

TESIS DOCTORAL

**Neumonía adquirida en la comunidad de
etiología viral: diversidad, especificidad
diagnóstica y factores pronósticos**

Judith Berastegui Cabrera

Graduada en Biología



Directores de tesis

Jerónimo Pachón Díaz

Javier Sánchez Céspedes

Tutora de tesis

María Elisa Cordero Matía

Programa doctoral Biología Molecular, Biomedicina e

Investigación Clínica

Departamento de Medicina

Universidad de Sevilla

2022

La Dra. María Elisa Cordero Matía, Profesora de Medicina de la Universidad de Sevilla e Investigadora Responsable del Grupo de Infecciones Víricas y en Pacientes Inmunodeprimidos, como Tutora de la Tesis Doctoral, el Dr. Jerónimo Pachón Díaz, Profesor Emérito de Medicina de la Universidad de Sevilla, como Director de la Tesis Doctoral, y el Dr. Javier Sánchez Céspedes, Investigador Posdoctoral “Nicolás Monardes”, como Director de la Tesis Doctoral.

CERTIFICAN:

Que el trabajo de investigación que lleva por título “*Neumonía adquirida en la comunidad de etiología viral: diversidad, especificidad diagnóstica y factores pronósticos*” ha sido realizado bajo su dirección por la Graduada en Biología Dña. Judith Berastegui Cabrera, y reúne las condiciones necesarias para ser leído y defendido como Tesis Doctoral para optar al grado de Doctor por la Universidad de Sevilla.

Para que conste a los efectos oportunos, expiden el presente certificado en Sevilla a 29 de abril de 2022.

CORDERO
MATIA
MARIA ELISA
- 28731686V

Firmado digitalmente por
CORDERO MATIA
MARIA ELISA -
28731686V
Fecha: 2022.04.29
11:08:38 +02'00'

María Elisa Cordero Matía

PACHON
DIAZ
JERONIMO -
28377156D

Firmado digitalmente por
PACHON DIAZ JERONIMO -
28377156D
Nombre de reconocimiento
(DN): c=ES,
serialNumber=iDCE5-28377156
D, givenName=JERONIMO,
sn=PACHON DIAZ, cn=PACHON
DIAZ JERONIMO - 28377156D
Fecha: 2022.04.29 09:37:08
+02'00'

Jerónimo Pachón Díaz

SANCHEZ
CESPEDES
JAVIER -
34815046S

Firmado digitalmente por
SANCHEZ CESPEDES JAVIER -
34815046S
Nombre de reconocimiento (DN):
c=ES,
serialNumber=iDCE5-34815046S,
givenName=JAVIER, sn=SANCHEZ
CESPEDES, cn=SANCHEZ
CESPEDES JAVIER - 34815046S
Fecha: 2022.04.29 10:33:19 +02'00'

Javier Sánchez Céspedes

“Lo importante es no tener arrugas en el cerebro”

Margarita Salas

“Cuando emprendas tu viaje a Ítaca

pide que el camino sea largo,

lleno de aventuras, lleno de experiencias,

y hazte con hermosas mercancías.

Así, sabio como te has vuelto, con tanta experiencia,

entenderás ya qué significan las Ítacas”

Gracias, Amelia

AGRADECIMIENTOS

Una vez alcanzada esta meta, llega el momento de mirar atrás, de ver todo el camino recorrido y de agradecer a todas las personas que han estado acompañándome durante esta travesía.

En primer lugar a quien le agradezco haber conseguido esta tesis es a quien ha sido mi primer tutor y actual director, a Jerónimo Pachón, quien me ha dado la oportunidad de formar parte de este grupo de investigación y ha estado dispuesto a descolgar el teléfono cada vez que surgía la más mínima duda al escribir este manuscrito. Y, por supuesto, a Javi, mi director de tesis, por enseñarme a ser científica, por pedir cada vez más de mí porque, pese a las posibles dificultades, sabías que podía con ello, pero sobre todo, por haberme abierto la puerta tanto a una investigación molecular básica como a una investigación clínica aplicada; gracias por tu confianza en mí. Gracias también a ti, Elisa, mi actual tutora, por haber aceptado esta tesis como tuya, siendo además la actual responsable de este gran grupo.

Por supuesto tengo que reconocer que este trabajo no hubiera sido posible sin todos mis compañeros de laboratorio, porque, de una u otra forma, también están en esta tesis.

A Menia y Younes, por estar ahí para resolver mis dudas con su experiencia, sobre todo en modelos animales.

A Gema, Andrea, Rafa y Ángel por animarme cada día con su personalidad, sus comentarios y la experiencia de pre-docs. A Tania, Soraya, Silvia y Andrea, por su predisposición a ayudarme siempre y por su sentido del humor que anima a cualquiera; estoy segura de que los ratones y las bacterias son más felices si saben que sois vosotras quienes las cuidáis.

A “mis virus”: A Josan, por abrirme camino y enseñarme todo lo necesario para manejarme en el laboratorio. A Marta, la chica de la eterna sonrisa, porque sin su apoyo el coronavirus me habría inundado en el laboratorio. A Cristina, por su predisposición constante a trabajar y a ayudarme con cualquier experimento, siendo unas “manos” más desde que llegó. A María, quien espero que siga mis pasos y sea la próxima pre-doc, por todo tu potencial, tu organización, tu implicación y tus ganas y esfuerzo constante, y, por

supuesto, por transmitirlo y compartirlo conmigo en el trabajo diario, no tengo duda de que todo ello te llevará a alcanzar lo que te propongas.

A toda la gente de documentación, a Juan Carlos por su implicación en la inclusión de pacientes y de datos, y a Macarena por su predisposición a llegar siempre a cada paciente para la toma de muestras. Esta tesis también es el fruto de vuestro incesante trabajo. A Carmen, que junto a Macarena, se han convertido no sólo en compañeras de trabajo, sino en amigas en las que poder confiar y con quienes poder contar para todas aquellas aventuras que ocurren fuera del trabajo.

A Ángel y a Ana por esos desayunos de risas y ciencia, por los *lab-meeting* alternativos, pero en especial a ti, Ana, por ir mucho más allá, por ser una amiga, una confidente, un punto de apoyo, una mentora y porque, aunque “todo es mentira”, por no perder nunca las ganas de intentarlo y de demostrar todos tus conocimientos adquiridos desde la experiencia en tantos laboratorios.

A mis compañeros de la escuela de idiomas, en especial a Mariló y María José, por ayudarme a aprender inglés, por compartir conmigo los nervios de las certificaciones y, sin duda, por acompañarme cada curso para recordarme que lo más importante de estar allí, es divertirse.

A Mery, mi mejor amiga, porque siempre la llevo en mi maleta allá donde vaya, porque ha estado en todos los momentos relevantes de mi vida y sigue a mi lado, porque siempre la noto cerca y porque sé que sólo me hace falta pedirle el “informe de supervivencia” para que mantengamos conversaciones eternas. Gracias, amiga, por hacerme saber que la distancia nunca existe si tienes ganas tener a alguien en tu vida.

A Esther y al recién estrenado Dr. José, por ser los “microbichólogos” en los que puedo confiar plenamente tanto para reírnos de cosas insulsas como para tener conversaciones profundas de apoyo y desahogo, por buscar siempre fechas para coincidir, por haber hecho de este camino un disfrute constante y por expresarme vuestra visión del mundo y de todo lo que seremos capaces de hacer. Ya sabéis, “lo que ha unido el máster, que no lo separe la micro”.

Me gustaría terminar agradeciendo a otro importante pilar de apoyo como es mi familia. Especialmente a mi madre, por su fuerza, por creerme siempre capaz de todo y

por transmitirse su capacidad de esfuerzo y tenacidad para lograr lo que uno desea. Gracias, mamá, por ir siempre de mi mano en cada paso que he ido dando.

Por último, esa persona especial, mi compañero de vida, gracias, Iker, por alegrar mis días, por secar mis lágrimas, por ser mi apoyo con tus palabras y con tus abrazos de fuerza e impulso para seguir adelante. Simplemente, gracias por hacerme sentir la persona más afortunada de este mundo durante 10 años y por demostrar que cualquier cambio de hogar merece la pena, si es a tu lado y al de Kove.

FINANCIACIÓN

Este trabajo ha sido financiado por:

- Subprograma de Proyectos de Investigación en Salud, correspondiente a la convocatoria 2017 de concesión de ayudas de la Acción Estratégica en Salud (número de expediente PI17/01055), Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación, Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Economía y Competitividad.
- Fondo COVID-19 para la financiación de proyectos de investigación sobre el SARS-CoV-2 y el COVID-19 (número de expediente COV20_00580) del Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Ciencia e Innovación.

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA FRUTO DE LA TESIS DOCTORAL

Publicaciones

1. **Berastegui-Cabrera, J.;** Aguilar-Guisado, M.; Crespo-Rivas, J. C.; López-Verdugo, M.; Merino, L.; Escobresca-Ortega, A.; Calero-Acuña, C.; Carrasco-Hernández, L.; Toral-Marín, J. I.; Abad-Arranz, M.; Ramírez-Duque, N.; Barón-Franco, B.; Pachón, J.; Álvarez-Marín, R.; Sánchez-Céspedes, J. Viral community-acquired pneumonia: diagnostic sensitivity and specificity of nasopharyngeal swabs and sputum, and analysis of viral load. Enviado a *Journal of Internal Medicine*.

Comunicaciones a congresos

1. **Berastegui-Cabrera, J.;** Aguilar-Guisado, M.; Crespo-Rivas, J. C.; López-Verdugo, M.; Merino, L.; Escobresca-Ortega, A.; Calero-Acuña, C.; Carrasco-Hernández, L.; Toral-Marín, J. I.; Abad-Arranz, M.; Ramírez-Duque, N.; Barón-Franco, B.; Pachón, J.; Álvarez-Marín, R.; Sánchez-Céspedes, J. Identificación de la etiología viral en la neumonía adquirida en la comunidad. XXI Congreso de la Sociedad Andaluza de Enfermedades Infecciosas (SAEI). 21-23 Noviembre 2019, Sevilla, España.
2. **Berastegui-Cabrera, J.;** Aguilar-Guisado, M.; Crespo-Rivas, J. C.; López-Verdugo, M.; Merino, L.; Escobresca-Ortega, A.; Calero-Acuña, C.; Carrasco-Hernández, L.; Toral-Marín, J. I.; Abad-Arranz, M.; Ramírez-Duque, N.; Barón-Franco, B.; Pachón, J.; Álvarez-Marín, R.; Sánchez-Céspedes, J. Usefulness of sputum for the identification of the viral aetiology in adults with community-acquired pneumonia. 30th *European Congress of Clinical Microbiology and Infection disease (ECCMID)*. 18-21 Abril 2020, París, Francia.
3. **Berastegui-Cabrera, J.;** Salto-Alejandre, S.; Abelenda-Alonso, G.; Rodríguez-Álvarez, R.; Valerio, M.; Oteo-Revuelta, F.; Arnáiz-De las Revillas, F.; Pérez-Palacios, P.; Linares, L.; Ramos-Martínez, M.; Fernández-Ruiz, M.; Carretero-Ledesma, M.; Rombauts, A.; Giokoetxea-Aguirre, J.; Rodríguez-Ferrero, M.L.; Alba-Fernández, J.; González-Rico, A.; Valiente, M. A.; Marcos, J.; Calderón-Parra, J.; Aguado, J. M.; García-Díaz, E.; Carratalà, J.; Blanco-Vidal, M. J.; Muñoz, P.; Santibáñez, S.; Fernández-Martínez, M.; Pascual, Á.; Bodro, M.; Roca, C.; Praena, J.; Navarro-Amuedo, M. D.; Camacho-Martínez, P.; Cordero-Matía, E. Sánchez-

Céspedes, J. La ARNemia de SARS-CoV-2 en pacientes adultos con COVID-19 es un factor predictor independiente de desenlace desfavorable. XXIV Congreso Nacional de la Sociedad de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 5-11 Junio 2021, Madrid, España.

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA ASOCIADA A LA LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

Publicaciones

1. Mazzotta, S.; Marrugal-Lorenzo, J. A.; Vega-Holm, M.; Serna-Gallego, A.; Álvarez-Vidal, J.; **Berastegui-Cabrera, J.**; Pérez-Del Palacio, J.; Díaz, C.; Aiello, F.; Pachón, J.; Iglesias-Guerra, F.; Vega-Pérez, J. M.; Sánchez-Céspedes J. Optimization of piperazine-derived ureas privileged structures for effective antiadenovirus agents. *Eur J Med Chem.* 1 Jan 2020; 185:111840. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.111840.
2. Xu, J.*; **Berastegui-Cabrera, J.***; Chen, H.; Pachón, J.; Zhou, J.; Sánchez-Céspedes J. Structure-activity relationship studies on diversified salicylamide derivatives as potent inhibitors of human adenovirus infection. *J Med Chem.* 26 Mar 2020; 63(6):3142-3160. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.9b01950. * Los autores contribuyeron igualmente.
3. Aguilar-Guisado, M.; Marrugal-Lorenzo, J. A.; **Berastegui-Cabrera, J.**; Merino, L.; Pachón, J.; Sánchez-Céspedes J. In vitro co-infection by cytomegalovirus improves the antiviral activity of ganciclovir against human adenovirus. *Int J Antimicrob Agents.* Aug 2020; 56(2):106046. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2020.106046.
4. Pech-Puch, D.*; **Berastegui-Cabrera, J.***; Pérez-Povedano, M.; Villegas-Hernández, H.; Guillén-Hernández, S.; Cautain, B.; Reyes, F.; Pachón, J.; Gómez, P.; Rodríguez, J.; Jiménez, C.; Sánchez-Céspedes, J. Antiviral and antiproliferative potential of marine organisms from the Yucatan Peninsula, Mexico. *Front Mar Sci.* 20 Aug 2020; 7:607. DOI: 10.3389/fmars.2020.00607. * Los autores contribuyeron igualmente.
5. Mazzotta, S.*; **Berastegui-Cabrera, J.***; Carullo, G.*; Vega-Holm, M.; Carretero-Ledesma, M.; Mendolia, L.; Aiello, F.; Iglesias-Guerra, F.; Pachón, J.; Vega-Pérez, J. M.; Sánchez-Céspedes J. Serinol-based benzoic acid esters as new scaffolds for the development of adenovirus infection inhibitors: design, synthesis, and in vitro biological evaluation. *ACS Infect Dis.* 11 Jun 2021; 7(6):1433-1444. DOI: 10.1021/acsinfecdis.0c00515. * Los autores contribuyeron igualmente.
6. Xu, J.*; **Berastegui-Cabrera, J.***; Ye, N.; Carretero-Ledesma, M.; Pachón, J.; Chen, H.; Pachón-Ibáñez, M. E.; Sánchez-Céspedes, J.; Zhou, J. Discovery of novel substituted N-(4-Amino-2-chlorophenyl)-5-chloro-2-hydroxybenzamide analogues

as potent human adenovirus inhibitors. *J Med Chem*. 12 Nov 2020; 63(21):12830-12852. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.0c01226. * Los autores contribuyeron igualmente.

7. Salto-Alejandre, S.; **Berastegui-Cabrera, J.**; Camacho-Martínez, P.; Infante-Domínguez, C.; Carretero-Ledesma, M.; Crespo-Rivas, J. C.; Márquez, E.; Lomas, J. M.; Bueno, C.; Amaya, R.; Lepe, J. A.; Cisneros, J. M.; Pachón, J.; Cordero, E.; Sánchez-Céspedes, J.; Virgen del Rocío Hospital COVID-19 Working Team. SARS-CoV-2 viral load in nasopharyngeal swabs is not an independent predictor of unfavorable outcome. *Sci Rep*. 21 Jun 2021; 11(1):12931. DOI: 10.1038/s41598-021-92400-y.
8. **Berastegui-Cabrera, J.***; Salto-Alejandre, S.*; Valerio, M.; Pérez-Palacios, P.; Revillas, F. A. L.; Abelenda-Alonso, G.; Oteo-Revuelta, J. A.; Carretero-Ledesma, M.; Muñoz, P.; Pascual, Á.; Gozalo, M.; Rombauts, A.; Alba, J.; García-Díaz, E.; Rodríguez-Ferrero, M. L.; Valiente, A.; Fariñas, M. C.; Carratalà, J.; Santibáñez, S.; Camacho-Martínez, P.; Pachón, J.; Cisneros, J. M.; Cordero, E.; Sánchez-Céspedes, J. SARS-CoV-2 RNAemia is associated with severe chronic underlying diseases but not with nasopharyngeal viral load. *J Infect*. Mar 2021; 82(3):e38-e41. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.11.024. * Los autores contribuyeron igualmente.
9. Xu, J.*; **Berastegui-Cabrera, J.***; Carretero-Ledesma, M.; Chen, H.; Xue, Y.; Wold, E. A.; Pachón, J.; Zhou, J.; Sánchez-Céspedes, J. Discovery of a small molecule inhibitor of human adenovirus capable of preventing escape from the endosome. *Int J Mol Sci*. 5 Feb 2021; 22(4):1617. DOI: 10.3390/ijms22041617. * Los autores contribuyeron igualmente.
10. Salto-Alejandre, S.; **Berastegui-Cabrera, J.**; Camacho-Martínez, P.; Infante-Domínguez, C.; Carretero-Ledesma, M.; Crespo-Rivas, J. C.; Márquez, E.; Lomas, J. M.; Bueno, C.; Amaya, R.; Lepe, J. A.; Cisneros, J. M.; Pachón, J.; Cordero, E.; Sánchez-Céspedes, J.; Virgen del Rocío Hospital COVID-19 Working Team. SARS-CoV-2 viral load in nasopharyngeal swabs is not an independent predictor of unfavorable outcome. *Sci Rep*. 21 Jun 2021; 11(1):12931. DOI: 10.1038/s41598-021-92400-y.
11. Mazzotta, S.*; **Berastegui-Cabrera, J.***; Vega-Holm, M.; García-Lozano, M. D. R.; Carretero-Ledesma, M.; Aiello, F.; Vega-Pérez, J. M.; Pachón, J.; Iglesias-Guerra,

F.; Sánchez-Céspedes J. Design, synthesis and *in vitro* biological evaluation of a novel class of anti-adenovirus agents based on 3-amino-1,2-propanediol. *Bioorg Chem.* Sep 2021; 114:105095. DOI: 10.1016/j.bioorg.2021.105095. * Los autores contribuyeron igualmente.

Comunicaciones a congresos

1. Sánchez-Céspedes, J.; **Berastegui-Cabrera, J.**; Martín-Gutiérrez, G; García-Díaz, E.; Valerio, M.; Pérez-Palacios, P.; Arnáiz-De las Revillas, F.; Abelenda-Alonso, G.; Alba-Fernández, J.; Cordero-Matía, E. Asociación de SARS-CoV-2 ARNemia con los síntomas y el pronóstico de la COVID-19. I Congreso Nacional COVID-19. 13-19 Septiembre 2020, Madrid, España.
2. Sánchez-Céspedes, J.; **Berastegui-Cabrera, J.**; Carretero-Ledesma, M.; Salto-Alejandro, S.; Valerio, M.; Pérez-Palacios, P.; Arnáiz-De las Revillas, F.; Abelenda-Alonso, G.; Oteo-Revuelta, F.; Muñoz, P.; Pascual, Á.; Linares, L.; Ramos-Martínez, M.; Fernández-Ruiz, M.; Rombauts, A.; Giokoetxea-Aguirre, J.; Rodríguez-Ferrero, M.L.; Alba-Fernández, J.; González-Rico, C.; Valiente, M. A.; Marcos, J.; Calderón-Parra, J.; Aguado, J. M.; García-Díaz, E. Carratalà, J.; Blanco-Vidal, M. J.; Muñoz, P.; Santibáñez, S.; Fernández-Martínez, M.; Bodro, M.; Roca, C.; Praena, J.; Navarro-Amuedo, M. D.; Camacho-Martínez, P.; Cordero-Matía, E. Sánchez-Céspedes, J. SARS-CoV-2 RNAemia in COVID-19 adult patients and its association to clinical findings and outcomes. 1st *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) Conference on Coronavirus Disease.* 23-25 Septiembre 2020, Basel, Suiza.
3. **Berastegui-Cabrera, J.**; Xu, J.; Chen, H.; Pachón, J.; Zhou, J.; Sánchez-Céspedes, J. Optimization of a series of salicylamide derivatives of niclosamide as potent antiviral agents against human adenovirus. 14th *International Adenovirus Meeting.* 18-21 Abril 2021, Toledo, España.
4. Carretero-Ledesma, M.; Camacho-Martínez, P.; Sánchez-Céspedes, J.; **Berastegui-Cabrera, J.**; Abelenda-Alonso, G.; Giokoetxea-Aguirre, J.; Arnáiz-De las Revillas, F.; Pérez-Palacios, P.; Santibáñez, S.; Rombauts, A.; Blanco-Vidal, M. J.; González-Rico, A.; Valiente, A.; Alba, J.; García-Díaz, E.; Carratalà, J.; Rodríguez-Álvarez,

R.; Fernández-Martínez, M.; Pascual, Á.; Oteo-Revuelta, F.; Pachón, J.; Lepe, J. A.; Cisneros, J. M.; Cordero-Matía, E.; Sánchez-Céspedes, J. Impacto clínico de las coinfecciones virales y bacteriana en pacientes con COVID-19 hospitalizados. 17-18 Junio 2021, Sevilla, España.

Patentes

1. Zhou, J.; Xu, J.; Sánchez-Céspedes, J.; **Berastegui-Cabrera, J.**; Pachón-Ibáñez, M. E.; Pachón, J.; Chakrabarti, M. Salicylamide derivatives and related methods of making. PCT/US2021/015072
2. Pech-Puch, D. J.; Jiménez-González, C.; Rodríguez-González, J.; Pachón, J.; **Berastegui-Cabrera, J.**; Sánchez-Céspedes, J. Furan, thiophene or gamma-lactam sesterterpene tetronic acids useful as antiviral compounds against infections caused by human adenovirus. PCT/EP2020/071980.

INDICE DE CONTENIDOS

ABREVIATURAS	24
RESUMEN	29
INTRODUCCIÓN	33
1. Antecedentes	35
2. Impacto global de la NAC	36
2.1. <i>Epidemiología</i>	36
2.2. <i>Principales etiologías</i>	37
3. Etiologías virales específicas	39
3.1. <i>Rinovirus</i>	39
3.2. <i>Virus influenza</i>	39
3.3. <i>Virus respiratorio sincitial</i>	41
3.4. <i>Coronavirus</i>	41
3.5. <i>Adenovirus</i>	43
3.6. <i>Otros virus</i>	44
4. Etiologías mixtas en pacientes con NAC	44
5. Manifestaciones clínicas de la NAC	46
6. Índices pronósticos en la NAC viral	48
7. Diagnóstico etiológico de la NAC	52
7.1. <i>Etiología bacteriana</i>	52
7.2. <i>Etiología viral</i>	53
8. Biomarcadores predictores de la NAC viral	55
9. Tratamiento y prevención de las principales etiologías virales de la NAC ..	56
9.1. <i>Tratamientos antivirales</i>	56
9.2. <i>Vacunas</i>	58
FUNDAMENTOS	61
HIPÓTESIS	65
OBJETIVOS	70
MATERIAL Y MÉTODOS	75
1. Diseño y ámbito del estudio	77
2. Sujetos de estudio. Criterios de inclusión y exclusión	77
3. Definiciones	78
4. Monitorización y seguimiento de los pacientes	78

INDICE DE CONTENIDOS

5. Recogida de datos clínicos	79
6. Determinación de la etiología de los pacientes con NAC	80
6.1. <i>Etiología bacteriana</i>	80
6.2. <i>Etiología viral</i>	80
7. Determinación de la carga viral	81
8. Análisis estadístico	81
9. Consideraciones éticas	83
RESULTADOS	85
Características de los pacientes incluidos en las cohortes pre-pandémica y pandémica	87
Objetivos referentes a la diversidad etiológica, la carga viral en muestras respiratorias y la presencia de viremia en la NAC en adultos.....	91
Objetivos referentes a la sensibilidad y especificidad de las diferentes muestras en el estudio etiológico de la neumonía adquirida en la comunidad en pacientes adultos, en el periodo pre-pandémico de la COVID-19.....	106
Objetivos referentes al valor de los índices de gravedad para la NAC de diferentes etiologías en pacientes adultos hospitalizados.....	108
DISCUSIÓN	122
Diversidad etiológica, carga viral en muestras respiratorias y presencia de viremia en la NAC en adultos	124
Sensibilidad y especificidad de las diferentes muestras en el estudio etiológico de la neumonía adquirida en la comunidad en pacientes adultos, en el periodo pre-pandémico de la COVID-19	129
Valor de los índices de gravedad para la NAC de diferentes etiologías en pacientes adultos hospitalizados.....	131
CONCLUSIONES	136
ANEXOS	141
ANEXO 1. Consentimiento informado del proyecto “Desarrollo e implementación de criterios diagnósticos con elevada especificidad para la identificación de la etiología viral de la neumonía adquirida en la comunidad (PI17/01055)”.....	143
ANEXO 2. Consentimiento informado del proyecto “Estudio de la carga viral de SARS-CoV-2 en vías respiratorias y sangre como factor asociado al pronóstico de la COVID-19 en adultos (COV20_00580)”	145

INDICE DE CONTENIDOS

ANEXO 3. Cuaderno de recogida de datos del proyecto “Desarrollo e implementación de criterios diagnósticos con elevada especificidad para la identificación de la etiología viral de la neumonía adquirida en la comunidad (PI17/01055)”	147
ANEXO 4. Cuaderno de recogida de datos del proyecto “Estudio de la carga viral de SARS-CoV-2 en vías respiratorias y sangre como factor asociado al pronóstico de la COVID-19 en adultos (COV20_00580)”	151
BIBLIOGRAFÍA	157

ABREVIATURAS

ABREVIATURAS

AdVH: Adenovirus humano
ALT: Alanina aminotransferasa.
AST: Aspartato aminotransferasa.
BoVH: Bocavirus humano
CART: Árbol de clasificación y regresión
CoVH: Coronavirus humano
CoVH-229E: Coronavirus endémico humano 229E del género alfacoronavirus
CoVH-NL63: Coronavirus endémico humano NL63 del género alfacoronavirus
CoVH-OC43: Coronavirus endémico humano OC43 del género betacoronavirus
COVID-19: *Coronavirus Infectious Disease 2019*
EMA: Agencia Europea del Medicamento
EVH: Enterovirus humano
FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos
FN: Falso negativo
FP: Falso positivo
GOT: Transaminasa glutámico oxalacética
GPT: Transaminasa glutámico-pirúvica
IQR: Rango intercuartílico
LDH: Lactato deshidrogenasa
MERS-CoV: Coronavirus del Síndrome Respiratorio de Oriente Medio
MPVh: Metapneumovirus humanos
NAC: Neumonía adquirida en la comunidad
OMS: Organización Mundial de la Salud
PCR: Proteína C reactiva
PCT: Procalcitonina
ROC: Curva receptor-operador
RT-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa
RT-qPCR: Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa y con transcriptasa inversa
RVH: Rinovirus humano
SARS-CoV: Coronavirus del Síndrome Respiratorio Agudo Grave
SARS-CoV-2: Coronavirus del segundo Síndrome Respiratorio Agudo Grave
SDRA: Síndrome de distrés respiratorio agudo
SpO₂: Saturación de oxígeno
TC: Tomografía computarizada

ABREVIATURAS

TRI: Tracto respiratorio inferior

TRS: Tracto respiratorio superior

VI A (H1N1)pdm09: Virus influenza A pandémico de 2009

VI A: Virus influenza A

VI B: Virus influenza B

VI: Virus influenza

VN: Verdadero negativo

VP: Verdadero positivo

VPI: Virus parainfluenza

VPN: Valor predictivo negativo

VPP: Valor predictivo positivo

VRE: Virus respiratorios endémicos

VRS: Virus respiratorio sincitial

VRS A: Virus respiratorio sincitial subgrupo A

VRS B: Virus respiratorio sincitial subgrupo B

RESUMEN

RESUMEN

La PCR en tiempo real para virus respiratorios ha ampliado el diagnóstico etiológico de la neumonía adquirida en la comunidad (NAC), pero, a pesar de un trabajo de diagnóstico intensivo, aproximadamente la mitad de los casos permanecen sin diagnóstico etiológico. El alto potencial epidémico de los virus respiratorios endémicos (VRE) ha sido ampliamente reconocido, pero no hay consenso sobre su relevancia en el desenlace clínico de estos pacientes. Las muestras de esputo representativas son el estándar de referencia para el diagnóstico etiológico de la NAC, ya que no se conoce bien la especificidad de la detección de virus en las vías respiratorias superiores. Además, las conocidas puntuaciones de gravedad de la NAC, como el PSI y el CURB-65, son útiles para una rápida clasificación de los pacientes y un buen manejo, pero no son capaces de diferenciar entre etiologías.

El objetivo de este trabajo es identificar la frecuencia y la diversidad de los virus como etiología de la NAC en adultos, evaluar la sensibilidad y la especificidad de los exudados nasofaríngeos para el diagnóstico etiológico de la NAC viral y estudiar la importancia de los agentes bacterianos y virales en el resultado de los pacientes y el valor de las puntuaciones de gravedad para la NAC en pacientes con etiología identificada.

Los resultados del presente trabajo ponen de manifiesto la elevada frecuencia de la etiología viral detectada, mediante el uso de métodos moleculares para su diagnóstico, en muestras de las vías respiratorias superiores, las cuales tiene un alto valor predictivo positivo (VPP) y especificidad para el diagnóstico de los VRE en la NAC viral en adultos en comparación con el esputo representativo. Además, los VRE no parecieron asociarse a un desenlace clínico desfavorable, pero sí la presencia de cualquier agente etiológico, aunque el índice de severidad CURB-65 no predijo correctamente la mortalidad en el grupo de pacientes con etiología viral.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1. Antecedentes

La etiología viral de la neumonía adquirida en la comunidad (NAC) en pacientes adultos inmunocompetentes continúa siendo un tema controvertido debido, fundamentalmente, a la falta de métodos diagnósticos lo suficientemente sensibles y, especialmente, específicos para la detección de la mayoría de los virus respiratorios en muestras representativas del tracto respiratorio superior (TRS) [1], lo cual implica una falta de diagnóstico etiológico en, aproximadamente, el 50% de los casos [2]. Por ello, hasta la coincidencia en el tiempo de la disponibilidad de la PCR en tiempo real para la detección de los virus de la gripe y la pandemia por el virus de la gripe A (H1N1)pdm09 en 2009, no se empezó a considerar la neumonía primaria por este virus como un agente causal de la misma con una incidencia significativa y no, como hasta entonces, como una infección respiratoria previa no relevante, facilitadora de una neumonía bacteriana secundaria [3].

La mejora e introducción en la práctica clínica de la PCR en tiempo real para la detección de los virus respiratorios ha ampliado el diagnóstico etiológico de la NAC. Gracias a ello, virus respiratorios como el rinovirus humano (RVH), los virus influenza (VI) y parainfluenza (VPI), el virus respiratorio sincitial (VRS), el metapneumovirus humano (MPVh), el adenovirus humano (AdVh) y los coronavirus humanos (CoVh) endémicos, han sido reconocidos como agentes causales de infecciones del tracto respiratorio inferior (TRI) y de la consecuente hospitalización [4-6].

No obstante, aunque en la práctica clínica actual el diagnóstico de la neumonía viral es habitual, especialmente desde la aparición del síndrome respiratorio agudo grave (SARS), la gripe aviar causada por el virus A (H5N1) virus, la pandemia por el virus influenza A (H1N1)pdm09 [3], y la pandemia por el virus SARS-CoV-2 [7], la especificidad del diagnóstico sigue siendo incierta, ya que se basa mayoritariamente en la detección en exudados nasofaríngeos y no en la detección en muestras respiratorias de vías bajas [8]. Esta falta de especificidad en el diagnóstico de la neumonía viral no ha sido resuelta por estudios recientes, asumiéndose que la simple detección en muestras de vías respiratorias superiores no es suficiente para el diagnóstico etiológico en la NAC, aunque la ausencia de patógenos específicos en estas muestras sí podría excluirlos efectivamente como agentes etiológicos [9].

INTRODUCCIÓN

2. Impacto global de la NAC

2.1. Epidemiología

El último estudio del Espectro Global de Enfermedades realizado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2019 ha confirmado una mejora de la salud mundial en los últimos 30 años [10], y señalando, como las causas principales de defunción en el mundo, en base al número total de vidas perdidas, tres grupos de enfermedades: cardiovasculares, respiratorias y afecciones neonatales [11]. En 2019, las infecciones de las vías respiratorias inferiores, incluyendo la neumonía y la bronquiolitis, continuaron siendo las enfermedades transmisibles más mortales del mundo, afectando por igual a ambos géneros y situándose como la cuarta causa de defunción desde el año 2000 [11]. En 2019, la incidencia declarada fue de 489 millones (IC 95%, 458-523) de casos y la prevalencia, de 11 millones (IC 95%, 10,3 – 11,6), cobrándose 2,49 (IC 95% 2,27 – 2,74) millones de vidas, lo que supuso una tasa de mortalidad del 1,22% (IC 95%, 1,12-1,32). Los grupos poblacionales más afectados fueron los mayores de 70 años, con un aumento del número de fallecidos y una tasa de mortalidad mantenida del 4,32% (IC 95%, 3,80 – 4,63) (Figura 1), y los niños menores de 10 años, para los cuales disminuyó el número de fallecimientos, así como su tasa de mortalidad, que fue del 12,90% (IC 95%, 11,74 – 13,88) (Figura 2) [10, 12].

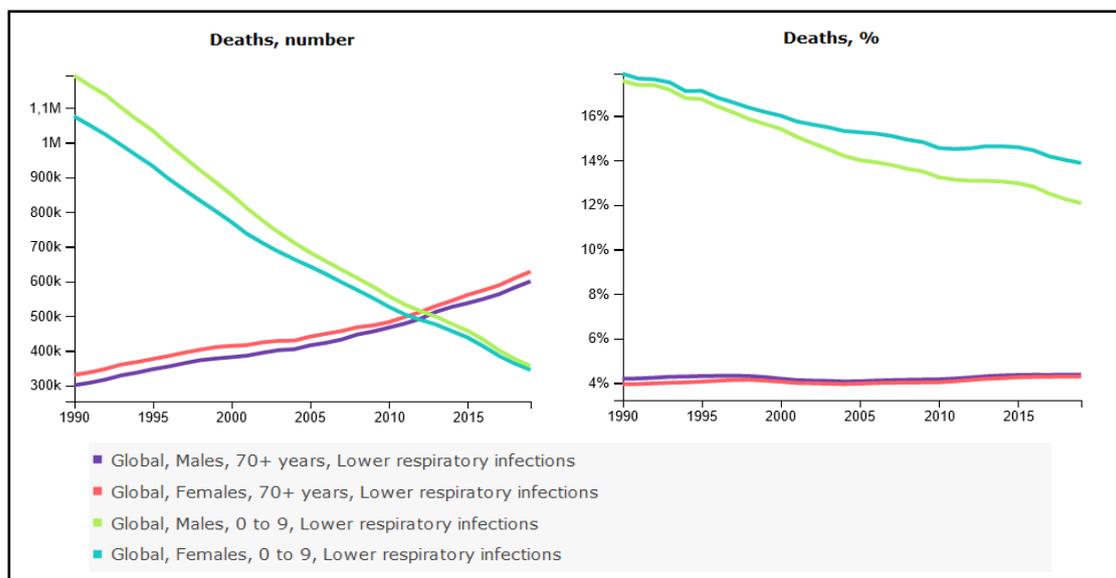


Figura 1. Número de fallecimiento y tasa de mortalidad global de las infecciones del TRS en los grupos poblacionales más vulnerables, divididos por sexos [10].

INTRODUCCIÓN

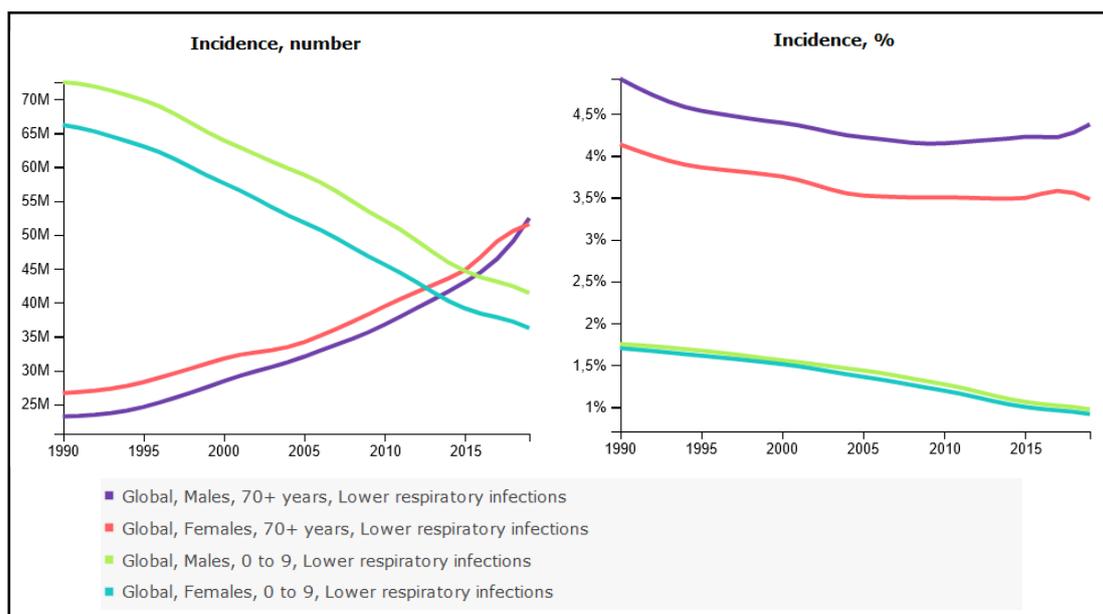


Figura 2. Tasa de incidencia y número de casos globales de las infecciones del TRS en los grupos poblacionales más vulnerables, divididos por sexos [10].

Este mismo informe mostró que estas infecciones supusieron la segunda causa de mortalidad en Europa, con una incidencia de 40,2 millones (IC 95% 37,8 – 43,0) y una tasa de mortalidad del 2,89 (IC 95%, 2,61 – 3,06), y la séptima causa de mortalidad en España, donde la incidencia fue de 1,50 (IC 95% 1,38 – 1,61) millones, falleciendo el 3,31% (IC 95%, 2,74 – 3,75) de las personas afectadas [10, 11].

2.2. Principales etiologías

Periódicamente se publican diferentes y prestigiosas Guías de Consenso sobre el manejo de la NAC en adultos [13, 14], para recopilar los datos de evidencia científica disponibles para la mejora en la atención de estos pacientes.

Las bacterias se identifican como la causa principal de la NAC en adultos, pero más de 100 microorganismos distintos, entre ellos bacterias atípicas, virus y hongos, también han sido identificados como agentes etiológicos característicos [15]. Entre los agentes bacterianos, *Streptococcus pneumoniae* es el principal agente etiológico, seguido por otros patógenos como *Haemophilus influenzae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Legionella pneumophila* o *Moraxella catarrhalis* [16, 17].

INTRODUCCIÓN

La neumonía viral está causada principalmente por la inhalación de partículas virales que son transportadas por el aire a los pulmones, donde su lugar de deposición depende de su tamaño y forma y se rige por varios mecanismos físicos, aunque también se produce su difusión a través de fómites o manos contaminadas, como es el caso de los virus de la gripe o del SARS-CoV-2, en una transmisión de persona a persona [18, 19]. Entre los virus respiratorios, los VI causantes de la gripe son los más frecuentemente reconocidos en la etiología de la NAC, aunque otros como el VRS, el AdVH, los PIV, el MPVh y los CoVH son también etiologías virales bien reconocidas [20]. Sin embargo, con la aparición del segundo síndrome respiratorio agudo severo, por el SARS-CoV-2, en Wuhan (China) a finales de diciembre de 2019 y de la enfermedad causada por el mismo (COVID-19), el espectro de agentes etiológicos virales causantes de la neumonía viral cambió, así como su frecuencia, superando los datos de incidencia y transmisión de los virus de la gripe y situándose a la cabeza con 118.629 casos confirmados y 4.292 fallecidos el 11 de Marzo de 2020, cuando la OMS declaró la COVID-19 como una pandemia [21].

Teniendo en cuenta el amplio espectro de agentes etiológicos posibles, varios autores han reportado la presencia de etiologías mixtas causadas por agentes etiológicos del mismo tipo (bacteria-bacteria, virus-virus) o de tipos diferentes (bacteria-virus). En esta línea, Gadsby *et al.* [22] encontraron un 56,3% de casos de coinfección en muestras de esputo y aspirado endotraqueal, aunque este porcentaje tan elevado podría explicarse por el uso de métodos moleculares, tanto para el diagnóstico de las etiologías bacterianas como de las víricas; de este modo, las coinfecciones bacteria-bacteria se produjeron en el 31,6% de los casos, mientras que las coinfecciones bacteria-virus se detectaron en el 24,8%, porcentaje ligeramente superior al 22,1% encontrado por Zhou *et al.* [23], quien además encontró un 7,21% de coinfecciones virus-virus, realizando sus identificaciones mediante PCR múltiple de exudados nasofaríngeos para todos los casos incluidos (N=2332), y de esputo representativo y aspirado endotraqueal para, aproximadamente, la mitad de ellos (N=1229). Además, estos autores [23] consideraron como etiología viral cierta aquellos casos que tenían una detección positiva en al menos una de las muestras respiratorias tomadas.

INTRODUCCIÓN

3. Etiologías virales específicas

3.1. *Rinovirus*

El RVH se descubrió en la década de 1950 en un esfuerzo por identificar la etiología del resfriado común. Nuestra mejor comprensión del espectro de enfermedades por el RVH se debe en gran medida a los avances en los métodos moleculares que han facilitado la detección y caracterización de sus grupos y cepas. Hasta la fecha, se han descrito 170 cepas basadas en el serotipado y/o la secuenciación genética, clasificándose en tres especies (A, B, C) en función de las secuencias genéticas [24, 25].

En todo el mundo, y durante casi todo el año, son la causa más común de infección del TRS, y el pensamiento tradicional sobre su causalidad benigna ha cambiado. El RVH están actualmente relacionado con exacerbaciones de enfermedades pulmonares crónicas, desarrollo de asma y, más recientemente, bronquiolitis grave en bebés y niños, así como NAC mortal en adultos mayores e inmunodeprimidos [24, 26], encontrándose en algunos estudios en más del 9% de los pacientes diagnosticados con NAC [4, 27].

3.2. *Virus influenza*

Los VI son otros patógenos predominantes en los pacientes adultos con NAC viral en todo el mundo, ocasionando una mortalidad anual de entre 250.000 y 500.000 personas, especialmente entre los adultos mayores de 65 años [28]. Existen cuatro tipos de VI, los tipos A, B, C y D aunque los tipos A y B son los principales patógenos humanos, causantes de las epidemias de gripe estacional en todo el mundo. A su vez, los VI A pueden clasificarse en subtipos en función de la combinación de hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA) en la superficie del virus, siendo H1N1 y H3N2 los subtipos dominantes. Por otro lado, los VI B se clasifican en dos linajes, B/Yamagata y B/Victoria [29]. Su transmisión tiene lugar durante los meses de invierno en el hemisferio norte, aunque la época varía según el país y el año. En las regiones templadas, suele comenzar en octubre, alcanza su punto álgido en enero o febrero y terminar en abril o mayo [30].

Es bien sabido que los virus de la gripe causan epidemias estacionales anuales, con afectación de las vías respiratorias superiores e inferiores, y que al menos, desde 1889 hasta 2009, se han producido siete pandemias, algunas de ellas con morbilidad y mortalidad muy elevadas, como la pandemia de 1918 [31, 32]. Sin embargo, a pesar de

INTRODUCCIÓN

conocerse la capacidad del virus de la gripe para causar neumonía vírica primaria, se pensaba que era menos frecuente que la neumonía secundaria bacteriana, facilitada por el profundo daño del epitelio respiratorio causado por la infección vírica.

La gripe estacional es causada predominantemente por el VI A la mayoría de los años, mientras que el VI B se alternan cada varios años [30, 33]. En 2009, la coincidencia de la pandemia por el VI A (H1N1)pdm09 (Figura 3) [34] y el uso de métodos de detección molecular para detectar VI A y B en las secreciones respiratorias, con alta sensibilidad y especificidad, en los laboratorios de microbiología clínica, cambiaron radicalmente la concepción que hasta entonces se tenía sobre la incidencia de la neumonía viral primaria por gripe. En la encuesta nacional realizada en los servicios de urgencias de Estados Unidos, la pandemia de gripe de 2009 se asoció con 180.560 visitas a los servicios de urgencias por neumonía, correspondiendo a 0,59 visitas por neumonía por cada 1000 habitantes de los Estados Unidos (IC 95%: 0,55 – 0,62); este número de visitas representó el 7,0% de todas las visitas a los servicios de urgencias por neumonía durante el año de la pandemia [35]. Por lo tanto, se considera que los virus de la gripe son la causa predominante de la NAC viral en los meses de gripe estacional anual [36, 37].

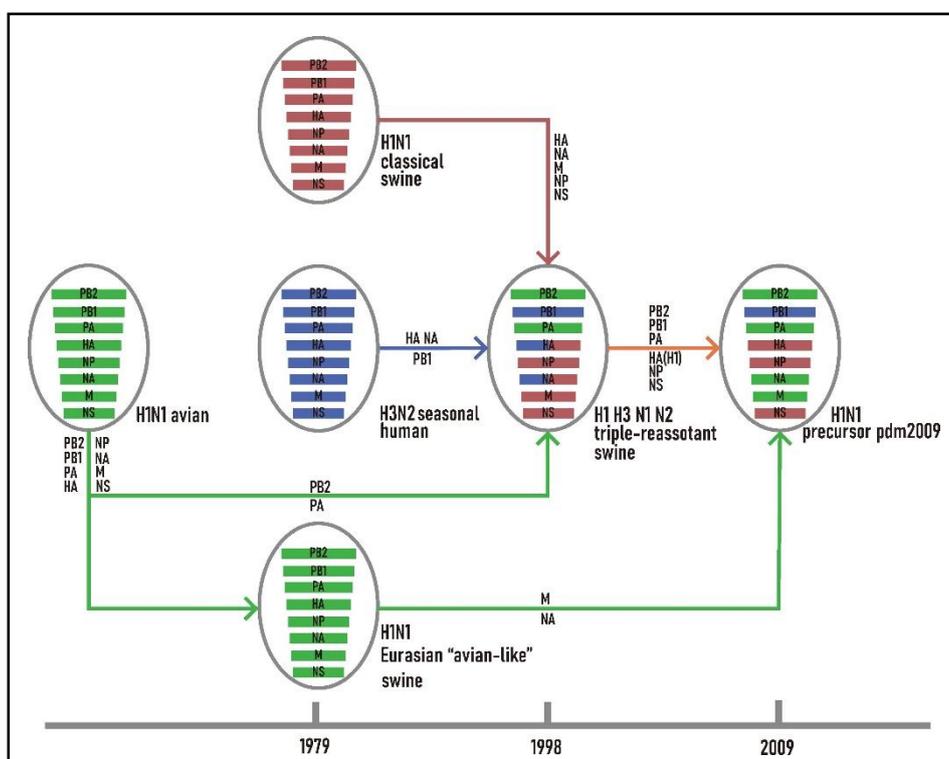


Figura 3. Representación esquemática de los eventos genéticos reordenados que condujeron al desarrollo del (H1N1)pdm09 [34].

INTRODUCCIÓN

3.3. *Virus respiratorio sincitial*

El VRS es una de las causas más comunes de bronquiolitis y neumonía en niños menores de 1 año que requieren hospitalización, aunque también pueden causar enfermedades respiratorias graves en ancianos y adultos inmunocomprometidos [38, 39]. Existen dos serotipos, el VRS-A y el VRS-B, que a su vez se subdividen en más de 30 genotipos, los cuales circulan a nivel global y tienen su pico de infectividad en climas templados entre diciembre y febrero [40].

Se estima que en 2015 se produjeron 1,5 (IC 95% 0,3 – 6,9) millones de episodios de enfermedades respiratorias agudas en adultos relacionadas con el VRS en todo el mundo y que, de estos episodios, aproximadamente el 14,5% implicaron un ingreso hospitalario. Los adultos pueden presentar evoluciones clínicas variables en gravedad, desde síntomas respiratorios leves hasta infecciones graves del TRI [41]. Aunque estos virus son una etiología bien descrita de la NAC, representan la causa principal en <5% de los casos [40, 42].

3.4. *Coronavirus*

Los CoVH son causantes de infecciones respiratorias y los nuevos CoVH emergentes son una causa importante de morbilidad y mortalidad [43]. Antes de diciembre de 2019, se conocía la existencia de 6 especies de CoVH que causaban enfermedades respiratorias (Figura 4), cuatro de las cuales se corresponden con los CoVH endémicos conocidos 229E, NL63, pertenecientes al género alfacoronavirus, y HKU1, y OC43, perteneciente al género betacoronavirus. La infección por estos CoVH endémicos cursa con enfermedades respiratorias superiores leves y en escasas ocasiones con infecciones graves en bebés, niños pequeños y ancianos, aunque su impacto clínico está poco descrito en la literatura [21, 43, 44]. En el estudio realizado por Jain *et al.* [4] en Estados Unidos con un periodo de inclusión desde enero de 2010 hasta junio de 2012, los CoVH endémicos representaron el 6,2% de las etiologías de los pacientes con NAC, siendo identificados mediante PCR múltiple en exudados nasofaríngeos y orofaríngeos. Un porcentaje similar fue encontrado por Lieberman *et al.* [45] en Oriente Medio, donde OC43 y 229E representaron el 7,1% y el 2,7%, respectivamente, del 13,1% de los casos de NAC incluidos en dos periodos invernales (el primero, desde noviembre de 2004 hasta marzo de 2005, y el segundo, desde noviembre de 2005 hasta abril de 2006) en los que se

INTRODUCCIÓN

detectaron CoVH mediante PCR múltiple realizando una toma de tres muestras consecutivas a cada paciente (exudado orofaríngeo, exudado nasofaríngeo y lavado nasofaríngeo) en el momento de la admisión hospitalaria.

En la actualidad, se han identificado tres tipos de CoVH no endémicos (Figura 4), causantes de una alta mortalidad a nivel mundial. El primero en aparecer fue el causante del Síndrome Respiratorio Agudo Grave (SARS-CoV), en Foshan (China), en noviembre de 2002 [46], siendo reconocido como pandemia a finales de febrero de 2003 y extendiéndose a más de 30 países, causando 8422 casos notificados y una tasa de letalidad del 11% en julio de 2003, cuando se dio por finalizada esta primera pandemia del siglo XXI [47, 48]. Aunque desde noviembre de 2002 se habían detectado casos en Guangdong (China), la OMS declaró la alerta mundial en marzo de 2003 y estableció una red de laboratorios colaboradores que, tan sólo un mes después, en abril de 2003, descubrió un nuevo coronavirus (SARS-CoV) como agente causal.

El coronavirus causante del Síndrome Respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) se notificó por primera vez en 2012, en una muestra de pulmón de un paciente de 60 años que murió de insuficiencia respiratoria en Jeddah (Arabia Saudí). Desde 2012 hasta octubre de 2021, el número total de casos confirmados y notificados por la OMS en todo el mundo fue de 2578, con 888 muertes asociadas y una tasa de mortalidad del 34,4% [48, 49]. Los casos humanos se notifican en la Península Arábiga, siendo los dromedarios la fuente más probable de transmisión de animal a humano, además, la transmisión de persona a persona se produce a través del contacto estrecho con un paciente con MERS [48].

Por último, como es bien conocido, el CoVH pandémico más reciente ha sido el SARS-CoV-2, el cual apareció a finales de diciembre de 2019 en Wuhan (China) y es el causante de la COVID-19. Su tasa de transmisión es de aproximadamente 2,2, lo que promovió su transmisión de persona a persona rápidamente [48], reportando la OMS, a 31 de enero de 2022, 373.229.380 de casos confirmados de COVID-19, incluidas 5.658.702 muertes, aunque, afortunadamente, para esta fecha ya se habían administrado 9.901.135.033 dosis vacunales [50].

INTRODUCCIÓN

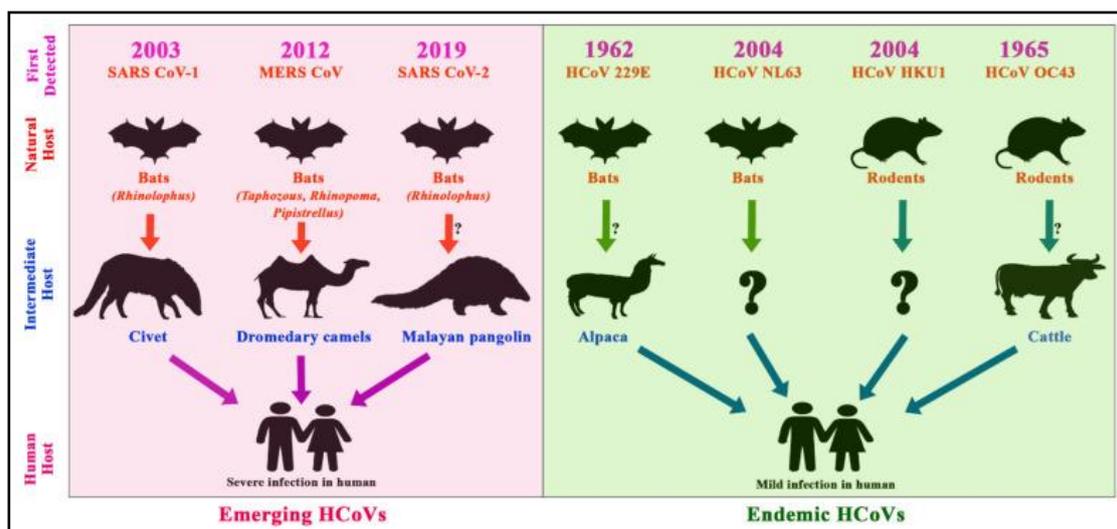


Figura 4. Cronología de la aparición de los CoVH, sus reservorios y los huéspedes intermedios. La zona sombreada en rosa representa los coronavirus emergentes, mientras que la zona sombreada en verde representa los coronavirus endémicos. Las flechas muestran la ruta de transmisión de los virus de los animales a los humanos a través de los huéspedes intermedios. Tomado de Islam *et al.* Viruses. 2021; 13(10):1908.

3.5. Adenovirus

El AdvH tiene una distribución mundial y no muestra una clara variación estacional. Existen siete especies (desde la A hasta la G), siendo las especies B, C y E las más comúnmente asociadas a infecciones respiratorias, especialmente en pacientes inmunodeprimidos [51]. De hecho, el AdvH es una de las causas menos frecuentes de NAC viral en adultos inmunocompetentes, y representa menos del 5% de los casos [4, 22, 52]. Sin embargo, estudios comparativos han demostrado que la capacidad del AdvH para causar enfermedad grave puede estar relacionada con los serotipos. En estudios realizados en China, la neumonía por AdvH-55 está más relacionada con los casos graves que otros serotipos, mostrando un índice de severidad de la neumonía (*Pneumonia Severity Index*, PSI) elevado y produciendo síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA), con enfermedad diseminada en algunos casos, y una alta mortalidad en adultos inmunocompetentes [53]. Otros serotipos descritos que pueden causar enfermedades respiratorias graves en adultos inmunocompetentes son el AdvH-7, el AdvH-4 y el AdvH-14, todos ellos notificados en Estados Unidos [40, 53].

INTRODUCCIÓN

3.6. *Otros virus*

Otros virus respiratorios han sido menos frecuentemente reportados como causa de NAC en adultos inmunocompetentes. Es el caso del MPVh, el VPI y los bocavirus humanos (BoVH).

El MPVh, caracterizado en 2001, es una etiología bien conocida de la NAC en adultos, pero con poca frecuencia, del 2% al 9% de los casos [15, 40, 52]. Tiene una distribución estacional con una aparición principal en invierno y primavera [4]. El mecanismo de transmisión de este virus no está bien descrito, pero se ha sugerido que su vía de propagación principal serían las gotas respiratorias en el aire, y con un tropismo preferentemente dirigido a las células epiteliales ciliadas del tracto respiratorio humano [54]. Los adultos jóvenes infectados generalmente sólo presentan síntomas parecidos a los de la gripe, sin embargo, la infección puede resultar más grave en pacientes de edad avanzada o inmunodeprimidos [40, 54].

Los VPI son un caso infrecuente de NAC en adultos inmunocompetentes, detectándose en <8% de los casos [4, 15, 22] con representación de los tipos 1, 2 y 3 y con tasas diferentes según el entorno epidemiológico [40]; así, en el estudio de Gadsby *et al.* [22], el VPI 3 fue la etiología viral menos frecuente, mientras que en otros estudios el VPI 3 fue el tipo más común [55].

Los BoVH son parvovirus que se han asociado como agentes etiológicos en la enfermedad respiratoria, principalmente en niños pequeños y lactantes, aunque su papel patogénico no está totalmente dilucidado debido a la asociación, sobre todo en niños, con el VRS, los VI, los VPI 1, 2, 3 y los RVH, pero también se han producido algunos casos de NAC en adultos inmunocompetentes causados por este patógeno [56, 57].

4. Etiologías mixtas en pacientes con NAC

La PCR múltiple para el diagnóstico de virus respiratorios ha demostrado ser una herramienta de gran valor para la identificación de múltiples patógenos a partir de una única muestra, como potenciales agentes causales de la afección observada. En este sentido, el concepto de que un único patógeno sea el responsable del desarrollo de la NAC observada es discutible, dado el alto porcentaje de coinfecciones virales/bacterianas detectadas mediante el uso de herramientas moleculares [58]. Sin embargo, el papel de

INTRODUCCIÓN

estos virus respiratorios sigue siendo desconocido debido a la presencia de estos patógenos incluso en individuos asintomáticos [45]. Algunos autores atribuyen a los virus respiratorios un papel patogénico durante la neumonía bacteriana, ya que pueden empeorar el pronóstico de los pacientes con NAC, aunque en general el papel de los virus respiratorios en el establecimiento y desarrollo de la NAC sigue sin estar claro [59, 60].

Mientras que en ocasiones de infección mixta bacteria-virus, múltiples microorganismos comparten la causalidad de la enfermedad, en otras la infección es consecuencia de la presencia de un primer patógeno, que favorece el posterior crecimiento de otro microorganismo y la consiguiente enfermedad secundaria [61]. En una revisión sistemática llevada a cabo por Shoar y Musher [62], se identificó un virus respiratorio en el 30-40% de los pacientes con NAC, y se encontró una coinfección bacteriana-viral en el 25-35% de estos casos, resultados que fueron respaldados por otro estudio previo [63] que examinó todas las enfermedades virales para determinar qué proporción existía de coinfección bacteriana-viral, obteniendo finalmente un 40% tras haber realizado la detección de virus mediante PCR en exudados nasofaríngeos, orofaríngeos y esputos. La infección mixta en la que participan el VI A y *S. aureus* es una de las principales causas de la NAC grave, y además, varios estudios han identificado la coinfección bacteriana en el 10%-20% de las infecciones gripales, siendo *S. aureus* y *S. pneumoniae* los patógenos más frecuentemente aislados [61, 64]. Este tipo de infecciones mixtas han demostrado ser más frecuentes en niños, con frecuencias de hasta el 45% de los casos, mientras que en los adultos esta frecuencia suele ser inferior al 20% de los casos [65-67].

Las coinfecciones virales y su asociación con la NAC grave han sido poco estudiadas y, por tanto, no se conocen bien. Sin embargo, algunos autores sugieren que la identificación de varios virus en muestras de pacientes con NAC es un indicador pronóstico negativo que puede asociarse a una mayor mortalidad [67]. Probablemente debido a su menor frecuencia con respecto a las coinfecciones virus-bacterias o a las dificultades para su diagnóstico, las coinfecciones víricas se han considerado durante muchos años como un tema menor. El uso de enfoques moleculares para diagnosticar los agentes causales de la NAC ha puesto de manifiesto la elevada incidencia de estas coinfecciones y, probablemente, su importante papel en el resultado final de los pacientes con NAC [4, 68]. La presencia de coinfecciones víricas es mucho más frecuente en niños, y los virus más comúnmente identificados suelen ser los VI (durante la temporada de gripe), el VRS y el RVH y, específicamente en los niños, el BoVH [3, 4, 69].

INTRODUCCIÓN

5. Manifestaciones clínicas de la NAC

Las características clínicas de la NAC están bien establecidas según la Guía para el Diagnóstico y Tratamiento de las Enfermedades Infecciosas, Programa Institucional de Optimización del Tratamiento Antimicrobiano (PRIOAM) del Hospital Universitario Virgen del Rocío (<https://www.guiaprioam.com/>), definiéndose por la presencia de síntomas respiratorios (tos, expectoración y/o disnea), temperatura superior a 37,5°C y un nuevo infiltrado radiológico de etiología desconocida.

En el caso de la NAC vírica, su presentación clínica oscila entre una neumonía leve con fiebre, que suele ser de bajo grado, tos, expectoración y molestias torácicas, a neumonía grave con disnea de diferente grado, sepsis y distrés respiratorio [3, 70, 71]. La frecuencia de los síntomas generales como la cefalea y la diarrea son variables [70]. En los casos graves, los signos de la exploración física también incluyen taquipnea, aumento de la frecuencia respiratoria y presencia de ruidos respiratorios anormales. La hipoxemia es común en los casos graves por alteración del intercambio gaseoso alveolar [71].

El agente etiológico también puede marcar algunas diferencias en la clínica de la NAC viral. En el caso del VI, su infección suele afectar a las vías respiratorias superiores y la neumonía generada se observa con una frecuencia variable. Los síntomas y signos de las vías respiratorias superiores suelen estar presentes, aunque la presencia de secreción nasal, mialgia o cefalea parecen ser menos frecuentes en los casos con neumonía gripal primaria que en aquellos con gripe sin neumonía [72]. Las características clínicas y radiológicas también son propias en los pacientes con neumonía primaria por gripe, y la sospecha clínica debe elevarse cuando los síntomas o signos de infección son progresivos (incluyendo fiebre alta o disnea) en lugar de resolverse. Los hallazgos radiológicos típicos incluyen un infiltrado intersticial bilateral (reticular o reticulonodular), aunque también puede verse una consolidación focal, especialmente en los lóbulos inferiores [73, 74]. La presentación clínica de la neumonía gripal parece ser algo diferente para el virus influenza A de la pandemia de 2009 [75]. Los pacientes con neumonía por gripe A (H1N1)pdm09 fueron inicialmente más jóvenes, con comorbilidades menos frecuentes, infiltrados más extensos y una insuficiencia respiratoria más frecuente que conduce a un peor desenlace clínico [75].

Respecto a las características clínicas del SARS-CoV-2, éstas varían desde una enfermedad leve hasta una enfermedad grave o mortal, afectando a todas las edades de la

INTRODUCCIÓN

población [21], aunque las manifestaciones clínicas difieren en los diferentes estratos de edad [76]. En general, los hombres de mayor edad (>60 años) con comorbilidades, tienen más probabilidades de desarrollar una enfermedad respiratoria grave que requiera hospitalización o incluso la muerte, mientras que la mayoría de jóvenes y niños suelen presentar enfermedad leve (no neumonía o neumonía leve) o ser asintomáticos [76]. Los síntomas inespecíficos más comunes de la COVID-19 son fiebre, tos y mialgia, así como dolor de garganta, dolor de cabeza, escalofríos, náuseas o vómitos, diarrea, ageusia y congestión conjuntival, además de trastornos olfativos y del gusto [76, 77]. La mayoría de las personas desarrollan disnea y neumonía en una media de 8 días desde el inicio de los síntomas y también una marcada linfopenia. Al ingreso, el hallazgo radiológico más frecuente en la tomografía computarizada (TC) de tórax es la opacidad en vidrio esmerilado [76].

Como ya se ha mencionado, los RV se encuentran entre los virus respiratorios más frecuentemente detectados gracias al uso de métodos moleculares, en la NAC en pacientes adultos inmunocompetentes, sin embargo, su papel como verdadero patógeno en la neumonía es especialmente controvertido. Un estudio prospectivo de casos de neumonía por RV o virus de la gripe [26] incluyó sólo tres casos de NAC por este virus diagnosticados mediante PCR en el lavado broncoalveolar de pacientes no inmunodeprimidos, entre 260 pacientes con NAC. Estos pacientes tenían ≥ 70 años, la neumonía era bilateral, en un caso con neumotórax, y dos pacientes fallecieron, uno de ellos por neumonía por *Acinetobacter baumannii*, tras requerir ventilación mecánica para tratar la insuficiencia respiratoria. En este contexto, las manifestaciones clínicas específicas y generales de la NAC por RV, no se han podido identificar [78].

El VRS, aunque en adultos sanos suele cursar con síntomas restringidos a las vías respiratorias superiores, es una causa importante de neumonía en los ancianos [79]. Tiene una presentación clínica que varía desde la transmisión asintomática, pasando por síntomas de congestión nasal y rinorrea o dolor de garganta de tres a cinco días después de la infección, hasta la dificultad respiratoria aguda [40, 41]. También pueden aparecer otros síntomas inespecíficos como astenia, anorexia y fiebre con una gravedad variable. A medida que la infección progresa hasta afectar las vías respiratorias inferiores, pueden aparecer síntomas como tos, sibilancias y disnea. Los estudios radiográficos con TC suelen mostrar nódulos pulmonares y opacidades en vidrio esmerilado, y la radiografía

INTRODUCCIÓN

de tórax estándar suele ser normal, aunque puede mostrar cambios consistentes con la neumonía cuando el virus pasa al TRI [40, 41].

La NAC por MPVh en adultos inmunocompetentes se produce sobre todo en invierno y primavera [54]. En los adultos jóvenes, el MPVh generalmente se presenta con síntomas parecidos a los de la gripe, sin embargo, la infección puede ser más grave en pacientes de edad avanzada o inmunodeprimidos, mostrando fiebre, insuficiencia respiratoria, con taquipnea e hipoxia, que requiere ventilación mecánica, y con radiografías de los pulmones que muestran infiltrados intersticiales unilaterales o bilaterales [80, 81].

6. Índices pronósticos en la NAC viral

Los índices pronósticos de gravedad son herramientas de gran utilidad clínica para predecir la evolución de los pacientes con NAC en una primera evaluación y, guiar así las decisiones clínicas. Los dos índices más utilizados son el PSI y el CURB-65 [13].

El PSI [82], fue desarrollado en 1997 por Fine *et al.*, como parte del proyecto realizado por el equipo de investigación de desenlace clínico de pacientes con neumonía (PORT), cuyo objetivo era generar una regla de predicción clínicamente aplicable, para la mortalidad a corto plazo entre los pacientes con NAC [82]. La hipótesis subyacente era que los pacientes con NAC que tenían un bajo riesgo de mortalidad podían ser identificados en el momento de la presentación mediante el uso de información clínica de fácil acceso. Para ello, se analizaron los datos de 14.199 pacientes adultos hospitalizados con un diagnóstico principal de neumonía a partir de 1250 características demográficas y variables clínicas de referencia de pacientes dados de alta en 78 hospitales de 23 estados de Estados Unidos [82]. En la derivación, se identificaron 20 variables pronósticas que se asociaban de forma independiente con la mortalidad y que estaban disponibles de forma rutinaria para los médicos en el momento de la presentación del paciente: 3 características demográficas (edad, sexo y residencia en un centro socio-sanitario), 5 enfermedades coexistentes (enfermedad neoplásica activa, insuficiencia cardíaca congestiva, enfermedad cerebrovascular, enfermedad renal y enfermedad hepática), 5 resultados de la exploración física (frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, presión arterial sistólica, temperatura y estado mental), 6 mediciones de laboratorio (nitrógeno ureico en

INTRODUCCIÓN

sangre, glucosa, hematocrito y niveles de sodio; presión parcial de oxígeno arterial y pH arterial) y 1 resultado radiológico (derrame pleural). La variable de punto final fue la mortalidad intrahospitalaria en los 30 días siguientes al ingreso [82]. Además, para hacerlo más ajustado a los procesos de toma de decisiones clínicas de los profesionales sanitarios en la consulta o en el servicio de urgencias, el PSI se desarrolló en dos pasos: en el paso 1 (Figura 5a), el índice indica un subgrupo de pacientes con muy bajo riesgo de muerte (clase de riesgo I) basándose en la presencia o ausencia de 11 hallazgos de la historia clínica y la exploración física, y en el paso 2 (Figura 5b), se cuantifica el riesgo de muerte para el resto de los pacientes no pertenecientes a la clase de riesgo I mediante el uso de los mismos hallazgos utilizados en el paso 1, además de las variables de laboratorio y radiológicas que componen el PSI. La puntuación total se obtiene sumando los pesos pronósticos basados en números enteros de cada variable pronóstica identificada para un determinado paciente.

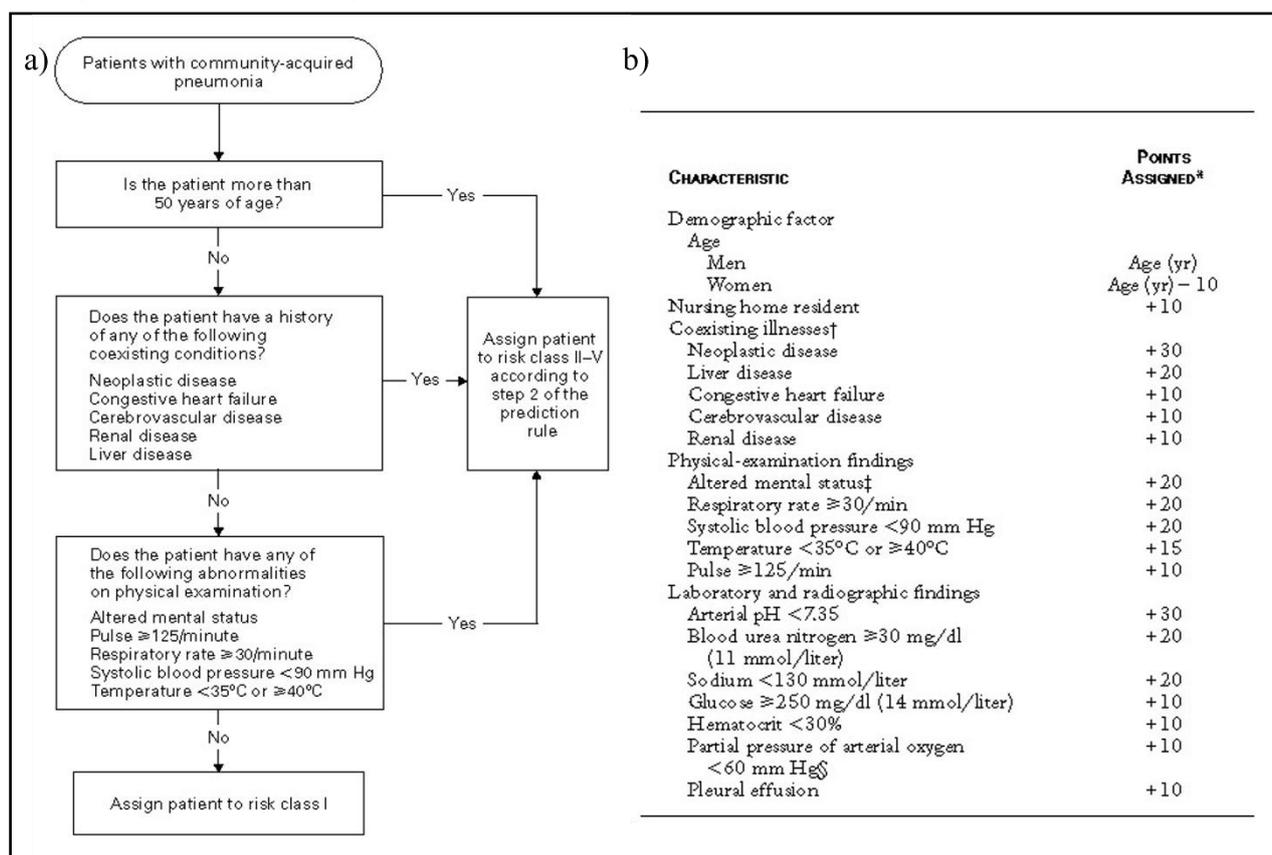


Figura 5. a) Paso 1 del índice PSI: identificación de los pacientes de clase de riesgo I mediante la regla predictiva. En este paso, los pacientes no presentan ninguna característica de edad, enfermedades subyacentes ni hallazgos en la exploración física para su clasificación en otro grupo de riesgo [82]. **b)** Paso 2 del índice PSI: puntuación de los pacientes para su clasificación en las clases de riesgo II, III, IV y V [82].

INTRODUCCIÓN

En base a la puntuación total, los pacientes se clasifican en 4 clases de riesgo adicionales (II-V), cada una de ellas con una mayor probabilidad de mortalidad (Figura 6) [82, 83].

PSI risk class (no. of points)	30-Day mortality rate, %			P
	MedisGroups derivation cohort (n = 14,199)	MedisGroups validation cohort (n = 38,039)	PORT validation cohort (n = 2287)	
I	0.4	0.1	0.1	.22
II (≤ 70)	0.7	0.6	0.6	.67
III (71–90)	2.8	2.8	0.9	.12
IV (91–130)	8.5	8.2	9.3	.69
V (>130)	31.1	29.2	27.0	.09
All classes	10.2	10.6	5.2	...

Figura 6. Tasa de mortalidad a los 30 días por clase de riesgo del PSI en la cohorte utilizada para la derivación y validación [83].

El índice CURB-65 [84], fue desarrollado inicialmente por la Sociedad Torácica Británica y modificada posteriormente por Neill *et al.* [85] y Lim *et al.* [84]. Su objetivo era simplificar el uso del PSI, el cual requiere el cálculo de una puntuación basada en 20 variables, por lo que podía no resultar práctica su aplicación rutinaria en servicios de urgencias hospitalarios o en el ámbito de la atención primaria, además de estar mejor validado para evaluar pacientes con un bajo riesgo de mortalidad [84]. Este índice se obtuvo combinando retrospectivamente los datos de tres grandes estudios prospectivos sobre la NAC realizados en 4 hospitales de Reino Unido, Nueva Zelanda y Países Bajos, y de él se derivaron cinco características clínicas fácilmente medibles con el objetivo de identificar pacientes con NAC grave con alto riesgo de mortalidad [84]. Estas cinco variables fueron la edad (≥ 65 años), la confusión, la urea (> 7 nmol/L), la frecuencia respiratoria (≥ 30 respiraciones/minuto) y la presión arterial (presión sistólica < 90 mmHg o presión diastólica ≤ 60 mmHg) como medio práctico para estratificar a los pacientes con NAC en grupos de riesgo de mortalidad bajo (0 o 1), intermedio (2) y alto (3 o más) (Figura 7) [84].

INTRODUCCIÓN

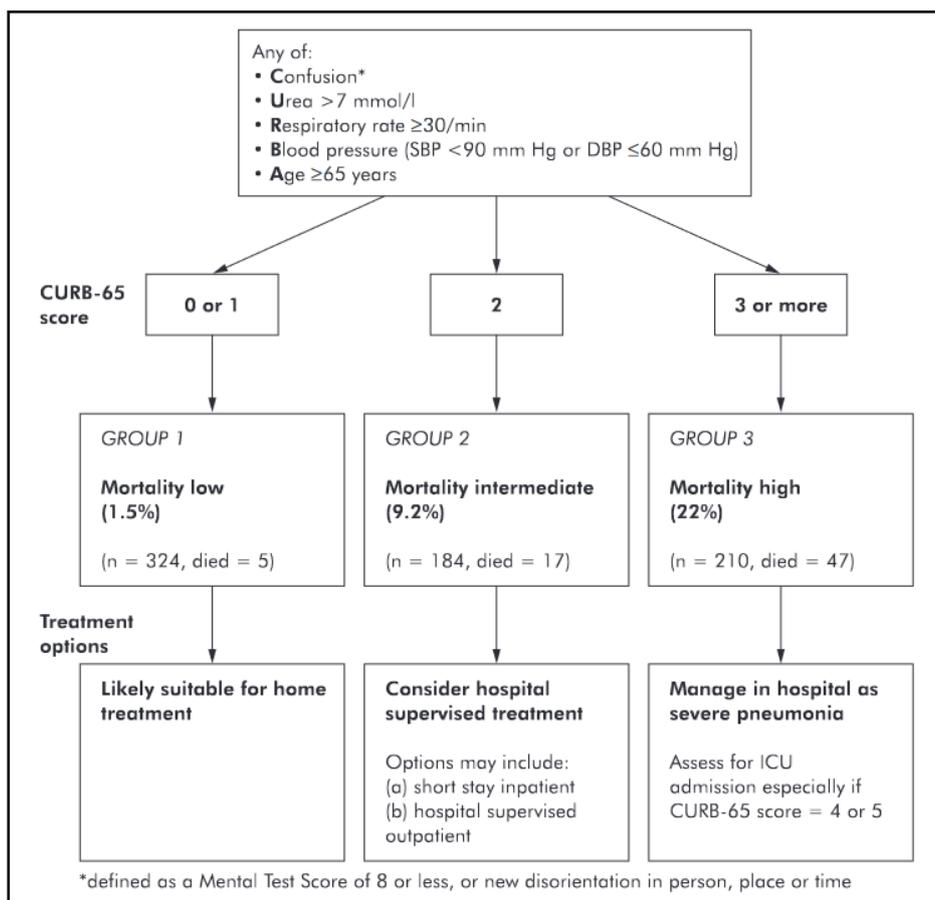


Figura 7. Estrategia de un paso para estratificar a los pacientes con NAC en grupos de riesgo según el riesgo de mortalidad a 30 días en un entorno hospitalario según la puntuación del CURB-65 [84].

Sin embargo, cabe destacar, que el valor de los índices PSI y CURB-65 se desarrollaron originalmente para la NAC, independientemente del agente causal de la neumonía. Actualmente, se ha establecido que el pronóstico de la NAC está influenciado por el agente causal, pero la gravedad y la mortalidad de la NAC vírica no han sido validadas con el PSI [86] o el CURB-65 [22]. Algunos autores sugieren que los pacientes con una identificación negativa de patógenos virales tienen puntuaciones medias del PSI significativamente más bajas que los pacientes con una identificación positiva, en particular de neumonía viral o mixta [87]. Sin embargo, otros estudios no han encontrado diferencias en la puntuación del PSI al ingreso entre los distintos grupos etiológicos [88, 89].

Lo mismo ocurre con el CURB-65, donde varios estudios no han encontrado diferencias de gravedad entre la neumonía vírica y la no vírica en cuanto a la presentación clínica o los diferentes desenlaces clínicos (ingreso en la UCI, ventilación mecánica y mortalidad a los 30 días) [89, 90]. Uno de estos estudios [90] evaluó el valor diagnóstico

INTRODUCCIÓN

de los datos clínicos para el diagnóstico de la neumonía vírica, incluyendo la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos positivo y negativo, identificando únicamente la rinorrea y la opacidad en vidrio esmerilado en las radiografías de tórax como indicadores útiles para el inicio de la terapia antiviral empírica. Por otro lado, no encontraron diferencias en el CURB-65 ni en el PSI, en términos de gravedad, entre los grupos con neumonía de origen vírico y no vírico.

7. Diagnóstico etiológico de la NAC

Las exploraciones diagnósticas que deben practicarse a un paciente con NAC, dependen en gran medida de la gravedad estimada, y por tanto de si el manejo va a ser ambulatorio u hospitalario; asimismo variarán de acuerdo a la dificultad en orientar el caso y a la presencia o ausencia de complicaciones [91].

La NAC es una enfermedad extraordinariamente heterogénea, tanto por su epidemiología como por la respuesta del huésped. Por ello, la Sociedad Torácica Americana y la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América desarrollaron una guía actualizada de la NAC en 2019 [13] abarcando un conjunto de preguntas centrales identificadas como de alta prioridad en el diagnóstico de esta afección mediante revisiones sistemáticas de los estudios de mayor calidad disponibles.

7.1. Etiología bacteriana

El diagnóstico de la etiología bacteriana de la NAC está perfectamente definido. En los pacientes hospitalizados con NAC, deberá practicarse una analítica básica (bioquímica, hemograma), así como una gasometría arterial en la mayor parte de los casos. Se cursarán dos hemocultivos y se intentará obtener una muestra de esputo de buena calidad para proceder a una tinción de Gram y posterior cultivo. Además, se hará una tinción de Ziehl-Nielsen bajo sospecha razonada de tuberculosis. Después de iniciado el tratamiento, si las tinciones no han sido demostrativas, puede solicitarse la detección de antígeno neumocócico y/o de *Legionella* en la orina [13, 91]. Además, en los pacientes hospitalizados más graves, si existiera derrame pleural significativo, se realizará una toracocentesis y cuando el paciente necesite ser intubado, se procederá a realizar un

INTRODUCCIÓN

examen directo de las secreciones, así como cultivos cuantitativos de la muestra extraída, ya sea broncoaspirado, cepillado bronquial o lavado alveolar [13, 91].

Posteriormente a los análisis de estas muestras, podrán solicitarse aquellos estudios serológicos u otras determinaciones que se estimen pertinentes [91].

Recommendation	2007 ATS/IDSA Guideline	2019 ATS/IDSA Guideline
Sputum culture	Primarily recommended in patients with severe disease	Now recommended in patients with severe disease as well as in all inpatients empirically treated for MRSA or <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Blood culture	Primarily recommended in patients with severe disease	Now recommended in patients with severe disease as well as in all inpatients empirically treated for MRSA or <i>P. aeruginosa</i>
Macrolide monotherapy	Strong recommendation for outpatients	Conditional recommendation for outpatients based on resistance levels
Use of procalcitonin	Not covered	Not recommended to determine need for initial antibacterial therapy
Use of corticosteroids	Not covered	Recommended not to use. May be considered in patients with refractory septic shock
Use of healthcare-associated pneumonia category	Accepted as introduced in the 2005 ATS/IDSA hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia guidelines	Recommend abandoning this categorization. Emphasis on local epidemiology and validated risk factors to determine need for MRSA or <i>P. aeruginosa</i> coverage. Increased emphasis on deescalation of treatment if cultures are negative
Standard empiric therapy for severe CAP	β -Lactam/macrolide and β -lactam/fluoroquinolone combinations given equal weighting	Both accepted but stronger evidence in favor of β -lactam/macrolide combination
Routine use of follow-up chest imaging	Not addressed	Recommended not to obtain. Patients may be eligible for lung cancer screening, which should be performed as clinically indicated

Definition of abbreviations: ATS = American Thoracic Society; CAP = community-acquired pneumonia; IDSA = Infectious Diseases Society of America; MRSA = methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

Figura 8. Diferencias entre las Guías de Neumonía Adquirida en la Comunidad de la Sociedad Torácica Americana y la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América de 2007 y 2019 [13].

7.2. Etiología viral

El diagnóstico etiológico de la NAC viral, a diferencia de la etiología bacteriana, sigue siendo controvertido. La mejora e introducción en la práctica clínica de herramientas moleculares basadas en la PCR en tiempo real para la detección de los agentes virales han mejorado el diagnóstico etiológico de la NAC [22, 92] pero, aunque la utilización de las técnicas moleculares ha incrementado la sensibilidad de los resultados obtenidos, una vez identificados los patógenos virales, sigue existiendo la incertidumbre de considerarlos como agentes causales de la neumonía. Por tanto, hay que resolver un

INTRODUCCIÓN

nuevo reto en la especificidad del diagnóstico etiológico, debido a que el significado clínico de los virus detectados en los pacientes con NAC no está claramente definido.

El primer problema que se debe resolver es la toma de muestras respiratorias representativas de alta especificidad. Las muestras respiratorias con alta especificidad para el diagnóstico del agente etiológico de la NAC viral deben proceder de las vías del TRI, como el esputo representativo o el lavado broncoalveolar, pero estas muestras son difíciles de obtener o necesitan procedimientos invasivos [93]. Por el contrario, obtener una muestra de las vías del TRS es sencillo, pero la identificación de un virus puede confundirse frecuentemente con contaminaciones durante la extracción de las muestras de las vías respiratorias superiores, porque alrededor del 7,1% de las personas sanas tienen colonización viral en el TRS [45, 93, 94]. Por lo tanto, los resultados deben interpretarse teniendo en cuenta que algunos de los patógenos aislados pueden ser colonizadores del TRS. En estos casos, sería de gran interés disponer de un mapa claro del viroma nasofaríngeo habitual, para que se puedan descartar identificaciones virales probablemente no relacionadas con la NAC.

Aunque todavía hoy el diagnóstico de la NAC depende de los hallazgos clínicos y radiológicos, la incorporación de la PCR en tiempo real ha contribuido a aumentar la sensibilidad diagnóstica y a acelerar el tiempo de respuesta. El uso de la PCR para virus específicos (monoplex-PCR) suele aplicarse para confirmar una sospecha de infección por los VI o el VRS [95] durante su temporada de circulación por la comunidad. El principal problema de esta estrategia es que un resultado negativo no ofrece ventajas en cuanto al manejo del paciente.

La aplicación de enfoques de PCR múltiple permite la identificación simultánea de múltiples patógenos con alta especificidad y en un periodo muy corto de tiempo (<2 horas) en las secreciones respiratorias, y puede ayudar a los profesionales médicos a evitar la prescripción de antibióticos innecesarios. Durante la última década, se han desarrollado muchas técnicas moleculares basadas en la PCR múltiple para identificar simultáneamente una gran variedad de patógenos virales respiratorios junto con las bacterias más frecuentes, tanto típicas como atípicas [92, 94, 96, 97]. Debido a su alta especificidad, la PCR múltiple se ha convertido en un método rutinario para la identificación de virus en el contexto de la NAC [98].

INTRODUCCIÓN

Al igual que ocurrió con los métodos basados en la PCR, los enfoques basados en la secuenciación genética están siendo cada vez más utilizados en el diagnóstico de la NAC [58, 99, 100]. La secuenciación no sólo permitirá la identificación de cualquier patógeno causante conocido asociado a la NAC a partir de una sola copia de ADN, sino que también acelerará el descubrimiento de nuevos patógenos implicados en su etiología [58, 101, 102], tal y como ha ocurrido con las actuales variantes del SARS-CoV-2 [103, 104]. Aun así, la duda clínica sobre la posible contaminación con la flora habitual del TRS no quedará resuelta.

8. Biomarcadores predictores de la NAC viral

Los biomarcadores se han definido como "una característica que se mide y evalúa objetivamente como indicador de procesos biológicos normales, procesos patógenos o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica" [105]. Un biomarcador de diagnóstico ideal para la NAC viral debería elevarse o reducirse sólo cuando se ha producido una infección viral y no en otras infecciones, como las bacterianas y las fúngicas. Además, un biomarcador ideal debe ser sencillo de analizar sin ser excesivamente caro y sus resultados deben estar disponibles rápidamente [106].

Pocos estudios han investigado los predictores clínicos de la neumonía vírica, con resultados inconsistentes en general [3, 70, 90]. Sin embargo, la capacidad de diferenciar la neumonía bacteriana de la viral utilizando biomarcadores característicos puede tener importantes implicaciones en el manejo clínico, ya que el conocimiento de la probable etiología causante es fundamental para la elección de una terapia antimicrobiana adecuada y para reducir el uso inapropiado de antibióticos que conlleve a la aparición de microorganismos resistentes [3, 107].

Hasta ahora se han estudiado y utilizado muchos biomarcadores para el diagnóstico de la NAC bacteriana tales como el recuento de leucocitos, la velocidad de sedimentación globular, la proteína C reactiva, la procalcitonina, entre otros [107]. Sin embargo, estos biomarcadores no han demostrado ser específicos. Los recuentos de glóbulos blancos suelen ser más bajos en pacientes con neumonía vírica en comparación con la neumonía bacteriana [70, 108], pero el recuento de neutrófilos $>8 \times 10^6/L$ es un hallazgo común, que oscila entre el 67-94% de los casos en diferentes etiologías víricas (especialmente en la neumonía por RVH) [70, 109, 110]. Por otra parte, la neumonía vírica se ha asociado a

INTRODUCCIÓN

recuentos de linfocitos en sangre más elevados [90], aunque la linfopenia es común en la infección por VI [111, 112].

Tanto la procalcitonina (PCT) como la proteína C reactiva (PCR) se han estudiado en niños y adultos con NAC, con el fin de discriminar entre la etiología bacteriana y la no bacteriana. La PCR y la PCT suelen estar elevadas en la neumonía bacteriana en contraste con la etiología no bacteriana [87, 113, 114]. La diferencia parece ser mayor cuando se comparan los pacientes con neumonía bacteriana con los pacientes con neumonía vírica y no típica, pero no hay diferencias significativas entre estos dos últimos grupos de pacientes [87, 88].

No obstante, el papel exacto de todos estos biomarcadores en el manejo de la NAC sigue sin estar claro, e incluso con la información de estos parámetros, debemos tener en cuenta que ninguno de ellos es, por sí solo, lo suficientemente sensible o específico para diferenciar la neumonía bacteriana de la viral.

9. Tratamiento y prevención de las principales etiologías virales de la NAC

9.1. Tratamientos antivirales

El tratamiento de la NAC viral en adultos inmunocompetentes mediante antivirales se limita a muy pocas etiologías, fundamentalmente por la inexistencia de tratamientos antivirales eficaces aprobados por las autoridades sanitarias para la mayoría de estos patógenos, centrándose en las de mayor virulencia y complicaciones relacionadas. La mayoría de los fármacos antivirales aprobados para tratar las infecciones por virus respiratorios son inhibidores específicos de los VI [115, 116]. Esta limitación del arsenal terapéutico, la amplia capacidad de transmisión entre individuos y la aparición de nuevos patógenos, como el SARS-CoV-2, ha dado lugar en los últimos años al aumento de los esfuerzos de cribado para identificar nuevos antivirales para los virus respiratorios, a menudo dirigidos a nuevas dianas, combinaciones diseñadas para aumentar la potencia y reducir la aparición de resistencias, anticuerpos terapéuticos y agentes inmunomoduladores seleccionados para mitigar la respuesta inmunológica lesional del huésped [116].

Los tratamientos destinados a los VI son los más ampliamente estudiados y los más utilizados en la clínica. Hay dos clases principales de antivirales disponibles frente a este

INTRODUCCIÓN

virus: los inhibidores de la proteína M2 y los inhibidores de la neuraminidasa. Los inhibidores de la proteína M2, como la amantadina y la rimantadina, son aminas tricíclicas simétricas que bloquean el canal iónico M2 impidiendo que los iones de hidrógeno fluyan hacia el interior de la partícula vírica y evitando así la acidificación del medio y la subsiguiente liberación de los segmentos de ARN en la célula infectada [116]. Sus principales limitaciones son que sólo son eficaces frente al VI A y que la resistencia a ellos surge rápidamente [117].

Los VI A y B poseen una glicoproteína de superficie con actividad neuraminidasa que escinde los residuos terminales de ácido siálico de varios glucoconjugados y destruye los receptores reconocidos por la hemaglutinina viral. Esta actividad es esencial para la liberación del virus de las células infectadas y para la propagación viral dentro del tracto respiratorio [118]. El oseltamivir, el laninamivir, el peramivir y el zanamivir son análogos del ácido siálico que inhiben de forma potente y específica las neuraminidasas de los VI A y B al interactuar de forma competitiva y reversible con el sitio enzimático activo [119]. El oseltamivir y el zanamivir están disponibles en todo el mundo, mientras que laninamivir y peramivir están aprobados únicamente en Japón el primero, y en China, Japón, Corea del Sur y Estados Unidos el segundo [116]. En base al espectro de uso de estos inhibidores de la neuraminidasa, es probable que surja una resistencia al oseltamivir, mientras que todavía no ha reportado ninguna resistencia bajo el tratamiento estándar con zanamivir en pacientes inmunocompetentes. Además, la resistencia a cualquiera de los dos inhibidores también podría conferir una menor sensibilidad al peramivir. Por lo tanto, la diversificación de las reservas de antivirales sería una estrategia importante para minimizar el impacto de la resistencia al oseltamivir [117].

La ribavirina es otro fármaco utilizado frente a los virus respiratorios. Es un análogo de la guanosina con una amplia actividad antiviral, que incluye el VRS y los VPI. Este fármaco es rápidamente fosforilado por las enzimas intracelulares y el trifosfato inhibe la actividad de la ARN polimerasa del virus y el recubrimiento 5' dependiente del trifosfato de guanosina del ARN mensajero del virus. La ribavirina está disponible en 3 formulaciones: oral, intravenosa (en investigación en Estados Unidos) y en aerosol, siendo ésta última la indicada actualmente para el tratamiento de la infección grave por el VRS en niños [115, 116].

INTRODUCCIÓN

Para el SARS-CoV-2, se ha comprobado que el remdesivir, un análogo de nucleósido de amplio espectro, acelera la mejoría clínica en pacientes hospitalizados con COVID-19 que no requieren oxigenoterapia de alto flujo ni ventilación mecánica, si se administra en una fase temprana del curso de la infección [120]. Sin embargo, su uso se ha visto limitado por el requisito de la administración intravenosa en un centro sanitario [121]. Adicionalmente, el 28 de enero de 2022, la Agencia Europea del Medicamento (EMA) concedió la autorización condicional de comercialización para el medicamento antiviral oral nirmatrelvir/ritonavir (EMA/H/C/005973) para adultos y niños con COVID-19 leve y moderado con mayor riesgo de progresión a COVID-19 grave.

Por último, cabe destacar que actualmente no hay agentes antivirales aprobados para la prevención o el tratamiento de la infección por RVH, pese a ser el principal agente etiológico encontrado en los pacientes con NAC viral. Los ensayos clínicos de los fármacos antivirales frente a este virus, como el plecoranil, se han visto limitados por la toxicidad de los fármacos, las interacciones entre ellos y la falta de eficacia cuando se aplican en el entorno natural [24, 122, 123]. Por ello, el tratamiento de la infección por el RVH sigue siendo principalmente de apoyo, incluyendo productos de venta libre en farmacia destinados a aliviar los síntomas [24].

9.2. Vacunas

Del mismo modo que ocurre con los tratamientos farmacológicos, las vacunas destinadas a los virus respiratorios se limitan a muy pocas etiologías, centrándose en aquellas con mayor tasa de mortalidad. En la actualidad, las vacunas frente a virus respiratorios de uso en la población general se limitan a los VI y al SARS-CoV-2.

Cada año, en febrero y septiembre, la OMS publica sus recomendaciones sobre la composición vírica de la vacuna contra la gripe estacional para los hemisferios norte y sur, respectivamente. Las recomendaciones se basan en la vigilancia mundial y en los datos clínicos sobre las cepas de virus circulantes y se publican entre 6 y 8 meses antes del inicio de la temporada de gripe en cada hemisferio para permitir la fabricación y distribución de las vacunas [124]. Las vacunas antigripales trivalentes tradicionales incluyen dos cepas inactivadas del VI A (H1N1 y H3N2) y una cepa del VI B, pero esta ha sido actualizada recientemente con la vacuna antigripal tetravalente compuesta por H1N1, H3N2 y ambos linajes de la gripe B que ofrece una cobertura más completa [125].

INTRODUCCIÓN

Actualmente, las opciones de vacunas disponibles en el mercado incluyen la vacuna antigripal inactivada producida en huevos o células, una vacuna antigripal viva atenuada y una vacuna recombinante de hemaglutinina producida en células de insecto [126].

La introducción de las vacunas frente al SARS-CoV-2 a finales de 2020 ha supuesto un cambio radical en el impacto clínico de la COVID-19, reduciendo el número de hospitalizaciones y muertes [127]. La EMA ha aprobado las vacunas Comirnaty (EMA/H/C/005735) de Pfizer-BioNTech, Nuvaxovid (EMA/H/C/005808) de Novavax, Spikevax (EMA/H/C/005791) de Moderna, Vaxzevria (EMA/H/C/005675) de AstraZeneca y COVID-19 Janssen (EMA/H/C/005737) de Janssen. Múltiples estudios han demostrado la disminución de la inmunidad adquirida después de la vacunación, especialmente en pacientes inmunocomprometidos, debido a lo cual, varios países han tomado la decisión de administrar dosis adicionales de vacunas contra la COVID-19 que han demostrado ser seguras y eficaces para potenciar la respuesta inmunitaria [128-130]. No obstante, el riesgo de aparición de variantes resistentes a la vacuna y la disminución de la inmunidad pone de relieve la necesidad imperiosa de desarrollar nuevos fármacos y modalidades terapéuticas para el COVID-19 [127].

La mayoría de las enfermedades causadas por el AdvH se asocian con síntomas respiratorios leves o moderados, siendo mayor su morbilidad en niños, en receptores de trasplante y en otros pacientes inmunodeprimidos [131]. Sin embargo, la búsqueda de vacunas frente a estos virus fue impulsada por su morbilidad entre los militares en formación de Estados Unidos, logrando que en marzo de 2011 la Administración de Fármacos y Alimentos de los Estados Unidos (*U.S. Food and Drug Administration*; FDA) aprobara la primera vacuna oral (BL 125296) frente a dos de sus tipos [132], la cual ha demostrado inducir una inmunidad a largo plazo [133]. Aun así, estas vacunas sólo están indicadas para el personal militar de entre 17 y 50 años de edad [134].

Al igual que ocurre con los tratamientos farmacológicos, los esfuerzos para el desarrollo de vacunas frente al RVH se ven obstaculizados por la existencia de más de 100 serotipos, con una gran variabilidad de secuencias en los sitios antigénicos. Dada la frecuencia de las infecciones por el RVH y nuestro creciente conocimiento de su espectro clínico, el control eficaz de este virus mediante el tratamiento y la prevención tendría importantes repercusiones en la salud pública [24].

FUNDAMENTOS

FUNDAMENTOS

El avance y desarrollo de las técnicas moleculares diagnósticas para la detección de los virus respiratorios han modificado el espectro etiológico de la NAC. Aunque son muchos los estudios que han demostrado la relevancia de la etiología viral, aún son insuficientes las herramientas pronósticas de las que se dispone para el correcto manejo de los pacientes con esta afección. A ello se suma la necesidad de conocer y estandarizar el uso de muestras de alta especificidad que sean fáciles de obtener y de bajo coste, para el correcto diagnóstico etiológico.

Para abordar estos aspectos, resulta esencial el conocimiento de las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes con NAC, así como el conocimiento de las características microbiológicas, en términos de diversidad y presencia en diferentes muestras de los microorganismos implicados.

Diferentes patógenos se han identificado como agentes causales de la NAC, siendo bacterias y virus los principales en pacientes inmunocompetentes. Dado que existen diferencias en términos de epidemiología y manifestaciones clínicas entre estos microorganismos, es probable que también existan diferencias en cuanto a los índices pronósticos y los biomarcadores relacionados con la severidad y la mortalidad de los pacientes con NAC por una u otra etiología o por la presencia de ambas en un mismo episodio.

Por otro lado, la aparición y expansión del SARS-CoV-2, asociado con una elevada mortalidad, ha dificultado el diagnóstico etiológico de los pacientes con NAC viral en base a criterios exclusivamente clínicos y ha evidenciado la necesidad de implementación de técnicas moleculares destinadas a su diagnóstico etiológico. Además, la elevada mortalidad de la COVID-19, sugiere la mayor virulencia del virus a la mayor capacidad de diseminación en el organismo, entre los factores virológicos, sin disminuir la importancia que pueda tener la respuesta inflamatoria, máxime en el contexto de ausencia de tratamientos antivirales efectivos en los dos primeros años desde el inicio de la pandemia actual. Ello sugiere que la ARNemia por este virus puede ser una de las causas de la mayor mortalidad de los pacientes con COVID-19.

Conocer la diversidad etiológica de la NAC, ajustar los índices pronósticos de gravedad en base a ella y establecer la toma de muestras de fácil extracción como el frotis nasofaríngeo como muestras de diagnóstico estándar sería fundamental para optimizar el manejo y el abordaje terapéutico de estos pacientes.

HIPÓTESIS

HIPÓTESIS

Las hipótesis planteadas en esta Tesis Doctoral son las siguientes:

En lo referente a la diversidad etiológica, a la carga viral en muestras respiratorias y a la presencia de viremia en la NAC en adultos, las hipótesis establecidas son las siguientes:

1. Los diferentes agentes etiológicos de la NAC viral en la época prepandémica presentan frecuencia similar.
2. La carga viral en el tracto respiratorio superior de los virus causantes de la NAC en adultos es semejante, independientemente de los agentes causales.
3. Los pacientes con NAC de etiología viral presentan viremia independientemente del agente causal.
4. La presencia de viremia se asocia con un desenlace desfavorable en pacientes adultos con NAC viral.
5. La presencia de viremia se asocia con una mayor carga viral en frotis nasofaríngeos.
6. Los marcadores inflamatorios permiten discriminar entre grupos etiológicos de la NAC en adultos.

En lo referente a la sensibilidad y especificidad de las diferentes muestras en el estudio etiológico de la NAC en pacientes adultos, en el periodo prepandémico de la COVID-19, las hipótesis establecidas son las siguientes:

1. La detección de virus en muestras del tracto respiratorio superior en pacientes adultos con NAC es igual de sensible que la detección en esputo como método de diagnóstico etiológico.
2. La detección de virus en muestras del tracto respiratorio superior en pacientes adultos con NAC carece de especificidad como método de diagnóstico etiológico.
3. La detección en esputo de los virus respiratorios causantes de NAC permitirá determinar la especificidad de la detección viral en frotis nasofaríngeo.

HIPÓTESIS

En lo referente al valor de los índices de gravedad para la NAC de diferentes etiologías en pacientes hospitalizados, las hipótesis establecidas son las siguientes:

1. Los pacientes con una NAC de etiología conocida presentan índices pronósticos (CURB-65 y PSI) mayores, teniendo un peor desenlace clínico y mayor mortalidad.
2. Los índices pronósticos CURB-65 y PSI permiten clasificar adecuadamente a los pacientes con NAC, independientemente de la etiología de la misma.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

Objetivos referentes a la diversidad etiológica, la carga viral en muestras respiratorias y la presencia de viremia en la NAC en adultos.

1. Identificar los diferentes agentes virales presentes en las vías respiratorias de pacientes adultos con NAC en muestras nasofaríngeas y de esputo.
2. Conocer la frecuencia de la viremia en los pacientes con NAC y su relación con determinadas características clínicas.
3. Determinar la asociación de las enfermedades crónicas subyacentes con la presencia de viremia.
4. Evaluar la asociación de la viremia con el desenlace clínico en los pacientes adultos con NAC viral.
5. Analizar la asociación de la viremia con la carga viral en el tracto respiratorio superior e inferior.
6. Analizar la asociación de los hallazgos de laboratorio con las diferentes etiologías de la NAC en adultos.

Objetivos referentes a la sensibilidad y especificidad de las diferentes muestras en el estudio etiológico de la NAC en pacientes adultos, en el periodo prepandémico de la COVID-19.

1. Determinar la sensibilidad diagnóstica del estudio de las muestras del tracto respiratorio superior e inferior en pacientes adultos con NAC viral.
2. Determinar la especificidad diagnóstica del estudio de las muestras del tracto respiratorio superior en la NAC viral, en relación con las muestras del tracto respiratorio inferior.
3. Determinar la especificidad diagnóstica del estudio de las muestras del tracto respiratorio superior en la NAC viral, en relación con la presencia de viremia.

OBJETIVOS

Objetivos referentes al valor de los índices de gravedad para la NAC de diferentes etiologías en pacientes adultos hospitalizados.

1. Determinar las características clínicas y pronósticas de los pacientes con diagnóstico etiológico de NAC vs. los pacientes sin diagnóstico etiológico.
2. Determinar las características clínicas y pronósticas de los pacientes con etiología bacteriana, con etiología viral o con etiología mixta.
3. Estudiar el valor predictivo de la gravedad de los índices pronósticos CURB-65 y PSI para la NAC en los pacientes con diagnóstico etiológico de NAC vs. los pacientes sin diagnóstico etiológico.
4. Estudiar el valor clasificatorio de los índices pronósticos CURB-65 y PSI para la NAC en los pacientes con etiología bacteriana, con etiología viral o con etiología mixta.

MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Diseño y ámbito del estudio

Se diseñaron dos estudios de cohortes, prepandémica y pandémica, prospectivos, de casos consecutivos de pacientes adultos con NAC que requirieron ingreso hospitalario, con el fin de llevar a la cabo la inclusión de pacientes en la época prepandémica y en la época pandémica de la COVID-19.

La inclusión fue unicéntrica desde enero de 2018 hasta marzo de 2020 para la época prepandémica y multicéntrica desde el 23 de marzo hasta el 12 de junio de 2020 para la época pandémica, siendo en ambos casos el centro coordinador el Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla.

Para llevar a cabo estos estudios, se contó con un equipo multidisciplinar en el que participaban los Servicios de Enfermedades Infecciosas, Microbiología, Neumología, Medicina Interna y Cuidados Intensivos, además de investigadores de los Servicios de Hematología, Enfermedades Infecciosas y Microbiología.

2. Sujetos de estudio. Criterios de inclusión y exclusión

Los pacientes con diagnóstico de NAC incluidos se identificaron, diariamente, a través del análisis de los nuevos ingresos realizados y debían (1) haber sido admitidos en áreas de hospitalización convencional o en UCI, (2) ser mayores de edad (≥ 18 años), (3) haber firmado el consentimiento informado para la toma de muestras (Anexo 1 y 2) y (4) presentar síntomas respiratorios (tos, expectoración y/o disnea) y/o fiebre junto con un nuevo infiltrado radiológico para el cual no existe otra causa conocida, según las Guías para el Diagnóstico y Tratamiento de las Enfermedades Infecciosas del Programa Institucional para la Optimización del Uso de Antimicrobianos (PRIOAM) de Hospital Universitario Virgen del Rocío (<https://www.guiaprioam.com/>). Además, los pacientes con NAC por SARS-CoV-2 debían presentar una PCR que confirmara su diagnóstico.

De este estudio fueron excluidos aquellos pacientes que (1) no dieron su consentimiento informado por escrito para participar en el estudio, (2) presentaban enfermedades pulmonares crónicas que condicionan la etiología, tales como bronquiectasias, fibrosis quística y cáncer de pulmón o (3) tenían neumonías con criterios de ser causadas por aspiración [135].

MATERIAL Y MÉTODOS

3. Definiciones

Debido al hecho de que en esta tesis se han utilizado diferentes técnicas para el diagnóstico etiológico de la NAC, resulta necesario definir el criterio utilizado para clasificar a cada paciente según su etiología. En todos los casos, las muestras diagnósticas se tomaron en las primeras 24 horas tras el ingreso hospitalario.

Una muestra de esputo fue considerada representativa para la etiología bacteriana cuando se realizó el recuento de menos de 10 células epiteliales/campo y más de 25 neutrófilos/campo, mediante microscopía con un objetivo de aumento 10x, y para la etiología viral fue suficiente con que tuviera lugar un recuento menor de 10 células epiteliales/campo.

La etiología mixta, definida por la detección positiva viral y bacteriana, se consideró cuando se identificó un virus causante de la NAC en una muestra de sangre, exudado nasofaríngeo o esputo representativo y una bacteria causante de NAC en una de las siguientes muestras: sangre, cultivo de esputo, líquido pleural, muestras respiratorias invasivas si estuviesen clínicamente indicadas (aspirado bronquial: $\geq 10^6$ ufc/ml; lavado bronco-alveolar: $\geq 10^3$ ufc/ml; cepillo telescópico ocluido: $\geq 10^4$ ufc/ml), o si se detectó antigenuria de *Streptococcus pneumoniae* o *Legionella pneumophila*.

La coinfección virus-virus se consideró si se detectaron diferentes virus en las muestras analizadas.

Respecto al tratamiento antimicrobiano apropiado, se consideró un tratamiento antibacteriano apropiado cuando el paciente recibió al menos un fármaco activo frente al agente productor de la neumonía [135]. En el caso de neumonía gripal, el tratamiento antiviral apropiado se consideró si fue administrado en las primeras 48 horas desde el inicio de los síntomas de gripe [136].

4. Monitorización y seguimiento de los pacientes

En el momento de la admisión, a todos los pacientes se les solicitó la firma del consentimiento informado y se les tomaron muestras de sangre en tubos EDTA de 4 ml, frotis nasofaríngeo utilizando torundas de nailon húmedas con medio de transporte para virus y esputo en un vaso colector durante las primeras 24 horas de su ingreso. Estos

MATERIAL Y MÉTODOS

pacientes fueron atendidos según el criterio de los médicos a cargo de los mismos, con la práctica clínica estándar aceptada que incluye:

- i) Exploración física sistemática que incluye: frecuencia respiratoria, frecuencia cardiaca, presión arterial, SpO₂ (pulsioximetría), índice de masa corporal y evaluación del nivel de conciencia (somnolencia, estupor o coma).
- ii) Radiografía de tórax póstero-anterior y lateral.
- iii) Hemograma, sodio y potasio, creatininemia, glucemia, GOT, GPT, bilirrubinemia, proteína C reactiva (PCR).
- iv) Estudios microbiológicos previos al inicio del tratamiento antimicrobiano: a) esputo, asegurando su purulencia y representatividad, con tinción de Gram y cultivo estándares; b) hemocultivos; c) antigenuria de *S. pneumoniae*; d) antigenuria de *L. pneumophila* serogrupo 1, en casos graves, inmunodeficiencias o sospecha de brote epidémico.
- v) Si derrame pleural significativo: toracentesis diagnóstica con determinaciones de lactato deshidrogenasa (LDH), pH, tinción de Gram y cultivo de aerobios y anaerobios.
- vi) Otros estudios microbiológicos en esputo o radiológicos, como tomografía computarizada (TC), se realizaron si hubo indicación clínica a juicio de los facultativos a cargo del paciente.

Tras su inclusión en la cohorte, los pacientes fueron seguidos hasta los 30 días, o el alta de hospitalización o el fallecimiento, según lo que ocurriese antes, para conocer el tiempo hasta la estabilización de los síntomas, la estancia hospitalaria total y en UCI, en su caso, y la supervivencia/fallecimiento.

5. Recogida de datos clínicos

Al ingreso de los pacientes, se recogieron datos demográficos y de comorbilidades, los síntomas y signos, así como la gravedad de la neumonía al ingreso (mediante los índices CURB-65 [84] y PSI [82]), los datos de laboratorio y la antibioterapia en los 14 días previos. Igualmente, se recogieron los resultados de los estudios microbiológicos estándares. También se recogió el desenlace clínico de los pacientes tras 30 días desde su ingreso. Para ello, se utilizaron cuadernos protocolizados de recogida de datos (Anexos 3 y 4).

MATERIAL Y MÉTODOS

6. Determinación de la etiología de los pacientes con NAC

6.1. Etiología bacteriana

La determinación de la etiología bacteriana se llevó a cabo mediante los estudios estándares en la práctica clínica, realizados en el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Virgen del Rocío, y fue complementada con los datos obtenidos en los estudios específicos de los proyectos, realizados en los laboratorios del grupo de investigación en el Instituto de Biomedicina de Sevilla.

Para ello, se realizaron hemocultivos, tinción Gram y cultivo de esputos representativos y antigenuria de *S. pneumoniae*, incluyendo antigenuria de *L. pneumophila* serogrupo 1 (Binax Inc., Portland, ME, Estados Unidos) en casos de neumonía grave, en pacientes con inmunodeficiencias o ante la sospecha de brote epidémico.

Complementariamente, se realizó la extracción del ADN bacteriano utilizando el kit EZ1 Virus Mini Kit v2.0 (Qiagen, Madrid, España) y la identificación de *Bordetella parapertussis*, *Bordetella pertussis*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *H. influenzae*, *L. pneumophila*, *M. pneumoniae* y *S. pneumoniae* mediante PCR múltiple (Panel respiratorio 4, Allplex, Seegene, Seúl, Corea del Sur) en muestras de sangre, frotis nasofaríngeo y esputo representativo.

6.2. Etiología viral

La determinación de la etiología viral se llevó a cabo mediante RT-PCR múltiple, previa purificación de ácidos nucleicos de las muestras de sangre, exudado nasofaríngeo y esputo representativo mediante el kit EZ1 Virus Mini Kit v2.0 (Qiagen, Madrid, España).

La PCR múltiple utilizada (Paneles respiratorios 1, 2 y 3, Allplex, Seegene, Seúl, Corea del Sur) es capaz de detectar los siguientes virus respiratorios: influenza A, influenza A-H1, influenza A-(H1N1)pdm09, influenza A-H3, influenza B, coronavirus NL63, 229E, OC43 y HKU1, parainfluenza 1, 2, 3 and 4, metapneumovirus humano A y B, rinovirus A, B y C, virus respiratorio sincitial A y B, adenovirus, enterovirus y bocavirus 1, 2, 3 y 4.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la detección del SARS-CoV-2, se realizó una RT-PCR específica capaz de detectar dos genes del genoma de este virus con el kit Triplex RT-qPCR (2019-NoCoV) (Absource Diagnostics GmbH, Alemania).

7. Determinación de la carga viral

La carga viral de todos los virus identificados en los pacientes con NAC, en plasma y en las muestras de frotis nasofaríngeo y de esputo, se cuantificó generando curvas estándares de PCR a partir de material genético de concentración conocida para cada agente viral utilizando el kit Amplirun®DNA/RNA (Vircell, Granada, Spain) para todos los virus excepto para el SARS-CoV-2, para el cual se utilizó el kit de ARN sintético: ORF, E y N (ATCC, VA, Estados Unidos).

A modo de resumen, del material genético de concentración conocida, se realizaron diluciones seriadas que se incluyeron en la PCR para obtener su valor de Cq. A partir del valor de Cq obtenido y la concentración conocida de cada dilución, se generaron las curvas estándar que sirvieron de base para interpolar los resultados de Cq obtenidos para cada virus en las diferentes muestras positivas (Figura 9).

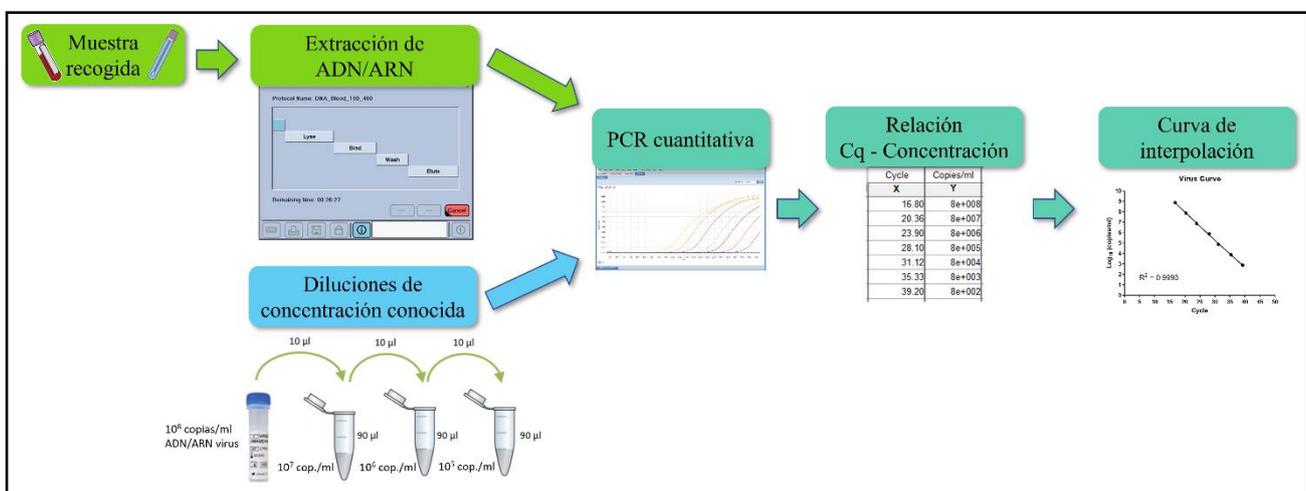


Figura 9. Protocolo de detección y cuantificación viral a partir de muestras de genoma de concentración conocida.

8. Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de todos los datos recogidos, calculando las variables discretas como número de pacientes y porcentaje, y las variables continuas como medianas y rango intercuartílico (IQR).

MATERIAL Y MÉTODOS

Los pacientes con NAC en época prepandémica fueron clasificados en dos grupos basados en la presencia o ausencia de etiología. Las variables categóricas fueron comparadas entre grupos usando la prueba de Chi-cuadrado o el test exacto de Fisher y las variables continuas fueron comparadas usando el test de la t de Student, el test de Welch o el test U de Mann-Whitney según correspondiera, tras el análisis de la normalidad, usando el test de Kolmogorov-Smirnov, y de la homocedasticidad, usando el test de Levene.

Posteriormente, aquellos pacientes de la cohorte prepandémica que presentaban etiología definida fueron reagrupados en cuatro grupos según su etiología: etiología bacteriana, viral, mixta o sin etiología. La comparación de grupos múltiples se llevó a cabo mediante los test de la Chi-cuadrado o test exacto de Fisher para las variables categóricas y, cuando se encontraron diferencias significativas, se llevaron a cabo análisis *post-hoc* para obtener el valor de *odds ratio* y los intervalos de confianza del 95%. Para las variables continuas, la comparación de los grupos se realizó con los test de ANOVA o Kruskal-Wallis y se llevaron a cabo contrastes *post-hoc* con la corrección de Bonferroni o HSD Tukey cuando se encontraron diferencias significativas entre grupos.

El análisis de correlación de la carga viral en sangre y en exudado nasofaríngeo se realizó mediante el cálculo del coeficiente de correlación utilizando el test de Spearman.

El estudio de los pacientes con NAC en la época pandémica fue llevado a cabo con los mismos tests estadísticos utilizados para los pacientes de la época prepandémica, agrupando los pacientes en dos grupos, dependiendo de que se detectase o no ARN del SARS-CoV-2 en plasma.

Todos los análisis se realizaron utilizando el software IBM SPSS Statistics versión 26.0 (SPSS, Chicago, IL, Estados Unidos) y los resultados se consideraron estadísticamente significativos cuando la probabilidad de error alfa (valor p) de dos colas fue menor de 0,05.

Para evaluar la sensibilidad y especificidad del exudado nasofaríngeo para la identificación de la etiología viral en los pacientes con NAC en la época prepandémica, se compararon los resultados obtenidos en las muestras de los pacientes en los cuales se disponía simultáneamente de resultados de muestras nasofaríngeas y de esputo representativo. Tomando la muestra de esputo como el estándar de referencia, el exudado nasofaríngeo se consideró verdadero positivo (VP) y verdadero negativo (VN) cuando

MATERIAL Y MÉTODOS

sus resultados coincidían con los obtenidos en la muestra de esputo. Además, cuando los resultados obtenidos en ambas muestras fueron los mismos, se consideraron resultados concordantes. En cambio, un resultado discordante indicó que los resultados en estas muestras eran diferentes. Con estos datos, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) se calcularon de la siguiente forma: $VPP = VP/(VP+FP)$ y $VPN = VN/(FN+VN)$, donde FP es falso positivo y FN es falso negativo.

La búsqueda de potenciales biomarcadores predictivos del tipo de etiología en los pacientes con NAC, se realizó utilizando árboles de regresión y clasificación (CART) con el software Minitab 20.3 (Salford Systems, San Diego, CA, Estados Unidos) y los biomarcadores seleccionados con su punto de corte fueron analizados mediante un análisis de regresión logística para calcular su capacidad predictiva para cada etiología con una curva ROC con el software IBM SPSS Statistics versión 26.0 (SPSS, Chicago, IL, Estados Unidos).

9. Consideraciones éticas

Antes de su comienzo, el estudio en pacientes adultos con NAC en época prepandémica y el estudio en pacientes adultos con NAC en época pandémica fueron aprobados por el Comité de Ética para la Investigación de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío, Sevilla, España (C.I. 1549-N-17 y C.I. 0771-N-20, respectivamente).

RESULTADOS

RESULTADOS

Características de los pacientes incluidos en las cohortes prepandémica y pandémica

Cuatrocientos trece pacientes fueron incluidos desde enero de 2018 hasta junio de 2020. Trescientos cuarenta y uno fueron incluidos en la época prepandémica (enero 2018-marzo 2020) y setenta y dos fueron incluidos en la época pandémica (enero 2020-junio 2020) con diagnóstico viral confirmado para SARS-CoV-2 (Figura 10).

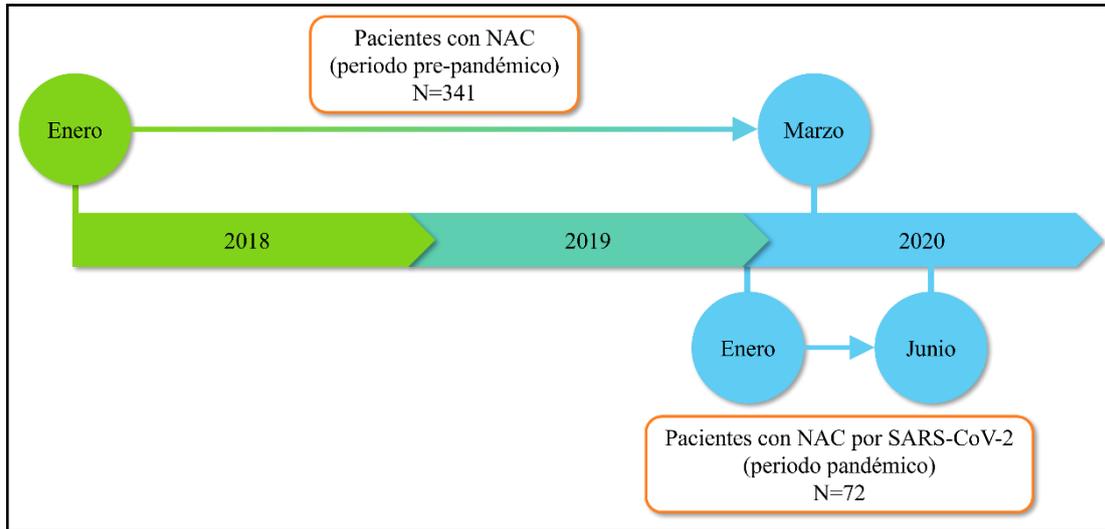


Figura 10. Diagrama temporal de inclusión de pacientes en las dos cohortes de estudio.

De los 341 pacientes incluidos en la **cohorte prepandémica**, el 58,4% fueron hombres, y presentaron una mediana de edad media de 71 años, siendo el 41,3% de ellos mayores de 75 años. Doscientos treinta y dos (68,0%) pacientes tenían alguna enfermedad crónica, siendo las más comunes la diabetes *mellitus* (29,6%), la cardiopatía crónica (29,0%), y la enfermedad pulmonar crónica (27,0%). El 72,1% presentó un índice de comorbilidad de Charlson igual o superior a 3 (Tabla 1).

Entre los síntomas respiratorios más frecuentes en la admisión hospitalaria destacaron la tos (71,6%), la disnea (57,5%) y el dolor pleurítico (24,3%). Además, el 44,0% de los pacientes presentó fiebre, entendiendo ésta como una temperatura corporal superior a los 37,5°C, y el 48,4% presentó desaturación (saturación basal O₂ <95%) (Tabla 1).

Previamente a su admisión, 108 (31,7%) pacientes habían recibido un tratamiento antibiótico y, en el momento de la admisión, 322 (94,4%) pacientes recibieron un tratamiento antibiótico empírico y 58 (17,0%) pacientes un tratamiento antiviral empírico (Tabla 1). Finalmente, el tratamiento antimicrobiano se consideró apropiado en 117

RESULTADOS

(67,2%) pacientes, 110 (79,7%) con etiología bacteriana y 7 (46,7%) con etiología viral por VI.

Los datos de laboratorio mostraron como valores característicos de esta cohorte la neutrofilia (neutrófilos $>7,5 \times 10^9/L$) en el 70,4% de los pacientes, la linfopenia (linfocitos $<1,0 \times 10^9/L$) en el 43,4% de los pacientes, y los niveles de PCR elevados (≥ 100 mg/L) en el 58,4% de los casos.

Tabla 1. Datos demográficos, comorbilidades, síntomas y signos, datos de laboratorio y tratamiento antimicrobiano de la cohorte de NAC pre pandémica (N=341).

VARIABLES	Mediana [IQR] / N (%)
Datos demográficos	
Edad (años)	71 [57 – 81]
Edad (>75 años)	141 (41,3)
Hombre	187 (54,8)
Condiciones subyacentes	
Fumador ^a	97 (28,4)
Enfermedades crónicas	
Índice de comorbilidad de Charlson ≥ 3	246 (72,1)
Diabetes	101 (29,6)
Cardiopatía crónica	99 (29,0)
Enfermedad pulmonar crónica	92 (27,0)
Enfermedad renal crónica	35 (10,3)
Neoplasia	34 (10,0)
Enfermedad hepática crónica	18 (5,3)
Receptor de trasplante de órgano sólido	15 (4,4)
Antimicrobianos previos	
Antibióticos	108 (31,7)
Síntomas en la admisión hospitalaria	
Tos	244 (71,6)
Disnea	196 (57,5)
Dolor pleurítico	83 (24,3)
Artromialgias	34 (10,0)
Alteración de la consciencia	33 (9,7)
Shock al ingreso	14 (4,1)

RESULTADOS

Signos en la admisión hospitalaria	
Temperatura (°C)	37,5 [36,3 – 38,5]
Fiebre (temperatura \geq 37,5 °C)	150 (44,0)
SpO ₂	95 [92 – 97]
SpO ₂ < 95%	165 (48,4)
Datos de laboratorio	
Leucocitos (x10 ⁹ /L)	12,9 [9,0 – 19,0]
Leucopenia (<4,0 x 10 ⁹ /L)	17 (5,0)
Neutrófilos (x10 ⁹ /L)	10,8 [7,1 – 15,7]
Neutrofilia (>7,5 x 10 ⁹ /L)	240 (70,4)
Linfocitos (x10 ⁹ /L)	1,1 [0,7 – 1,6]
Linfopenia (<1,0 x 10 ⁹ /L)	148 (43,4)
Plaquetas (x10 ⁹ /L)	236 [176 – 321]
Trombocitopenia (<130 x 10 ⁹ /L)	34 (10,0)
Creatinina (mg/dl)	1,01 [0,77 – 1,50]
Creatininemia (>1,3 mg/dl)	105 (30,8)
PCR (mg/L)	155,8 [71,7 – 277,5]
PCR (\geq 100 mg/L)	187 (54,8)
Tratamientos antimicrobianos para el episodio de NAC	
Tratamiento empírico antiviral	58 (17,0)
Tratamiento empírico antibiótico	322 (94,4)
Tratamiento antimicrobiano apropiado	117 (67,2)
Etiología bacteriana ^b	110 (79,7)
Etiología viral ^c	7 (46,7)

SpO₂: Saturación basal de oxígeno. PCR: Proteína C reactiva. ^a Se consideró fumador a aquel paciente que tenía este hábito en el momento de la admisión o lo había tenido en los últimos 5 años. ^b En los 138 pacientes con etiología bacteriana. ^c En los 15 pacientes con etiología viral por VI.

De los 72 pacientes incluidos en **la cohorte pandémica**, el 56,9% fueron hombres, y presentaron una mediana de edad de 61 años, siendo el 25% de ellos mayores de 75 años. Cuarenta y ocho (66,7%) pacientes tenían alguna enfermedad crónica, siendo las más comunes la diabetes *mellitus* (26,4%), la cardiopatía crónica (15,3%), la enfermedad renal crónica (12,5%) y la enfermedad pulmonar crónica (11,1%). El 56,9% presentó un índice de comorbilidad de Charlson igual o superior a 3 (Tabla 3).

Entre los síntomas respiratorios más frecuentes al ingreso hospitalario destacaron la tos (62,5%) y la disnea (22,2%). El 29,2% de los pacientes presentó fiebre y el 31,9% presentó una saturación basal de O₂ inferior al 95% (Tabla 3).

RESULTADOS

En el momento de la admisión, sólo 18 (25%) pacientes recibieron tratamiento antibiótico empírico y 64 (88,9%) pacientes recibieron un tratamiento antiviral empírico (Tabla 2).

Tabla 2. Datos demográficos, comorbilidades, síntomas y signos, datos de laboratorio y tratamiento antimicrobiano de la cohorte con NAC pandémica (N=72).

VARIABLES	Mediana [IQR] / N (%)
Datos demográficos	
Edad (años)	61 [53 – 76]
Edad (>75 años)	18 (25,0)
Hombre	41 (56,9)
Condiciones subyacentes	
Fumador ^a	8 (11,1)
Enfermedades crónicas	
Índice de comorbilidad de Charlson ≥ 3	41 (56,9)
Diabetes	19 (26,4)
Cardiopatía crónica	11 (15,3)
Enfermedad pulmonar crónica	8 (11,1)
Enfermedad renal crónica	9 (12,5)
Neoplasia	3 (4,2)
Enfermedad hepática crónica	3 (4,2)
Receptor de trasplante de órgano sólido	5 (6,9)
Síntomas en la admisión hospitalaria	
Tos	45 (62,5)
Disnea	16 (22,2)
Dolor pleurítico	6 (8,3)
Artromialgias	12 (16,7)
Alteración de la consciencia	3 (4,2)
Signos en la admisión hospitalaria	
Temperatura (°C)	36,7 [36,1 – 37,7]
Fiebre (temperatura $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$)	21 (29,2)
SpO ₂	96 [93 – 98]
SpO ₂ < 95%	23 (31,9)
Hallazgos de laboratorio	
Leucocitos (x10 ⁹ /L)	6,8 [4,9 – 9,0]
Leucopenia (<4,0 x 10 ⁹ /L)	9 (12,5)
Neutrófilos (x10 ⁹ /L)	4,7 [3,2 – 6,6]
Neutrofilia (>7,5 x 10 ⁹ /L)	12 (16,7)

RESULTADOS

Linfocitos ($\times 10^9/L$)	1,2 [0,9 – 1,7]
Linfopenia ($<1,0 \times 10^9/L$)	25 (34,7)
Plaquetas ($\times 10^9/L$)	218 [158 – 312]
Trombocitopenia ($<130 \times 10^9/L$)	7 (9,7)
Creatinina (mg/dl)	0,88 [0,73 – 1,43]
Creatininemia ($>1,3$ mg/dl)	17 (23,6)
PCR (mg/L)	53,3 [20,0 – 118,0]
PCR (≥ 100 mg/L)	20 (27,8)
Terapia antimicrobiana	
Terapia empírica antiviral	64 (88,9)
Terapia empírica antibiótica	18 (25,0)

SpO₂: Saturación basal de oxígeno. PCR: Proteína C reactiva. ^a Se consideró fumador a aquel paciente que tenía este hábito en el momento de la admisión, con un consumo de más de 10 paquetes al año.

Objetivos referentes a la diversidad etiológica, la carga viral en muestras respiratorias y la presencia de viremia en la NAC en adultos

En la **cohorte prepandémica**, el diagnóstico etiológico fue alcanzado en 174 (51,0%) pacientes, encontrando una etiología bacteriana en 89 (26,1%), una etiología viral en 36 (10,6%) y una etiología mixta en 49 (14,4%) (Figura 11a). Las etiologías bacterianas más frecuentes fueron *S. pneumoniae* en 105 (30,8%) pacientes, y *H. influenzae* en 30 (8,8%) pacientes (Figura 11b). Once casos (10,4%) diagnosticados con *S. pneumoniae* y un caso (3,2%) diagnosticado con *H. influenzae* presentaron una sepsis secundaria. Entre las etiologías virales, las más frecuentes fueron el RVH en 34 (10,0%) pacientes y los VI en 20 (5,9%) pacientes (Figura 11b).

Además, cabe destacar que, mientras la coinfección bacteria-bacteria tuvo lugar en 22 (6,4%) casos, sólo en 2 (0,6%) casos tuvo lugar una coinfección virus-virus. *S. pneumoniae* y *H. influenzae* fueron los agentes mayoritarios en estas coinfecciones bacterianas mientras que en los dos casos de coinfección viral se identificó el RVH junto con un CoVH endémico (229E o NL63).

Centrando la atención en las etiologías virales de la cohorte prepandémica, en 322 (94,4%) pacientes se obtuvieron muestras de sangre, y sólo cinco (1,6%) pacientes presentaron viremia (ADNemia o ARNemia), detectando VI B en dos pacientes y RVH, AdvH y CoVH 229E en los restantes (Figura 12a). Para un total de 340 (99,7%) pacientes se obtuvieron muestras de frotis nasofaríngeo y se detectaron hasta 8 virus diferentes en

RESULTADOS

71 (20,9%) de ellos, siendo los agentes virales más frecuentemente identificados RVH, en 32 (9,4%) pacientes, VI A/B en 16 (4,71%), VRS A/B en 7 (2,06%) y CoVH endémicos (NL63/OC43) en 7 (2,06%) pacientes (Figure 12b). Con respecto a las muestras de esputo, se recogieron en 136 (39,9%) pacientes, aunque sólo en 67 (19,6%) de ellos fueron finalmente consideradas como representativas, obteniendo una identificación viral en 34 (50,7%) de ellas, y observándose una diversidad viral similar a la encontrada en el exudado nasofaríngeo, siendo los agentes más frecuentes RVH y VI A/B (Figura 12c).

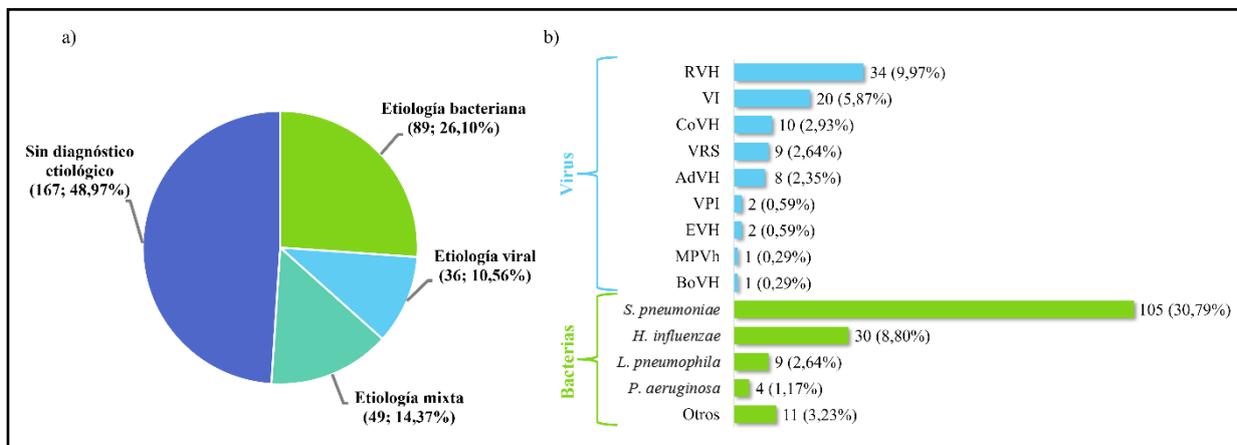


Figura 11. Frecuencia de las etiologías en la cohorte preandémica. **a)** Distribución etiológica de los pacientes tras su diagnóstico en muestras de sangre, frotis nasofaríngeo y esputo representativo. **b)** Diversidad de los microorganismos en cada etiología en las mismas muestras analizadas. RVH: Rinovirus humano; VI: Virus influenza; CoVH: Coronavirus humano; VRS: Virus respiratorio sincitial, AdvH: Adenovirus humano; VPI: Virus parainfluenza; EVH: Enterovirus humano; MPVh: Metapneumovirus humanos; BoVH: Bocavirus humano; *S. pneumoniae*: *Streptococcus pneumoniae*; *H. influenzae*: *Haemophilus influenzae*; *L. pneumophila*: *Legionella pneumophila*; *P. aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa*. Otros, incluye: *Fusobacterium necrophorum*, *F. nucleatum*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium avium*, *Prevotella* sp., *P. intermedia*, *Staphylococcus aureus*, *Stenotrophomonas* sp., *Streptococcus pyogenes*, *Parvimonas micra*.

RESULTADOS

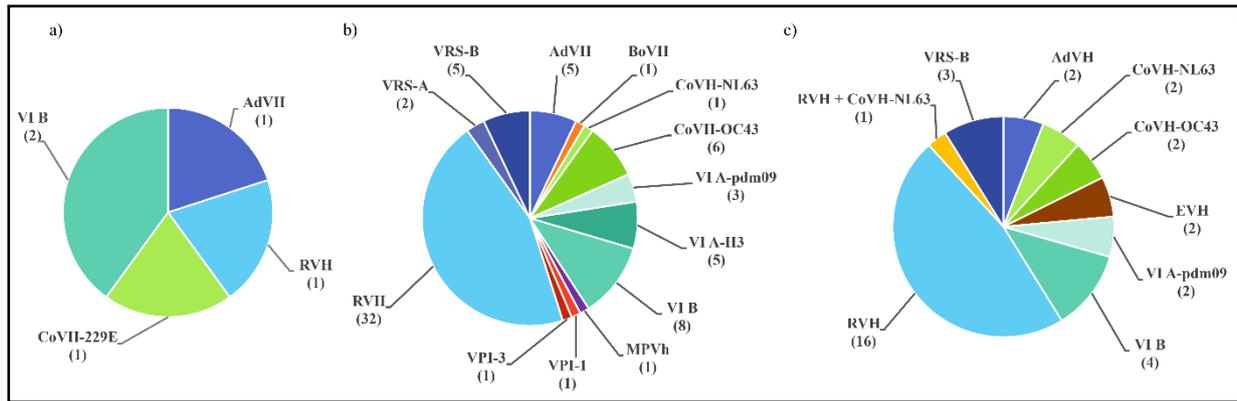


Figura 12. Diversidad viral hallada en las diferentes muestras tomadas. **a)** Diversidad en muestras de sangre (N=322, 5 positivas). **b)** Diversidad en muestras de exudado nasofaríngeo (N=340, 71 positivas). **c)** Diversidad en muestras de esputo representativo (N=67, 34 positivas). RVH: Rinovirus humano; VI: Virus influenza; CoVH: Coronavirus humano; VRS: Virus respiratorio sincitial, AdVH: Adenovirus humano; VPI: Virus parainfluenza; EVH: Enterovirus humano; MPVh: Metapneumovirus humanos; BoVH: Bocavirus humano.

En la **cohorte pandémica**, por sus propias características de reclutamiento, el diagnóstico etiológico fue siempre alcanzado, encontrando en todos los pacientes una etiología viral por SARS-CoV-2 y sólo en un caso tuvo lugar una coinfección virus-virus, identificándose MPVh y VPI-3 junto con el SARS-CoV-2 en la muestra de sangre del paciente.

Con respecto a la viremia (ADNemia o ARNemia) causada por los virus respiratorios endémicos (VRE), su frecuencia fue muy baja (1,5%) en la cohorte pre-pandémica. De los cinco pacientes que la presentaron, el paciente con ADNemia por AdVH tenía enfermedades subyacentes, en concreto, diabetes *mellitus*, cardiopatía crónica y enfermedad renal crónica, así como uno de los pacientes con ARNemia por VI B, quien presentaba una enfermedad hepática crónica. Sin embargo, en ninguno de los casos se relacionó esta viremia con una mayor mortalidad de los pacientes (Tabla 4). Cabe destacar que, de los 49 pacientes inmunodeprimidos (enfermedad de tejido conectivo, neoplasia activa o trasplante de órgano sólido), ninguno de ellos presentó ADNemia o ARNemia.

Por el contrario, la frecuencia de ARNemia encontrada para SARS-CoV-2 en la cohorte pandémica fue mayor, con un total de 11 (15,3%) pacientes. En estos pacientes, las artromialgias fueron el único síntoma más frecuentemente observado, con respecto a

RESULTADOS

los pacientes sin ARNemia. Entre las enfermedades subyacentes, la enfermedad hepática crónica (27,3% vs. 0%, $p=0,001$) y el trasplante de órgano sólido (36,4% vs. 1,6%, $p=0,001$) fueron más frecuentes en los pacientes que presentaron ARNemia. También el incremento de los dímeros D, como marcador de inflamación, la LDH y la aspartato aminotransferasa (AST), así como la disminución de linfocitos y plaquetas, se asociaron con la presencia de ARNemia por SARS-CoV-2 (Tabla 5).

Se observó, además, una peor evolución clínica en los pacientes que presentaron ARNemia por SARS-CoV-2, en concreto, estos pacientes fueron más susceptibles de desarrollar SDRA, de ingresar en UCI y de requerir ventilación mecánica invasiva (Tabla 6).

En relación a la carga viral, ésta se cuantificó en cada tipo de muestra recogida que había tenido una identificación viral. El primer resultado obtenido fue que la carga viral variaba según el agente etiológico viral detectado y el tipo de muestra en el cual se realizara la cuantificación. En el exudado nasofaríngeo, la mediana de la carga viral con valor más bajo fue encontrada para el VRS (4,40 \log_{10} copias/ml), mientras que para AdvH, CoVH-OC43 y VI A/B, las medianas se encontraron entre 4,89 and 5,25 \log_{10} copias/ml. El RVH destacó, no sólo como el agente más frecuente, tal y como se ha descrito anteriormente, sino también como el agente viral con la carga viral más alta en este tipo de muestra, con una mediana de 7,05 \log_{10} copias/ml calculada en 32 pacientes. CoVH-NL63 y CoVH-229E mostraron una carga viral en el exudado nasofaríngeo de 8,67 y 6,61 \log_{10} copias/ml, respectivamente, pero siendo detectados cada uno de ellos en un único caso (Tabla 7).

Comparando la carga viral obtenida en el exudado nasofaríngeo y en el esputo, el RVH y los VI A/B, ambos mostraron una carga viral similar en ambas muestras respiratorias. En cambio, la carga viral de AdvH, CoVH-OC43 y VRS fue entre 1 y 2 \log_{10} copias/ml mayor en esputo que en el exudado nasofaríngeo y el CoVH-NL63 mostró la carga viral más alta en la muestra de esputo representativo (7,31 \log_{10} copias/ml) (Tabla 7).

Tabla 4. Relación de la ADN/ARNemia con las enfermedades crónicas subyacentes y el desenlace clínico.

	Pacientes con ADN/ARemia	Carga viral ^a	Desenlace desfavorable ^b	Enfermedades crónicas subyacentes	Enfermedades crónicas subyacentes específicas
Virus identificado					
AdVH	1 (12,5)	4,92	0 (0)	1 (100)	Diabetes <i>mellitus</i> Cardiopatía crónica Enfermedad renal crónica
CoVH	1 (10)	4,49	0 (0)	0 (0)	
CoVH - 229E	1 (100)	4,49	0 (0)	0 (0)	---
VI	2 (13,33)	6,97 [6,81 – 7,12]	0 (0)	1 (50)	Enfermedad hepática crónica
VI B	2 (18,18)	6,97 [6,81 – 7,12]	0 (0)	1 (50)	(1 paciente)
RVH	1 (2,94)	4,75	0 (0)	0 (0)	---

Los datos representados son la N (%) de pacientes o la mediana [IQR]. AdVH: Adenovirus humano; CoVH: Coronavirus humano; VI: Virus influenza; RVH: Rinovirus humano.

^a La carga viral se representa en log₁₀ copias/ml. ^b Se consideró desenlace desfavorable si el paciente falleció o ingresó en UCI durante los 30 días de seguimiento posteriores su ingreso.

Tabla 5. Datos demográficos, de comorbilidades, síntomas y signos, y datos de laboratorio de pacientes con y sin ARNemia por SARS-CoV-2 en cohorte pandémica (N=72).

VARIABLES	Con ARNemia (N=11)	Sin ARNemia (N=61)	OR ^a	P valor ^b
Datos demográficos				
Edad (años)	66 [57 – 77]	61 [52 – 75]	[...]	0,531
Hombre	6 (54,5)	35 (57,4)	0,891 (0,245 – 3,241)	1,000
Enfermedades crónicas				
Índice de comorbilidad de Charlson ≥ 3	8 (72,7)	33 (54,1)	2,236 (0,547 – 9,354)	0,413
Alguna enfermedad crónica subyacente	8 (72,7)	40 (65,6)	1,400 (0,336 – 5,839)	0,908
Diabetes	3 (27,3)	16 (26,2)	1,055 (0,249 – 4,471)	1,000
Cardiopatía crónica	3 (27,3)	8 (13,1)	2,484 (0,543 – 11,370)	0,356
Enfermedad pulmonar crónica	2 (18,2)	6 (10,7)	1,852 (0,322-10,663)	0,609
Enfermedad renal crónica	2 (18,2)	7 (11,5)	1,714 (0,306 – 9,599)	0,901
Neoplasia	0 (0)	3 (4,9)	0,841 (0,758-0,932)	1,000
Enfermedad hepática crónica	3 (27,3)	0 (0,0)	0,116 (0,060 – 0,222)	0,001
Receptor de trasplante de órgano sólido	4 (36,4)	1 (1,6)	34,284 (3,346 – 351,308)	0,001
Síntomas en la admisión hospitalaria				
Tos	7 (63,6)	38 (62,3)	1,059 (0,279 – 4,018)	1,000
Disnea	7 (63,6)	24 (42,9)	2,233 (0,612 – 8,890)	0,206
Dolor pleurítico	1 (9,1)	5 (8,2)	1,120 (0,118 – 10,626)	1,000
Artromialgias	5 (45,5)	7 (11,5)	6,429 (1,547 – 26,709)	0,019
Alteración de la consciencia	0 (0)	3 (4,9)	0,841 (0,758-0,932)	1,000

Signos en la admisión hospitalaria				
Temperatura (°C)	36,4 [36 – 37,8]	36,6 [36,1 – 37,6]	[...]	0,982
SpO ₂ < 95%	6 (54,5)	15 (24,6)	3,680 (0,981 – 13,806)	0,099
Hallazgos de laboratorio				
Leucocitos (n° x 10 ³ /μL)	5,22 [3,47 – 7,06]	7,00 [5,24 – 9,20]	[...]	0,030
Leucocitosis >11.000 /μL	1 (9,1)	8 (13,1)	0,663 (0,074 – 5,896)	1,000
Neutrofilos (n° x 10 ³ /μL)	3,49 [2,96 – 5,90]	4,79 [3,30 – 6,88]	[...]	0,348
Neutrofilia >7.500 /μL	1 (9,1)	11 (18,0)	0,455 (0,053 – 3,929)	0,677
Linfocitos (n° x 10 ³ /μL)	0,58 [0,39 – 1,24]	1,36 [0,92 – 1,80]	[...]	0,002
Linfopenia <1000 /μL	7 (63,6)	18 (29,5)	4,181 (1,088 – 16,063)	0,065
Plaquetas (n° x 10 ³ /μL)	158 [129 – 201]	248 [175 – 325]	[...]	0,002
Trombocitopenia <130.000 /μL	3 (27,3)	4 (6,6)	5,344 (1,006 – 28,383)	0,067
AST (IU/L) (N=63)	37 [26 – 68]	26 [20 – 41]	[...]	0,074
AST >30 IU/L (N=63)	8 (72,7)	19 (36,5)	4,632 (1,095 – 19,587)	0,063
ALT (IU/L) (N=70)	33 [17 – 40]	23 [17 – 44]	[...]	0,374
ALT >40 IU/L (N=70)	2 (18,2)	16 (27,1)	0,597 (0,116 – 3,067)	0,805
Dímeros D (ng/L) (N=70)	1430 [770 – 2.620]	620 [380 – 1.140]	[...]	0,043
Dímeros D >600 ng/mL (N=70)	10 (90,9)	30 (58,8)	9,667 (1,163 – 80,337)	0,033
LDH (UI/L) (N=65)	450 [312 – 660]	251,50 [213 – 321]	[...]	0,001
LDH >300 UI/L (N=65)	9 (81,8)	17 (31,5)	9,794 (1,907 – 50,302)	0,006

Los datos representados son la N (%) de pacientes o la mediana [IQR]. SpO₂: Saturación basal de oxígeno. AST: Aspartato aminotransferasa. ALT: Alanina aminotransferasa. LDH: Lactato deshidrogenasa. ^a Odds ratio (riesgo estimado) del test Chi cuadrado con un 95% de intervalo de confianza. ^b Test de dos colas.

Tabla 6. Desenlace clínico de pacientes con y sin ARNemia por SARS-CoV-2 en la cohorte pandémica (N=72).

VARIABLES	Con ARNemia (N=11)	Sin ARNemia (N=61)	OR ^a	P valor ^b
Desenlace clínico				
SDRA	6 (54,5)	6 (9,8)	11,0 (2,563 – 47,112)	0,001
VMI	4 (36,4)	4 (6,6)	8,143 (1,656 – 40,041)	0,018
Fallo multiorgánico	1 (9,1)	0 (0)	0,141 (0,079 – 0,250)	0,331
Ingreso en UCI	5 (45,5)	5 (8,2)	9,33 (2,086 – 41,765)	0,005
Fallecimiento	4 (36,4)	3 (4,9)	11,048 (2,039 – 59,868)	0,007
Desenlace clínico desfavorable ^c	7 (63,6)	8 (13,1)	11,59 (2,76 – 48,73)	0,001
Días de estancia hospitalaria	5 [0 – 19]	6 [2,5 – 11]	[...]	0,440

Los datos representados son la N (%) de pacientes o la mediana [IQR]. SDRA: Síndrome de distrés respiratorio agudo. VMI: Ventilación mecánica invasiva. UCI: Unidad de cuidados intensivos. ^a Odds ratio (riesgo estimado) del test Chi cuadrado con un 95% de intervalo de confianza. ^b Test de dos colas. ^c Admisión en UCI y/o fallecimiento.

RESULTADOS

Si bien es cierto que sólo se detectaron agentes virales en 5 muestras de sangre, la carga viral cuantificada en estas muestras no se relacionó con las altas cargas virales encontradas en las muestras de exudado nasofaríngeo o esputo representativo para los agentes virales identificados. El VI B mostró la mayor carga viral en sangre con una mediana de 6,97 \log_{10} copias/ml (IQR, 6,81-7,12). La carga viral en sangre de AdVH, CoVH-229E y RVH se encontró entre 4,49 y 4,92 \log_{10} copias/ml (Tabla 7).

Para la cohorte pandémica, donde se consiguió identificar y cuantificar en todos los pacientes el SARS-CoV-2 en muestras de las vías respiratorias altas, la mediana de la carga viral obtenida fue de 6,98 \log_{10} copias/ml (IQR, 5,15-8,20) en el exudado nasofaríngeo. La mediana de la carga viral en sangre fue de 2,88 \log_{10} copias/ml (IQR, 2,43-4,07), siendo la menor de los virus respiratorios (Tabla 7). Además, aunque la carga viral fue mayor en las vías respiratorias altas de los pacientes con ARNemia (7,30 vs. 6,60 \log_{10} copias/ml), la diferencia de esta carga viral resultó no significativa entre ambos grupos ($p=0,262$) (Figura 13). Tampoco se encontró una correlación entre la carga viral cuantificada en muestras de exudado nasofaríngeo y en muestras de sangre en los 11 pacientes con ARNemia de esta cohorte ($r_s = 0,123$, $p=0,719$) (Figura 14).

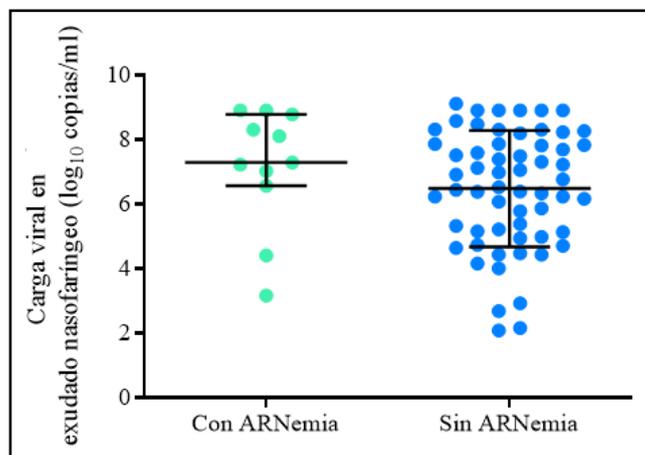


Figura 13. Carga viral cuantificada en muestras de exudado nasofaríngeo en pacientes con y sin ARNemia por SARS-CoV-2 en la cohorte pandémica (N=72).

RESULTADOS

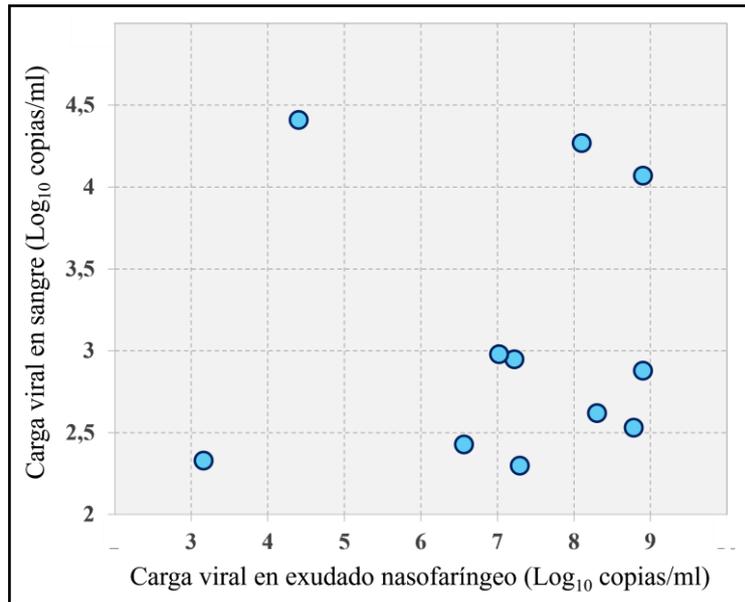


Figura 14. Análisis de correlación de Spearman entre muestras de exudado nasofaríngeo y muestras de sangre en los 11 pacientes con ARNemia por SARS-CoV-2 en la cohorte pandémica (N=72).

Tabla 7. Frecuencia de identificaciones virales positivas y carga viral en exudado nasofaríngeo, esputo representativos y sangre en los pacientes con NAC viral.

	Pacientes con detección viral positiva	Exudados nasofaríngeos positivos	Carga viral en exudados nasofaríngeos ^a	Espustos representativos positivos	Carga viral en espustos representativos ^a	ADN/ARNemia	Carga viral en sangre ^a
Virus identificado							
AdVH	8	5 (62,5)	4,92 (4,92 – 4,93)	2 (25)	6,22 (5,68 – 6,75)	1 (12,5)	4,92
CoVH	10	8 (80)	5,78 (5,02 – 7,29)	5 (50)	7,00 (6,74 – 7,31)	1 (10)	4,49
CoVH-OC43	6	6 (100)	5,25 (4,95 – 5,70)	2 (33,33)	6,14 (5,84 – 6,44)	0 (0)	[...]
CoVH-NL63	3	1 (33,33)	8,67	3 (100)	7,31 (7,16 – 8,49)	0 (0)	[...]
CoVH-229E	1	1 (100)	6,61	0 (0)	[...]	1 (100)	4,49
SARS-CoV-2	72	72 (100)	6,98 (5,15 – 8,20)	0 (0)	[...]	11 (15,3)	2,88 (2,43 – 4,07)
VI	20	16 (80)	4,89 (4,57 – 6,12)	7 (35)	5,32 (4,74 – 6,15)	2 (13,33)	6,97 (6,81 – 7,12)
VI A (H1N1)pdm09	4	3 (75)	5,39 (5,08 – 6,69)	2 (50)	5,69 (5,51 – 5,86)	0 (0)	[...]
VI A H3	5	5 (100)	4,93 (4,72 – 5,74)	0 (0)	[...]	0 (0)	[...]
VI B	11	8 (72,73)	4,70 (4,38 – 5,59)	4 (36,36)	4,76 (4,70 – 5,12)	2 (18,18)	6,97 (6,81 – 7,12)
EVH	2	0 (0)	[...]	2 (100)	5,55 (4,98 – 6,11)	0 (0)	[...]
RVH	34	32 (94,12)	7,05 (6,63 – 7,27)	17 (50)	7,29 (7,26 – 7,30)	1 (2,94)	4,75
VRS	7	5 (71,43)	4,40 (4,27 – 7,29)	3 (42,86)	6,35 (5,23 – 6,66)	0 (0)	[...]
VRS B	7	5 (71,43)	4,40 (4,27 – 7,29)	3 (42,86)	6,35 (5,23 – 6,66)	0 (0)	[...]

Los datos representados son la N (%) de pacientes o la mediana [IQR]. ^a La carga viral se representa en log₁₀ copias/ml.

RESULTADOS

Finalmente, en **la cohorte prepandémica**, a la vista de esta diversidad etiológica, se realizó un árbol de clasificación y regresión (CART) con el objetivo de identificar posibles biomarcadores para cada grupo etiológico. Para ello, los 174 pacientes con etiología definida fueron agrupados en tres categorías, en base a su etiología: bacteriana, viral y mixta. Este análisis identificó biomarcadores potenciales para la etiología bacteriana (Figura 15) y para la etiología mixta (Figura 16), pero no fue posible identificar ningún biomarcador característico de la etiología viral.

Para la etiología bacteriana, los leucocitos ($p=0,041$), los neutrófilos ($p=0,018$), la PCR ($p=0,003$) y la hemoglobina ($p=0,010$) fueron los biomarcadores seleccionados y la capacidad predictiva del modelo logístico de regresión para estos cuatro biomarcadores fue confirmada por una curva ROC resultante en un área bajo la curva de 0,74 (0,68 – 0,80) (Figura 17a). Para la etiología mixta, los biomarcadores seleccionados fueron similares: leucocitos ($p=0,014$), linfocitos ($p=0,008$), PCR ($p=0,042$) y hemoglobina ($p=0,017$), resultando en un área bajo la curva de 0,68 (0,59 – 0,76) (Figura 17b).

Posteriormente, en vista de la similitud encontrada entre los biomarcadores seleccionados para las etiologías bacteriana y mixta, se analizaron las diferencias estadísticas entre ambos grupos ($N=138$) y el grupo de etiología viral ($N=36$), encontrando diferencias significativas para los leucocitos y la PCR (Tabla 8), pero con un solapamiento de sus rangos intercuartílicos, lo que sugiere que estos biomarcadores no tendrían el suficiente valor predictivo para discriminar entre etiologías virales y bacterianas.

RESULTADOS

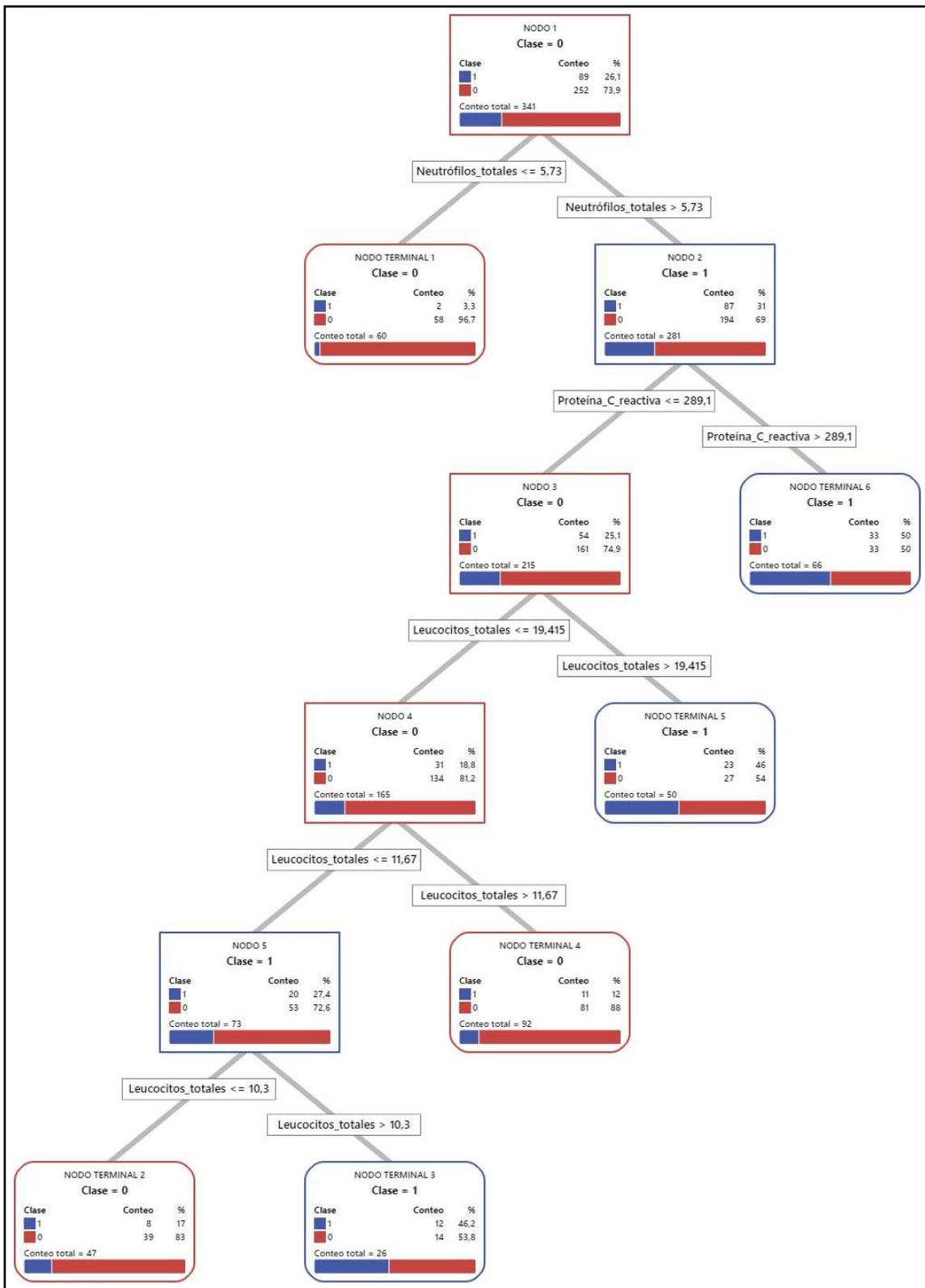


Figura 15. Variables asociadas con la etiología bacteriana según el árbol de clasificación y regresión (CART).

RESULTADOS

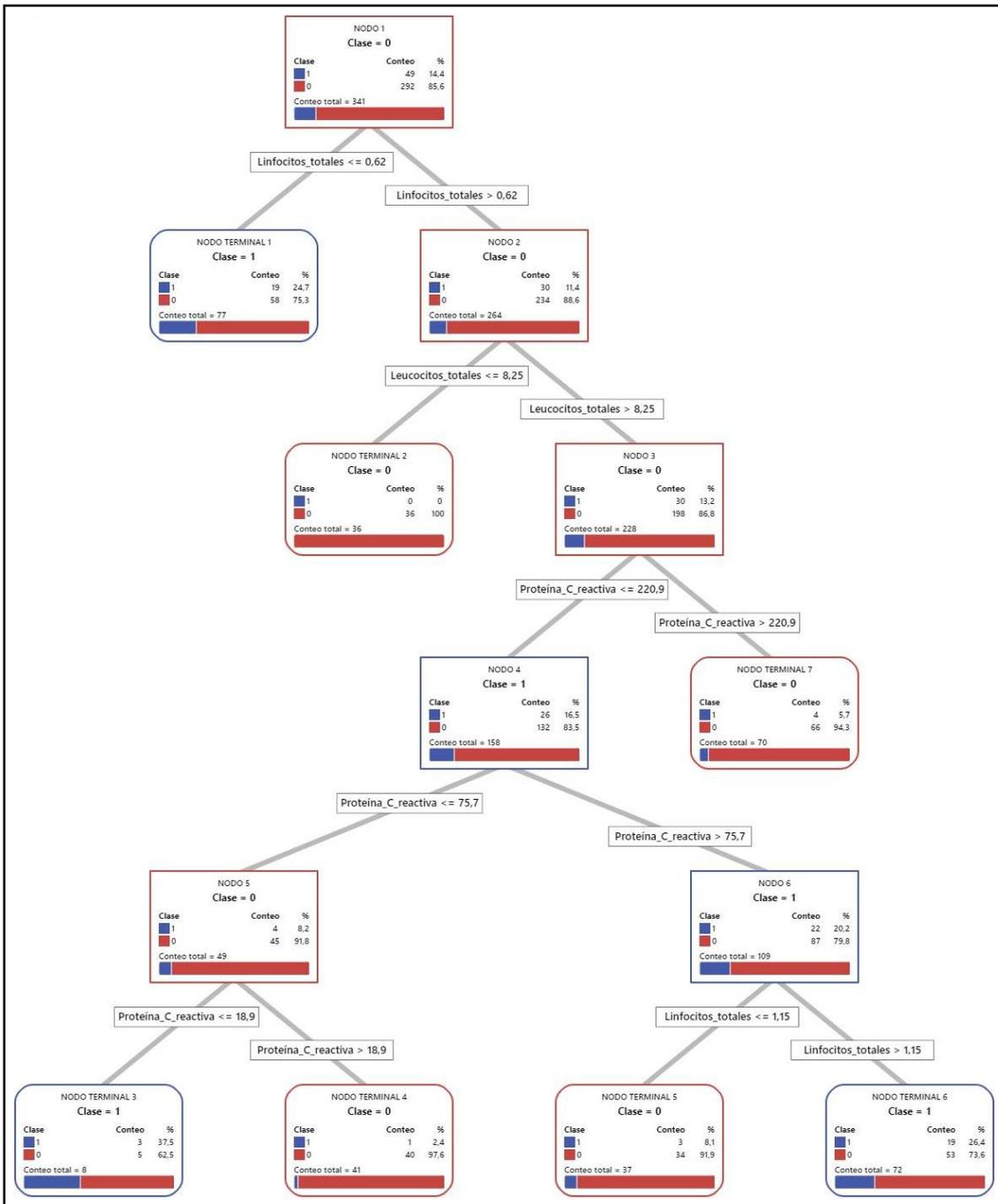


Figura 16. Variables asociadas con la etiología mixta según el árbol de clasificación y regresión (CART).

RESULTADOS

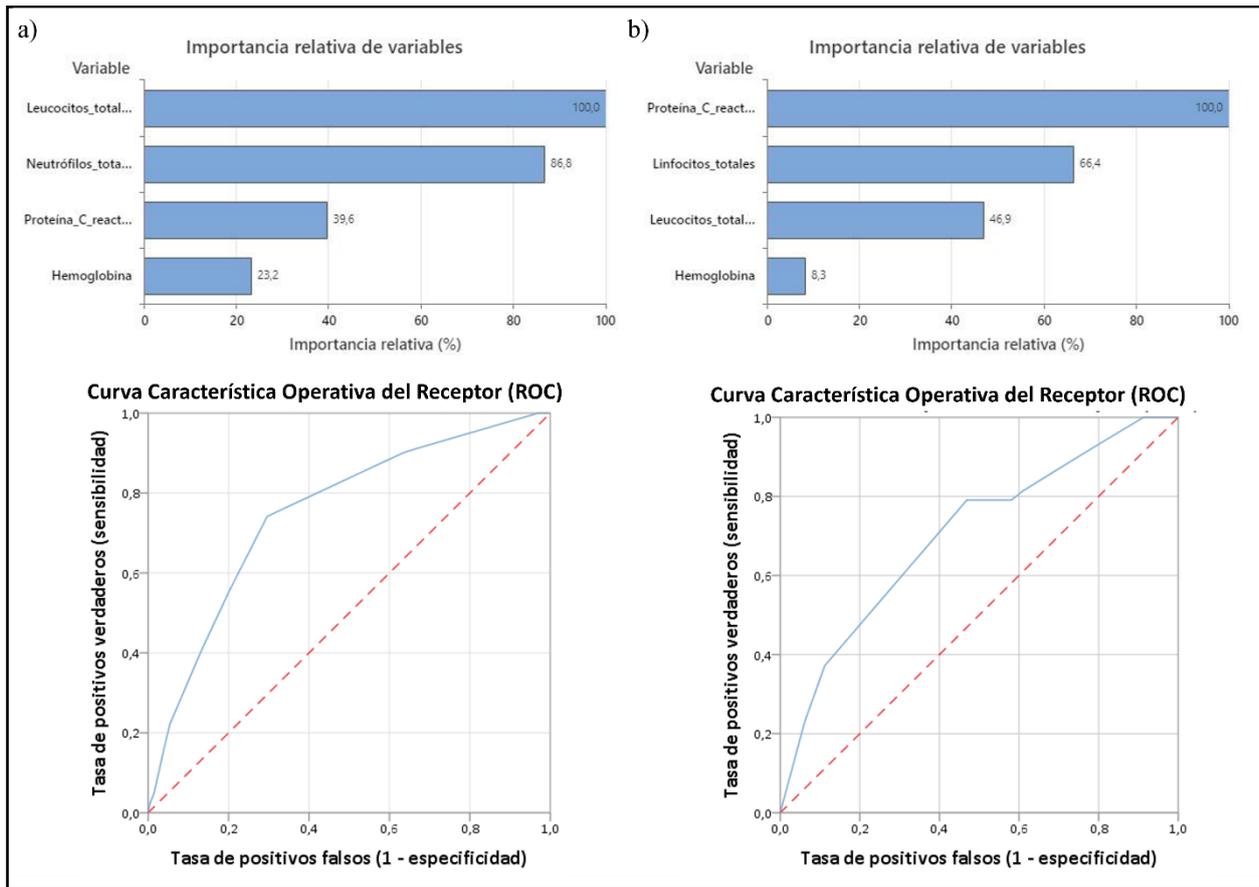


Figura 17. Importancia relativa de cada variable y cálculo de la capacidad predictiva del árbol de clasificación y regresión (CART) para **a)** la etiología bacteriana y **b)** la etiología mixta, mediante curvas ROC.

Tabla 8. Datos de los biomarcadores seleccionados entre la etiología viral (N=36) y la combinación de las etiologías bacteriana y mixta (N=138).

Biomarcadores seleccionados	Etiología viral (N=36)	Etiología bacteriana y mixta (N=138)	P valor ^a
Leucocitos	12,59 [7,35 - 16,17]	15,20 [10,36 - 21,79]	0,016
Neutrófilos	10,35 [5,46 - 14,68]	13,25 [8,60 - 19,39]	0,052
Linfocitos	1,20 [0,73 - 1,85]	1,00 [0,60 - 1,43]	0,184
PCR	115,55 [63,43 - 249,15]	195,15 [113,40 - 329,80]	0,013
Hemoglobina	119,50 [105,00 - 132,75]	121,50 [100,75 - 139,00]	0,828

Los datos representados son la mediana [IQR] de cada biomarcador. PCR: Proteína C reactiva. ^a Test de dos colas.

RESULTADOS

Objetivos referentes a la sensibilidad y especificidad de las diferentes muestras en el estudio etiológico de la NAC en pacientes adultos, en el periodo prepandémico de la COVID-19

Las muestras del TRI son consideradas el estándar de referencia para la determinación de la etiología viral de la NAC. Por ello, se analizó la detección en muestras del TRS y se comparó con las muestras del TRI en **la cohorte prepandémica** para estudiar su sensibilidad y especificidad. Como ya se ha descrito anteriormente, se recogieron muestras de esputo de 136 pacientes en las primeras 24 horas de su ingreso, de las cuales 67 (49,3%) fueron consideradas como válidas y representativas. Para estos 67 pacientes, también se obtuvieron muestras de exudado nasofaríngeo con las cuales se realizó la comparación etiológica. Se encontró identificación concordante en 23 pacientes con muestras positivas del tracto respiratorio superior e inferior y sólo se detectó un paciente con una doble etiología viral en su muestra de esputo (RVH y CoVH-NL63) mientras que en su muestra de exudado nasofaríngeo sólo se identificó RVH (Tablas 9 y 10).

Tomando las muestras de esputo representativo como estándar de referencia, los exudados nasofaríngeos fueron considerados como VP y VN cuando la identificación etiológica realizada en ambas muestras fue la misma. En estos casos, los resultados obtenidos se consideraron concordantes. En cambio, los exudados nasofaríngeos fueron considerados como falsos positivos (FP) y falsos negativos (FN) cuando la identificación etiológica realizada en ambas muestras fue diferente, siendo considerados en este caso como resultados discordantes (Tablas 9 y 10).

Tras esta clasificación, los exudados nasofaríngeos arrojaron una identificación viral en 23 de los 34 pacientes que tenían una identificación viral en esputo, lo que supuso una sensibilidad ($VP/(VP+FN)$) del 67,6%, mientras que el resultado de estos exudados fue negativo en 32 de los 33 pacientes sin identificación viral en esputo, lo que implicó una especificidad ($VN/(VN+FP)$) del 96,9% (Tablas 9 y 10).

Con estos datos, el VPP y el VPN también se calcularon se la siguiente forma: $VPP = VP/(VP+FP)$ y $VPN = VN/(FN+VN)$, obteniendo unos resultados de 95,8% y 74,4%, respectivamente.

RESULTADOS

Tabla 9. Datos de resultados concordantes y discordantes entre muestras de exudado nasofaríngeo y esputo representativo en 67 pacientes.

Resultados de frotis nasofaríngeo y esputo	Pacientes N (%)
Concordante	
Frotis nasofaríngeo y esputo positivos (VP)	23 (34,3)
Frotis nasofaríngeo y esputo negativos (VN)	32 (47,7)
Discordante	
Frotis nasofaríngeo positivo, esputo negativo (FP)	1 (1,5)
Frotis nasofaríngeo negativo, esputo positivo (FN)	11 (16,4)

VP: Verdadero positivo. VN: Verdadero negativo. FP: Falso positivo. FN: Falso negativo.

Tabla 10. Datos utilizados para el cálculo de la sensibilidad y especificidad del exudado nasofaríngeo con respecto al estándar de referencia, el esputo representativo, en 67 pacientes.

		Esputo representativo		
		Positivo	Negativo	Total
Frotis nasofaríngeo	Positivo	23 (34,3)	1 (1,5)	24 (35,8)
	Negativo	11 (16,4)	32 (47,7)	43 (64,2)
	Total	34 (50,7)	33 (49,3)	67 (100)

Los datos representados son la N (%) de pacientes.

La presencia de ADN/ARNemia también resulta fundamental para conocer la especificidad diagnóstica de las muestras del TRS en la NAC viral, ya que, las muestras de sangre son igualmente consideradas un estándar de referencia. Realizando el mismo análisis para las muestras de sangre con identificación viral positiva, se observó que sólo uno de los cinco pacientes con ADN/ARNemia, tuvo el RVH como el mismo agente viral en su muestra de sangre y exudado nasofaríngeo, así como un resultado concordante en su muestra de esputo. Otro paciente, presentó ARNemia por CoVH-229E aunque en su muestra de exudado nasofaríngeo se detectó RVH como agente etiológico y la muestra de esputo tomada no fue determinante para el diagnóstico porque no cumplió los criterios de representatividad para ser considerada como válida. Para los tres pacientes restantes, pese a tener una identificación viral positiva en sangre (2 VI B y 1 AdvH), no se llegó a alcanzar ningún diagnóstico etiológico viral en su muestra de exudado nasofaríngeo y,

RESULTADOS

para los pacientes con ARNemia por VI B, las muestras de esputo no fueron representativas, mientras que para el paciente con ADNemia por AdVH no se llegó a conseguir una muestra de esputo para su posterior validación.

Objetivos referentes al valor de los índices de gravedad para la NAC de diferentes etiologías en pacientes adultos hospitalizados

La presencia o ausencia de un agente etiológico causal podría relacionarse con ciertas características basales y de evolución clínica de los pacientes incluidos en la cohorte prepandémica. Para analizarlo, los 341 pacientes de esta cohorte fueron agrupados en base a la existencia de identificación etiológica (N=174), independientemente de su etiología, o a la ausencia de la misma (N=167) (Tabla 11).

En los pacientes que eran o habían sido fumadores, la presencia de un agente etiológico fue más frecuente ($p=0,006$), a pesar de que el 21,6% de ellos quedaron sin un diagnóstico etiológico definitivo. Aquellos pacientes que tenían como enfermedades crónicas subyacentes la cardiopatía crónica y la neoplasia, mostraron una tendencia a ingresar por una NAC sin diagnóstico etiológico ($p=0,042$ y $p=0,053$, respectivamente). En cambio, en otros pacientes inmunodeprimidos como son los receptores de trasplante de órgano sólido, no se pudieron encontrar diferencias significativas entre aquellos en los cuales se alcanzó un diagnóstico etiológico frente a aquellos que quedaron finalmente sin este diagnóstico (Tabla 11).

Tres de los síntomas más característicos encontrados en la admisión hospitalaria de los pacientes con NAC, como fueron el dolor pleurítico ($p<0,001$), las artromialgias ($p=0,041$) y el shock ($p=0,012$), se relacionaron significativamente con la presencia de un agente etiológico, mientras que los demás síntomas no parecieron tener ninguna relación con la presencia o ausencia de etiología. La neutrofilia ($>7,5 \times 10^9/L$) y los niveles de PCR elevados (≥ 100 mg/L) también fueron característicos de los pacientes con identificación etiológica (Tabla 11).

El tratamiento antimicrobiano de elección por excelencia para el episodio de NAC fueron los antibióticos, siendo finalmente significativo su mayor uso en pacientes con identificación etiológica ($p=0,012$). Sin embargo, cabe destacar que, en ambos grupos, más del 90% de los pacientes habían recibido este tipo de tratamiento, por lo que en

RESULTADOS

muchos pacientes este tratamiento finalmente no correspondió con su etiología. En cambio, el tratamiento antiviral fue menos prescrito en estos pacientes y, aunque su diferencia no fue significativa, se les administró principalmente a aquellos pacientes en los que se identificó un agente etiológico causal (Tabla 11).

Con el fin de conocer también el desenlace clínico de los pacientes en base a la presencia o ausencia de un agente etiológico causal, los mismos dos grupos creados fueron comparados para conocer si existían diferencias pronósticas. La necesidad de ventilación mecánica invasiva y el ingreso en UCI fueron más frecuentes en los pacientes con etiología definida ($p=0,007$ y $p=0,002$, respectivamente). Aunque la mortalidad no mostró diferencias significativas entre los grupos, el desenlace clínico desfavorable fue también más frecuente en los pacientes en los que se identificó el agente etiológico de la NAC (14,4 vs. 5,4%, $p=0,006$) (Tabla 12).

A la vista de los resultados obtenidos en la comparación de grupos con y sin etiología identificada, y teniendo en cuenta que el grupo con diagnóstico etiológico es un grupo heterogéneo que incluye diferentes agentes etiológicos implicados, se profundizó en el análisis de este grupo. Los 174 pacientes con diagnóstico etiológico se subdividieron en tres categorías en base a su etiología: bacteriana, viral y mixta. De este modo, el grupo de etiología bacteriana contaba con 89 pacientes, 36 pacientes se encontraban en el grupo de etiología viral y 49 pacientes se incluyeron en el grupo de etiología mixta (Tabla 13).

Tras la comparación estadística de los tres grupos, no se encontraron diferencias significativas en las condiciones subyacentes ni en las enfermedades crónicas que presentaban los pacientes en cada grupo (Tabla 13). La administración de antibióticos previa al ingreso resultó significativa ($p=0,048$) porque, a pesar de que el número total de pacientes que recibieron este tratamiento fue igual en cada grupo, el porcentaje que representan en sus respectivos grupos no fue similar, siendo esta diferencia significativa debido al bajo porcentaje recibido en el grupo de etiología bacteriana (bacteriana vs. viral, $p=0,021$, bacteriana vs. mixta, $p=0,088$) (Tabla 13).

Tabla 11. Relación de datos demográficos, comorbilidades, síntomas y signos, datos de laboratorio y tratamiento antimicrobiano de la cohorte con NAC prepanémica (N=341) entre pacientes con diagnóstico etiológico y pacientes sin diagnóstico etiológico.

VARIABLES	Sin etiología (N=167)	Con etiología (N=174)	OR ^a	P valor ^b
Datos demográficos				
Edad (años)	74 [56 – 81]	70 [58 – 80]	[...]	0,414
Edad (>75 años)	78 (46,7)	63 (36,2)	0,648 (0,420 – 0,999)	0,049
Hombre	85 (50,9)	102 (58,6)	0,732 (0,477 – 1,122)	0,152
Condiciones subyacentes				
Fumador ^c	36 (21,6)	61 (35,1)	1,964 (1,212 – 3,183)	0,006
Enfermedades crónicas				
Índice de comorbilidad de Charlson ≥ 3	122 (73,1)	124 (71,3)	0,915 (0,569 – 1,469)	0,713
Diabetes	54 (32,3)	47 (27,0)	0,774 (0,486 – 1,234)	0,282
Cardiopatía crónica	57 (34,1)	42 (24,1)	0,614 (0,383 – 0,985)	0,042
Enfermedad pulmonar crónica	38 (22,8)	54 (31,0)	1,528 (0,942 – 2,478)	0,085
Enfermedad renal crónica	20 (12,0)	15 (8,6)	0,693 (0,342 – 1,405)	0,307
Neoplasia	22 (13,2)	12 (6,9)	0,488 (0,233 – 1,021)	0,053
Enfermedad hepática crónica	7 (4,2)	11 (6,3)	1,543 (0,583 – 4,079)	0,379
Receptor de trasplante de órgano sólido	9 (5,4)	6 (3,4)	0,627 (0,218 – 1,802)	0,382
Antimicrobianos previos				
Antibióticos	58 (34,7)	50 (28,7)	0,779 (0,494 – 1,230)	0,283

Síntomas en la admisión hospitalaria				
Tos	113 (67,7)	131 (75,3)	1,456 (0,907 – 2,337)	0,119
Disnea	89 (53,3)	107 (61,5)	1,400 (0,910 – 2,153)	0,126
Dolor pleurítico	26 (15,6)	57 (32,8)	2,642 (1,563 – 4,464)	<0,001
Artromialgias	11 (6,6)	23 (13,2)	2,160 (1,018 – 4,585)	0,041
Alteración de la consciencia	15 (9,0)	18 (10,3)	1,169 (0,569 – 2,404)	0,670
Shock al ingreso	2 (1,2)	12 (6,9)	5,618 (1,236 – 25,526)	0,012
Signos en la admisión hospitalaria				
Temperatura (°C)	37,1 [36,1 – 38,2]	37,7 [36,5 – 38,5]	[...]	0,104
Fiebre (temperatura ≥ 37,5 °C)	66 (39,5)	84 (48,3)	1,428 (0,929 – 2,195)	0,103
SpO ₂	95 [91 – 97]	94 [92 – 96]	[...]	0,407
SpO ₂ < 95%	77 (46,1)	88 (50,6)	1,196 (0,782 – 1,830)	0,409
Hallazgos de laboratorio				
Leucocitos (x10 ⁹ /L)	11,9 [8,0 – 16,7]	14,3 [9,9 – 20,6]	[...]	0,002
Leucopenia (<4,0 x 10 ⁹ /L)	11 (6,6)	6 (3,4)	0,503 (0,182 – 1,393)	0,179
Neutrófilos (x10 ⁹ /L)	9,2 [5,9 – 13,6]	12,5 [8,3 – 18,9]	[...]	<0,001
Neutrofilia (>7,5 x 10 ⁹ /L)	105 (62,9)	135 (77,6)	2,011 (1,249 – 3,237)	0,004
Linfocitos (x10 ⁹ /L)	1,1 [0,8 – 1,6]	1 [0,6 – 1,6]	[...]	0,327
Linfopenia (<1,0 x 10 ⁹ /L)	72 (43,1)	76 (43,7)	1,012 (0,659 – 1,555)	0,955
Plaquetas (x10 ⁹ /L)	245 [175 – 316]	227 [176 – 324]	[...]	0,626
Trombocitopenia (<130 x 10 ⁹ /L)	18 (10,8)	16 (9,2)	0,833 (0,409 – 1,693)	0,613
Creatinina (mg/dl)	0,99 [0,73 – 1,40]	1,01 [0,80 – 1,53]	[...]	0,317
Hipercreatininemia (>1,3 mg/dl)	47 (28,1)	58 (33,3)	1,266 (0,798 – 2,009)	0,317
PCR (mg/L)	124,1 [62,4 – 252,8]	185,8 [93,4 – 318,0]	[...]	0,002

PCR (≥ 100 mg/L)	75 (44,9)	112 (64,4)	2,128 (1,292 – 3,505)	0,003
Tratamientos antimicrobianos para el episodio de NAC				
Tratamiento empírico antiviral	19 (11,6)	39 (22,4)	1,239 (0,724 – 2,119)	0,433
Tratamiento empírico antibiótico	153 (91,6)	169 (97,1)	3,866 (1,246 – 11,998)	0,012
Tratamiento antimicrobiano apropiado ^d	0 (0)	117 (67,2)	8,314 (4,158 – 16,625)	<0,001

Los datos representados son la N (%) de pacientes o la mediana [IQR]. SpO₂: Saturación basal de oxígeno. PCR: Proteína C reactiva. ^a Odds ratio (riesgo estimado) del test Chi cuadrado con un 95% de intervalo de confianza. ^b Tests de dos colas. ^c Se consideró fumador a aquel paciente que tenía este hábito en el momento de la admisión o lo había tenido en los últimos 5 años. ^d En los 174 pacientes con etiología definida.

Tabla 12. Desenlace clínico de pacientes con y sin etiología en la cohorte prepandémica (N=341).

VARIABLES	Sin etiología (N=167)	Con etiología (N=174)	OR ^a	P valor ^b
Desenlace clínico				
SDRA	1 (0,6)	2 (1,1)	1,930 (0,173 – 21,489)	1,000
VMI	0 (0,0)	8 (4,6)	1,048 (1,015 – 1,083)	0,007
Ingreso en UCI	3 (1,8)	17 (9,8)	5,919 (1,701 – 20,593)	0,002
Fallecimiento	8 (4,8)	13 (7,5)	1,605 (0,648 – 3,977)	0,303
Desenlace clínico desfavorable ^c	9 (5,4)	25 (14,4)	2,946 (1,331 – 6,517)	0,006
Días de estancia hospitalaria	4 [3 – 8]	5 [3 – 8]	[...]	0,314

Los datos representados son la N (%) de pacientes o la mediana [IQR]. SDRA: Síndrome de distrés respiratorio agudo. VMI: Ventilación mecánica invasiva. UCI: Unidad de cuidados intensivos. ^a Odds ratio (riesgo estimado) del test Chi cuadrado con un 95% de intervalo de confianza. ^b Test de dos colas. ^c Admisión en UCI y/o fallecimiento.

RESULTADOS

Entre los síntomas y signos, el shock al ingreso mostró una diferencia significativa entre grupos, siendo esta diferencia debido a las encontrada entre el grupo de etiología bacteriana y mixta ($p=0,033$). Los hallazgos de laboratorio también mostraron una clara diferencia entre grupos en el recuento de leucocitos, neutrófilos y PCR y, por consiguiente, en el porcentaje de pacientes con leucopenia, neutrofilia y valores de PCR elevados (≥ 100 mg/L). Las diferencias encontradas en el recuento de leucocitos (bacteriana *vs.* viral, $p=0,003$, bacteriana *vs.* mixta, $p=0,031$) y neutrófilos (bacteriana *vs.* viral, $p=0,011$, bacteriana *vs.* mixta, $p=0,026$) fueron debidas al elevado recuento observado en el grupo de etiología bacteriana, mientras que las diferencias en los valores de PCR fueron debidos a la diferencia encontrada entre los grupos de etiología bacteriana y viral ($p=0,005$). Del mismo modo, los porcentajes de leucopenia (bacteriana *vs.* viral, $p=0,022$, bacteriana *vs.* mixta, $p=0,043$) y neutrofilia (bacteriana *vs.* viral, $p=0,001$, bacteriana *vs.* mixta, $p=0,002$) fueron diferentes significativamente debido al grupo de etiología bacteriana, mientras que, en el caso de los valores elevados de PCR, se debieron a la diferencia mostrada por el grupo de etiología viral (bacteriana *vs.* viral, $p=0,001$, viral *vs.* mixta, $p=0,019$) (Tabla 13).

Por último, el tratamiento antimicrobiano apropiado también mostró diferencias significativas entre grupos, en este caso, debido al bajo porcentaje de adecuación del tratamiento en el grupo de etiología viral (bacteriana *vs.* viral, $p<0,001$, viral *vs.* mixta, $p<0,001$) (Tabla 13).

Del mismo modo que con los grupos de etiología definida o indefinida, y al haber observado diferencias en el desenlace clínico de los pacientes al comparar estos dos grupos, los mismos tres grupos etiológicos fueron analizados en busca de diferencias en el desenlace clínico de los pacientes. Sin embargo, al realizar esta comparación, no se encontraron diferencias según la etiología, aunque el grupo de etiología viral mostró una tendencia a una menor mortalidad y menor desenlace clínico desfavorable (Tabla 14).

Actualmente, los métodos más utilizados para predecir la gravedad de los pacientes son los índices pronósticos para la neumonía, siendo los más conocidos y utilizados el PSI y el CURB-65. Por ello, como un objetivo de este trabajo, se analizó el valor pronóstico de estos índices y sus clases de riesgo en base a los grupos etiológicos creados para el análisis de las variables clínicas y el desenlace clínico: una primera agrupación de pacientes con y sin diagnóstico etiológico, y una segunda agrupación de los pacientes con diagnóstico etiológico clasificados en etiología bacteriana, viral y mixta.

RESULTADOS

En la **cohorte prepandémica**, los valores medios de estos índices fueron de 2 (IQR, 1-2) para el CURB-65 y de 92 (IQR, 70-117) para el PSI. En la primera agrupación basada en la presencia o ausencia de etiología (Tabla 15), los análisis mostraron que la mortalidad aumentaba progresivamente a medida que el valor del índice PSI era mayor, tanto en la cohorte global como en ambos grupos, independientemente de si se había alcanzado o no un diagnóstico etiológico definitivo. Sin embargo, en el caso del CURB-65 esta progresión sólo se observó en la cohorte general y en los pacientes con diagnóstico etiológico, mientras que no se apreciaba en el grupo sin identificación etiológica (Tabla 15). De hecho, debido a esta falta de paralelismo en el CURB-65, se observaron diferencias significativas cuando el valor de este índice era igual o superior a 3, ya que ningún paciente sin etiología falleció a pesar de su clasificación en esta clase de riesgo.

Cuando se realizó la misma comparación de los índices pronósticos entre los tres grupos etiológicos, el valor del índice PSI fue diferente entre los tres grupos ($p=0,017$), debido a las diferencias entre los grupos de etiología viral y mixta ($p=0,014$). Además, se observó un incremento paralelo en la mortalidad para el grupo de etiología bacteriana y de etiología mixta para el índice CURB-65, pero sólo para el grupo de etiología bacteriana para el índice PSI (Tabla 16).

En la **cohorte pandémica** ($N=72$), cuya etiología conocida fue viral, también se comparó el porcentaje de pacientes con un valor igual o superior a 2 para el índice CURB-65 entre los grupos con ARNemia (5; 55,5%) y sin ARNemia (15; 31,9%) sin encontrar diferencias significativas entre ellos ($p=0,291$). Además, en el grupo de pacientes con ARNemia por SARS-CoV-2, el número de pacientes con un valor igual o superior a 2 para el índice CURB-65 (5; 25,0%) fue similar al encontrado con un valor inferior a 2 para este índice (6; 11,5%). Teniendo en cuenta las clases de riesgo para este índice, no se encontró ningún paciente fallecido en la clase de riesgo 0, dos pacientes fueron clasificados en la clase de riesgo 1 y cinco pacientes, en la clase de riesgo 2 o superior.

Tabla 13. Relación de datos demográficos, comorbilidades, síntomas y signos, datos de laboratorio y tratamiento antimicrobiano de la cohorte con NAC prepanémica (N=341) entre pacientes con diagnóstico etiológico y pacientes sin diagnóstico etiológico.

VARIABLES	Etiología bacteriana (N=89)	Etiología viral (N=36)	Etiología mixta (N=49)	P valor ^a
Datos demográficos				
Edad (años)	70 [61 – 79]	68 [48 – 81]	72 [60 – 84]	0,211
Edad (>75 años)	29 (32,6)	11 (30,6)	23 (46,9)	0,178
Hombre	51 (57,3)	24 (66,7)	27 (55,1)	0,529
Condiciones subyacentes				
Fumador ^b	28 (31,5)	18 (50,0)	15 (30,6)	0,107
Enfermedades crónicas				
Índice de comorbilidad de Charlson ≥ 3	62 (69,7)	24 (66,7)	38 (77,6)	0,489
Diabetes	21 (23,6)	10 (27,8)	16 (32,7)	0,515
Cardiopatía crónica	18 (20,2)	7 (19,4)	17 (34,7)	0,125
Enfermedad pulmonar crónica	28 (31,5)	9 (25,0)	17 (34,7)	0,629
Enfermedad renal crónica	5 (5,6)	4 (11,1)	6 (12,2)	0,347
Neoplasia	8 (9,0)	1 (2,8)	3 (6,1)	0,449
Enfermedad hepática crónica	6 (6,7)	2 (5,6)	3 (6,1)	0,968
Receptor de trasplante de órgano sólido	2 (2,2)	2 (5,6)	2 (4,1)	0,630

Antimicrobianos previos				
Antibióticos	18 (20,2)	15 (41,7)	17 (34,7)	0,048
Síntomas en la admisión hospitalaria				
Tos	65 (73,0)	24 (66,7)	42 (85,7)	0,103
Disnea	49 (55,1)	25 (69,4)	33 (67,3)	0,199
Dolor pleurítico	33 (37,1)	10 (27,8)	14 (28,6)	0,461
Artromialgias	15 (16,9)	2 (5,6)	6 (12,2)	0,234
Alteración de la consciencia	7 (7,9)	2 (5,6)	9 (18,4)	0,087
Shock al ingreso	3 (3,4)	2 (5,6)	7 (14,3)	0,045
Signos en la admisión hospitalaria				
Temperatura (°C)	37,8 [36,5 – 38,6]	37,4 [36,5 – 38,1]	37,7 [36,5 – 38,4]	0,645
Fiebre (temperatura $\geq 37,5$ °C)	45 (50,6)	14 (38,9)	25 (51,0)	0,448
SpO ₂	95 [92 – 96]	95 [92 – 97]	94 [92 – 97]	0,731
SpO ₂ < 95%	44 (49,4)	18 (50,0)	26 (53,1)	0,918
Hallazgos de laboratorio				
Leucocitos (x10 ⁹ /L)	16,3 [10,8 – 22,4]	12,6 [7,3 – 16,2]	14,0 [8,7 – 19,4]	0,005
Leucopenia (<4,0 x 10 ⁹ /L)	0 (0)	3 (8,3)	3 (6,1)	0,033
Neutrófilos (x10 ⁹ /L)	14,1 [9,2 – 19,6]	10,4 [5,5 – 14,7]	11,9 [7,3 – 15,7]	0,013
Neutrofilia (>7,5 x 10 ⁹ /L)	79 (88,8)	23 (63,9)	33 (67,3)	0,001
Linfocitos (x10 ⁹ /L)	1,0 [0,7 – 1,4]	1,2 [0,7 – 1,9]	0,9 [0,5 – 1,7]	0,335
Linfopenia (<1,0 x 10 ⁹ /L)	38 (42,7)	13 (36,1)	25 (51,0)	0,378
Plaquetas (x10 ⁹ /L)	227 [186 – 321]	268 [176 – 359]	212 [160 – 303]	0,191
Trombocitopenia (<130 x 10 ⁹ /L)	5 (5,6)	4 (11,1)	7 (14,3)	0,218

Creatinina (mg/dl)	1,00 [0,83 – 1,53]	0,98 [0,75 – 1,38]	1,06 [0,78 – 1,61]	0,588
Hipercreatininemia (>1,3 mg/dl)	30 (33,7)	9 (25,0)	19 (38,8)	0,410
PCR (mg/L)	217,8 [112,5 – 338,2]	115,6 [63,4 – 249,2]	172,4 [102,0 – 270,2]	0,017
PCR (\geq 100 mg/L)	64 (71,9)	16 (44,4)	32 (65,3)	0,002
Tratamientos antimicrobianos para el episodio de NAC				
Tratamiento empírico antiviral	15 (16,9)	12 (33,3)	12 (24,5)	0,154
Tratamiento empírico antibiótico	86 (96,6)	35 (97,2)	48 (98)	0,975
Tratamiento antimicrobiano apropiado ^d	72 (80,9)	7 (19,4)	38 (77,6)	<0,001

Los datos representados son la N (%) de pacientes o la mediana [IQR]. SpO₂: Saturación basal de oxígeno. PCR: Proteína C reactiva. ^a Tests de dos colas. ^b Se consideró fumador a aquel paciente que tenía este hábito en el momento de la admisión o lo había tenido en los últimos 5 años. ^c En los 174 pacientes con etiología definida.

Tabla 14. Desenlace clínico de pacientes en base a su etiología en la cohorte prepandémica (N=341).

VARIABLES	Etiología bacteriana (N=89)	Etiología viral (N=36)	Etiología mixta (N=49)	P valor ^a
Desenlace clínico				
SDRA	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (4,1)	0,076
VMI	3 (3,4)	1 (2,8)	4 (8,2)	0,368
Ingreso en UCI	7 (7,9)	3 (8,3)	7 (14,3)	0,453
Fallecimiento	8 (9,0)	1 (2,8)	4 (8,2)	0,478
Desenlace clínico desfavorable ^b	13 (14,6)	4 (11,1)	8 (16,3)	0,792
Días de estancia hospitalaria	5 [3 – 8]	5 [4 – 7]	5 [3 – 7]	0,318

Los datos representados son la N (%) de pacientes o la mediana [IQR]. SDRA: Síndrome de distrés respiratorio agudo. VMI: Ventilación mecánica invasiva. UCI: Unidad de cuidados intensivos. ^a Tests de dos colas. ^b Admisión en UCI y/o fallecimiento.

Tabla 15. Análisis de los índices CURB-65 y PSI entre los grupos de pacientes con y sin etiología en la cohorte prepandémica (N=341).

Índices pronósticos	Cohorte total (N = 341)		Sin etiología (N=167)		Con etiología (N=174)		P valor ^a
	N	Mortalidad	N	Mortalidad	N	Mortalidad	
CURB-65	341	2 [1 – 2]	167	2 [1 – 2]	174	2 [1 – 2]	0,205
CURB-65 ≤1	142	4 (2,8)	70	3 (4,3)	7	1 (1,4)	0,363
CURB-65 = 2	141	7 (5,0)	76	5 (6,6)	65	2 (3,1)	0,452
CURB-65 ≥3	58	10 (17,2)	21	0 (0,0)	37	10 (27,0)	0,009
PSI	341	92 [70 – 117]	167	94 [66 – 117]	177	90 [70 – 117]	0,968
I	42	1 (2,4)	28	1 (3,6)	14	0 (0,0)	0,483
II	47	0 (0,0)	15	0 (0,0)	32	0 (0,0)	[...]
III	72	2 (2,8)	31	1 (3,2)	41	1 (2,4)	1,000
IV	133	10 (7,5)	68	3 (4,4)	65	7 (10,8)	0,200
V	47	8 (17,0)	25	3 (12,0)	22	5 (22,7)	0,446

Los datos representados son la N (%) de pacientes o la mediana [IQR]. PSI: *Pneumonia Severity Index*; CURB-65: confusión, urea >64 mg/dl, frecuencia respiratoria ≥30 respiraciones/min., presión arterial <90 mmHg (sistólica) o <60 mmHg (diastólica), edad ≥65 años. ^a Test de dos colas; obtenido para la comparación entre los grupos con y sin etiología.

Tabla 16. Análisis de los índices CURB-65 y PSI entre los tres grupos etiológicos de la cohorte prepanidémica (N=341).

Índices pronósticos	Etiología bacteriana (N=89)		Etiología viral (N=36)		Etiología mixta (N=49)		P valor ^a
	N	Mortalidad	N	Mortalidad	N	Mortalidad	
CURB-65	92	2 [1 – 2]	35	2 [0 – 2]	50	2 [1 – 3]	0,087
CURB-65 ≤1	38	1 (2,6)	15	0 (0,0)	19	0 (0,0)	0,635
CURB-65 = 2	29	1 (3,4)	20	0 (0,0)	16	1 (6,3)	0,552
CURB-65 ≥3	22	6 (27,3)	1	1 (100,0)	14	3 (21,4)	0,232
PSI	92	89 [70 – 112]	35	79 [67 – 108]	50	104 [76 – 128]	0,017
I	7	0 (0,0)	4	0 (0,0)	3	0 (0,0)	[...]
II	17	0 (0,0)	7	0 (0,0)	8	0 (0,0)	[...]
III	21	1 (4,8)	13	0 (0,0)	7	0 (0,0)	0,614
IV	35	6 (17,1)	10	1 (10,0)	20	0 (0,0)	0,142
V	9	1 (11,1)	2	0 (0,0)	11	4 (36,4)	0,295

Los datos representados son la N (%) de pacientes o la mediana [IQR]. PSI: *Pneumonia Severity Index*; CURB-65: confusión, urea >64 mg/dl, frecuencia respiratoria ≥30 respiraciones/min., presión arterial <90 mmHg (sistólica) o <60 mmHg (diastólica), edad ≥65 años. ^a Test de dos colas.

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

Diversidad etiológica, carga viral en muestras respiratorias y presencia de viremia en la NAC en adultos

Los resultados han mostrado la gran diversidad de agentes etiológicos, identificados en muestras del TRS y el TRI, causantes de la NAC en pacientes adultos que requieren ingreso hospitalario, a pesar de que no se han considerado las etiologías fúngicas en las cohortes incluidas. Entre ellas, los virus representan casi la mitad de las etiologías y, además, se han identificado en coinfecciones con una etiología bacteriana en seis de cada 10 casos.

Aunque la etiología bacteriana ha resultado ser la etiología más común en los pacientes con NAC, seguida de la etiología mixta y la etiología viral, como previamente ha sido reportado [137], los resultados obtenidos han mostrado que la frecuencia de la NAC de etiología viral parece ser superior a la esperada [137]. La etiología bacteriana en la NAC ha sido ampliamente descrita, identificando a *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *M. pneumoniae* como los agentes más comúnmente detectados debido a la disponibilidad de tests diagnósticos rápidos y sensibles como los tests de detección de antígenos en orina y los cultivos de sangre y esputo representativo, los cuales han demostrado ser altamente sensibles y específicos en pacientes hospitalizados por NAC [138, 139].

Sin embargo, en los últimos años, varios estudios han resaltado la importancia y el impacto clínico de la etiología viral causada por los VRE en el marco de la NAC [1, 22]. De hecho, las bajas tasas de etiología viral (<20%) que se detectaban en estudios anteriores a 2013 [140, 141], aumentan hasta el 28,3% detectado por Qu *et al.* [142] en muestras del TRS y del TRI o el 29,3% detectado por Mangou *et al.* [143] en muestras de esputo de pacientes no intubados y de lavado broncoalveolar de pacientes intubados, siendo ambos estudios realizados en pacientes adultos hospitalizados por NAC. Probablemente, este aumento en las tasas de detección reportadas son el reflejo de la mejora y el uso frecuente de los métodos moleculares de diagnóstico, los cuales han permitido identificar muchos agentes virales como causantes de la NAC, destacando el RVH, los VI, el VRS y los CoVH como los virus más frecuentemente descritos [1, 4, 22], mientras que el AdvH, el MPVh, los VPI o el BoVH son sólo identificados como agentes causales en entre el 1% y el 2,5% de los pacientes [22, 144].

DISCUSIÓN

Cabe destacar que los resultados obtenidos no sólo demuestran la abundancia y la diversidad de la etiología viral en la NAC, señalando a los virus como agentes causales directos en 1 de cada 4 casos, sino que además la presentan también en combinación con agentes bacterianos, dando lugar a etiologías mixtas, en 1 de cada 2 casos de pacientes con NAC con este diagnóstico etiológico viral. La importancia que suponen en número las etiologías mixtas ya se estimaba en un estudio antiguo, con un rango de entre el 7% y el 15% [145], pero más recientemente ha sido reportada con porcentajes mayores por Gelfer *et al.* [52], quienes encontraron un 25,4% de coinfecciones y por Farida *et al.* [146] con un 28%. El porcentaje más alto fue el encontrado por Gadsby *et al.* [22] en su estudio, quienes encontraron coinfecciones en el 56,3% de los casos, siendo coinfecciones bacteria-bacteria en el 31,6% de las NAC y coinfecciones bacteria-virus en el 24,8% de los casos, lo que es ligeramente inferior del 29,2% encontrada por Qu *et al.* [142] en su estudio, quienes tan sólo identificaron un 12,1% de coinfecciones totales. Farida *et al.* [146] también encontraron un alto porcentaje de coinfección bacteria-virus, con un 22% de casos, cercano al reportado por Gadsby *et al.* [22].

Lo que resulta coincidente entre varios estudios es el bajo porcentaje de coinfecciones virus-virus encontrado, siendo el más alto reportado de un 2% [4, 146], y encontrando el mismo porcentaje del 0,6% de este trabajo en el estudio llevado a cabo por Rioseco *et al.* [141].

Así, nuestros resultados evidencian la infravaloración de la etiología viral en el marco de la NAC y ponen de manifiesto la necesidad de incrementar los esfuerzos dirigidos a alcanzar un diagnóstico definitivo mediante la utilización de técnicas más sensibles y rápidas para ese 50% de las NAC en las que, aun a día de hoy, sigue sin alcanzarse un diagnóstico etiológico.

La actual pandemia causada por el SARS-CoV-2 ha puesto de manifiesto el papel de la viremia en el pronóstico del desenlace clínico de los pacientes con COVID-19 [147-149]. La frecuencia de ARNemia por SARS-CoV-2 que mostraron nuestros resultados fue del 15,3%, analizada en 72 pacientes, un porcentaje inferior al previamente reportado por otros autores, quienes también analizaron la frecuencia de viremia en pacientes adultos con COVID-19 [149-151]. Aun así, pese a la baja tasa de ARNemia encontrada en la cohorte pandémica, ésta fue más elevada que la encontrada en la cohorte prepandémica para los VRE, donde se encontró un 2,9% y un 13,3% de ARNemia para el RVH y el VI B, respectivamente. Posiblemente, esta diferencia resida en el elevado

DISCUSIÓN

tropismo del SARS-CoV-2 por diferentes tipos celulares. Este amplio tropismo ha sido demostrado a nivel de laboratorio mediante cultivos celulares en los cuales se observó una alta tasa de infectividad tras la infección con el virus con una baja multiplicidad de infección (MOI 0,1) en un panel de 9 líneas celulares humanas y 11 no humanas que incluían células pulmonares, intestinales, hepáticas, renales y neuronales [152], pero también ha sido observado al estudiar la infección en pacientes, en quienes se ha visto que también infecta los riñones, el intestino delgado, el páncreas, los vasos sanguíneos y otros tejidos, además de dirigirse a las glándulas sudoríparas y a las células endoteliales vasculares de la piel [153]. Estos hallazgos sugieren que la infección viral directa podría contribuir, al menos parcialmente, a la presencia de ARNemia y muestran una posible correlación entre el órgano-tropismo del SARS-CoV-2 y la distribución de ACE2 en los diferentes tipos celulares y órganos, la cual no se ha demostrado para los VRE, cuyo tropismo se reduce a células del sistema respiratorio y, en casos de infección por AdvH y VI H7, también del sistema ocular [154].

Además, a diferencia de la ARNemia causada por el SARS-CoV-2, la cual se asoció con un desenlace clínico desfavorable de los pacientes (ingreso en UCI y/o fallecimiento), la ADN/ARNemia causada por los VRE no se asoció significativamente ni con una mayor mortalidad ni con una mayor tasa de ingreso en UCI, así como tampoco con complicaciones clínicas, siendo debido en este último caso de los VRE a la baja tasa de viremia encontrada, lo que imposibilitó obtener una conclusión sobre el efecto que la ADN/ARNemia de estos virus puede tener sobre el desenlace clínico de los pacientes. Estos resultados también serían explicados por el elevado tropismo del SARS-CoV-2 por diferentes tipos celulares, lo que facilitaría la lesión multiorgánica [153] mediante la vehiculización del mismo por vía hematogena, siendo la sangre un líquido que recorre todos los tejidos del cuerpo humano.

En relación con la cuantificación de la carga viral en muestras de sangre, los valores encontrados para VRE, tales como los VI y el RVH, fueron mayores a la mediana de la cuantificación de $2,8 \log_{10}$ copias/ml obtenida en este mismo tipo de muestra para el SARS-CoV-2. Sin embargo, a pesar de la alta carga viral encontrada en sangre para los VRE, las tasas de mortalidad asociadas a estos pacientes fueron del 2,9% y del 4% en la etiología viral y en la etiología mixta, respectivamente, unas tasas muy bajas comparadas con entre el 9,6% encontrado para el SARS-CoV-2 en la cohorte pandémica y el 13,6% encontrado en estudios previos donde evaluaron la asociación de la ARNemia por SARS-

DISCUSIÓN

CoV-2 con la tasa de mortalidad [149, 150]. Esto implica que, aunque la carga viral de los VRE sea muy elevada en sangre, no está ligada a una mayor mortalidad ni a un peor desenlace clínico, probablemente porque las partículas virales no son finalmente capaces de encontrar receptores diana en los tejidos que les permitan su entrada y colonización, quedando reducida su posibilidad de infección a las células del sistema respiratorio.

Para el RVH, se cuantificaron altas cargas virales en muestras respiratorias, tanto del TRS (exudado nasofaríngeo) como del TRI (esputo representativo), a diferencia de la cuantificada en sangre, siendo además estas cargas virales más altas que las descritas anteriormente por otros autores, quienes encontraron una carga de $5,5 \log_{10}$ copias/ml en el TRS y de entre $5,1$ y $6,2 \log_{10}$ copias/ml en el TRI [155, 156]. Sin embargo, en este estudio sólo se identificó un paciente con ARNemia por RVH, muy lejos del 10% previamente descrito en adultos [157] o el 12% en niños [158]. En esta misma línea, sólo un paciente presentó ADNemia por AdvH, sin una identificación concordante ni en exudado nasofaríngeo ni en esputo, con una carga viral similar a la previamente reportada en otro estudio [159]. En el caso de los VI, la carga viral observada en muestras de exudado nasofaríngeo fue similar a la que habían reportado otros autores [156], aunque en este caso no se cuantificó la carga viral en sangre. Para el VI A, en nuestro análisis no se detectó ARNemia, pero para el VI B, la frecuencia de ARNemia fue del 18,2%, resultado similar a los publicados en estudios previos [160], y cuya carga viral fue la más alta entre los agentes virales analizados, incluido el SARS-CoV-2 en la cohorte pandémica. La mediana de la carga viral más alta observada en muestras de exudado nasofaríngeo se dio en el caso del SARS-CoV-2 en la cohorte pandémica, el cual tenía, a su vez, la carga viral más baja en sangre, pero cuando se buscó la relación entre esta carga y la presencia de ARNemia, no se encontró una correlación significativa.

Cabe destacar que, para la cohorte pandémica, donde se consiguió identificar y cuantificar la carga viral del SARS-CoV-2 en todos los pacientes en muestras de las vías respiratorias altas, fue imposible realizar la determinación en muestras de las vías respiratorias bajas debido a que la tos presentada por la mayoría de los pacientes no era productiva y resultó imposible la recolección de muestras de esputo. Aun así, en base a los resultados obtenidos para los VRE, cabría esperar que la carga viral del SARS-CoV-2 también fuera mayor en muestras del TRI con respecto a las muestras del TRS, cuya mediana de la carga viral fue de $6,98 \log_{10}$ copias/ml (IQR, 5,15-8,20).

DISCUSIÓN

El análisis de los signos y hallazgos de laboratorio al ingreso de los pacientes incluidos permitió identificar potenciales biomarcadores para la etiología bacteriana y la etiología mixta, los cuales coincidieron con los previamente identificados por otros autores para una identificación bacteriana positiva [108, 109, 161, 162]. Desafortunadamente, aunque los virus son ampliamente conocidos por activar el sistema inmune y generar su respuesta [110, 163], este trabajo no ha logrado identificar ningún marcador específico que pudiera ser utilizado para distinguir específicamente la NAC de etiología viral en el momento del ingreso hospitalario.

En resumen, en este objetivo se muestra que el uso de técnicas moleculares, como la PCR a tiempo real, para el diagnóstico de la etiología viral de los pacientes con NAC amplía el espectro diagnóstico de estos agentes. El hecho de que, a pesar del uso de técnicas moleculares tan sensibles como la PCR, siga habiendo un número tan elevado de casos en los que no se alcanzó a identificar un agente etiológico causal, independientemente de la muestra analizada, resulta todo un desafío para microbiólogos e infectólogos. Una limitación de estas técnicas moleculares es la necesidad de diseñar cebadores específicos para los agentes a identificar. En esta línea, quizás, el empleo de técnicas de secuenciación masiva en muestras respiratorias podría aportar información de utilidad que permitiera identificar nuevos agentes etiológicos aún no descritos.

Por último, en base a estos resultados, si tuviera lugar la implementación y mejora del diagnóstico viral, este hecho podría ir ligado a un futuro esfuerzo por el desarrollo de nuevas terapias antivirales frente a los VRE para los cuales, actualmente, no existen alternativas terapéuticas efectivas, a excepción de los VI. Esto ayudaría a una consecuentemente mejora en el manejo de los pacientes adultos con NAC que requieren ingreso hospitalario.

DISCUSIÓN

Sensibilidad y especificidad de las diferentes muestras en el estudio etiológico de la NAC en pacientes adultos, en el periodo prepanidémico de la COVID-19

La diversidad etiológica estudiada en este trabajo ha demostrado que los virus son causantes de casi la mitad de los casos con diagnóstico etiológico en pacientes adultos con NAC que requieren ingreso hospitalario. La introducción de la PCR en la práctica clínica ha permitido un diagnóstico temprano y más sensible de las infecciones respiratorias, tanto del TRS como del TRI, especialmente para la etiología viral [164, 165]. Sin embargo, el tipo de muestra respiratoria a utilizar en el diagnóstico sigue siendo un tema controvertido [166-169]. En pacientes adultos hospitalizados con NAC que no están intubados, la obtención de muestras del TRI no es siempre factible y el diagnóstico etiológico suele basarse en muestras de exudado nasofaríngeo, lo cual reduce la posibilidad de identificar los patógenos virales responsables [1, 6]. Este hecho destaca en diferentes estudios donde se recogieron muestras de exudado nasofaríngeo y muestras representativas del TRI [65, 170]. En uno de estos estudios, detectaron 21 virus en muestras del TRI y sólo 7 fueron detectados en los exudados nasofaríngeos [170]. En otro estudio, donde recogieron muestras de exudado nasofaríngeo y de lavado broncoalveolar, 5 de los 23 pacientes que analizaron, mostraron una PCR positiva para algún virus en el lavado broncoalveolar mientras que ninguna de las muestras analizadas de exudado nasofaríngeo fue positiva [65].

En este trabajo, se muestra que las muestras de exudado nasofaríngeo no son mejores que el estándar de referencia, como es el esputo representativo, para la detección de patógenos virales. Sin embargo, cuando el resultado de la PCR es positivo para el exudado nasofaríngeo, tiene casi el mismo VPP que el esputo representativo y una alta especificidad, lo que apoya que la detección positiva de un patógeno viral en las muestras de exudado nasofaríngeo puede considerarse como verdaderamente identificada. Este hallazgo coincide con los resultados de Adazeh *et al.*[171], quienes mostraron que la identificación de patógenos en muestras de lavado broncoalveolar, después de haber realizado esta identificación en un exudado nasofaríngeo, puede contribuir con información microbiológica adicional útil cuando el resultado en el exudado nasofaríngeo era negativo pero que, sin embargo, si un patógeno ya había sido detectado e identificado en un exudado nasofaríngeo, era poco probable que la evaluación de muestras del TRI proporcionara información adicional.

DISCUSIÓN

Por tanto, este trabajo apoya el uso de técnicas moleculares para el diagnóstico de la etiología viral de pacientes con NAC en muestras del TRS porque demuestra que los exudados nasofaríngeos tienen un alto rendimiento para el diagnóstico de los VRE causantes de la NAC, con una especificidad y un VPP elevados. Aunque el esputo representativo tiene mayor sensibilidad que los exudados nasofaríngeos para la detección de virus (51% vs. 21%, respectivamente) en los episodios de NAC, posiblemente debido a la presencia de cargas virales mayores en el primero, la obtención más sencilla y rápida de este último tipo de muestra, apoya su amplio uso en la práctica clínica.

DISCUSIÓN

Valor de los índices de gravedad para la NAC de diferentes etiologías en pacientes adultos hospitalizados

El uso extendido de índices de severidad de la neumonía, así como la escasa información acerca de la influencia que la etiología puede tener en su cálculo [172, 173], llevó a este trabajo a analizar el impacto de la etiología identificada con la mortalidad, el desenlace clínico de los pacientes y su influencia sobre los índices de severidad.

En este trabajo, el tipo de agente etiológico identificado no se relacionó con un peor desenlace clínico de los pacientes ni con una tasa de mortalidad mayor, lo cual concuerda con los resultados de Kim *et al.* [90], quienes observaron que no había diferencias significativas en la gravedad de la enfermedad, la tasa de mortalidad, ni en el índice PSI, entre la etiología bacteriana y la viral de la NAC. Sin embargo, nuestros resultados muestran que la identificación de algún agente etiológico causal, independientemente de si es un agente viral o bacteriano, se asocia a una mayor necesidad del uso de ventilación mecánica invasiva, mayor tasa de mortalidad y un desenlace clínico desfavorable. Estos resultados concuerdan con los publicados por Quah *et al.* [174], en los cuales encontraron una asociación significativa entre la etiología microbiana y el incremento en la tasa de mortalidad hospitalaria cuando se identificaba alguna etiología, especialmente, cuando se identificaban etiologías mixtas. Además, Nair y Niederman [175] también observaron una diferencia significativa en la mortalidad tras 28 días de seguimiento en los pacientes con etiología bacteriana, aunque lo atribuyeron al retraso en la administración antibiótica o a la inconsistencia de la terapia antibiótica utilizada con respecto a la recomendada por la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América (IDSA: *Infectious Diseases Society of America*) para la NAC. También estos últimos autores consideraron el retraso en el reconocimiento de la enfermedad severa como otra de las causas asociadas a la mayor mortalidad.

Con respecto a los índices de severidad de la neumonía, este trabajo arroja serias dudas sobre el poder de estos índices cuando la NAC es diagnosticada con una etiología viral. Actualmente, los sistemas de evaluación de la gravedad de la neumonía más ampliamente utilizados son el PSI y el CURB-65, los cuales fueron diseñados para guiar la atención médica en este tipo de pacientes, basándose en el riesgo de mortalidad tras 30 días de seguimiento [176]. Los resultados obtenidos en este trabajo no muestran diferencias entre el índice CURB-65 y el PSI en la comparación de pacientes con y sin

DISCUSIÓN

diagnóstico etiológico, salvo en la clase de mayor riesgo de mortalidad ($\text{CURB-65} \geq 3$) donde entre ambos grupos se encontró una diferencia significativa, aunque esta diferencia no se mantuvo al analizar las diferentes etiologías dentro del grupo. Sin embargo, cuando el índice CURB-65 fue categorizado en sus clases de riesgo en base a la mortalidad esperada mostró un claro patrón diferencial en la tasa de mortalidad entre grupos etiológicos. Este resultado fue similar al reportado por Gadsby *et al.* [22], quienes señalaron la falta de predicción del índice CURB-65 en la tasa de mortalidad en su cohorte de pacientes con NAC, aunque no realizaron ninguna comparación entre grupos de pacientes considerando la identificación positiva o negativa de algún agente etiológico.

En la cohorte pandémica estudiada, también analizamos la utilidad del índice CURB-65 para evaluar la severidad de la enfermedad. En este caso, la mediana para este índice fue de 1 (IQR, 0-2) y se observaba un incremento de la mortalidad paralelo al incremento del valor de CURB-65 para esta cohorte, observando una mortalidad del 0% en pacientes con un índice CURB-65 de 0, 7,4% en pacientes con un índice CURB-65 de 1 y 33,3% en pacientes con un índice CURB-65 de 2 o superior. Todos los porcentajes de mortalidad obtenidos fueron similares a los esperados según la escala de clasificación de riesgo del CURB-65 descrita por Lim *et al.* [84], aunque menores a los previamente publicados por otros autores, quienes describieron una mortalidad del 17% para casos con un índice CURB-65 menor de 2 y del 60% para casos con un índice mayor o igual a 3 [177]. Así, la validación de este índice para los casos de neumonía por SARS-CoV-2 ha sido demostrada por varios autores [177, 178].

Con respecto al PSI, a pesar de que en este trabajo no se encontraron diferencias en el valor del PSI entre los pacientes con un diagnóstico etiológico y sin él, este índice sí mostró diferencias en la comparación entre etiologías. Además, pese al incremento de la mortalidad a medida que el valor del índice PSI aumentó en los pacientes con un diagnóstico etiológico definitivo, cuando se analizó este mismo comportamiento del índice en base a la etiología, el aumento de la mortalidad en paralelo al valor del índice únicamente se observó cuando sólo existía etiología bacteriana. Este paralelismo no fue observado ni en los pacientes con etiología viral ni con etiología mixta, lo que parece indicar que la presencia de etiología viral no afecta al cálculo de este índice. Esta misma falta de incremento en la tasa de mortalidad cuando aumenta el valor del índice PSI en los casos en los que se detecta la presencia de algún agente viral ha sido descrita también por Kim *et al.* [86], en cuyo trabajo agruparon pacientes en base a la detección positiva o

DISCUSIÓN

ausencia de algún agente viral y observaron que la tasa de mortalidad a los 30 días aumentó con el incremento de la puntuación del PSI en ambos grupos, pero que en el grupo con NAC viral la mortalidad comenzó en la clase IV del PSI con una tasa de 19,7%, muy alejada del 8,2% predicho por Fine *et al.* [82] cuando describieron este índice. En cambio, estos mismos autores [86], pese a encontrar en general tasas mucho más elevadas de mortalidad a las descritas por Fine *et al.* [82] para cada clase, en los pacientes sin detección viral, el aumento de la mortalidad es consecuente al aumento en el valor del índice PSI, y, de hecho, esto se refleja en sus datos, con diferencias significativas en las clases de riesgo más bajas. Sin embargo, muchos autores han defendido el gran potencial del PSI para clasificar especialmente a los pacientes de bajo riesgo [83, 179, 180], algo que no parece suceder cuando existe la presencia de un agente viral y que, por tanto, debería tenerse en cuenta a la hora de utilizar este índice, el cual tendría que ser actualizado en su puntuación.

Por otra parte, Muñoz *et al.* [181] también concluyen en su estudio que el rendimiento del PSI respecto a mortalidad fue óptimo y superior en los adultos con NAC bacterianas, dado que ningún caso leve de etiología bacteriana falleció, y mayor al rendimiento obtenido en las etiologías virales y mixtas, pudiéndose deber al mejor manejo médico de los casos bacterianos, puesto que todo paciente con neumonía recibe antibióticos para disminuir el riesgo de evolución a gravedad mientras que, en las NAC virales, sólo se dispone de terapia antiviral específica en los casos con influenza. Además, estos autores encontraron en el PSI un rendimiento superior al CURB-65 en los casos de etiología bacteriana [181].

Si bien es cierto que el análisis realizado en este trabajo, comparando las variables clínicas entre los diferentes grupos etiológicos, no arrojó ninguna diferencia en varias de las variables que están incluidas en el cálculo del PSI, al igual que, salvo la cardiopatía crónica, tampoco se vieron diferencias en estas variables entre los grupos con y sin diagnóstico etiológico, probablemente en otras de las variables necesarias para el cálculo sí existan esas diferencias, siendo de especial interés una comparación entre etiología bacteriana y un grupo combinado de etiología viral y mixta, similar a la realizada por Kim *et al.* [86], para llevar a cabo un análisis donde se buscaran exclusivamente diferencias entre una etiología bacteriana pura y el efecto de la presencia de al menos un agente viral.

Por todo lo anterior, y siguiendo la misma línea de Muñoz *et al.* [181], sería necesario evaluar la aplicabilidad de esta escala según el agente microbiológico

DISCUSIÓN

detectado, porque el rendimiento pronóstico de PSI respecto a mortalidad se ha demostrado que varía según el agente causal de la NAC en adultos, siendo superior en adultos con NAC bacteriana.

En resumen, este trabajo apoya la necesidad de actualizar los índices de severidad de la neumonía y ajustarlos en base a la presencia del agente etiológico causante de la NAC, especialmente en los casos de NAC viral por VRE, teniendo presente el peor desenlace clínico encontrado en estos pacientes. Además, esta actualización y mejora ayudaría, a su vez, a mejorar el manejo de los pacientes con NAC y a optimizar el uso de terapias antimicrobianas.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

Las conclusiones derivadas de esta Tesis Doctoral son las siguientes:

1. La etiología viral de las neumonías adquiridas en la comunidad muestra una gran diversidad en ausencia de pandemia, lo cual se ha puesto de manifiesto tanto en las muestras del tracto respiratorio superior como en las del tracto respiratorio inferior, estudiado mediante el esputo representativo.
2. La frecuencia de diseminación hematológica de los virus respiratorios endémicos es muy baja y no se asocia con ninguna característica clínica propia.
3. La frecuencia de diseminación hematológica del SARS-CoV-2 es elevada y se asocia con el incremento de los dímeros D, y la LDH, así como a la disminución de linfocitos y plaquetas, factores asociados a mal pronóstico en diversos estudios.
4. La escasa diseminación hematológica de los virus respiratorios endémicos no se asocia a ningún tipo concreto de enfermedad crónica subyacente de los pacientes.
5. La diseminación hematológica del SARS-CoV-2 se asocia con enfermedades subyacentes crónicas debilitantes y/o acompañadas de inmunodeficiencia, como la enfermedad hepática crónica y el trasplante de órgano sólido.
6. La diseminación hematológica del SARS-CoV-2 se asocia con una peor evolución clínica de los pacientes, tanto por la necesidad de soporte ventilatorio como por la mayor mortalidad.
7. Las altas cargas virales cuantificadas para los virus respiratorios endémicos y el SARS-CoV-2 en las muestras del tracto respiratorio, superior e inferior, no se relacionan con la presencia de diseminación viral hematológica.
8. La alteración de los biomarcadores inflamatorios (leucocitos totales, linfocitos totales y proteína C reactiva) es similar en las etiología bacteriana y mixta en la neumonía adquirida en la comunidad. Por otra parte, su análisis no permite discriminar entre las etiologías bacteriana y viral.
9. La sensibilidad diagnóstica de las muestras del tracto respiratorio superior es inferior a la de las muestras del esputo, lo cual implica que una detección viral negativa en una muestra del tracto respiratorio superior no descarta una posible etiología viral de la neumonía adquirida en la comunidad, ni que el resultado del esputo no pueda ser positivo.

CONCLUSIONES

10. La especificidad diagnóstica de las muestras del tracto respiratorio superior es cercana al 100%, lo cual implica que una detección viral positiva en estas muestras hace innecesaria la realización de estudios diagnósticos adicionales.
11. Ninguna de las diferentes etiologías de la NAC consideradas, bacteriana, viral o mixta, se asocia de manera específica con un peor desenlace clínico de los pacientes.
12. La tasa de mortalidad de la neumonía adquirida en la comunidad aumenta paralelamente con la puntuación del *Pneumonia Severity Index* en pacientes con y sin diagnóstico etiológico, mientras que esta progresión no es paralela para el índice CURB-65 en pacientes sin diagnóstico etiológico.
13. La tasa de mortalidad de la neumonía adquirida en la comunidad aumenta paralelamente con la puntuación del *Pneumonia Severity Index* sólo en pacientes con etiología bacteriana, mientras que esta progresión es paralela para el índice CURB-65 en casos de etiología bacteriana y mixta.
14. La progresión de los valores del *Pneumonia Severity Index* y del CURB-65 no predice la mortalidad de pacientes con etiología viral.

ANEXOS

ANEXO 1

ANEXO 1. Consentimiento informado del proyecto “Desarrollo e implementación de criterios diagnósticos con elevada especificidad para la identificación de la etiología viral de la neumonía adquirida en la comunidad (PI17/01055)”

CONSENTIMIENTO INFORMADO – INFORMACIÓN AL PACIENTE

Antes de proceder a la firma de este consentimiento informado, lea atentamente la información que a continuación se le facilita y realice las preguntas que considere oportunas.

Naturaleza:

Desarrollo e implementación de criterios diagnósticos con elevada especificidad para la identificación de la etiología viral de la neumonía adquirida en la comunidad

El papel de las infecciones víricas como agentes causales de las NAC es muy controvertido, ya que en muchas ocasiones coexisten diferentes patógenos, ya sean bacteria/virus, bacteria/bacteria o virus/virus, lo que dificulta la identificación del agente etiológico de la NAC. El propósito principal de esta propuesta será la puesta en marcha de un estudio de cohortes prospectivo en pacientes con NAC ingresados en la unidad de cuidados intensivos (UCI), para evaluar el impacto real de las infecciones virales en el desarrollo de la NAC.

El estudio consistirá en la extracción de muestras nasales de aquellos pacientes diagnosticados de neumonía asociada a la comunidad (NAC) e ingresados en la unidad de cuidados intensivos (UCI). Las muestras nasales serán utilizadas para el aislamiento e identificación de patógenos víricos. Las muestras de sangre y esputo serán utilizadas para la evaluación de la carga viral en aquellos pacientes con muestras nasofaríngeas positivas para virus respiratorios.

También se estudiará la presencia de virus en otras muestras obtenidas de endoscopia, broncoscopia, colonoscopia u otras muestras que estén indicadas clínicamente, en aquellos pacientes con procesos clínicos intercurrentes que puedan estar causados por agentes virales.

Importancia:

Este estudio intentará determinar

1. Conocer la frecuencia de la viremia causada por los virus respiratorios en los pacientes con NAC, y su relación con determinadas características clínicas.
2. Identificar los diferentes agentes virales presentes en las vías respiratorias altas de pacientes adultos con NAC, mediante PCR múltiple a tiempo real en frotis nasofaríngeos (NF).
3. Establecer criterios diagnósticos de alta especificidad de la etiología viral en las NAC, tras el análisis de la carga viral en sangre y esputo, y la detección en muestras de frotis nasofaríngeos.
4. Determinar la frecuencia de co-infección virus-virus y virus-bacterias en la NAC de adultos, una vez establecidos los criterios diagnósticos de alta especificidad, así como la cronología de las mismas en los casos de co-infecciones virus-bacterias.
5. Determinar las características clínicas y pronósticas de los pacientes con diagnóstico de neumonía viral, en casos con viremia vs. casos sin viremia.
6. Comparar las características clínicas y pronósticas de los pacientes con diagnóstico de NAC viral vs. los casos de etiología bacteriana

Implicaciones para el paciente:

1. La participación es totalmente voluntaria.
2. El paciente puede retirarse del estudio cuando así lo manifieste, sin dar explicaciones y sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.
3. Todos los datos carácter personal, obtenidos en este estudio son confidenciales y se tratarán conforme a la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal 15/99.
4. La información obtenida se utilizará exclusivamente para los fines específicos de este estudio.

Riesgos de la investigación para el paciente:

No hay ningún riesgo durante ni posterior a la recogida de muestras.

Si requiere información adicional se puede poner en contacto con nuestro personal de investigación en el teléfono: 955012185 o en el correo electrónico:

jeronimo.pachon.ssp@juntadeandalucia.es

ANEXO 1

CONSENTIMIENTO INFORMADO – CONSENTIMIENTO POR ESCRITO DEL PACIENTE

Desarrollo e implementación de criterios diagnósticos con elevada especificidad para la identificación de la etiología viral de la neumonía adquirida en la comunidad.

Yo _____ (Nombre _____ y Apellidos):

.....
He leído el documento informativo que acompaña a este consentimiento (Información al Paciente)

He podido hacer preguntas sobre el estudio denominado **Desarrollo e implementación de criterios diagnósticos con elevada especificidad para la identificación de la etiología viral de la neumonía adquirida en la comunidad.**

He recibido suficiente información sobre el estudio denominado **Desarrollo e implementación de criterios diagnósticos con elevada especificidad para la identificación de la etiología viral de la neumonía adquirida en la comunidad.**

He hablado con el profesional sanitario informador:

-
- Comprendo que mi participación es voluntaria y soy libre de participar o no en el estudio.
 - Se me ha informado que todos los datos obtenidos en este estudio serán confidenciales y se tratarán conforme establece la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal 15/99.
 - Se me ha informado de que la información obtenida sólo se utilizará para los fines específicos del estudio.
 - Deseo ser informado/a de los datos que se obtengan en el curso de la investigación, incluidos los descubrimientos inesperados que se puedan producir.

Si No

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- Cuando quiera
- Sin tener que dar explicaciones
- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Presto libremente mi conformidad para participar en el proyecto titulado **Desarrollo e implementación de criterios diagnósticos con elevada especificidad para la identificación de la etiología viral de la neumonía adquirida en la comunidad.**

Firma del paciente
(o representante legal en su caso)

Firma del profesional
sanitario informador

Nombre y apellidos:.....

Nombre y apellidos:

Fecha:

Fecha:

ANEXO 2

ANEXO 2. Consentimiento informado del proyecto “Estudio de la carga viral de SARS-CoV-2 en vías respiratorias y sangre como factor asociado al pronóstico de la COVID-19 en adultos (COV20_00580)”

CONSENTIMIENTO INFORMADO – INFORMACIÓN AL PACIENTE

Antes de proceder a la prestar este consentimiento informado, lea atentamente la información que a continuación se le facilita y realice las preguntas que considere oportunas.

Nombre del estudio: Estudio de la carga viral de SARS-CoV-2 en vías respiratorias y sangre como factor asociado al pronóstico de la COVID-19 en adultos

Naturaleza: El papel del nuevo coronavirus (SARS-CoV-2) como agente causal de la enfermedad COVID-19, que cursa con neumonía de adquisición en la comunidad, así como otras manifestaciones clínicas, tiene una gran relevancia sanitaria en la actualidad, habiendo sido declarada esta infección como pandemia por la Organización Mundial de la Salud el 11 de marzo de 2020. Esta nueva enfermedad, por su reciente aparición, precisa de conocer en profundidad todas sus manifestaciones clínicas, los factores que predisponen a un mayor riesgo de padecerla, o de que ésta se comporte con menor o mayor gravedad, sus características evolutivas, el mejor nivel de cuidados sanitarios de las personas enfermas, y su mejor tratamiento. El propósito principal de este estudio es contribuir a mejorar el conocimiento de la enfermedad a través de evaluar la cantidad del coronavirus en muestras de exudado nasofaríngeo, de esputo u otras de vías respiratorias inferiores, de sangre y de heces, para analizar estos resultados, conjuntamente con las características de la enfermedad en cada una de las personas, y su edad, sexo y enfermedades previas, para conocer la influencia de la cantidad de virus en las manifestaciones y evolución de la enfermedad.

El estudio consistirá en la utilización de técnicas de laboratorio para el diagnóstico de virus en las distintas muestras que se obtienen habitualmente en los pacientes con neumonía por COVID-19, o con otras manifestaciones respiratorias o de otros órganos o aparatos, cuando ingresan en el hospital. Consistirá en la toma de muestras nasales (mediante frotis con torunda), de esputo (si el paciente expectora) y de sangre (coincidiendo con otras extracciones habituales) en los pacientes, así como de muestras de heces. Todas las muestras serán utilizadas para la identificación del coronavirus y para la evaluación de la carga viral (cuantificación de virus).

También se estudiará, en su caso, la presencia de virus en otro tipo de muestras como las obtenidas de broncoscopia u otras muestras, siempre que estén indicadas clínicamente, en aquellos pacientes con otros síntomas que puedan estar causados por el nuevo coronavirus.

Importancia: El objetivo general del estudio es conocer mejor cuáles son las manifestaciones clínicas de la enfermedad por este nuevo coronavirus, como base para diseñar mejores tratamientos y cuidados sanitarios a las personas con esta nueva enfermedad COVID-19.

Implicaciones para el paciente:

1. La participación es totalmente voluntaria.
2. El paciente puede retirarse del estudio cuando así lo manifieste, sin dar explicaciones y sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.
3. Todos los datos carácter personal, obtenidos en este estudio son confidenciales y se tratarán conforme a lo dispuesto en la ley Orgánica 3/2018 de 5 de diciembre de protección de datos personales y garantía de los derechos digitales.
4. La información obtenida se utilizará exclusivamente para los fines específicos de este estudio.

Riesgos de la investigación para el paciente:

No hay ningún riesgo relacionado con el estudio, ni durante ni posterior a la recogida de muestras.

Si requiere información adicional se puede poner en contacto con nuestro personal de investigación en el teléfono: 955012185 o en el correo electrónico: jeronimo.pachon.sspa@juntadenadalucia.es

ANEXO 2

CONSENTIMIENTO INFORMADO VERBAL DEL PACIENTE

Nombre del estudio: Estudio de la carga viral de SARS-CoV-2 en vías respiratorias y sangre como factor asociado al pronóstico de la COVID-19 en adultos.

Yo (Nombre y Apellidos):

....., he leído el documento informativo que acompaña a este consentimiento (Información al Paciente).

He podido hacer preguntas sobre el estudio denominado "Estudio de la carga viral de SARS-CoV-2 en vías respiratorias y sangre como factor asociado al pronóstico de la COVID-19 en adultos".

He recibido suficiente información sobre el estudio denominado "Estudio de la carga viral de SARS-CoV-2 en vías respiratorias y sangre como factor asociado al pronóstico de la COVID-19 en adultos".

He hablado con el profesional sanitario informador:

.....

1. Comprendo que mi participación es voluntaria y soy libre de participar o no en el estudio.
2. Se me ha informado que todos los datos obtenidos en este estudio serán confidenciales y se tratarán conforme a lo dispuesto en la ley Orgánica 3/2018 de 5 de diciembre de protección de datos personales y garantía de los derechos digitales.
3. Se me ha informado de que la información obtenida sólo se utilizará para los fines específicos del estudio.
4. Deseo ser informado/a de los datos que se obtengan en el curso de la investigación, incluidos los descubrimientos inesperados que se puedan producir.

Si No

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1. Cuando quiera.
2. Sin tener que dar explicaciones.
3. Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el proyecto titulado "Estudio de la carga viral de SARS-CoV-2 en vías respiratorias y sangre como factor asociado al pronóstico de la COVID-19 en adultos".

Consentimiento verbal del paciente
(o representante legal en su caso)

Firma del profesional
sanitario informador

Nombre y apellidos:.....

Nombre y apellidos:

Fecha:

Fecha:

ANEXO 3

ANEXO 3. Cuaderno de recogida de datos del proyecto “Desarrollo e implementación de criterios diagnósticos con elevada especificidad para la identificación de la etiología viral de la neumonía adquirida en la comunidad (PI17/01055)”.

CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS

Desarrollo e implementación de criterios diagnósticos con elevada especificidad para la identificación de la etiología viral de la neumonía adquirida en la comunidad

Hospital Universitario Virgen del Rocío

IDENTIFICACION

Nº historia clínica

Fecha de ingreso

(dd/mm/aaaa)

CARACTERISTICAS CLINICAS

Demográficas

Edad (años)			
Sexo (0=hombre 1=mujer)		Embarazo (no=0 si=nº de semanas)	
Peso (kg)		Talla (cm)	

Factores de riesgo-comorbilidades:	0=no 1=si	
Enfermedad pulmonar crónica (cualquier etiología)	0=no 1=si	
EPOC	0=no 1=si	
Síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS)	0=no 1=si	
Asma	0=no 1=si	
Diabetes (en tratamiento con insulina o hipoglucemiantes orales)	0=no 1=si	
Daño de órganos por diabetes (neuropatía, nefropatía, retinopatía, etc.)	0=no 1=si	
Cardiopatía crónica (cualquier etiología)	0=no 1=si	
Insuficiencia cardíaca (evidencia hospitalización por ICC)	0=no 1=si	
Enfermedad coronaria (angina o revascularización sin IAM)	0=no 1=si	
Infarto de miocardio (evidencia de hospitalización por IAM)	0=no 1=si	
Enfermedad cerebrovascular (AVC/AIT con o sin secuelas, no incluye hemiplejía)	0=no 1=si	
Hemiplejía (de cualquier causa, incluye paraplejía)	0=no 1=si	
Enfermedad arterial periférica (incluye aneurisma aorta >6cm)	0=no 1=si	
Insuficiencia renal leve (creatinina entre 1.5 – 3 mg/dl [136 - 265 mmol/L])	0=no 1=si	
Insuficiencia renal moderada/severa (creatinina > 3 mg/dl o diálisis)	0=no 1=si	
Enfermedad hepática leve (sin hipertensión portal)	0=no 1=si	
Enfermedad hepática moderada/severa (cirrosis, varices, encefalopatía, ascitis)	0=no 1=si	
Infección por el VIH	0=no 1=si	
SIDA	0=no 1=si	
Tratamiento antirretroviral	0=no 1=si	
Recuento total de linfocitos CD4/ μ l		
% de linfocitos CD4		
Enfermedad de tejido conectivo (lupus, AR, polimiositis, vasculitis)	0=no 1=si	
Neoplasia sólida sin metástasis y diagnóstico < 5 años	0=no 1=si	
Neoplasia con metástasis	0=no 1=si	
Leucemia aguda	0=no 1=si	
Otra hemopatía maligna	0=no 1=si	
Úlcera gastroduodenal (con diagnóstico y tratamiento completo, incluye HDA)	0=no 1=si	
Demencia (deterioro cognitivo crónico con dependencia ABVD)	0=no 1=si	
Trasplante órgano sólido	0=no 1=si	
Trasplante células hematopoyéticas	0=no 1=si	
Otra inmunosupresión (quimioterapia, neutropenia, prednisona >10mg/día >10 días)	0=no 1=si	
Obesidad mórbida (IMC>40)	0=no 1=si	
Otra		
Otra		

ANEXO 3

Residencia en centro socio-sanitario o geriátrico	0=no 1=si	
Fumador	0=no 1=si	
Consumo de alcohol (>3 UBE/día)	0=no 1=si	

Vacuna contra influenza			
Estacional	2016-2017	0=no 1=si	
	2017-2018	0=no 1=si	
Vacuna contra neumococo (\leq 5 años)		0=no 1=si	

Medicamentos previos			
Antibióticos ambulatorios para este episodio		0=no 1=si	
Nombre genérico del antibiótico			
Estatinas previas		0=no 1=si	
Corticosteroides previos		0=no 1=si	
Uso de corticosteroides >10 días		0=no 1=si	

Enfermedad actual:			0=no 1=si
Días de clínica		Diarrea	
Odinofagia		Vómitos	
Escalofríos		Cefalea	
Tos		Alteración de la conciencia	
Disnea		Shock al ingreso	
Dolor pleurítico			
Expectoración (0=ninguna 1=hialina 2=purulenta 3=hemoptoica 4=otra)			

Signos vitales al ingreso:			
Temperatura		Frecuencia cardíaca	
Presión arterial sistólica		Frecuencia respiratoria	
Presión arterial diastólica		Glasgow (solo UCI)	
Saturación basal (pulsioximetría)		FiO ₂ al hacer la pulsioximetría	

Exploración respiratoria al ingreso:			0=no 1=si
Normal		Sibilancias/roncus	
Estertores/crepitantes			

Hallazgos de laboratorio al ingreso:			
Leucocitos totales		Sodio	
Neutrófilos totales		Potasio	
Linfocitos totales		Creatinina	
Hemoglobina		Lactato deshidrogenasa (LDH)	
Plaquetas		Glucosa	
AST		Urea	
ALT		Proteína C reactiva	

Gasometría venosa al ingreso (o arterial si está clínicamente indicada):			
Fracción inspirada de oxígeno (FiO ₂)		PCO ₂	
pH		Bicarbonato	
PaO ₂ (si es arterial)			

ANEXO 3

Radiografía de tórax		
Normal	0=no 1=si	
Infiltrado (1=alv. segmentario 2=alv. unilobar 3=alv. multi-unilateral 4=alv. multi-bilateral 5=int. unilateral 6=int. bilateral)		
Derrame pleural	0=no 1=si	

Diagnóstico definitivo	0=infección respiratoria sin neumonía 1= neumonía	
------------------------	---	--

ESCALAS DE GRAVEDAD DE LA NEUMONIA		
Índice de gravedad de la neumonía		
Edad	(-10 años en mujeres)	
Residencia en centro socio-sanitario o geriátrico	+10	
Enfermedad de base	Neoplasia	+30
	Hepatopatía	+20
	Insuficiencia cardíaca	+10
	AVC	+10
	Insuficiencia renal crónica	+10
Exploración física	Alteración del nivel de conciencia	+20
	Frecuencia respiratoria ≥ 30 respiraciones/min	+20
	Presión arterial sistólica < 90 mmHg	+20
	Temperatura < 35 ó $> 40^{\circ}\text{C}$	+15
	Frecuencia cardíaca ≥ 125 latidos/min	+10
Laboratorios	pH arterial < 7.35	+30
	Urea ≥ 11 mmol/L (urea ≥ 66.1 mg/dl o BUN ≥ 30.8 mg/dl)	+20
	Sodio < 130 mEq/L	+20
	Glucemia ≥ 14 mmol/L (255 mg/dl)	+20
	Hematocrito $< 30\%$	+10
	Presión arterial de oxígeno (PaO ₂) < 60 mmHg ó sat $< 90\%$ ó intubación	+10
	Derrame pleural	+10
Puntos		

CURB-65				
<input type="checkbox"/> Confusión	<input type="checkbox"/> Urea > 7 mmol/l	<input type="checkbox"/> PAS < 90 ó PAD ≤ 60 mmHg	<input type="checkbox"/> Frec. resp. ≥ 30	<input type="checkbox"/> Edad ≥ 65 años
				Puntos

ESTUDIOS MICROBIOLÓGICOS (primeras 24 horas)		
Cultivo de esputo	0=negativo 1=positivo 2=no realizado	
	Germen 1	
	Germen 2	
Hemocultivo	0=negativo 1=positivo 2=no realizado	
	Germen 1	
	Germen 2	
Cultivo de líquido pleural (cuando esté clínicamente indicado)	0=negativo 1=positivo 2=no realizado	
	Germen 1	
	Germen 2	
Fibrobroncoscopia / aspirado endotraqueal (cuando estén clínicamente indicados)	0=negativo 1=positivo 2=no realizado	
	Germen 1	
	Germen 2	
Antígeno de neumococo en orina (siempre)	0=negativo 1=positivo 2=no realizado	
Antígeno de legionella en orina (cuando esté indicado)	0=negativo 1=positivo 2=no realizado	

ANEXO 3

PCR múltiple para virus respiratorios (frotis faringeo/nasal)		
	Muestra positiva (0=no 1=si)	
	Fecha de confirmación del diagnóstico (dd/mm/aaaa)	
Viremia: PCR cuantitativa virus respiratorios (suero)		
	Carga viral (0=no 1=si)	
	Fecha de confirmación del diagnóstico (dd/mm/aaaa)	
Carga viral en esputo		
	Carga viral (0=no 1=si)	
	Fecha de confirmación del diagnóstico (dd/mm/aaaa)	
TRATAMIENTO		
Tratamiento antiviral		
Antiviral empírico		
	Día de inicio de antiviral empírico	
	Dosis de oseltamivir	
	Días totales de tratamiento antiviral	
Tratamiento antibacteriano inicial		
Antibacteriano empírico 1 y dosis/día		
Antibacteriano empírico 2 y dosis/día		
	Día de inicio de tratamiento antibacteriano	
Estatinas durante hospitalización 0=no 1=si		
Corticoesteroides durante hospitalización 0=no 1=si		
	Día de inicio de corticoesteroides	
	Días totales de tratamiento con corticoesteroides	
	Dosis de inicio mayor de 300 mg/día de hidrocortisona o 60 mg/día de prednisona o metilprednisolona, respectivamente 0=no 1=si	
EVOLUCION		
Días de fiebre		
Días hasta alcanzar la estabilidad clínica (medicaciones a partir del 2º día tras inicio tratamiento) (FR ≤ 24, PAS ≥ 90 mmHg, sat. ≥ 90%, temp. ≤ 37.2°C, estado mental normal, ingesta normal)		
Complicaciones 0=no 1=si		
Ingreso a UCI 0=no 1=si		
	Día de ingreso en UCI	
	Valor índice de APACHE II al ingreso en UCI (Solo UCI)	
	Días totales de estancia en UCI	
Respiratorias 0=no 1=si		
	Intubación/ventilación mecánica 0=no 1=si	
	Ventilación mecánica no invasiva 0=no 1=si	
	Síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) 0=no 1=si	
	Empiema 0=no 1=si	
	Drenaje pleural 0=no 1=si	
Shock posterior al día de ingreso 0=no 1=si		
Infección nosocomial 0=no 1=si		
	Neumonía asociada a ventilación mecánica 0=no 1=si	
	Bacteriemia por catéter 0=no 1=si	
	Otra	
Otra complicación 1		
Otra complicación 2		
Fecha de alta o mortalidad (dd/mm/aaaa)		
Reingreso (<30 días) 0=no 1=si		
MORTALIDAD 0=no 1=si		

ANEXO 4

ANEXO 4. Cuaderno de recogida de datos del proyecto “Estudio de la carga viral de SARS-CoV-2 en vías respiratorias y sangre como factor asociado al pronóstico de la COVID-19 en adultos (COV20_00580)”.

CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS

Estudio de la carga viral de SARS-CoV-2 en vías respiratorias y sangre como factor asociado al pronóstico de la COVID-19 en adultos

Hospital Universitario Virgen del Rocío

IDENTIFICACION

Nº historia clínica

Fecha de ingreso

(dd/mm/aaaa)

CARACTERISTICAS CLINICAS

Demográficas

Edad (años)			
Sexo (0=hombre 1=mujer)			
Peso (kg)		Talla (cm)	

Profesional sanitario	0=no 1=si	
Índice de Charlson	numérico	
Factores de riesgo-comorbilidades:	0=no 1=si	
Enfermedad pulmonar crónica (cualquier etiología)	0=no 1=si	
EPOC	0=no 1=si	
Síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS)	0=no 1=si	
Asma	0=no 1=si	
Diabetes (en tratamiento con insulina o hipoglucemiantes orales)	0=no 1=si	
Daño de órganos por diabetes (neuropatía, nefropatía, retinopatía, etc.)	0=no 1=si	
Cardiopatía crónica (cualquier etiología)	0=no 1=si	
Insuficiencia cardíaca (evidencia hospitalización por ICC)	0=no 1=si	
Enfermedad coronaria (angina o revascularización sin IAM)	0=no 1=si	
Infarto de miocardio (evidencia de hospitalización por IAM)	0=no 1=si	
Enfermedad cerebrovascular (AVC/AIT con o sin secuelas, no incluye hemiplejía)	0=no 1=si	
Hemiplejía (de cualquier causa, incluye paraplejía)	0=no 1=si	
Enfermedad arterial periférica (incluye aneurisma aorta >6cm)	0=no 1=si	
Insuficiencia renal leve (creatinina entre 1.5 – 3 mg/dl [136 - 265 mmol/L])	0=no 1=si	
Insuficiencia renal moderada/severa (creatinina > 3 mg/dl o diálisis)	0=no 1=si	
Enfermedad hepática leve (sin hipertensión portal)	0=no 1=si	
Enfermedad hepática moderada/severa (cirrosis, varices, encefalopatía, ascitis)	0=no 1=si	
Infección por el VIH	0=no 1=si	
SIDA	0=no 1=si	
Tratamiento antirretroviral	0=no 1=si	
Recuento total de linfocitos CD4/µl		
% de linfocitos CD4		
Enfermedad de tejido conectivo (lupus, AR, polimiositis, vasculitis)	0=no 1=si	
Neoplasia sólida sin metástasis y diagnóstico < 5 años	0=no 1=si	
Neoplasia con metástasis	0=no 1=si	
Leucemia aguda	0=no 1=si	
Otra hemopatía maligna	0=no 1=si	
Úlcera gastroduodenal (con diagnóstico y tratamiento completo, incluye HDA)	0=no 1=si	
Demencia (deterioro cognitivo crónico con dependencia ABVD)	0=no 1=si	
Trasplante órgano sólido	0=no 1=si	
Trasplante células hematopoyéticas	0=no 1=si	
Otra inmunosupresión (quimioterapia, neutropenia)	0=no 1=si	
Corticosteroides (prednisona >10mg/día >10 días)	0=no 1=si	
Obesidad mórbida (IMC >40)	0=no 1=si	
Otra		

ANEXO 4

Otra		
Embarazo	0=no 1=si	
Edad gestacional	semana	
Residencia en centro socio-sanitario o geriátrico	0=no 1=si	
Fumador	0=no 1=si	
Consumo de alcohol (>3 UBE/día)	0=no 1=si	

Enfermedad actual:		0=no 1=si
Fecha inicio de clínica		Fecha de 1ª consulta
Fecha ingreso		Infección VRA
Traqueobronquitis		Neumonía
Fiebre		Disnea
Escalofríos		Cefalea
Artromialgias		Tos
Coriza		Odinofagia
Anosmia		Disgeusia
Diarrea		Vómitos
Alteración de la conciencia		Dolor pleurítico
Expectoración (0=ninguna 1=hialina 2=purulenta 3=hemoptoica 4=otra)		

Signos vitales al ingreso:			
Temperatura		Frecuencia cardiaca	
Presión arterial sistólica		Frecuencia respiratoria	
Presión arterial diastólica		Glasgow (solo UCI)	
Saturación basal (pulsioximetría)		FiO ₂ al hacer la pulsioximetría	
Shock al ingreso		qSOFA	
Brescia-COVID		CURB-65	

Exploración respiratoria al ingreso:		0=no 1=si
Normal		Sibilancias/roncus
Estertores/crepitanes		

Hallazgos de laboratorio al ingreso:			
Leucocitos totales		Sodio	
Neutrófilos totales		Potasio	
Linfocitos totales		Creatinina	
Hemoglobina		Lactato deshidrogenasa (LDH)	
Plaquetas		Glucosa	
AST		Urea	
ALT		Proteína C reactiva	
Bilirrubina total		Troponina	
IL-6		Dímeros D	

Gasometría venosa al ingreso (o arterial si está clínicamente indicada):			
Fracción inspirada de oxígeno (FiO ₂)		PCO ₂	
pH		Bicarbonato	
PaO ₂ (si es arterial)		Lactato	

ANEXO 4

Radiografía y TAC de tórax		
Rx Normal	0=no 1=si	
TAC Normal	0=no 1=si	
Rx: Infiltrado (1=alv. segmentario 2=alv. unilobar 3=alv. multi-unilateral 4=alv. multi-bilateral 5=int. unilateral 6=int. bilateral)		
TAC: Infiltrado (1=alv. segmentario 2=alv. unilobar 3=alv. multi-unilateral 4=alv. multi-bilateral 5=int. unilateral 6=int. bilateral)		
Rx con derrame pleural	0=no 1=si	
TAC con derrame pleural	0=no 1=si	
Diagnóstico definitivo		
	0=infección respiratoria sin neumonía 1= neumonía	

ESTUDIOS MICROBIOLÓGICOS (primeras 24 horas)				
Cultivo de esputo		0=negativo 1=positivo 2=no realizado		
	Germen 1			
	Germen 2			
Hemocultivo		0=negativo 1=positivo 2=no realizado		
	Germen 1			
	Germen 2			
Cultivo de líquido pleural (cuando esté clínicamente indicado)		0=negativo 1=positivo 2=no realizado		
	Germen 1			
	Germen 2			
Fibrobroncoscopia / aspirado endotraqueal (cuando estén clínicamente indicado)		0=negativo 1=positivo 2=no realizado		
	Germen 1			
	Germen 2			
Antígeno de neumococo en orina			0=negativo 1=positivo 2=no realizado	
Antígeno de <i>Legionella</i> en orina			0=negativo 1=positivo 2=no realizado	

PCR SARS-CoV-2 (frotis nasofaríngeo)		
Fecha	Muestra positiva (0=no 1=si)	
	Fecha de confirmación del diagnóstico (dd/mm/aaaa)	
Carga viral SARS-CoV-2 (frotis nasofaríngeo)		
Fecha	Carga viral (0=no 1=si)	
	Fecha de confirmación del diagnóstico (dd/mm/aaaa)	
Carga viral en esputo SARS-CoV-2		
Fecha	Carga viral (0=no 1=si)	
	Fecha de confirmación del diagnóstico (dd/mm/aaaa)	
Carga viral en broncoaspirado SARS-CoV-2		
Fecha	Muestra positiva (0=no 1=si)	
	Fecha de confirmación del diagnóstico (dd/mm/aaaa)	
Viremia: PCR cuantitativa SARS-CoV-2		
Fecha	Carga viral (0=no 1=si)	
	Fecha de confirmación del diagnóstico (dd/mm/aaaa)	
PCR en heces SARS-CoV-2		
Fecha	Carga viral (0=no 1=si)	
	Fecha de confirmación del diagnóstico (dd/mm/aaaa)	
PCR multiplex virus respiratorios frotis nasofaríngeo		
Fecha	Muestra positiva (0=no 1=si)	
	Fecha de confirmación del diagnóstico (dd/mm/aaaa)	

ANEXO 4

Viremia: PCR cuantitativa virus respiratorios (28 días o alta)		
Fecha	Carga viral (0=no 1=si)	
	Fecha de confirmación del diagnóstico (dd/mm/aaaa)	
PCR en heces SARS-CoV-2 (28 días o alta)		
Fecha	Carga viral (0=no 1=si)	
	Fecha de confirmación del diagnóstico (dd/mm/aaaa)	

TRATAMIENTO		
Tratamiento antiviral		
Antiviral empírico		
	Día de inicio de antiviral empírico	
	Dosis de Remdesivir	
	Días totales de tratamiento antiviral	

TRATAMIENTO		
Tratamiento antiviral		
Antiviral empírico		
	Día de inicio de antiviral empírico	
	Dosis de Tocilizumab	
	Días totales de tratamiento antiviral	

TRATAMIENTO		
Tratamiento antiviral		
Antiviral empírico		
	Día de inicio de antiviral empírico	
	Dosis de Cloroquina	
	Días totales de tratamiento antiviral	

TRATAMIENTO		
Tratamiento antiviral		
Antiviral empírico		
	Día de inicio de antiviral empírico	
	Dosis de Hidroxicloroquina	
	Días totales de tratamiento antiviral	

TRATAMIENTO		
Tratamiento antiviral		
Antiviral empírico		
	Día de inicio de antiviral empírico	
	Dosis de Interferon	
	Días totales de tratamiento antiviral	

TRATAMIENTO		
Tratamiento antiviral		
Antiviral empírico		
	Día de inicio de antiviral empírico	
	Dosis de otros	
	Días totales de tratamiento antiviral	

Tratamiento antibacteriano inicial		
Antibacteriano empírico 1 y dosis/día		
Antibacteriano empírico 2 y dosis/día		
	Día de inicio de tratamiento antibacteriano	

Estatinas durante hospitalización	0=no 1=si	
Corticoesteroides durante hospitalización	0=no 1=si	
	Día de inicio de corticoesteroides	
	Días totales de tratamiento con corticoesteroides	
		0=no 1=si

ANEXO 4

Dosis de inicio mayor de 300 mg/día de hidrocortisona o 60 mg/día de prednisona o metilprednisolona, respectivamente	
--	--

EVOLUCION			
Días de fiebre			
Complicaciones		0=no 1=si	
Ingreso a UCI		0=no 1=si	
	Día de ingreso en UCI		
	Valor índice de APACHE II al ingreso en UCI (Solo UCI)		
	Días totales de estancia en UCI		
Respiratorias		0=no 1=si	
	Intubación/ventilación mecánica	0=no 1=si	
	Ventilación mecánica no invasiva	0=no 1=si	
	TAF	0=no 1=si	
	Síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA)	0=no 1=si	
Shock posterior al día de ingreso		0=no 1=si	
Infección nosocomial		0=no 1=si	
	Neumonía asociada a ventilación mecánica	0=no 1=si	
	Bacteriemia por catéter	0=no 1=si	
	Otra		
Otra complicación 1			
Otra complicación 2			
Fecha de alta o mortalidad	(dd/mm/aaaa)		
Reingreso (<30 días)		0=no 1=si	
MORTALIDAD		0=no 1=si	
Causa de la muerte			

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Burk, M., *et al.*, *Viral infection in community-acquired pneumonia: a systematic review and meta-analysis*. Eur Respir Rev, 2016. **25**(140): p. 178-88.
2. Musher, D.M. y Thorner, A.R., *Community-acquired pneumonia*. N Engl J Med, 2014. **371**(17): p. 1619-28.
3. Ruuskanen, O., *et al.*, *Viral pneumonia*. Lancet, 2011. **377**(9773): p. 1264-75.
4. Jain, S., *et al.*, *Community-Acquired Pneumonia Requiring Hospitalization among U.S. Adults*. N Engl J Med, 2015. **373**(5): p. 415-27.
5. Dandachi, D. y Rodriguez-Barradas, M.C., *Viral pneumonia: etiologies and treatment*. J Investig Med, 2018. **66**(6): p. 957-965.
6. Tatarelli, P., *et al.*, *Prevalence and clinical impact of Viral Respiratory tract infections in patients hospitalized for Community-Acquired Pneumonia: the VIRCAP study*. Intern Emerg Med, 2020. **15**(4): p. 645-654.
7. Lee, R.A., *et al.*, *Performance of Saliva, Oropharyngeal Swabs, and Nasal Swabs for SARS-CoV-2 Molecular Detection: a Systematic Review and Meta-analysis*. J Clin Microbiol, 2021. **59**(5).
8. Cavallazzi, R. y Ramirez, J.A., *Influenza and Viral Pneumonia*. Clin Chest Med, 2018. **39**(4): p. 703-721.
9. Fong, I.W., *Issues in Community-Acquired Pneumonia*. Current Trends and Concerns in Infectious Diseases, 2020: p. 59-79.
10. *Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019*. Lancet, 2020. **396**(10258): p. 1204-1222.
11. WHO, *Leading causes of death and disability 2000–2019: a visual summary*. 2020. Disponible en: <https://www.who.int/data/stories/leading-causes-of-death-and-disability-2000-2019-a-visual-summary>
12. Ferreira-Coimbra, J., *et al.*, *Burden of Community-Acquired Pneumonia and Unmet Clinical Needs*. Adv Ther, 2020. **37**(4): p. 1302-1318.
13. Metlay, J.P., *et al.*, *Diagnosis and Treatment of Adults with Community-acquired Pneumonia. An Official Clinical Practice Guideline of the American Thoracic Society and Infectious Diseases Society of America*. Am J Respir Crit Care Med, 2019. **200**(7): p. e45-e67.
14. Martin-Loeches, I. y Torres, A., *New guidelines for severe community-acquired pneumonia*. Current Opinion in Pulmonary Medicine, 2021. **27**(3): p. 210-215.
15. Torres, A., *et al.*, *Pneumonia*. Nat Rev Dis Primers, 2021. **7**(1): p. 25.

BIBLIOGRAFÍA

16. Lanks, C.W., *et al.*, *Community-acquired Pneumonia and Hospital-acquired Pneumonia*. Med Clin North Am, 2019. **103**(3): p. 487-501.
17. Eshwara, V.K., *et al.*, *Community-acquired bacterial pneumonia in adults: An update*. Indian J Med Res, 2020. **151**(4): p. 287-302.
18. Dhand, R. y Li, J., *Coughs and Sneezes: Their Role in Transmission of Respiratory Viral Infections, Including SARS-CoV-2*. Am J Respir Crit Care Med, 2020. **202**(5): p. 651-659.
19. Jayaweera, M., *et al.*, *Transmission of COVID-19 virus by droplets and aerosols: A critical review on the unresolved dichotomy*. Environ Res, 2020. **188**: p. 109819.
20. Ramsey, C.D. y Kumar, A., *Influenza and endemic viral pneumonia*. Crit Care Clin, 2013. **29**(4): p. 1069-86.
21. Umakanthan, S., *et al.*, *Origin, transmission, diagnosis and management of coronavirus disease 2019 (COVID-19)*. Postgrad Med J, 2020. **96**(1142): p. 753-758.
22. Gadsby, N.J., *et al.*, *Comprehensive Molecular Testing for Respiratory Pathogens in Community-Acquired Pneumonia*. Clin Infect Dis, 2016. **62**(7): p. 817-823.
23. Zhou, F., *et al.*, *Disease severity and clinical outcomes of community acquired pneumonia caused by non-influenza respiratory viruses in adults: a multicenter prospective registry study from CAP-China Network*. European Respiratory Journal, 2019: p. 1802406.
24. Jacobs, S.E., *et al.*, *Human rhinoviruses*. Clin Microbiol Rev, 2013. **26**(1): p. 135-62.
25. Kerr, S.L., *et al.*, *Rhinovirus and Cell Death*. Viruses, 2021. **13**(4).
26. Choi, S.-H., *et al.*, *Clinical characteristics and outcomes of severe rhinovirus-associated pneumonia identified by bronchoscopic bronchoalveolar lavage in adults: comparison with severe influenza virus-associated pneumonia*. Journal of clinical Virology, 2015. **62**: p. 41-47.
27. Wu, X., *et al.*, *Etiology of Severe Community-Acquired Pneumonia in Adults Based on Metagenomic Next-Generation Sequencing: A Prospective Multicenter Study*. Infect Dis Ther, 2020. **9**(4): p. 1003-1015.
28. Iuliano, A.D., *et al.*, *Estimates of global seasonal influenza-associated respiratory mortality: a modelling study*. Lancet, 2018. **391**(10127): p. 1285-1300.

BIBLIOGRAFÍA

29. WHO, *Influenza (Seasonal)*. 2018. Disponible en: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal))
30. Hammond, A., *et al.*, *Review of the 2018-2019 influenza season in the northern hemisphere*. Weekly Epidemiological Record, 2019. **94**: p. 345-363.
31. Morens, D.M., *et al.*, *The 1918 influenza pandemic: lessons for 2009 and the future*. Crit Care Med, 2010. **38**(4 Suppl): p. e10-20.
32. Piret, J. y Boivin, G., *Pandemics Throughout History*. Frontiers in Microbiology, 2021. **11**.
33. Hammond, A., *et al.*, *Review of the 2017-2018 influenza season in the northern hemisphere/Bilan de la saison grippale 2017-2018 dans l'hémisphère Nord*. Weekly Epidemiological Record, 2018. **93**: p. 429-444.
34. Guo, F., *et al.*, *Origin and Evolution of H1N1/pdm2009: A Codon Usage Perspective*. Frontiers in Microbiology, 2020. **11**.
35. Self, W.H., *et al.*, *The high burden of pneumonia on US emergency departments during the 2009 influenza pandemic*. J Infect, 2014. **68**(2): p. 156-64.
36. Wiemken, T., *et al.*, *Incidence of respiratory viruses in patients with community-acquired pneumonia admitted to the intensive care unit: results from the Severe Influenza Pneumonia Surveillance (SIPS) project*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2013. **32**(5): p. 705-10.
37. Lin, C., *et al.*, *Etiology and characteristics of community-acquired pneumonia in an influenza epidemic period*. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, 2019. **64**: p. 153-158.
38. Sockrider, M. y Katkin, J., *What is respiratory syncytial virus (RSV)?* Am J Respir Crit Care Med, 2015. **191**(3): p. P3-4.
39. Leung, A.K.C., *et al.*, *Community-Acquired Pneumonia in Children*. Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov, 2018. **12**(2): p. 136-144.
40. Walter, J.M., *Other Respiratory Viruses as a Cause of Community-Acquired Pneumonia*. Semin Respir Crit Care Med, 2020. **41**(4): p. 579-591.
41. Nam, H.H. y Ison, M.G., *Respiratory syncytial virus infection in adults*. Bmj, 2019. **366**: p. 15021.
42. Ieven, M., *et al.*, *Aetiology of lower respiratory tract infection in adults in primary care: a prospective study in 11 European countries*. Clin Microbiol Infect, 2018. **24**(11): p. 1158-1163.

BIBLIOGRAFÍA

43. Saib, I., *et al.*, *Non-SARS Non-MERS Human Coronaviruses: Clinical Characteristics and Outcome*. Pathogens, 2021. **10**(12).
44. Hasöksüz, M., *et al.*, *Coronaviruses and SARS-COV-2*. Turk J Med Sci, 2020. **50**(Si-1): p. 549-556.
45. Lieberman, D., *et al.*, *Respiratory viruses in adults with community-acquired pneumonia*. Chest, 2010. **138**(4): p. 811-6.
46. Zhong, N.S., *et al.*, *Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003*. Lancet, 2003. **362**(9393): p. 1353-8.
47. Peiris, J.S., *et al.*, *The severe acute respiratory syndrome*. N Engl J Med, 2003. **349**(25): p. 2431-41.
48. Chen, B., *et al.*, *Overview of lethal human coronaviruses*. Signal Transduct Target Ther, 2020. **5**(1): p. 89.
49. WHO, *MERS situation update, October 2021*. 2021. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/349411>
50. WHO, *WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard*. 2021. Disponible en: <https://covid19.who.int/>
51. Lion, T., *Adenovirus infections in immunocompetent and immunocompromised patients*. Clin Microbiol Rev, 2014. **27**(3): p. 441-62.
52. Gelfer, G., *et al.*, *The clinical impact of the detection of potential etiologic pathogens of community-acquired pneumonia*. Diagn Microbiol Infect Dis, 2015. **83**(4): p. 400-6.
53. Tan, D., *et al.*, *Severe Community-Acquired Pneumonia Caused by Human Adenovirus in Immunocompetent Adults: A Multicenter Case Series*. PLoS One, 2016. **11**(3): p. e0151199.
54. Feuillet, F., *et al.*, *Ten years of human metapneumovirus research*. J Clin Virol, 2012. **53**(2): p. 97-105.
55. Cunha, B.A., *et al.*, *Human parainfluenza virus type 3 (HPIV 3) viral community-acquired pneumonia (CAP) mimicking swine influenza (H1N1) during the swine flu pandemic*. Heart Lung, 2011. **40**(1): p. 76-80.
56. Fry, A.M., *et al.*, *Human bocavirus: a novel parvovirus epidemiologically associated with pneumonia requiring hospitalization in Thailand*. J Infect Dis, 2007. **195**(7): p. 1038-45.

BIBLIOGRAFÍA

57. Ghietto, L.M., *et al.*, *High frequency of human bocavirus 1 DNA in infants and adults with lower acute respiratory infection*. J Med Microbiol, 2012. **61**(Pt 4): p. 548-551.
58. Aliberti, S., *et al.*, *Community-acquired pneumonia*. Lancet, 2021. **398**(10303): p. 906-919.
59. Smith, C.M., *et al.*, *Respiratory syncytial virus increases the virulence of Streptococcus pneumoniae by binding to penicillin binding protein 1a. A new paradigm in respiratory infection*. Am J Respir Crit Care Med, 2014. **190**(2): p. 196-207.
60. Voiriot, G., *et al.*, *Viral-bacterial coinfection affects the presentation and alters the prognosis of severe community-acquired pneumonia*. Crit Care, 2016. **20**(1): p. 375.
61. Cillóniz, C., *et al.*, *Polymicrobial community-acquired pneumonia: An emerging entity*. Respirology, 2016. **21**(1): p. 65-75.
62. Shoar, S. y Musher, D.M., *Etiology of community-acquired pneumonia in adults: a systematic review*. Pneumonia (Nathan), 2020. **12**: p. 11.
63. Falsey, A.R., *et al.*, *Bacterial complications of respiratory tract viral illness: a comprehensive evaluation*. J Infect Dis, 2013. **208**(3): p. 432-41.
64. Mulcahy Michelle, E. y McLoughlin Rachel, M., *Staphylococcus aureus and Influenza A Virus: Partners in Coinfection*. mBio. **7**(6): p. e02068-16.
65. Choi, S.H., *et al.*, *Viral infection in patients with severe pneumonia requiring intensive care unit admission*. Am J Respir Crit Care Med, 2012. **186**(4): p. 325-32.
66. Schnell, D., *et al.*, *Burden of respiratory viruses in patients with acute respiratory failure*. J Med Virol, 2014. **86**(7): p. 1198-202.
67. Crotty, M.P., *et al.*, *Epidemiology, Co-Infections, and Outcomes of Viral Pneumonia in Adults: An Observational Cohort Study*. Medicine (Baltimore), 2015. **94**(50): p. e2332.
68. Self, W.H., *et al.*, *Respiratory Viral Detection in Children and Adults: Comparing Asymptomatic Controls and Patients With Community-Acquired Pneumonia*. J Infect Dis, 2016. **213**(4): p. 584-91.
69. Qu, J.X., *et al.*, *Viral etiology of community-acquired pneumonia among adolescents and adults with mild or moderate severity and its relation to age and severity*. BMC Infect Dis, 2015. **15**: p. 89.

BIBLIOGRAFÍA

70. Jennings, L.C., *et al.*, *Incidence and characteristics of viral community-acquired pneumonia in adults*. Thorax, 2008. **63**(1): p. 42-8.
71. Pagliano, P., *et al.*, *Characteristics of viral pneumonia in the COVID-19 era: an update*. Infection, 2021. **49**(4): p. 607-616.
72. Song, J.Y., *et al.*, *Clinical, laboratory and radiologic characteristics of 2009 pandemic influenza A/H1N1 pneumonia: primary influenza pneumonia versus concomitant/secondary bacterial pneumonia*. Influenza Other Respir Viruses, 2011. **5**(6): p. e535-43.
73. Kim, E.A., *et al.*, *Viral pneumonias in adults: radiologic and pathologic findings*. Radiographics, 2002. **22 Spec No**: p. S137-49.
74. Müller, N., *et al.*, *Viruses, mycoplasma, and chlamydia*. Imaging of Pulmonary Infections. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, 2007: p. P94.
75. Riquelme, R., *et al.*, *Influenza pneumonia: a comparison between seasonal influenza virus and the H1N1 pandemic*. Eur Respir J, 2011. **38**(1): p. 106-11.
76. Hu, B., *et al.*, *Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19*. Nat Rev Microbiol, 2021. **19**(3): p. 141-154.
77. Jiang, F., *et al.*, *Review of the Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)*. J Gen Intern Med, 2020. **35**(5): p. 1545-1549.
78. Wang, K., *The Clinical Characteristics of Rhinoviruses Infections in Adult Community-Acquired Pneumonia*. Chest, 2016. **149**(4): p. A87.
79. Falsey, A.R. y Walsh, E.E., *Respiratory syncytial virus infection in adults*. Clin Microbiol Rev, 2000. **13**(3): p. 371-84.
80. Fica, C.A., *et al.*, *Respiratory infections caused by metapneumovirus in elderly patients*. Rev Chilena Infectol, 2011. **28**(2): p. 174-8.
81. Howard, L.M., *et al.*, *Clinical Features of Human Metapneumovirus-Associated Community-acquired Pneumonia Hospitalizations*. Clin Infect Dis, 2021. **72**(1): p. 108-117.
82. Fine, M.J., *et al.*, *A prediction rule to identify low-risk patients with community-acquired pneumonia*. N Engl J Med, 1997. **336**(4): p. 243-50.
83. Aujesky, D. y Fine, M.J., *The pneumonia severity index: a decade after the initial derivation and validation*. Clin Infect Dis, 2008. **47 Suppl 3**: p. S133-9.
84. Lim, W.S., *et al.*, *Defining community acquired pneumonia severity on presentation to hospital: an international derivation and validation study*. Thorax, 2003. **58**(5): p. 377-82.

BIBLIOGRAFÍA

85. Neill, A.M., *et al.*, *Community acquired pneumonia: aetiology and usefulness of severity criteria on admission*. *Thorax*, 1996. **51**(10): p. 1010-6.
86. Kim, M.A., *et al.*, *Pneumonia severity index in viral community acquired pneumonia in adults*. *PLoS One*, 2019. **14**(3): p. e0210102.
87. Huijskens, E.G.W., *et al.*, *The value of signs and symptoms in differentiating between bacterial, viral and mixed aetiology in patients with community-acquired pneumonia*. *J Med Microbiol*, 2014. **63**(Pt 3): p. 441-452.
88. Luchsinger, V., *et al.*, *Community-acquired pneumonia in Chile: the clinical relevance in the detection of viruses and atypical bacteria*. *Thorax*, 2013. **68**(11): p. 1000-6.
89. Sangil, A., *et al.*, *Aetiology of community-acquired pneumonia among adults in an H1N1 pandemic year: the role of respiratory viruses*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2012. **31**(10): p. 2765-72.
90. Kim, J.E., *et al.*, *Predictors of viral pneumonia in patients with community-acquired pneumonia*. *PLoS One*, 2014. **9**(12): p. e114710.
91. Pachón, J., *et al.*, *Infecciones en el tracto respiratorio inferior*. *Protocolos clínicos SEIMC*, 2000: p. 11-17.
92. Aydemir, Y., *et al.*, *Value of multiplex PCR to determine the bacterial and viral aetiology of pneumonia in school-age children*. *Paediatr Int Child Health*, 2017. **37**(1): p. 29-34.
93. Lieberman, D., *et al.*, *Identification of respiratory viruses in adults: nasopharyngeal versus oropharyngeal sampling*. *J Clin Microbiol*, 2009. **47**(11): p. 3439-43.
94. Zhang, H., *et al.*, *Detection of Viruses by Multiplex Real-Time Polymerase Chain Reaction in Bronchoalveolar Lavage Fluid of Patients with Nonresponding Community-Acquired Pneumonia*. *Can Respir J*, 2020. **2020**: p. 8715756.
95. Krause, J.C., *et al.*, *The role of multiplex PCR in respiratory tract infections in children*. *Dtsch Arztebl Int*, 2014. **111**(38): p. 639-45.
96. Das, D., *et al.*, *Viruses detected by systematic multiplex polymerase chain reaction in adults with suspected community-acquired pneumonia attending emergency departments in France*. *Clin Microbiol Infect*, 2015. **21**(6): p. 608.e1-8.
97. Vandendriessche, S., *et al.*, *Evaluation of the Seegene Allplex™ Respiratory Panel for diagnosis of acute respiratory tract infections*. *Acta Clin Belg*, 2019. **74**(6): p. 379-385.

BIBLIOGRAFÍA

98. Choudhary, M.L., *et al.*, *Comparison of the conventional multiplex RT-PCR, real time RT-PCR and Luminex xTAG® RVP fast assay for the detection of respiratory viruses*. J Med Virol, 2016. **88**(1): p. 51-7.
99. Prachayangprecha, S., *et al.*, *Exploring the potential of next-generation sequencing in detection of respiratory viruses*. J Clin Microbiol, 2014. **52**(10): p. 3722-30.
100. Mulcahy-O'Grady, H. y Workentine, M.L., *The Challenge and Potential of Metagenomics in the Clinic*. Front Immunol, 2016. **7**: p. 29.
101. Lipkin, W.I., *The changing face of pathogen discovery and surveillance*. Nat Rev Microbiol, 2013. **11**(2): p. 133-41.
102. Bertelli, C. y Greub, G., *Rapid bacterial genome sequencing: methods and applications in clinical microbiology*. Clin Microbiol Infect, 2013. **19**(9): p. 803-13.
103. Gómez, C.E., *et al.*, *Emerging SARS-CoV-2 Variants and Impact in Global Vaccination Programs against SARS-CoV-2/COVID-19*. Vaccines (Basel), 2021. **9**(3).
104. Karim, S.S.A. y Karim, Q.A., *Omicron SARS-CoV-2 variant: a new chapter in the COVID-19 pandemic*. Lancet, 2021. **398**(10317): p. 2126-2128.
105. *Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework*. Clin Pharmacol Ther, 2001. **69**(3): p. 89-95.
106. Karakioulaki, M. y Stolz, D., *Biomarkers in Pneumonia-Beyond Procalcitonin*. Int J Mol Sci, 2019. **20**(8).
107. Ito, A. y Ishida, T., *Diagnostic markers for community-acquired pneumonia*. Ann Transl Med, 2020. **8**(9): p. 609.
108. Bhuiyan, M.U., *et al.*, *Combination of clinical symptoms and blood biomarkers can improve discrimination between bacterial or viral community-acquired pneumonia in children*. BMC Pulm Med, 2019. **19**(1): p. 71.
109. Ge, C., *et al.*, *Neutrophils play an ongoing role in preventing bacterial pneumonia by blocking the dissemination of Staphylococcus aureus from the upper to the lower airways*. Immunol Cell Biol, 2020. **98**(7): p. 577-594.
110. Grudzinska, F.S., *et al.*, *Neutrophils in community-acquired pneumonia: parallels in dysfunction at the extremes of age*. Thorax, 2020. **75**(2): p. 164-171.
111. Liem, N.T., *et al.*, *Clinical features of human influenza A (H5N1) infection in Vietnam: 2004–2006*. Clinical Infectious Diseases, 2009. **48**(12): p. 1639-1646.

BIBLIOGRAFÍA

112. Cesario, T.C., *Viruses associated with pneumonia in adults*. Clin Infect Dis, 2012. **55**(1): p. 107-13.
113. Müller, F., *et al.*, *Procalcitonin levels predict bacteremia in patients with community-acquired pneumonia: a prospective cohort trial*. Chest, 2010. **138**(1): p. 121-9.
114. Schuetz, P., *et al.*, *Procalcitonin to initiate or discontinue antibiotics in acute respiratory tract infections*. Cochrane Database Syst Rev, 2017. **10**(10): p. Cd007498.
115. Brendish, N.J. y Clark, T.W., *Antiviral treatment of severe non-influenza respiratory virus infection*. Curr Opin Infect Dis, 2017. **30**(6): p. 573-578.
116. Ison, M.G., *Antiviral Treatments*. Clin Chest Med, 2017. **38**(1): p. 139-153.
117. McKimm-Breschkin, J.L., *Influenza neuraminidase inhibitors: antiviral action and mechanisms of resistance*. Influenza Other Respir Viruses, 2013. **7 Suppl 1**(Suppl 1): p. 25-36.
118. Gong, J., *et al.*, *Structure and functions of influenza virus neuraminidase*. Curr Med Chem, 2007. **14**(1): p. 113-22.
119. Kamali, A. y Holodniy, M., *Influenza treatment and prophylaxis with neuraminidase inhibitors: a review*. Infect Drug Resist, 2013. **6**: p. 187-98.
120. Tao, K., *et al.*, *SARS-CoV-2 Antiviral Therapy*. Clin Microbiol Rev, 2021. **34**(4): p. e0010921.
121. Parums, D.V., *Editorial: Current Status of Oral Antiviral Drug Treatments for SARS-CoV-2 Infection in Non-Hospitalized Patients*. Med Sci Monit, 2022. **28**: p. e935952.
122. Senior, K., *FDA panel rejects common cold treatment*. Lancet Infect Dis, 2002. **2**(5): p. 264.
123. Hayden, F.G., *et al.*, *Efficacy and safety of oral pleconaril for treatment of colds due to picornaviruses in adults: results of 2 double-blind, randomized, placebo-controlled trials*. Clin Infect Dis, 2003. **36**(12): p. 1523-32.
124. *A checkup for the flu vaccine*. Nat Med, 2018. **24**(4): p. 375.
125. Tisa, V., *et al.*, *Quadrivalent influenza vaccine: a new opportunity to reduce the influenza burden*. J Prev Med Hyg, 2016. **57**(1): p. E28-33.
126. Chen, J.R., *et al.*, *Better influenza vaccines: an industry perspective*. J Biomed Sci, 2020. **27**(1): p. 33.

BIBLIOGRAFÍA

127. Drożdżal, S., *et al.*, *An update on drugs with therapeutic potential for SARS-CoV-2 (COVID-19) treatment*. Drug Resist Updat, 2021. **59**: p. 100794.
128. Dekervel, M., *et al.*, *Humoral response to a third injection of BNT162b2 vaccine in patients on maintenance haemodialysis*. Clin Kidney J, 2021. **14**(11): p. 2349-2355.
129. Falsey, A.R., *et al.*, *SARS-CoV-2 Neutralization with BNT162b2 Vaccine Dose 3*. N Engl J Med, 2021. **385**(17): p. 1627-1629.
130. Yue, L., *et al.*, *Antibody response elicited by a third boost dose of inactivated SARS-CoV-2 vaccine can neutralize SARS-CoV-2 variants of concern*. Emerg Microbes Infect, 2021. **10**(1): p. 2125-2127.
131. Bonville, C. y Domachowske, J., *Adenovirus*, in *Vaccines*. 2021, Springer. p. 89-97.
132. Gray, G.C. y Erdman, D.D., *Adenovirus Vaccines*, in *Plotkin's Vaccines (Seventh Edition)*, S.A. Plotkin, *et al.*, Editors. 2018, Elsevier. p. 121-133.e8.
133. Collins, N.D., *et al.*, *Live Oral Adenovirus Type 4 and Type 7 Vaccine Induces Durable Antibody Response*. Vaccines, 2020. **8**(3): p. 411.
134. FDA, *Adenovirus type 4 and type 7 vaccine, live, oral*. 2020.
135. Pachón, J., *et al.*, *Clinical management of community-acquired pneumonia in adults*. Med Clin (Barc), 2009. **133**(2): p. 63-73.
136. Viasus, D., *et al.*, *Timing of oseltamivir administration and outcomes in hospitalized adults with pandemic 2009 influenza A(H1N1) virus infection*. Chest, 2011. **140**(4): p. 1025-1032.
137. Mandell, L.A., *Community-acquired pneumonia: An overview*. Postgrad Med, 2015. **127**(6): p. 607-15.
138. Aliberti, S. y Kaye, K.S., *The changing microbiologic epidemiology of community-acquired pneumonia*. Postgrad Med, 2013. **125**(6): p. 31-42.
139. Sinclair, A., *et al.*, *Systematic review and meta-analysis of a urine-based pneumococcal antigen test for diagnosis of community-acquired pneumonia caused by Streptococcus pneumoniae*. J Clin Microbiol, 2013. **51**(7): p. 2303-10.
140. Hara, K., *et al.*, *Clinical study concerning the relationship between community-acquired pneumonia and viral infection in northern Thailand*. Intern Med, 2011. **50**(9): p. 991-8.
141. Rioseco, Z.M., *et al.*, *Viral etiology of community acquired pneumonia among adults admitted to a general hospital*. Rev Med Chil, 2012. **140**(8): p. 984-9.

BIBLIOGRAFÍA

142. Qu, J., *et al.*, *Aetiology of severe community acquired pneumonia in adults identified by combined detection methods: a multi-centre prospective study in China*. *Emerg Microbes Infect*, 2022. **11**(1): p. 556-566.
143. de Mangou, A., *et al.*, *Severe community-acquired pneumonia in Reunion Island: Epidemiological, clinical, and microbiological characteristics, 2016-2018*. *PLoS One*, 2022. **17**(4): p. e0267184.
144. Galván, J.M., *et al.*, *Review of Non-Bacterial Infections in Respiratory Medicine: Viral Pneumonia*. *Arch Bronconeumol*, 2015. **51**(11): p. 590-7.
145. Lim, I., *et al.*, *A prospective hospital study of the aetiology of community-acquired pneumonia*. *Med J Aust*, 1989. **151**(2): p. 87-91.
146. Farida, H., *et al.*, *Viruses and Gram-negative bacilli dominate the etiology of community-acquired pneumonia in Indonesia, a cohort study*. *Int J Infect Dis*, 2015. **38**: p. 101-7.
147. Fajnzylber, J., *et al.*, *SARS-CoV-2 viral load is associated with increased disease severity and mortality*. *Nat Commun*, 2020. **11**(1): p. 5493.
148. Tan, C., *et al.*, *SARS-CoV-2 viremia may predict rapid deterioration of COVID-19 patients*. *Braz J Infect Dis*, 2020. **24**(6): p. 565-569.
149. Li, Y., *et al.*, *SARS-CoV-2 viremia is associated with distinct proteomic pathways and predicts COVID-19 outcomes*. *J Clin Invest*, 2021. **131**(13).
150. Prebensen, C., *et al.*, *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 RNA in Plasma Is Associated With Intensive Care Unit Admission and Mortality in Patients Hospitalized With Coronavirus Disease 2019*. *Clin Infect Dis*, 2021. **73**(3): p. e799-e802.
151. Ram-Mohan, N., *et al.*, *SARS-CoV-2 RNAemia Predicts Clinical Deterioration and Extrapulmonary Complications from COVID-19*. *Clin Infect Dis*, 2022. **74**(2): p. 218-226.
152. Murgolo, N., *et al.*, *SARS-CoV-2 tropism, entry, replication, and propagation: Considerations for drug discovery and development*. *PLOS Pathogens*, 2021. **17**(2): p. e1009225.
153. Liu, J., *et al.*, *SARS-CoV-2 cell tropism and multiorgan infection*. *Cell Discovery*, 2021. **7**(1): p. 17.
154. Belser, J.A., *et al.*, *Ocular tropism of respiratory viruses*. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2013. **77**(1): p. 144-56.

BIBLIOGRAFÍA

155. Ambrosioni, J., *et al.*, *Role of rhinovirus load in the upper respiratory tract and severity of symptoms in lung transplant recipients.* J Clin Virol, 2015. **64**: p. 1-5.
156. Granados, A., *et al.*, *Influenza and rhinovirus viral load and disease severity in upper respiratory tract infections.* J Clin Virol, 2017. **86**: p. 14-19.
157. Lu, X., *et al.*, *Rhinovirus Viremia in Patients Hospitalized With Community-Acquired Pneumonia.* J Infect Dis, 2017. **216**(9): p. 1104-1111.
158. Esposito, S., *et al.*, *Impact of rhinovirus nasopharyngeal viral load and viremia on severity of respiratory infections in children.* Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2014. **33**(1): p. 41-8.
159. Gu, L., *et al.*, *Sustained Viremia and High Viral Load in Respiratory Tract Secretions Are Predictors for Death in Immunocompetent Adults with Adenovirus Pneumonia.* PLoS One, 2016. **11**(8): p. e0160777.
160. Stramer, S.L., *et al.*, *Sensitive detection assays for influenza RNA do not reveal viremia in US blood donors.* J Infect Dis, 2012. **205**(6): p. 886-94.
161. Haran, J.P., *et al.*, *C-reactive protein as predictor of bacterial infection among patients with an influenza-like illness.* Am J Emerg Med, 2013. **31**(1): p. 137-44.
162. Escadafal, C., *et al.*, *The good and the bad: using C reactive protein to distinguish bacterial from non-bacterial infection among febrile patients in low-resource settings.* BMJ Glob Health, 2020. **5**(5).
163. Rouse, B.T. y Sehrawat, S., *Immunity and immunopathology to viruses: what decides the outcome?* Nature Reviews Immunology, 2010. **10**(7): p. 514-526.
164. van Elden, L.J., *et al.*, *Polymerase chain reaction is more sensitive than viral culture and antigen testing for the detection of respiratory viruses in adults with hematological cancer and pneumonia.* Clin Infect Dis, 2002. **34**(2): p. 177-83.
165. Poggio, P., *et al.*, *Digital PCR for high sensitivity viral detection in false-negative SARS-CoV-2 patients.* Scientific Reports, 2021. **11**(1): p. 4310.
166. Ali, M., *et al.*, *Throat and nasal swabs for molecular detection of respiratory viruses in acute pharyngitis.* Virology Journal, 2015. **12**(1): p. 178.
167. Ma, Z.Y., *et al.*, *Suspension microarray-based comparison of oropharyngeal swab and bronchoalveolar lavage fluid for pathogen identification in young children hospitalized with respiratory tract infection.* BMC Infectious Diseases, 2020. **20**(1): p. 168.
168. Gao, C.A., *et al.*, *Comparing Nasopharyngeal and BAL SARS-CoV-2 Assays in Respiratory Failure.* Am J Respir Crit Care Med, 2021. **203**(1): p. 127-129.

BIBLIOGRAFÍA

169. Flynn, M.F., *et al.*, *Nasopharyngeal Swabs vs. Nasal Aspirates for Respiratory Virus Detection: A Systematic Review*. *Pathogens*, 2021. **10**(11).
170. Karhu, J., *et al.*, *Lower respiratory tract virus findings in mechanically ventilated patients with severe community-acquired pneumonia*. *Clin Infect Dis*, 2014. **59**(1): p. 62-70.
171. Azadeh, N., *et al.*, *FilmArray Respiratory Panel Assay: Comparison of Nasopharyngeal Swabs and Bronchoalveolar Lavage Samples*. *J Clin Microbiol*, 2015. **53**(12): p. 3784-7.
172. Buising, K.L., *et al.*, *A prospective comparison of severity scores for identifying patients with severe community acquired pneumonia: reconsidering what is meant by severe pneumonia*. *Thorax*, 2006. **61**(5): p. 419-24.
173. Yang, C., *et al.*, *Comparison of pneumonia severity scoring methods in identification of severe community acquired pneumonia*. *European Respiratory Journal*, 2017. **50**(suppl 61): p. PA4098.
174. Quah, J., *et al.*, *Impact of microbial Aetiology on mortality in severe community-acquired pneumonia*. *BMC Infectious Diseases*, 2018. **18**(1): p. 451.
175. Nair, G.B. y Niederman, M.S., *Updates on community acquired pneumonia management in the ICU*. *Pharmacol Ther*, 2021. **217**: p. 107663.
176. Ticona, J.H., *et al.*, *Community-Acquired Pneumonia: A Focused Review*. *Am J Med Case Rep*, 2021. **9**(1): p. 45-52.
177. Bradley, P., *et al.*, *Utility of established prognostic scores in COVID-19 hospital admissions: multicentre prospective evaluation of CURB-65, NEWS2 and qSOFA*. *BMJ Open Respir Res*, 2020. **7**(1).
178. Bradley, J., *et al.*, *Pneumonia Severity Index and CURB-65 Score Are Good Predictors of Mortality in Hospitalized Patients With SARS-CoV-2 Community-Acquired Pneumonia*. *Chest*, 2022. **161**(4): p. 927-936.
179. Man, S.Y., *et al.*, *Prospective comparison of three predictive rules for assessing severity of community-acquired pneumonia in Hong Kong*. *Thorax*, 2007. **62**(4): p. 348-53.
180. Zhang, Z.X., *et al.*, *Prognostic value of Pneumonia Severity Index, CURB-65, CRB-65, and procalcitonin in community-acquired pneumonia in Singapore*. *Proceedings of Singapore Healthcare*, 2016. **25**(3): p. 139-147.
181. Muñoz, P., *et al.*, *Yield of two mortality predictors in immunocompetent patients with community acquired pneumonia*. *Rev Med Chil*, 2021. **149**(9): p. 1275-1284.

