: 10.1016/j.arbres.2020.01.014.
 32. Torres A, Barberán J, Falguera M, Menéndez R, Molina J, Olachea P, et al; Grupo de la Guía Multidisciplinar para el Manejo de la Neumonía Adquirida en la Comunidad. Guía multidisciplinar para la valoración pronóstica, diagnóstico y tratamiento de la neumonía adquirida en la comunidad [Multidisciplinary guidelines for the management of community-acquired pneumonia]. *Med Clin (Barc)*. 2013;140(5):223.e1-223.e19. doi: 10.1016/j.medcli.2012.09.034.
 33. Lanternier F, Ader F, Pilms B, Catherinot E, Jarraud S, Lortholary O. Legionnaire's Disease in Compromised Hosts. *Infect Dis Clin North Am*. 2017;31(1):123-135. doi: 10.1016/j.idc.2016.10.014.
 34. Burillo A, Pedro-Botet ML, Bouza E. Microbiology and Epidemiology of Legionnaire's Disease. *Infect Dis Clin North Am*. 2017;31(1):7-27. doi: 10.1016/j.idc.2016.10.002.
 35. Htwe TH, Khardori NM. Legionnaire's Disease and Immunosuppressive Drugs. *Infect Dis Clin North Am*. 2017;31(1):29-42. doi: 10.1016/j.idc.2016.10.003.
 36. Martínez Ortiz de Zárate M, González Del Castillo J, Julián Jiménez A, Piñera Salmerón P, Llopis Roca F, Guardiola Tey JM, et al. Estudio INFURG-SEMES: epidemiología de las infecciones atendidas en los servicios de urgencias hospitalarios y evolución durante la última década. *Emergencias*. 2013; 25:368-78
 37. Thønnings S, Jensen KS, Nielsen NB, Skjønnemand M, Hansen DS, Lange KHW, et al. Cefuroxime pharmacokinetics and pharmacodynamics for intravenous dosage regimens with 750 mg or 1500 mg doses in healthy young volunteers. *J Med Microbiol*. 2020;69(3):387-395. doi: 10.1099/jmm.0.001138.
 38. Thiem U, Heppner HJ, Pientka L. Elderly patients with community-acquired pneumonia: optimal treatment strategies. *Drugs Aging*. 2011;28(7):519-37. doi: 10.2165/11591980-000000000-00000.
 39. Fung HB, Monteagudo-Chu MO. Community-acquired pneumonia in the elderly. *Am J Geriatr Pharmacother*. 2010;8(1):47-62. doi: 10.1016/j.amjopharm.2010.01.003.
 40. Torres OH, Gil E, Pacho C, Ruiz D. Actualización de la neumonía en el anciano [Update of pneumonia in the elderly]. *Rev Esp Geriatr Gerontol*. 2013;48(2):72-8. doi: 10.1016/j.regg.2012.06.001.
 41. Mundy LM, Leet TL, Darst K, Schnitzler MA, Dunagan WC. Early mobilization of patients hospitalized with community-acquired pneumonia. *Chest*. 2003;124(3):883-9. doi: 10.1378/chest.124.3.883.
 42. Barberán J, Candel FJ, Arribi A. How should we approach *Aspergillus* in lung secretions of patients with COPD? *Rev Esp Quimioter*. 2016;29(4):175-82. PMID: 27174077
 43. Halm EA, Fine MJ, Marrie TJ, Coley CM, Kapoor WN, Obrosky DS, Singer DE. Time to clinical stability in patients hospitalized with community-acquired pneumonia: implications for practice guidelines. *JAMA*. 1998;279(18):1452-7. doi: 10.1001/jama.279.18.1452.
 44. Candel FJ, Julián-Jiménez A, González-Del Castillo J. Current status in outpatient parenteral antimicrobial therapy: a practical view. *Rev Esp Quimioter*. 2016;29(2):55-68. PMID: 27014770.
 45. Ramos Lázaro J, Chico C, Jove N, Blázquez Fernández AB, Fernández Monasterio MM, Smithson A. Tratamiento antimicrobiano domiciliario endovenoso en hombres con infección del tracto urinario febril: diferencias entre el modelo de evitación de ingreso y el de alta precoz hospitalaria. *Emergencias*. 2021;33:399-402. PMID: 34581537
 46. Gil-Rodrigo A, Miró O, Piñera P, Burillo-Putze G, Jiménez S, Martín A, et al. 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;32:233-41. PMID: 32692000
 47. Miró O, González Del Castillo J. Colaboración entre servicios de urgencias españoles para fomentar la investigación: a propósito de la creación de la red SIESTA (Spanish Investigators on Emergency Situations TeAm) y de la coordinación del macroproyecto UMC-19 (Unusual Manifestations of C. *Emergencias*. 2020;32:269-77. PMID: 32692004
 48. Julián-Jiménez A, García DE, González Del Castillo J, Penna Guimaraes H, García-Lamberechts EJ, Menéndez E, et al. Puntos clave sobre la COVID-19 en los servicios de urgencias: propuestas de mejora para su atención en Latinoamérica. *Emergencias*. 2021;33:42-58. PMID: 33496399
 49. Berenguer J, Borobia AM, Ryan P, Rodríguez-Baño J, Bellón JM, Jarrín I, et al; COVID-19@Spain and COVID@HULP Study Groups. Development and validation of a prediction model for 30-day mortality in hospitalised patients with COVID-19: the COVID-19 SEIMC score. *Thorax*. 2021;tho-raxjnl-2020-216001. doi: 10.1136/thoraxjnl-2020-216001.
 50. Knight SR, Ho A, Pius R, Buchan I, Carson G, Drake TM, et al; ISARIC4C investigators. Risk stratification of patients admitted to hospital with COVID-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol: development and validation of the 4C Mortality Score. *BMJ*. 2020;370:m3339. doi: 10.1136/bmj.m3339.
 51. López-Izquierdo R, Ruiz Albi T, Bermejo-Martín JF, Almansa R, Vi-

- Ilafañe Sanz FV, Arroyo Olmedo L, et al. Modelos de riesgo para la predicción de mortalidad hospitalaria en ancianos con neumonía por COVID-19. *Emergencias*. 2021;33:282-91. PMID: 34251141
52. Martín-Rodríguez F, Sanz-García A, Alberdi Iglesias A, Ortega Rab-bione G, del Pozo Vegas C, de la Torre-Díez I, et al. Modelo de ries-go de mortalidad en pacientes con sospecha de enfermedad por COVID-19 basado en información del centro coordinador de ur-gencias. *Emergencias*. 2021;33:264-72. PMID: 34251139
53. García-Martínez A, López-Barbeito B, Coll-Vinent B, Placer A, Font C, Vargas CR, et al. Análisis de mortalidad de los pacientes atendi-dos por COVID-19 en el servicio de urgencias de un hospital de ter-cer nivel en la fase inicial de la pandemia. Derivación de un modelo de riesgo para urgencias. *Emergencias*. 2021;33:273-81. PMID: 34251140
54. Wynants L, Van Calster B, Collins GS, Riley RD, Heinze G, Schuit E, et al. Prediction models for diagnosis and prognosis of CO-VID-19 infection: systematic review and critical appraisal. *BMJ*. 2021;372:n23. doi: 10.1136/bmj.m1328.

Jesus Ruiz-Ramos¹
Emili Vallvé Alcón²
Francisco Moreno Ramos³
Rosario Santolaya-Perrin⁴
Jose María Guardiola Tey⁵

Antimicrobial stewardship programs in emergency departments: how do we measure antimicrobial use? A systematic review

¹Pharmacy Department, Hospital Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain.

²Pharmacy Department, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain

³Pharmacy Department, Hospital Universitario La Paz, Madrid, Spain

⁴Pharmacy Department, Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares, Spain.

⁵Emergency Department, Hospital Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain.

Article history

Received: 4 February 2021; Revision Requested: 25 March 2021; Revision Received: 10 May 2021; Accepted: 26 July 2021;
Published: 15 September 2021

ABSTRACT

Objectives. The implementation of antimicrobial stewardship programs (ASPs) has become a usual practice in hospital settings. However, the method for monitoring antimicrobial use in accident and emergency departments (ED) is not yet adequately defined. Thus, the objective of this review is to describe antimicrobial use indicators used by ASPs implemented in ED.

Material and methods. A systematic review was performed based on studies found in the following academic research databases: MEDLINE, EMBASE, Web of Science, and Scopus (Period: January 2000 to December 2019). Controlled clinical trials, before-and-after studies, interrupted time series, and repeated measures studies assessing the impact of ASPs on antimicrobial use in ED were included; studies published in languages other than English or Spanish were excluded from this review.

Results. Twenty-six studies met the inclusion criteria and were included in this systematic review. In total, 15 (62.5%) studies described the ASP team members who collaborated with the ED staff. Most (21; 80.8%) studies used the percentage of patients with an antibiotic prescription as an indicator. Four (15.4%) studies included defined daily dose data. The antibiotic treatment duration was reported in four (15.4%) studies. Only two studies assessed the impact of the ASP using microbiological indicators, both of which used the incidence of infection with *Clostridioides difficile* as the indicator.

Conclusions. The reports of experiences in implementing ASPs in ED show heterogeneous antimicrobial use indicators,

which makes it difficult to compare results. Therefore, antimicrobial use indicators for ASPs must be standardised between hospital units.

Key words: Antimicrobial stewardship; antibiotic, emergency care, infection

Programas de optimización de uso de antimicrobianos en los servicios de urgencias: ¿cómo medimos el uso de antimicrobianos? Una revisión sistemática

RESUMEN

Objetivos. La implantación de programas de optimización de antimicrobianos (PROA) se ha convertido en una práctica asistencial habitual en el medio hospitalario. No obstante, la metodología para monitorizar el uso de antimicrobianos en los servicios de urgencias no están aún adecuadamente definidas. El objetivo de esta revisión es describir los indicadores de uso de antimicrobianos utilizados por los programas PROA implantados en los servicios de Urgencias.

Material y métodos. Se realizó una revisión sistemática en base a los resultados obtenidos en las siguientes bases bibliográficas: MEDLINE, EMBASE, Web of Science y Scopus. El periodo de búsqueda abarcó desde Enero de 2000 a Diciembre de 2019. Se incluyeron ensayos clínicos controlados, estudios antes-después, estudios de series de tiempo interrumpido y los estudios de medidas repetidas que evaluaron las intervenciones de los programas PROA en los servicios de urgencias sobre el impacto del consumo de antimicrobianos. Se excluyeron los estudios publicados en otros idiomas además del inglés o español.

Resultados. 26 estudios cumplieron los criterios y se incluyeron en la revisión sistemática. En 15 (62,5%) de los estudios incluyeron en su descripción los componentes del equipo PROA que colaboraron junto con el del equipo de urgencias.

Correspondence:

Jesus Ruiz

Pharmacy Department, Hospital Santa Creu i Sant Pau. C/San Quintín 89, 08041 Barcelona, Spain.. Phone: +34-932919000 (Ext: 1887)

E-mail: jruizr@santpau.cat

La mayor parte de los estudios utilizaron el porcentaje de pacientes con prescripción de antibióticos como indicador, estando presente en 21 (80,8%) de los estudios publicados. Cuatro (15,4%) de los estudios incluyeron datos en Dosis Diarias Definidas (DDD). La duración del tratamiento antibiótico fue recogida en cuatro (15,4%) de los estudios. Únicamente dos estudios evaluaron el impacto del programa con indicadores microbiológicos, siendo en ambos casos la incidencia de infección por *Clostridioides difficile* el indicador utilizado.

Conclusiones. Las experiencias descritas de implantación de programas PROA en los servicios de urgencia presenta indicadores de uso de antimicrobianos heterogéneos, que dificultan la comparación de resultados. Es necesario estandarizar los indicadores de optimización de uso de antimicrobianos en estas unidades.

Palabras clave: optimización de uso de antimicrobianos, Antibióticos, urgencias, infección

INTRODUCTION

The increase in antibiotic resistance observed in recent decades has had a significant effect on healthcare systems worldwide [1]. Infections caused by multiresistant microorganisms are associated with higher mortality and longer hospital stay, as well as with a significant increase in healthcare costs [2]. Excessive or inappropriate antimicrobial use is known to have helped generate and perpetuate these multi-resistant strains [3]. Therefore, in recent decades, antimicrobial stewardship programs (ASPs) have become a priority for health authorities to minimise the expansion and number of infections caused by multi-resistant bacteria [4,5].

The application of ASPs in hospital settings has reduced antimicrobial consumption and improved the clinical outcomes of patients [6], albeit with a still unknown impact on resistance reduction [7,8] and the implementation of these programs is strongly recommended by various scientific societies [9-13].

Most experiences of such programs described in the literature thus far have focused on hospitalised patients, particularly critically ill patients, and more recently on primary care settings [6]. Emergency departments (ED) are one of the most important services where these programs can be implemented as they are the site of prescription of the first doses of antibiotics in hospitals and of a large number of antibiotics for patients discharged directly to their homes or other healthcare centres. Although the guidelines for the implementation of ASPs recognise that ED are the preferred sites for these programs, the participation of multidisciplinary teams in these hospital units is still low [14]. In turn, the indicators used to monitor antibiotic use lack uniformity. On the other hand, clinical outcomes related to an appropriate antibiotic use, such as mortality or length of hospital stay, are difficult to relate directly to the actions carried out in these units. The primary objective of this review is to identify antimicrobial use indicators used by ASPs in ED, and the secondary objectives are to de-

scribe the methods, healthcare professionals involved in these programs, and clinical and microbiological indicators that are used with consumption indicators in these hospital units.

MATERIAL AND METHODS

A systematic review was conducted based on published articles. Due to the variability in the methods, design, and results of the studies found in the literature, the indicators of both antimicrobial consumption and clinical and microbiological results, as well as the methods used in these studies, are summarised descriptively.

Data source and search strategy. Searches were performed in the following databases from January 2000 to December 2019 MEDLINE, Web of Science, Scopus and EMBASE. The following search terms were used in those databases: antibiotic AND (stewardship OR audit OR restriction OR decision support OR education OR guideline OR policy OR control OR de-escalation) AND (emergency department OR emergency service). Full-text, brief communications, and letters to the editor on randomised and non-randomised and controlled clinical trials, non-controlled before-and-after studies, interrupted time series, and repeated measures studies were included in this review. The exclusion criteria were studies outside the scope of the ED and studies without antimicrobial use measures. Studies published in languages other than English or Spanish were also excluded from this review.

The following variables were collected from each manuscript: country and year of publication; study design; group of patients or antimicrobials targeted by the ASP team; and clinical, microbiological, and antimicrobial consumption indicators. When requiring additional information regarding the manuscripts, the original authors of the corresponding articles were contacted to gather necessary data.

All indicators that reflected the variation in antimicrobial consumption before and after intervention were considered antimicrobial use indicators. The rates of infection with *Clostridioides difficile*, as well as variations in the rates of antimicrobial resistance and infection or colonisation with multidrug-resistant bacteria, were considered microbiological indicators. The following clinical outcomes were analysed: mortality, mean length of stay (both in the ED and in hospital), revisits, and adverse events.; whether the studies assessed the effect of ASPs on health costs was also recorded.

Similarly, the work method was analysed, including prospective audit and feedback systems, formulary restrictions, application and compliance with internal clinical guidelines, treatment-shortening regimens, interventions in specific infections, dose-optimisation programmes, switch therapy from intravenous to oral route, computer support systems, review of microbiological records on discharge, pharmacokinetic monitoring, rapid diagnostic tests, training programmes, and specific interventions for allergies [9,11,15,16].

Study selection and data extraction. Two clinical pharmacists with training and experience in the implementation

of ASPs and ED care independently examined all titles and abstracts retrieved during the literature search. In texts over which the two specialists disagreed, a third specialist was included to reach a consensus decision after discussion the study with the other researchers.

RESULTS

A total of 8,451 references were found in the initial search. After applying the inclusion and exclusion criteria, 26 articles were included in the systematic review (Figure 1). Among the selected studies, four (15.4%) were controlled clinical trials, with 10 (38.5%) time series and 12 (45.1%) before-and-after studies. The median intervention period was 12 months (Range: 3 months–5 years). Table 1 outlines the characteristics of the studies selected for analysis, which are detailed in Table 1S-Supplementary material.

Team members. In total, 15 (62.5%) studies described the ASP team members who collaborated with the ED staff. The ASP team included an infectologist in eight (30.8%), a pharmacist in 11 (42.5%), the microbiology department in four (15.4%), the informatic department team in two (7.7%), and other staff in two (7.7%) studies. Nursing staff participation was described in five (19.2%) studies.

Method and performance targets. Most studies (21; 80.8%) reported training sessions as one of the strategies of the programmes, and these training sessions were the only

measure described in three (11.5%) studies. The implementation of local and national guidelines/protocols was reported in 16 (61.5%) studies. In 10 (38.4%) studies, prospective audit and feedback systems were established for the prescribers. Other measures included the establishment of a consulting system (2; 7.7%), implementation of a computer support system (3; 11.5%), review of microbiological records on discharge (1; 3.8%), and formulary restrictions (1; 3.8%).

Respiratory tract infections were the main target of ASP teams, being their objective in 13 (50.0%) studies, of which six (23.1%) exclusively included a paediatric population. Urinary tract infections were the second most common infection targeted by ASPs, being present in five (19.2%) studies. Five (19.2%) studies targeted all patients on antibiotic treatment.

Consumption indicators. The different indicators used in the studies are outlined in Table 2. The percentage of patients with an antibiotic prescription was the most widely used indicator, being used in 21 (80.8%) of the published studies. Four (15.4%) studies included defined daily dose (DDD) data, adjusted for the number of stays in three (11.5%) studies and for the number of admissions in one. The duration of the antibiotic treatment was recorded in four (15.4%) studies, being adjusted for the number of stays in two (7.7%) and expressed as days of treatment (DOT) in one of the studies. Four (15.4%) studies evaluated antimicrobial spending after the implementation of the programmes.

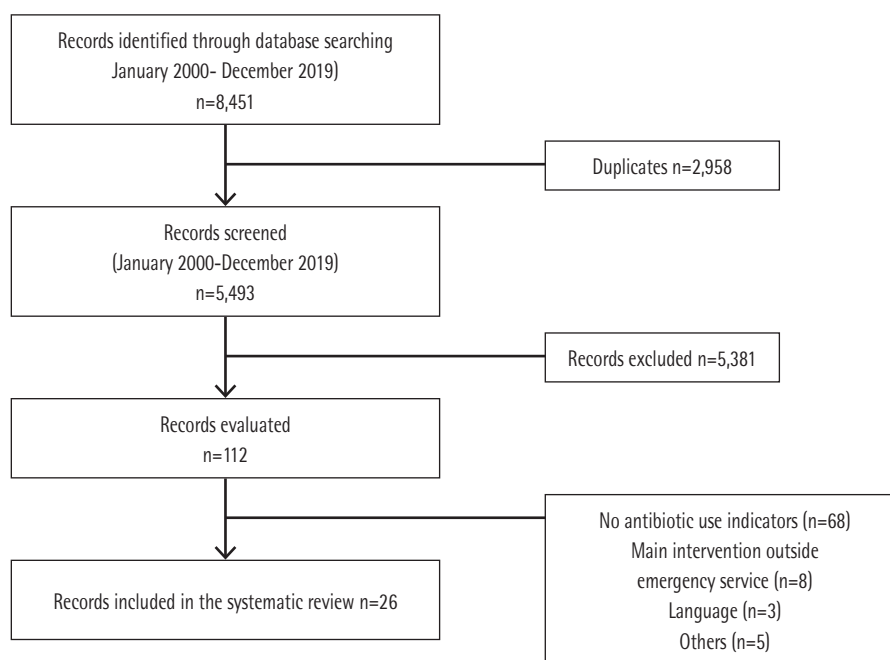


Figure 1 Study selection flow-chart

Table 1 Characteristics of the studies included in the analysis.

Design	
Randomized trial with control group	4 (15.4%)
Time series study	10 (38.5%)
Retrospective before-after study	12 (46.1%)
Studies in paediatric patients	8 (30.7%)
Target of intervention	
All patients with antibiotics	5 (19.2%)
Respiratory infections	13 (50.0%)
Urinary-tract infections	4 (15.4%)
Otitis	1 (3.8%)
Quinolones	1 (3.8%)
Vancomycin	1 (3.8%)
Sepsis	1 (3.8%)
Participants	
Without description	11 (42.3%)
Infectologists	8 (30.7%)
Pharmacists	11 (42.3%)
Microbiologist	4 (15.4%)
Informatic	2 (7.7%)
Nursing	5 (19.2%)
Others	3 (11.5%)

Clinical outcome indicators. Among the clinical outcome results that accompanied the results of antimicrobial consumption, the number of readmissions or re-visits to the ED was the most frequently used, occurring in nine (37.5%) of the studies. The effect of the ASPs on mortality was evaluated in four (57.4%) studies, on mean stay in the ED in two (7.7%) studies, and on total hospital stay in five (19.2%) studies. Only two (7.7%) studies assessed the effect of ASPs using microbiological indicators; in both cases, the incidence of infection with *C. difficile* was the indicator used. One study (3.5%) collected the incidence of adverse events associated with antibiotic treatment. Evaluation of cost of antibiotic use was evaluated in two (7.7%) studies, observing a reduction in antimicrobials cost after the implementation of ASP in both cases.

DISCUSSION

According to the results from the present review, ASPs are applied in ED using different indicators to monitor antimicrobial consumption, and the percentage of patients with antibiotic prescription is the most widely used indicator. Most programmes described in the studies lack microbiological indicators. The experiences published in these studies highlight

that multidisciplinary training in these units and prospective audit and feedback systems remain limited.

Although ED are an essential contributor to antimicrobial use as the starting point for many antibiotic prescriptions [17], our study has shown that few experiences described in the literature analyse the antibiotic use in these departments. A review on the clinical effect of implementing ASPs in ED has concluded that applying this type of programme has favourable clinical outcomes in most studies [14]. Our review is focused on the indicators used in these types of programmes and on the structure of the ASP team, beyond clinical outcomes. For this reason, a large number of studies on ASP-like interventions in these departments were excluded from this review because these interventions failed to include antimicrobial use monitoring in their activities. This element is essential to monitor the activity of such programmes, since the reduction in antimicrobial use is a primary objective of them and one of the tools that can predict the development of resistance [9,18–22].

According to our review, the percentage of patients prescribed antibiotics is the most frequently used indicator in these units. However, indicators based on daily doses of antibiotics have gradually been used in the last decade [23,24]. DDD, the main indicator used by ASP in hospitalized adults [25], is disadvantageous because it is not applicable to the paediatric population or to patients with impaired renal function. On the other hand, first dose of antibiotic administered in EDs in patients with serious infections may be higher than the maintenance dose, which makes it difficult to compare it with other services at the same center. DOT is widely accepted and applicable to the paediatric population. However, it requires an electronic administration record system for its calculation, in contrast to the DDD, and focuses on the duration of the antibiotic treatment, which is general poorly controlled in ED [26]. Other indicators, such as prescribed daily dose, which makes it possible to adapt to the specific dosages of each unit, can be a suitable alternative, although it was not described in any of the studies included in this review. Another important point to note is the importance of monitoring hospital consumption of all groups of antimicrobials in ED, since reductions in the consumption of certain antibiotics are usually accompanied by increased consumption of others, which may even have a greater ecological impact or lead to changes. Regarding the denominator, the short stay of patients in these units makes it difficult to apply weighting based on the number of stays. For this reason, several authors have used the number of visits to the ED as an indicator, which is a more accepted denominator. The selection of indicators that include groups of antibiotics at a higher risk of generating resistance, such as quinolones or carbapenems, should also be part of the indicators used in ASPs in these units but were described in only two of the studies analysed [27,28]. Other mixed indicators have been proposed for other units even though their use in ED remains undescribed [29].

It should be noted that the difficulties inherent to these units derived from the short stay and the empirical manage-

Table 2 Indicators used in the studies included (n = 26)		
Indicator	Adult patients (n=19)	Paediatric patients (n=7)
Antibiotic use indicators		
% Patients with antibiotic prescription	15 (78.9%)	7 (100%)
DDD / 100 stays	3 (15.7%)	0 (0%)
RDD / 100 stays	1 (5.3%)	0 (0%)
DDD / 100 income	1 (5.3%)	0 (0%)
DOT / 100 admissions	1 (5.3%)	1 (14.8%)
Treatment duration	1 (5.3%)	0 (0%)
Intravenous treatment duration	1 (5.3%)	0 (0%)
Adjusted prescription ratio	1 (5.3%)	0 (0%)
Antimicrobial costs	0 (0.0%)	2 (28.5%)
Outcome indicators		
Length of stay in the emergency room	1 (5.3%)	1 (14.8%)
Length of hospital stay	4 (21.0%)	1 (14.8%)
Readmissions / Revisits	7 (37.5%)	2 (28.5%)
Mortality	4 (21.0%)	0 (0%)
Treatment failure	1 (5.3%)	0 (0%)
Microbiological indicators		
No. <i>C. difficile</i> infections / 100 patients	1 (5.3%)	0 (0%)
No. <i>C. difficile</i> infections / 10,000 stays	1 (5.3%)	0 (0%)

DDD: Defined daily dose; RDD: Doses adjusted to guidelines; DOT: Days of treatment

ment of infectious pathology make it necessary to complement these consumption indicators with other indicators related to clinical processes and results related to the optimization of the activity carried out by these programs, such as the percentage of prescriptions that meet the accepted guidelines or used as references in the centre. However, these indicators have some limitations because they require a high workload to assess them and are partly affected by the subjectivity of the evaluator [30]. Using clinical outcome variables, such as mortality or number of re-visits, as indicators is also highly recommended [29], although these variables were poorly represented in the studies included in our review.

Another finding of our review is the limited evaluation of the ecological impact of these programmes. *C. difficile* infection rate was used in two studies [26,31], being its value of doubtful applicability for ED intervention, as most of patients are already affected before ED admission. The selection of microbiologic indicators for these units remains a challenge because interventions such as antibiotic treatment shortening or antibiotic de-escalation, associated with reductions in the number of nosocomial infections due to multiresistant strains mostly match other levels of care. In turn, although these indicators are necessary, they are often difficult to interpret because their number depend, to a large extent, on other factors

that are not directly associated with the adequate use of antibiotics, such as cross-contamination.

The methods used in this type of unit are highly heterogeneous. All these interventions have been designed with strategies for optimising antimicrobial use in these units [16] and have demonstrated, in all cases, benefits by reducing antibiotic prescription in these units [32]. The optimal strategy for ASPs in ED has not yet been established because no study has compared the different interventions proposed for such purposes. Regarding the ASP team members, the participation of an infectologist and pharmacist, together with the head of the ED and with the support of microbiology services, is the basis for implementing such programmes [33–35]. The success of these programmes requires adjusting the interventions to the local needs and to the available resources [9]. However, our review shows that most experiences described in the literature do not include this type of the ASP team composition, with infectologists being represented in only 30.7% and pharmacists in 42.3% of ASP teams.

In this review we have included studies of ASPs in adult and paediatric population. Although the objectives and indicators proposed for ASP in hospitalized patients and primary care are different from each other's, the high care burden, the lack of diagnostic results for the initiation of antibiotic therapy

and the pressures from patients or their caregivers are common elements in paediatrics and adults ED. These facts make necessary to form multidisciplinary teams in both cases, with common general objectives in terms of reducing the consumption of antibiotics and rate of clinical response and resistance profile analysis.

Among the limitations of our review, the inclusion criteria stand out. Only manuscripts written in English and Spanish were selected, thereby excluding experiences described in non-English or Spanish-speaking centres. Moreover, conference proceedings have also not been included, and experiences of the implementation of this type of programme may be presented in those conferences. Regarding the methods and ASP team members, the exclusion of studies that did not include antibiotic use monitoring may affect the proportion of programmes with multidisciplinary teams. However, the review published by Losier *et al* [14] reported conclusions similar to those described here. As previous revisions related to ASP [36,37], we have included studies published from 2000, as these programmes have undergone significant development during the last two decades. The inclusion of studies published prior to the chosen date possibly would have contributed to a smaller number of multidisciplinary teams involved, a greater disparity of actions and poorly defined consumption indicators.

The data on the consumption of antibiotics and resistance, which is the main objective of this review, are only one part of the panel of indicators that should be part of this type of program, especially in ED. Obtaining certain relatively accessible indicators has often been confused with the program objectives themselves. Consistent with the stated mission, ASPs must first select clinical objectives and indicators of both processes and results, which can be related to the antimicrobial consumption profile and the generation of resistance.

In conclusion, the indicators used to monitor antimicrobial use in ASPs implemented in ED are heterogeneous, making it difficult to compare these interventions, with poorly described clinical and microbiological indicators. Given the difficulty in selecting adequate indicators in these units, a consensus must be reached to guide the programs implemented in these units.

FUNDING

None to declare

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

1. Eliopoulos GM, Cosgrove SE, Carmeli Y. The Impact of Antimicrobial Resistance on Health and Economic Outcomes. *Clin Infect Dis*. 2003;36(11):1433-7. Doi: 10.1086/375081.
2. Friedman ND, Temkin E, Carmeli Y. The negative impact of antibiotic resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2016;22(5):416-22. Doi: 10.1016/j.cmi.2015.12.002.
3. Barbosa TM, Levy SB. The impact of antibiotic use on resistance development and persistence. *Drug Resist Updat*. 2000;3(5):303-11. Doi: 10.1054/drup.2000.0167.
4. Trivedi KK, Pollack LA. The Role of Public Health in Antimicrobial Stewardship in Healthcare. *Clin Infect Dis*. 2014;59(Suppl 3):S101-3. Doi: 10.1093/cid/ciu544.
5. Society for Healthcare Epidemiology of America, Infectious Diseases Society of America, Pediatric Infectious Diseases Society. Policy statement on antimicrobial stewardship by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA), the Infectious Diseases Society of America (IDSA), and the Pediatric Infectious Diseases Society (PIDS). *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2012;33(4):322-7. Doi: 10.1086/665010.
6. Mas-Morey P, Valle M. A systematic review of inpatient antimicrobial stewardship programmes involving clinical pharmacists in small-to-medium-sized hospitals. *Eur J Hosp Pharm*. 2018;25(e1):e69-73. Doi: 10.1136/ejhp-2017-001381.
7. Schweitzer VA, van Heijl I, van Werkhoven CH, Islam J, Hendriks-Spoor KD, Bielicki J, et al. The quality of studies evaluating antimicrobial stewardship interventions: a systematic review. *Clin Microbiol Infect*. 2019;25(5):555-61. Doi: 10.1016/j.cmi.2018.11.002.
8. Rice LB. Antimicrobial Stewardship and Antimicrobial Resistance. *Med Clin North Am*. 2018;102(5):805-18. Doi: 10.1016/j.mcna.2018.04.004.
9. Barlam TF, Cosgrove SE, Abbo LM, MacDougall C, Schuetz AN, Septimus EJ, et al. Implementing an Antibiotic Stewardship Program: Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America. *Clinical Infectious Diseases*. *Clin Infect Dis*. 2016;62(10):e51-77. Doi: 10.1093/cid/ciw118.
10. Overview | Antimicrobial stewardship: changing risk-related behaviours in the general population | Guidance | NICE [Internet]. NICE; [citado 11 de mayo de 2020]. Available at: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng63> (accessed on 15 March 2020).
11. Rodríguez-Baño J, Paño-Pardo JR, Alvarez-Rocha L, Asensio A, Calbo E, Cercenado E, et al. [Programs for optimizing the use of antibiotics (PROA) in Spanish hospitals: GEIH-SEIMC, SEFH and SEMPSPH consensus document]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30(1):22.e1-22.e23. Doi: 10.1016/j.eimc.2011.09.018.
12. Centers for Disease Control and Prevention. National Hospital Ambulatory Medical Care Survey: 2011 Emergency Department Summary Tables. Available online: https://www.cdc.gov/nchs/data/ahcd/nhamcs_emergency/2011_ed_web_tables.pdf (accessed on 18 March 2020).
13. Joint Commission on Hospital Accreditation. APPROVED: new antimicrobial stewardship standard. *Jt Comm Perspect* 2016;36(7):1, 3-4, 8. PMID: 27548932
14. Losier M, Ramsey TD, Wilby KJ, Black EK. A Systematic Review of Antimicrobial Stewardship Interventions in the Emergen-

- cy Department. *Ann Pharmacother.* 2017;51(9):774-90. Doi: 10.1177/1060028017709820.
15. Dellit TH, Owens RC, McGowan JE, Gerding DN, Weinstein RA, Burke JP, et al. Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America Guidelines for Developing an Institutional Program to Enhance Antimicrobial Stewardship. *Clin Infect Dis.* 2007;44(2):159-77. Doi: 10.1086/510393.
 16. May L, Cosgrove S, L'Archeveque M, Talan DA, Payne P, Jordan J, et al. A call to action for antimicrobial stewardship in the emergency department: approaches and strategies. *Ann Emerg Med.* 2013;62(1):69-77.e2. Doi: 10.1016/j.annemergmed.2012.09.002.
 17. Pulcini C. Antimicrobial stewardship in emergency departments: a neglected topic. *Emerg Med J.* 2015;32(7):506. Doi: 10.1136/emmermed-2014-204220.
 18. Schuts EC, Hulscher MEJL, Mouton JW, Verduin CM, Stuart JWTC, Overdiek HWPM, et al. Current evidence on hospital antimicrobial stewardship objectives: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2016;16(7):847-56. Doi: 10.1016/S1473-3099(16)00065-7.
 19. Ryu S, Klein EY, Chun BC. Temporal association between antibiotic use and resistance in *Klebsiella pneumoniae* at a tertiary care hospital. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2018;7(1):83. Doi: 10.1186/s13756-018-0373-6.
 20. Antibiotic consumption and resistance of gram-negative pathogens (collateral damage). - Abstract - Europe PMC [Internet]. [cited 16 May 2020]. Available at: <https://europepmc.org/article/med/30671336>
 21. Gutiérrez-Urbón JM, Gil-Navarro MV, Moreno-Ramos F, Núñez-Núñez M, Paño-Pardo JR, Periañez-Párraga L. Indicators of the hospital use of antimicrobial agents based on consumption. *Farm Hosp.* 2019;43(3):94-100. Doi: 10.7399/fh.11163.
 22. Brotherton AL. Metrics of Antimicrobial Stewardship Programs. *Med Clin North Am.* 2018;102(5):965-76.
 23. Kaufman AJ, McCready J, Powis J. Impact of a multifaceted antimicrobial stewardship program: A front-line ownership driven quality improvement project in a large urban emergency department. *CJEM.* 2017;19(6):441-9. Doi: 10.1017/cem.2017.11.
 24. Cunney R, Kirrane-Scott M, Rafferty A, Stapleton P, Okafor I, McNamara R. «Start smart»: using front-line ownership to improve the quality of empiric antibiotic prescribing in a paediatric hospital. *BMJ Open Qual.* 2019;8(3):e000445. Doi: 10.1136/bmj-joq-2018-000445.
 25. World Health Organization Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology Web site. Available at: <http://www.whocc.no> [accessed on 7 February 2019].
 26. Townsend J, Adams V, Galiatsatos P, Pearse D, Pantle H, Masterson M, et al. Procalcitonin-Guided Antibiotic Therapy Reduces Antibiotic Use for Lower Respiratory Tract Infections in a United States Medical Center: Results of a Clinical Trial. *Open Forum Infect Dis.* 2018;5(12):ofy327. Doi: 10.1093/ofid/ofy327.
 27. Fagan M, Lindbæk M, Reiso H, Berild D. A simple intervention to reduce inappropriate ciprofloxacin prescribing in the emergency department. *Scand J Infect Dis.* 2014;46(7):481-5. Doi: 10.3109/00365548.2014.880187.
 28. Hecker MT, Fox CJ, Son AH, Cydulka RK, Siff JE, Emerman CL, Sethi AK, et al. Effect of a Stewardship Intervention on Adherence to Uncomplicated Cystitis and Pyelonephritis Guidelines in an Emergency Department Setting. *PLoS One.* 2014; 9(2):e87899. Doi: 10.1371/journal.pone.0087899.
 29. Gutiérrez-Urbón JM, Gil-Navarro MV, Moreno-Ramos F, Núñez-Núñez M, Paño-Pardo JR, Periañez-Párraga L. Indicators of the hospital use of antimicrobial agents based on consumption. *Farm Hosp.* 2019;43(3):94-100. Doi: 10.7399/fh.11163.
 30. DePestel DD, Eiland EH, Lusardi K, Destache CJ, Mercier R-C, McDanel PM, et al. Assessing appropriateness of antimicrobial therapy: in the eye of the interpreter. *Clin Infect Dis.* 2014;59 Suppl 3:S154-161. Doi: 10.1093/cid/ciu548.
 31. LaFave J, Levy D, Gekle R, Bramante R. Incidence of *Clostridium difficile* Infection After Sepsis Protocol Antibiotics. *West J Emerg Med.* 2019;20(6):977-81. Doi: 10.5811/westjem.2019.10.42070.
 32. Santarossa M, Kilber EN, Wenzler E, Albarillo FS, Sterk EJ. BundLED Up: A Narrative Review of Antimicrobial Stewardship Initiatives and Bundles in the Emergency Department. *Pharmacy (Basel).* 2019;7(4). Doi: 10.3390/pharmacy7040145.
 33. Pulia M, Redwood R, May L. Antimicrobial Stewardship in the Emergency Department. *Emerg Med Clin North Am.* 2018;36(4):853-72. Doi: 10.1016/j.emc.2018.06.012.
 34. Randolph TC, Parker A, Meyer L, Zeina R. Effect of a pharmacist-managed culture review process on antimicrobial therapy in an emergency department. *Am J Health Syst Pharm.* 2011;68(10):916-9. Doi: 10.2146/ajhp090552.
 35. Kiyatkin DE, Wright S, Zenilman J, Kisuule F. Improving utilization of antimicrobial drugs among physician assistants in the ED. *JAAPA.* 2011;24(10):44, 47-8, 50-1. Doi: 10.1097/01720610-201110000-00007.
 36. Nathwani D, Varghese D, Stephens J, Ansari W, Martin S, Charbonneau C. Value of hospital antimicrobial stewardship programs [ASPs]: a systematic review. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2019; 8:35. Doi: 10.1186/s13756-019-0471-0.
 37. Dik J-WH, Vemer P, Friedrich AW, Hendrix R, Lo-Ten-Foe JR, Sinha B, et al. Financial evaluations of antibiotic stewardship programs—a systematic review. *Front Microbiol.* 2015;6:317. Doi: 10.3389/fmicb.2015.00317
 38. Småbrekke L, Berild D, Giaever A, Myrbakk T, Fuskevåg A, Ericson JU, et al. Educational intervention for parents and healthcare providers leads to reduced antibiotic use in acute otitis media. *Scand J Infect Dis.* 2002;34(9):657-9. Doi: 10.1080/00365540210147651.
 37. Metlay JP, Camargo CA Jr, MacKenzie T, McCulloch C, Maselli J, Levin SK, et al. Cluster-randomized trial to improve antibiotic use for adults with acute respiratory infections treated in emergency departments. *Ann Emerg Med.* 2007;50(3):221-30. Doi: 10.1016/j.annemergmed.2007.03.022.
 38. McIntosh KA, Maxwell DJ, Pulver LK, Horn F, Robertson M, Kaye KI, et al. A quality improvement initiative to improve adherence to national guidelines for empiric management of community-acquired pneumonia in emergency departments. *Int J Qual Health*

- Care. 2011;23(2):142-50. Doi: 10.1093/intqhc/mzq077.
39. Buising KL, Thursky KA, Black JF, MacGregor L, Street AC, Kennedy MP, et al. Improving antibiotic prescribing for adults with community acquired pneumonia: Does a computerised decision support system achieve more than academic detailing alone?--A time series analysis. *BMC Med Inform Decis Mak*. 2008;8:35. Doi: 10.1186/1472-6947-8-35.
 40. Johnson LW, Robles J, Hudgins A, Osburn S, Martin D, Thompson A. Management of Bronchiolitis in the Emergency Department: Impact of Evidence-Based Guidelines? *Pediatrics*. 2013. 131 Suppl 1:S103-9. Doi: 10.1542/peds.2012-1427m.
 41. Akenroye AT, Baskin MN, Samnaliev M, Stack AM. Impact of a bronchiolitis guideline on ED resource use and cost: a segmented time-series analysis. *Pediatrics*. 2014;133(1):e227-34. Doi: 10.1542/peds.2013-1991.
 42. Julián-Jiménez A, Palomo de los Reyes MJ, Laín-Terés N. [Is it possible to improve the management of community acquired pneumonia in hospital emergency departments?]. *Arch Bronconeumol*. 2010;46(8):448-9. Doi: 10.1016/j.arbres.2010.03.001.
 43. Angoulvant F, Skurnik D, Bellanger H, Abdoul H, Bellettre X, Morin L, et al. Impact of implementing French antibiotic guidelines for acute respiratory-tract infections in a paediatric emergency department, 2005-2009. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012;31(7):1295-303. Doi: 10.1007/s10096-011-1442-4.
 44. Landry E, Sulz L, Bell A, Rathgeber L, Balogh H. Urinary Tract Infections: Leading Initiatives in Selecting Empiric Outpatient Treatment (UTILISE). *Can J Hosp Pharm*. 2014;67(2):116-25. Doi: 10.4212/cjhp.v67i2.1339.
 45. Borde JP, Kern WV, Hug M, Steib-Bauert M, de With K, Busch HJ, et al. Implementation of an intensified antibiotic stewardship programme targeting third-generation cephalosporin and fluoroquinolone use in an emergency medicine department. *Emerg Med J*. 2015;32(7):509-15. Doi: 10.1136/emermed-2014-204067.
 46. Percival KM, Valenti KM, Schmittling SE, Strader BD, Lopez RR, Bergman SJ. Impact of an antimicrobial stewardship intervention on urinary tract infection treatment in the ED. *Am J Emerg Med*. 2015;33(9):1129-33. Doi: 10.1016/j.ajem.2015.04.067.
 47. Quintos-Alagheband ML, Noyola E, Makvana S, El-Chaar G, Wang S, Calixte R, et al. Reducing Antibiotic Use in Respiratory Syncytial Virus--A Quality Improvement Approach to Antimicrobial Stewardship. *Pediatr Qual Saf*. 2017;2(6):e046. Doi: 10.1097/pq9.0000000000000046.
 48. Ouldali N, Bellètrre X, Milcent K, Guedj R, de Pontual L, Cojocar B, et al. Impact of implementing national guidelines on antibiotic prescriptions for acute respiratory tract infections in pediatric emergency departments: an interrupted time series analysis. *Clin Infect Dis*. 2017;65(9):1469-1476. Doi: 10.1093/cid/cix590.
 49. Wathne JS, Kleppe LKS, Harthug S, Blix HS, Nilsen RM, Charani E, et al. The effect of antibiotic stewardship interventions with stakeholder involvement in hospital settings: a multicentre, cluster randomized controlled intervention study. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2018;7:109. Doi: 10.1186/s13756-018-0400-7.
 50. Powell SL, Liebert E. BSN, CPEN, Appropriate Use of Vancomycin in a Pediatric Emergency Department Through the Use of a Standardized Electronic Guideline. *J Pediatr Nurs*. 2015; 30, 494-497. Doi: 10.1016/j.pedn.2014.12.014.
 51. Dinh A, Duran C, Davido B, Bouchand F, Deconinck L, Matt M, ET AL. Impact of an antimicrobial stewardship program to optimize antimicrobial use for outpatients at emergency department. *J Hosp Infect*. 2017;97(3):288-293. Doi: 10.1016/j.jhin.2017.07.005.
 52. Dorzin SE, Halaby C, Quintos ML, Noor A, El-Chaar G.. Antimicrobial Stewardship Program Using Plan-Do-Study-Act Cycles to Reduce Unjustified Antibiotic Prescribing in Children Admitted With an Asthma Exacerbation. *J Pediatr Pharmacol Ther*. 2017;22(6):436-443. Doi: 10.5863/1551-6776-22.6.436.
 53. Yadav K, Meeker D, Mistry RD, Doctor JN, Fleming-Dutra KE, Fleischman RJ, et al. A Multifaceted Intervention Improves Prescribing for Acute Respiratory Infection for Adults and Children in Emergency Department and Urgent Care Settings. *Acad Emerg Med*. 2019;26(7):719-731. Doi: 10.1111/acem.13690.
 54. Jorgensen SC, Yeung SL, Zurayk M, Terry J, Dunn M, Nieberg P, et al. Leveraging Antimicrobial Stewardship in the Emergency Department to Improve the Quality of Urinary Tract Infection Management and Outcomes. *Open Forum Infect Dis*. 2018;5(6):ofy101. Doi: 10.1093/ofid/ofy101.

Paula Gras-Valenti¹
Inmaculada Vidal²
Inés Montiel-Higuero³
Isabel Escribano²
Natividad Algado-Selles¹
Pablo Chico-Sánchez¹
Maria Paz Ventero^{2a}
Natali Jiménez-Sepulveda¹
Carmen Molina-Pardines²
Esperanza Merino-Lucas⁴
José Sánchez- Payá¹
Juan Carlos Rodríguez²

Evaluación de la validez del Ag PANBIO-COVID19 de Abbott en el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 en pacientes asintomáticos o con infección leve

¹Unidad de Epidemiología, Servicio de Medicina Preventiva, Hospital General Universitario de Alicante, Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante (ISABIAL), Alicante, España.

²Servicio Microbiología. Hospital General Universitario de Alicante, Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante (ISABIAL), Alicante, España.

³Unidad de Admisión y Documentación Clínica, Hospital General Universitario de Alicante, Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante (ISABIAL), Alicante, España.

⁴Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital General Universitario de Alicante, Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante (ISABIAL), Alicante, España.

Article history

Received: 26 March 2021; Revision Requested: 29 April 2021; Revision Received: 30 June 2021; Accepted: 17 July 2021; Published: 22 September 2021

RESUMEN

Objetivo. Evaluar la validez de la detección de antígeno (Ag) SARS-CoV-2 para diagnosticar la infección por SARS-CoV-2 en pacientes con infección leve o asintomáticos.

Material y métodos. Estudio observacional de evaluación de pruebas diagnósticas. Se incluyeron pacientes no hospitalizados con indicación de realización de prueba diagnóstica de infección por SARS-CoV-2. La prueba diagnóstica evaluada fue la determinación del Ag, como estándar de referencia para determinar la COVID-19 se utilizó la detección de ARN viral mediante RT-PCR.

Resultados. Se incluyeron 494 pacientes, el 71,5% (353/494) presentaban síntomas y el 28,5% (141/494) estaba asintomático (cribado prequirúrgico (35/494) y contactos de caso confirmado (106/494). La sensibilidad global de la prueba de detección de Ag fue del 61,1% y la especificidad del 99,7%. La sensibilidad y la especificidad en el grupo de pacientes asintomáticos fueron del 40% y del 100% respectivamente, y en el de sintomáticos del 63,5% y del 99,6% respectivamente. A su vez, la sensibilidad y la especificidad en el grupo de pacientes sintomáticos variaron en función del tiempo de evolución de los síntomas: en pacientes con síntomas recientes (5 días o menos) fueron del 71,4% y del 99,6% respectivamente, mientras que, en pacientes con síntomas de más de 5 días de evolución, fueron del 26,7% y del 100% respectivamente. En todos los grupos, la presencia de antígeno se asocia a un Ct < 30.

Conclusiones. A pesar de su rapidez y facilidad de realización, el test de detección de Ag para el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 presenta limitaciones en pacientes asintomáticos o con sintomatología de más de 5 días de evolu-

ción por su baja sensibilidad, pero podría ser útil en pacientes con síntomas de 1-5 días de evolución.

Palabras clave: SARS-CoV-2, antígeno, diagnóstico, COVID-19

Evaluation of the validity of Ag PANBIO-COVID19 in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection in asymptomatic or mildly infected patients

ABSTRACT

Objective. To assess the validity of SARS-CoV-2 Antigen (Ag) detection for the diagnosis of SARS-CoV-2 infection in mildly infected or asymptomatic patients.

Material and methods. Observational study to evaluate diagnostic tests. Non-hospitalized patients with indication for diagnostic testing for SARS-CoV-2 infection were included. The diagnostic test to be evaluated was the determination of Ag and as a reference standard to determine the presence of viral RNA the RT-PCR was used.

Results. A total of 494 patients were included. Of these 71.5% (353/494) had symptoms and 28.5% (141/494) were asymptomatic (presurgery screening (35/494) and confirmed case-contact (106/494). The overall sensitivity of the Ag test was 61.1% and the specificity was 99.7%. The sensitivity and specificity in the asymptomatic group were 40% and 100% respectively, and in the symptomatic group 63.5% and 99.6% respectively. In turn, the sensitivity and specificity in the group of symptomatic patients varied according to the time of symptom evolution: in patients with recent symptoms, they were 71.4% and 99.6% respectively, while in patients with symptoms of more than 5 days of evolution, they were 26.7% and 100% respectively. In all groups studied, the presence of antigen is associated with a high viral load (Ct<30 cycles).

Correspondencia:
Maria Paz Ventero Martin.
Hospital General Universitario de Alicante
C/Pintor Baeza, 12. CP:03010.
E-mail: maripazvm@gmail.com.

Conclusions. The use of Ag detection test is not indicated for the diagnosis of SARS-CoV-2 infection in asymptomatic patients or with symptoms of more than 5 days of evolution, but it could be useful in patients with symptoms of 1-5 days of evolution.

Keywords: SARS- CoV-2, antigen, diagnosis, COVID-19

INTRODUCCIÓN

En el contexto epidemiológico de pandemia de COVID-19 los objetivos de las pruebas diagnósticas traspasan el interés individual para alcanzar un objetivo colectivo de Salud Pública: identificar casos de COVID-19, lo que permite su aislamiento para frenar la transmisión, y vigilar la incidencia y tendencia de casos en el tiempo, lo que resulta esencial para planificar estrategias de control en Salud Pública. Así, el diagnóstico correcto y rápido de la infección es un pilar básico para el control de la pandemia de COVID-19.

Hasta el momento, la detección del genoma viral de SARS-CoV-2 mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en una muestra de vías respiratorias, ha sido el método recomendado para la identificación y confirmación en el laboratorio de los casos de COVID-19 [1]. Esta técnica presenta como inconveniente que es relativamente costosa, lenta y compleja, por lo que la mejora de los métodos diagnósticos es un reto [2-4].

En Europa las tasas de realización de pruebas son de entre 1.000 a 2.499 por cada 100.000 habitantes en la mayor parte de los países, ascendiendo en algunos de ellos a tasas de entre 2500 a 4999 por cada 100.000 habitantes [5].

En respuesta a la creciente demanda y necesidad de alternativas diagnósticas, se han desarrollado otras pruebas de diagnóstico rápido como las pruebas de detección de antígeno, diseñadas para detectar directamente las proteínas del SARS-CoV-2 que están presentes durante la replicación del virus en las secreciones respiratorias. Éstas son relativamente baratas y pueden ofrecer resultados rápidos en 15 minutos y en el punto de atención al paciente.

El objetivo es evaluar la validez de la detección de Ag SARS-CoV-2 mediante inmunocromatografía (Abbott, USA) para diagnosticar la infección por SARS-CoV-2 en pacientes asintomáticos (cribado prequirúrgico y contactos de caso confirmado) o con infección leve.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional de tipo transversal de evaluación de pruebas diagnósticas. Se incluyó a pacientes que acudieron de forma consecutiva al Hospital General Universitario de Alicante para la realización de RT-PCR para la detección de SARS-CoV-2 por cualquiera de los siguientes motivos: 1) Una cohorte de pacientes que presentaban síntomas compatibles con infección leve por SARS-CoV-2 (derivados desde Atención Primaria o 2) Dos cohortes de pacientes asintomáticos en los que estaba indicada la realización de PCR por haber

sido contacto estrecho de caso COVID-19 confirmado o en el contexto de programas de cribado dirigidos (previo a intervenciones quirúrgicas o administración de tratamiento inmunosupresor). No se incluyó a pacientes con enfermedad moderada o grave que tuviera criterios de hospitalización ni tampoco a pacientes que ya tenían COVID-19 confirmada previamente a los que se les solicitaba la PCR previa a la retirada del aislamiento.

Se recogieron los siguientes datos de los pacientes: sexo, edad, presencia o no de síntomas y número de días de evolución de los síntomas. Los datos se recogieron de forma anónima y su uso se rigió por lo recogido en la legislación vigente en relación con la protección de datos de carácter personal, estando aprobado por el Comité ético de ISABIAL (referencia CELM: PI2021-088). Por cada paciente se recogieron dos muestras, primero se realizó la recogida de un frotis (exudado) nasofaríngeo para la determinación de antígeno utilizando la torunda recomendada por el fabricante (Ag PANBIO-COVID19, Abbott), introduciéndola por ambas fosas nasales. Posteriormente, por su mayor sensibilidad, se realizó la toma de un aspirado nasofaríngeo y en esta muestra se detectó el ARN viral mediante una RT-PCR (Sistema Cobas[®] 6800, Roche) en el mismo laboratorio y se consideró como Ct la media de los dos valores aportados por el sistema mediante el estudio de los genes virales. El sistema empleado no aporta información sobre la carga viral presente en la muestra pero puede realizarse la aproximación de considerar que existe una alta carga viral si la amplificación se produce antes del Ct 30 [6,7].

Análisis estadístico. Para la descripción de las características de los pacientes incluidos en el estudio se ha utilizado la frecuencia absoluta y la relativa en porcentajes de cada una de las categorías de las variables. La prueba diagnóstica a evaluar fue la determinación del Ag a partir de una muestra de frotis faríngeo y como estándar de referencia para determinar la presencia de enfermedad se utilizó la detección de ARN viral mediante RT-PCR. Se calculó la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN). Se utilizó el sistema SSPS para el análisis de los datos.

RESULTADOS

Se incluyó a 494 pacientes y ninguna de las muestras obtenidas para la realización del Ag fue inválida para su lectura. De éstos el 71,5% (353/494) presentaban síntomas compatibles con infección respiratoria aguda, el 7,1% (35/494) se encontraba asintomático y se les había indicado la PCR por cribado (previo a intervención quirúrgica o previo a tratamiento inmunosupresor) y el 21,3% (106/494) tampoco presentaba síntomas y se les había indicado la realización de la RTPCR por haber sido contacto estrecho de un caso COVID-19 confirmado. El resto de las características de los pacientes incluidos en el estudio se describen en la Tabla 1.

En 95 de los 494 pacientes se obtuvo un resultado de RT-PCR positivo, considerándose pacientes con infección por SARS-CoV-2. Entre éstos se detectó también la presencia de Ag en 58 pacientes (verdaderos positivos) y no se detectó en 37

Tabla 1		Características de los pacientes incluidos en el estudio (n=494).	
		Porcentaje (Número)	
Edad (años)			
<15		1,4 (7)	
15-64		91,5 (452)	
≥65		7,1 (35)	
Sexo			
Hombre		43,5 (215)	
Mujer		56,5 (279)	
Síntomas			
No - Cribado		7,1 (35)	
No - Estudio contactos		21,3 (106)	
Si		71,5 (353)	
Días desde inicio síntomas			
0 (no síntomas)		28,5 (141)	
1 día		15,4 (76)	
2 día		15,6 (77)	
3 día		17,4 (86)	
4 día		9,3 (46)	
5 día		4,0 (20)	
6 día		2,0 (10)	
7 o posteriores días		7,7 (38)	
Antígeno			
Positivo		11,9 (59)	
Negativo		88,1 (435)	
RT-PCR			
Positiva		19,2 (95)	
Negativa		80,8 (399)	
RT-PCR-Positiva (CT) (n=78)			
≤30 (Alta carga)		69,2 (54)	
>30 (Baja carga)		30,8 (24)	

(falsos negativos). De los 399 pacientes que tuvieron un resultado de RT-PCR negativo, 398 tuvieron también un resultado de Ag negativo (verdaderos negativos) y uno obtuvo un resultado de Ag positivo (falso positivo).

Durante el periodo de recogida de muestras, la incidencia acumulada a 14 días fue de 300 casos positivos de SARS-CoV-2 por cada 100.000 habitantes. La S global de la prueba de detección de Ag fue del 61,1%, la E fue del 99,7%, el VPP de 98,3% y el VPN de 91,5% (Tabla 2). La E fue superior al 98 % en todos los grupos de pacientes. La S en el grupo de pacientes asintomáticos fue del 40% y en el grupo de sintomáticos del 63,5%. La S dentro del grupo de pacientes sintomáticos va-

rió en función del tiempo de evolución de los síntomas siendo máxima en el primer día de evolución de los síntomas con una S del 90,9% y mínima cuando la evolución de los síntomas era de 7 días o más con una S del 23,1%. La S en pacientes con síntomas recientes (5 días o menos de evolución) fue del 71,4% mientras que, en pacientes con síntomas de más de 5 días de evolución, fue del 26,7%.

No podemos relacionar la presencia de antígeno con la carga viral porque las dos técnicas se realizan en muestras diferentes y la detección viral detectada no ofrece este parámetro por ausencia de recta patrón [8,9]. Sin embargo, considerando que este parámetro se puede medir de forma aproximada mediante el ciclo en que se produce la detección de la RT-PCR, se observa que en casos de alta carga ($Ct < 30$) la sensibilidad del antígeno es de 79,6% mientras que en los casos con baja carga viral ($Ct > 30$), la sensibilidad desciende al 30,0 %. Este fenómeno se repite tanto en pacientes asintomáticos como sintomáticos.

DISCUSIÓN

Los resultados presentados en este trabajo muestran que el test rápido de detección de Ag PANBIO COVID-19 de Abbott para el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 en pacientes asintomáticos o con sintomatología leve tiene una alta especificidad (independientemente del tipo de población) y una sensibilidad muy variable dependiendo del tipo de población donde se utiliza (pacientes sintomáticos o asintomáticos) siendo notablemente más alta cuando se utiliza en pacientes sintomáticos, asociada a la presencia de elevada carga viral. Los resultados obtenidos muestran que en pacientes con carga viral alta ($Ct < 30$) la sensibilidad del test es mayor que en pacientes con carga viral baja ($Ct > 30$). A su vez, la S en sintomáticos es variable siendo más alta cuando se utiliza la prueba en el primero o segundo día desde el inicio de los síntomas y disminuyendo de forma progresiva a partir del tercer día.

El test rápido de detección del Ag PANBIO COVID-19 de Abbott para el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 presenta según los informes de validación del fabricante una S del 93,3% y una E del 99,4%, con mayor rentabilidad en la primera semana tras el inicio de los síntomas o tras la exposición pero nuestros datos muestran que en población asintomática o con sintomatología leve reclutada en el ámbito extrahospitalario, la S disminuye de forma notable, especialmente en sujetos asintomáticos o con síntomas de más de 5 días de evolución. Esta limitación de la S diagnóstica se obtiene utilizando la PCR como técnica de referencia, pero el patrón utilizado también muestra problemas de S por lo que el problema es aún más importante [10]. Nuestros datos concuerdan por los publicados por Fenollar et al. [11], que obtienen una S global del 75,5% con disminución de la misma en pacientes asintomáticos (45,4%) y con los aportados por Linares et al. [12], que comunican mejor S en pacientes con infección reciente (86,5% en infecciones con menos de 7 días de evolución versus 53,8% en el resto) [11,12].

Tabla 2	Evaluación de la Validez de la detección de Ag de SARS-CoV-2.			
	S	E	VPP	VPN
Total (n=494)	61,1	99,7	98,3	91,5
Asintomáticos (n=141)	40,0	100	100	95,6
Cribado (n=35)	0,0	100	-	97,1
Estudio contactos (n=106)	44,4	100	100	95,1
Sintomáticos (n=353)	63,5	99,6	98,2	89,6
Días de evolución de los síntomas				
Días 1 o 2 (n=153)	81,8	100	100	97,0
Días < 6 (n=305)	71,4	99,6	98,0	92,1
Días > 5 días (n=48)	26,7	100	100	75,0
Alta carga viral (n=166)	79,6	99,7	97,7	97,3
Baja carga viral (n=328)	30,0	99,6	75,0	97,1

S: Sensibilidad; E: Especificidad; VPP: Valor Predictivo Positivo; VPN: Valor Predictivo Negativo

Se están publicando trabajos de evaluación de esta prueba que aportan resultados muy variables en función de las características de la población estudiada en relación con la sintomatología, con el tiempo de evolución de la misma y de la carga viral de la muestra; los datos de sensibilidad oscilan entre el 48,1% en pacientes asintomáticos [13] hasta el 80-90% en pacientes sintomáticos de zonas de alta incidencia de la enfermedad. Se han comunicado discrepancias sobre la influencia del tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas pero en general, la técnica tiene mejor sensibilidad en infección reciente con menos de 5-7 días de síntomas [14-17].

Estos sistemas rápidos de detección de antígenos virales pretenden ser una alternativa diagnóstica a la PCR ya que ofrecen resultados rápidos y se pueden realizar en sistemas "point of care" porque no necesitan infraestructura compleja pero aún no están suficientemente evaluados en las diferentes poblaciones que se originan por la historia natural de la enfermedad y se ha comunicado una baja concordancia interensayo entre las diferentes casas comerciales [18,19].

Es clave la generación de falsos negativos en la práctica clínica si se instaura la detección de antígeno como prueba de cribado en determinadas situaciones ya que se relaciona muy directamente con la prevalencia de la enfermedad y puede ocasionar un impacto negativo a nivel clínico y de salud pública [20, 21]; en relación con esto, es especialmente destacable la poca sensibilidad que muestra la prueba en pacientes asintomáticos ya que se ha comunicado que más de la mitad de los mismos presentan alteraciones radiológicas y pueden ser contagiosos [22]; así, un modelo matemático muestra que el 40% de las transmisiones se generan antes de la aparición de los síntomas [23]. En relación con la contagiosidad de este colectivo, hay datos discordantes; por una parte se ha comunicado que puede haber transmisión en pacientes asintomáticos y

presintomáticos [24]; por el contrario, también se ha comunicado que la infectividad en este colectivo es débil [25].

En función de nuestros datos, consideramos que la prueba evaluada no está indicada para el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 en pacientes asintomáticos ni en pacientes con sintomatología leve de más de 5 días de evolución. Podría ser útil en el cribado de pacientes sintomáticos con reciente aparición de síntomas que son los casos más contagiosos, pero en caso de negatividad de la prueba, se debería detectar la presencia del virus mediante PCR para mejorar la S diagnóstica, especialmente en casos de antecedentes epidemiológicos con síntomas muy compatibles con la enfermedad [26].

Esta prueba supone un avance aplicable en algunos pacientes sintomáticos pero se requiere seguir avanzando para poner a punto una herramienta diagnóstica rápida más efectiva que permita controlar la propagación de la enfermedad especialmente en pacientes asintomáticos con baja carga viral [27, 28].

FINANCIACIÓN

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

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores no presentan ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization. Diagnostic testing for SARS-CoV-2. <https://www.who.int/publications/i/item/diagnostic-testing-for-sars-cov-2>

2. Feng W, Newbigging AM, Le C, Pang B, Peng H, Cao Y, et al. Molecular Diagnosis of COVID-19: Challenges and Research Needs. *Anal Chem.* 2020;92(15):10196-10209. doi:10.1021/acs.analchem.0c02060
3. Chau CH, Strobe JD, Figg WD. COVID 19 Clinical Diagnostics and Testing Technology. *Pharmacother J Hum Pharmacol Drug Ther.* 2020;40(8):857-868. doi:10.1002/phar.2439
4. Yuan X, Yang C, He Q, Chen J, Yu D, Li J, et al. Current and Perspective Diagnostic Techniques for COVID-19. *ACS Infect Dis.* 2020;6(8):1998-2016. doi:10.1021/acsinfectdis.0c00365
5. European Centre for Disease Prevention and Control. Data on testing for COVID-19 by week and country. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/covid-19-testing>
6. Kleiboeker S, Cowden S, Grantham J, Nutt J, Tyler A, Berg A, et al. SARS-CoV-2 viral load assessment in respiratory samples. *J Clin Virol.* 2020;129:104439. doi:10.1016/j.jcv.2020.104439
7. 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(12):1177-1179. doi:10.1056/nejmc2001737
8. Pan Y, Zhang D, Yang P, Poon LLM, Wang Q. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *Lancet Infect Dis.* 2020;20(4):411-412. doi:10.1016/S1473-3099(20)30113-4
9. Yu F, Yan L, Wang N, Yang S, Wang L, Tang Y, et al. Quantitative Detection and Viral Load Analysis of SARS-CoV-2 in Infected Patients. *Clin Infect Dis.* 2020;71(15):793-798. doi:10.1093/cid/ciaa345
10. Alcoba-Florez J, Gil-Campesino H, Artola DGM de, González-Montelongo R, Valenzuela-Fernández A, Ciuffreda L, et al. Sensitivity of different RT-qPCR solutions for SARS-CoV-2 detection. *Int J Infect Dis.* 2020;99:190-192. doi:10.1016/j.ijid.2020.07.058
11. Fenollar F, Bouam A, Ballouche M, Fuster L, Prudent E, Colson P, et al. Evaluation of the Panbio Covid-19 rapid antigen detection test device for the screening of patients with Covid-19. *J Clin Microbiol.* 2021;59(2):e02589-20. doi:10.1128/jcm.02589-20
12. Linares M, Pérez-Tanoira R, Carrero A, Romanyk J, Pérez-García F, Gómez-Herruz P, et al. Panbio antigen rapid test is reliable to diagnose SARS-CoV-2 infection in the first 7 days after the onset of symptoms. *J Clin Virol.* 2020;133:104659. doi:10.1016/j.jcv.2020.104659
13. Torres I, Poujois S, Albert E, Colomina J, Navarro D. Evaluation of a rapid antigen test (Panbio™ COVID-19 Ag rapid test device) for SARS-CoV-2 detection in asymptomatic close contacts of COVID-19 patients. *Clin Microbiol Infect.* 2021;27(4):636.e1-636.e4. doi:10.1016/j.cmi.2020.12.022
14. Gremmels H, Winkel BMF, Schuurman R, Rosingh A, Rigter NAM, Rodriguez O, 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. *EClinicalMedicine.* 2021;31:100677. doi:10.1016/j.eclinm.2020.100677
15. Merino P, Guinea J, Muñoz-Gallego I, González-Donapetry P, Galán JC, Antona N, et al. Multicenter evaluation of the Panbio™ COVID-19 rapid antigen-detection test for the diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Clin Microbiol Infect.* 2021;27(5):758-761. doi:10.1016/j.cmi.2021.02.001
16. Bullete O, Lorente P, Leiva A, Carandell E, Oliver A, Rojo E, et al. Panbio™ rapid antigen test for SARS-CoV-2 has acceptable accuracy in symptomatic patients in primary health care. *J Infect.* 2021;82(3). doi:10.1016/j.jinf.2021.02.014
17. Pérez-García F, Romanyk J, Gómez-Herruz P, Arroyo T, Pérez-Tanoira R, Linares M, et al. Diagnostic performance of CerTest and Panbio antigen rapid diagnostic tests to diagnose SARS-CoV-2 infection. *J Clin Virol.* 2021;137. doi:10.1016/j.jcv.2021.104781
18. Axell-House DB, Lavingia R, Rafferty M, Clark E, Amirian ES, Chiao EY. The estimation of diagnostic accuracy of tests for COVID-19: A scoping review. *J Infect.* 2020;81(5):681-697. doi:10.1016/j.jinf.2020.08.043
19. Schildgen V, Demuth S, Lüsebrink J, Schildgen O. Limits and Opportunities of SARS-CoV-2 Antigen Rapid Tests: An Experienced-Based Perspective. *Pathogens.* 2021;10(1):38. doi:10.3390/pathogens10010038
20. Woloshin S, Patel N, Kesselheim AS. False Negative Tests for SARS-CoV-2 Infection — Challenges and Implications. *N Engl J Med.* 2020;383(6):e38. doi:10.1056/nejmp2015897
21. Kinloch NN, Ritchie G, Brumme CJ, Dong W, Dong W, Lawson T, et al. Suboptimal biological sampling as a probable cause of false-negative COVID-19 diagnostic test results. *J Infect Dis.* 2020;222(6):899-902. doi:10.1093/infdis/jiaa370
22. Kronbichler A, Kresse D, Yoon S, Lee KH, Effenberger M, Shin J Il. Asymptomatic patients as a source of COVID-19 infections: A systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis.* 2020;98:180-186. doi:10.1016/j.ijid.2020.06.052
23. Kretzschmar ME, Rozhnova G, Bootsma MCJ, van Boven M, van de Wijgert JHHM, Bonten MJM. Impact of delays on effectiveness of contact tracing strategies for COVID-19: a modelling study. *Lancet Public Heal.* 2020;5(8):e452-e459. doi:10.1016/S2468-2667(20)30157-2
24. Widders A, Broom A, Broom J. SARS-CoV-2: The viral shedding vs infectivity dilemma. *Infect Dis Heal.* 2020;25(3):210-215. doi:10.1016/j.idh.2020.05.002
25. Gao M, Yang L, Chen X, Deng Y, Yang S, Xu H, et al. A study on infectivity of asymptomatic SARS-CoV-2 carriers. *Respir Med.* 2020;169:106026. doi:10.1016/j.rmed.2020.106026
26. Kucirka LM, Lauer SA, Laeyendecker O, Boon D, Lessler J. Variation in False-Negative Rate of Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction-Based SARS-CoV-2 Tests by Time Since Exposure. *Ann Intern Med.* 2020;173(4):262-267. doi:10.7326/M20-1495
27. Lin S-W, Shen C-F, Cheng C-M. Potential Trends of Point-of-Care Diagnostics—The Next Generation of the Laboratory Diagnosis. *Diagnostics.* 2020;10(10):774. doi:10.3390/diagnostics10100774
28. Candel FJ, Barreiro P, San Román J, Abanades JC, Barba R, Barberán J, et al. 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. *Rev Esp Quimioter.* 2020;33(6):466-484. doi:10.37201/req/120.2020

María Huertas Vaquero¹
María Ángeles Asencio
Egea¹
Rafael Carranza González²
Antonio Padilla Serrano²
María Carmen Conde
García³
José María Tenias Burillo⁴
Olga Redondo González⁴

Association between antibiotic pressure and the risk of colonization/infection by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* complex: a time series analysis

¹Laboratorio de Microbiología, Hospital General La Mancha Centro, Alcázar de San Juan, Ciudad Real, Spain.

²Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital General La Mancha Centro, Alcázar de San Juan, Ciudad Real, Spain.

³Farmacia Hospitalaria, Hospital General La Mancha Centro, Alcázar de San Juan, Ciudad Real, Spain.

⁴Unidad de Apoyo a la Investigación, Hospital General La Mancha Centro, Alcázar de San Juan, Ciudad Real, Spain.

Article history

Received: 8 April 2021; Revision Requested: 16 July 2021; Revision Received: 31 July 2021; Accepted: 19 August 2021;

Published: 6 October 2021

ABSTRACT

Introduction. To analyze the association between antibiotic pressure and the risk of colonization/infection by *Acinetobacter baumannii* complex (AB), evaluating both the individual and general prescriptions of antibiotics.

Methods. This is an analytical, observational, case-control study on patients admitted to an Intensive Care Unit (ICU) during an AB outbreak (14 months). A five-year time series was constructed with the monthly incidence of cases of infection/colonization with strains of AB resistant to each antibiotic administered and with the monthly consumption of these antibiotics in the ICU.

Results. We identified 40 patients either infected (23) or colonized (17) by AB and 73 controls. We found an epidemic multidrug-resistant clone of AB in 75% of cases. Risk factors associated with the development of AB infection/colonization were: greater use of medical instruments, the presence of a tracheostomy, cutaneous ulcers, surgical lesions and prior antibiotic therapies. The regression analysis of individual use of antibiotics showed that prior treatment with ceftazidime, ceftriaxone, amoxicillin/clavulanate, imipenem, levofloxacin, linezolid, and vancomycin was a risk factor for acquiring AB. ARIMA models showed that the relationship were greatest and statistically significant when the treatment occurred between 6 months (ceftazidime) and 9 months (imipenem and levofloxacin) prior.

Conclusions. The dynamic and aggregate relationship between the incidence of infection/colonization by multidrug-resistant strains of AB and prior antibiotic treatment was statistically significant for intervals of 6 to 9 months.

Keywords: *Acinetobacter baumannii* complex; time series analysis; case-control study; antibiotics prescription; outbreak

Asociación entre la presión antibiótica y el riesgo de colonización/infección por *Acinetobacter baumannii* complex multirresistente: análisis de series temporales

RESUMEN

Introducción. Analizar la asociación entre la presión antibiótica y el riesgo de colonización/infección por *Acinetobacter baumannii* complex (AB), evaluando tanto las prescripciones individuales como las prescripciones generales de antibióticos.

Métodos. Estudio analítico, observacional, de casos y controles en pacientes ingresados en una Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) durante un brote de AB de 14 meses de duración. Se construyó una serie temporal de cinco años con la incidencia mensual de casos de infección/colonización por cepas de AB resistentes a cada antibiótico administrado y con el consumo mensual de estos antibióticos en la UCI.

Resultados. Identificamos 40 pacientes infectados (23) o colonizados (17) por AB y 73 controles. Encontramos un clon epidémico de AB multirresistente en el 75% de los casos. Los factores de riesgo asociados con la infección/colonización por AB fueron: el mayor uso de instrumentos médicos, la presencia de traqueotomía, úlceras cutáneas, lesiones quirúrgicas y las terapias antibióticas previas. El análisis de regresión del uso individual de antibióticos mostró que el tratamiento previo con ceftazidima, ceftriaxona, amoxicilina-clavulánico, imipenem, levofloxacino, linezolid y vancomicina fue un factor de riesgo para adquirir AB. Los modelos ARIMA mostraron que la relación fue mayor y estadísticamente significativa cuando el tratamiento se produjo entre los 6 meses previos para ceftazidima y los 9 meses anteriores para imipenem y levofloxacino.

Conclusiones. La relación dinámica y agregada entre la incidencia de infección/colonización por cepas de AB

Correspondence:
María Ángeles Asencio Egea
Hospital General La Mancha Centro
Avenida de la Constitución 3
13600 Alcázar de San Juan, Ciudad Real
E-mail: marian_asencio@yahoo.es

multirresistente y el tratamiento antibiótico previo fue estadísticamente significativa para intervalos de 6 a 9 meses.

Palabras clave: *Acinetobacter baumannii* complex; análisis de series temporales; estudio de casos-controles; consumo de antibióticos; brote

INTRODUCTION

In the past few decades, *Acinetobacter baumannii* complex (AB) has emerged as a microorganism capable of producing various types of nosocomial infections, mainly of the respiratory system (pneumonias), bacteremia, of the skin and soft tissue, and meningitis [1]. The risk of colonization and infection by AB is associated with factors such as staying in specific types of hospital units, a prolonged hospital stay, the presence of serious underlying disease, the use of mechanical ventilation, invasive interventions (catheter probes), and prior antibiotic pressure/treatment [2,3]. In turn, AB infection/colonization leads to increases in morbidity, length of hospital stays, and cost [4].

AB is a microorganism endemic to some hospital centers and is responsible for numerous nosocomial outbreaks throughout the world [5]. Its heightened ability to spread is due to various factors, including its ability to develop resistance to antimicrobial substances [6]. In the past decade, researchers have detected the emergence of multi-drug resistant strains of *A. baumannii* complex (MDR-AB) [7], as well as pan-resistant strains [8], both due to selective antibiotic pressure from the use of wide-spectrum antibiotics as well as to patient-to-patient transmission of drug-resistant strains of the microorganism [9].

The goal of our work was to analyze the association between antibiotic pressure and the risk of infection/colonization by AB, examining both the individual prescriptions of antimicrobials as well as the more general use of antibiotics during an outbreak in the ICU of a Spanish hospital.

METHODS

Ethical approval. This study was approved by the Institutional Review Board of La Mancha Centro General Hospital (HGMC). The research was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and national and institutional standards.

Setting. This study was conducted in a multipurpose Intensive Care Unit (ICU) of a rural Spanish Hospital which provides healthcare to a population of approximately 210,000 inhabitants. The ICU has 10 beds for adult patients, who receive care from health care professionals specialized in Intensive Care Medicine.

Study design and patient selection. This analytical, observational, matched case-control study was carried out during an AB outbreak occurred in this particular ICU (14 months during the years 2010 and 2011, although sporadic cases were detected in the following years; therefore this strain has remained endemic in the hospital). The matched case-

control design allows us to analyze and compare significantly different cases as long as they are matched to similar controls.

The study included a total of 40 cases and 73 controls. The cases were defined as patients admitted to the ICU during the outbreak and in whom AB infection/colonization was detected through the isolation of this microorganism in clinical samples and/or epidemiological surveillance cultures. The clinical significance of colonization or infection by the AB isolates and the type of infection developed in each case was established by means of the criteria proposed by the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) [10]. The controls were defined as patients admitted to the ICU during the same period as the cases (usually on the same day and sometimes in the same week) that developed neither an AB infection nor colonization. Two controls were selected for each case in order to allow the detection of odds ratios (ORs) greater than or equal to 2 with a power of 80% and an alpha risk of 5% (95% confidence interval, CI).

Data collection. The following information was collected from the patients' clinical histories and the data base of the ICU: patient age, sex, and origin (home, another hospital, or an old-age residence facility); time interval between admission to the ICU and the appearance of AB infection/colonization; mechanical ventilation; tracheotomy; presence of surgical lesions or skin ulcers; use of invasive procedures or instruments such as central venous catheters, drainage tubes, urinary probes, and/or nasogastric probes; parenteral feeding; underlying illnesses such as diabetes mellitus, neoplasia, chronic pulmonary disease, chronic kidney disease, heart disease, chronic liver disease, chronic neutropenia, parenteral drug addiction; Charlson Index as an indicator of associated comorbidities; patient condition as measured with the APACHE II scale; and any prior antibiotic therapies.

The data on antimicrobial use was obtained from the database of the hospital Pharmacy Department. Cases that had received prior antibiotic therapies were defined as those having been administered antimicrobials during the period between admission to the ICU until the isolation of an AB strain in clinical samples or surveillance cultures. For patients in the control group, prior antibiotic treatment was defined as the use of antibiotics from the time of admission to the ICU until the isolation of an AB strain in their matching case. Antibiotic agents were grouped pharmacologically according to the widely accepted Anatomical Therapeutic Chemical Classification, developed by the Nordic Council of Medicines, which allows for comparisons between distinct active principals or groups [11].

Two parameters were studied regarding exposure levels to antibiotics: the accumulated dose and the average treatment potency. The Defined Daily Dose (DDD) was used as a unit to measure the prescription of antimicrobials and to compare the effects of the accumulated dose and the treatment potency (DDD/day).

Microbiological studies. Identification of the AB strain phenotypes was carried out in the microbiology laboratory

of the HGMC with the aid of an automated Vitek-2 system (BioMérieux® France). Confirmation of the identification, along with the clonality analysis carried out with pulsed-field gel electrophoresis, was performed after deoxyribonucleic acid digestion with the *Apal* enzyme (Takara, Shiga, Japan) at the National Center for Microbiology [12], by using a clamped homogeneous electric field electrophoresis apparatus (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). The study of antimicrobial sensitivity was carried out in the microbiology laboratory of the HGMC by means of microdilution, performed with the automated Vitek-2 system in accordance with the norms described in the Clinical and Laboratory Standards Institute.

We isolated MDR-AB as a strain showing resistance to at least one agent of three or more of the following classes of antimicrobials: broad spectrum cephalosporins (ceftazidime or cefepime), carbapenems (imipenem or meropenem), ampicillin/sulbactam, antipseudomonal penicillins with beta-lactamase inhibitors (piperacillin-tazobactam), fluoroquinolones (ciprofloxacin or levofloxacin), aminoglycosides (gentamycin, tobramycin, or amikacin), colistin, and tetracyclines [13].

Prevention and infection control. An AB infection/colonization surveillance system was established to prevent cross-transmission by health personnel. Infection control methods included strict environmental cleaning (1:10 sodium hypochlorite dilution), effective sterilization of reusable medical equipment, staff formation on proper hand hygiene practices and use of contact precautions, strict patients isolation and surveillance and environmental cultures,

together with effective antibiotics stewardship programs. In a nosocomial outbreak context, locating the source of infection and hospital Unit closure are often essential in order to eradicate it [14].

Statistical analysis.

A. Descriptive phase. The incidence of cases of AB infection/colonization during the outbreak was calculated as accumulated incidence (the ratio between the number of detected cases and total ICU admissions).

B. Bivariate analysis. The response variable (case/control) was related to each of the independent variables by constructing contingency tables. For each table we estimated the statistical significance (chi-square test or Fisher exact test if the expected number of events was less than 5) for categorical variables and t-student test for continuous variables and measured the magnitude of the association as OR and 95%CI.

C. Multivariate analysis. All independent variables that were associated with the response variable with a significance of $p < 0.20$ formed part of the multivariate models of conditional logistic regression. We use a significant change ($p < 0.05$) in the likelihood of the model as input criteria in the final models.

Statistical calculations were made with the aid of the STATA program, version 11.0 (StataCorp LP, Texas, USA).

D. Time series analysis: ARIMA (autoregressive integrated moving average models). Although outbreak lasted 14 months, sporadic cases were detected in the

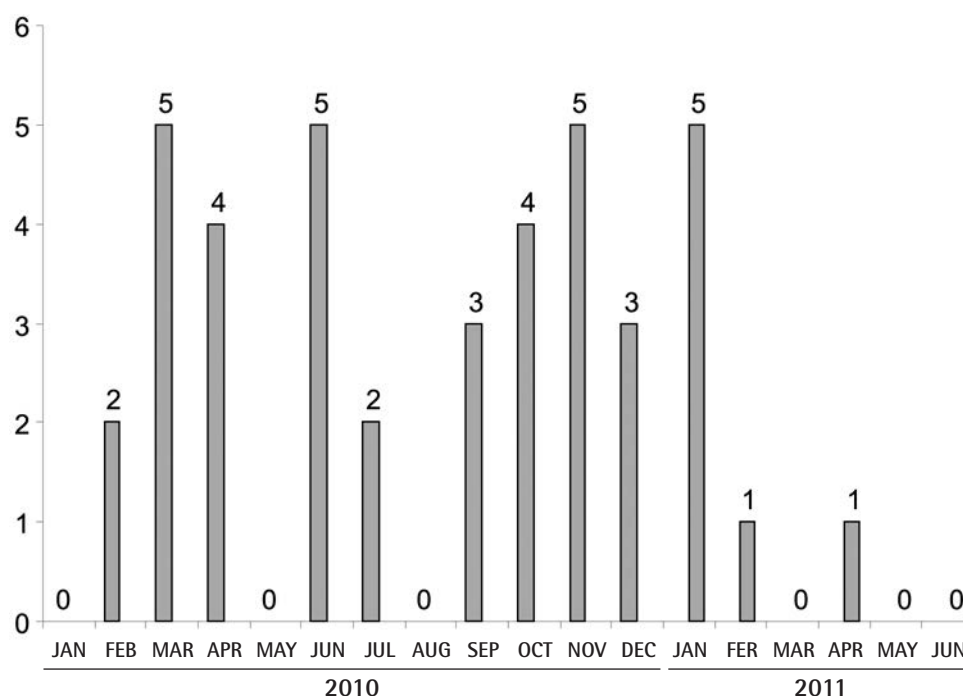


Figure 1 Distribution of monthly cases of new patients with infection/colonization by *A. baumannii*

Table 1	Demographic and clinical data for cases and controls		
	Cases (n=40)	Controls (n=73)	p
Age, media \pm SD	61.5 \pm 15.2	65.3 \pm 16.2	0.23 ^a
Sex, n (%)			0.23 ^b
Men	26 (65%)	39 (53.4%)	
Women	14 (35%)	34 (46.6%)	
Origen, n (%)			0.018 ^b
Home	28 (70%)	65 (89%)	
Another Hospital	12 (30%)	7 (9.6%)	
Nursing homes	-	1 (1.4%)	
Prior admission, n (%)			0.09 ^b
No	9 (22.5%)	28 (38.4%)	
Yes	31 (77.5%)	45 (61.6%)	
Charlson Index score, media \pm SD	0.74 \pm 0.99	0.92 \pm 1.11	0.42 ^a
APACHE II Severity Index score, media \pm SD	20.3 \pm 9.1	12.6 \pm 8.5	<0.001 ^a

SD: standard deviation; ^at-student test; ^b χ^2 test

following years. Therefore, a five-year time series (including the 14 months of the outbreak) was constructed with the monthly incidence of cases of infection/colonization with strains of AB resistant to each antibiotic administered and with the monthly consumption of these antibiotics in the ICU. Each time series was modeled for the construction of different ARIMA models according to the method adapted by Monet and Lozano [15]. Therefore, these models allowed us to determine a possible association between the antibiotic consumption and the appearance of cases of infection/colonization by resistant AB strains, as well to estimate the time interval in which this occurred. The delays for which the association between consumption and resistance was more significant were identified by means of cross-correlation graphs.

RESULTS

We found 40 patients infected or colonized by AB during their stay in the ICU (figure 1). The analysis of AB strains by means of pulsed-field gel electrophoresis detected the presence of 6 circulating clones, with one prevalent epidemic clone of MDR-AB in 30 of the 40 patients (clone 1). Of the 40 patients, 23 (57.5%) developed various types of infections while 17 (42.5%) were colonized solely by this microorganism. The overall incidence of AB infection/colonization in The ICU during the outbreak was 9.0 cases per 1000 patients/day (CI95%: 6.5-12.3 cases per 1000 patients/day). In the years following the outbreak, new cases of AB infection/colonization appeared sporadically, making it necessary to maintain appropriate policies for controlling nosocomial infection in our hospital.

Table 2	Risk factors associated with infection/colonization of <i>Acinetobacter baumannii</i> complex during a nosocomial outbreak		
	Cases (n=40)	Controls (n=73)	p ^a
Intrinsic Factors			
Alcoholism	4 (10%)	4 (5.5%)	0.45
Parenteral Drug Addiction	1 (2.5%)	-	0.35
Liver Disease	2 (5%)	-	0.12
Chronic Renal Failure	10 (25%)	9 (12.3%)	0.09
Heart Disease	10 (25%)	14 (19.2%)	0.48
Chronic Obstructive Lung Disease	8 (20%)	6 (8.2%)	0.08
Neoplasia	2 (5%)	6 (8.2%)	0.71
Diabetes mellitus	10 (25%)	22 (30.1%)	0.56
Neutropenia	1 (2.5%)	-	0.35
Obesity	9 (22.5%)	10 (13.7%)	
Extrinsic Factors			
Central venous catheter	40 (100%)	19 (26%)	<0.001
Parenteral feeding	16 (40%)	2 (2.7%)	<0.001
Urinary probe	40 (100%)	27 (37%)	<0.001
Nasogastric probe	34 (85%)	14 (19.2%)	<0.001
Mechanical ventilation	35 (87.5%)	12 (16.4%)	<0.001
Tracheotomy	7 (17.5%)	-	<0.001
Drains	20 (50%)	9 (12.3%)	<0.001
Surgical lesion	17 (42.5%)	9 (12.3%)	<0.001
Skin lesion or ulcer	16 (40%)	2 (2.7%)	<0.001
Prior antibiotic therapy	40 (100%)	29 (39.7%)	<0.001

^a χ^2 test

In both the cases and the controls there was a predominance of men over women, with a median age of 60 years (Table 1). The two groups presented with a similar frequency of comorbidities (data not shown) and with a low final Charlson Index score with no statistically significant differences (0.74 \pm 0.99 vs. 0.92 \pm 1.11; p=0.42). In contrast, the APACHE severity index was significantly higher in the cases than in controls (20.3 \pm 9.1 vs. 12.6 \pm 8.5; p<0.001) (Table 1).

The cases presented with a higher prevalence of intrinsic risk factors for developing a nosocomial infection, although the difference did not reach statistical significance. The risk factors associated with the development of AB infection/colonization found in our study were: mechanical ventilation; parenteral feeding; greater invasive devices, such as the use of CVCs, probes, and drains; the presence of a tracheostomy, cutaneous ulcers or surgical lesions; and prior antibiotic treatments (Table 2).

Table 3 Bivariate analyses of the individual use of antimicrobials overall and on a daily basis in cases and controls and its association with colonization/infection by <i>Acinetobacter baumannii</i> complex during a nosocomial outbreak						
Antibiotic		Controls		Cases		p ^a
		Media	SD	Media	SD	
Amoxicillin/Clavulanate	DDD	0.3	1.3	1.1	2.2	0.047
	DDD/day	0.1	0.3	0.3	0.5	0.051
Ceftazidime	DDD	0.0	0.0	0.4	2.1	0.230
	DDD/day	0.0	0.0	0.1	0.3	0.040
Ceftriaxone	DDD	0.4	1.7	3.5	6.5	0.005
	DDD/day	0.1	0.5	0.7	1.0	0.004
Imipenem	DDD	0.0	0.0	2.5	5.9	0.011
	DDD/day	0.0	0.0	0.3	0.6	0.004
Levofloxacin	DDD	0.1	0.5	2.7	6.2	0.012
	DDD/day	0.1	0.2	0.4	0.7	0.003
Linezolid	DDD	0.0	0.0	1.5	4.6	0.047
	DDD/day	0.0	0.0	0.2	0.4	0.002
Vancomycin	DDD	0.0	0.2	1.4	3.2	0.009
	DDD/day	0.0	0.1	0.2	0.4	0.003

SD: standard deviation; ^at-student test

In general, greater antibiotic pressure was observed in cases than in controls. All the cases had received previous antibiotic treatment compared to only one of every three controls. The regression analysis of individual use of antibiotics showed that prior treatment with ceftazidime, ceftriaxone, amoxicillin/clavulanate, imipenem, levofloxacin, linezolid, and vancomycin was a risk factor for acquiring AB. This association was observed in both measurements of antibiotic exposure studied (DDD and DDD/day) (Table 3).

Likewise, when analyzed by group of antibiotics, prior treatment with carbapenems, third-generation cephalosporins, penicillins with beta-lactamase inhibitors, glycopeptides, quinolones, and aminoglycosides constituted a risk factor for acquiring AB. These differences remained even after adjusting for patient age and the severity of infection. This association was observed in both measurements of antibiotic exposure studied (Table 4).

The results of the ecological analysis of the association between antibiotic pressure in the ICU and the appearance of resistant strains of AB (by means of ARIMA models) show that the relationship was greatest and statistically significant when the treatment had occurred between 6 months (ceftazidime) and 9 months (imipenem and levofloxacin) prior (Table 5).

Table 4 Differences adjusted for age and severity (APACHE II) of accumulated and daily consumption by groups of antibiotics in cases and controls			
Antibiotic group		Difference (IC95%)	p
Aminoglycosides	DDD	0.59 (-0.002 to 1.45)	0.051
	DDD/day	0.13 (0.05 to 0.21)	0.003
Quinolones	DDD	3.15 (1.20 to 5.10)	0.002
	DDD/day	0.33 (0.13 to 0.53)	0.002
3 ^o generation Cephalosporins	DDD	3.60 (1.70 to 5.50)	<0.001
	DDD/day	0.52 (0.20 to 0.84)	0.002
Glycopeptides	DDD	1.74 (0.79 to 2.69)	<0.001
	DDD/day	0.26 (0.13 to 0.39)	<0.001
Penicillins/β-lactamase inhibitors	DDD	1.11 (0.19 to 2.04)	0.019
	DDD/day	0.15 (-0.01 to 0.31)	0.069
Carbapenems	DDD	4.26 (2.52 to 5.90)	<0.001
	DDD/day	0.43 (0.26 to 0.60)	<0.001

Differences adjusted by means of multiple lineal regression

Table 5 ARIMA model parameters of the dynamic relationship between prior antibiotic treatment and the development of infection/colonization of a resistant strain of <i>Acinetobacter baumannii</i> complex				
Antibiotic	ARIMA model	Time interval (months)	Coefficient (SE)	p
Ceftazidime	(1,0,0)	6	0.446 (0.127)	0.001
Imipenem	(1,0,0)	9	0.026 (0.006)	<0.001
Levofloxacin	(1,0,0)	9	0.225 (0.151)	0.14

SE: standard error

DISCUSSION

Our results show that prior antibiotic treatment is an important risk factor for infection/colonization by AB. Previous use of the antimicrobials analyzed acted like a risk factor regardless of patient age or disease severity in the acquisition of AB infection/colonization. The dynamic and aggregate relationship between the incidence of infection/colonization by antibiotic resistant AB strains and prior antibiotic treatment was significant for intervals of 6 to 9 months.

We also found that disease severity (as measured with APACHE II criteria), along with the presence of catheters, drains, probes, and mechanical ventilation, all were risk factors associated with AB infection/colonization. The use of invasive procedures may give rise to colonization/infection by opportunistic bacteria such as *Acinetobacter* sp., and have

previously been identified as risk factors for the acquisition of this particular microorganism [16–18].

The use of broad-spectrum antibiotics can displace the bacterial flora of patients, thus facilitating colonization/infection by antibiotic resistant strains such as AB. In fact, previously published studies have demonstrated that prior exposure to certain antimicrobials such as third-generation cephalosporins heightens the risk of AB infection/colonization [17,19,20]. This is also true of exposure to carbapenems [17,21,22], fluoroquinolones [17,23], aminoglycosides [17], and glycopeptides [9]. Unfortunately, none of these studies adequately analyzed the dynamic nature of the evolution of resistance in this microorganism in order to establish the time relationship between prior treatment with various antimicrobials and the subsequent development of resistant AB strains [15]. In this sense, it would be helpful to establish analysis protocols to examine the evolution of resistance over prolonged periods of time (minimum: 5 years) by analyzing the small variations that occur within shorter time intervals (monthly). Such studies would allow us to describe the current state of resistance as well as to predict future developments from data on the use of antibiotics in a given setting [15]. With this aim in mind, we conducted a time series analysis to allow us to assess the dynamic relationship between global use of antibiotics in the ICU and the appearance of AB strains that were resistant to each particular antibiotic. This method allowed us to observe how the associations reached their peak and became statistically significant for time intervals of 6 months for ceftazidime and 9 months for imipenem and levofloxacin.

The evolution of resistance thus seems to be associated with prior antibiotic treatment occurring 6 to 9 months before the appearance of resistant AB strains. Previously published ecological studies have associated the increase in the prevalence of pan-resistant AB with increases in the use of certain antibiotics such as carbapenems [24] in a given hospital unit; others have described how the increase in *Acinetobacter* spp. resistant to meropenem was significantly associated with the increased use of broad spectrum cephalosporins [25]. However, these ecological studies used annual rather than monthly aggregates, making it difficult to establish a better understanding of both this association as well as the time frame in which resistance appears. Nowadays, MDR-AB is a matter of growing concern and various studies, based on time series, analyze the influence of antibiotic pressure on the appearance of resistant gram-negative bacilli to cephalosporins and carbapenems, including AB [26,27].

This method of analysis has allowed us to overcome several methodological limitations found in prior research. Although several previously published studies have examined the association between the use of antibiotics and infection/colonization by various multi-drug resistant microorganisms such as AB [28,29], few have used measurements of cumulative dose or therapeutic potency to study how this relationship is affected by prior exposure to antibiotics [22]. In our study we have collected accurate information about antibiotic

exposure, using DDD as a unit of measurement to assess the effect of cumulative dose and therapy potency (DDD/day) in the acquisition of AB. In addition, whereas other studies have found that from the point of view of the dose-response effect, therapy potency was the measurement of antibiotic exposure that presented the greatest association with the highest ORs [22], our results show an association for both of the indicators studied (the cumulative dose, or DDD, and the therapeutic potency, or DDD/day), although the association was greater for the latter. We feel that this information could be useful when designing therapeutic regimens, not only for knowing whether the use of a given antibiotic is related to the appearance of AB, but also for calculating which of the two variables is more important in this process.

One of the limitations of our study is the inclusion of asymptomatic, but colonized patients within the case group. This inclusion could be considered inappropriate by some researchers; however, following the criteria of previous authors [8,22], we have decided to include them, considering colonization to be a precursor to AB infection and also because these patients tend to constitute an important transmission reservoir. We likewise feel that including the active epidemiological surveillance culture samples provides valuable information on colonization, allowing us to overcome the limitations of prior studies that only include data on AB isolated in clinical samples. Such studies may have thus mistakenly considered colonized patients with no clinical manifestations to have been controls [30].

The paired case-control design allowed us to minimize, if not wholly eliminate, the effect of confounding variables, (the ICU personnel, equipment and organizational aspects, infection control and prevention, or colonization pressure in the ICU), since these were the same for each case and its two paired controls, so that the risk of infection is similar. Given the small size of our ICU, it would be recommended to verify these results in ICUs with a greater number of beds.

Our work has important practical implications since it allows for the identification of the causal factors associated with this type of infection, some of which are modifiable, such as antibiotic pressure. The restriction of the use of broad-spectrum antimicrobials (whenever possible) and antibiotic rotation policies are both measures aimed at the rational use of antimicrobials to reduce the evolution of resistant strains [31]. It would be advisable to carry out a multicenter study to confirm the consistency of our findings on the dynamic relationship between antibiotic pressure and the outbreak of a resistant AB and to find out whether a separate relationship exists in other centers, either within a 6 to 9-month timeframe or a similar interval. This would allow us to elaborate predictive models to help elucidate and manage the antibiotic policies of each hospital.

In conclusion, our results verify that the epidemic distribution of a microorganism such as AB can be predicted, monitored, and its causes known in a hospital setting. We have also demonstrated the association between AB infection/

colonization and previous antibiotic therapy, both at the level of individual use and at an ecological level in an ICU.

FUNDING

This study is part of a doctoral thesis that was supported by the Foundation for Health Research of Castilla - La Mancha [AN 2010/43].

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that they have no conflicts of interest.

REFERENCES

- Bergogne-Bérézin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. Clin Microbiol Rev 1996;9(2):148–65. doi: 10.1128/CMR.9.2.148-165.1996.
- Falagas ME, Karveli E. The changing global epidemiology of *Acinetobacter baumannii* infections: a development with major public health implications. Clin Microbiol Infect 2007;1: 117–9. PMID: 17328722
- Fournier PE, Richet H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. Clin Infect Dis 2006;42(5):692–9. doi: 10.1086/500202.
- Wilson SJ, Knipe CJ, Ziegler MJ, Gabehart KM, Goodman JE, Volk HM et al. Direct costs of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in the burn unit of a public teaching hospital. Am J Infect Control 2004;32(6): 342–4. doi: 10.1016/j.ajic.2004.02.008.
- Villegas MV, Hartstein AI. *Acinetobacter* outbreaks, 1977–2000. Infect Control Hosp Epidemiol 2003;24(4):284–95. doi: 10.1086/502205.
- Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev 2008;21(3):538–82. doi: 10.1128/CMR.00058-07.
- Monterrubio-Villar J, González-Velasco C, Valdezate-Ramos S, Córdoba-López A, Villalón-Panzano P, Saéz-Nieto JA. Outbreak of multi-resistant *Acinetobacter baumannii* in a polyvalent intensive care unit: clinical, epidemiological analysis and PFGE-printing evolution. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2009;28(10):1281–4. doi: 10.1007/s10096-009-0777-6.
- Valencia R, Arroyo LA, Conde M, Aldana JM, Torres M-J, Fernández-Cuenca F, et al. Nosocomial outbreak of infection with pan-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a tertiary care university hospital. Infect Control Hosp Epidemiol 2009;30(3):257–63. doi: 10.1086/595977.
- Torres HA, Vázquez EG, Yagüe G, Gómez JG. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*: clinical update and new highlights. Rev Esp Quimioter 2010;23(1):12–9. PMID: 20232019
- Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. Am J Infect Control 2008;36(5):309–32. doi: 10.1016/j.ajic.2008.03.002.
- WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, Guidelines for ATC classification and DDD assignment 2021. Oslo, Norway, 2020. Available at: https://www.whocc.no/filearchive/publications/2021_guidelines_web.pdf
- Villalón P, Valdezate S, Medina-Pascual MJ, Rubio V, Vindel A, Saez-Nieto JA. Clonal diversity of nosocomial epidemic *Acinetobacter baumannii* strains isolated in Spain. J Clin Microbiol 2011;49(3):875–82. doi: 10.1128/JCM.01026-10.
- Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect 2012;18(3):268–81. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x.
- Chen CH, Lin LC 1, Chang YJ, Chen YM, Chang CY, Huang CC. Infection Control Programs and Antibiotic Control Programs to Limit Transmission of Multi-Drug Resistant *Acinetobacter baumannii* Infections: Evolution of Old Problems and New Challenges for Institutes. Int J Environ Res Public Health 2015;12:8871–82; doi:10.3390/ijerph120808871
- López-Lozano JM, Monnet DL, Yagüe A, Burgos A, Gonzalo N, Campillos P, et al. Modelling and forecasting antimicrobial resistance and its dynamic relationship to antimicrobial use: a time series analysis. Int J Antimicrob Agents 2000;14(1):21–31. doi: 10.1016/S0924-8579(99)00135-1.
- Joly-Guillou M-L. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. Clin Microbiol Infect 2005;11:868–73. doi: 10.1111/j.1469-0691.2005.01227.x
- Fournier PE, Richet H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. Clin Infect Dis 2006;42(5):692–9. doi: 10.1086/500202.
- Bergogne-Bérézin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. Clin Microbiol Rev 1996;9(2):148–65. doi: 10.1128/CMR.9.2.148-165.1996.
- Manikal VM, Landman D, Saurina G, Oydn E, Lal H, Quale J. Endemic carbapenem-resistant *Acinetobacter* species in Brooklyn, New York: citywide prevalence, interinstitutional spread, and relation to antibiotic usage. Clin Infect Dis 2000;31(1):101–6. doi: 10.1086/313902.
- Husni RN, Goldstein LS, Arroliga AC, Hall GS, Fatica C, Stoller JK, et al. Risk factors for an outbreak of multi-drug-resistant *Acinetobacter* nosocomial pneumonia among intubated patients. Chest 1999;115(5):1378–82. doi: 10.1378/chest.115.5.1378.
- del Mar Tomas M, Cartelle M, Pertega S, Beceiro a, Linares P, Canle D, et al. Hospital outbreak caused by a carbapenem-resistant strain of *Acinetobacter baumannii*: patient prognosis and risk-factors for colonisation and infection. Clin Microbiol Infect 2005;11(7):540–6. doi: 10.1111/j.1469-0691.2005.01184.x.
- Tsai H-T, Wang J-T, Chen C-J, Chang S-C. Association between antibiotic usage and subsequent colonization or infection of extensive drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: a matched case-control study in intensive care units. Diagn Microbiol Infect

- Dis 2008;62:298–305. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2008.06.017.
23. Villers D, Espaze E, Coste-Burel M, Giauffret F, Ninin E, Nicolas F, et al. Nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections: microbiological and clinical epidemiology. *Ann Intern Med* 1998;129(3):182–9. doi: 10.7326/0003-4819-129-3-199808010-00003.
 24. Hsueh P-R, Teng L-J, Chen C-Y, Chen W-H, Yu C-J, Ho S-W, et al. Pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* causing nosocomial infections in a university hospital, Taiwan. *Emerg Infect Dis* 2002;8(8):827–32. doi: 10.3201/eid0805.020014.
 25. Hsueh P-R, Chen W-H, Luh K-T. Relationships between antimicrobial use and antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria causing nosocomial infections from 1991–2003 at a university hospital in Taiwan. *Int J Antimicrob Agents* 2005;26(6):463–72. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2005.08.016.
 26. Tóth H, Fésus A, Kungler-Gorács O, Balázs B, Majoros L, Szarka K, et al. Utilization of vector autoregressive and linear transfer models to follow up the antibiotic resistance spiral in Gram-negative bacteria from cephalosporin consumption to colistin resistance. *Clin Infect Dis* 2019;69(8):1410–21. doi: 10.1093/cid/ciy1086.
 27. López-Lozano JM, Lawes T, Nebot C, Beyaert A, Bertrand X, Hocquet D, et al; THRESHOLDS study group. A nonlinear time-series analysis approach to identify thresholds in associations between population antibiotic use and rates of resistance. *Nat Microbiol* 2019;4(7):1160–72. doi: 10.1038/s41564-019-0410-0.
 28. Baran G, Erbay A, Bodur H, Ongürü P, Akinci E, Balaban N, et al. Risk factors for nosocomial imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Int J Infect Dis* 2008;12(1):16–21. doi: 10.1016/j.ijid.2007.03.005.
 29. Cisneros JM, Rodríguez-Baño J, Fernández-Cuenca F, Ribera A, Vila J, Pascual A, et al. Risk-factors for the acquisition of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Spain: a nationwide study. *Clin Microbiol Infect* 2005;11(11):874–9. doi: 10.1111/j.1469-0691.2005.01256.x.
 30. Tacconelli E, Cataldo MA, De Pascale G, Manno D, Spanu T, Cambieri A, et al. Prediction models to identify hospitalized patients at risk of being colonized or infected with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii calcoaceticus* complex. *J Antimicrob Chemother* 2008;62:1130–7. doi: 10.1093/jac/dkn289.
 31. Rodríguez-Baño J, García L, Ramírez E, Martínez-Martínez L, Muñiain MA, Fernández-Cuenca F, et al. Long-term control of hospital-wide, endemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* through a comprehensive “bundle” approach. *Am J Infect Control*. 2009;37:715–22. doi: 10.1016/j.ajic.2009.01.008.

Alberto Pérez-Rubio¹
Jose Javier Castrodeza²
José María Eiros³

Elección de vacuna antigripal en personas mayores de 65 años. Análisis de informes de comités asesores de vacunación internacionales

¹Complejo Asistencial de Ávila.

²Servicio de Medicina Preventiva. Hospital Clínico Universitario de Valladolid.

³Servicio de Microbiología. Hospital Universitario "Río Hortega", Valladolid.

Article history

Received: 11 May 2021; Revision Requested: 19 July 2021; Revision Received: 26 July 2021; Accepted: 4 July 2021;
Published: 21 September 2021

RESUMEN

Introducción. Las recomendaciones anuales sobre el uso de la vacuna frente a la gripe en diferentes países son desarrolladas por grupos de trabajo específicos de gripe dentro de sus Comités Asesores de Inmunización. Los adultos de 65 años o más se incluyen en los grupos para los que se recomienda particularmente la vacunación debido a la morbilidad asociada a este grupo de pacientes. Se dispone de una variedad de vacunas antigripales, algunas de las cuales de inmunidad reforzada, están autorizadas para su uso solo en este grupo de edad específico, donde la respuesta inmune a las vacunas tradicionales puede ser subóptima. Analizamos las principales recomendaciones anuales sobre el uso de la vacuna antigripal emitido por comités de asesoramiento sobre inmunización para población mayor de 65 años.

Material y métodos. Se han seleccionado las últimas guías de vacunación antigripal (2020-2021) y se han revisado las recomendaciones relativas a mayores de 65 años publicadas por los principales comités asesores de vacunación.

Resultados. El Comité asesor del Reino Unido (JCVI) recomienda el uso de Vacuna antigripal inactivada tetravalente con adyuvante (aQIV) o Vacuna antigripal inactivada tetravalente de dosis alta (QIV-HD). El comité de EEUU (ACIP) no expresa preferencia por ningún tipo de vacuna. El comité australiano (ATAGI) recomienda preferentemente la vacuna frente a la gripe con adyuvante. Los comités asesores de Canadá y Alemania (NACI, STIKO) y el Centro de Control de Enfermedades Europeo (ECDC) recomienda usar cualquiera de las vacunas contra la gripe apropiadas para la edad disponibles, aunque apuesta por la utilización de vacuna inactivada tetravalente contra la gripe de alta dosis a nivel individual para mayores de 65 años.

Conclusión. Se precisan mayores estudios y una mejora en la calidad de los mismos que analicen las distintas vacunas disponibles y la comparabilidad de las mismas, aunque se recomienda, con carácter general, la utilización de vacunas antigripales de inmunidad reforzada en población mayor de 65 años.

Palabras clave: vacuna, gripe, comité

Choice of influenza vaccine in people over 65 years old. Analysis of reports from international vaccination advisory committees

ABSTRACT

Introduction. Annual recommendations on influenza vaccine use in different countries are developed by influenza-specific working groups within their Immunization Advisory Committees. Adults aged 65 years and over are included in the groups for which vaccination against influenza is particularly recommended due to the morbidity associated. A variety of influenza vaccines are available, some of which boosted immunity, are licensed for use only in this specific age group, where the immune response to traditional influenza vaccines may be suboptimal. We analyze the main annual recommendations on the use of the influenza vaccine issued by advisory committees on immunization for the population over 65 years of age.

Material and methods. The latest influenza vaccination guidelines have been selected and the recommendations for people over 65 years of age published by the main vaccination advisory committees have been reviewed.

Results. The UK Advisory Committee (JCVI) recommends the use of Quadrivalent Inactivated Influenza Vaccine with Adjuvant (aQIV) or High Dose Quadrivalent Inactivated Influenza Vaccine (QIV-HD). The US committee (ACIP) does not express a preference for any type of vaccine. The Australian committee (ATAGI) preferably recommends adjuvanted influenza vaccine. The advisory committees of Canada and Germa-

Correspondencia:
Alberto Pérez-Rubio
Complejo Asistencial de Ávila. Paseo Juan Carlos I. 05003. Ávila.
E-mail: Albertoprz@gmail.com

ny (NACI, STIKO) and the European Center for Disease Control (Ecdc) recommend using any of the age-appropriate flu vaccines available, although they bet on the use of inactivated quadrivalent flu vaccine high dose at the individual level for those over 65 years.

Conclusion. It is necessary further studies and improvement in their quality that analyze the different vaccines available and their comparability, although the use of reinforced immunity vaccines is generally recommended in the population over 65 years of age.

Keywords: vaccine, influenza, committees

INTRODUCCIÓN

La gripe estacional es una enfermedad infecciosa que circula anualmente y está asociada con una considerable carga sanitaria y económica a nivel mundial [1]. Se trata de una infección respiratoria causada fundamentalmente por los virus de la gripe tipos A y B, que pueden originar una enfermedad leve a severa y conllevar hospitalización y muerte. Ciertas poblaciones, como los niños pequeños, los adultos mayores y aquellos con patologías crónicas, pueden tener un mayor riesgo de sufrir complicaciones graves, como neumonía viral, neumonía bacteriana secundaria y empeoramiento de afecciones médicas subyacentes [2-4].

En todo el mundo, las epidemias anuales provocan aproximadamente mil millones de casos de gripe, de tres a cinco millones de casos de enfermedades graves y entre 290.000 y 650.000 muertes. Se estima que la tasa de ataque anual global es del 5% al 10% en adultos y del 20% al 30% en niños [5]. La gripe también representa una causa importante de ausentismo en el trabajo y la escuela [6,7]. La hospitalización atribuible a la gripe para adultos de 65 años o más se estima en 125-228 por cada 100.000 personas sanas [8] y las tasas de mortalidad atribuidas a la gripe aumentan con la edad [9].

El medio más eficaz de prevenir la gripe estacional es mediante la vacunación específica para cada cepa circulante [10]. La eficacia de las vacunas contra la gripe aprobadas depende de una serie de parámetros, incluida una buena concordancia en la predicción de los virus de la gripe circulantes con los utilizados en la composición de las vacunas [11]. Otros factores incluyen la edad, la competencia inmunológica, las infecciones y las vacunaciones antigripales previas, las propiedades patógenas de los virus circulantes y el tipo de vacuna utilizada. Los efectos de la "impronta" inmunitaria (es decir, la impronta del contacto anterior con el antígeno del cual el paciente se ha recuperado) también tienen un efecto importante impacto en la inmunidad [12,13]. La eficacia de las vacunas contra la gripe generalmente se reduce en pacientes mayores, principalmente debido a la inmunosenescencia [14,15].

Las recomendaciones anuales sobre el uso de la vacuna contra la gripe en diferentes países son desarrolladas por grupos de trabajo específicos de gripe dentro de sus Comités Asesores de Inmunización. Las recomendaciones se desarrollan sobre la base de una revisión de una variedad de cuestiones,

que pueden incluir: la carga de la enfermedad de la gripe y las poblaciones objetivo para la vacunación; eficacia, efectividad, inmunogenicidad y seguridad de las vacunas contra la gripe; calendarios de vacunación; y otros aspectos de la inmunización [16], si bien existe una recomendación general de vacunación anual de rutina contra la gripe para todas las personas de ≥ 6 meses que no tienen contraindicaciones [17], siendo especialmente eficiente la vacunación en edades infantiles y adolescentes [18].

Los adultos de 65 años o más, que se incluyen en los grupos para los que se recomienda particularmente la vacunación frente a la gripe debido a que la respuesta inmune a las vacunas tradicionales contra la influenza puede ser subóptima [19,20], dispone de una variedad de vacunas contra la gripe algunas de las cuales están autorizadas para su uso solo en grupos de edad específicos.

Las vacunas adyuvadas surgen para incrementar la respuesta inmune tras la vacunación de gripe. A los antígenos gri-pales se incorpora una sustancia que incrementa la respuesta inmunitaria. El más experimentado y de seguridad probada en vacunas de gripe es el MF59, una emulsión de aceite de escualeno con un bajo contenido oleoso, no viscosa y fácil de inyectar [21]. Este adyuvante induce la secreción de citocinas, aumentando el reclutamiento de células inmunitarias en el lugar de inyección [21,22], lo cual permite una respuesta inmune de larga duración de las células de memoria [22], niveles elevados de anticuerpos protectores [21, 23] y un mayor grado de inmunización cruzada [23]. Otra estrategia para mejorar la respuesta de anticuerpos en los ancianos ha sido el uso de vacunas antigripales de alta dosis. Estas vacunas administran dosis más altas de antígeno viral que las vacunas de dosis estándar (típicamente 60 lg de hemaglutinina por cepa en comparación con 15 lg en las vacunas de dosis estándar) para inducir una mayor respuesta inmune [19,25,26].

Estas estrategias, junto con vacunas fabricadas a través de nuevos sustratos que incluyen el uso de cultivos de células de mamíferos y proteínas HA recombinantes producidas en células de insectos mediante la expresión de baculovirus [10,26], pretenden mejorar la respuesta inmune en población de edad avanzada. Por tanto, la elección de la vacuna antigripal se ha vuelto más compleja. Entonces, ¿cuál es la mejor opción para vacunar a un adulto a partir de los 65 años? En esta contribución pretendemos analizar las principales recomendaciones anuales sobre el uso de la vacuna antigripal emitido por comités de asesoramiento sobre inmunización.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han revisado las últimas guías publicadas de vacunación antigripal (2020-2021) analizando las recomendaciones de vacunación relativas a mayores de 65 años publicadas por los comités asesores de vacunación del Reino Unido (Joint Committee on Vaccination and Immunisation-JCVI), Alemania (Standing Committee on Vaccination - STIKO en alemán), Canadá (National Advisory Committee on Immunization-NACI),

EEUU (Advisory Committee on Immunization Practices -ACIP) y Australia (Australian Technical Advisory Group on Immunisation-ATAGI), y un informe específico de revisión bibliográfica solicitado por el Centro para el Control de Enfermedades Europeo (ECDC), analizando las preferencias de utilización de una vacuna entre las disponibles para ese rango de edad.

RESULTADOS

Comité asesor de inmunización de Canadá (NACI) [16]. Este organismo recomienda usar cualquiera de las vacunas contra la gripe apropiadas para la edad disponibles, aunque apuesta por la utilización de vacuna inactivada tetravalente contra la gripe de alta dosis a nivel individual para mayores de 65 años, dada la carga de la enfermedad de gripe A (H3N2) y la buena evidencia de su mejor protección en estudios desarrollados en adultos de 65 años o más [27,28].

Para la toma de decisiones a nivel del programa de salud pública, NACI propone utilizar cualquiera de las vacunas frente a la gripe disponibles, sin haber evidencia suficiente sobre el valor incremental de diferentes vacunas contra la gripe.

Grupo asesor técnico australiano sobre inmunización (ATAGI) [29]. El comité asesor australiano recomienda, para adultos mayores de 65 años, preferentemente la vacuna contra la gripe con adyuvante sobre la vacuna frente a la gripe estándar.

Comité asesor para la práctica de la inmunización en EEUU (ACIP) [30]. El ACIP no expresa preferencia por ningún tipo de vacuna. Para las personas mayores de 65 años recomienda cualquier formulación de vacuna inactivada apropiada para la edad (dosis estándar o dosis alta, trivalente o tetravalente, sin adyuvante o adyuvante o RIV4), siendo cualquiera de ellas una opción aceptable. Se seguirá revisando los datos sobre la eficacia y efectividad de estas vacunas a medida que surja más información por si tiene que variar sus recomendaciones para futuras campañas de vacunación antigripal.

Informe técnico europeo ECDC [31]. El informe señala, en relación a la utilización de vacunas inactivadas con adyuvante, que hay una ausencia de evidencia de alta calidad con respecto a la eficacia de las vacunas frente a la gripe con adyuvante MF59®. Si bien los datos muestran que en general son más efectivas que la no vacunación para reducir el riesgo de gripe confirmada por laboratorio y resultados indirectos adicionales, su efectividad en comparación con las vacunas tradicionales es incierta y se basa en datos limitados. Las vacunas antigripales con adyuvante MF59® están asociadas con más reacciones locales y sistémicas en comparación con las vacunas tradicionales, lo cual es consistente con los efectos conocidos de otras formulaciones de vacunas con adyuvante.

La utilización de vacunas trivalente de dosis alta tiene una mayor eficacia relativa para prevenir la gripe en comparación con las vacunas antigripales trivalentes de dosis estándar en adultos mayores de 65 años o más (VE = 24%, IC del 95%: 10 a 37) [32] con un nivel de evidencia moderado según el informe del ECDC. Según estimaciones agrupadas, las vacunas trivalen-

tes y tetravalentes de dosis alta se asociaron con tasas significativamente más altas de una variedad de eventos adversos locales y sistémicos en comparación con sus equivalentes de dosis estándar trivalente y tetravalente (evidencia de certeza moderada).

Los hallazgos de esta revisión sugieren que es probable que las vacunas frente a la gripe a base de células sean efectivas en los estudios donde se comparaba con la no vacunación. La evidencia de efectividad se limitó a tres estudios que informaron de datos de gripe confirmada por laboratorio: dos en poblaciones adultas y una específicamente en adultos mayores de 65 años [33]. En general, los resultados fueron contradictorios. El perfil de seguridad de las vacunas contra la influenza derivadas de células parece muy similar a las vacunas contra la influenza tradicionales.

Los datos relacionados con la eficacia o efectividad de las vacunas contra la influenza HA recombinantes se limitaron a dos ECA de eficacia dentro de esta revisión. Se encontró que el HA recombinante proporciona un mayor efecto protector contra la gripe en general en comparación con ninguna vacuna y con la vacunación tradicional contra la influenza (evidencia de certeza moderada). En el último caso, se especula que este efecto puede ser atribuible a la restricción de mutaciones observadas con huevo vacunas o la dosis más alta de antígeno observada en este tipo de vacuna contra la influenza [27,34]. Colectivamente, los resultados de estos estudios parecen sugerir que las vacunas recombinantes HA pueden ofrecer una mejor protección que ninguna vacuna o vacunas antigripales estándar con alguna posible protección cruzada para variantes de deriva.

Comité permanente de vacunación de Alemania (STIKO) [35]. El STIKO asegura que la base de evidencia para la eficacia y seguridad comparativas entre las vacunas disponibles es mejor para la vacuna de dosis alta que para las otras tres vacunas mejoradas contra la gripe (adyuvante MF-59, basada en células y recombinante), lo que está respaldado por los nuevos estudios presentados en la guía. Así, se presentan los datos de un ECA y de ocho estudios no aleatorios para la vacuna de dosis alta, lo que demuestra que es leve pero significativamente superior a la vacuna convencional frente a criterios de valoración confirmados por laboratorio y no confirmados por laboratorio. Esta afirmación no se puede aplicar actualmente con este nivel de certeza a las otras vacunas, ya que los datos de los ECA (comparándolos con la vacuna convencional) están ausentes (vacuna basada en células con adyuvante MF59) o la eficacia no se demostró en el ECA para mayores de 65 años (vacuna recombinante); Además, los correspondientes ensayos no aleatorios mostraron resultados muy variados. La vacuna de dosis alta mostró una mayor reactogenicidad en comparación con la vacuna convencional, pero esto solo se refería a las reacciones locales, no sistémicas.

El STIKO ha concluido que la calidad de la evidencia para la vacuna de dosis alta puede clasificarse como alta (criterio de valoración: prevención de la influenza confirmada por laboratorio en adultos ≥ 60 años). En las otras vacunas mejoradas, la

Tabla 1 Recomendaciones vacunación antigripal en población mayor de 65 años emitidas por distintos comités asesores de vacunación internacionales.

Comité Asesor/ informe	Recomendación expresa de vacunación a personas mayores de 65 años	Recomendación de utilización de vacuna más inmunogénica en población mayor de 65 años	Preferencia de selección de un tipo de vacuna más inmunogénica en población mayor de 65 años
NACI	SI	SI	Alta dosis
ATAGI	SI	SI	Adyuvada
ACIP	SI	NO	no
eCDC	SI	SI	Alta dosis
STIKO	SI	SI	Alta dosis
JCVI	SI	SI	Alta dosis/Adyuvada

Comité asesor de inmunización de Canadá (NACI). Comité asesor para la práctica de la inmunización en EEUU (ACIP). Grupo asesor técnico australiano sobre inmunización (ATAGI). Informe técnico europeo del centro para control de enfermedades europeo (ECDC). Comité permanente de vacunación de Alemania (STIKO). Comité conjunto de vacunación e inmunización (JCVI)

calidad de la evidencia se clasificó de baja a moderada según el criterio de valoración.

Comité conjunto de vacunación e inmunización (JCVI) [36]. Para la vacunación de personas de 65 años o más, el JCVI recomienda el uso de Vacuna antigripal inactivada tetravalente con adyuvante (aQIV) o Vacuna antigripal inactivada tetravalente de dosis alta (QIV-HD) sin definir preferencia.

La evidencia disponible indica un beneficio adicional del uso de aQIV o QIV-HD en aquellos individuos de 65 años o más, en comparación con dosis estándar de trivalente inactivado en cultivo de huevos y vacunas tetravalentes (TIVe / QIVe).

Al considerar una preferencia entre QIV-HD y aQIV, los datos disponibles comparando estos son pocos, algo inconsistentes, no están disponibles durante varias temporadas, están en riesgo de sesgo, y están limitados por el uso de criterios de valoración de la influenza no confirmados por laboratorio.

Por lo tanto, el nivel de incertidumbre en la evidencia disponible se considera demasiado grande para permitir una recomendación preferencial entre las vacunas.

Si aQIV o QIV-HD no están disponibles, la vacuna tetravalente de cultivo celular de influenza (QIVc) y la vacuna tetravalente recombinante contra la influenza (QIVr) se consideran aceptables alternativas y son adecuados para su uso en este grupo de edad. QIVc y QIVr se consideran preferible a las vacunas estándar contra la influenza de cultivo de huevos (TIVe / QIVe) en este grupo de edad.

El comité concluye que se requieren más datos comparativos, preferiblemente del mismo país en múltiples temporadas y con criterios de valoración de influenza confirmados por laboratorio, para respaldar la consideración de la eficacia relativa de aQIV, en comparación con QIV-HD y para QIVc y QIVr.

En la tabla 1 se resume las principales recomendaciones de vacunación antigripal en la población mayor de 65 años emitidas por las principales comités asesores analizadas y su preferencia por la utilización de algún tipo de vacuna específica para ese tramo etario.

DISCUSIÓN

La singularidad de la población mayor de 65 años en relación a la vacunación antigripal ha sido contemplada en todas las recomendaciones de vacunación antigripal desde hace cuatro décadas [35], inicialmente con el fomento de la vacunación en este grupo de edad, para posteriormente dirigirse la recomendación a la utilización de diferentes tipos de vacuna, más inmunogénicas, que permitan una mayor efectividad en un colectivo más vulnerable, donde la infección gripal puede tener mayor repercusión.

Debido a la alta carga de morbilidad de la gripe, una eficacia de la vacuna moderadamente mejorada (rVE = 15%) conduce a una reducción de la carga de morbilidad en la población incluso en una temporada de gripe de baja gravedad, de ahí la importancia que tiene la utilización de vacunas más efectivas. Así, STIKO estima que en una temporada se podrían prevenir 15 muertes y 27 hospitalizaciones en Alemania, si se utilizan vacunas antigripales más eficaces en adultos ≥ 60 años, evitando en una temporada media 162 muertes y 314 hospitalizaciones para todas las edades. Los cálculos concluyen que vacunar a personas mayores de 60 años y un rVE = 15% de las vacunas mejoradas contra la gripe sería dos veces más rentable que las vacunas convencionales contra la influenza con una relación costo-efectividad máxima aceptable de 50.000 / AVAC [35], si bien son necesarios más estudios de eficiencia para determinar la preferencia entre los distintos tipos de vacuna disponibles.

Se asume por parte de las guías analizadas una tasa ligeramente mayor de reacciones locales transitorias asociadas con el uso de una vacuna contra la gripe de inmunidad reforzada. Por tanto, los médicos deben consultar a sus pacientes mayores de 65 años y explicarles la mejor eficacia, pero también los posibles efectos adversos, especialmente cuando se trata de una vacunación que debe repetirse todos los años. Es importante dar a los pacientes un asesoramiento integral, explicando, los posibles efectos adversos para mantener su disposición a vacunarse [37]. A pesar de estos efectos adversos leves, la

aceptación por una vacuna que ofrece una mayor protección puede aumentar y conducir a una mejora en las coberturas de vacunación de esta población, y más en los últimos años donde se ha producido un descenso en las cifras de vacunación [38], estando aún lejos de las recomendaciones de vacunación del 75 % [39].

Todos los documentos analizados provienen del posicionamiento de los grupos de expertos específicos de cada uno de los comités asesores de vacunaciones de los países analizados. Este trabajo no pretende realizar una revisión sistemática de la literatura en relación a la utilización de una vacuna frente a otra, sino únicamente presentar las recomendaciones emitidas, por lo que a juicio de los autores son los principales comités asesores. En el caso de Europa, al carecer de un organismo específico, el documento de consenso surge de un proceso de colaboración ECDC/EU National Immunisation Technical Advisory Groups (NITAG) con el objetivo de revisar de forma conjunta el nivel de evidencia científica y colaborar en la generación de nueva evidencia científica en relación a la vacunación frente a la gripe en mayores de 65 años. En el caso de España, la Ponencia de Vacunas y Registro de vacunas, ejerce de órgano asesor a la Comisión de Salud Pública del Consejo Interterritorial del Ministerio de Sanidad, pero no ha emitido ningún informe público acerca del objeto de este trabajo, y deja en mano de las distintas comunidades autónomas las estrategias de vacunación en su población. Distintas Comunidades autónomas utilizan vacunas de inmunidad reforzada en su población mayor de 65 años [40-42], pero sólo la Comunidad Valenciana emite una preferencia de utilización de vacuna antigripal de alta carga en población mayor de 65 años institucionalizada sobre la vacuna adyuvada, y la preferencia de utilización de la vacuna adyuvada en población mayor de 65 años no institucionalizada sobre el resto de vacunas antigripales [43].

Las recomendaciones emitidas por el comité canadiense y alemán, así como el informe emitido por el ECDC se posicionan a favor de la utilización, a nivel individual, en este grupo de edad vacunas antigripales de alta carga frente a otras vacunas. Los estudios revisados ofrecen mejores resultados, ya sea disminuyendo el número de ILI, de muertes relacionadas con gripe y/o hospitalizaciones por cualquier causa, con un buen nivel de evidencia. A nivel poblacional, los programas de salud pública necesitan una mayor evaluación y recomiendan la vacunación con cualquier vacuna disponible. Así, el Ministerio Federal de Salud de Alemania ha recomendado todas las vacunas tetravalentes inactivadas para mayores de 60 años [44].

El informe del ECDC manifiesta una evidencia limitada la efectividad de las vacunas contra la gripe con adyuvante MF59® en comparación con sus equivalentes sin adyuvante, aunque según refiere la ficha técnica los títulos de IHA son considerablemente más elevados contra las tres cepas homólogas de la gripe después de la vacunación en los sujetos que recibieron vacuna trivalente adyuvada frente a los que recibieron la vacuna antigripal sin adyuvante [45] y con respecto a las hospitalizaciones relacionadas con la gripe, las vacunas adyuvadas con MF59® parecieron superiores a la no vacunación. El informe concluye que la base de evidencia de la eficacia y efectividad de las vacunas

antigripales más nuevas y mejoradas es limitada. Según la evidencia revisada por ellos es probable que estas vacunas brinden una mayor protección que la no vacunación. La evidencia con respecto a la comparabilidad de estas vacunas con las vacunas tradicionales es incierta debido a la escasez de literatura disponibles y a la heterogeneidad clínica y estadística. Se ha identificado un gran número de estudios potencialmente relevantes puestos en marcha, lo que destaca la necesidad de actualizar esta revisión en un futuro próximo.

El Reino Unido sigue manteniendo la necesidad de utilización de vacunas más inmunogénicas en este grupo de edad, y establece su preferencia de manera indistinta entre vacunas antigripales de alta carga o adyuvadas con MF59. El gobierno australiano utiliza para su población mayor la vacuna adyuvada, si bien no valoran la utilización de la vacuna antigripal de alta carga al no estar disponible en ese país para la temporada 2021, y los EEUU insisten en la necesidad de vacunación a este colectivo sin preferencia a ninguna vacuna, aunque manifiestan que la vacuna antigripal de alta carga es la más ampliamente estudiada. Pese a esto, se sigue manteniendo la recomendación de utilización de vacunas adyuvadas en este colectivo.

En esta línea, el Ministerio de Salud Italiano destaca la utilización de vacunas de alta carga o adyuvadas para la población mayor de 65 años como únicas vacunas especialmente indicadas en este colectivo [46].

La heterogeneidad mostrada en todas las vacunas analizadas, al considerar los datos de la gripe A (H3N2) específicamente no es inesperada, dada la deriva antigénica conocida asociada con este subtipo en particular [47], parece respaldar las directivas anteriores con respecto a que la piedra angular de la eficacia de la gripe, ante todo, es la precisión de la predicción de las cepas circulantes y el grado de desviación dentro de la temporada [19,48,49].

Los estudios analizados sobre la utilización de vacunas elaboradas a base de células valoran positivamente la eficacia en la prevención de la gripe confirmada por laboratorio en comparación con la no vacunación (evidencia de certeza moderada). Los estudios de comparación con vacunas antigripales tradicionales presentan poca potencia para evidenciar diferencias en el efecto [50], aunque se postula que puedan ser más efectivas que las tradicionales a base de huevo debido a la reducción de la mutación antigénica durante la producción de la vacuna [27].

Por último parece oportuno señalar que las personas mayores de 65 años deben de ser vacunadas contra la gripe con una vacuna tetravalente inactivada o con cualquiera de las vacunas disponibles con la combinación de antígenos recomendada por la Organización Mundial de la Salud, y en la medida de las posibilidades con una vacuna que pueda aportar un mayor beneficio a esta población.

CONCLUSIONES

- Se debe mantener y fomentar la vacunación antigripal en el grupo de edad de mayores de 65 años

- Se ha detectado una necesidad de disponer de un mayor número de estudios con una mejora sustancial en la calidad de los mismos que analicen las distintas vacunas disponibles y la comparabilidad de las mismas.
- Se sigue manteniendo por las recomendaciones analizadas la utilización de vacunas de inmunidad reforzada (alta dosis y/o adyuvada) aunque son precisas evaluaciones económicas y estudios de comparación directa para poder establecer preferencias entre las vacunas y mejorar la eficiencia de los actuales programas de vacunación.

FINANCIACIÓN

El artículo se ha elaborado por encargo de la compañía Seqirus a los autores, sin que la compañía haya participado en su redacción/revisión.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores A. Pérez-Rubio, J. M. Eiros y JJ Castrodeza han realizado asesorías y labores de formación en el ámbito de la vacunación antigripal para las compañías Sanofi Pasteur, Seqirus y GSK.

BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization (WHO). Seasonal Influenza 2018. Geneva 2018. Disponible en: [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal)) (Consultado: 4 de marzo de 2021).
2. Poehling KA, Edwards KM, Weinberg GA, et al; New Vaccine Surveillance Network. The underrecognized burden of influenza in young children. *N Engl J Med* 2006; 355:31–40.
3. Mullooly JP, Bridges CB, Thompson WW, et al; Vaccine Safety Datalink Adult Working Group. Influenza and RSV-associated hospitalizations among adults. *Vaccine* 2007; 25:846–55.
4. Coleman BL, Fadel SA, Fitzpatrick T, Thomas SM. Risk factors for serious outcomes associated with influenza illness in high versus low and middle-income countries: systematic literature review and meta-analysis. *Influenza Other Respir Viruses*. 2018; 12(1):22–29.
5. Organización Mundial de la Salud. Influenza (estacional): hoja informativa N° 211. 2014. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/> (Consultado: 4 de marzo de 2021)
6. Willis GA, Preen DB, Richmond PC, Jacoby P, Effler PV, Smith DW, Robins C, Borland ML, Levy A, Keil AD, Blyth CC and WAIVE Study Team. The impact of influenza infection on young children, their family and the health care system. *Influenza Other Respir Viruses* 2019; 13:18–27.
7. Fragaszy EB, Warren-Gash C, White PJ, Zambon M, Edmunds WJ, Nguyen-Van-Tam JS, Hayward AC and Flu Watch Group. Effects of seasonal and pandemic influenza on health-related quality of life, work and school absence in England: results from the Flu Watch cohort study. *Influenza Other Respir Viruses* 2018; 12:171–82.
8. Simonsen L, Fukuda K, Schonberger LB, Cox NJ. El impacto de las epidemias de influenza en las hospitalizaciones. *J Infect Dis*. 2000; 181(3): 831–7
9. Schanzer DL, Tam TW, Langley JM, Winchester BT. Influenza-attributable deaths, Canada 1990–1999. *Epidemiol Infect*. 2007; 135 (7): 1109–16
10. Treanor JJ. Influenza vaccination. *N Engl J Med*. 2016;375(13):1261–8
11. Munster VJ, Veen J, Olsen B, Vogel R, Osterhaus AD, Fouchier RA. Towards improved influenza A virus surveillance in migrating birds. *Vaccine*. 2006;24(44–46):6729–33
12. Kelvin AA, Zambon M. Influenza imprinting in childhood and the influence on vaccine response later in life. *Euro Surveill*. 2019;24(48):1900720.
13. Nienen M, Stervbo U, Molder F, Kaliszczuk S, Kuchenbecker L, Gayova L, Schweiger B, Jürchott K, Hecht J, Neumann AU, Rahmann S, Westhoff T, Reinke P, Thiel A, Babel N. The Role of Preexisting Cross-Reactive Central MemoryCD4 T-Cells in Vaccination With Previously Unseen Influenza Strains. *Front Immunol*. 2019; 10:593.
14. McElhaney JE, Verschoor CP, Andrew MK, Haynes L, Kuchel GA, Pawelec G. The immune response to influenza in older humans: beyond immune senescence. *Immun Ageing*. 2020;17:10.
15. Stervbo U, Pohlmann D, Baron U, Bozzetti C, Jürchott K, Mälzer JN, et al. (2017) Age dependent differences in the kinetics of T cells after influenza vaccination. *PLoS ONE* 12(7): e0181161. Doi: 10.1371/journal.pone.0181161
16. An Advisory Committee Statement (ACS) National Advisory Committee on Immunization (NACI). Canadian Immunization Guide Chapter on Influenza and Statement on Seasonal Influenza Vaccine for 2021–2022. Disponible en <https://www.canada.ca/en/public-health/services/publications/vaccines-immunization/canadian-immunization-guide-statement-seasonal-influenza-vaccine-2020-2021.html> (revisado última vez 27/04/2021)
17. Fiore AE, Uyeki TM, Broder K, Finelli L, Euler GL, Singleton JA, Iskander JK, Wortley PM, Shay DK, Bresee JS, Cox NJ; Prevention and control of influenza with vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2010. *MMWR Recomm Rep* 2010;59(No. RR-8)
18. Valcárcel C, García B, Pino T, García L, Brito N, Linertova R, Ferrer J, Imaz I, Serrano P. Coste-efectividad de la vacunación contra la gripe estacional para diferentes grupos de edad: una revisión sistemática. *Rev Esp Salud Pública*. 2018;92:e1–e17
19. Tregoning JS, Russell RF, Kinnear E. Adjuvanted influenza vaccines. *Hum Vaccin Immunother*. 2018;14(3):550–64
20. Fernández-Prada M, Zapico MJ, Giménez P, Huerta M, Fernández M, Martín R. Mejora de la cobertura de vacunación antigripal en personas mayores de 65 años. Estrategia desarrollada en un área de salud de Asturias. *Rev Esp Salud Pública*. 2021. Vol 95:c1–9.
21. Schultze V, D'Agosto V, Wack A, Novicki D, Zorn J, Hennig R: Safety of MF59 adjuvant. *Vaccine*. 2008; 26:3209–3222
22. O'Hagan D.T. MF59 is a safe and potent vaccine adjuvant that enhances protection against influenza virus infection. *Expert Rev Vaccines*. 2007; 6:699–710

23. Podda A. The adjuvanted influenza vaccines with novel adjuvants: Experience with the MF59-adjuvanted vaccine. *Vaccine*. 2001; 19:2673-2680.
24. Gasparini R, Pozzi T, Montomoli E, Fraga E, Senatore F, Minutello M, Podda A. Increased immunogenicity of the MF59-adjuvanted influenza vaccine compared to a conventional subunit vaccine in elderly subjects. *Eur J Epidemiol*. 2001; 17: 135-140.
25. Wilkinson K, Wei Y, Szwarzajcer A, Rabbani R, Zarychanski R, Ahmed M, Mahmud M. Efficacy and safety of high-dose influenza vaccine in elderly adults: A systematic review and meta-analysis. *Vaccine*. 2017; 35(21): 2775-2780
26. Paules CI, Sullivan SG, Subbarao K, Fauci AS. Chasing seasonal influenza—the need for a universal influenza vaccine. *N Eng J Med*. 2018;378(1):7-9
27. Diaz-Granados CA, Dunning AJ, Robertson CA, Talbot HK, Landolfi V, Greenberg DP. Efficacy and immunogenicity of high-dose influenza vaccine in older adults by age, comorbidities, and frailty. *Vaccine*. 2015;33(36):4565-71.
28. Izurieta HS, Thadani N, Shay DK, Lu Y, Maurer A, Foppa IM, Franks R, Pratt D, Forshee RA, MaCurdy T, Worrall C. Comparative effectiveness of high-dose versus standard-dose influenza vaccines in US residents aged 65 years and older from 2012 to 2013 using Medicare data: a retrospective cohort analysis. *Lancet Infect Dis*. 2015;15(3):293-300.
29. Australian technical advisory group on immunisation (ATAGI) clinical advice. statement on the administration of seasonal influenza vaccines in 2021. Disponible en: <https://www.health.gov.au/sites/default/files/documents/2021/03/atagi-advice-on-seasonal-influenza-vaccines-in-2021.pdf> (revisado última vez 27/04/2021)
30. Grohskopf LA, Alyanak E, Broder KR, Blanton LH, Fry AM, Jernigan DB, Atmar RL. Prevention and Control of Seasonal Influenza with Vaccines: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices — United States, 2020–21 Influenza Season. *MMWR Recomm Rep* 2020;69(No.8)
31. European Centre for Disease Prevention and Control. Systematic review of the efficacy, effectiveness and safety of newer and enhanced seasonal influenza vaccines for the prevention of laboratory confirmed influenza in individuals aged 18 years and over. Stockholm: ECDC; 2020.
32. Diaz-Granados CA, Dunning AJ, Kimmel M, Kirby D, Treanor J, Collins A, et al. Efficacy of high-dose versus standard-dose influenza vaccine in older adults. *N Engl J Med*. 2014;371(7):635-45.
33. Bruxvoort KJ, Luo Y, Ackerson B, Tanenbaum HC, Sy LS, Gandhi A, Tseng HF. Comparison of vaccine effectiveness against influenza hospitalization of cell-based and egg-based influenza vaccines, 2017–2018. *Vaccine*. 2019;37(39):5807-11.
34. Nachbagauer R, Choi A, Izikson R, Cox MM, Palese P, Krammer F. Age dependence and isotype specificity of influenza virus hemagglutinin stalk-reactive antibodies in humans. *MBio*. 2016;7(1):e01996-15.
35. Resolution and scientific justification of the German Standing Committee on Vaccination (STIKO) for updating the influenza vaccination recommendation for adults ≥ 60 years of age. *Epidemiological Bulletin* 1/2021
36. Joint Committee on Vaccination and Immunisation. Advice on influenza vaccines for 2021/22. Disponible en: <https://app.box.com/s/t5ockz9bb6xw6t2mrrzb144njplimfo0/file/737845224649> (revisado última vez 27/04/2021)
37. Ständige Impfkommision (STIKO): Bekanntmachung des Bundesgesundheitsamtes; 19. Sitzung der Ständigen Impfkommision des Bundesgesundheitsamtes. *BGBL* 1982;25(5):170-1.
38. Ministerio de Sanidad. Datos ministerio sobre resultados vacunación antigripal. Cobertura de vacunación frente a la gripe 2019-2020. <https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prePromocion/vacunaciones/calendario-y-coberturas/coberturas/docs/Tabla13.pdf> (revisado última vez 27/04/2021)
39. Recomendación del Consejo sobre la intensificación de la cooperación contra las enfermedades evitables por vacunación. Disponible en: <https://ec.europa.eu/transparency/regdoc/rep/1/2018/ES/COM-2018-244-F1-ES-MAIN-PART-1.PDF> (revisado última vez 27/04/2021)
40. Vacunación frente a la gripe estacional: temporada 2020-2021. Documento Técnico. Servicio de Prevención de la Enfermedad. Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid. Disponible en: https://www.comunidad.madrid/sites/default/files/doc/sanidad/spub/252620_documento_tecnico_gripe_2020_2021.pdf (consultado última vez 21/07/2021)
41. Campaña de vacunación antigripal 2020. Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad de Galicia. Disponible en: https://www.sergas.es/Saude-publica/Documents/3293/Instruccion_Gripe_2020.pdf (consultado última vez 21/07/2021)
42. Guia técnica per a la campaya de vacunació antigripal estacional 2019. Campanya 2019-2020. Programa de vacunacions. Agència de Salut Pública de Catalunya. Disponible en: https://salutpublica.gencat.cat/web/.content/minisite/aspacat/promocio_salut/vacunacions/06vacunacio-antigripal/informacio-de-temporada/0776-ASPCAT-GUIA-CAMPANYA-GRIP-2019.pdf (consultado última vez 21/07/2021)
43. Recomendaciones de Vacunación frente a la gripe. Temporada 2020-2021. Dirección General Salud Pública. Consejería de Sanidad de la Comunidad Valenciana. <http://www.sp.san.gva.es/sscc/opciones4.jsp?CodPunto=3507&Opcion=VACUNAS&MenuSup=SANMS&Nivel=2&Seccion=SANPS1210102>. (consultado última vez 21/07/2021)
44. Ordenanza sobre el derecho a la vacunación contra la influenza y el sarampión de 10 de marzo de 2021. Ministerio Federal de Salud de Alemania. https://www.bundesgesundheitsministerium.de/fileadmin/Dateien/3_Downloads/Gesetze_und_Verordnungen/GuV/S/Schutzimpfung_gegen_Influenza_und_Masern_VO_BAnz_AT_11.03.2021_V2.pdf (revisado última vez 27/04/2021)
45. Ficha técnica Chiomas®. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/63566/FT_63566.html (revisado última vez 27/04/2021)
46. Ministero della Salute. Prevenzione e controllo dell'influenza: raccomandazioni per la stagione 2021-2022. <https://www.trovanorme.salute.gov.it/norme/renderNormsanPdf?anno=2021&codLeg=79647&parte=1%20&serie=null> (revisado última vez 27/04/2021)

47. Petrova VN, Russell CA. The evolution of seasonal influenza viruses. *Nat Rev Microbiol*. 2018;16(1):47-60.
48. Carrat F, Flahault A. Influenza vaccine: the challenge of antigenic drift. *Vaccine*. 2007;25(39-40):6852-62.
49. Osterholm MT, Kelley NS, Sommer A, Belongia EA. Efficacy and effectiveness of influenza vaccines: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2012;12(1):36-44.
50. Frey S, Vesikari T, Szymczakiewicz-Multanowska A, Lattanzi M, Izu A, Groth N, et al. Clinical efficacy of cell culture-derived and egg derived inactivated subunit influenza vaccines in healthy adults. *Clin Infect Dis*. 2010;51(9):997-1004.

Ricard Ferrer¹
María Carmen Fariñas²
Emilio Maseda³
Miguel Salavert⁴
German Bou⁵
Jazmín Díaz-Regañón⁶
Diego López⁶
Virginia Lozano⁶
David Gómez-Ulloa⁷
Raquel Fenoll⁷
Nuria Lara⁷
Eilish McCann⁸

Clinical management of cUTI, cIAI, and HABP/VABP attributable to carbapenem-resistant Gram-negative infections in Spain

¹Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona, Spain.

²Hospital Marqués de Valdecilla, Santander, Spain.

³Hospital Universitario La Paz, Madrid, Spain.

⁴Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, Spain.

⁵Hospital Universitario A Coruña, La Coruña, Spain.

⁶MSD, Madrid, Spain.

⁷IQVIA, Barcelona, Spain.

⁸Merck & Co., Inc., Kenilworth NJ, USA.

Article history

Received: 29 June 2021; Revision Requested: 19 July 2021; Revision Received: 30 August 2021; Accepted: 2 September 2021;

Published: 22 November 2021

ABSTRACT

Introduction. Carbapenem-resistant Gram-negative (CRGN) infections are a major public health problem in Spain, often implicated in complicated, healthcare-associated infections that require the use of potentially toxic antibacterial agents of last resort. The objective of this study was to assess the clinical management of complicated infections caused by CRGN bacteria in Spanish hospitals.

Methods. The study included: 1) a survey assessing the GN infection and antibacterial susceptibility profile in five participating Spanish hospitals and 2) a non-interventional, retrospective single cohort chart review of 100 patients with complicated urinary tract infection (cUTI), complicated intra-abdominal infection (cIAI), or hospital-acquired bacterial pneumonia/ventilator-associated bacterial pneumonia (HABP/VABP) attributable to CRGN pathogens.

Results. In the participating hospitals CRGN prevalence was 9.3% amongst complicated infections. In the retrospective cohort, 92% of infections were healthcare-associated, and *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* were the most common pathogens. OXA was the most frequently detected carbapenemase type (71.4%). We found that carbapenems were frequently used to treat cUTI, cIAI, HABP/VABP caused by CRGN pathogens. Carbapenem use, particularly in combination with other agents, persisted after confirmation of carbapenem resistance. Clinical cure was 66.0%, mortality during hospitalization 35.0%, mortality at the time of chart review 62.0%, and 6-months-post-discharge readmission 47.7%.

Conclusion. Our results reflect the high burden and unmet needs associated with the management of complicated infections attributable to CRGN pathogens in Spain and high-

light the urgent need for enhanced clinical management of these difficult-to-treat infections.

Keywords: Carbapenem-resistant Gram-negative infections; Carbapenemase; Carbapenems; Healthcare-associated infections; Antimicrobial stewardship.

Manejo clínico de las ITUc, IIAc y NAH/NAVM atribuidas a bacterias gramnegativas resistentes a carbapenémicos en España

RESUMEN

Introducción. Las infecciones por bacterias gramnegativas resistentes a carbapenémicos (GNRC) son un problema sanitario en España, pues suelen estar implicadas en infecciones complicadas relacionadas con la asistencia sanitaria, que requieren antibacterianos potencialmente tóxicos como último recurso. El objetivo fue evaluar el tratamiento de infecciones complicadas causadas por bacterias GNRC en hospitales españoles.

Métodos. El estudio incluyó, una encuesta sobre la infección por gramnegativas y el perfil de sensibilidad antibacteriana en cinco hospitales españoles y una revisión no intervencionista retrospectiva de historias clínicas de una cohorte de 100 pacientes con infección urinaria complicada (ITUc), infección intrabdominal complicada (IIAc) o neumonía bacteriana adquirida en el hospital o asociada a ventilación mecánica (NAH/NAVM) causadas por patógenos GNRC.

Resultados. En hospitales españoles, la prevalencia de bacterias GNRC fue del 9,3 % entre las infecciones complicadas. En la cohorte retrospectiva, el 92 % de las infecciones estaban relacionadas con la asistencia sanitaria y los patógenos más comunes fueron *Klebsiella pneumoniae* (51%) y *Pseudomonas aeruginosa* (44%). La carbapenemasa más frecuente fue OXA (71,4 %). Observamos que los carbapenémicos se usaban frecuentemente para tratar las ITUc, IIAc y NAH/NAVM

Correspondence:

Dr. Ricard Ferrer.

Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona, Spain.

Phone: 93 489 30 00

E-mail: r.ferrer@vhebron.net

causadas por bacterias GNRC. Su uso, especialmente en combinación, se mantuvo aún después de la confirmación de la resistencia. La curación fue del 66,0 %, la mortalidad durante la hospitalización del 35,0 %, la mortalidad total del 62,0 % y el reingreso 6 meses después del alta del 47,7 %.

Conclusión. Nuestros resultados reflejan la elevada carga sanitaria y las necesidades no cubiertas asociadas al tratamiento de infecciones complicadas por bacterias GNRC en España y evidencian la urgencia de contar con nuevas alternativas para su tratamiento.

INTRODUCTION

Antimicrobial resistance (AMR) is one of modern healthcare's most difficult challenges, associated with 1,600 million € in healthcare costs, 2.5 million additional hospital days, and 25,000 deaths yearly in the European Union alone [1-3]. Healthcare-associated infections, often caused by the ES-KAPE pathogens (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Enterobacteriales* spp.), are especially prone to multidrug resistance, limiting therapeutic options.

Carbapenems are high-efficacy, well-tolerated antibacterial agents, used frequently as a treatment for complicated infections [4]. The emerging resistance of Gram-negative (GN) pathogens to carbapenems is therefore particularly alarming. The most common carbapenem resistance types are the carbapenemase (KPC), the New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM), the Verona Integron-Mediated (VIM) metallo-beta-lactamase, or the OXA-48 family of carbapenemases [1]. Carbapenem-resistant GN (CRGN) pathogens are often associated with complicated, healthcare-associated infections for which clinicians may have to use potentially toxic antibacterial agents of last resort, such as colistin, or synergistic therapeutic combinations of questionable effectiveness, due to the ineffectiveness of carbapenems [5]. The situational necessity to make treatment decisions before the availability of microbial confirmation or antibacterial susceptibility results, the potential negative consequences of choosing an inappropriate empirical therapy, and the complex antibacterial switching and add-on behavior following patient deterioration or receipt of results further complicates the antimicrobial stewardship picture for these infections [4].

Surveillance data indicate that CRGN infections are more prevalent in southern European countries, with the potential emergence of pan-resistant strains of certain pathogens [2]. In Spain, 3.2% of healthcare-associated infections are caused by CRGN pathogens [6] and a widespread increase of empirical carbapenem use in Spanish hospitals has been observed [7]. As such, CRGN infections are a major public health problem for the Spanish National Health Service, responsible for an estimated €472 million in healthcare costs in 2017 [6].

The conditions associated with CRGN infections that are of most concern include complicated urinary tract infections (cUTI) associated with catheter use, surgery-associated com-

plicated intra-abdominal infections (cIAI), and hospital-acquired bacterial pneumonia and ventilator-associated bacterial pneumonia (HABP/VABP) – the latter being highly common in intensive care units (ICU) [8]. A better understanding of the clinical characteristics and current therapeutic management of the patient population affected by these infections is urgently needed in order to identify suboptimal treatment options and potential new treatment strategies to help improve clinical and economic outcomes and to facilitate improved antimicrobial stewardship. The objective of this study was to characterize the real-world clinical management and outcomes of patients with cUTI, cIAI, or HABP/VABP caused by CRGN pathogens in Spanish hospitals.

METHODS

The EU-CARE is an observational study of the clinical management of cUTI, cIAI, and HABP/VABP attributable to CRGN infections. The study included: 1) a survey assessing the GN infection and antibacterial susceptibility profile of the participating hospitals, and 2) a non-interventional, retrospective single cohort chart review in the participating hospitals of patients with cUTI, cIAI, or HABP/VABP attributable to CRGN pathogens. Throughout the study, carbapenem resistance was defined as per the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) screening cut-off values based on the EUCAST criteria in use at time of culture collection (2017) [9]. Resistant or intermediate isolates were defined as being non-susceptible, i.e. carbapenem-resistant for the purposes of study inclusion.

Hospital survey. Participating hospitals were a convenience sample of five large (>600 bed) teaching hospitals in Spain. The survey included an assessment of the number of CRGN infections and the percentage and type of carbapenem non-susceptibility by infection site as observed between 2015 year and 2018 year. Of these CRGN infections the percentage of isolates non-susceptible to carbapenem(s) and other antibacterial agents was reported. The pathogens specifically assessed were: *Escherichia coli*, *K. pneumoniae*, other *Enterobacteriales*, *P. aeruginosa*, and *A. baumannii*. The participating hospitals served as the sampling frame for the patient chart review study.

Retrospective follow-up chart review study of patients. Investigators in the above hospitals were physicians experienced in managing complicated infections. They retrospectively examined patients' medical records for a 30-month period (patient identification window period), starting from approximately July 2017 and going back in time until a total number of 100 patients were identified across the participating hospitals. The follow-up period for each patient ranged from the culture collection date to either 6 months after hospital discharge date or the date of death, whichever occurred first, and therefore varied from patient to patient depending on the duration of the hospital admission from the point of culture collection.

The inclusion criteria required patients to: be at least 18 years of age, have a hospital admission date within the patient identification window period, have a physician confirmed diagnosis of cUTI, cIAI, or HABP/VABP (infection opposed to colonization i.e. with signs and symptoms of clinical infection) attributable to CRGN pathogens (as per EUCAST screening cut-off values) based on the culture(s) collected during the index hospitalization, and be available medical data from culture collection to the end of follow-up. Patients participating in a clinical trial during the observation period were excluded.

Variables assessed. The chart review assessed patient characteristics, index hospitalization characteristics, infection characteristics, antibiogram results, carbapenemase testing procedures, patient outcomes, treatment pathways, and healthcare resource utilization during the index hospitalization. *Patient characteristics* included age, sex, body mass index (BMI), smoking behavior, alcohol consumption, comorbidities, hypersensitivity to antibacterial agents, reason for admission, and ward of admission. In addition, the year prior to hospitalization was assessed to determine whether patients had been admitted to a hospital, been in a nursing home, undergone invasive procedures, or had been administered antibacterial agents. *Index hospitalization characteristics* included – disease severity reported as Acute Physiology And Chronic Health Eval-

uation (APACHE II) score and overall and ICU length of stay (LOS) reported for the overall sample and stratified by infection site. Overall LOS was defined as the start date of a hospital admission until a patient's discharge or death; whichever occurred first. Presence in the ICU, and thus ICU LOS, was defined as the number of days that the patient remained in ICU during the index hospitalization.

Infection characteristics included infection site, presence of secondary bacteremia, place of acquiring infection (hospital-, healthcare- or community-acquired), pathogen isolated, pathogen verification method, antibacterial susceptibility verification method and results, and the sample type from which the culture was sourced. Carbapenemase testing procedures were reported by the hospital, and included procedures performed to identify carbapenemase production and to determine carbapenemase type.

Outcomes included whether clinical cure (i.e. the complete resolution of all signs and symptoms of infection) was achieved and the time to clinical cure (from the date of culture collection, defined as the date the bacterial culture confirming the diagnosis of cUTI, cIAI, or HABP/VABP caused by CRGN pathogens was collected and sent for testing). Additional outcome variables were occurrence and duration of severe sepsis/septic shock, mortality during index hospitalization and during the follow-up period, and time to discharge after culture collection.

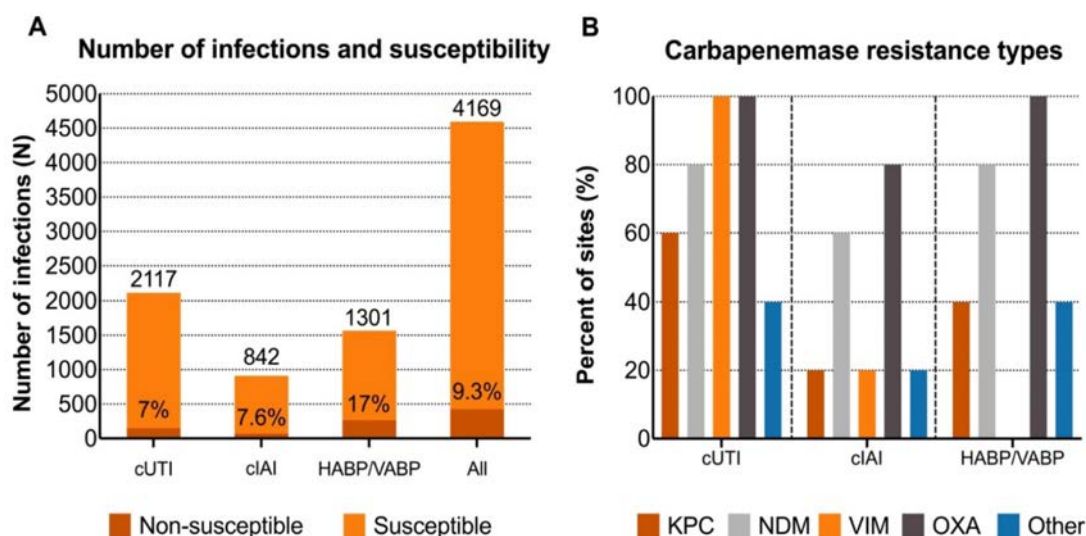


Figure 1 Hospital-reported Gram-negative infection and carbapenem susceptibility characteristics. Figure 1A shows mean number of infections; colors represent the proportion of isolates which are susceptible/non-susceptible. Figure 1B shows percentage of hospital sites that reported different types of carbapenemase resistance by infection site.

Data based on initial assessment performed by the sites (n=5) regarding the number and type of complicated gram-negative infections over the last 3 years.

cIAI: Complicated intra-abdominal infection; cUTI: Complicated urinary tract infection; GN: Gram-negative; HABP/VABP: Hospital-acquired bacterial pneumonia/ventilator-associated bacterial pneumonia; KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase; NDM: New Delhi metallo-beta-lactamase; OXA: Oxacillinase type; VIM: Verona Integron-Mediated metallo-beta-lactamase.

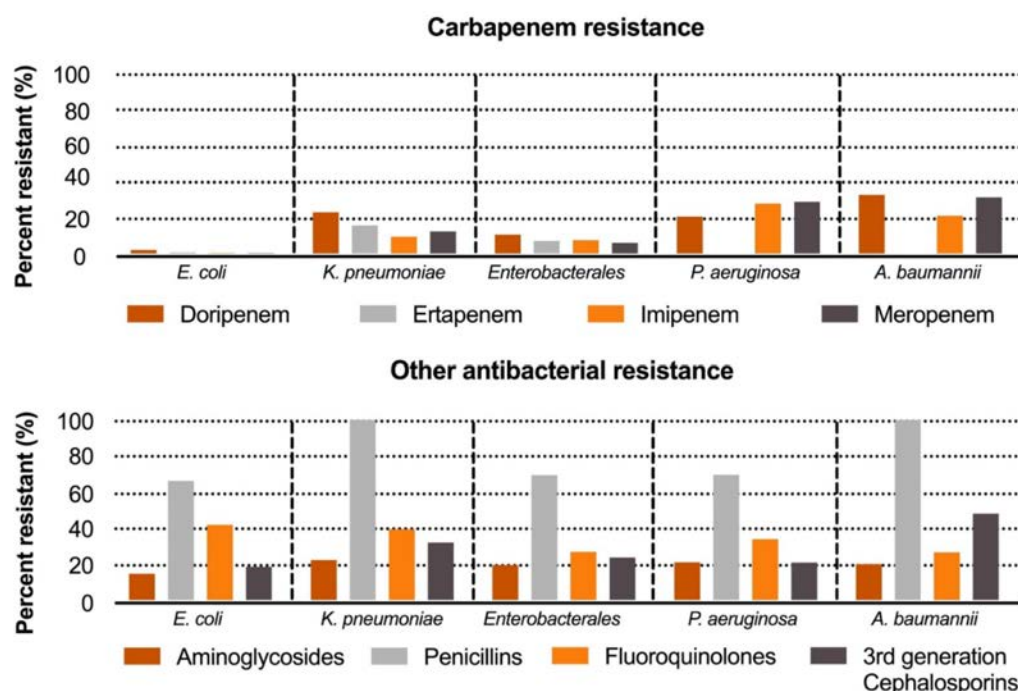


Figure 2 Antibacterial resistance by bacterial type. Percentage of isolates that were resistant to each antibacterial class in 2017

Percent resistance refers to the percent non-susceptible (intermediate or resistant). Ertapenem resistance is not shown for *Pseudomonas* and *Acinetobacter* isolates, since these pathogens are intrinsically resistant to this antibacterial agent.

Ethics. The study protocol was originally approved by the Clinical Research Ethics Committee of Hospital Universitari Vall d'Hebron (CEIm - Hospital Universitari Vall d'Hebron, de Barcelona, Spain approval number MER-ANT-2017-01). The rest of participant centres ratified the original approval.

Due to the secondary nature of the data, the need for patient informed consent was waived by the reference IECs.

Data analysis. Statistical analyses were conducted with SAS Enterprise Guide version 7.13. Study objectives were addressed using descriptive statistics. Continuous variables were described with mean and standard deviation (SD) for patients with valid observations, and categorical variables with the number and percentage of patients in each category. Furthermore, a subset analysis was performed on patients receiving carbapenems at any timepoint during index hospitalization (n=57) in order to assess their treatment pathways. Missing data were not substituted or included in the calculations due to the real-world nature of the analysis, except for missing dates, which were replaced by middle of the month dates.

RESULTS

GN infection and antibacterial susceptibility profile of the participating hospitals. Hospitals reported cUTI as the most common infection site, followed by HABP/VABP and

cIAI (Figure 1A). Of all GN infections, 9.3% were reported to be carbapenem non-susceptible (7.0% of cUTI, 7.6% of cIAI, and 17.0% of HABP/VABP isolates). The mechanism for carbapenem resistance was most diverse for cUTI (highest number of hospital sites reporting the most carbapenemase types), whereas for cIAI and HABP/VABP isolates the carbapenemase type was predominantly NDM and OXA-type (Figure 1B).

P. aeruginosa and *A. baumannii* isolates showed the highest level of multi-carbapenem resistance: over 20% of these bacterial isolates were resistant to all four carbapenems (Figure 2A). Similarly, over 20% of *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, and *A. baumannii* showed resistance to all other antibacterial agents, and over 60% of all pathogens were resistant to penicillin (Figure 2B).

Patient characteristics. Table 1 shows the characteristics of participating patients. In summary, patients were predominantly male (70%), overweight (BMI >25.0 kg/m²: 40%), and elderly (mean age: 65.9 [SD=14.5] years). Prior hospital admission was common (58%). Over half of patients had had at least one invasive procedure or had been treated with antibacterial agents (mostly penicillins [67.3%, n=35] and fluoroquinolones [51.9%, n=27]) in the year prior to admission. Comorbidities were also common (88.0%), especially hypertension (39.0%), chronic lung disease (26.0%), and diabetes (26.0%). The mean LOS was 70.3 (SD=34.2) days (Figure 3A). Half of patients re-

Table 1	Patient characteristics
Patient characteristics	N (%)
At baseline	
Age in years - mean (SD)	65.9 (14.5)
Sex	
Female	30 (30.0%)
Male	70 (70.0%)
BMI categories	
<18.5 kg/m ²	3 (3.0%)
18.5-25 kg/m ²	39 (39.0%)
>25 kg/m ²	40 (40.0%)
Smoking status	
Never smoked	41 (41.0%)
Previous smoking	26 (26.0%)
Current smoker	17 (17.0%)
Alcohol consumption	
Never	32 (32.0%)
Occasional	15 (15.0%)
Heavy	4 (4.0%)
Comorbidities ^a	
Hypertension	39 (39.0%)
Chronic lung disease	26 (26.0%)
Diabetes	26 (26.0%)
Renal disease	17 (17.0%)
Solid tumor	15 (15.0%)
None	12 (12.0%)
Hypersensitivity to antibacterial agents	8 (8.0%)
In the year prior to index hospitalization	
Hospital admission	58 (58.0%)
Nursing home stay	12 (12.0%)
Nursing home resident at admission	10 (10.0%)
Invasive procedures	57 (57.0%)
Previous antibacterial administration ^a	52 (52.0%)
Penicillin	35 (67.3%)
Fluoroquinolones	27 (51.9%)
Cephalosporins	22 (42.3%)
Carbapenem	17 (32.7%)
Other	43 (82.7%)

^aMultiresponse variable.

quired an ICU stay (Figure 3B) with a mean ICU LOS was 59.3 (SD=53.4) days (Figure 3C). Mean APACHE II score was 15.7 (SD=6.8; Figure 3D).

Infection characteristics. The most common infection sites were HABP/VABP (47.0%) and cUTI (42.0%), while

Table 1	Patient characteristics (cont.)
Patient characteristics	N (%)
At admission	
Reason for admission	
Infection	36 (36.0%)
Respiratory	16 (16.0%)
Gastrointestinal	15 (15.0%)
Cardiovascular	7 (7.0%)
Trauma	6 (6.0%)
Neurological	4 (4.0%)
Metabolic/renal	2 (2.0%)
Other	12 (14.0%)
Ward of admission	
Medical	52 (52.0%)
ICU	29 (29.0%)
Surgical	19 (19.0%)
During ICU stay (n=50)	
APACHE II score (n=29) - mean (SD)	15.7 (6.8)

^aMultiresponse variable.

cIAI was less common (6%). 30% of patients presented with secondary bacteremia (Table 2). Infections were mostly hospital-acquired (71.0%) or healthcare-acquired (21.0%), with *K. pneumoniae* (51.0%) and *P. aeruginosa* (44.0%) predominating. All pathogens were verified by culture, and E-test was the most commonly used (50.0%) antibacterial susceptibility verification method. Of 106 isolates, 50 were analyzed using four types of carbapenemase tests: KPC-NDM-OXA48 (n=18), GeneExpert (n=17), Hodge test (n=15), and polymerase chain reaction (PCR) (n=13) (Table 3 – note: since one isolate could be tested with more than one type of carbapenemase test, altogether 63 tests were performed on the 50 isolates). OXA was the most frequent confirmed carbapenemase type (71.4%, n=42). As Figure 4 shows, between 50%-96% of tested *K. pneumoniae* isolates were non-susceptible to carbapenems, while all tested *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, and *E. coli* isolates were non-susceptible to all carbapenems.

Clinical management characteristics. After culture collection, the most common antibacterial agents prescribed were carbapenems (n=21, 21.0%), penicillins (n=15, 15.0%), colistin (n=6, 6.0%), and sulfonamides (n=6, 6.0%). Immediately prior to the availability of susceptibility results, the most common antibacterial therapies prescribed were carbapenems (n=41, 41.0%), colistin (n=20, 20.0%), aminoglycosides (n=19, 19.0%), and penicillins (n=19, 19.0%). After test results were available, patients mostly received carbapenems (n=41, 41.0%), colistin (n=28, 28.0%), and aminoglycosides (n=27, 27.0%). Meropenem was the most frequently used carbapenem (95% of all carbapenems prescribed).

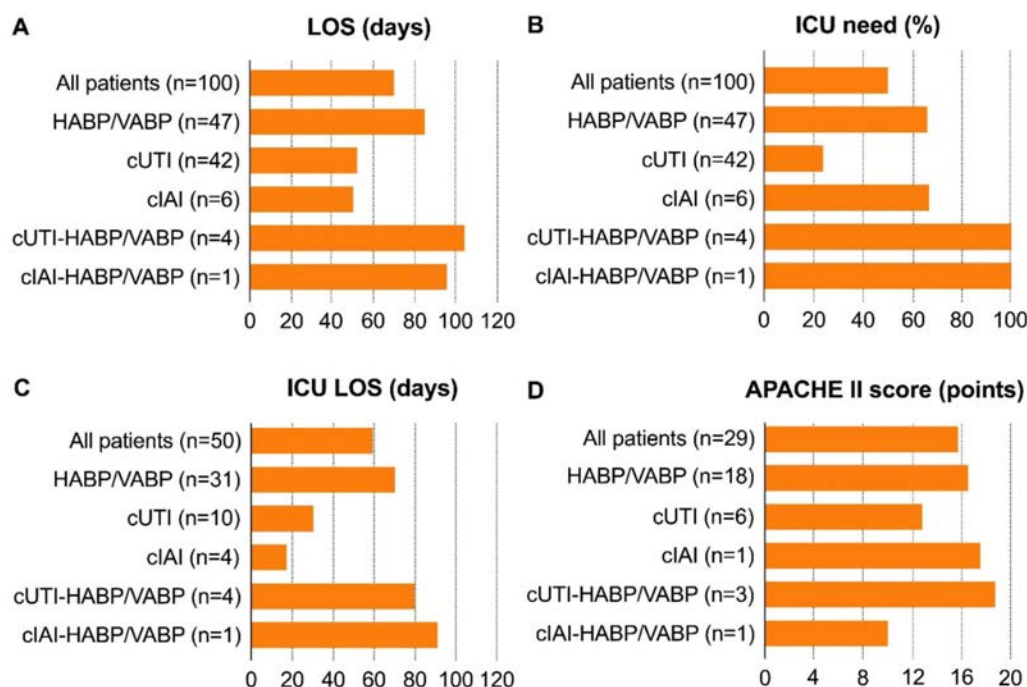


Figure 3 Index hospitalization characteristics. A: Length of stay for different infection sites (days). B: Intensive care unit need (percentage of all patients). C: Intensive care unit length of stay (days). D: APACHE II score (points). Worst score if more than one admission. Based on limited data (44% of patient data missing).

Data are presented as mean values.

APACHE II: Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II; cIAI: Complicated intra-abdominal infection; cUTI: Complicated urinary tract infection; HABP/VABP: Hospital-acquired bacterial pneumonia/ventilator-associated bacterial pneumonia; ICU: Intensive care unit; LOS: Length of stay; SD: Standard Deviation.

Figure 5 shows a Sankey diagram depicting the treatment pathways followed for patients who received a carbapenem ($n=57$) during the follow-up period. For these patients, the most common practice immediately after culture collection was no treatment ($n=30$), carbapenem monotherapy ($n=9$), or carbapenem with one other antibacterial agent ($n=9$). Receiving a carbapenem in combination with one other drug was the most common treatment path for patients both immediately before ($n=19$) and after ($n=21$) receiving the susceptibility results. The most frequent agents used in such combination with carbapenems were aminoglycosides ($n=9$), colistin ($n=2$) and linezolid ($n=2$) immediately before and aminoglycosides ($n=11$), colistin ($n=5$), and glycopeptides ($n=2$) after receiving the susceptibility results (data not shown). Additionally, colistin was frequently used in multiple-drug combinations. Overall, colistin was given to 6 patients immediately after culture collection, 20 patients before receipt and 28 patients after receipt of susceptibility results.

During hospitalization, the most common tests performed were biochemistry tests (92.0% of patients), blood cell counts (84.0%), urine cultures (68.0%), blood cultures (67.0%), and

radiological investigations (57.0%) (Table 4). Altogether 65.0% of patients required invasive procedures, most commonly vascular catheterization (46.0%), urinary catheterization (32.0%), and mechanical ventilation (15.0%).

Altogether 66.0% of patients achieved clinical cure within a mean of 19.9 (SD=16.5) days after culture collection (Table 5). Severe sepsis/septic shock occurred in 35.0%, with a mean duration of 20.3 (SD=18.2) days. Mortality occurred in 35.0% of patients during hospitalization, and in 62.0% of patients by the time the chart review was performed. Within-hospitalization mortality happened at a mean of 147 (SD=205) days from culture collection. The readmission rate at 6-months post discharge was 47.7% ($n=31$), with the denominator being those patients who were alive at discharge.

DISCUSSION

The aim of our study was to characterize the real-world clinical management and outcomes of patients with complicated infections caused by CRGN pathogens in Spanish hospitals. Our main findings were that in the participating

Table 2	Infection characteristics
Infection characteristics	N (%)
Infection site	
HABP/VABP	47 (47.0%)
cUTI	42 (42.0%)
cIAI	6 (6.0%)
cUTI and HABP/VABP	4 (4.0%)
cIAI and HABP/VABP	1 (1.0%)
Secondary bacteremia	30 (30.0%)
Place of acquiring infection ^a	
Hospital-acquired	71 (71.0%)
Healthcare-acquired	21 (21.0%)
Community-acquired	8 (8.0%)
Pathogen isolated, per patient ^b	
<i>K. pneumoniae</i>	51 (51.0%)
<i>P. aeruginosa</i>	44 (44.0%)
Other Enterobacterales	7 (7.0%)
<i>A. baumannii</i>	3 (3.0%)
<i>E. coli</i>	1 (1.0%)
Pathogen verification ^b	
Culture	100 (100.0%)
MALDI-TOF	19 (19.0%)
PCR	9 (9.0%)
Other	21 (21.0%)
Antibacterial susceptibility verification ^b	
E-test	50 (50.0%)
Dilution	36 (36.0%)
Automated antimicrobial susceptibility test	32 (32.0%)
Disk diffusion	21 (21.0%)
Sample type ^b	
Urine	58 (58.0%)
Sputum	37 (37.0%)
Blood	30 (30.0%)
BAL	17 (17.0%)
Peritoneal fluid	6 (6.0%)
Pleural fluid	2 (2.0%)
Other	2 (2.0%)

^aHospital-acquired: culture collected = 3 days after admission; Healthcare-acquired: culture collected <3 days after admission with previous healthcare exposure; Community-acquired: culture collected <3 days after admission with no previous healthcare exposure.

^bMultiresponse variable.

BAL: Bronchoalveolar lavage; cIAI: Complicated intra-abdominal infection; cUTI: Complicated urinary tract infection; HABP/VABP: Hospital-acquired bacterial pneumonia/ventilator-associated bacterial pneumonia; MALDI-TOF: Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry; PCR: Polymerase chain reaction.

Table 3	Carbapenemase testing procedures
Characteristic	N (%)
Procedure(s) performed to determine carbapenemase type	
Not tested	56 (52.8%)
Tested ^a	50 (47.2%)
KPC-NDM-OXA48	18 (17.0%)
GeneExpert	17 (16.0%)
Hodge test	15 (14.1%)
PCR	13 (12.3%)
Carbapenemase type in confirmatory culture, positive tests	
OXA	45 (71.4%)
VIM	3 (4.8%)
Other	15 (23.8%)

^aIsolates could be tested several times.

KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase; NDM: New Delhi metallo-beta-lactamase; OXA: Oxacillinase type; PCR: Polymerase chain reaction; VIM: Verona Integron-Mediated metallo-beta-lactamase.

hospitals, about one in ten complicated infections involved CRGN pathogens. cUTI was found to have the most diverse carbapenem resistance profile in terms of carbapenemase production and *P. aeruginosa* and *A. baumannii* isolates showed the highest level of multi-carbapenem resistance. In addition, patients with CRGN infections in the retrospective cohort were most likely to acquire infections in hospitals or other healthcare settings, were most often suffering from *K. pneumoniae* or *P. aeruginosa* infections, and OXA was the most frequently detected carbapenemase type. Treatment escalation was common after susceptibility results became available, and the most common treatment was a carbapenem combined with another antibacterial agent. Clinical cure was achieved in two thirds of patients, but overall mortality was 62.0% by the end of the follow-up period.

The study sites reported a 9.3% prior prevalence of CRGN pathogens for the assessed infection sites. While CRGN pathogens account for 3.2% of all healthcare-associated infections in Spain [6] complicated infections are more likely to be caused by multi-resistant pathogens as a result of the predisposing factors of the affected patient population and due to increased exposure of those patients to healthcare settings and invasive procedures [10]. This was evident in our study population, in which most patients were elderly and overweight, with frequent comorbidities. Previous episodes of hospitalization or nursing home stay, prior antibacterial treatment, and ICU admittance were all common, possibly playing a role in the emergence of antibacterial resistance, as these factors have been associated with resistant infections [11]. In particular, previous carbapenem therapy was observed in almost a third of patients, which is a commonly reported risk factor for the future acquisition of carbapenem-resistant infections, as previously described [12].

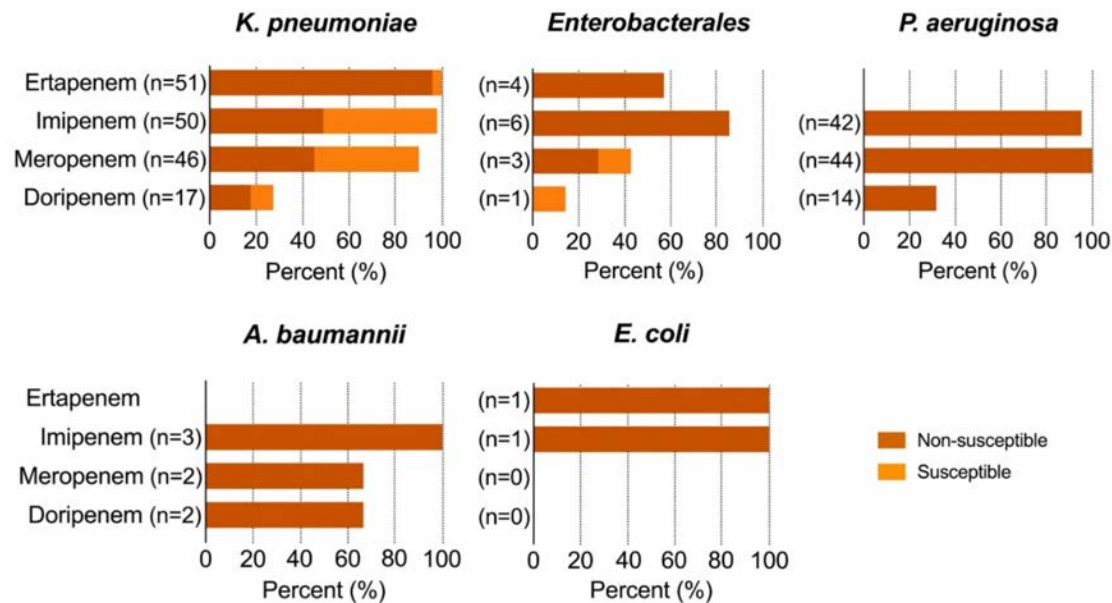


Figure 4 Antibigram results

Antibiogram information for confirmatory cultures. Colors represent the proportion of isolates which are susceptible/non-susceptible; the height of columns indicates the percentage of isolates tested. Ertapenem resistance is not shown for *Pseudomonas* and *Acinetobacter* isolates, since these pathogens are intrinsically resistant to this antibacterial agent.

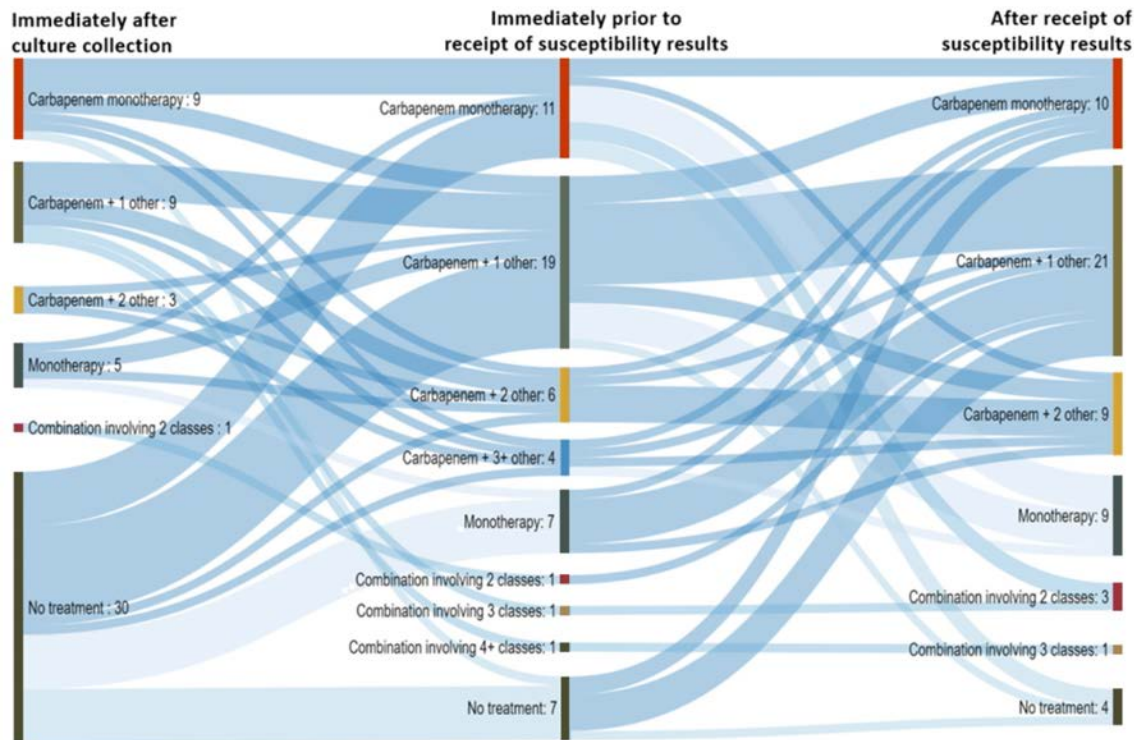


Figure 5 Sankey figure of treatment pathways for patients who received a carbapenem during observation period

Table 4 Healthcare resource utilization: Percentage of patients who underwent diagnostic tests and/or invasive procedures during index hospitalization

Test or procedure	N (%)
Diagnostic tests during index hospitalization	
Biochemistry test	92 (92.0%)
Blood cell count	84 (84.0%)
Urine culture	68 (68.0%)
Blood culture	67 (67.0%)
Radiograph	57 (57.0%)
Sputum analysis	44 (44.0%)
CT	28 (28.0%)
Other diagnostic test	19 (19.0%)
ECG	18 (18.0%)
Bronchoscopy	15 (15.0%)
MRI	5 (5.0%)
Invasive procedures during index hospitalization	
Vascular catheter	46 (46.0%)
Urinary catheter	32 (32.0%)
Mechanical ventilation	15 (15.0%)
Surgery (incl. surgical drainage)	7 (7.0%)
Endoscopy	6 (6.0%)
Percutaneous drainage	5 (5.0%)
Cardiac catheterization	1 (1.0%)
Diagnostic tests following index hospitalization	
Biochemistry test	5 (5.0%)
Blood cell count	5 (5.0%)
Urine culture	5 (5.0%)
Blood culture	3 (3.0%)
Radiograph	5 (5.0%)
CT	2 (2.0%)
Other diagnostic test	2 (2.0%)
Sputum analysis	1 (1.0%)

Table shows diagnostic tests and invasive procedures performed during index hospitalization and diagnostic tests in the follow up period for patients who have reported at minimum one diagnostic test related to infection treatment from 6 months after discharge (data regarding invasive procedures in this period was not available). CT: computed tomography, ECG electrocardiogram, MRI: magnetic resonance imaging.

Most CRGN infections were acquired in a healthcare-related setting and were most often caused by or . The high level of CR *K. pneumoniae* is especially noteworthy, since this pathogen is frequently associated with healthcare-associated outbreaks and has an almost exclusively healthcare-associated pattern of occurrence [2]. While the prevalence of this pathogen in Spain is lower than the European average, the ECDC and local sources have identified a recent alarming increase [2,

Table 5 Outcomes

Characteristic	N (%)
Clinical cure achieved ^a	66 (66.0%)
Time to clinical cure from culture collection – days – mean (SD)	19.9 (16.5)
Severe sepsis/septic shock	35 (35.0%)
Duration of severe sepsis/septic shock – days – mean (SD)	20.3 (18.2)
Mortality during index hospitalization	35 (35.0%)
Time to discharge from culture collection – days – mean (SD)	44.6 (53.8)
Time to ICU discharge since culture collection – days – mean (SD)	17.2 (33.5)
Time to death since culture collection – days – mean (SD)	147.0 (205.0)
Time to readmission from discharge following index hospitalization – days – mean (SD) ^b	54 (44.0)
Readmission rate at 30 days ^c	8 (12.3%)
Readmission date at 60 days ^c	31 (47.7%)
Overall mortality (at chart review)	62 (62%)
Cause of death	
Unknown	10 (16.1%)
Infection-related	18 (29.0%)
Other	34 (54.8%)

^aAs defined by complete resolution of all signs and symptoms of infection.

^bTime to readmission since discharge was calculated for all patients who reported a hospitalization up to 6 months after hospital discharge. Those patients with missing information about status (alive or deceased) at 6 months following hospital discharge were removed from the population used to assess readmission, in order to avoid a potential bias to higher hospitalization rates.

^cReadmission rate was calculated using the number of alive patients at discharge as denominator.

13]. A similar upward trend has not been noted for *P. aeruginosa*, a ubiquitous and opportunistic microbe, which still remains one of the most common CRGN pathogens both across the EU and within Spain [2]. The adaptive antibiotic resistance of *P. aeruginosa* mainly includes biofilm mediated resistance and formation of multidrug-tolerant persister cells. Nonetheless, in our study we focused the analysis on carbapenemase. Other *Enterobacteriales* spp. contributed to infection in only 10% of the patients in our study population, a lower rate than that observed in other Southern and Eastern European countries [2].

All isolates were identified via culture, potentially signifying that rapid diagnostic procedures may decrease diagnostic time and improve clinical decision making. Antibacterial susceptibility was most often verified by E-test, dilution, and automated antimicrobial susceptibility testing methods. Carbapenemase tests, which are recommended by CLSI guidelines [14] whenever the minimum inhibitory concentrations of carbapenems are 2–4 mg/L, were used quite frequently in our study, especially for *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae* isolates. The

most frequent carbapenemase types obtained in the confirmatory culture, following carbapenemase testing, were OXA-type, which is a resistance mechanism recognized as a public health threat worldwide [15] and in Spain in particular [13]. Based on the results of our study, an improvement in the frequency and quality of testing, e.g. more frequent use of PCR and MALDI-TOF based methods for isolate identification [16,17] and extensive carbapenemase identification could be an important tool to improve optimal targeted therapy selection in Spanish hospitals.

Treatment pattern analysis in our study with 3 different cross-sectional timepoints (at confirmatory culture i.e. empiric, prior to susceptibility results, and after susceptibility results) gives a unique real-world insight into the current management of CRGN infections in Spain. We found that carbapenems were frequently used to treat cUTI, cIAI, HABP/VABP caused by CRGN pathogens. Carbapenem use, particularly in combination with other agents, persisted after confirmation of carbapenem resistance. The high prevalence of carbapenem use throughout the three timepoints of the study supports their important role as frequently used antibacterial agents for GN infections, despite their inappropriateness for this patient population. Our results indicated treatment escalation, with combination therapies occurring more frequently as patients progressed throughout the three timepoints, perhaps due to clinical deterioration occurring while the patient received an inappropriate empiric therapy or reflecting the receipt of susceptibility test data confirming its inappropriateness. Colistin was the second most frequently received antibacterial agent after meropenem, despite several known disadvantages – including difficulty in obtaining optimal dosing, high renal toxicity, and unclear susceptibility testing due to the absence of agreed breakpoints [18].

Tigecycline, fosfomycin, and aztreonam are widely used in Spain. However, a large proportion of critically ill patients with multidrug-resistant GN infection are treated with tigecycline and do not achieve an appropriate pharmacokinetic and pharmacodynamic value. Even, tigecycline seems to be associated with hepatobiliary disorders in the critically ill population [19]. Fosfomycin has a very unique mechanism of action against Gram-positive and GN bacteria. Cross-resistance seems uncommon. However, fosfomycin should be used in combination in patients with severe infections to avoid selecting resistant mutations [20].

The considerable proportion of patients still not receiving antibacterial agents or only receiving carbapenem monotherapy both before and after susceptibility results (despite this being a patient population with carbapenem-resistant infections), could indicate the difficulty of selecting adequate empirical or effective targeted antibacterial therapies. These prescribing behaviours might contribute to some of the unfavourable outcomes seen in our study and highlight the need for new treatment options in this clinical population. Novel β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations, namely meropenem/vaborbactam, ceftazidime/avibactam, ceftolozane/tazobactam, and imipenem/cilastatin/relebactam are promising

options in certain CRGN infections due to their ability to overcome carbapenem resistance, although resistance has already been reported to some of these novel agents [21]. The use of these novel drugs in Spain was still limited at the time of our study.

The EU-CARE study design permits a robust evaluation of clinical outcomes of the index hospitalization associated with complicated infections caused by CRGN pathogens. We found that only 66.0% of patients experienced clinical cure, which underlines the difficult clinical challenge of treating CRGN infections. Furthermore, outcomes for study subjects were generally poor, with 35.0% mortality during index hospitalization and more than 60.0% overall mortality by the end of the follow-up period. This is higher than the expected 24.0% mortality rate estimated for patients with a mean APACHE II score of 15.7 points [22] but it is in line with the results of a recent meta-analysis reporting 32.0% to 88.4% mortality for different CRGN infections at varying time points [23].

The financial burden of CRGN infections has been well described and is associated with costs for drugs, hospital stay, and diagnostic procedures [24]. The direct and indirect economic burden is one of the main criteria that lead to CRGN infections being considered a major healthcare issue for Spain [25]. The EU-CARE study corroborates these data, as length of stay, ICU need, and readmission rates were all considerable, pointing to substantial healthcare burden when treating these types of infections.

The EU-CARE study had several limitations. First, our sampling frame of the participating hospitals may not be representative of the country, given the small number of participating sites and that they were enrolled by convenience sampling as opposed to random selection. Furthermore, the retrospective chart review design might have contributed to the under-recording of information and including patients with the same pathogen profile due to the possible clustering of hospital-acquired pathogens in a particular hospital site. This limitation might provide a potential explanation for the high prevalence of *K. pneumoniae* in our cohort. The study eligibility criteria allowed for any CRGN pathogen-associated complicated infection to be included, and although this reflects real life practice (i.e. hospitals must treat varying causative pathogen and infection sites), outcome parameters may not be comparable between different pathogens or infections sites within our cohort and may prevent comparison of our data with data from prior studies focusing on a specific infection site and/or specific bacterial species. It is also important to note that since the completion of the study, EUCAST has implemented changes in their definitions of susceptibility testing categories S, I, and R [26]. Since our study included both resistant and intermediate agents as "non-susceptible", some included cases may now not qualify as CR given the new definitions.

In conclusion, the results of the EU-CARE study reflect the high burden and unmet need associated with the management of complicated infections attributable to CRGN pathogens in Spain. Our results also indicate that carbapenems are com-

monly prescribed empirically and remain in use even after the verification of carbapenem resistance, though often in combination with potentially synergistic, but sometimes toxic agents such as colistin. The observed treatments given to this study cohort may indicate a lack of safe and effective treatment options for this high need patient population. Poor outcomes and increased healthcare resource use lead to a considerable human and financial burden to healthcare settings and further reinforces the urgent need for enhanced clinical management of difficult-to-treat CRGN infections.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank the medical communications agency EpiConsult for their assistance in the preparation of the manuscript, tables, and figures.

FUNDING

Funding for this research was provided by Merck Sharp & Dohme Corp., a subsidiary of Merck & Co., Inc., Kenilworth, NJ, USA.

CONFLICTS OF INTEREST

Dr Ferrer reports personal fees from Bazter, Estor, Grifols, MSD, Pfizer, and Shionogi; and grants and personal fees from Beckton-Dickinson and Thermofisher, outside the submitted work. Dr Salavert reports has previously participated as advisory board member for MSD (receiving non-financial support) and Pfizer. Also reports he has participated as speaker for Angelini, Gilead (receiving non-financial support), Janssen, MSD and Pfizer outside the submitted work.

Drs Díaz-Regañón, López and Lozano are employees in MSD, Spain. Dr Gómez-Ulloa reports other from Merck & Co. Inc, during the conduct of the study. Dr McCann reports personal fees from Merck & Co., Inc., outside the submitted work. No other disclosures were reported.

REFERENCES

1. Marston HD, Dixon DM, Knisely JM, Palmore TN, Fauci AS. Antimicrobial Resistance. *JAMA* 2016; 316(11): 1193-204. DOI: 10.1001/jama.2016.11764
2. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe. 2017. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-resistance-europe-2017> (accessed June 1st 2021).
3. WHO. World Health Organization. Antimicrobial resistance: Global Report on Surveillance. 2014. Available from: <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/publications/surveillance-report/en/> (accessed June 1st 2021).
4. Nordmann P, Poirel L. Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. *Clin Infect Dis: an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2019; 69(Suppl 7): S521-s8. DOI: 10.1093/cid/ciz824
5. Paul M, Daikos GL, Durante-Mangoni E, Yahav D, Carmeli Y, Ben-nattar YD, et al. Colistin alone versus colistin plus meropenem for treatment of severe infections caused by carbapenem-resistant Gram-negative bacteria: an open-label, randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis* 2018; 18(4): 391-400. DOI: 10.1016/S1473-3099(18)30099-9.
6. Cantón R, Huarte R, Morata L, Trillo-Mata JL, Muñoz R, González J, et al. Determining the burden of infectious diseases caused by carbapenem-resistant gram-negative bacteria in Spain. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2020. DOI: 10.1016/j.eimc.2020.04.009.
7. Grau S, Fondevilla E, Echeverría-Esnal D, Alcorta A, Limon E, Gu-diol F, et al. Widespread increase of empirical carbapenem use in acute care hospitals in Catalonia, Spain. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2019; 37(1): 36-40. DOI: 10.1016/j.eimc.2018.03.003.
8. Peleg AY, Hooper DC. Hospital-acquired infections due to gram-negative bacteria. *N Engl J Med* 2010; 362(19): 1804-13. DOI: 10.1056/NEJMra0904124.
9. Testing. TECoAS. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. 2017. Available from: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_7.1_Breakpoint_Tables.pdf (accessed June 1st 2021).
10. Martín-Loeches I, Diaz E, Vallés J. Risks for multidrug-resistant pathogens in the ICU. *Curr Opin Crit Care* 2014; 20(5): 516-24. DOI: 10.1097/MCC.0000000000000124
11. Segagni Lusignani L, Prestrel E, Zatorska B, Van den Nest M, Di-ab-Elschahawi M. Infection control and risk factors for acquisition of carbapenemase-producing enterobacteriaceae. A 5 year (2011-2016) case-control study. *Antimicrob Resist Infect Control* 2020; 9(1): 18. DOI: 10.1186/s13756-019-0668-2
12. Katchanov J, Asar L, Klupp EM, Both A, Rothe C, König C, et al. Carbapenem-resistant Gram-negative pathogens in a German university medical center: Prevalence, clinical implications and the role of novel β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations. *PloS One* 2018; 13(4): e0195757. DOI: 10.1371/journal.pone.0195757.
13. Hernández-García M, Pérez-Viso B, Carmen Turrientes M, Díaz-Agéro C, López-Fresneña N, Bonten M, et al. Characterization of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from colonized patients in a university hospital in Madrid, Spain, during the R-GNOSIS project depicts increased clonal diversity over time with maintenance of high-risk clones. *J Antimicrob Chemother* 2018; 73(11): 3039-43. DOI: 10.1093/jac/dky284.
14. Weinstein MP, Patel JB, Campeau S, Eliopoulos GM, Galas MF, Humphries RM, et al. CLSI performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI supplement M100. 28th ed.: Clinical and Laboratory Standards Institute, PA, USA, 2018.
15. Carrër A, Poirel L, Yilmaz M, Akan OA, Feriha C, Cuzon G, et al. Spread of OXA-48-encoding plasmid in Turkey and beyond. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54(3): 1369-73. DOI: 10.1128/AAC.01312-09.
16. Oviaño M, Spärbier K, Barba MJ, Kostrzewa M, Bou G. Universal protocol for the rapid automated detection of carbapenem-resistant

- Gram-negative bacilli directly from blood cultures by matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF/MS). *Int J Antimicrob Agents* 2016; 48(6): 655-60. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2016.08.024.
17. Shields RK, Clancy CJ, Hao B, Chen L, Press EG, Lovine NM, et al. Effects of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase subtypes, extended-spectrum β -lactamases, and porin mutations on the in vitro activity of ceftazidime-avibactam against carbapenem-resistant *K. pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59(9): 5793-7. DOI: 10.1128/AAC.00548-15.
 18. EUCAST. Problems with colistin susceptibility testing and several commercially available products. 2016. Available from: https://eucast.org/ast_of_bacteria/warnings/ (accessed June 1st 2021).
 19. Ruiz J, Ramirez P, Villarreal E, Gordon M, Sánchez MA, Martín M, et al. Effect of pharmacokinetic/pharmacodynamic ratio on tigecycline clinical response and toxicity in critically ill patients with multidrug-resistant Gram-negative infections. *SAGE Open Med*. 2020 Sep 18;8:2050312120958897. doi: 10.1177/2050312120958897.
 20. Muñoz Rubio E, Ramos Martínez A, Fernández Cruz A. Fosfomicin in antimicrobial stewardship programs. *Rev Esp Quimioter*. 2019 May;32 Suppl 1(Suppl 1):62-66. PMID: 31131594; PMCID: PMC6555160.
 21. Castanheira M, Mills JC, Farrell DJ, Jones RN. Mutation-driven β -lactam resistance mechanisms among contemporary ceftazidime-nonsusceptible *Pseudomonas aeruginosa* isolates from U.S. hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58(11): 6844-50. DOI: 10.1128/AAC.03681-14.
 22. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 1985; 13(10): 818-29. PMID: 3928249
 23. Martín 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.
 24. Vargas-Alzate CA, Higuera-Gutiérrez LF, López-López L, Cienfuegos-Gallet AV, Jiménez Quiceno JN. High excess costs of infections caused by carbapenem-resistant Gram-negative bacilli in an endemic region. *Int J Antimicrob Agents* 2018; 51(4): 601-7. PMID: 29277527
 25. Alfonso JL, Cantón R, Ferrer R. Determining the burden of carbapenem-resistant Gram-negative infections in Spain by multi-criteria decision analysis (MCDA). *Value Health* 2019; 22: S656-S7.
 26. EUCAST. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. S, I and R definitions. 2019. Available from: <https://www.eucast.org/newsiandr/> (accessed June 1st 2021).

Ana De Malet
Marisol García-Merino
Silvia Velasco
Carlos Ruiz de Alegría Puig

Comparison two blood culture bottles for the recovery of *Enterobacteriaceae*

Department of Microbiology, University Hospital Marqués de Valdecilla-IDIVAL, Cantabria, Spain.

Article history

Received: 21 December 2020; Revision Requested: 8 February 2021; Revision Received: 7 July 2021; Accepted: 27 July 2021; Published: 13 September 2021

ABSTRACT

Introduction. The objective of the present study was to compare the suitability of the B BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F versus B BACTEC™ Plus Aerobic/F vials at the time of both *Enterobacteriaceae* recovery rate and detection time.

Material and methods. Prospective observational study from September 2018 to January 2019 in which 150 bacteremia. The samples were incubated in the automated BD BACTEC™ FX system (Becton Dickinson).

Results. A total of 180 *Enterobacteriaceae* were isolated: 93 B BACTEC™ Plus Aerobic/F and 87 from B BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F belonging to 106 patients. The urinary focus was the most frequent origin. The average detection time in both cases was not more than 15 hours.

Conclusion. The combination of both bottles seems to be the best diagnostic strategy, thus reducing the detection time as well as increasing the recovery of *Enterobacteriaceae*. The combination of both vials could be implemented especially in selected situation of special urgency such as the sepsis code or critical patients.

Keywords: bacteremia, sensitivity, specificity, detection time.

Comparación de dos frascos de hemocultivo para la recuperación de enterobacterias

RESUMEN

Introducción. El objetivo del presente estudio fue comparar los viales B BACTEC™ Plus Aerobic/F y B BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F en base a la tasa de recuperación de enterobacterias y el tiempo de detección de las mismas de ambos tipos de viales.

Material y métodos. Estudio observacional prospectivo de septiembre de 2018 a enero de 2019 en el que se incluyeron 150 bacteriemias. Las muestras se incubaron en el sistema automático BD BACTEC™ FX (Becton Dickinson).

Resultados. Se aislaron 180 enterobacterias: 93 B BACTEC™ Plus Aerobic/F y 87 de BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F pertenecientes a 106 pacientes. El foco urinario fue el origen más frecuente. El tiempo medio de detección en ambos casos no superó las 15 horas.

Conclusión. La combinación de ambos frascos parece ser la mejor estrategia diagnóstica, reduciendo así el tiempo de detección y aumentando la recuperación de enterobacterias. La combinación de ambos viales podría implementarse especialmente en situaciones seleccionadas de especial urgencia como el código de sepsis o pacientes críticos.

Palabras clave: bacteriemia, sensibilidad, especificidad, tiempo de detección.

INTRODUCTION

Every year, approximately 750,000 patients are affected worldwide by bloodstream infections mainly by Gram-negative rods, the most lethal expression of which is sepsis [1]. In Spain affecting 100–150 in every 100,000 inhabitants/year, which accounts for more than 50,000 patients/year [2]. This has high morbidity and mortality rates (between 20–70% [1], higher than those of death from stroke, ischemic heart disease

Correspondence:
Ana De Malet
Department of Microbiology, University Hospital Marqués de Valdecilla-IDIVAL,
Cantabria, Spain.
E-mail: dmaletpf@hotmail.com

or cancer. These rates tend to rise mainly due to population aging [1,3]. In fact, it is a great cost for health systems, estimating in the US that the average attributable expense ranges from \$ 7,000 in sepsis of community origin to more than \$ 30,000 in severe cases of hospital origin, with an average ICU stay of 3 to 8 days [4]. Given the need to act quickly in these patients, it leads to receiving empirical therapies with wide coverage [3], increasing antibiotic pressure and favouring the appearance of resistance mechanisms [1]. Furthermore, it is well known that early diagnosis improves survival and reduces hospital costs [4,5].

Therefore, the early diagnosis of sepsis is a priority, with blood cultures being the gold standard for the diagnosis of bacteremia [6]. They allow the identification of any pathogen, not only those included in molecular diagnostic kits. In addition, they enable the development of sensitivity studies that offer crucial information in the management of critically ill patients [6]. However, cultivation is a slow process, and alternatives must be found to shorten the time to issue results [7,8].

Bacteria in the blood are phagocytosed by macrophages [5,9] and the addition of saponin as a cell lysate in the culture media can increase the concentration of microorganisms by breaking these cells, reducing their detection time [10].

Another key point is the rapid incubation of the vials and the use of automatic incubators with continuous monitoring.

The objective of the present study was to compare the suitability of the new B BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F versus B BACTEC™ Plus Aerobic/F vials regarding to the *Enterobacteriaceae* recovery rate and detection times. For this, we evaluated the following parameters: i) mean and mode of the detection times, as well as the number of *Enterobacteriaceae* detected before 24 hours of incubation. ii) sensitivity and specificity of detection.

MATERIAL AND METHODS

Prospective observational study from September 2018 to January 2019 in which 150 bacteremia of non-pediatric patients from University Hospital Marqués de Valdecilla were studied. The amount of *Enterobacteriaceae* recovered from B BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F vs. B BACTEC™ Plus Aerobic/F was compared, as well as the mean detection time, the most frequent detection time and the number of *Enterobacteriaceae* growing before 24 hours of incubation with both methods.

B BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F contains soy and casein digestion broth enriched with CO₂ and N₂ atmosphere, as well as saponin and sodium polyanetholsulfonate as novel elements that act as a lytic agent and inhibit bactericidal activities in the blood, especially the growth of anaerobic bacteria. B BACTEC™ Plus Aerobic/F is made up of soy and casein digestion broth enriched with a CO₂ atmosphere and antibiotic neutralizing resins.

The extraction of the sample was made following the norms published by Loza Fernández de Bobadilla et al [11].

In each venopuncture, a set of blood cultures was obtained consisting of one B BACTEC™ Plus Aerobic/F and another B BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F; the inoculated volume was a minimum of 5 mL per bottle and both with the same volume, verifying it visually test with different volumes or with volumes less than 5 mL were discarded.

The samples were incubated in the automated BD BACTEC™ FX system (Becton Dickinson) at 37°C for 5 days, after which it was considered negative. The reading was done automatically every 10 minutes.

For the study, those sets that arrived at the laboratory from 8 a.m. to 3 p.m., excluding those received over the weekend and only 1 set per patient, were considered.

All the vials were treated independently. Gram staining was performed in those in which growth was detected; a sub-culture in standard media that was reviewed after overnight incubation. In the case of gram-negative bacilli, rapid identification was made by microculturing 3 drops of the blood culture on Mueller-Hinton-Fastidious agar and after 2 hours of incubation at 37°C and 5% CO₂ [10]. Identification by Mal-di-Tof Vitek-MS™. Only spectra with scores of 99.9% were accepted, following manufacturer's recommendations. For lower scores, identification with overnight cultures were repeated.

Vials in which any *Enterobacteriaceae* were isolated were considered true bacteremia and non-true bacteremia when a microorganism belonging to the usual skin and mucosal microbiota was isolated in a single bottle or in two bottles with a normal C reactive protein [11]. Non-true bacteremia was only taken into account for the calculation of sensitivity and area under the curve (AUC) and considered as negative vials in recovery of *Enterobacteriaceae*.

Statistical analysis was performed using SPSS 20. The concordance of the results for isolates was compared with Pearson's Kappa test using B BACTEC™ Plus Aerobic/F as a reference technique and for growth times the Wilcoxon test was used for non-parametric tests, being considered significant when $p < 0.05$.

RESULTS

Three hundred bottles were studied, 150 B BACTEC™ Plus Aerobic/F and 150 B BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F. One hundred and eighty *Enterobacteriaceae* were isolated: 93 from B BACTEC™ Plus Aerobic/F and 87 from B BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F belonging to 106 patients; the mean age was 69 years with a distribution by sex of 49% (n = 52) men and 51% (n = 54) women. The origin of the samples was mainly from the Emergency Service (63%), followed by Internal Medicine and Haematology, both with 8.5%. The urinary focus was the most frequent origin 31% (n = 33). The average detection time in both cases was 15 hours with AF and 11 hours with B BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F, showing differences statistically significant ($p = 0.015$) for the global *Enterobacteriaceae* and for *Escherichia coli* ($p = 0.03$) (Table 1).

Table 1 Detection time results according to isolated *Enterobacteriaceae*

Microorganism	B BACTEC™ Plus Aerobic/F				B BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F			
	n	TDD		DC<24H n	n	TDD		DC<24H n
		Mean ± sd	Mode			Mean ± sd	Mode	
		(hours)	(hours)			(hours)	(hours)	
<i>Escherichia coli</i>	59	11.87 ± 9.8*	9.50	53	55	10.48 ± 11*	8.50	52
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15	14.77 ± 11.6	10.50	12	13	10.58 ± 7	8.50	12
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	4	27 ± 33.7	5.50	3	5	12.15 ± 3.5	11.50	5
<i>Serratia marcescens</i>	5	25.20 ± 24	7	4	6	11.45 ± 5.2	4.50	6
<i>Proteus mirabilis</i>	2	11 ± 4.2	8	2	2	5.75 ± 2.5	4	2
<i>Proteus penneri</i>	1	17.75	17.75	1	1	11	11	1
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	3	59.75 ± 78	4.50	1	1	4.75	4.75	1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3	19.92 ± 21.3	4.50	2	3	8.42 ± 2.5	5.50	3
<i>Pantoea agglomerans</i>	1	24.50	24.50	1	1	11	11	1
No growth	14	120	-	-	19	120	-	-
Total <i>Enterobacteriaceae</i>	93	15 ± 16*	9.50	80	87	11 ± 9*	8.50	84

n: microorganisms detected; TDD: average detection time; DC<24H: growth detection before 24 hours of incubation; sd: standard deviation; *: statistically significant

Table 2 Results of the comparison of isolated microorganisms according to the type of the bottles.

	Sensitivity	AUC	CI: 95%	K
B BACTEC™ Plus Aerobic/F	91.8 %	0.92	(0.98-0.87)	0.95 (0.92-0.98)
B BACTEC™ tLytic/10 Anaerobic/F	86.7 %	0.90	(0.96-0.84)	

AUC: area under the ROC curve, CI: confidence interval, K: Kappa index.

Compared to the isolation of *Enterobacteriaceae*, the-B BACTEC™ Plus Aerobic/F were slightly better, both for having greater sensitivity and for the accuracy, although both showed very good agreement ($K \geq 0.75$) and accuracy ($AUC \geq 0.90$) (Table 2).

DISCUSSION

As we know, the addition of saponin or other lytic agents to the blood culture of patients with bloodstream infection facilitates the recovery of intracellular bacteria [10], a fact that can improve the isolation of *Enterobacteriaceae*. In our study, it was observed that the average of detection time in both bottles was not greater than 15 hours in the total number of *Enterobacteriaceae*, although a shorter detection time was seen in the case of *E. coli* in B BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F. Both bottles show similar accuracy of results, although-B BACTEC™ Plus Aerobic/F seem more sensitive at the time of the recovery of *Enterobacteriaceae* while in B BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F the mean time of detection was lower. There-

fore, as a conclusion we can affirm the combination of both methods seems to be the best diagnostic strategy, decreasing the detection time by B BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F and increasing the recovery of *Enterobacteriaceae* with B BACTEC™ Plus Aerobic/F.

The combination of both vials to achieve the best sensitivity and celerity in the cultures could be implemented especially in selected situation of special urgency such as the sepsis code or critical patients. Although we might think that this strategy increases the cost of the diagnostic procedure by doubling the number of blood culture vials, the B BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F vials are specially designed for the growth of anaerobic bacteria, therefore, they would allow us to maintain the same number of vials per set of blood culture extracted without detriment to diagnostic performance or increased costs

Despite all this, we encourage manufacturers of technology to detect bacteremia by blood cultures to continue working on improving these devices to shorten the detection time and increase the sensitivity of the vials.

FUNDING

None to declare

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

1. Bouza B, López-Cuadrado T, Saz-Parkinson Z, Amate-Blanco JM. Epidemiology and recent trends of severe sepsis in Spain: A nationwide population-based analysis (2006-2011). *BMC Infect Dis*. 2014; 14:3863. Doi: 10.1186/s12879-014-0717-7
2. Guna Serrano MR, Larrosa Escartín N, Marín Arriaza M, Rodríguez Díaz JC. Diagnóstico microbiológico de la bacteriemia y la fungemia: hemocultivos y métodos moleculares. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2019;37:335–340.
3. Kumar G, Ahmad S, Taneja A, Patel J, Guddati AK, Nanchal R. Severe sepsis in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Crit Care Med* 2015; 43:411-21. Doi: 10.1097/CCM.0000000000000714
4. Page DB, Donnelly JP, Wang HE. Community-, Healthcare- and Hospital-Acquired Severe Sepsis Hospitalizations in the University Health System Consortium. *Crit Care Med* 2015; 43: 1945–1951. Doi: 10.1097/CCM.0000000000001164
5. Levy MM, Evans LE, Rhodes A. The Surviving Sepsis Campaign Bundle: 2018 update. *Intensive Care Med* 2018; 44:925–928. Doi: 10.1007/s00134-018-5085-0
6. Mylotte JM, Tayara A. Blood cultures: clinical aspects and controversies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19:157–63. Doi: 10.1007/s100960050453
7. Klouche M, Schroder U. Rapid methods for diagnosis of blood-stream infections. *Clin Chem Lab Med* 2008; 46:888–908. Doi: 10.1515/CCLM.2008.157
8. Tissari P, Zumla A, Tarkka E, Mero S, Savolainen L, Vaara M, et al. Accurate and rapid identification of bacterial species from positive blood cultures with a DNA-based microarray platform: an observational study. *Lancet* 2010; 375:224–30. Doi: 10.1016/S0140-6736(09)61569-5
9. Rebekka K, Alexander H, Gabriele G, Soren G. MALDI-TOF mass spectrometry following short incubation on a solid medium as a valuable tool for rapid pathogen identification from positive blood cultures. *Int J Med Microbiol* 2015; 305:469–479. Doi: 10.1016/j.ijmm.2015.04.004
10. Hollick GE, Edinger R, Martin B. Clinical Comparison of the BAC-TEC 9000 Standard Anaerobic/F and Lytic/F Blood Culture Media *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1996; 24(4):191–6. Doi: 10.1016/0732-8893(96)00060-0
11. Rodríguez Díaz JC, Guna Serrano R, Larrosa Escartín N, Marín Arriaza M. Diagnóstico microbiológico de la bacteriemia y la fungemia: hemocultivos y métodos moleculares. 2017. 62. Procedimientos en Microbiología Clínica. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Madrid. ISBN: 978-84-697-8208-8.

Sara Pérez de Madrid¹
Alba María Rodrigo²
Daniel Tena¹

Infección de piel y partes blandas por *Streptococcus pneumoniae*: presentación de 15 casos

¹Sección de Microbiología, Hospital General Universitario de Guadalajara, España

²Servicio de Análisis Clínicos, Hospital General Universitario de Guadalajara, España

Article history

Received: 7 April 2021; Revision Requested: 28 June 2021; Revision Received: 21 July 2021; Accepted: 10 August 2021;
Published: 27 September 2021

RESUMEN

Introducción. *Streptococcus pneumoniae* es una causa muy infrecuente de infección de piel y partes blandas (IPPB). El objetivo de este estudio fue conocer las características clínicas y microbiológicas que presentan estas infecciones.

Material y métodos. Se revisaron retrospectivamente las historias clínicas de los enfermos con IPPBs por *S. pneumoniae* diagnosticadas en el Hospital Universitario de Guadalajara entre enero de 2012 y diciembre de 2020. La identificación microbiológica se efectuó utilizando procedimientos convencionales. La sensibilidad antimicrobiana se llevó a cabo mediante el sistema automático MicroScan WalkAway-96 plus y tiras de E-test siguiendo las recomendaciones del European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).

Resultados. Se diagnosticaron 15 casos de IPPBs. El 73,3% presentaron patologías de base, siendo las neoplasias las más frecuentes. El 60% tuvieron factores predisponentes, siendo la inmunosupresión el más habitual. Las presentaciones clínicas fueron: abscesos en diferentes localizaciones, úlceras, heridas quirúrgicas, mastitis lactacional y fascitis necrotizante. El 73,3% de las infecciones fueron polimicrobianas y el 6,6% nosocomiales. La evolución clínica fue favorable en el 90,9% de los casos. Los antibióticos con mayores porcentajes de sensibilidad frente a *S. pneumoniae* fueron cefotaxima, levofloxacina, vancomicina, linezolid y rifampicina.

Conclusiones. *S. pneumoniae* debería valorarse como posible agente causal de IPPBs, sobre todo en pacientes con neoplasias e inmunodeprimidos. Debemos destacar su implicación en infecciones como la mastitis lactacional y fascitis necrotizante. La evolución clínica es favorable en la

mayoría de los pacientes, pero es importante prestar especial atención en los casos de fascitis necrotizante debido a la gravedad que presentan estas infecciones.

Palabras clave: *Streptococcus pneumoniae*, neumococo, infección de piel y partes blandas, úlcera cutánea, infección de herida, infección de herida quirúrgica, mastitis, fascitis necrotizante.

Skin and soft tissue infection caused by *Streptococcus pneumoniae*: report of 15 cases

ABSTRACT

Background. *Streptococcus pneumoniae* is a very rare cause of skin and soft tissue infections (SSTI). The aim of this study was to determine the clinical and microbiological characteristics of these infections.

Material and methods. The medical records of patients with SSTIs due to *S. pneumoniae* diagnosed at the University Hospital of Guadalajara between January 2012 and December 2020 were retrospectively reviewed. Microbiological identification was performed using conventional procedures. Antimicrobial sensitivity was performed using the MicroScan WalkAway-96 plus automatic system and E-test strips following the recommendations of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).

Results. Fifteen cases of SSTIs were diagnosed. 73,3% of the cases presented underlying diseases, neoplasias being the most frequent. 60% of the cases presented predisposing factors, immunosuppression being the most common. The clinical presentations were: abscesses in different locations, ulcers, surgical wounds, lactational mastitis and necrotizing fasciitis. Polymicrobial infections were detected in 73.3% and the etiology was nosocomial in 6.6%. The clinical course was favorable in 90.9% of the cases. The antibiotics with the highest percentages of sensitivity against *S. pneumoniae* were cefotaxime, levofloxacin, vancomycin, linezolid and rifampicin.

Correspondencia:
Sara Pérez de Madrid
Sección de Microbiología, Hospital General Universitario de Guadalajara.
C/. Donante de sangre s/n. 19002 Guadalajara, España.
Tfno: +34-949-209236. - Fax: +34-949-209213.
E-mail: sperezde@sescam.jccm.es

Conclusions. *S. pneumoniae* should be kept in mind as a possible causative agent of SSTIs, especially in patients with neoplasias and immunosuppression. Its involvement in infections such as lactational mastitis and necrotizing fasciitis should be highlighted. The clinical evolution is favorable in most patients, but it is important to pay special attention to cases of necrotizing fasciitis due to the severity of these infections.

Keywords: *Streptococcus pneumoniae*, pneumococcus, skin and soft tissue infection, skin ulcer, wound infection, surgical wound infection, mastitis, necrotizing fasciitis.

INTRODUCCIÓN

Streptococcus pneumoniae es una causa frecuente de infección adquirida en la comunidad. Es un patógeno que habitualmente coloniza la nasofaringe, y se transmite a través de aerosoles o superficies contaminadas con secreciones del propio hospedador. Las infecciones más frecuentes son: otitis media, meningitis, bacteriemia y neumonía [1]. Los niños, adultos mayores de 65 años e inmunodeprimidos presentan mayor riesgo de desarrollar infección. La incidencia de infecciones invasivas en Europa es 18,9 y 14,5 casos por 100.000 habitantes en personas mayores de 65 años y niños menores de 1 año, respectivamente [2]. En España, esta incidencia se situó en 18,07 en personas mayores de 65 años y 21,08 en niños menores de 2 años durante el año 2018-2019 [3]. Las infecciones de piel y partes blandas (IPPBs) son muy infrecuentes [4]. En los últimos años hemos observado un número creciente de aislamientos de *S. pneumoniae* en este tipo de infecciones. El objetivo de nuestro estudio fue conocer las características clínicas y microbiológicas que presentan.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la Sección de Microbiología del Hospital Universitario de Guadalajara, España. Se revisaron de forma retrospectiva las historias clínicas de los pacientes en los que se aisló *S. pneumoniae* en muestras de piel y partes blandas entre el 1 de enero de 2012 y el 31 de diciembre de 2020. Se recogieron los siguientes datos: edad, sexo, enfermedad de base, factores predisponentes, presentación clínica, tipo de muestra, infección mono o polimicrobiana, origen de la infección (extrahospitalaria o nosocomial), tratamiento antibiótico, tratamiento quirúrgico y evolución clínica. Se determinó que la infección era polimicrobiana en aquellos casos en los que se aislaron dos o más microorganismos diferentes en la misma muestra. Se definió infección nosocomial cuando el cuadro clínico comenzó transcurridas 48 horas desde el ingreso, con signos y síntomas que no estaban presentes en el momento de éste. Se definió infección postoperatoria de origen nosocomial cuando apareció en los primeros 30 días tras la intervención quirúrgica. Se consideró que la infección era de origen extrahospitalario cuando el cuadro clínico ya estaba presente en el momento del ingreso o en las primeras 48 horas tras el mismo, o bien en aquellos casos que no requirieron ingreso [5].

Se determinó que la evolución fue favorable hacia la curación cuando se produjo la desaparición total de la sintomatología una vez finalizado el tratamiento antibiótico y/o quirúrgico. Se consideró evolución desfavorable cuando se produjo el fallecimiento antes, durante o una semana después de recibir el tratamiento antibiótico y/o quirúrgico. Se definió infección recurrente si se produjo de nuevo dos o más semanas después de finalizar el tratamiento antibiótico.

La identificación microbiana se efectuó mediante la galería de pruebas bioquímicas API 20 STREP (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, Francia), el sistema automático MicroScan WalkAway-96 plus (Beckman Coulter, Carlsbad, USA) y MALDI-TOF (Bruker Daltonik, Bremen, Alemania). La sensibilidad antimicrobiana se llevó a cabo en el sistema automático MicroScan WalkAway-96 plus (Beckman Coulter, Carlsbad, USA) y en algunos casos mediante tiras de E-test (AB Biodisk, Solna, Suecia), siguiendo las recomendaciones del European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) [6]. Este trabajo fue aprobado por la Comisión Ética del Hospital General Universitario de Guadalajara.

RESULTADOS

Durante los nueve años que abarcó el estudio se diagnosticaron 15 IPPBs por *S. pneumoniae*, suponiendo el 0,05% del total de IPPBs diagnosticadas, y el 1,47% del total de infecciones causadas por este microorganismo. En la tabla 1 se muestran las principales características clínicas y microbiológicas de todos los casos. La edad media de los pacientes fue de 56,3 años (rango: 2-82 años). La distribución por sexo fue 73,3% varones y 26,7% mujeres. El 73,3 % presentaron patologías de base, siendo las neoplasias las más frecuentes (40%). El 60% de los pacientes tuvieron factores predisponentes como inmunosupresión (46,7%) o cirugías previas (26,7%). Las presentaciones clínicas más habituales fueron: abscesos (20%), úlceras cutáneas (20%), heridas quirúrgicas (13,3%) y mastitis lactacionales (13,3%). Hubo un caso de fascitis necrotizante. Las infecciones fueron polimicrobianas en el 73,3% y un solo caso fue de origen nosocomial (6,6%). No se pudo averiguar el tratamiento en dos casos. En los 13 restantes, todos recibieron tratamiento antibiótico y en 7 de ellos precisaron también tratamiento quirúrgico.

Diez casos evolucionaron hacia la curación y uno hacia la recurrencia. En los 4 restantes no se pudo conocer la evolución. El estudio de sensibilidad se realizó en 14 de las 15 cepas. Los datos obtenidos se muestran en la tabla 2. La sensibilidad a penicilina fue del 57,1% y el porcentaje de cepas con sensibilidad intermedia fue 21,4%. Los antibióticos con mayores porcentajes de sensibilidad fueron cefotaxima (100%), levofloxacino (100%), vancomicina (100%), linezolid (100%) y rifampicina (100%). Tres de los 15 pacientes recibieron la vacuna polisacárida (PPSV23). No se pudieron determinar los serotipos de las distintas cepas estudiadas.

Tabla 1 Características clínicas de los pacientes con infecciones de piel y partes blandas por *S. pneumoniae*.

Nº Caso	Edad/ sexo	Enfermedad de base	Factores predisponentes	Presentación clínica	Tipo de muestra	Infección mixta	Infección nosocomial	Tratamiento antibiótico ^a	Tratamiento quirúrgico	Vacuna neumocócica	Evolución
1	82/V	EPOC, SCASEST, hernia inguinal	Ninguno	Absceso (cervical)	Aspirado de absceso	No	No	AMC (9 d)	Si (drenaje)	Sí (PPSV23)	Curación
2	57/V	Adenocarcinoma gástrico	Inmunosupresión, cirugía previa (drenaje biliar)	Infección peridrenaje biliar	Aspirado de drenaje	Si (<i>E. coli</i>)	No	AMC (8 d)	No	No	Desconocido
3	62/V	Prótesis de cadera	Ninguno	Absceso (muslo)	Aspirado de absceso	No	No	CLI ^b + VAN ^b + MER ^b	Si (drenaje, recambio prótesis)	No	Curación
4	81/V	Colitis ulcerosa, Síndrome mieloproliferativo, cáncer vesical, hipotiroidismo	Inmunosupresión	Úlcera cutánea (pie izquierdo)	Exudado de úlcera	Si (<i>Enterococcus</i> sp.)	No	LEV (10 d)	Si (drenaje)	Sí (PPSV23)	Curación
5	57/M	Obesidad mórbida, tirotoxicosis, hipotiroidismo, ICC	Ninguno	Úlcera vascular (extremidad inferior)	Exudado de úlcera	Si (<i>P. aeruginosa</i>)	No	GEN (11 d) + LEV (14 d)	No	No	Recurrencia
6	71/V	HTA, hipercolesterolemia, carcinoma epidermoide de amígdala	Inmunosupresión	Herida (mentón)	Exudado de herida	Si (<i>S. agalactiae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>C. freundii</i>)	No	LEV (7 d)	No	Sí (PPSV23)	Desconocido
7	2/M	Ninguna	Ninguno	Herida (facial)	Exudado de herida	Si (<i>E. faecalis</i> , <i>P. stutzeri</i> , <i>P. oryziatransiens</i>)	No	AMC (7 d), FC ^b	No	No	Curación
8	29/M	Ninguna	Lactancia materna	Mastitis lactacional	Leche materna	Si (<i>S. epidermidis</i>)	No	LEV (7 d)	No	No	Curación
9	67/V	Dislipemia, neoplasia colon	Inmunosupresión, cirugía previa (hemicolectomía)	Herida quirúrgica (abdomen)	Exudado de herida	Si (<i>E. coli</i> , <i>S. lutetiensis</i>)	Si	AMC (10 d)	Si (drenaje)	No	Curación
10	40/V	Colitis ulcerosa, obesidad, hipercolesterolemia	Inmunosupresión, cirugía previa (panprocto- colectomía)	Fascitis necrotizante (abdomen)	Biopsia	Si (<i>E. coli</i>)	No	MER + CIP + CLI + MFG + AMI + LN2 (22 d)	Si (desbridamiento, drenaje)	No	Curación
11	55/V	HTA, DM2, Cirrosis hepática, úlcera esofágica, carcinoma de hipofaringe	Inmunosupresión, cirugía previa (gastrostomía)	Herida quirúrgica (abdomen)	Exudado de herida	Si (<i>K. pneumoniae</i>)	No	Desconocido	Desconocido	No	Desconocido
12	80/V	Cáncer epidermoide	Inmunosupresión	Úlcera cutánea (nasal)	Exudado de úlcera	Si (<i>M. morganii</i>)	No	Desconocido	Desconocido	No	Desconocido
13	62/V	Ninguno	Ninguno	Absceso (cuero cabelludo)	Aspirado de absceso	No	No	LEV (7 d)	Si (drenaje)	No	Curación
14	38/M	Ninguno	Lactancia materna	Mastitis lactacional	Leche materna	No	No	AMC (7 d)	No	No	Curación
15	62/V	Psoriasis, insuficiencia venosa crónica	Ninguno	Úlcera cutánea (pierna)	Exudado de úlcera	Si (<i>K. pneumoniae</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. aureus</i>)	No	CIP (7 d) + FC ^b	Si Desbridamiento	No	Curación

Nota. V: varón; M: mujer; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; SCASEST: síndrome coronario agudo sin elevación de ST; ICC: insuficiencia cardíaca congestiva; HTA: hipertensión arterial; DM2: diabetes mellitus tipo 2; d: días; AMC: Amoxicilina/Clavulánico; CLI: Clindamicina; VAN: Vancomicina; MER: Meropenem; LEV: Levofloxacino; GEN: Gentamicina; FC: Ácido Fusídico; CIP: Ciprofloxacino; MFG: Mifampridina; AMI: Amikacina; LN2: Linezolid; PPSV23: vacuna neumocócica polisacárida. ^aEntre paréntesis: duración del tratamiento antibiótico. ^bDuración desconocida del tratamiento.

Tabla 2 Sensibilidad de las cepas de <i>S. pneumoniae</i> .			
Antibiótico	Nº de cepas	Puntos de corte de sensibilidad(mg/L)	Nº total de cepas sensibles (%)
Penicilina	14	≤0,06	8 (57,14%)
Cefotaxima	14	≤0,5	14 (100%)
Levofloxacino	14	≤2	14 (100%)
Vancomicina	12	≤2	12 (100%)
Eritromicina	14	≤0,25	11 (78,57%)
Clindamicina	14	≤0,5	12 (85,71%)
Tetraciclina	13	≤1	10 (76,92%)
Linezolid	13	≤2	13 (100 %)
Rifampicina	7	≤0,06	7 (100%)
Trimetoprim/sulfatemoxazol	13	≤1	10 (76,92%)

Resultados según criterios del European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) [5].

DISCUSIÓN

Se estima que el 2,2 % de las infecciones neumocócicas son de piel y partes blandas [7]. En los últimos años se han descrito casos de forma esporádica [8, 9]. La mayoría ocurrieron en pacientes que presentaron patologías de base como quemaduras, diabetes mellitus, cáncer, VIH o alcoholismo [4]. Estos datos concuerdan con los obtenidos en nuestro estudio. El 73,3% de los enfermos presentaron patologías de base, siendo las neoplasias las más frecuentes (40%). Es destacable que la inmunosupresión fue el factor de riesgo más frecuente, seguido del antecedente de cirugía. El origen de las IPPBs neumocócicas no se conoce bien. Se ha especulado que puedan estar relacionadas con contaminaciones de origen respiratorio del propio paciente, de sus cuidadores o del personal sanitario [9, 10]. Otros autores sugieren la diseminación del microorganismo desde un foco respiratorio a través del tejido celular subcutáneo hasta la piel, o la diseminación hematogena hasta estructuras musculoesqueléticas, produciéndose celulitis en las zonas adyacentes [11]. Las presentaciones clínicas más frecuentes descritas en la literatura son infecciones de herida quirúrgica, quemaduras, piomiositis, celulitis, abscesos y piodermis [4, 7, 12]. En nuestro estudio, las más frecuentes fueron abscesos subcutáneos en diferentes localizaciones, úlceras y heridas quirúrgicas. Debemos destacar dos casos de mastitis lactacional y uno de fascitis necrotizante. La mastitis lactacional neumocócica es excepcional, habiéndose descrito 5 casos desde 1995 [13-15]. En todos ellos, *S. pneumoniae* se aisló en los cultivos de leche materna, y su presencia se atribuyó a la transmisión desde el niño en el momento del amamantamiento. Este dato es llamativo porque el origen de la mastitis lactacional se asocia habitualmente a la proliferación de la flora bacteriana autóctona de la leche materna [16]. En los dos casos que presentamos se desconoce si los niños fueron portadores nasofaríngeos. Respecto a la fascitis necrotizante

neumocócica, se trata de una infección muy infrecuente [8]. La mayoría se producen en pacientes inmunodeprimidos, ancianos o con patologías de base como lupus eritematoso sistémico, diabetes mellitus o insuficiencia renal crónica [8]. También se ha descrito en pacientes que han recibido antiinflamatorios no esteroideos por vía intramuscular y en enfermos con un traumatismo previo [8, 17]. En nuestro caso, es llamativo que se asociara a una intervención quirúrgica previa debida a una colitis ulcerosa.

La mayoría de las IPPBs de nuestro estudio fueron polimicrobianas. Es difícil conocer la contribución de *S. pneumoniae* en este tipo de infecciones cuando se aíslan varias bacterias. Consideramos que *S. pneumoniae* tuvo un papel importante en todas ellas, dada la elevada patogenicidad que presenta [1]. Además, las muestras fueron recogidas correctamente, lo que descarta la posibilidad de contaminación. En las series de casos revisadas, la mayoría de IPPBs fueron de origen nosocomial [4]. Este hallazgo contrasta con los resultados obtenidos en nuestro estudio, donde solo una tuvo ese origen (6,6%). La evolución clínica fue favorable hacia la curación en 10 de los 11 pacientes en los que tuvimos información (90,9%). Este aspecto concuerda con los datos publicados en la literatura [4]. Sin embargo, en ocasiones las IPPBs de origen neumocócico son de extrema gravedad, como ocurre con las fascitis necrotizantes, con tasas de mortalidad que pueden alcanzar el 52,6% [8]. Nuestro paciente presentó una evolución clínica favorable tras desbridamiento quirúrgico precoz y tratamiento antibiótico prolongado. El abordaje inmediato resulta vital para conseguir una evolución clínica satisfactoria [18]. Respecto al estudio de sensibilidad de las cepas de *S. pneumoniae*, el porcentaje de sensibilidad a penicilina fue del 57,1%, siendo mayor que lo publicado en otras series [4]. Los datos de sensibilidad a eritromicina (78,5%) fueron concordantes con lo descrito en otros trabajos [4, 19]. Todas las cepas fueron sensibles a cefalosporinas

de tercera generación. Por este motivo, al igual que ocurre en otras infecciones sistémicas causadas por esta bacteria, este grupo de antibióticos pueden ser una opción válida para tratar las infecciones graves de forma empírica [20, 21]. Desafortunadamente, no se pudo determinar el serotipo de las distintas cepas estudiadas, por lo que no fue posible valorar la influencia de la vacunación neumocócica en estas infecciones.

En conclusión, *S. pneumoniae* debería valorarse como posible agente causal de IPPBs, sobre todo en pacientes con neoplasias e inmunodeprimidos. Debemos destacar su implicación en infecciones como la mastitis lactacional y fascitis necrotizante. La evolución clínica es favorable en la mayoría de los pacientes, pero es importante prestar especial atención en los casos de fascitis necrotizante debido a la gravedad que presentan estas infecciones.

FINANCIACIÓN

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

CONFLICTOS DE INTERÉS

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

BIBLIOGRAFÍA

1. Loughran AJ, Orihuela CJ, Tuomanen EI. *Streptococcus pneumoniae*: Invasion and inflammation. Microbiol Spectr 2019;7(2):10.1128/microbiolspec.GPP3-0004-2018. doi:10.1128/microbiolspec.GPP3-0004-2018.
2. Annual epidemiological report 2017. European Centre for Disease Prevention and Control 2017.
3. de Miguel S, Domenech M, González-Camacho F, Sempere J, Vicioso D, Sanz JC, et al. Nationwide trends of invasive pneumococcal disease in Spain (2009-2019) in children and adults during the pneumococcal conjugate vaccine era. Clin Infect Dis. 2020;ciaa1483. doi: 10.1093/cid/ciaa1483.
4. García-Lechuz JM, Cuevas O, Castellares C, Pérez-Fernández E, Cercenado E, Bouza E. *Streptococcus pneumoniae* skin and soft tissue infections: characterization of causative strains and clinical illness. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2007;26(4):247-53. PMID: 17372776.
5. World Health Organization, Department of Communicable Disease, Surveillance and Response. Prevention of Hospital-acquired Infections. Geneva, Switzerland: WorldHealthOrganization; 2002. PublicationWHO/CDS/CSR/EPH/2002.12.
6. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, 2019, <http://www.eucast.org>.
7. Guillet M, Zahar JR, Timsit MO, Grandin L, Carboneille E, Join-Lambert O, et al. Horizontal transmission of *Streptococcus pneumoniae* in the surgical ward: a rare source of nosocomial wound infection. Am J Infect Control. 2012;40(1):71-2. doi: 10.1016/j.ajic.2011.02.012.
8. Park SY, Park SY, Moon SY, Son JS, Lee MS. Fatal necrotizing fasciitis due to *Streptococcus pneumoniae*: a case report. J Korean Med Sci. 2011;26(1):131-4. doi: 10.3346/jkms.2011.26.1.131.
9. Martínez ME, Grenón SL, López OH, Leguizamón LB, Mollerach ME, von Specht MH. Descripción de 3 casos de infecciones de piel y tejidos blandos por *Streptococcus pneumoniae*. Rev Argent Microbiol. 2017;49(2):142-5. doi: 10.1016/j.ram.2016.12.005.
10. Savini V, Valerio C, Onofrillo D, Consilvio NP, Polilli E, Crescenzi C, et al. Surgical wound infection by *Streptococcus pneumoniae* after a cat-scratch disease. Int J Low Extrem Wounds. 2012;11(4):311-2. doi: 10.1177/1534734612463702.
11. Capdevila O, Grau I, Vadillo M, Cisnal M, Pallares R. Bacteremic pneumococcal cellulitis compared with bacteremic cellulitis caused by *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2003;22(6):337-41. doi: 10.1007/s10096-003-0945-z.
12. Salvo S, Durán E, Borrás M, Navarro M, Gil J, Rubio C. Celulitis abscesificada por *Streptococcus pneumoniae*. Rev Esp Quimioter. 2010;23(4):213-4. PMID: 21191562.
13. Skolidis T, Stamnidi A, Syriopoulou V, Kontopoulos G, Legakis N. Pneumococcal puerperal mastitis in a lactating mother. Access Microbiol. 2019;1(6):e000020. doi: 10.1099/acmi.0.000020.
14. Miedzybrodzki B, Miller M. A lactating woman presenting with puerperal pneumococcal mastitis: a case report. J Med Case Rep. 2013;7:114. doi: 10.1186/1752-1947-7-114.
15. Hald SV, Schønheyder HC. *Streptococcus pneumoniae* as a cause of lactational mastitis: a case report. Clin Case Rep. 2018;6(5):917-9. doi: 10.1002/ccr3.1488.
16. Fernández L, Arroyo R, Espinosa I, Marín M, Jiménez E, JM Rodríguez. Probiotics for human lactational mastitis. Benef Microbes 2014;5:169-83.
17. Dawar M, Russell B, McClean K, Levett PN, Tyrrell GJ, Irvine J. A case of necrotizing fasciitis due to *Streptococcus pneumoniae* serotype 5 in Saskatchewan. Can J Infect Dis Med Microbiol. 2008;19(1):69-71. doi: 10.1155/2008/246468.
18. Hovmand N, Byberg S, Larsen MB, Podlekareva D, Buck DL, Hansen BR. Necrotizing fasciitis and meningitis due to *Streptococcus pneumoniae* serotype 9N: a case report. BMC Infect Dis. 2019;19(1):358. doi: 10.1186/s12879-019-3969-4.
19. Navarro C, Egado P, Aspiroz C, Durán E, García C, Rubio C, et al. Resistencia a penicilina y otros antimicrobianos en 301 aislamientos clínicos de *Streptococcus pneumoniae*. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2000;18(7):314-8. PMID: 11109722.
20. Irfan S, Farooqi J, Kumar H, Zafar A. Antimicrobial sensitivity pattern, demographic findings and risk factors amongst meningitis and non-meningitis invasive *Streptococcus pneumoniae* at Aga Khan University Hospital Clinical Laboratory, Karachi, Pakistan. J Pak Med Assoc. 2019;69(8):1124-30. PMID: 31431765.
21. Lynch JP 3rd, Zhanel GG. Escalation of antimicrobial resistance among *Streptococcus pneumoniae*: implications for therapy. Semin Respir Crit Care Med. 2005;26(6):575-616. doi: 10.1055/s-2005-925524.

Mariana Fernandez-Pitto^{1,2,3}
Yuliya Zboromyrska^{1,2,3}
Angely Román¹
Griselda Tudó Vilanova^{1,2,3}
Miguel Ángel Benítez⁴
Julián Gonzalez-Martin^{1,2,3}

Retrospective diagnosis of lymphatic tuberculosis in frozen samples using two genetic amplification methods, Xpert® MTB/RIF ULTRA and Abbott RealTime MTB Assay

¹Department of Microbiology-CDB. Hospital Clínic of Barcelona. Barcelona. Spain.

²ISGlobal, Institute for Global Health. Barcelona. Spain.

³Departament de Fonaments Clínics, Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, Universitat de Barcelona.

⁴Consorci del Laboratori Intercomarcal de l'Alt Penedès, l'Anoia i el Garraf, Barcelona.

Article history

Received: 6 May 2021; Revision Requested: 17 July 2021; Revision Received: 9 August 2021; Accepted: 19 August 2021; Published: 13 October 2021

ABSTRACT

Objectives. The main objective of the present study is to assess the sensitivity and specificity of a retrospective diagnostic of lymphatic tuberculosis (LTB), testing frozen samples using gene amplification PCR methods. The secondary objective was to compare the results of two different commercial tuberculosis gene amplification methods for this purpose.

Material and methods. We retrospectively studied 38 frozen samples, previously processed for mycobacterial culture between January 2014 and August 2019. The results of the previous cultures were: 21 samples positive for *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTB) (5 being smear positive), 7 samples culture positive for *Mycobacterium avium-intracellulare* complex and 10 samples which were mycobacterial culture negative and discarded for LTB diagnosis, used as controls. The samples were processed using two gene amplification methods: Xpert® MTB/RIF Ultra (Cepheid) and Abbott RealTime MTB Assay (Abbott).

Results. Compared to initial culture results the sensitivity and specificity of Xpert® MTB/RIF Ultra were 57.1% and 100% and 52.3 % and 92.5%, respectively for the Abbott RealTime MTB assay. The differences were not statistically significant. In addition, there were no differences according to the period of freezing.

Conclusions. Gene amplification of frozen samples confirmed the diagnosis of lymphatic TB in almost 60% of cases, allowing retrospective diagnosis in initially non suspected cases. Both gene amplification techniques tested were equally useful.

Keywords: Frozen lymph nodes samples, retrospective TB diagnosis, Xpert® ULTRA, Abbott RealTime MTB, lymph nodes, extrapulmonary tuberculosis.

Diagnóstico retrospectivo de tuberculosis linfática en muestras congeladas utilizando dos métodos de amplificación genética, Xpert MTB/RIF ULTRA y Abbott RealTime MTB Assay

RESUMEN

Objetivos. El principal objetivo del presente estudio es establecer la sensibilidad y especificidad del diagnóstico retrospectivo de tuberculosis linfática (LTB), analizando muestras congeladas y utilizando métodos de amplificación genética basados en PCR. El objetivo secundario es comparar los resultados de dos métodos comercializados de amplificación genética de tuberculosis.

Material y métodos. Se estudiaron retrospectivamente 38 muestras congeladas, que previamente habían sido procesadas para realizar cultivo de micobacterias, entre enero de 2014 y agosto de 2019. Los resultados en ese momento fueron: 21 muestras positivas para *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTB) (de las que 5 tenían la tinción positiva), 7 muestras con cultivo positivo para *Mycobacterium avium-intracellulare* complex y 10 muestras con cultivo de micobacterias negativo, en las que se había descartado el diagnóstico de LTB, que se usaron como controles. Las muestras se procesaron utilizando dos métodos de amplificación genética: Xpert® MTB/RIF Ultra (Cepheid) y Abbott RealTime MTB Assay (Abbott).

Resultados. Comparando con los resultados de los cultivos iniciales, la sensibilidad y especificidad de Xpert® MTB/RIF Ultra fueron de 57,1% y 100%, y de 52,3% y 92,5%, para Abbott RealTime MTB assay. Las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Tampoco se observaron diferencias en relación al periodo transcurrido desde la congelación.

Conclusiones. La amplificación genética de muestras congeladas confirma el diagnóstico de tuberculosis linfática en casi el 60% de los casos, permitiendo el diagnóstico retrospec-

Correspondence:
Julian Gonzalez-Martin.
Servei de Microbiologia, Hospital Clínic de Barcelona.
C. Villarreal 170, 08036-Barcelona
E-mail: gonzalez@clinic.cat

tivo de casos no sospechados. Las dos técnicas de amplificación analizadas demostraron la misma utilidad.

Palabras clave: muestras congeladas de ganglios linfáticos, diagnóstico retrospectivo de TB, Xpert ULTRA, Abbott RealTime MTB, nódulos linfáticos, tuberculosis extrapulmonar.

INTRODUCTION

According to the last report of the World Health Organization (WHO), ten million cases of tuberculosis (TB) were diagnosed during 2019. Moreover, it is estimated that 1.4 million people died of TB during this period [1]. Pulmonary tuberculosis is the most frequent form of clinical presentation of tuberculosis [1]. Extrapulmonary TB accounts for 16% of TB cases worldwide, with unequal distribution according to world region and HIV status of the patients. In the European WHO Region, extrapulmonary TB is found in 16% of the cases [1]. Extrapulmonary TB can affect any organ or tissue, although it is most frequently found in the lymph nodes and pleura and as disseminated forms in immunosuppressed patients [2]. Around 30 to 50% of extrapulmonary TB cases can affect lymph nodes, the most common localizations being lymph nodes in the cervical, submandibular or subclavicular neck area. Intrathoracic and intraabdominal nodes are less frequently affected, and sometimes not suspected as TB [2]. To diagnose lymphatic TB, especially localized in the neck, needle aspiration is performed and the sample undergoes cytological and microbiological study. Excision biopsy is performed when the needle aspiration results are negative.

The diagnosis of lymphatic TB is based on clinical symptoms and signs related to the localization and histological findings such as granulomatous reaction and/or caseous necrosis, and microbiological results. Microbiological tests comprise smear staining, mycobacterial culture and nucleic acid amplification tests (NAAT), when suspicion is high or moderately high. According to different studies, the diagnosis is confirmed in over 53-85% of the cases [2-4].

In recent years several commercial NAAT have been developed for the diagnosis of TB. Among the most used are two versions of the Xpert® assays (Cepheid, Sunnyvale, USA), the Xpert® MTB/RIF Assay and the Xpert® MTB/RIF Ultra. Both are integrated molecular tests able to detect *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTB) and rifampicin resistance with minimal hands-on manipulation [4-7]. The ultra-version has greater sensitivity due to the incorporation of two new targets and improved polymerase chain reaction (PCR) parameters [7]. Another PCR-based test developed in the last years is the Abbott RealTime MTB Assay (Abbott, Chicago USA) [8].

The aim of the present study was to study the sensitivity and specificity of a retrospective diagnosis of lymph node TB analysing frozen samples using two NAAT in comparison to the initial mycobacterial culture.

METHODS

Sample collection. The mycobacterial laboratory of the hospital stores aliquots of remaining decontaminated samples

processed for mycobacterial culture. Samples are maintained at -80°C and thawed if required for PCR or repeating the culture. In the present study, a total of 38 aliquots of frozen decontaminated lymph node samples, processed for mycobacterial culture between January 2014 and August 2019 were selected and thawed. Twenty-one samples were obtained from tuberculous patients culture-positive for MTB, and 7 samples were obtained from patients suspected of mycobacterial disease who were culture positive for *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC). Ten mycobacterial culture-negative samples obtained from patients with a final diagnosis other than mycobacterial infection were included as controls.

The Xpert® MTB/RIF ULTRA and Abbott RealTime MTB assays were performed in the 38 samples included in the study. Before the amplification tests, a tissue digestion step was performed: 2 mL of the sample were centrifuged for 10 min, and the sediment recovered was then resuspended into 800 µL of digestion buffer with 40 µL of proteinase K (Qiagen, Hilden, Germany), followed by a heating at 56 °C overnight. The digestion volume was adjusted to 1.1 ml and distributed as follows: 0.6 ml of the digested sample were tested for Xpert® MTB/RIF ULTRA using the GeneXpert instrument (Cepheid Sunnyvale, USA), and 0.5 ml were tested with the Abbott RealTime MTB. The results of both methods were interpreted according to the manufacturer's instructions.

RESULTS

Table 1 shows the results obtained with the two methods. Twelve and 11 of 21 MTB-positive cultures were also positive by Xpert® MTB/RIF ULTRA and Abbott RealTime MTB, respectively. Two additional positives of Abbott RealTime MTB were considered false positives, one of the controls and one of the MAC positive cultures. Compared to culture, the overall sensitivity and specificity for Xpert® MTB/RIF ULTRA were 57.1% and 100%, respectively, being 52.3% and 92.5% for the Abbott RealTime MTB. The differences were not statically significant. Of 21 samples positive for MTB, five were also positive by staining. These samples were among the positive NAAT results. There were no differences in the results according to the date of freezing.

DISCUSSION

In the present study, we analysed frozen aliquots remaining from decontaminated samples processed for mycobacterial culture to retrospectively diagnose lymphatic TB. The samples were analysed using two commercial NAAT [4,8], obtaining a sensitivity of 57.1% for Xpert® MTB/RIF Ultra and 52.3% for Abbott RealTime MTB. These results support the utility of a retrospective diagnosis for cases with clinical and/or histological suspicion of TB, days or weeks after processing a sample initially suspected of pathologies other than TB.

Both of the NAAT used in this study have been tested for diagnosing pulmonary TB. The new and old Xpert® versions, have been broadly tested [5,6], achieving a sensitivity of 89%

Table 1 Xpert® MTB/RIF Ultra and Abbott RealTime MTB assays for the diagnosis of tuberculosis from frozen aliquots of lymph node samples processed for mycobacterial culture

Samples according to culture results	Combined results of staining and culture	Total number of samples	Xpert® MTB/RIF Ultra		Abbott RealTime MTB	
			Positive	Negative	Positive	Negative
MTB	M+/C+	5	4	1	3	2
	M-/C+	16	8	8	8	8
Control	M-/C-	10	0	10	1	9
MAC	M+/C+	1	0	1	0	1
	M-/C+	6	0	6	1	5

M: microscopic examination; C: culture; MAC: *Mycobacterium avium-intracellulare* complex; MTB: *Mycobacterium tuberculosis* complex;

and a specificity of 99%. In addition, Abbott RealTime MTB has been used in several studies [8–10], showing a sensitivity of around 80%. Another study comparing both methods found equivalent results [11].

Several studies in the literature have described the results of NAAT in diagnosing lymphatic TB in fresh samples [4,7]. A Cochrane review [4] using Xpert® MTB/RIF Ultra reported a sensitivity of 70 to 81.6% with a specificity of 96.4–100%. Although the sensitivity results of the present study were lower than those achieved in fresh samples, they were comparable to other studies performed using paraffin-embedded biopsies. Moure et al [12] found a sensitivity of 60% and a specificity of 85.7%. Although the present study included samples frozen between 1 and 5 years previously, the results were independent of the freezing time. Among the few studies including frozen samples, some did not observe differences with respect to fresh samples [10,13]. It should however be noted that these studies included smear positive samples, with a high bacterial load. It has been suggested, that bacterial viability may be reduced in frozen samples due to autolysis of mycobacterial cells [14], and DNA degradation cannot be ruled out either. This reduction in viability would be evidenced only in paucibacillary samples, such as those from extrapulmonary sites, in which the bacterial load can be critical to decide a positive or negative result. Therefore, we hypothesized that freezing without measures to prevent bacterial autolysis could play a role in the decreased sensitivity found in the present study. On the other hand, processing frozen aliquots of remaining decontaminated culture samples not only from lymph nodes, can confirm a diagnosis of TB, weeks or months after obtaining the sample.

In conclusion, gene amplification performed in frozen samples allows confirmation of a diagnosis of TB weeks or months after obtaining the sample. For this purpose, both Xpert® MTB/RIF Ultra and Abbott MTB assays showed equivalent results.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors belong to the Study Group of Mycobacterial Infections (GEIM) of the *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* (SEIMC), the Spanish Network for the Research in Infectious Diseases (REIPI) and the research team award for quality control by *Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca* (AGAUR, 2017SGR809). IS-Global is a member of the CERCA Programme, *Generalitat de Catalunya*. In addition, we are deeply grateful to Donna Pringle for her help with language revision.

FUNDING

This work was supported by the *Ministerio de Economía y Competitividad, Instituto de Salud Carlos III, Subdirección General de Redes y Centro de Investigación Cooperativa*, co-financed by the European Regional Development Fund (ERDF) 'A way to achieve Europe', the Spanish Ministry of Health (grant no. PI16/01047), *Planes Nacionales de I+D+i* 2008-2011/2013-2016 and the Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI) (RD16/0016/0010) co-financed by ERDF and operative program Intelligent Growth 2014-2020. This study was also supported by grant 2017SGR809 from the *Departament d'Universitats, Recerca i Societat de la Informació de la Generalitat de Catalunya*, and by a grant from *Fundació La Marató de TV3* (grant no. 202816-10).

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that they have no conflicts of interest.

REFERENCES

1. World health organization. Global Tuberculosis Report. 2020 Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131>
2. Lazarus AA and Thilagar B. Tuberculous lymphadenitis. Dis

- Mon 2007; 53:10-15. PMID: 17224318. doi: 10.1016/j.disamonth.2006.10.001
3. World health organization. Improving the diagnosis and treatment of smear negative pulmonary and extrapulmonary tuberculosis among adults and adolescents. Recommendations for HIV-prevalent and resource-constrained settings. WHO/HTM/TB/2007.379. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/69463>
 4. Horne DJ, Kohli M, Zifodya JS, Schiller I, Dendukuri N, Tollefson D et al. . Xpert MTB/RIF and Xpert MTB/RIF Ultra for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. Cochrane Database Syst Rev. 2019;6:CD009593. doi: 10.1002/14651858.CD009593.pub4.
 5. Arend SM, van Soolingen D. Performance of Xpert MTB/RIF Ultra: a matter of dead or alive. Lancet Infect Dis. 2018;18:8-10. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30695-3.
 6. Steingart KR, Schiller I, Horne DJ, Pai M, Boehme CC, Dendukuri N. Xpert® MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. Cochrane Database Syst Rev. 2014(1):CD009593. doi: 10.1002/14651858.CD009593.pub3.
 7. Perez-Risco D, Rodriguez-Temporal D, Valledor-Sanchez I, Alcaide F. Evaluation of the Xpert MTB/RIF Ultra Assay for Direct Detection of Mycobacterium tuberculosis Complex in Smear-Negative Extrapulmonary Samples. J Clin Microbiol. 2018; 56:e00659-18. doi: 10.1128/JCM.00659-18.
 8. Vinuesa V, Navarro D, Poujois S, Zaragoza S, Borrás R. Performance characteristics of the new Abbott Real Time MTB assay for detection of Mycobacterium tuberculosis complex in respiratory specimens. Diagn Microbiol Infect Dis. 2016; 84:212-4. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2015.11.001.
 9. Ruiz P, Causse M, Vaquero M, Gutierrez JB, Casal M. Evaluation of a new automated Abbott RealTime MTB RIF/INH assay for qualitative detection of rifampicin/isoniazid resistance in pulmonary and extra-pulmonary clinical samples of *Mycobacterium tuberculosis*. Infect Drug Resist. 2017; 10:463-467. doi: 10.2147/IDR.S147272.
 10. Hinić V, Feuz K, Turan S, Berini A, Frei R, Pfeifer K, et al. Clinical evaluation of the Abbott RealTime MTB Assay for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis-complex* from respiratory and non-respiratory samples. Tuberculosis. 2017;104:65-9. doi: 10.1016/j.tube.2017.03.002
 11. Berhanu RH, David A, da Silva P, Shearer K, Sanne I, Stevens W, et al. Performance of Xpert MTB/RIF, Xpert Ultra, and Abbott Real-Time MTB for diagnosis of pulmonary tuberculosis in a high-HIV-burden setting. J Clin Microbiol. 2017; 259:10-15. doi: 10.1016/j.psychres.2016.11.006.
 12. Moure Z, Castellvi J, Sanchez-Montalva A, Pumarola T and Tortola MT. The role of molecular techniques for the detection of Mycobacterium tuberculosis complex in paraffin-embedded biopsies. Appl Immunohistochem Mol Morphol 2019; 27:77-80. doi: 10.1097/PAI.0000000000000533 .
 13. Atwebembele J, Orikiriza P, Bonnet M, Atwine D, Katawera V, Nansumba M, et al. Xpert(®) MTB/RIF for detection of Mycobacterium tuberculosis from frozen string and induced sputum sediments. Int J Tuberc Lung Dis. 2016; (8):1113-7. doi: 10.5588/ijtld.15.0691.
 14. Pahtak D, Chakravorty S, Hanif M and Tyagi JS. Lysis of tubercle bacilli in fresh and stored sputum specimens: implications for diagnosing tuberculosis in stored and paucibacillary specimens by PCR. BMC Microbiology. 2007; 7:83. doi: 10.1186/1471-2180-7-83.

Adrián Valls Carbó¹
Juan González del Castillo²⁻⁴
Oscar Miró⁵
Pedro Lopez-Ayala⁶
Sonia Jimenez⁵
Javier Jacob⁷
Carlos Bibiano⁸
F. Javier Martín-Sánchez²⁻⁴

Increased severity in SARS-CoV-2 infection of minorities in Spain

¹Institute for Health Research of Hospital San Carlos, Madrid, Spain.

²Emergency department, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, Spain.

³Faculty of Medicine of Universidad Complutense de Madrid, Spain.

⁴Institute for Health Research of Hospital San Carlos, Madrid, Spain.

⁵Área de Urgencias, Hospital Clínic, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain.

⁶Cardiovascular Research Institute Basel (CRIB) and Department of Cardiology, University Hospital Basel, University of Basel, Basel, Switzerland

⁷Emergency department. Hospital Universitario de Bellvitge, Barcelona, Spain.

⁸Emergency department. Hospital Universitario Infanta Leonor, Madrid, Spain.

Article history

Received: 8 July 2021; Accepted: 21 September 2021; Published: 8 October 2021

ABSTRACT

Introduction. With the global spread of COVID-19, studies in the US and UK have shown that certain communities have been strongly impacted by COVID-19 in terms of incidence and mortality. The objective of the study was to determine social determinants of health among COVID-19 patients hospitalized in the two major cities of Spain.

Material and methods. A multicenter retrospective case series study was performed collecting administrative databases of all COVID-19 patients ≥ 18 years belonging to two centers in Madrid and two in Barcelona (Spain) collecting data from 1st March to 15th April 2020. Variables obtained age, gender, birthplace and residence ZIP code. From ZIP code we obtained per capita income of the area. Predictors of the outcomes were explored through generalized linear mixed-effects models, using center as random effect.

Results. There were 5,235 patients included in the analysis. After multivariable analysis adjusted by age, sex, per capita income, population density, hospital experience, center and hospital saturation, patients born in Latin American countries were found to have an increase in ICU admission rates (OR 1.56 [1.13-2.15], $p < 0.01$) but no differences were found in the same model regarding mortality (OR 1.35 [0.95-1.92], $p = 0.09$).

Conclusions. COVID-19 severity varies widely, not only depending on biological but also socio-economic factors. With the emerging evidence that this subset of population is at higher risk of poorer outcomes, targeted public health strategies and studies are needed.

Key words: COVID-19, mortality, sociodemographic impact

Mayor gravedad de la infección por SARS-CoV-2 en minorías en España

Introducción. Con la propagación mundial de COVID-19, estudios de EE. UU y Reino Unido han demostrado que ciertas comunidades se han visto fuertemente afectadas por COVID-19 en términos de incidencia y mortalidad. El objetivo del estudio fue identificar los determinantes sociales que pudieran condicionar los resultados en salud en pacientes con COVID-19 hospitalizados en las dos principales ciudades de España.

Material y métodos. Se realizó un estudio multicéntrico retrospectivo de series de casos recogiendo las variables de las bases de datos administrativas de todos los pacientes COVID-19 ≥ 18 años pertenecientes a dos centros de Madrid y dos de Barcelona (España) y evaluados de 1 de marzo al 15 de abril de 2020. Las variables obtenidas fueron la edad, sexo, lugar de nacimiento y código postal de residencia. A partir del código postal obtuvimos la renta per cápita de la zona. Los predictores de los resultados se exploraron a través de modelos lineales generalizados de efectos mixtos, utilizando el centro como efecto aleatorio.

Resultados. Se incluyeron 5.235 pacientes en el análisis. Después de un análisis multivariable ajustado por edad, sexo, ingreso per cápita, densidad de población, experiencia hospitalaria, centro y saturación hospitalaria, se encontró que los pacientes nacidos en países de América Latina tenían un aumento en las tasas de ingreso en la UCI (OR 1,56 [1,13-2,15], $p < 0,01$), pero no se encontraron diferencias en el mismo modelo con respecto a la mortalidad (OR 1,35 [0,95-1,92], $p = 0,09$).

Conclusiones. La gravedad de COVID-19 varía ampliamente, no solo según factores biológicos sino también socioeconómicos. Con la evidencia emergente de que este subconjunto de población tiene un mayor riesgo de peores resultados, se necesitan estrategias y estudios específicos de salud pública.

Palabras clave: COVID-19, mortalidad, impacto sociodemográfico.

Correspondence:
Francisco Javier Martín Sanchez
Emergency Department. Hospital Clínico San Carlos.
Calle Profesor Martín-Lagos s/n, 28040 Madrid.
Phone Number: (34) 91.330.37.50
FAX Number: (34) 91.330.35.69
Email: fjmms@hotmail.com

INTRODUCTION

Social determinants are important causes which can affect health [1,2]. This has been demonstrated to have a great importance in infectious diseases [3], where the interaction between the exposition to the microorganism and the health status are crucial to produce the disease.

Social inequality is the situation when resources are allocated unevenly, which generates patterns across socially defined categories of persons, such as ethnicity, gender or age. Social inequality determines a social vulnerability to the disease for each group, defined as risk exposure and capacity to recover for a community which is highly determined by income, work and access to healthcare system.

According to the UNDESA world social report, inequality has increased in most developed countries since 1990 [4]. In Spain, after the financial crisis of 2008, people at risk of poverty or social exclusion increased in two points from 2007 to 2019, while in the rest of Euro area remained stable [5].

With the global spread of COVID-19, studies in the US and UK have shown that certain communities have been strongly impacted by COVID-19 in terms of incidence and mortality [6]. While this relationship has been studied in Spain at aggregated level in Barcelona [7], no other social determinants of health apart from income have been studied in Spain. The objective of the study was to determine social determinants of health among COVID-19 patients hospitalized in the two major cities of Spain.

MATERIAL AND METHODS

A multicentered retrospective case series study was performed collecting administrative databases of all COVID-19 patients 318 years belonging to hospital area. Two centers in Madrid and two in Barcelona (Spain) participated in the study collecting data from 1st March to 15th April 2020. All patients were followed until the 1st June 2020. We included all patients with a confirmed or high suspicion diagnosis for COVID-19.

From administrative databases we obtained age, gender, birthplace, and residence ZIP code. Patients who were born out of Spain were considered as immigrants and they were grouped into three categories: Latin American origin, Western countries different than Spain and other (which included patients from Africa, Asia and Oceania). From ZIP code we obtained per capita income of the area where each patient lived from the National Statistics Institute of Spanish Statistical Office (<https://www.ine.es/en/index.htm>). These geographical variables were obtained at census level and then merged into ZIP code via QGIS (QGIS Development Team (2020). QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org>). Hospital experience was defined as the number of COVID patients attended each day in the center during the study period. Hospital experience was calculated for each day and applied during the period where the patient was admitted. Saturation index was calculated as the

total number of COVID patients who were admitted in the hospital divided by the total number of beds in each center and multiplied by the new COVID admitted in the hospital.

Comparisons among groups were made using t-Student for normal continuous variables. Wilcoxon signed-rank test for non-normal continuous variables and chi-square test was used for categorical variables. Follow-up started at the time of admission. Predictors of the outcomes were explored through generalized linear mixed-effects models, using center as random effect. Measures of association were expressed as odds ratio (OR), with a 95% confidence interval (CI), adjusted for variables $p < 0.10$ in the univariable analysis. Statistically significant differences were considered two-side p -value less than 0.05 or if OR 95% CI excluded 1. Data analysis was performed using R statistical software.

RESULTS

There were 5,235 patients included in the analysis. 44% of the patients were female and median age was 68 (IQR 54-80). 3391 patients (65.8%) were from Madrid and 1844 (35.2%) were from Barcelona. Mortality and ICU admission rates were 15.9% and 6.2% respectively (Table 1). Regarding birthplace 4288 (82%) patients were born in occidental countries, 840 (16%) were born in Latin America and 98 (1.8%) in other regions. 20% of the patients of patients were immigrants, being 80% of them from Latin America. Latin American patients were younger (median age 50.0 [41.0;59.0], $p < 0.01$) but no differences were found in sex. In univariable analysis it was shown that patients who were born in Latin America 1.58-fold (OR 1.58 [1.2-2.06], $p < 0.01$) ICU admission rates than their Occidental born counterparts but a decrease in mortality rates (OR 0.27 [0.2-0.36], $p < 0.01$).

After multivariable analysis adjusted by age, sex, per capita income, population density, hospital experience, center and hospital saturation, patients born in Latin American countries were found to have an increase in ICU admission rates (OR 1.56 [1.13-2.15], $p < 0.01$) but no differences were found in the same model regarding mortality (OR 1.35 [0.95-1.92], $p = 0.09$).

DISCUSSION

Amongst hospitalized patients, we found significant increased odds of ICU admission for patients who were born in Latin-American countries. Although these cluster of patients showed a trend towards more mortality rates, this association was non statistically significant.

Our study is in line with the emerging evidence which suggest socially disfavored communities have poorer COVID-19 clinical outcomes. As ICU is a surrogate marker of critical illness, present study suggests that the disease in Latin American population may be more severe, which may not impact in mortality because this subset of population is younger.

Findings have to be interpreted in the context of Spanish social structure, where Latin American population constitutes

Table 1 Characteristics of the population included in the study.

	Total (N=5,235)	Madrid (N=3,391)	Barcelona (N=1,844)	p value
Demographic patient data				
Age (years); median (IQR)	68.0 (54.0-80.0)	69.0 [54.0- 81.0]	67.0 [54.0- 77.0]	<0.01
Gender female; n (%)	2,308 (44.1)	1,505 (44.4)	803 (43.5)	0.581
Foreigners; n (%)	1,044 (20.0)	828 (24.5)	216 (11.7)	<0.01
Place of birth; n (%)				<0.01
Spain	4,182 (80.0)	2,556 (75.5)	1,626 (88.3)	
Latin America countries	840 (16.1)	686 (20.3)	154 (8.4)	
Western countries except Spain	106 (2.0)	74 (2.2)	32 (1.7)	
Arabic countries	45 (0.9)	34 (1.0)	11 (0.6)	
Asian countries	39 (0.7)	24 (0.7)	15 (0.8)	
Sub-Saharan African countries	14 (0.3)	10 (0.3)	4 (0.2)	
Origin; n (%)				<0.01
Occidental	4,288 (82.1)	2,630 (77.7)	1,658 (90.0)	
Latin America	840 (16.1)	686 (20.3)	154 (8.4)	
Other	98 (1.9)	68 (2.0)	30 (1.6)	
Data related to ZIP code area where patients live				
Average per capita income of ZIP code areas in €/person; median (IQR)	11,797 (8932.5-14268)	10,673.50 [8,909- 11,950]	12,451 [11,213- 14,861]	<0.01
Percentile of average per capita income of ZIP code area; median (IQR)	0.71 (0.17-0.93)	0.49 [0.17, 0.74]	0.80 [0.60, 0.95]	<0.01
Population density (people/km ²); median (IQR)	1,242.75 (414.5-2,364.37)	1,035.26 [773.2-1,645.4]	1,496.12 [107.4-3,742.4]	
Percentile of population density of ZIP code area median (IQR)	0.71 (0.17-0.93)	0.49 [0.17-0.74]	0.8 [0.6-0.95]	
Hospital care data				
Hospital Experience Index; median (IQR)	1,305 (772-1801.5)	1,638.50 [1,047.00- 2,055.50]	826.00 [607.00- 1,221.00]	<0.01
Emergency Department Saturation Index; median (IQR)	37.56 (16.15-67.3)	54.54 [37.56- 86.15]	16.15 [7.13- 23.30]	<0.01
Primary outcomes				
Critical care admission; n (%)	323 (6.2)	165 (4.9)	158 (8.6)	<0.01
In-hospital mortality; n (%)	832 (15.9)	575 (17.0)	257 (13.9)	<0.01

the main immigrant and minoritized community. While other studies have tried to explain outcome disparities in different ethnical communities due to biological differences, modern scholarship regards race as a social construct which is just a weak proxy for genetic diversity [8]. Although outcomes in our study were adjusted by income, several determinants such as education, employment and cultural differences in access to healthcare remain uncontrolled to affirm such differences in severity are attributable to biological factors. Therefore more studies in this direction are needed to provide more evidence.

COVID-19 severity varies widely [9,10], not only depending on biological but also socio-economic factors. With the emerging evidence that this subset of population is at higher risk of poorer outcomes, targeted public health strategies and studies are needed.

FUNDING

None to declare

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest

REFERENCES

1. Preda A, Voigt K. The social determinants of health: why should we care? *Am J Bioeth.* 2015;15(3):25-36. doi:10.1080/15265161.2014.998374
2. Krieger N, Chen JT, Waterman PD, Soobader M-J, Subramanian S V, Carson R. Geocoding and Monitoring of US Socioeconomic In-

- qualities in Mortality and Cancer Incidence: Does the Choice of Area-based Measure and Geographic Level Matter?: The Public Health Disparities Geocoding Project. *Am J Epidemiol.* 2002;156(5):471-482. doi:10.1093/aje/kwf068
3. Semenza JC, Giesecke J. Intervening to reduce inequalities in infections in Europe. *Am J Public Health.* 2008;98(5):787-792. doi:10.2105/AJPH.2007.120329
 4. UN (2020), World Social Report 2020: Inequality in a Rapidly Changing World, UN, New York.
 5. Union E. Eurostat.
 6. Patel A, Abdulaal A, Ariyanayagam D, et al. Investigating the association between ethnicity and health outcomes in SARS-CoV-2 in a London secondary care population. *PLoS One.* 2020;15(10):e0240960. doi:10.1371/journal.pone.0240960
 7. Baena-Díez JM, Barroso M, Cordeiro-Coelho SI, Díaz JL, Grau M. Impact of COVID-19 outbreak by income: hitting hardest the most deprived. *J Public Health (Oxf).* Published online August 2020. doi:10.1093/pubmed/fdaa136
 8. Yudell M, Roberts D, DeSalle R, Tishkoff S. Taking race out of human genetics. *Science* (80-). 2016;351(6273):564 LP - 565. doi:10.1126/science.aac4951
 9. Martín-Sánchez FJ, Del Toro E, Cardassay E, et al. Clinical presentation and outcome across age categories among patients with COVID-19 admitted to a Spanish Emergency Department. *Eur Geriatr Med.* Published online July 2020:1-13. doi:10.1007/s41999-020-00359-2
 10. 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. *Emergencias Rev la Soc Esp Med Emergencias.* 2020;32(4):233-241.

Marina Peñuelas¹
Cristina García-Salguero¹
Melania Iñigo²
Jose Manuel Viñuela-Prieto³
Francisco Javier Candel⁴
José Luis del Pozo⁵
Esther Culebras¹

In vitro activity of imipenem/relebactam against Gram-negative clinical isolates in two Spanish tertiary hospitals

¹Department of Clinical Microbiology, Hospital Clínico San Carlos, IdISCC and IML Health Research Institutes, Complutense University, Madrid, Spain

²Department of Clinical Microbiology, Clínica Universitaria de Navarra, Campus Madrid, Spain

³School of Medicine, Complutense University, Madrid, Spain

⁴Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Hospital Clínico San Carlos, IdISCC and IML Health Research Institutes, Complutense University, Madrid, Spain

⁵Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Clínica Universitaria de Navarra, Campus Pamplona, Spain

Article history

Received: 15 August 2021; Accepted: 12 September 2021; Published: 13 October 2021

ABSTRACT

Objective. The aim of this study was to analyze the activity of the imipenem-relebactam combination (IMI/REL) against a collection of multidrug-resistant Enterobacterales, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* clinical isolates.

Material and methods. The study was conducted in two tertiary hospitals in Spain and included 192 clinical isolates of these 3 genera (139 resistant and 53 susceptible to IMI). The MICs for IMI with and without REL (at a fixed concentration of 4 mg/L) were determined by a standard broth microdilution method according to international recommendations.

Results. All IMI-susceptible *E. coli* strains were also susceptible to IMI/REL. Enterobacterales resistant to IMI due to the production of carbapenemases, the MIC₅₀ and MIC₉₀ decreased from 64/256 with IMI to 8/64 mg/L with IMI/REL. This high activity was principally detected among isolates with KPC enzymes. Enterobacterales with class B carbapenemases, *P. aeruginosa* carrying VIM carbapenemase and *A. baumannii* strains showed no changes on IMI MIC₅₀ or MIC₉₀ after adding REL. Among *P. aeruginosa* strains without carbapenemase the MIC for IMI/REL was reduced between 1 to 5 dilutions.

Conclusions. IMI/REL showed high activity against the strains that carry *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) and against carbapenem-resistant *P. aeruginosa* unrelated to the VIM enzyme, mainly AmpC beta lactamase associated with impermeability. Against strains carrying oxacillinase 48 (OXA-48) associated with extended-spectrum beta-lactamase (ESBL), IMI/REL presented activity only slightly better than IMI and had no beneficial effect superior to IMI against *A. baumannii*.

Keywords: Imipenem-relebactam, *Pseudomonas aeruginosa*, Carbapenem-resistant Enterobacterales, *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, oxacillinase 48, Extended-spectrum beta-lactamase.

Actividad *in vitro* de imipenem/relebactam frente aislados clínicos de gramnegativos en dos hospitales terciarios españoles

RESUMEN

Objetivo. El objetivo de este estudio fue analizar la actividad de la combinación imipenem-relebactam (IMI/REL) frente a una colección de aislados clínicos multirresistentes de Enterobacterales, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*.

Material y métodos. El estudio se realizó en dos hospitales terciarios de España e incluyó 192 aislados clínicos de estos 3 géneros (139 resistentes y 53 susceptibles a IMI). Las CMI para IMI con y sin REL (a una concentración fija de 4 mg/L) se determinaron por un método estándar de microdilución en caldo según las recomendaciones internacionales.

Resultados. Todas las cepas de *E. coli* sensibles a IMI fueron también sensibles a IMI/REL. En el caso de las enterobacterias resistentes a IMI debido a la producción de carbapenemasas, la CMI₅₀ y la CMI₉₀ disminuyeron de 64/256 con IMI a 8/64 con IMI/REL. Esta elevada actividad se detectó principalmente entre los aislados con enzimas KPC. Las enterobacterias con carbapenemasas de clase B, *P. aeruginosa* portadora de carbapenemasas VIM y las cepas de *A. baumannii* no mostraron cambios en la CMI₅₀ ni en la CMI₉₀ tras añadir REL. Entre las cepas de *P. aeruginosa* sin carbapenemasas, la CMI para IMI/REL se redujo entre 1 y 5 diluciones.

Conclusiones. IMI/REL mostró una elevada actividad frente a las y frente a *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenemasas no relacionadas con la enzima VIM, principalmente AmpC beta lactamasa asociada a la impermeabilidad. Contra las cepas portadoras de oxacilinas 48 (OXA-48) asociadas a betalactamasas de espectro extendido (ESBL), IMI/REL presentó una actividad sólo ligeramente mejor que

Correspondence:
Francisco Javier Candel González, MD PhD.
Clinical Microbiology and Infectious Diseases, IdISCC and IML Health Research Institutes.
Hospital Clinic San Carlos, Madrid, Spain
Email: franciscojavier.candel@salud.madrid.org

IMI y no tuvo un efecto beneficioso superior a IMI contra *A. baumannii*.

Palabras clave: Imipenem, Imipenem-relebactam, *Pseudomonas aeruginosa*, Enterobacteriaceae resistentes a los carbapenémicos, beta-lactamasa de espectro extendido.

INTRODUCTION

The continuing emergence of antibiotic resistance in the community and hospitals is considered a major public health threat [1, 2]. This resistance is mainly due to the presence of carbapenemase enzymes and the addition of other resistance mechanisms frequently related with the external membrane's permeability [1].

To avoid this problem, various combinations of beta-lactam antibiotics and beta-lactamase inhibitors have been developed. Relebactam (REL) is a new inhibitor of class A, C and certain D beta-lactamases (not active against OXA-48 beta-lactamase), which in combination with imipenem (IMI) has recently been approved by the European Medicines Agency (EMA) and the Food and Drug Administration (US FDA). IMI/REL combination can restore carbapenem's activity when resistance is due class A or certain type D carbapenemases, either alone or in combination with other resistance mechanisms, mainly extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) and AmpC beta-lactamases [3, 4].

The aim of this study was to evaluate the *in vitro* activity of IMI/REL against 192 clinical isolates (139 resistant and 53 susceptible to imipenem) from the collections of the Department of Microbiology of Hospital Clínico San Carlos de Madrid and Clínica Universitaria de Navarra.

MATERIAL AND METHODS

Strains were selected according to their resistance mechanisms including the most common of them. Table 1 shows the distribution of these isolates according to their predominant resistance mechanism. The resistance genes were either previously characterized [5,6] or detected using polymerase chain reaction with specific primers. Isolates were subcultivated at least twice in Mueller-Hinton agar before proceeding to minimum inhibitory concentration (MIC) determination. IMI and REL were supplied by Merck Sharp and & Dohme. The stock solutions of the compounds were prepared and stored in aliquots at -80 °C until use. No aliquot was refrozen once unfrozen. The MICs for IMI with and without REL (at a fixed concentration of 4 mg/L) were determined by a standard broth microdilution method [7]. The MIC ranges used for IMI were 512 to 0.5 mg/L for resistant strains and 8 mg/L to 0.0625 mg/L for susceptible strains. *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 were included as quality controls in each MIC assay. MICs were measured using broth microdilution according to international recommendations [8].

Table 1 Characterization of the tested strains		
Microorganism	Enzyme	n
Imipenem-susceptible <i>Escherichia coli</i> (n = 49)		
	TEM	8
	CTXM 9	11
	CTXM 15	14
	SHV	5
	AmpC	10
	AmpC + CTXM 9	1
Imipenem-resistant Enterobacterales (n = 50)		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		30
	KPC	14
	OXA 48	8
	OXA 48 + ESBL	7
	VIM	1
<i>Enterobacter cloacae</i>		13
	KPC	5
	OXA 48	4
	VIM	4
<i>Serratia marcescens</i>	VIM	2
<i>Citrobacter freundii</i>	VIM	2
<i>Klebsiella variicola</i>	VIM	1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	VIM	1
<i>Escherichia coli</i>	NDM	1
<i>Acinetobacter baumannii</i> (n = 50)		
	OXA23	10
	OXA24+OXA58	1
	OXA24	14
	OXA51+ISAba1	11
	OXA58	14
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n = 43)		
	OprD ↓ +/- ↑AmpC +/-↑MexAB	20
	VIM	19
	KPC	4

RESULTS

As expected, all IMI-susceptible *E. coli* strains were also susceptible to IMI/REL. The MIC₅₀ remained at 0.125 mg/L in both cases, and the MIC₉₀ decreased 1 dilution, from 0.25 mg/L for IMI to 0.125 for IMI/REL.

In the Enterobacterales resistant to IMI due to the production of carbapenemases, the MIC₅₀ and MIC₉₀ decreased from 64/256 with IMI to 8/64 with IMI/REL. This high activity was principally detected among isolates with KPC enzymes. In these, the MIC values decreased at least 5 dilutions in up to 63.16% (12/19) of the strains. For the 12 Enterobacterales with class B carbapenemases, there was no differences between the MIC with IMI and those with IMI/REL. In the same way, 19 P.

Table 2		MIC distribution of imipenem-resistant strains.							
Group of organism/ Enzyme	N	Imipenem MIC (mg/L)				Imipenem/relebactam MIC (mg/L)			
		N (%)				N (%)			
		≤2	≤4	≤8	≥16	≤2	≤4	≤8	≥16
Enterobacterales (n=49)									
KPC	19				19 (100)	9 (47.4)	15 (78.9)	17 (89.5)	2 (10.5)
OXA 48 + ESBL	7				6 (85.7)	2 (28.6)	3 (42.9)	7 (100)	
OXA-48	12				12 (100)				9 (75)
VIM / NDM	11 / 1				12 (100)				12 (100)
<i>Acinetobacter baumannii</i> (n=50)		4 (8)	4 (8)	5 (10)	45 (90)	4 (8)	4 (8)	6 (12)	44 (88)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=43)									
NO carbapenamase	20	1 (5)	1 (5)	10 (50)	10 (50)	19 (95)	19 (95)	20 (100)	
VIM	19		2 (10.5)	2 (10.5)	17 (89.5)	1 (5.3)	2 (10.5)	4 (21,1)	
KPC	4				4 (100)	4 (100)			

aeruginosa carrying VIM carbapenemase and all *A. baumannii* strains, showed no changes in the MIC₅₀ and MIC₉₀ (64 – 256 mg/L, and 16 – 128 mg/L respectively). In *P. aeruginosa* isolates without carbapenemase (20/43), the MIC for IMI/REL was reduced between 1 to 5 dilutions. The group with carbapenemases obtained a reduction of 4 dilutions for the 4 KPC-carrying strains, obtaining MIC_{≤2} in all strains (4/4). The distribution of MIC values is shown in Table 2.

DISCUSSION

As expected, the addition of REL to IMI can improve the MIC of IMI in KPC carbapenemase-producing Enterobacterales, reaching up to 7 dilutions of difference [9–12]. For *P. aeruginosa* resistant to IMI due to reduced porin expression, associated or not with the overexpression of AmpC enzymes and efflux pumps, IMI/REL showed high activity. These results are in agreement with previous published studies [9–11]. In our study, IMI/REL decreases MIC values 4 dilutions in *P. aeruginosa* strains with KPC enzymes, similarly to that observed in Enterobacterales.

Our results show that OXA-48 carrier strains were resistant to IMI/REL in almost 90% of cases. The same results were obtained by other authors [12]. The difference observed in the MIC reduction between OXA-48-carrying Enterobacterales and those that also carry an ESBL suggest the presence of impermeability resistance mechanisms in the last ones. Other studies with strains resistant to IMI for the association of ESBL and/or AmpC with impermeability showed that IMI/REL reduced the MIC to IMI susceptibility values [9, 10, 13]. Finally, the *Acinetobacter baumannii* strains showed no improvement when adding REL to IMI, showing the lack of activity of REL on class D enzymes characteristic of *A. baumannii* [10].

This analysis may be subject to some limitations. Due to the low stability of imipenem, the concentration of active drug in the titrated substance used in the experiments could be less than the expected. This fact could justify an increase in the MICs obtained, especially in the case of those carriers of carbapenemases of the KPC family compared with previous published data [9–3]. In addition, the selection of the strains was based on the mechanisms of resistance instead of frequency of appearance in clinical samples being not representative of the local susceptibility of these 3 groups.

IMI/REL shows high activity against KPC carrier strains. This, together with its effective inhibition of other high-dispersion broad-spectrum beta-lactamases such as ESBL and AmpC, as well as the combination's low susceptibility to active efflux pumps, makes this combination an alternative treatment for infections caused by KPC carbapenemase-carrying Enterobacterales with or without other associated mechanisms of beta-lactam resistance. The study conducted by Haidar et al. [14] showed that IMI/REL also maintains its activity in strains with KPC-2 and KPC-3 mutations, associated with resistance to another new combination: ceftazidime/avibactam. Similarly, IMI/REL appears to be a good candidate for those medical centers that, in addition to the above-mentioned problem with KPC carbapenemases, have multidrug-resistant *P. aeruginosa* that do not carry VIM carbapenemases.

FUNDING

None to declare

CONFLICT OF INTEREST

Authors declare no conflict of interest

ACKNOWLEDGMENTS

The investigators would like to thank Merck Sharp Down (MSD) Laboratories for providing the tested substance of Imipenem and Relebactam necessary to carry out this study.

REFERENCES

1. European Centre for Disease Prevention and Control. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, second update – 26 September 2019. ECDC: Stockholm; 2019.
2. Prioritization of pathogens to guide discovery, research and development of new antibiotics for drug-resistant bacterial infections, including tuberculosis. Geneva: World Health Organization; 2017(WHO/EMP/IAU/2017.12).
3. Lucasti C, Vasile L, Sandesc D, Venskutonis D, McLeroth P, Lala M, Rizk ML, Brown ML, Losada MC, Pedley A, Kartsonis NA, Paschke A. 2016. Phase 2, dose-ranging study of relebactam with imipenem-cilastatin in subjects with complicated intra-abdominal infection. *Antimicrob Agents Chemother* 60: 6234–6243. doi:10.1128/AAC.00633-16.
4. Lob SH, Hackel MA, Kazmierczak KM, Hoban DJ, Young K, Motyl MR, Karlowsky JA, Sahm DF. 2017. In vitro activity of imipenem-relebactam against gram-negative bacilli isolated from patients with lower respiratory tract infections in the United States in 2015: results from the SMART global surveillance program. *Diagn Microbiol Infect Dis* 88:171–176. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2017.02.018.
5. López-Díaz MD, Culebras E, Rodríguez-Avial I, Ríos E, Viñuela-Prieto JM, Picazo JJ, Rodríguez-Avial C. Plazomicin Activity against 346 Extended-Spectrum- β -Lactamase/AmpC-Producing *Escherichia coli* Urinary Isolates in Relation to Aminoglycoside-Modifying Enzymes. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017; 61(2). pii: e02454-16.
6. Rodríguez-Avial I, Pena I, Picazo JJ, Rodríguez-Avial C, Culebras E. In vitro activity of the next-generation aminoglycoside plazomicin alone and in combination with colistin, meropenem, fosfomycin or tigecycline against carbapenemase-producing Enterobacteriaceae strains. *Int J Antimicrob Agents*. 2015; 46: 616–21.
7. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. 11th ed. CLSI standard M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
8. International Organization for Standards. Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility testing devices. Part 1: Broth micro-dilution reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing anaerobic bacteria involved in infectious diseases. ISO 20776-1:2019. Geneva: International Organization for Standards; 2019
9. Livermore DM, Warner M, Mushtaq S. 2013. Activity of MK-7655 combined with imipenem against *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 68:2286–2290. doi:10.1093/jac/dkt178.
10. Lapuebla A, Abdallah M, Olafisoye O, Cortes C, Urban C, Landman D, Quale J. 2015. Activity of imipenem with relebactam against Gram-negative pathogens from New York City. *Antimicrob Agents Chemother* 59: 5029–5031. doi:10.1128/AAC.00830-15.
11. Young K, Raghoobar SL, Hairston NN, Painter RE, Racine F, Dorso KL, Park Y-W, Ogawa AM, Wisniewski D, Hermes J, Blizzard TA, Hammond ML, Motyl MR. 2010. In vitro activity of the class A and C β -lactamase inhibitor MK-7655. ICAAC 2010, Boston, MA, poster F1-2139.
12. Canver MC, Satlin MJ, Westblade LF, Kreiswirth BN, Chen L, Robertson A, Fauntleroy K, La Spina M, Callan K, Jenkins SG. 2019. Activity of Imipenem-Relebactam and comparator agents against genetically characterized isolates of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother* 63: e00672-19. doi:10.1128/AAC.00672-19
13. Lob SH, Hackel MA, Kazmierczak KM, Young K, Motyl MR, Karlowsky JA, Sahm DF. 2017. In vitro activity of imipenem-relebactam against Gram-negative ESKAPE pathogens isolated by clinical laboratories in the United States in 2015 (results from the SMART global surveillance program). *Antimicrob Agents Chemother* 61: e02209-16. doi:10.1128/AAC.02209-16.
14. Haidar G, Clancy CJ, Chen L, Samanta P, Shields RK, Kreiswirth BN, Nguyen MH. 2017. Identifying spectra of activity and therapeutic niches for ceftazidime-avibactam and imipenem-relebactam against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother* 61: e00642-17. doi:10.1128/AAC.00642-17.

María José Esteve Gimeno¹
Celia Roig Martí¹
Ignacio Pérez Catalán¹
Núria Tornador Gaya¹
Jorge Usó Blasco²

Micofenolato como ahorrador de corticoides en paciente con neumonía organizada por COVID-19

¹Servicio de Medicina Interna del Hospital General de Castellón. España

²Unidad de Enfermedades Infecciosas. Servicio de Medicina Interna del Hospital General de Castellón. España

Article history

Received: 17 March 2021; Revision Requested: 29 April 2021; Revision Received: 9 July 2021; Accepted: 15 July 2021; Published: 29 September 2021

Estimado director: presentamos el caso de una mujer de 56 años con antecedente de neumonía multilobar por COVID-19 en abril de 2020, confirmada por RT-PCR. Se inició tratamiento con corticoides (250 mg de metilprednisolona (MTP) durante 3 días y posterior pauta descendente) y antibioterapia (ceftriaxona 2 g y azitromicina 500 mg durante 5 días). La paciente evolucionó favorablemente sin precisar altos flujos de oxigenoterapia y con práctica resolución de la afectación pulmonar en radiografía (RX) de tórax de control (resolución en lóbulos superiores y disminución significativa de los mismos en campos medios e inferiores). Fue dada de alta con pauta descendente de prednisona (PDN) (30 mg durante 7 días, 20 mg durante 7 días y 10 mg durante 7 días), enoxaparina a dosis profilácticas, sin necesidad de oxígeno y con seguimiento en consulta post COVID-19.

Al mes del alta y tras finalizar corticoterapia, la paciente presentó deterioro del estado general con empeoramiento de síntomas parkinsonianos y con disnea grado 3 (escala mMRC) presentando en tomografía axial computarizada de alta resolución (TACAR) de control empeoramiento radiológico, con aparición de nuevos infiltrados alveolares sin hallazgos sugestivos de fibrosis pulmonar (Figura 1). Ante la sospecha de afectación residual por COVID-19, se decidió iniciar nueva pauta de corticoides (PDN 30 mg y posterior pauta descendente) con RX de control, a la semana, con notable mejoría radiológica. De forma paralela, la paciente inició cuadro compatible con síndrome de Cushing severo. La paciente presentó claro empeoramiento del parkinsonismo que presentaba, así como insomnio, ansiedad y ganancia de peso secundario a la corticoterapia, por lo que se decidió disminuir la dosis de corticoides (PDN 20 mg). Dos semanas después, la paciente contactó telefónicamente, por empeoramiento clínico (disnea) que se correlacionó con empeoramiento radiológico. Ante el rebrote con el descen-

so de PDN y ante la sospecha de neumonía organizada (NO) en paciente post COVID-19 se decidió ingreso para completar estudio.

En analítica de ingreso, destacaba Dímero D 900 ng/mL, elevación de reactantes de fase aguda (RFA) con proteína C reactiva (PCR) de 158 mg/L, fibrinógeno 900 mg/dL y ferritina de 260 ng/mL. Se solicitó estudio microbiológico (hemocultivos, serología, interferon-gamma release assay (IGRA), galactomano (AGA) en sangre, etc) y de autoinmunidad que resultaron negativos. Se realizó fibrobroncoscopia más biopsia. El lavado broncoalveolar (BAL) se envió a microbiología (cultivo bac-

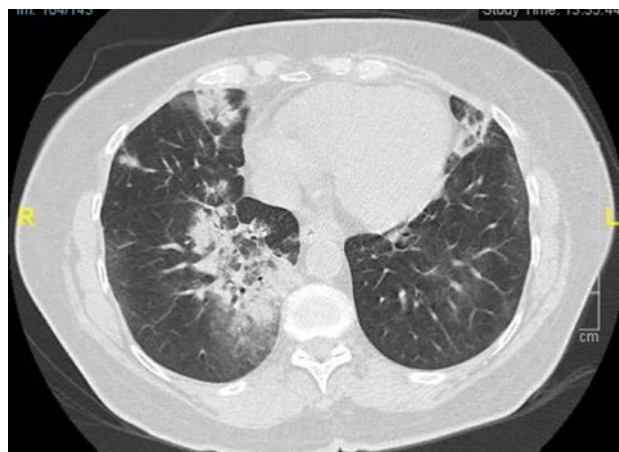


Figura 1 Afectación pulmonar al mes del alta y tras finalizar corticoterapia, donde se objetiva la aparición de nuevos infiltrados alveolares en llingula (afectación predominante), segmentos posterolaterales del lóbulo inferior izquierdo, lóbulo medio y lóbulo inferior derecho.

Correspondencia:
María José Esteve Gimeno
Servicio de Medicina Interna del Hospital General de Castellón.
Avenida Benicassim s/n.
E-mail: mestevegimeno@gmail.com

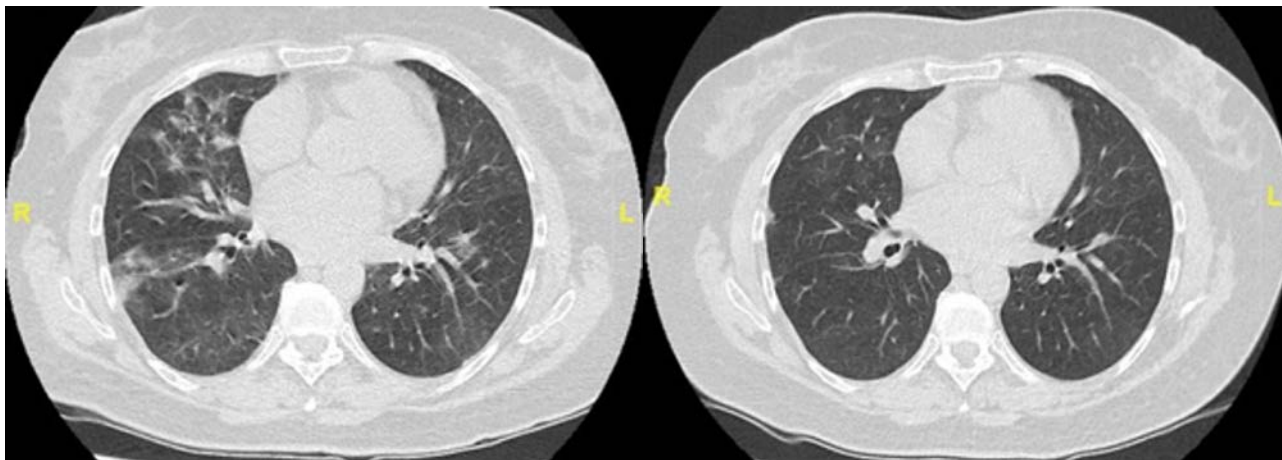


Figura 2 Evolución del TACAR pulmonar, evidenciando infiltrados bilaterales (imagen izquierda), previa a la asociación de micofenolato al tratamiento. Tras un mes de tratamiento, resolución prácticamente completa de los infiltrados bilaterales (imagen derecha).

teriológico y fúngico negativo) y a anatomía patológica (AP) donde se observó celularidad predominante de macrófagos (422 células, 97% CD3, 31.7% CD4, 66.7% CD8, 0.1% CD19) y negatividad para células tumorales. En la biopsia pulmonar se objetivó leve infiltrado inflamatorio intersticial y de forma aislada fibrina intraalveolar, compatible con la sospecha diagnóstica de NO.

En cuanto al tratamiento, teniendo en cuenta el síndrome de Cushing yatrogénico, se asoció a la pauta de PDN 10 mg cada 24 horas, ácido micofenólico como ahorrador de corticoides (500 mg cada 12 horas los primeros 15 días, y posteriormente 1000 mg cada 12 horas). Durante el seguimiento posterior, la paciente se mantuvo estable y con mejoría radiológica (Figura 2). En el momento actual, está pendiente de pruebas de función respiratoria y de revisión por parte de Neumología para seguimiento multidisciplinar.

La neumopatía post-COVID-19, como otros aspectos en esta patología, es, en el momento actual, un campo en constante actualización. Es conocido el cuadro clínico, el sustrato inflamatorio subyacente y las diferentes formas de presentación radiológica [1-3]. Sin embargo, las características anatomopatológicas han sido desconocidas hasta la publicación de estudios realizados en necropsias de pacientes fallecidos por COVID-19 [4, 5]. Durante la primera ola epidémica el tratamiento con corticoides en pacientes con neumonía grave era controvertido [6, 7]. A pesar de esto, ante la mejoría evidente de los pacientes con su uso, se continuó utilizando, demostrando recientemente, reducción de la mortalidad en pacientes que recibieron tratados con dexametasona [8]. En este contexto, se han realizado varios estudios en necropsias de pacientes fallecidos por COVID-19 y en ellos, la NO es uno de los patrones histológicos más frecuentes, lo que explicaría en parte, la mejoría objetivada con la corticoterapia [4, 5].

A colación de lo expuesto, se ha descrito el caso de un paciente con cuadro clínico y radiología compatible con infección por COVID-19, que tras negatividad de RT-PCR en exudado nasofaríngeo se realiza fibrobroncoscopia, con BAL con positividad para dicho germen y con biopsia que evidencia hallazgos compatibles con NO y que con tratamiento evoluciona favorablemente [9]. En el caso de nuestra paciente, la NO se presenta como complicación en el post COVID-19 y de forma similar ocurre en un caso publicado reciente, al que un paciente post COVID-19 con persistencia de la insuficiencia respiratoria, se le realiza biopsia pulmonar objetivándose hallazgos compatibles con NO. De esta manera se decidió iniciar corticoides orales con mejoría significativa [10].

A nuestro escenario, se le añade una complicación extra ya que la paciente presenta síntomas compatibles con síndrome de Cushing, precisando alternativas terapéuticas (ahorradores de corticoides). En este contexto, la bibliografía es escasa, y las guías recomiendan azatioprina o micofenolato de mofetilo en las neumonías intersticiales no específicas (NINE) y fibrosis pulmonar idiopática (FPI), sin gran evidencia de su uso en NO [2,11]. En nuestro caso se inició tratamiento con ácido micofenólico con evolución favorable tanto clínica como radiológicamente sin objetivarse complicaciones a corto plazo.

El caso presentado, hace referencia a una NO en un paciente post COVID-19 confirmada por biopsia. La evidencia de esta entidad en el seguimiento de este tipo de pacientes es escasa en literatura y se desconoce su manejo en este contexto. Es por esta razón que consideramos que se trata de un caso clínico de especial interés y que el clínico debe tener en consideración en el seguimiento actual del paciente COVID-19. Además, se describe el diagnóstico y el manejo para que la comunidad científica sea conocedora de esta situación dada la baja prevalencia de esta entidad en la práctica clínica habitual.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cervera Segura R, Espino Garriga G, Ramos Casals M, Hernández-Rodríguez J, Prieto González S, Espigol Frigolé G, Cinta Cid M. Respuesta Inmunoinflamatoria en la COVID-19. Capítulo 27 "Respuesta Inmunoinflamatoria en la COVID-19". 6ª edición de la Guía Clínica Enfermedades Autoinmunes Sistémicas. Diagnóstico y tratamiento.
2. García-Vidal C, Moreno-García E, Hernández-Meneses M, Puerta-Alcalde P et al. Personalized therapy approach for hospitalized patients with COVID-19. *Clin Infect Dis*. 2020 Jul 10;ciaa964 doi:10.1093/cid/ciaa964
3. Parra Gordo ML, Weiland GB, García MG, Choperena GA. Radiologic aspects of COVID-19 pneumonia: outcomes and thoracic complications. Aspectos radiológicos de la neumonía COVID-19: evolución y complicaciones torácicas. *Radiología*. 2021;63(1):74-88. doi: 10.1016/j.rx.2020.11.002
4. Copin MC, Parmentier E, Duburcq T, Poissy J, Mathieu D; Lille COVID-19 ICU and Anatomopathology Group. Time to consider histologic pattern of lung injury to treat critically ill patients with COVID-19 infection. *Intensive Care Med*. 2020;46(6):1124-1126. doi:10.1007/s00134-020-06057-8.
5. Tian S, Xiong Y, Liu H, Niu L, Guo J, Liao M, et al. Pathological study of the 2019 novel coronavirus disease (COVID-19) through postmortem core biopsies. *Mod Pathol* 2020;33:1007-1014. doi: 10.1038/s41379-020-0536-x
6. Wang D., Hu B., Hu C., Zhu F., Liu X., Zhang J. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 Novel Coronavirus-Infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020;323:1061-1069. doi: 10.1001/jama.2020.1585
7. Wu C., Chen X., Cai Y., Xia J., Zhou X., Xu S. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *Intern Med*. 180(7): 934-943. Doi: 10.1001/jamainternmed.2020.0994 2020.
8. The Recovery Collaboraty Group. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. *N Engl J Med* 2021; 384:693-704. doi: 10.1056/NEJMoa2021436
9. Pogatchnik B.P., Swenson K.E., Sharifi H., Bedi H., Berry G.J., Guo H.H. Radiology-pathology correlation demonstrating organizing pneumonia in a patient who recovered from COVID-19. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020;202:598-599. doi: 10.1164/rccm.202004-1278IM
10. Takumida H, Izumi S, Sakamoto K, Hashimoto M, Ishii S, Suzuki M, Takasaki J, Tanaka M, Igari T, Hojo M. Sustained coronavirus disease 2019-related organizing pneumonia successfully treated with corticosteroid. *Respir Investig*. 2021 Jan 21. doi: 10.1016/j.res-inv.2020.12.005
11. Xaubet A, Ancochea J, Blanquer R et al. Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades pulmonares intersticiales. *Arch Bronconeumol* 2003; 39:580-600. doi: 10.1016/S0300-2896(03)75457-X
12. Tenes JA, Gómez-Carrera L, García-Sánchez A, Fernández-Velilla M. Neumonías intersticiales idiopáticas. *Medicina*. 2018;12:3917-28. doi: 10.1016/j.med.2018.11.002

David Brandariz-Núñez¹
Jessica Gálvez-López²

Septic arthritis caused by *Bacteroides thetaiotaomicron*: A case report and review

¹Pharmacy Department. Quironsalud Barcelona Hospital. Barcelona. Spain

²Microbiology Department. Quironsalud Barcelona Hospital. Barcelona. Spain

Article history

Received: 26 April 2021; Revision Requested: 28 May 2021; Revision Received: 15 June 2021; Accepted: 26 July 2021; Published: 5 October 2021

Sir,

The septic arthritis is an uncommon infection with an incidence of 4 to 12/100,000 person-years. This complication is characterized by the rapid destruction of the joint with loss of function, because of hematogenous spread or direct inoculation of bacteria into the joint [1]. Septic arthritis of the knee is the most frequent location, with catastrophic sequelae and significant associated morbidity and mortality. Arthroscopic surgery and intra-articular injections represent two associated risk factors [2,3]. Polymicrobial etiology is uncommon, with the presence of coagulase-negative staphylococci (CNS) and *Staphylococcus aureus*, as the main microorganisms involved [4]. In turn, anaerobic bacteria are less common and are related to septic arthritis located in small joints, such as the wrist [5]. Most of the anaerobic microorganisms that cause arthritis are located in the intestinal tract and the origin of the infection is usually by hematogenous spread [6].

We describe the first case of anaerobic septic knee arthritis associated to *Bacteroides thetaiotaomicron* in a patient after arthroscopic surgery and periodic knee infiltrations.

A 33-year-old male patient, who underwent reconstruction of the anterior cruciate ligament (ACL) of his left knee in 2015 in Italy. Since then, he has received hyaluronic acid injections every 6 months until the end of 2019. Since mid-February 2020, he had marked inflammation and recurrent joint effusion, requiring 2 evacuating arthrocentesis per week. On March 25, 2020, he came to our center with a fever and persistent effusion in the joint. A magnetic resonance imaging (MRI) was performed where abundant global synovitis and posterior extra-articular edema were observed. Synovial fluid was obtained for analysis and cultivation by arthrocentesis. The joint fluid analysis showed 41,627 leukocytes/mcl, 93.6% neutrophils and without the presence of crystals. No bacterial growth

was observed after 5 days of incubation. The patient's general biochemistry revealed an erythrocyte sedimentation rate (ESR) of 37 mm/h and a C-reactive protein (CRP) of 3 mg/dl. The following day, arthroscopic intervention for debridement and cleaning was decided, and empiric antimicrobial therapy was started with vancomycin 1g/12h and ceftazidime 2g/8h intravenous. Four samples of synovial exudate extracted during the surgical intervention were sent to culture. Two samples were incubated in conventional plate culture, without microbial growth after five days.

Two subcultures were performed for aerobic and anaerobic organisms from a liquid medium and incubated at 35° C in an environment containing 5% CO₂ and anaerobic chamber, respectively. The incubation system was Bact/Alert® (Biomérieux) for five days. In one of the anaerobic samples, the system detected microbial growth after 16 hours of incubation. The anaerobic sample was seeded in medium Schaedler agar (SCS) observing microbial growth, under anaerobic conditions. *B. thetaiotaomicron* was identified using the matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spec-

Table 1 Antibigram of *Bacteroides thetaiotaomicron*

Antimicrobial	MIC (mg/L)	Susceptibility
Amoxicillin-clavulanic	0.25	S
Clindamycin	>256	R
Imipenem	0.12	S
Metronidazole	0.25	S
Cefoxitin	-	R
Chloramphenicol	-	R
Piperacillin-tazobactam	-	S

MIC: minimum inhibitory concentration, R: resistant, S: susceptible

Correspondence:

David Brandariz-Núñez

Pharmacy Department. Quironsalud Barcelona Hospital. Barcelona. Spain

E-mail: vrandariz@gmail.com

Table 2 Literature review of *Bacteroides thetaiotaomicron* cases.

Year/author	Age/Sex	Underlying condition	Type of infection	Antibiogram of <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>		Antimicrobial treatment	Evolution
				Susceptible	Resistant		
1990 Patey [11]	51/Female	Surgery for a genital and rectal prolapse 3 months before	Polymicrobial meningitis	-	-	Thiopenicol and metronidazole	Recovery
1996 Funada [12]	42/Female	Acute lymphocytic leukemia	Polymicrobial sepsis (neutropenic enterocolitis)	Imipenem	Gentamicin and ceftazidime	Imipenem	Exitus (massive GIB)
2003 Matsukawa [13]	68/Male	Hepatitis C, alcohol abuser whit hepatic cirrhosis	Polymicrobial sepsis	-	-	Imipenem	Clinic improvement
2005 Feuillet [14]	45/Male	Hearing loss and otorrhea for many years.	Cholesteatoma and meningitis	Amoxicillin-clavulanic, imipenem, metronidazole and clindamycin	Penicillin G, cefotetan and vancomycin	Amoxicillin-clavulanic and metronidazole	Negative CSF culture and clinic improvement
2006 Miragliotta [15]	44/Female	Uterine fibromyoma	Post-surgical infection	Amoxicillin-clavulanic, imipenem, metronidazole and moxifloxacin	Amoxicillin, piperacillin-tazobactam and ceftazidime.	Teicoplanin, imipenem and metronidazole	Clinic improvement
2012 Faur [16]	46/Male	Peritoneal dialysis due to kidney failure secondary to cystic kidney disease	Peritonitis	-	-	Amikacin, vancomycin and metronidazole oral	Negative peritoneal dialysis fluid culture and clinical improvement
2013 Chao [17]	86/Male	Peritoneal dialysis	Peritonitis	Chloramphenicol and metronidazole	Clindamycin and penicillin	Metronidazole	Recovered completely
2013 Toprak Ülger [18]	62/Male	Head pancreas adenocarcinoma	Post-surgical bacteremia	Carbapenems and ampicillin-sulbactam	Metronidazole	Ampicillin-sulbactam	Clinic improvement
2014 Agarwal [19]	56/Male	Disseminated multiple myeloma	Posterior spinal wound infection	-	-	Daptomycin, piperacillin-tazobactam and metronidazole	Cure
2014 Kim [20]	60/Male	Diabetes mellitus	Polymicrobial mycotic aneurism	-	-	Metronidazole	-
2015 Sadarangani [21]	43/Male	Sigmoid diverticulitis	Post-surgical intra-abdominal collection	Tigecycline	Clindamycin, piperacillin-tazobactam, ertapenem, meropenem and metronidazole	Tigecycline	Clinic improvement
2016 Nkamga [22]	41/Male	None	Chronic paravertebral muscle abscess	-	-	Metronidazole	Cure
2019 kalay [23]	16/Male	None	Polymicrobial meningitis	-	-	Metronidazole and meropenem	Negative CSF culture and clinic improvement
2020 Kanaujia [24]	15/Male	None	Recurrent otitis media	Metronidazole, piperacillin-tazobactam, chloramphenicol and imipenem	Clindamycin and ceftazidime	Metronidazole	Clinic improvement and cure

GIB: gastrointestinal bleeding, CSF: cerebrospinal fluid

trometry system (MALDI-TOF MS, VITEK MS®, BioMérieux). The susceptibility test was performed with the VITEK 2XL® system (BioMérieux). Antibigram for *B. thetaiotaomicrom* is shown in table 1. Antimicrobial treatment was modified to piperacillin-tazobactam 4.5g/8h. After 2 weeks of intravenous antimicrobial treatment, the patient was completely afebrile, with a normalized PCR (0.5 mg/dl) and ESR (18 mm/h), with a flexion of the joint of 110°, without effusion, with moderate residual synovitis, mild bone edema and no intra-articular collections on MRI. Hospital discharge was decided with sequential antimicrobial therapy with metronidazole 500 mg/8h, for 2 weeks. A follow-up MRI was performed in July, showing complete resolution of the synovitis and edema. The patient returns to professional activity in October fully recovered.

Anaerobic etiology in septic arthritis of the native joints is infrequent. Despite everything, cases of knee infection caused by *Bacteroides fragilis* group have been documented [7,8]. To our knowledge, this is the first case septic arthritis with isolation of *B. thetaiotaomicrom*. It is an anaerobic, aerotolerant, gram negative, non-sporulated bacillus that is part of the human commensal flora, present in the gastrointestinal and genitourinary tract [9,10]. *B. thetaiotaomicrom* has been described as a pathogen in infections mainly of abdominal origin, post-surgical, meningitis and otitis. It is a very rare anaerobic, all cases reported in the literature are shown in table 2 [11-24]. The presence of concomitant chronic pathologies in more than half of the collected patients may suggest an opportunistic behavior of *B. thetaiotaomicrom*. About the susceptibility profile, an increase in antimicrobial resistance has been reported in the *Bacteroides fragilis* group in the last two decades [25]. Clindamycin was classically considered the treatment of choice for infections caused by anaerobes. However, the degree of resistance to clindamycin in a study carried out in 13 European countries with 824 clinical isolates has risen to 28-60% in the *Bacteroides fragilis* group and specifically to 41% in *B. thetaiotaomicrom* [26]. Therefore, clindamycin should not be recommended as empirical treatment in infections caused by *B. fragilis* group. In respect of the family of beta-lactams and carbapenems, the emergence of resistance to piperacillin-tazobactam and to a lesser extent to meropenem and imipenem has also been described [26, 27]. metronidazole, resistance is extremely rare, with only two cases reported in the literature for *B. thetaiotaomicrom*. It is associated with the acquisition of *Nim D* genes located on chromosomes or plasmids. Resistance rates in the *B. fragilis* group are less than 1% in studies with multiple clinical isolates [18,21,26]. This reduction in the antimicrobial susceptibility confirms the need to always perform susceptibility tests on isolates of *Bacteroides fragilis* group, since it cannot be assumed that beta-lactams, carbapenems, and metronidazole will always be valid options.

Knee arthroscopy is a common and relatively safe procedure, with an infection rate that varies depending on the series from 0.0009 to 0.4% [28]. Age <50 years, male sex, diabetes, tobacco, complex interventions, and morbid obesity were identified as risk factors related to post-intervention knee infection [29]. Our patient underwent arthroscopic surgery in 2016;

therefore, it seems little to proclaim that his septic arthritis is a direct consequence of the intervention. On the other hand, periodic infiltrations may be the main cause of infection. The association between septic arthritis of the knee and the intra-articular administration of corticosteroids is well demonstrated, whereas the injection of hyaluronic acid has not yet been, even though there are cases described in the literature [3, 30]. The treatment of septic arthritis consists of immobilizing the joint, draining the infected synovial fluid to obtain good control of the infection, and carrying out appropriate antimicrobial treatment with the appropriate duration [31].

In conclusion, septic knee arthritis is an infectious complication that can leave serious consequences. Our patient being the first described case of anaerobic septic arthritis associated with *B. thetaiotaomicrom*. The emerging resistance of *B. thetaiotaomicrom* to carbapenems and metronidazole implies the need to routinely identify and perform susceptibility tests on anaerobic bacteria such as *B. fragilis* group for adequate treatment.

FUNDING

None to declare

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Mathews CJ, Weston VC, Jones A, Field M, Coakley G. Bacterial septic arthritis in adults. *Lancet*. 2010;375:846-55 DOI: 10.1016/S0140-6736(09)61595-6
2. Balato G, Di Donato SL, Ascione T, D'Addona A, Smeraglia F, Di Vico G, Rosa D. Knee Septic Arthritis after Arthroscopy: Incidence, Risk Factors, Functional Outcome, and Infection Eradication Rate. *Joints*. 2017;5:107-13 DOI: 10.1055/s-0037-1603901
3. Xu C, Peng H, Li R, Chai W, Li X, Fu J, Liu K, Yu B, Jia C, Chen J. Risk factors and clinical characteristics of deep knee infection in patients with intra-articular injections: A matched retrospective cohort analysis. *Semin Arthritis Rheum*. 2018;47:911-16 DOI: 10.1016/j.semarthrit.2017.10.013
4. Futterman O, Lieber SB, Nasrullah K, Fowler ML, Shmerling RH, Paz Z. Clinical characteristics of patients with polymicrobial septic arthritis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019;38:1327-1332 DOI: 10.1007/s10096-019-03557-4
5. McBride S, Mowbray J, Caughey W, Wong E, Luey C, Siddiqui A. Epidemiology, Management, and Outcomes of Large and Small Native Joint Septic Arthritis in Adults. *Clin Infect Dis*. 2020;70:271-79 DOI: 10.1093/cid/ciz265
6. S Snyderman DR, Jacobus NV, McDermott LA, Golan Y, Goldstein EJ, Harrell L, Jenkins S, Newton D, Pierson C, Rosenblatt J, Venezia R, Gorbach SL, Queenan AM, Hecht DW. Update on resistance of *Bacteroides fragilis* group and related species with special attention

- to carbapenems 2006–2009. *Anaerobe*. 2011;17(4):147–51. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2011.05.014.
7. Dubost JJ, Couderc M, Tatar Z, Tournadre A, Lopez J, Mathieu S, Soubrier M. Three-decade trends in the distribution of organisms causing septic arthritis in native joints: single center study of 274 cases. *Joint Bone Spine* 2014;81:438–40 DOI: 10.1016/j.jbspin.2014.05.001
 8. Nolla JM, Murillo O, Narvaez J, Vaquero CG, Lora-Tamayo J, Pedrero S, Cabo J, Ariza J. Pyogenic arthritis of native joints due to *Bacteroides fragilis*: Case report and review of the literature. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(25):e3962 DOI: 10.1097/MD.00000000000003962
 9. Jousimies-Somer HR, Summanen PH, Wexler H, Finegold SM, Garbisa SE, Shah NH. *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, and other anaerobic Gram-negative bacteria. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MH, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington DC: ASM Press; 2003. p. 880–901.
 10. Lorber B. *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, and *Fusobacterium* species (and other medically important anaerobic Gram-negative bacilli). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone Inc; 2005. p. 2838–46.
 11. Patey O, Breuil J, Fisch A, Burnat C, Vincent-Ballereau F, DuBlanchet A. *Bacteroides fragilis* meningitis: report of two cases. *Rev Infect Dis*. 1990;12:364–5 DOI: 10.1093/clinids/12.2.364
 12. Funada H, Shirasaki H, Matsuda T, Akasofu M. Rhabdomyolysis complicating polymicrobial sepsis in a patient with acute leukemia. *Intern Med*. 1996;35:36–8 DOI: 10.2169/internalmedicine.35.36
 13. Matsukawa Y, Kitamura N, Kaneko M, Yoshioka D, Miki T, Nishinari S, et al. Multibacterial sepsis in an alcohol abuser with hepatic cirrhosis. *Intern Med* 2003;42:208–10 DOI: 10.2169/internalmedicine.42.208
 14. Feuillet L, Carvajal J, Sudre I, Pelletier J, Thomassin JM, Drancourt M, et al. First isolation of *bacteroides thetaiotaomicron* from a patient with a cholesteatoma and experiencing meningitis. *J Clin Microbiol*. 2005;43:1467–9 DOI: 10.1128/JCM.43.3.1467-1469.2005
 15. Miragliotta G, Del Gaudio T, Tajani E, Mosca A. *Bacteroides thetaiotaomicron* in posthysterectomy infection. *Anaerobe*. 2006;12:276–8 DOI: 10.1016/j.anaerobe.2006.07.002
 16. Faur D, Garcia-Méndez I, Martí-Aleman N, Vallès-Prats M. Monomicrobial peritonitis by *Bacteroides thetaiotaomicron* in peritoneal dialysis patient. *Nefrología*. 2012;32:694 DOI: 10.3265/Nefrología.pre2012.Jun.11568
 17. Chao C, Liu W, Lai C. Peritoneal Dialysis Peritonitis Caused by *Bacteroides thetaiotaomicron*. *Perit Dial Int*. 2013;33: 711–12 DOI: 10.3747/pdi.2012.00229
 18. Toprak Ülger N, Sayin E, Soyad A, Dane F, Soyletir G. The first metronidazole-resistant *Bacteroides* species isolated at Mamara University Hospital: *Bacteroides thetaiotaomicron*. *Microbiyol Bul*. 2013;47:717–21. (In Turkish) DOI: 10.5578/mb.5064
 19. Agarwal N, Hansberry D, Goldstein I. Infection with *Bacteroides thetaiotaomicron* during posterior decompression and dynamic stabilization of the lumbar spine: a case report and review of the literature. *Int J Neurosci*. 2014;124:621–25 DOI: 10.3109/00207454.2013.865618
 20. Kim MG, Jeon JW, Ryu IH, Lee JJ, Kim JS, Choi JW, Cho BS, Yoon HJ. Mycotic abdominal aortic aneurysm caused by *Bacteroides thetaiotaomicron* and *Acinetobacter lwoffii*: the first case in Korea. *Infect Chemother*. 2014;46:54–8 DOI: 10.3947/ic.2014.46.1.54
 21. S.P. Sadarangani, S.A. Cunningham, P.R. Jeraldo, J.W. Wilson, R. Khare, R. Patel, Metronidazole- and carbapenem-resistant *Bacteroides thetaiotaomicron* isolated in rochester, Minnesota, in 2014. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59:4157–61 DOI: 10.1128/AAC.00677-15
 22. Nkamga VD, Lotte R, Roger PM, Drancourt M, Ruimy R. *Methanobrevibacter Smithii* and *Bacteroides Thetaiotaomicron* Cultivated From a Chronic Paravertebral Muscle Abscess. *Clin Microbiol Infect*. 2016;22:1008–9 DOI: 10.1016/j.cmi.2016.09.007
 23. Kalay GN, Dalgic N, Bozan T, Ulger-Toprak T, Bayraktar B, Soyletir G. Polymicrobial anaerobic meningitis caused by *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Fusobacterium necrophorum* and *Slackia exigua* in a patient with mastoiditis following otitis media. *Anaerobe*. 2019;56:95–7 DOI: 10.1016/j.anaerobe.2019.02.003
 24. Kanauria R, Gupta S, Singla N, Jani P, Angrup A. A child with recurrent otitis media due to *Bacteroides thetaiotaomicron*. *Anaerobe*. 2020;63:102203. DOI:10.1016/j.anaerobe.2020.102203
 25. Hansen KC, Schwensen SA, Henriksen DP, Justesen US, Sydenham TV. Antimicrobial resistance in the *Bacteroides fragilis* group in faecal samples from patients receiving broad-spectrum antibiotics. *Anaerobe* 2017;47:79–85 DOI: 10.1016/j.anaerobe.2017.04.013
 26. Nagy E, Urbán E, Nord CE; ESCMID Study Group on Antimicrobial Resistance in Anaerobic Bacteria. Antimicrobial susceptibility of *Bacteroides fragilis* group isolates in Europe: 20 years of experience. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17(3):371–379 DOI: 10.1111/j.1469-0691.2010.03256.x
 27. Snyderman DR, Jacobus NV, McDermott LA, Golan Y, Goldstein EJ, Harrell L, Jenkins S, Newton D, Pierson C, Rosenblatt J, Venezia R, Gorbach SL, Queenan AM, Hecht DW. Update on resistance of *Bacteroides fragilis* group and related species with special attention to carbapenems 2006–2009. *Anaerobe* 2011;17:147–151 DOI: 10.1016/j.anaerobe.2011.05.014
 28. Balato G, Di Donato SL, Ascione T, D'Addona A, Smeraglia F, Di Vico G, Rosa D. Knee Septic Arthritis after Arthroscopy: Incidence, Risk Factors, Functional Outcome, and Infection Eradication Rate. *Joints*. 2017 Jul 28;5(2):107–113 DOI: 10.1055/s-0037-1603901
 29. Clement RC, Haddix KP, Creighton RA, Spang JT, Tennant JN, Kamath GV. Risk factors for infection after knee arthroscopy: analysis of 595,083 cases from 3 United states databases. *Arthroscopy* 2016; 32 (12):2556–2561 DOI: 10.1016/j.arthro.2016.04.026
 30. Shemesh S, Heller S, Salai M, Velkes S. Septic arthritis of the knee following intraarticular injections in elderly patients: report of six patients. *Isr Med Assoc J*. 2011;13(12):757–760.
 31. Mathews CJ, Kingsley G, Field M, et al. Management of septic arthritis: a systematic review. *Ann Rheum Dis* 2007;66:440–5 DOI: 10.1136/ard.2006.058909

Ismail Zakariya-Yousef Breal¹
Noelia Trujillo Díaz²
Pablo de la Herranz Guerrero³

Grangrena de Fournier secundaria a un absceso inguinoperineal por *Acidaminococcus intestini* y *Streptococcus gallolyticus* spp. *pasteurianus*

¹Sección de Microbiología y Parasitología Clínica, Hospital de Riotinto, Huelva.

²Servicio de Urgencias, Hospital de Riotinto, Huelva.

³Servicio de Cirugía general y Aparato Digestivo, Hospital de Riotinto, Huelva.

Article history

Received: 1 May 2021; Revision Requested: 28 May 2021; Revision Received: 10 June 2021; Accepted: 17 July 2021; Published: 14 October 2021

Sr. Editor:

Presentamos el caso de una mujer de 44 años con hipertensión arterial, diabetes mellitus tipo II con mal control y obesidad grado III. Acudió al Servicio de Urgencias por absceso inguinoperineal derecho de 15 cm de extensión de 1 semana de evolución con varias placas necróticas (Figura 1), acompañado de drenaje de abundante material purulento y maloliente, compatible con gangrena de Fournier. A su llegada, la paciente presentaba estabilidad hemodinámica, fiebre, leucocitosis, fallo renal leve (AKIN 1) con filtrado glomerular (FG) de 56.6 y acidosis metabólica. Se le extrajeron hemocultivos y se decidió una intervención quirúrgica urgente, realizándose desbridamiento amplio del periné y zona inguinal derecha, precisando resección amplia de tejido necrosado y esfacelado. Durante la intervención se recogieron muestras de biopsias de los márgenes del material necrótico para cultivo microbiológico. La mujer no refirió haber recibido tratamiento antibiótico previo al ingreso, iniciándose tras la intervención quirúrgica con piperacilina-tazobactam 4 g/0,5g intravenoso cada 8 horas. No fue necesario ajustar la dosis según los datos de FG. Los hemocultivos fueron incubados en el sistema BACTEC FX40 (Becton-Dickinson) siendo negativos a los 5 días. Las muestras intraoperatorias se procesaron para cultivo aerobio y anaerobio, creciendo a las 24 horas de incubación a 37°C en atmosfera enriquecida con CO₂, cocos grampositivos alfa-hemolíticos y catalasa negativa. El microorganismo se identificó como *Streptococcus gallolyticus* spp. *pasteurianus* mediante el sistema MALDI Biotyper (Bruker Daltonics, Billerica, EE.UU.). Paralelamente a las 48 horas de incubación a 37°C en atmosfera de anaerobiosis se observó crecimiento de colonias no pigmentadas ni hemolíticas de cocos gramnegativos. Mediante el sistema MALDI Biotyper, el microorganismo aislado se identificó como *Acidaminococcus*

intestini. A ambas bacterias se le determinó el perfil de sensibilidad mediante tiras de gradiente de difusión MIC Test Strips® (Liofilchem, Werfen, España) y aplicando criterios del EUCAST. De tal forma que para *S. gallolyticus* spp. *pasteurianus* se obtuvo sensibilidad a penicilina, clindamicina, eritromicina, levofloxacino y vancomicina, mientras que a *A. intestini* resistencia a penicilina y sensibilidad a amoxicilina/clavulánico, clindamicina, eritromicina y metronidazol.

Tras la intervención la paciente mejoró progresivamente, pero después de 5 días la paciente requirió ingreso en UCI tras objetivarse una perforación de viscera hueca, ampliándose cobertura antibiótica con meropenem y linezolid. Tras 8 días de ingreso en UCI, la paciente fue remitida de nuevo a planta de cirugía presentando mejoría clínica tras completar ciclo de antibioterapia intravenosa de 14 días y curas intensivas repetidas de la herida quirúrgica. Finalmente, tras 5 días en planta, fue



Figura 1 Imagen de la intervención quirúrgica de urgencias.

Correspondencia:
Ismail Zakariya-Yousef Breal
Sección de Microbiología y Parasitología Clínica, Hospital de Riotinto, Av. de la Esquila, 5,
21660 Minas de Riotinto, Huelva.
Teléfono: 959025436.
Email: ismail.zakariyayousef.sspa@juntadeandalucia.es.



Figura 2 | Evolución a los 45 días de la intervención quirúrgica.

derivada al alta con revisiones en consulta de cirugía con notable mejoría a los 45 días (Figura 2).

La gangrena de Fournier es una infección necrotizante de aparición súbita potencialmente mortal. Tiene una incidencia mayor en hombres jóvenes y como factores de riesgos destacan diabetes, obesidad, hipertensión, alcoholismo, insuficiencia renal e inmunosupresión [1,2]. Por lo general, surge como una complicación de una infección perirrectal o urogenital que puede extenderse rápidamente causando disfunción multiorgánica, shock séptico y muerte. La etiología polimicrobiana (aerobia y anaerobia) sugiere la importancia del sinergismo bacteriano en el desarrollo de la infección [3]. Dentro de los microorganismos asociados a esta infección, las especies del género *Streptococcus* spp. son comúnmente aisladas [2,3]. Entre las bacterias anaerobia implicadas destacan las del género *Bacteroides* spp., no encontrándose ningún caso asociado a *A. intestini* en los trabajos publicados hasta la fecha. *A. intestini* es un coco gramnegativo anaerobio que se definió como nueva especie en 2007 [4]. Forma parte de la microbiota fecal [5] y, de manera casual, se ha aislado en cultivos mixtos de infecciones intraabdominales y abscesos [6]. Existen pocos datos del patrón de sensibilidad, aunque se ha descrito especies del género *Acidaminococcus* productoras de β -lactamasas de espectro extendido [7]. La cepa aislada en el caso presentado mostró únicamente resistencia a penicilina, no determinándose la sensibilidad a cefalosporinas por no haber actualmente puntos de corte definidos en los criterios de EUCAST.

Actualmente, la morbilidad y mortalidad asociada a la gangrena de Fournier sigue siendo muy elevada, por lo que, tal y como se ha demostrado en el caso presentado, es de vital importancia para un buen pronóstico, la combinación de un tratamiento antimicrobiano parenteral precoz con una cirugía agresiva con desbridamientos extensos y repetidos [8,9]. Tanto es así que, en tratamientos basados únicamente en terapia

antibiótica sin cirugía, la mortalidad es del 100% [8]. Dada la naturaleza polimicrobiana de la gangrena de Fournier, el tratamiento debe combinar antibióticos activos frente a grampositivos, gramnegativos y anaerobios, incluyendo inhibidores de la síntesis de proteínas (clindamicina) con el objetivo de impedir la producción de exotoxinas [10]. Igualmente, el tratamiento debe adaptarse en la medida de lo posible a la tinción de Gram y al cultivo, siendo primordial tanto una correcta toma de muestras (biopsias de los márgenes, no del tejido necrótico) como un procesamiento adecuado de las mismas para poder así, conseguir aislar todos los microorganismos implicados [10]. En nuestro caso, a pesar de que no se instauró tratamiento antibiótico hasta después de la intervención quirúrgica y que no se incluyó ningún antibiótico inhibidor de la síntesis de proteínas de forma empírica, la paciente evolucionó favorablemente. Este hecho probablemente sea indicativo de la gran importancia que adquiere realizar una rápida intervención quirúrgica agresiva en la gangrena de Fournier [8]. Además, los microorganismos aislados eran sensibles a la mayoría de los antibióticos probados por lo que, en caso de no haber existido ninguna complicación, probablemente se podría haber disminuido el espectro antibiótico según el perfil de sensibilidad de los microorganismos aislados.

FINANCIACIÓN

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

CONFLICTOS DE INTERÉS

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

BIBLIOGRAFÍA

1. Chernyadyev SA, Ufimtseva MA, Vishnevskaya IF, Bochkarev YM, Ushakov AA, Beresneva TA, et al. Fournier's Gangrene: Literature Review and Clinical Cases. *Urol Int*. 2018;101(1):91–7. doi:10.1159/000490108
2. El-Qushayri AE, Khalaf KM, Dahy A, Mahmoud AR, Benmelouka AY, Ghozy S, et al. Fournier's gangrene mortality: A 17-year systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis*. 2020;92:218–225. doi:10.1016/j.ijid.2019.12.030.
3. Tang LM, Su YJ, Lai YC. The evaluation of microbiology and prognosis of Fournier's gangrene in past five years. *Springerplus*. 2015;4(1). doi:10.1186/s40064-014-0783-8
4. Jumas-Bilak E, Carlier JP, Jean-Pierre H, Mory F, Teyssier C, Gay B, et al. *Acidaminococcus intestini* sp. nov., isolated from human clinical samples. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2007;57(10):2314–9. doi:10.1099/jis.0.64883-0
5. Callaway TR, Dowd SE, Edrington TS, Anderson RC, Krueger N, Bauer N, et al. Evaluation of bacterial diversity in the rumen and feces of cattle fed different levels of dried distillers grains plus so-

- lubles using bacterial tag-encoded FLX amplicon pyrosequencing1. J Anim Sci. 2010;88(12):3977-83. doi:10.2527/jas.2010-2900
6. De Vos P, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, et al. Bergey's manual of systematic bacteriology Volume Three The Firmicutes. Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.-H., Whitman W, editor. Vol. 3, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2009. pp 1-1450 <https://www.springer.com/gp/book/9780387950419>
 7. Galán JC, Reig M, Navas A, Baquero F, Blázquez J. ACI-1 from *Acidaminococcus fermentans*: characterization of the first beta-lactamase in Anaerobic cocci. Antimicrob Agents Chemother. 2000;44(11):3144-9. doi: 10.1128/AAC.44.11.3144-3149.2000.
 8. Anaya DA, Dellinger EP. Necrotizing soft-tissue infection: diagnosis and management. Clin Infect Dis. 2007;44(5):705-10. doi: 10.1086/511638.
 9. Singh A, Ahmed K, Aydin A, Khan MS, Dasgupta P. Fournier's gangrene. A clinical review. Arch Ital Urol Androl. 2016;88(3):157-164. doi: 10.4081/aiua.2016.3.
 10. Stevens DL, Bisno AL, Chambers HF, Dellinger EP, Goldstein EJ, Gorbach SL, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of skin and soft tissue infections: 2014 update by the infectious diseases society of America. Clin Infect Dis. 2014;59(2):147-59. doi: 10.1093/cid/ciu296

María Aroca-Ferri
Tomás Tosco-Núñez
Araceli Hernández-Betancor
Isabel de-Miguel-Martínez

Primer caso de reinfección confirmada por SARS-CoV-2 en el área sur de Gran Canaria

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Insular de Gran Canaria.

Article history

Received: 22 June 2021; Revision Requested: 17 July 2021; Revision Received: 21 July 2021; Accepted: 22 August 2021; Published: 7 October 2021

En la actualidad son pocas las publicaciones en las que se exponen casos confirmados de reinfecciones por SARS-CoV-2. Esto es debido a que puede ser complejo determinar si se trata de una reinfección, si es una infección persistente o si es una eliminación mantenida de restos víricos [1,2]. El Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (ECDC) define los criterios para identificar una reinfección. Entre estos, destaca la confirmación por parte del laboratorio de que las dos infecciones se han producido por dos cepas diferentes. Otros criterios a valorar son: la información epidemiológica actual, la información clínica del paciente, y la presencia de anticuerpos frente a SARS-CoV-2 [3].

Se presenta un varón de 78 años de edad, de nacionalidad italiana, que en el momento del diagnóstico vive en Gran Canaria. Es exfumador y padece diabetes mellitus tipo 2, dislipemia, EPOC y anemia de Cooley.

El paciente ingresa en nuestro hospital por un cuadro de colangitis con obstrucción de la vía biliar que evoluciona a shock séptico. A su ingreso el 29 de mayo de 2020, se le realiza por protocolo una RT-PCR de SARS-CoV-2 (Allplex™ 2019-nCoV Assay, Seegene, Corea) de un exudado nasofaríngeo que es positiva, detectándose tres dianas: gen E (Ct 33,82), N (Ct 35,22) y RdRP (Ct 33,29). Además, se detectan anticuerpos IgG anti-nucleocápside (índice 4.570) mediante quimioluminiscencia (Architect, Abbott, EEUU) que hacen sospechar una infección pasada o en fase de resolución. Se desconoce si el paciente presentó síntomas compatibles de COVID-19 previos al ingreso. Los días 17 y 23 de junio de 2020 las RT-PCR de control son negativas. Finalmente, el paciente recibe el alta tras resolver satisfactoriamente el cuadro por el que ingresa, sin haber presentado, durante su estancia, sintomatología compatible con la infección por SARS-CoV-2.

A los 7 meses, el 19 de enero de 2021, el paciente acude al centro de salud por fiebre, dónde se le recoge un exudado nasofaríngeo que resulta positivo para SARS-CoV-2 mediante RT-PCR (Allplex™ SARS-CoV-2/FluA/FluB/RSV Assay, Seegene, Corea). En este caso, se detectan tres dianas con Ct inferior a 30: gen S (Ct 12,87), gen RdRP (Ct 14,92) y gen N (25,21). En la historia se refleja que la pareja del paciente también obtiene un resultado positivo para SARS-CoV-2 mediante RT-PCR, no constando ningún dato más acerca de esta. Dos días después, el paciente acude a Urgencias de este hospital por empeoramiento del cuadro febril e ingresa en Medicina Interna con sospecha de reinfección. En ese momento el índice de anticuerpos IgG anti-nucleocápside, se encuentra en el límite de detección de la técnica (0.730), por tanto, con un valor inferior a su análisis previo. A la semana, un nuevo control refleja un aumento del índice de anticuerpos IgG anti-nucleocápside (7.970) y en la RT-PCR se detectan 2 de 3 dianas: gen S (Ct 35,38) y RdRP (Ct 38,04). El paciente evoluciona favorablemente, sin presentar ninguna otra sintomatología destacable, y recibe el alta hospitalaria tras 7 días de ingreso.

Ante la sospecha de una reinfección por SARS-CoV-2, se envía la muestra del 19 de enero de 2021 al Centro Nacional de Microbiología del Instituto de Salud Carlos III para su estudio mediante secuenciación del genoma completo. Con este análisis, se confirma que la cepa presenta las mutaciones que definen a la variante "VOC202012/01" perteneciente al linaje B.1.1.7.

La variante B.1.1.7. fue detectada por primera vez en el sureste de Inglaterra en noviembre de 2020, aunque probablemente se originó en septiembre de 2020 [4]. El paciente presentado tuvo una primera infección en mayo de 2020 cuando todavía no circulaba esta variante. A pesar de que la cepa productora de la primera infección no pudo ser secuenciada debido a que los Ct de la RT-PCR eran superiores a 30, el hecho de que la cepa del segundo episodio no circulara en mayo de 2020, nos permite confirmar la reinfección, tal y como se especifica en el protocolo vigente del Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social [5].

Correspondencia:
María Aroca Ferri
F.E.A Microbiología y Parasitología - Hospital Universitario Insular de Gran Canaria
E-mail: marofer@gobiernodecanarias.org

Además, aunque se desconoce durante cuánto tiempo se mantiene la respuesta inmune frente al SARS-CoV-2 y si esta es suficiente para prevenir futuras reinfecciones [6,7], la evolución del índice de anticuerpos observada en el paciente corrobora también que estamos ante el primer caso de reinfección por SARS-CoV-2 en el área sur de Gran Canaria.

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. Falahi S, Kenarkhi A. COVID-19 reinfection: prolonged shedding or true reinfection?. *New Microbes New Infect.* 2020; 38: 100812. doi:10.1016/j.nmni.2020.100812
2. Choudhary M.C., Crain C. R., Qiu X, Hanage W, Li J. Z. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Sequence Characteristics of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Persistence and Reinfection, *Clin Infect Dis.* 2021; ciab380. doi:10.1093/cid/ciab380
3. European Centre for Disease Prevention and Control. Reinfection with SARS-CoV-2: considerations for public health response, 2020 [Cited 21 September 2020]. <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Re-infection-and-viral-shedding-threat-assessment-brief.pdf>
4. Kirby T. New variant of SARS-CoV-2 in UK causes surge of COVID-19. *Lancet Respir Med.* 2021; 9 (2):e20-e21. doi:10.1016/S2213-2600(21)00005-9
5. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social: Estrategia de detección precoz, vigilancia y control de COVID-19, 2021 [Cited 26 February 2021]. https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/COVID19_Estrategia_vigilancia_y_control_e_indicadores.pdf
6. O Murchu E, Byrne P, Walsh K. A., Carty P. G., Connolly M., De Gascun C. et al. Immune response following infection with SARS-CoV-2 and other coronaviruses: A rapid review. *Rev Med Virol.* 2021; 31 (2): e2162. doi: 10.1002/rmv.2162
7. Liu A., Li Y., Peng J., Huang Y., Xu D. Antibody responses against SARS-CoV-2 in COVID19 patients. *J Med Virol.* 2021; 93 (1)144-148. doi: 10.1002/jmv.26241

Pedro Manuel García-
Ceberino¹
Emilio Guirao-Arrabal²
Francisco Ferrer Amate³
José Hernández-Quero²

Fatal sepsis months after bladder instillations with *Mycobacterium bovis* in patient with SARS-CoV-2 infection

¹Internal Medicine Unit. Hospital Universitario San Cecilio. Granada. Spain.

²Infectious Diseases Unit. Hospital Universitario San Cecilio. Granada. Spain.

³Microbiology Unit. Hospital Universitario San Cecilio. Granada. Spain.

Article history

Received: 28 June 2021; Accepted: 21 August 2021; Published: 10 November 2021

Sir,

A 72-years-old man was admitted last April 2020 to our hospital with a five-days evolution of general weakness and marked fatigue. He had a history of superficial bladder cancer diagnosed four years before. Bladder cancer had been managed with fifteen instillations of intravesical infusions of bacillus Calmette-Guérin (BCG), additionally to surgical resection of the tumor. Last instillation was ten months before admission to our hospital. He had never suffered complications related to these installations besides to typical local reactions after each session (mild pain and low-grade fever).

At admission, he only complained about mild lower abdominal pain and a decrease in his urine rate. He neither had dysuria, urinary urgency nor hematuria. He did neither refer fever, dyspnea, cough or any other respiratory symptom. From the beginning, he was hemodynamically compromised, mainly with hypotension, requiring vasoactive drugs, suggesting septic shock.

First laboratory findings revealed lymphocytopenia with no leucopenia and marked elevation of acute phase reactants. As we were in a pandemic period, a nasopharyngeal swab specimen was taken and tested by reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) for SARS-CoV-2, being positive. A lung computed tomography (CT) scan was performed, and no lung findings were observed. Serological test for SARS-CoV-2 was also carried out with low levels of IgG and negative IgM. An abdominal CT scan with contrast was also performed, with no new findings.

Three blood cultures for bacteria (aerobic and anaerobic) and a conventional urine culture were taken, being finally negative all of them. According to the unstable clinical situation of the patient, he was treated from the beginning with meropenem without clinical or analytical improvement (Figure 1).

BCG-related sepsis was a hypothesis and a Xpert® MTB/RIF Ultra (Cepheid®) was performed in a urine sample from the urinary bladder yielding a positive result (rifampicin resistance was not detected). Isoniazid, Rifampin and ethambutol were added to the combination treatment along with linezolid and corticosteroid pulses. Pyrazinamide was not added because intrinsic *Mycobacterium bovis* resistance. Thereafter, blood and urine cultures for mycobacteria were also taken, and a bone marrow puncture was performed, with any particular cell count finding nor granuloma.

Inflammatory parameters decreased 48 hours after initiation of antituberculous drugs. However, the patient suffered a myocardial infarction, malignant arrhythmia and suddenly passed away. Blood, urine and bone marrow cultures for mycobacteria finally yielded a negative result.

Adjuvant intravesical therapy with bacillus Calmette-Guérin (BCG) attenuated strain of *M. bovis* instillations is a well-established therapy after transurethral resection [1]. It is a well-tolerated therapy, with low morbidity and a variable rate of side effects. Mild dysuria and urinary urgency and frequency are quite common soon after instillations, and until 24% of patients develop low grade fevers, general weakness and chills, without any confirmed infection [2,3]. Sometimes, mild prostatitis or orchitis have been documented, and could appear few months later [2].

BCG-related complications have different proposed mechanisms [2]. First of them, direct tissue injury (like in mycobacterial prostatitis and orchitis), or even systemic mycobacterial spread (mycobacterial or miliary pneumonitis, sepsis, etc). In those cases, mycobacteria can be cultured from blood, urine or liver biopsies [4]. It has also been hypothesized a systemic hypersensitivity reaction induced by immunologic stimulation [5], with uncommon mycobacterial isolation but with the presence of granulomas in histological samples.

On the other hand, major side effects, which take place in less than 5% of patients, include lung and hepatic involve-

Correspondence:
Pedro Manuel García Ceberino, MD.
Internal Medicine Unit. Hospital Universitario Clínico San Cecilio.
Av/ Investigación s/n. (18016). Granada, Spain.
E-mail: pedrogarcebe@hotmail.com

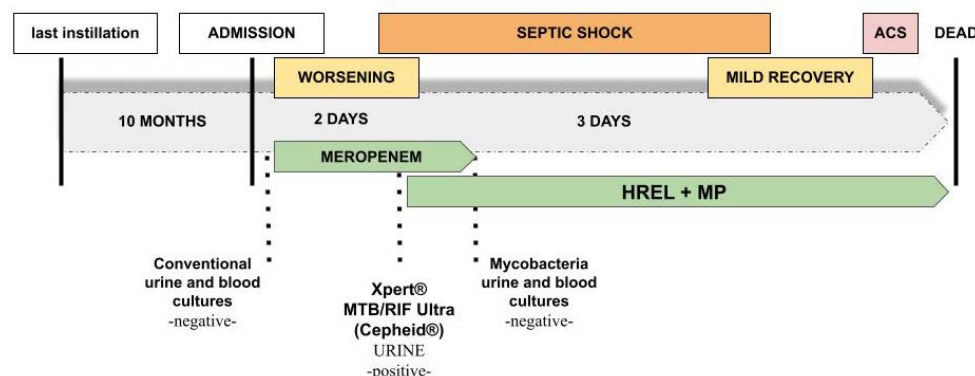


Figure 1 Timeline of cultures and clinical events.

HREL – Isoniazid, Rifampin, Ethambutol, Linezolid. MP – Corticosteroids pulses. ACS – Acute Coronary Syndrome.

ment, either by direct mycobacterial spread, or hypersensitivity induced [2,3]. BCG-sepsis is pretty uncommon, being documented in only 0.3% of cases [5,6]. These complications can develop soon after, or even days or months after instillation [2,3].

We could not get neither a positive blood nor a positive urine culture. Isolation of mycobacteria have always been tough, moreover if there is any specific organ to be sampled. Culture positivity rate is between 30 – 55.6%, depending on organ involved or presentation [2,3]. Sensitivity of blood mycobacterial cultures is lower in severe sepsis and mycobacteremia can be fluctuating [5], moreover, if cultures for mycobacteria were taken after antituberculous treatment was initiated, as in our case.

Mycobacterium tuberculosis Xpert® MTB/RIF Ultra (Cepheid®) in urine was positive; it is to say, a mycobacteria DNA isolation in urine. Detect *M. bovis* in urine has low positive predictive value weeks after last instillation until it washed out [1,2]. However, detection of leftovers of mycobacteria in urine is rare ten months after last instillation [7].

It has been documented the potential impact of immunosuppression (mainly steroid use, HIV, lymphoproliferative disorders and hypogammaglobulinemia) on the occurrence of BCG infection [8]. Reviewing literature, there is higher prevalence among patients with a long or intense immunosuppressive condition, but it have been not a headstone condition for developing severe forms [1,8].

It could hypothesize a physiopathological relation between lymphopenia induced by SARS-CoV-2 infection and reactivation of a latent *M. bovis* in urine tract.

In our report, SARS-CoV-2 infection without pneumonia and short lymphopenia must not have particular contribution for triggering BCGitis [8].

Furthermore, it is not found any relationship between SARS-CoV-2 pandemic scenario and an increment of mycobacteria reactivation rates [9].

The exclusion of other entities with any other microbiological finding (with appropriate samples extractions), and the absence of clinical and analytical improvement until antituberculosis treatment was initiated (with prompt response), along with the evidence of mycobacteria with DNA-assays in urine several months later, should guide the diagnosis of BCG-related sepsis [1,2].

FUNDING

None to declare

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Pérez-Jacoiste Asín MA, Fernández-Ruiz M, López-Medrano F, et al. Bacillus Calmette-Guérin (BCG) infection following intravesical BCG administration as adjunctive therapy for bladder cancer: incidence, risk factors, and outcome in a single-institution series and review of the literature. *Medicine (Baltimore)*. 2014;93(17):236-254. doi:10.1097/MD.0000000000000119
2. Cabas P, Rizzo M, Giuffrè M, et al. BCG infection (BCGitis) following intravesical instillation for bladder cancer and time interval between treatment and presentation: a systematic review. *Urol Oncol* 2021;39(2):85-92. doi:10.1016/j.urolonc.2020.11.037
3. Gonzalez OY, Musher DM, Brar I, et al. Spectrum of bacille Calmette-Guérin (BCG) infection after intravesical BCG immunotherapy. *Clin Infect Dis*. 2003;36(2):140-148. doi:10.1086/344908
4. Garmilla-Ezquerro P, Martínez-De Las Cuevas G, Hernández-Hernández JL. Granulomatous hepatitis and sepsis secondary to intravesical instillation of bacillus Calmette-Guérin. 2012;30(10): 656-657. doi:10.1016/j.eimc.2012.04.010

5. Moreira E, Goleniuk D, Albornoz H. Disfunción orgánica múltiple como complicación de la instilación intravesical de bacilo de Calmette-Guérin. Comunicación de un caso y revisión de la literatura. Rev Méd Urug 2017; 33(4):261-268. doi: 10.29193/RMU.34.3.4
6. Elkabani M, Greene JN, Vincent AL, et al. Disseminated Mycobacterium bovis after intravesicular bacillus calmette-Guérin treatments for bladder cancer. Cancer Control. 2000;7(5):476-481. doi:10.1177/107327480000700512
7. Van der Meijden AP. Practical approaches to the prevention and treatment of adverse reactions to BCG. Eur Urol. 1995;27(suppl1):23-28.
8. Yossepowitch O, Eggener S, Bochner BH, et al. Safety and efficacy of intravesical bacillus Calmette-Guérin Instillations in steroid treated and immunocompromised patients. J Urol. 2006;176:482-485. doi.org/10.1016/j.juro.2006.03.066
9. Desouky, E. BCG versus COVID-19: impact on urology. World J Urol. 2021. 39,823-827. doi.org/10.1007/s00345-020-03251-7

María Isabel Sánchez-Códez
Estrella Peromingo-Matute

Piomiositis glútea con absceso del obturador interno en contexto de infección aguda por *Bartonella henselae*

Departamento de Pediatría, Unidad de Infectología Pediátrica. Hospital Universitario Puerta del Mar, Cádiz, España.

Article history

Received: 11 June 2021; Revision Requested: 25 June 2021; Revision Received: 25 June 2021; Accepted: 19 August 2021; Published: 28 October 2021

Bartonella henselae, nombrada en 1993, es un bacilo aerobio, gramnegativo, oxidasa negativa, causante de múltiples manifestaciones clínicas [1]. Las infecciones de partes blandas causadas por este microorganismo en inmunocompetentes se han descrito infrecuentemente. Comunicamos un caso de piomiositis-absceso relacionado con *Bartonella* spp.

Exponemos el caso de una niña de 3 años, con síndrome de Down que consulta por fiebre moderada, diarrea y cojera con imposibilidad de sedestación y deambulación desde hace 4 días. Refiere vacunación de triple vírica el mes previo. Presenta aspecto séptico, con cadera derecha en flexión y abducción, sin limitación a la rotación interna, sin linfadenopatías ni lesiones cutáneas. Se realiza ecografía de caderas visualizándose derrame de 9 mm, extrayéndose líquido serosanguinolento por artrocentesis insuficiente para bioquímica, con Gram y cultivo estéril. Analíticamente, destaca proteína C reactiva (PCR) de 287 mg/L, 19.760 leucocitos (82% de neutrófilos) y hemocultivo negativo. La radiografía de tórax, ecocardiografía y ecografía abdominal resultan normales. Se inicia cefotaxima y cloxacilina IV empírica por sospecha de artritis séptica, quedándose afebril y recuperando discretamente la movilidad a las 48 horas. A pesar de la mejoría de reactantes y desaparición de la fiebre, a las dos semanas recupera mínimamente la movilidad, con persistencia de abducción y limitación a la extensión. Se realiza resonancia magnética nuclear (RMN) (Figura 1) que detecta piomiositis glútea y absceso del obturador interno derecho.

En ese momento, inicia descamación de pulpejos de manos y pies. Rehistoriando recuerdan contacto con gatitos en domicilio y presentación de una adenopatía axilar autolimitada al inicio del cuadro. Se realiza serología por inmunofluorescencia (IFI), con IgM positiva e IgG de 8.192 de *B. henselae*. Las serologías de *Brucella*, *Toxoplasma* y *Coxiella burnetii* resultan

negativas. No se obtiene en ningún momento muestra para velocidad de sedimentación globular por dificultades en la extracción. Tras un mes de antibioterapia, con evolución favorable y descenso de PCR, se da de alta con cefadroxilo y cotrimoxazol. Presenta disminución ecográfica del absceso e IgM positiva con IgG de 4.096 al segundo mes. Se instaura azitromicina en monoterapia por desabastecimiento de cotrimoxazol. Al tercer mes, continúa asintomática con resolución serológica y radiológica completa por lo que suspende antibioterapia. Actualmente, continúa en seguimiento multidisciplinar sin secuelas.

La infección por *B. henselae* depende del estado inmunológico del huésped, expresando formas atípicas y más invasivas en inmunodeprimidos [1]. El estudio inmunológico en nuestra paciente fue normal, aunque el síndrome de Down podría suponer una predisposición. Están descritos los abscesos subcutáneos, abdominales (bazo, riñón [2]) y epidurales [3] por diseminación hematológica y linfática de *B. henselae*. Sin embargo, la mayoría de las series exponen la necesidad de un trauma previo muscular, como explicaría la vacunación en nuestro caso [4].

Actualmente, no existe gold-standard para el diagnóstico de bartonelosis [1]. Clásicamente la serología [1] con sensibilidad y especificidad variable ha sido la técnica más empleada. El cultivo se caracteriza por el crecimiento lento y negatividad en casos sin afectación sistémica [1]. Por otro lado, hasta en un 82% de las piomiositis no se aíslan microorganismos [5] siendo *Staphylococcus aureus* el más frecuente. La descamación de nuestra paciente apoya esta etiología lo que justifica la antibioterapia elegida para cubrir a este agente. Recientemente, se emplea la detección de *Bartonella* por PCR con especificidad de hasta el 100% y sensibilidad variable (43-76%) [1], que no se determinó en nuestro caso por la dificultad para obtener muestra. La ecografía presenta limitaciones para abscesos de obturador interno por su localización [5] y la RMN es de elección por su precocidad [6]. Coincidiendo con los casos publicados [2,4] el antecedente del contacto con gatos y la serología compatible apoyaron nuestro diagnóstico. El diagnóstico diferencial en caso de cojera y afectación del estado general implica descartar

Correspondencia:
María Isabel Sánchez-Códez
Departamento de Pediatría, Unidad de Infectología Pediátrica.
Hospital Universitario Puerta del Mar
Avenida Ana de Viya, 21, CP: 11009. Cádiz (España).
E-mail: mscodez1990@gmail.com

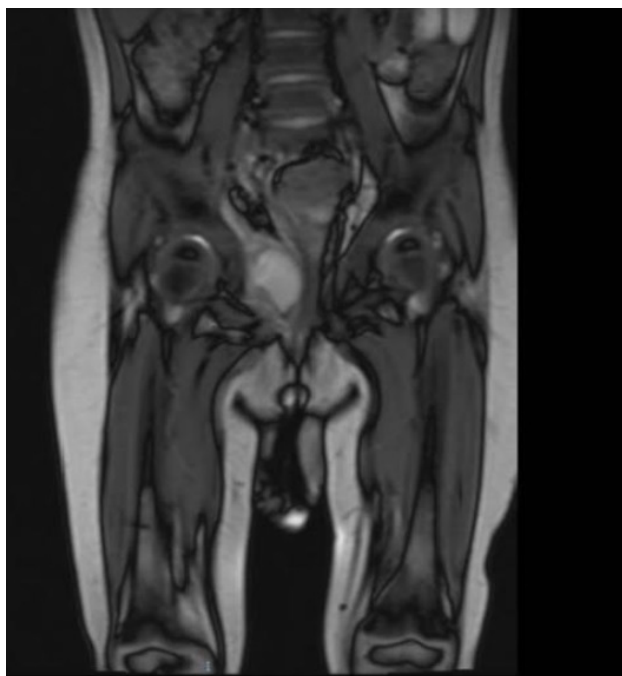


Figura 1 Imagen de resonancia magnética sin contraste intravenoso de cadera que muestra absceso en obturador interno derecho de 34 mm x 21 mm x 28 mm.

varias patologías, como la artritis séptica de cadera. La localización glútea de la piomiositis es la más frecuente y debe ser tenida en cuenta.

El tratamiento es controvertido [3], no existen estudios clínicos aleatorizados controlados [7] y no se han documentado formas similares de afectación muscular previamente. En general, se postula el uso de rifampicina, doxiciclina, ciprofloxacino, azitromicina y cotrimoxazol con duración muy variable [1,3]. Los macrólidos son los antibióticos más empleados. Se han descrito pautas cortas durante cinco días con azitromicina (500 mg/ 24 horas) con disminución del tamaño de las linfadenopatías en la enfermedad por arañazo de gato [7]. Asimismo, este régimen ha sido eficaz para la forma hepatoesplénica en adultos inmunocompetentes [8]. Sin embargo, Ridder-Schröter et al. [4] exponen 3 casos de miositis, con buena evolución en todos, incluso con actitud expectante en dos de ellos. La determinación seriada de la PCR es útil para el seguimiento y cambio a antibioterapia oral, como en otras infecciones osteoarticulares [5,6]. En nuestra paciente también realizamos seguimiento del absceso mediante ecografía hasta su resolución que confirmamos con RMN. La duración del tratamiento en las piomiositis es de 21 días IV, pasando a vía oral en caso de mejoría clínica, con finalización ante la resolución radiológica [9].

Aunque es discutible la implicación de este microorganismo no detectado, los antecedentes, la evolución clínica, serológica y radiológica favorable tras cotrimoxazol y azitromicina

explican la infección por *Bartonella*. Este agente debe considerarse en piomiositis-absceso en caso de contacto con gatitos.

FINANCIACIÓN

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

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Florin TA, Zaoutis TF, Zaoutis LB. Beyond cat scratch disease: widening spectrum of *Bartonella henselae* infection. *Pediatrics*.2008;121(5): e1413-25. DOI: 10.1542/peds.2007-1897.
2. Lin CC, Chi H, Tsai JD. Renal microabscesses: a presentation of cat scratch disease. *J Pediatr*. 2015;166(6):1544. DOI: 10.1016/j.jpeds.2015.02.034.
3. Tasher D, Armarnik E, Mizrahi A, Liat BS, Constantini S, Grisaru-Soen G. Cat scratch disease with cervical vertebral osteomyelitis and spinal epidural abscess. *Pediatr Infect Dis J*.2009;28(9):848-50. DOI: 10.1097/INF.0b013e3181a3242e.
4. Ridder-Schröter R, Marx A, Beer M, Tappe D, Ruth HW, Girschick HJ. Abscess-forming lymphadenopathy and osteomyelitis in children with *Bartonella henselae* infection. *J Med Microbiol*. 2008;57(Pt 4):519-24. DOI: 10.1099/jmm.0.47438-0.
5. Lovejoy JF, Alexander K, Dinan D, Drehner D, Khan-Assad N, Lacerda IRA. Team approach: pyomyositis. *JBJS Rev*. 2017;5(6): e4. DOI: 10.2106/JBJS.RVW.16.00048.
6. Spruiell MD, Searns JB, Heare TC, Roberts JL, Wylie E, Pyle L, et al. Clinical care guideline for improving pediatric acute musculoskeletal infection outcomes. *J Pediatric Infect Dis Soc*.2017;6(3): e86-e93. DOI: 10.1093/jpids/pix014.
7. Pérez-Martínez L, Blanco JR, Oteo JA. Treatment of human infections caused by *Bartonella* spp. *Rev Esp Quimioter*. 2010;23(3):109-14.
8. García JC, Núñez MJ, Castro B, Fernández JM, López A, Portillo A, et al. Hepatosplenic cat scratch disease in immunocompetent adults: report of 3 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)*. 2014; 93:267-79. DOI: 10.1097/MD.0000000000000089.
9. Verma S. Pyomyositis in children. *Curr Infect Dis Rep*.2016;18(4):12. DOI: 10.1007/s11908-016-0520-2.