



TESIS DOCTORAL

**ENDOCARDITIS CON HEMOCULTIVOS NEGATIVOS EN EXTREMADURA.
PAPEL DE LAS TÉCNICAS DE ALTA RESOLUCIÓN EN EL DIAGNÓSTICO
ETIOLÓGICO.**

ANTONIA MARÍA CALVO CANO

**PROGRAMA DE DOCTORADO BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR,
BIOMEDICINA Y BIOTECNOLOGÍA.**

Conformidad del Director: el presente trabajo ha sido realizado por Dña. Antonia María Calvo Cano en el Servicio de Patología Infecciosa del Hospital Universitario de Badajoz y corresponde fielmente a los resultados obtenidos.

Fdo: Prof. Dr. D. Agustín Muñoz Sanz

2018

Dedicatoria

A los pacientes que, tarde o temprano, somos todos, por ser el alma y sentido último de este proyecto y de mi día a día.

Agradecimientos

A mi director de tesis, *Prof. Dr. D. Agustín Muñoz Sanz*, por arrastrarme en su infatigable lucha por el valor de una especialidad no reconocida y por enseñarme la importancia del rigor científico, la justicia del sistema y el pensamiento crítico, siempre con el fin de ofrecer lo mejor y merecido a los pacientes extremeños. Gracias por no desfallecer en el intento de acompañarme a pesar de las dificultades.

Al *Servicio de Patología Infecciosa del Hospital Universitario de Badajoz*, por el trabajo que vienen desarrollando desde hace más de 25 años, verdadero cimiento de este proyecto. Gracias Araceli, Paco y Nieves, por mostrarme siempre su sonrisa y ayuda desinteresada, aunque colaborar con mi tesis supusiera una sobrecarga en el trabajo clínico diario. Gracias a Paco por sus tardes gratuitas, inestimable ayuda estadística y disponibilidad con este proyecto. Gracias a Gaona, Fermín, Gina por haber recogido muestras cuando yo no podía hacerlo.

Al equipo del STAB y muy en especial a *Alberto* y a *Yolanda*, por sus ideas y entusiasmo en este trabajo, su capacidad de trabajo y de hacer fácil lo difícil.

A todo el equipo de *Cirugía Cardíaca y Ecocardiografía*, por su buena disposición a colaborar siempre. A los facultativos y técnicos de los servicios de *Microbiología, Anatomía Patológica y Análisis Clínicos*, en especial a Miguel y a Marisol, por su desinteresada ayuda.

A la *Biblioteca del Complejo Hospitalario de Badajoz*. Gracias Mati, Teresa y Olga, por proporcionarme una ayuda tan eficaz y rápida como valiosa.

A *Carlos Aranda* por brindarme su ayuda técnica y su paciencia.

A los pacientes que quisieron colaborar con el proyecto y se entusiasmaron al conocer que la universidad y el hospital de su tierra también realiza investigaciones clínicas.

A mi preciosa familia, por ser los invisibles que han soportado el peso de este proyecto, regalándome tiempo, tranquilidad e infinita paciencia.

ÍNDICE

1.- INTRODUCCIÓN	17
1.-1.- Definición de endocarditis infecciosa	17
1.-2.- Reseña histórica	17
1.-3.-Epidemiología	19
Demografía.....	19
Factores de riesgo.....	20
Microbiología.....	21
1.-4.- Patogenia	22
1.-5.- Etiología	25
1.-6.-Síntomas	27
Manifestaciones cardiacas.....	28
Manifestaciones renales	29
Manifestaciones neurológicas	29
Manifestaciones esplénicas	30
Manifestaciones pulmonares.....	30
Manifestaciones cutáneas.....	30
Manifestaciones oculares	31
Manifestaciones óseas.....	31
Émbolos arteriales.....	31
1.-7.-Formas clínicas	31
1.-8.-Criterios diagnósticos	32
1.9.- Técnicas diagnósticas moleculares	37
1.-10.-Tratamiento antimicrobiano	41
Tratamiento antimicrobiano dirigido	42
Tratamiento antimicrobiano empírico.....	50
Tratamiento antimicrobiano ambulatorio.....	50
1.-11.- Tratamiento quirúrgico	51
1.-12. Otros tratamientos adyuvantes	54
1.-13. Prevención	55
1.-14.- Pronóstico	57
2.-INTERÉS Y OBJETIVOS	63
2-1.- Interés de la investigación	63
2.-2.- Hipótesis de trabajo	67
2.-3.- Objetivo primario	67

2.-4.- Objetivos secundarios	67
3.- MATERIAL Y MÉTODO	69
3.-1.- Estudio retrospectivo descriptivo.....	71
3.1.1.- Diseño del estudio.....	71
3.1.2.- Etapas del periodo de estudio	71
3.1.3.- Variables y definiciones	72
3.1.4.- Análisis estadístico	73
3.-2.- Estudio prospectivo con técnicas de secuenciación genética de nueva generación sobre el tejido valvular humano	73
3.2.1.- Diseño	73
3.2.2. Pacientes.....	74
3.2.3. Cultivos microbiológicos convencionales	74
3.2.4. Estudio molecular. Extracción del DNA.....	74
3.2.5. Estudio molecular. PCR del 16rDNA y secuenciación.....	75
3.2.6. Estudio molecular. Controles.....	76
4.- RESULTADOS	81
4.1.- Estudio retrospectivo descriptivo.....	81
4.1.1.- Características demográficas y epidemiológicas de los pacientes incluidos	81
4.1.2.- Características de las comorbilidades	85
4.1.3.- Tipo de endocarditis infecciosa	87
4.1.4. Localización de la EI.....	89
4.1.5.- Perfil microbiológico de la EI.....	93
4.1.6.- Evolución clínica del episodio de EI.	100
4.1.7.- Hallazgos ecocardiográficos.....	101
4.1.8.- Tratamiento quirúrgico	101
4.1.9.- Mortalidad intrahospitalaria y al cabo de un año.....	105
4.2.- Estudio prospectivo experimental	110
Géneros con capacidad de provocar EI.....	120
Géneros no identificados (hasta ahora) como etiología de EI	123
Géneros no identificados (hasta ahora) como patógenos en humanos.....	123
5.- DISCUSIÓN	125
5.1. Estudio descriptivo.....	127
5.2.- Estudio prospectivo	135
6.- CONCLUSIONES	139

RESUMEN

Introducción: En la endocarditis infecciosa (EI) el hemocultivo no siempre es diagnóstico. La negatividad puede ser debida a bacterias zoonóticas. El presente trabajo analiza el perfil de la EI en Extremadura y evalúa la aplicación de técnicas de nueva secuenciación genética (NGS) en el diagnóstico etiológico.

Material y Método: **I.** Estudio retrospectivo de 302 pacientes con EI atendidos en el Hospital Universitario de Badajoz (1990-2015). **II.** Estudio prospectivo con análisis de NGS sobre 7 válvulas cardíacas de pacientes intervenidos en el mismo centro.

Resultados: **I.** Las EI con hemocultivos negativos son el 23%, las zoonosis casi el 7% y en el 13% no se alcanzó el diagnóstico etiológico. El perfil global mostró un aumento progresivo de: edad media, adquisición nosocomial, EI sobre cable e intervenidas quirúrgicamente. **II.** Los 6 pacientes con EI tenían hemocultivos positivos monomicrobianos, excepto un caso. Mediante NGS se confirmó la presencia de las bacterias cultivadas en sangre y, además, una media de 10 géneros bacterianos por muestra: los 3 clásicos, 13 descritos como causa de EI, 4 no descritos y 2 no patógenos humanos conocidos hasta ahora. En la válvula no endocárdica se encontró material bacteriano.

Conclusiones: 1. El perfil de la muestra estudiada es similar a lo descrito. 2.- El porcentaje de bacterias zoonóticas es mayor al del entorno. 3.- Las técnicas microbiológicas disponibles son insuficientes para obtener un diagnóstico etiológico en todos los casos. 4.- La aplicación de NGS en las válvulas cardíacas mejorará el rendimiento diagnóstico.

Introduction: Blood culture often fail to achieve diagnosis in infectious endocarditis (IE). Endemic zoonotic bacteria may explain negative blood cultures. This study analyses IE profile in Extremadura and assess the role of next generation sequencing (NGS) for etiological diagnosis.

Material and Method: **I.** Retrospective study including 302 patients with IE, admitted at University Hospital of Badajoz (1990-2015). **II.** Prospective study analyzing heart valves samples by NGS from 7 operated patients at the same hospital.

Results: **I.** Negative blood culture IE were 23%, zoonosis nearly 7% and 13% failed to achieve etiological diagnosis. Global profile showed a progressive increase of: median age, nosocomial acquisition, intracardiac device IE and surgical treatment. **II.** Six IE patients had positive monomicrobial blood culture, except in one case. Presence of cultured bacteria was confirmed through NGS and also a median of 10 bacterial genera by sample: 3 classical genera, 13 reported as causing IE, 4 unreported and 2 unknown human pathogens. One sample from a patient without IE also revealed bacteria.

Conclusions: 1.- IE profile from the poblational sample is similar to reported data. 2.- Zoonotic bacteria percentage is greater than reported in other areas. 3.- Available microbiologic tests fail to achieve etiological diagnosis in all IE cases. 4.- NGS in explanted heart valves would provide an insight through real bacterial presence.

1.- INTRODUCCIÓN

1.- INTRODUCCIÓN

1.-1.- Definición de endocarditis infecciosa

La endocarditis infecciosa (EI) es una enfermedad multisistémica secundaria a una infección, habitualmente bacteriana, de la superficie endocárdica del corazón. Se reconoció como una entidad nosológica hace cientos de años y como un proceso infeccioso en el siglo XIX. El prototipo de lesión histopatológica de la EI es la vegetación: un conglomerado de masa de plaquetas, fibrina y comunidad de microorganismos con escasas células inflamatorias. La lesión local inicial afecta principalmente a las válvulas cardíacas, ya sean nativas o protésicas y, en ocasiones más raras, a la zona de baja presión de una comunicación interventricular, al endocardio mural dañado por un chorro anormal de sangre o a dispositivos intracardiacos. A partir de la infección local del endocardio, la enfermedad puede complicarse con un amplio rango de manifestaciones sistémicas: émbolos sépticos a distancia, bloqueo de la conducción cardíaca o insuficiencia cardíaca aguda. La historia natural de esta infección es compleja y la patogénesis depende de la respuesta inmune del hospedador y del patógeno causal. ¹

1.-2.- Reseña histórica

En los siglos XVII y XVIII, Riviere, Lancisi y Morgagni presentaron por primera vez una serie de pacientes fallecidos a causa de una enfermedad compatible con lo que hoy llamamos endocarditis infecciosa ². El primero que introdujo en la literatura médica el término “endocardio”, y lo concibió como el lugar de asiento de una “inflamación”, fue Boillaud en sus escritos de 1824 y 1835 ³. En 1846, Virchow reconoció “vegetaciones valvulares” en autopsias, quedando así descrita su naturaleza fibrinosa. La causa fue una incógnita hasta que, en 1896, Virchow, Winge y Heiberg demostraron, de manera independiente, la presencia de bacterias en las vegetaciones y plantearon la hipótesis de la migración bacteriana vía hematogena ⁴. Por su parte, William Osler, en 1885, describió concienzudamente las características clínicas de la endocarditis sobre una válvula nativa en su obra *Goulstonian Lectures* definiéndola como “Endocarditis Maligna” en virtud de su mal pronóstico ⁵. Otros muchos autores han ido aportando sus

conocimientos hasta acumular una amplia experiencia en la patogenia y forma de presentación clínica de la EI sobre válvulas nativas: destacamos a Lenharz y Habitz en Alemania, Horder en Inglaterra y Thayer, Libman y Friedberg en Estados Unidos.

Los intentos de terapia de la EI antes de la era antibiótica fracasaron. El primer éxito terapéutico se logró en 1944, cuando se demostró que la penicilina podía curar a pacientes con endocarditis estreptocócica. El primer caso de endocarditis bacteriana tratado con penicilina en España ocurrió en julio de 1945, publicado en *Medicina Clínica* por los Dres. Vega Díaz y Alés, del Instituto de Investigaciones Médicas del Prof. Jiménez Díaz. Sin embargo, el 50% de los pacientes tratados morían, a pesar de la respuesta antimicrobiana, debido al daño estructural valvular subyacente ⁶. Por tanto, el siguiente avance crucial en el tratamiento de la EI no se produjo hasta el advenimiento de la cirugía cardíaca. En la década de los cincuenta, Hufnagel implantó la primera válvula artificial para el tratamiento de la insuficiencia aórtica ⁷.

En cuanto al diagnóstico de EI, von Reyn *et al.* ⁸, del hospital Beth Israel en Boston, propusieron (en 1981) unos criterios basándose en resultados histológicos, los síntomas clínicos y los hemocultivos. En los años siguientes, esta clasificación fue quedando obsoleta al no tener en cuenta una técnica imprescindible: la ecocardiografía. De este modo, Durak *et al.* del Centro Médico Universitario Duke en Durham, Carolina del Norte ⁹, propusieron en 1994 nuevos criterios diagnósticos que incluían la ecocardiografía. A lo largo del tiempo, el pronóstico de la EI ha mejorado sustancialmente gracias a la introducción de avances en el diagnóstico: el ecocardiograma transesofágico (ETE), de mayor sensibilidad que el transtorácico (ETT) (90% vs 60%), y el tratamiento (mayor protección miocárdica, técnicas nuevas de sustitución valvular, homoinjertos valvulares).

Respecto al diagnóstico etiológico de la EI, el hemocultivo ha sido la prueba fundamental. A principios del siglo XX se extraía de sangre arterial hasta que en 1947 se demostró que no añadía nada al diagnóstico de EI y que, sólo en casos aislados de hemocultivos negativos persistentes, los cultivos de médula ósea podrían proporcionar información diagnóstica. También se demostró que lo más rentable es la extracción de tres tandas de hemocultivos (con dos botellas cada uno, para cultivo aerobio y anaerobio) en un plazo de 24-48 horas, de 5 a 10 ml por extracción. Desde 2014, el uso rutinario de sistemas automáticos permite aislar a la mayoría de los patógenos capaces de crecer, incluidos *Candida* spp., estreptococos deficientes y las bacterias del grupo HACEK.

Sin embargo, todavía existe un porcentaje (5-15%) de EI con hemocultivos negativos por haber recibido antimicrobiano previamente a la extracción de sangre o porque el agente etiológico es de difícil cultivo como, por ejemplo, *Coxiella burnetii*, la bacteria que causa fiebre Q. En 1994 se incluyeron datos serológicos específicos en el esquema diagnóstico de Duke (criterio menor). En la modificación llevada a cabo en el año 2000 por Li *et al.* ¹⁰, se incorporó la propuesta del grupo liderado por Didier Raoult de incluir el aislamiento de *C. burnetii* en hemocultivos o la IgG fase 1 a título 1:800 como criterio mayor ¹¹. Este mismo autor, en una publicación de 2012 ¹², expone sus razones para solicitar la modificación del umbral serológico a 1/6400.

Hasta la fecha, la evidencia científica desarrollada en el campo de la EI se apoya en estudios pequeños, retrospectivos, heterogéneos y no aleatorizados, especialmente registros unicéntricos ¹³¹⁴¹⁵¹⁶¹⁷. Estas publicaciones proporcionan una herramienta limitada, con sesgos de selección e información, con heterogeneidad en la recolección de datos y en la gestión del paciente en cada centro. En la última década se han publicado registros multicéntricos y prospectivos ^{18 19 20 21 22}, pero aún se necesitan ensayos clínicos aleatorizados para responder a las cuestiones de importancia clínica en esta enfermedad, como el propuesto por San Román *et al.* recientemente ²³, para generar evidencia sobre el momento idóneo en que llevar a cabo el tratamiento quirúrgico cuando está indicado en la EI.

1.-3.-Epidemiología

La EI es una entidad relativamente rara cuya tasa de mortalidad es aún elevada, en torno al 25%. La carga global de esta enfermedad oscila entre 1,5 y 11,6 casos por 100.000 habitantes/año, lo cual supone un caso por cada 100 ingresos hospitalarios ²⁴. Diferentes estudios epidemiológicos muestran que el perfil de la EI ha sufrido una evolución continua en cuanto a demografía, factores de riesgo y la etiología microbiológica ^{18 25}. Sin embargo, la incidencia anual y la tasa actual de mortalidad son cifras que se mantienen estables.

Demografía

En países de renta alta, la media de edad de los pacientes con EI se ha incrementado considerablemente en las últimas décadas. Por ejemplo, en el año 1926, los pacientes

atendidos en el hospital John Hopkins por EI tenían una mediana de edad menor de 30 años. Los atendidos en la actualidad son mayores de 50 años en más del 50% ²⁶. Este cambio en la distribución etaria puede explicarse por varios factores. En primer lugar, los factores predisponentes han virado desde la valvulopatía reumática de los adultos jóvenes, hacia la valvulopatía degenerativa de los pacientes mayores. En segundo lugar, la edad de la población general también ha aumentado de manera constante. En tercer lugar, ha emergido una entidad relativamente nueva de EI que afecta de manera desproporcionada a los adultos de mayor edad: la EI asociada a cuidados sanitarios. Este subtipo es consecuencia de la introducción de nuevas modalidades terapéuticas: catéteres intravasculares, alimentación parenteral, hemodiálisis y dispositivos intracardiacos (marcapasos permanentes y desfibrilador autoimplantable o DAI).

Factores de riesgo

Son varios los factores o circunstancias que favorecen la génesis de una endocarditis:

1. Valvulopatía reumática con afectación mitral: hasta hace 20 años era la cardiopatía predisponente más común a nivel mundial. En la actualidad, sigue siendo en países de renta baja mientras que en los de renta alta la proporción de casos ha descendido a menos del 5%.
2. Prótesis valvulares y dispositivos intracardiacos: la EI asociada a una válvula protésica o a un dispositivo intracardíaco ha aumentado en los últimos años, en relación con el mayor número de sustituciones valvulares y de implantes de marcapasos y DAI. En una cohorte de 2781 adultos con EI definitiva procedentes de 25 países, una quinta parte ocurrió sobre válvula protésica y el 7% sobre dispositivos cardíacos ¹⁸.
3. Cardiopatía congénita: diversos estudios demuestran un riesgo incrementado de EI, pero probablemente exista un sesgo de selección que sobreestime la asociación, dado que los datos de prevalencia se extraen de centros con programas de cirugía cardíaca.
4. Prolapso mitral: es la anomalía estructural presente en 7-30% de las EI sobre válvula nativa en países de renta baja ²⁷. Su estimación como factor de riesgo tiene una *odds ratio* de 8,2 (95% CI: 2,4-28,4).
5. Cardiopatías degenerativas: En los pacientes con EI sin cardiopatía conocida previa, el 30-40% son diagnosticados de cardiopatía degenerativa durante el ingreso. Asimismo, en series de necropsias de sujetos con EI, la calcificación del anillo valvular mitral se encontró en el 14% de los pacientes mayores de 65 años, una tasa más elevada que en la población general.

6. Otros factores de riesgo conocidos son el uso de drogas vía parenteral (UDVP), la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y el contacto estrecho con el sistema de salud (cuidados sanitarios). Este último factor ha aumentado en las últimas décadas en los países de renta alta. Hasta un tercio de las EI sobre válvula nativa y no UDVP son EI asociadas a cuidados sanitarios ²².

Microbiología

Los cambios epidemiológicos en los factores de riesgo para EI han modificado el espectro microbiológico de la enfermedad infecciosa.

Los cocos grampositivos son las bacterias más frecuentemente aisladas en la mayoría de los casos de EI. Estreptococos y estafilococos suponen aproximadamente el 80%, aunque la proporción de cada familia ha ido variando geográficamente y a lo largo del tiempo. Los estafilococos han aumentado su presencia, debido al aumento de EI asociada a cuidados sanitarios, tanto *Staphylococcus aureus* como los estafilococos coagulasa negativos (SCN). La tendencia de los estreptococos del grupo *viridans* es a disminuir. Los enterococos son la tercera causa de EI y van en aumento en relación con el contacto sanitario.

Las EI por bacterias gramnegativas y por hongos son raras, y principalmente asociadas con los cuidados sanitarios.

Las EI con hemocultivos negativos se diagnostican cuando tres o más hemocultivos, recogidos a lo largo de 48 horas, persisten negativos tras una incubación prolongada (más de una semana). Los hemocultivos negativos se detectan en tres escenarios clínicos diferentes:

- 1) EI con hemocultivos esterilizados por la toma previa de antimicrobianos;
- 2) EI causada por microorganismos de crecimiento exigente;
- 3) EI debida a bacterias intracelulares que no se cultivan en sangre con las técnicas rutinarias. Este tercer escenario es el considerado en la literatura científica como el grupo “verdadero” de EI con hemocultivos negativos. La etiología de este grupo depende de factores geográficos y epidemiológicos: *Coxiella burnetii*, *Brucella* spp., *Bartonella quintana*/*Bartonella henselae*, *Aspergillus* spp. Los hemocultivos negativos se asocian a un peor pronóstico en relación con el retraso en el diagnóstico y el tratamiento, a la vez que se consideran predictores, tanto de supervivencia tardía como de eventos postquirúrgicos (dehiscencia periprotésica, necesidad de reintervención,

recurrencia de la infección) ^{28 29}. Sin embargo, algunas series recientes no encuentran retraso diagnóstico-terapéutico ni un aumento en las complicaciones o en la mortalidad ³⁰. En ocasiones, a pesar de la negatividad del cultivo de sangre, es posible llegar a un diagnóstico etiológico en la primera semana de estudio, mediante otras técnicas microbiológicas: el cultivo de focos de metástasis séptica o la serología contra antígenos de bacterias intracelulares o fúngicas. Por este motivo, hay autores que proponen cambiar el término “EI con hemocultivos negativos” por el de “EI con estudio microbiológicos negativos en la primera semana”. Esta entidad supone alrededor del 10% de todos los casos de EI. En este tipo de pacientes, puede alcanzarse el diagnóstico etiológico microbiológico tras la cirugía analizando el tejido endocárdico explantado, mediante el cultivo valvular o por técnicas moleculares. La ampliación del estudio optimiza la identificación de un patógeno en el 60% de los casos ³¹, pero son necesarios más estudios que exploren el perfil clínico de los pacientes con estudio microbiológico negativo en la primera semana.

1.-4.- Patogenia

El endotelio valvular normal es resistente, por naturaleza, a la colonización bacteriana. Para que pueda desarrollarse una EI es necesaria la concurrencia de tres factores de manera independiente: 1) la alteración de la superficie valvular cardíaca de tal manera que permita la adhesión y colonización bacteriana; 2) la existencia de una bacteriemia por un microorganismo capaz de adherirse y colonizar el tejido valvular; 3) la formación de una masa infectada o “vegetación” en la que las bacterias proliferativas se “escondan” dentro de una matriz protectora compuesta por plaquetas y moléculas séricas tipo fibrina ³².

El daño endotelial puede producirse como consecuencia de una regurgitación valvular; debido al impacto del flujo sanguíneo turbulento en el lugar de menor presión; del daño mecánico producido por catéteres o electrodos en las cavidades cardíacas derechas; o del impacto de partículas sólidas inyectadas repetidamente en el torrente venoso (UDVP). Las cardiopatías con mayor predisposición a desarrollar una EI sobre válvula nativa son la insuficiencia mitral, la estenosis aórtica, la insuficiencia aórtica, los defectos del septo interventricular y las cardiopatías congénitas complejas.

Una vez producido el daño endotelial, en la zona de edema intersticial pueden depositarse fibrina y plaquetas conformando un trombo estéril que sirve como zona de

asiento de bacterias circulantes por el torrente sanguíneo. El trombo estéril fue descrito en 1936 y denominado “endocarditis trombótica no bacteriana” (ETNB)³³. En ausencia de colonización bacteriana, la ETNB constituye una entidad nosológica independiente, probablemente no infecciosa, el resultado de un estado de hipercoagulabilidad en pacientes con enfermedades crónicas o malignas del tipo lupus eritematoso sistémico o de un síndrome antifosfolípido.

No se conoce bien cuál es el umbral cuantitativo de una bacteriemia para causar EI. La bacteriemia de bajo grado es muy frecuente: se desencadena tras actividades de la vida diaria tales como el cepillado de dientes, mascado de chicle y por traumatismos mucosos mínimos (procedimientos dentales, gastrointestinales, urológicos y ginecológicos). Suele denominarse de bajo grado a una bacteriemia de 10^1 - 10^4 unidades formadoras de colonias por mililitro (UCF/ ml). Habitualmente, las bacterias responsables son bacilos gramnegativos, fácilmente neutralizados por la actividad bactericida mediada por el complemento. Los modelos experimentales han utilizado inóculos mayores de 10^5 - 10^8 CFU/ ml, y de cepas bacterianas grampositivas, más típicamente asociadas a EI: *Staph. aureus*, *Staph. epidermidis*, *S. viridans*, *Enterococcus* spp³⁴. Por tanto, no se trata sólo una cuestión de magnitud cuantitativa: depende mucho de que el tipo de microorganismo aislado en sangre sea capaz de evadir las primeras barreras naturales bactericidas y de asentarse sobre la ETNB.

Una vez establecida la bacteriemia por un patógeno con potencial de inducir EI, el siguiente paso es la adherencia a la matriz de fibrina y plaquetas de la ETNB. El mecanismo de adherencia varía considerablemente entre los diferentes patógenos. Algunos se adhieren a componentes del endotelio dañado (fibronectina, laminina o colágeno), mientras que otros se unen directamente a las células endoteliales o incluso son internalizados por ellas. Este es el caso de *Staph. aureus*, de ahí su potencial virulento: puede adherirse directamente al endotelio intacto, sin precisar un daño previo. En cualquier caso, los microorganismos que habitualmente causan endocarditis han de poseer moléculas de adhesión en su superficie. Colectivamente se llaman MSCRAMMs, por sus siglas en inglés (Microbial Surface Components Recognizing Adhesin Matrix Molecules). Para *Staph. aureus* las MSCRAMMs son, básicamente, las proteínas fijadoras de fibronectina y el factor de agregación (una proteína de superficie de fijación a fibrina o fibrinógeno). Para los estreptococos, las proteínas fijadoras de glucanos o FimA (un miembro de la familia de las adhesinas de la mucosa oral). Los

bacilos gram negativos se adhieren mucho peor y requieren de un inóculo mayor que los cocos grampositivos ³⁵.

Una vez que los microorganismos consiguen adherirse en la vegetación de plaquetas y fibrina, se introducen en ella y proliferan formando densas microcolonias que provocan el crecimiento de la vegetación, si consiguen sobrevivir al ambiente bactericida de la ETNB. Los estafilococos y los estreptococos son potentes inductores de la agregación y la degranulación plaquetarias. Las plaquetas intentan impedir la proliferación bacteriana dentro de la vegetación liberando unas moléculas llamadas PMPs (Platelet Microbicidal Proteins). Si las bacterias resisten a la acción de las PMPs, pueden asentarse en la profundidad de la vegetación, en un estado metabólicamente inactivo, con proliferación reducida y alta resistencia a los antimicrobianos. Los microorganismos que proliferan en la superficie son liberados de modo continuo hacia el torrente sanguíneo provocando una bacteriemia persistente, pero de bajo grado. Esta población bacteriana es la más susceptible al tratamiento antimicrobiano efectivo. ³⁶

En el ambiente de las complejas interacciones que regulan la colonización bacteriana y el crecimiento de la vegetación, los monocitos también desempeñan un papel destacado. En estudios *in vitro* desarrollados con *Staph. aureus*, se ha visto que, una vez internalizado por las células endoteliales, se desencadena una respuesta quimiotáctica muy potente, a través de la expresión de algunas interleukinas (IL) como las IL-6 y 8. Así, los monocitos acuden al microambiente endotelial, las bacterias circulantes se unen a ellos en su superficie y esto favorece la liberación de tromboplastina. El factor tisular amplifica la cascada de la coagulación a nivel local, potenciando el crecimiento de la vegetación y la liberación de PMP bactericidas por las plaquetas incluidas en la matriz de la vegetación.

El proceso de formación de una vegetación valvular nativa es un claro ejemplo de *biofilm* ³⁷. Se define *biofilm* a la población de células microbianas, predominantemente bacterias, adheridas de manera irreversible a una matriz extracelular polimérica, producida por ellas mismas, que presentan un fenotipo modificado en cuanto a la tasa de crecimiento y la transcripción genética. Un *biofilm* puede ser una comunidad de una o de varias especies (“consorcio”). El papel del *biofilm* en la patogenia y en la evolución de la EI está claramente establecido en las EI sobre dispositivos intracardiacos. Sin embargo, su significado en las EI sobre válvula nativa no está claro aún. Los estudios sobre este tema, desarrollados en la última década, demuestran que aquellos casos de EI sobre válvula nativa por *Staph. aureus* meticilin resistente (SAMR) que *in vivo* no

aclaran la bacteriemia a pesar del tratamiento adecuado, son aquellos que *in vitro* producen significativamente más cantidad de *biofilm* ³⁸. También se ha estudiado el fenotipo genético del *biofilm* con *Staph. aureus*. La alta densidad de células bacterianas de una vegetación de EI condiciona la regulación de la expresión de genes (“*quorum sensing*”). Los estudios *in vitro* correlacionan la activación precoz del gen *agr* (Accessory Gene Regulator) con la habilidad para causar resistencia a vancomicina.

Además del papel del agente etiológico, la patogenia de la EI está influenciada por la respuesta del hospedador. En la EI se estimula tanto la inmunidad humoral como la celular. La respuesta humoral que desarrolla el hospedador es muy variada: puede producir anticuerpos opsonizantes, aglutinantes, fijadores de complemento, crioglobulinas y anticuerpos dirigidos contra las proteínas bacterianas de choque térmico ³⁹. Los inmunocomplejos circulantes (IC) se encuentran a títulos altos en la mayoría de los pacientes con EI. Su depósito está implicado en la patogenia de las glomerulonefritis y, probablemente, también contribuye a la formación de los nódulos de Osler y las manchas de Roth. Los niveles de IC en sangre se relacionan con la efectividad del tratamiento. Pueden aparecer también anticuerpos patológicos, como el factor reumatoide (FR) o los anticuerpos antinucleares (ANA). El FR aparece a partir de la sexta semana de infección y desciende con el tratamiento antimicrobiano. Contribuye al daño microvascular, estimulando la fagocitosis y bloqueando la actividad opsonizante de la IgG. Los ANA se relacionan con la aparición de síntomas como fiebre, dolor pleurítico o síntomas musculoesqueléticos.

El estudio de la efectividad de la respuesta humoral en la EI tiene interés para el desarrollo de estrategias inmunitarias de prevención. Los modelos animales sugieren una efectividad muy variable. Por ejemplo, los conejos con daño valvular aórtico inmunizados contra *S. sanguinis* requieren un mayor inóculo bacteriano para producir la infección, respecto a los no inmunizados. Por el contrario, los anticuerpos anti-celulares inducidos para *Staph. epidermidis* y *Staph. aureus* no han conseguido prevenir EI en animales inmunizados. Estudios *in vitro* sugieren un posible papel de una vacuna contra la proteína fijadora de fibrinógeno (*ClfA*). Se ha visto que la administración conjunta de antimicrobianos y de Ac anti-*ClfA* disminuye la carga bacteriana en la vegetación ⁴⁰, pero se precisan estudios en humanos que lo apoyen.

1.-5.- Etiología

Muchas especies de bacterias y hongos pueden causar esporádicamente episodios de endocarditis, pero la mayoría son provocados por unas pocas especies bacterianas. Lo que suele determinar la etiología es la forma de adquisición y la válvula de asiento, si es nativa o protésica. Por este motivo, la etiología puede entenderse mejor en función de las diferentes formas clínicas ¹.

En la EI sobre válvula nativa, los patógenos implicados y las formas clínicas son muy variables, debido a la multitud de puertas de entrada de la infección: la cavidad oral para *S. viridans*, la piel para los estafilococos, el tracto respiratorio superior para los microorganismos del grupo HACEK, el aparato digestivo para *S. gallolyticus* (previamente denominado *S. bovis*) y el aparato genitourinario para *Enterococcus* spp.

La EI nosocomial es causada habitualmente por una bacteriemia por *Staph. aureus*, *Staphylococcus* coagulasa negativo (SCN) y *Enterococcus* spp. Puede manifestarse en el ámbito intrahospitalario (55% de los casos) o comunitario (45%), pero siempre en pacientes que han tenido contacto frecuente con el sistema de salud en los 90 días previos. La endocarditis puede ser una complicación de hasta el 25% de las bacteriemias por *Staph. aureus* asociadas a catéter.

La EI sobre válvula protésica precoz, que aparece en los 2 primeros meses de la cirugía valvular, generalmente es nosocomial como resultado de la contaminación intraoperatoria de la prótesis o de una complicación bacteriémica postquirúrgica. El origen nosocomial se refleja en la etiología microbiológica: *Staph. aureus*, bacilos gramnegativos facultativos, difteroides y hongos. La EI sobre válvula protésica debida a SCN que aparece entre los 2 y 12 meses post-cirugía normalmente representa un debut tardío de una adquisición nosocomial. Independientemente del tiempo de instauración post-cirugía, al menos el 68%-85% de las cepas de SCN que causan EI sobre prótesis valvular son resistentes a meticilina.

Las EI sobre válvula protésica tardía, esto es, a partir de los 12 meses de la cirugía, comparten puertas de entrada y microorganismos causales con el grupo de EI sobre válvula nativa.

Los dispositivos tipo marcapasos o desfibrilador autoimplantable también pueden ser motivos de endocarditis. Su origen suele ser nosocomial. La mayoría de los episodios ocurren al cabo de semanas o meses de la implantación o del cambio de generador y son causados por *Staph. aureus* o SCN, ambos habitualmente resistentes a meticilina.

La EI que ocurre entre los UDVP, especialmente la que implica a la válvula tricúspide, normalmente es causada por *Staph. aureus*, siendo muchas de las cepas resistentes a

meticilina. Las infecciones de las válvulas del lado izquierdo del corazón en UDVPs tienen una etiología mucho más variada, que puede incluir a *Pseudomonas aeruginosa*, especies de *Candida* y esporádicamente otros microorganismos inusuales tales como *Bacillus*, *Lactobacillus* y especies de *Corynebacterium*. En este grupo de pacientes suele encontrarse con mayor frecuencia la endocarditis polimicrobiana. La coinfección con el VIH no influye significativamente en las causas de endocarditis.

Entre el 5% y el 15% de los pacientes pueden presentar una EI con hemocultivos negativos. La etiología de este grupo depende de factores geográficos y epidemiológicos: *Coxiella burnetii* y *Brucella* spp. cuando hay contacto con ganado, *Bartonella quintana* en pacientes sin techo o con abuso de alcohol, *Bartonella henselae* si hay contacto con gatos, *Brucella* spp. si existe consumo de productos lácteos no pasteurizados o estancia reciente en una zona endémica (cuenca mediterránea y oriente medio). Asimismo, en los casos de EI con hemocultivos negativos, asociada a cuidados sanitarios y en los pacientes portadores de prótesis, conviene sospechar la existencia de infección por *Aspergillus* spp. El procesamiento actual de los hemocultivos suele ser un sistema automático capaz de aislar a la mayoría de los microorganismos de crecimiento exigente (incluidas las bacterias del grupo HACEK) en los primeros 5 días, aunque algunos, como *Propionibacterium acnes*, pueden requerir una incubación más prolongada.

1.-6.-Síntomas

El síndrome clínico de la EI es altamente variable y abarca un *continuum* entre las presentaciones agudas y subagudas. La EI sobre válvula nativa (adquirida en la comunidad o nosocomial), la EI sobre válvula protésica, y la EI debida al uso de droga parenteral comparten manifestaciones clínicas y de laboratorio.

El microorganismo causal es el principal responsable del curso temporal de la endocarditis. Los estreptococos beta-hemolíticos, *Staph. aureus* y los neumococos típicamente producen un curso agudo, aunque *Staph. aureus* ocasionalmente pueda causar enfermedad subaguda. La endocarditis subaguda es causada por *S. viridans*, enterococo, SCN y el grupo HACEK. Las endocarditis causadas por las especies de *Bartonella*, *T. whipplei* o *C. burnetii* son excepcionalmente indolentes.

Las manifestaciones clínicas de las endocarditis no son específicas. Sin embargo, el diagnóstico debe sospecharse fundamentalmente en cuatro situaciones:

- 1) si los síntomas recogidos en la tabla, por inespecíficos que sean, se presentan en un paciente febril con valvulopatía u otro factor de riesgo tipo UDVP;
- 2) ante una bacteriemia documentada por microorganismos que frecuentemente causan endocarditis;
- 3) cuando hay émbolos arteriales inexplicados;
- 4) si aparece una incompetencia valvular cardiaca progresiva.

Como enfermedad sistémica, la EI puede provocar manifestaciones clínicas en todos los órganos afectados. El desprendimiento de una porción de la vegetación valvular cardiaca a través del torrente sanguíneo permite que pueda asentar en cualquier localización del lecho vascular. Estos émbolos sépticos pueden afectar a casi cualquier órgano y provocar distintos síntomas:

- 1) Si el émbolo es lo suficientemente grande como para comprometer la llegada de oxígeno al tejido distal provocará un infarto tisular. Así es como se originan el ictus embólico y los infartos de miocardio, renal, esplénico, mesentérico, cutáneo, etcétera.
- 2) Las bacterias contenidas en el fragmento embolizado pueden invadir el tejido local y crear un absceso visceral.
- 3) Las manifestaciones extracardiacas también pueden deberse a depósitos de inmunocomplejos o a diseminación procedente de otros tejidos mediante bacteriemia. Los émbolos arteriales son clínicamente aparentes en el 50% de los enfermos. Los factores asociados de manera independiente a un riesgo mayor de embolización son: la endocarditis causada por *Staph. aureus*, las vegetaciones mayores de 10 mm de diámetro (medidas por ecocardiografía) y la infección de la válvula mitral. Los émbolos tardíos, que aparecen durante o después del tratamiento antimicrobiano efectivo, no constituyen una evidencia del fracaso terapéutico.

El espectro de manifestaciones clínicas de la EI puede clasificarse en los síntomas propiamente cardiacos y en los que aparecen fuera del corazón ²⁶.

Manifestaciones cardiacas

La clásica vegetación cardiaca puede medir varios centímetros de diámetro y habitualmente asienta sobre la cara auricular de los velos de las válvulas atrioventriculares (mitral o tricuspídea) o en la cara ventricular de las válvulas semilunares (aórtica o pulmonar). La infección puede perforar el velo valvular o romper las cuerdas tendinosas, septo interventricular o músculos papilares. En algunos casos, llega a formarse un absceso del anillo valvular con fistulización al miocardio o al saco pericárdico. Así, podemos encontrar:

Soplo cardíaco. Aunque los soplos valvulares habitualmente indican la existencia de una patología cardíaca predisponente, más que de una endocarditis, el daño de la válvula y la ruptura cordal pueden generar nuevos soplos o aumentar la intensidad del soplo previo. En la endocarditis aguda sobre válvulas normales, los soplos pueden estar ausentes al inicio, pero acaban detectándose en el 85% de los casos.

Insuficiencia cardíaca. La insuficiencia cardíaca se desarrolla en el 30-40% de los casos, bien como consecuencia de la disfunción valvular o bien secundaria a una miocarditis o a una fístula intracardiaca. La insuficiencia cardíaca debida a disfunción valvular aórtica progresa más rápidamente que la secundaria a disfunción mitral.

Fístulas intracardiacas. Si la infección localizada en los velos valvulares acaba extendiéndose hacia los anillos adyacentes o al tejido miocárdico, se pueden formar abscesos perivalvulares con potencial capacidad de evolucionar a fistulas intracardiacas con la producción de nuevos soplos.

Pericarditis. Los abscesos, en su progresión local desde los anillos valvulares aórticos, pueden penetrar hasta el epicardio y causar pericarditis.

Bloqueos de la conducción. Si el absceso perivalvular aórtico progresa hasta el septo ventricular superior, puede interrumpir el sistema de conducción dando lugar a varios grados de bloqueo cardíaco. Los abscesos perivalvulares mitrales raramente provocan trastornos de conducción, sólo si se acercan al nodo auriculo-ventricular o a la rama proximal del haz de His.

Infarto agudo de miocardio. Una complicación rara son las embolizaciones hacia arterias coronarias provocando infartos de miocardio: ocurren en el 2% de los pacientes.

Manifestaciones renales

El riñón puede sufrir un infarto embólico, un absceso secundario a bacteriemia o una glomerulonefritis hipocomplementémica difusa por depósito de IC en la membrana basal glomerular. La insuficiencia renal secundaria a la glomerulonefritis típicamente mejora con antibioterapia efectiva para EI. Los infartos renales embólicos pueden causar dolor lumbar con hematuria y suelen preservar la función renal. Incluso en ausencia de manifestaciones, una biopsia renal de un enfermo de EI suele ser patológica.

Manifestaciones neurológicas

Los síntomas neurológicos de un paciente con EI normalmente se deben a embolismos cerebrales. Pueden manifestarse como ictus o, a veces, encefalopatía. Son clínicamente aparentes en el 15-35% de los pacientes, aunque si se practicara un estudio rutinario con

RMN a todos los pacientes diagnosticados de EI, aun en ausencia de semiología neurológica, la mayoría tendría evidencia de complicaciones cerebro-vasculares. La incidencia de ictus en EI es de 4,82/1000 pacientes/día en la primera semana de EI y cae rápidamente con el inicio de tratamiento antimicrobiano. Sólo el 3% de los ictus ocurren después de una semana de tratamiento efectivo. Otras complicaciones neurológicas incluyen meningitis aséptica o purulenta, convulsiones o hemorragia cerebral debida a ictus hemorrágicos o a ruptura de aneurismas micóticos. Los aneurismas micóticos son dilataciones focales de las arterias que ocurren en puntos de la pared arterial debilitados por infección del endotelio en el contexto de una EI aguda o como secuela, detectándose meses después de haber recibido completado el tratamiento. Aparecen por diferentes mecanismos: invasión directa bacteriana de la pared arterial formando abscesos; oclusión embólica de los *vasa vasorum* nutricios de las paredes de los grandes vasos; depósito de IC sobre la pared arterial. Suelen asentar en puntos de bifurcación de la circulación arterial cerebral. Provocan síntomas si se complican con sangrado, pero hasta el 10% de pacientes asintomáticos pueden ser portadores de aneurismas micóticos detectados con angio-resonancia magnética. Los microabscesos cerebrales y en las meninges ocurren con más frecuencia en la endocarditis por *Staph. aureus*, y la mayoría de ellos no son susceptibles de drenaje quirúrgico.

Manifestaciones esplénicas

Los infartos esplénicos son hallazgos frecuentes en las autopsias de pacientes que mueren por EI, aunque no hayan presentado clínica compatible. Los abscesos esplénicos sí suelen provocar síntomas tales como dolor, fiebre y leucocitosis. La esplenomegalia está presente en un 10% de los pacientes con EI con EI subaguda, no tanto en la presentación aguda, probablemente como consecuencia de una respuesta inmunológica prolongada.

Manifestaciones pulmonares

Existe un fenómeno común en las EI del lado derecho denominado siembra tromboembólica en el cual diminutos émbolos ocluyen pequeños vasos de la circulación pulmonar formando émbolos sépticos con o sin infarto tisular. Pueden provocar tos, dolor torácico pleurítico, nódulos pulmonares, e incluso neumotórax.

Manifestaciones cutáneas

Incluyen petequias, infartos cutáneos, nódulos de Osler y lesiones de Janeway. A nivel microscópico, los nódulos de Osler consisten en una proliferación de la íntima de los pequeños vasos de la dermis, rodeados de un infiltrado difuso compuesto por neutrófilos

y monocitos, con o sin inmunocomplejos. Estas manifestaciones periféricas no supurativas típicas de las endocarditis subagudas están relacionadas con una duración prolongada de la infección. Con el diagnóstico y el tratamiento precoces cada vez son más infrecuentes. Las lesiones de Janeway son causadas por émbolos sépticos y se caracterizan por la presencia de bacterias, neutrófilos, necrosis y hemorragia subcutánea. Pueden encontrarse en los pacientes con endocarditis aguda por *Staph. aureus*.

Manifestaciones oculares

Las manchas de Roth son un fenómeno inmunológico que aparece en la exploración de fondo de ojo de pacientes con EI. Consisten en hemorragias retinianas con centro pálido. Microscópicamente son acúmulos de fibrina, plaquetas o linfocitos rodeados de edema y hemorragia en la capa de fibra nerviosa de la retina. Además, la diseminación bacteriana puede afectar al ojo provocando endoftalmitis, principalmente si la EI es por *Staph. aureus*.

Manifestaciones óseas

El dolor musculoesquelético normalmente remite de manera inmediata con tratamiento sintomático, pero si persiste hay que descartar infecciones focales metastásicas del tipo espondilodiscitis, que puede ser una complicación en el 10-15% de los casos de EI.

Émbolos arteriales

Son clínicamente aparentes en el 50% de los enfermos. La endocarditis causada por *Staph. aureus*, las vegetaciones mayores de 10 mm de diámetro (medidas por ecocardiografía) y la infección de la válvula mitral son factores que se asocian de manera independiente con un riesgo aumentado de embolización. Los émbolos tardíos, durante o después del tratamiento antimicrobiano efectivo no constituyen evidencia de fracaso terapéutico.

1.-7.-Formas clínicas

Existen diversos modos de clasificar las endocarditis atendiendo a la rapidez de su evolución, a la cardiopatía de base sobre la que asientan o a la causa microbiológica.

a) En función de la forma temporal de presentación de la enfermedad:

EI subaguda: progresa en un tiempo de semanas a meses. Normalmente está causada por microorganismos de baja virulencia como el *S. viridans*, que presenta una habilidad limitada para infectar otros tejidos.

EI aguda: se desarrolla en una o dos semanas, la progresión clínica es rápida, las complicaciones son frecuentes y el diagnóstico suele realizarse en menos de dos semanas. Suele estar provocada por patógenos mucho más virulentos, del tipo del *Staph. aureus*, capaces de provocar infección de otros tejidos del organismo.

b) En función de la naturaleza de la válvula afecta:

EI sobre válvula nativa: La infección que afecta a válvulas cardiacas previamente normales o dañadas por enfermedad congénita o adquirida.

EI sobre válvula protésica: La infección que afecta a válvulas cardiacas artificiales, ya sean biológicas o metálicas.

EI protésica precoz: cuando la infección se produce en los primeros 2 meses postcirugía.

EI protésica tardía: cuando la infección afecta a la válvula protésica a partir de los 2 meses de la intervención.

La definición de precoz *versus* tardía no ha sido estandarizada, de tal manera que hay autores que consideran como endocarditis intermedia la que se desarrolla entre los dos meses y el año postintervención, mientras que otros consideran que la forma precoz engloba el primer año tras la cirugía.

c) En función del microorganismo causal: Endocarditis por *Staph. aureus* o endocarditis protésica por *Candida albicans*. Esta terminología es específica e informativa e influye en la historia natural, pronóstico y tratamiento de cada caso en cuestión.

1.-8.-Criterios diagnósticos

El diagnóstico de la EI requiere de la combinación de varios hallazgos. Cuando lo más frecuente era una presentación tardía de la enfermedad, como los jóvenes con afectación cardíaca por fiebre reumática, el diagnóstico de EI se basaba en los signos clásicos de valvulitis activa: soplo cardíaco, manifestaciones embólicas, fenómenos vasculares inmunológicos y hemocultivos positivos⁸. En la actualidad, y principalmente en los países con mayor desarrollo sanitario, son cada vez más frecuentes las EI asociadas a cuidados sanitarios, con presentaciones precoces de la infección, sobre todo por *Staph. aureus*²⁵. En este nuevo contexto, la fiebre es el síntoma más común, asociada a la presencia de factores de riesgo como ser portador de material protésico intravascular. La clínica recortada hace más complicado identificar adecuadamente el grupo de pacientes

con fiebre que realmente tiene una EI y necesita un inicio precoz de un curso prolongado de antimicrobianos.

El diagnóstico de certeza de la EI se establece sólo cuando las vegetaciones son examinadas histológica y microbiológicamente. Sin embargo, el *gold-standard* de la estrategia diagnóstica en la práctica clínica siguen siendo los criterios diagnósticos de Duke ⁹, los originales posteriormente modificados ¹⁰, basados en hallazgos clínicos, de laboratorio y ecocardiográficos. Su sensibilidad y especificidad han sido confirmadas por múltiples estudios sobre poblaciones clínica y geográficamente heterogéneas. Son los vigentes en la actualidad y permiten estratificar a los pacientes con sospecha de EI en tres categorías: definitiva, posible o descartada. Así, el diagnóstico de EI no puede realizarse en base a un único síntoma, signo o prueba complementaria, sino que requiere de la aplicación de los criterios diagnósticos ante una sospecha clínica. La heterogeneidad de presentaciones clínicas de los pacientes con EI y las constantes modificaciones que van sufriendo los criterios diagnósticos para adaptarse a los cambios epidemiológicos, clínicos y técnicos, hacen del juicio clínico la pieza de discernimiento siempre imprescindible. Los dos pilares fundamentales de los criterios modificados de Duke son los hemocultivos y el ecocardiograma.

El hemocultivo es la prueba inicial más importante para el diagnóstico de EI. La bacteriemia suele ser continua y de baja intensidad en la mayoría de los pacientes con EI y la rentabilidad del hemocultivo es muy elevada siempre que el paciente no haya recibido antimicrobianos previamente. Si los ha tomado, puede optimizarse la rentabilidad del hemocultivo utilizando polianetolsulfonato de sodio, que inactiva los aminoglucósidos en el caldo de cultivo, o bien resinas catiónicas y poliméricas adsorbentes capaces de neutralizar hasta 100 µg de antimicrobianos por ml, así como algunos inhibidores bacterianos presentes en sangre ⁴¹. Los criterios diagnósticos conceden importancia a la especie de microorganismo aislada en el hemocultivo. El aislamiento microbiológico con más peso es la bacteriemia por patógenos que típicamente causan EI. Se requieren aislamientos repetidos (bacteriemia persistente) si se trata de especies que pueden provocar tanto bacteriemia aislada como asociada a EI (*Staph. aureus*, enterococo) o si se trata de microorganismos que provocan EI muy esporádicamente (bacilos gram negativos) o que son más frecuentes como contaminantes de cultivos (difteroides, SCN).

El ecocardiograma es la segunda piedra angular del diagnóstico de EI. Debe realizarse en todos los pacientes con alta sospecha. Los abordajes transtorácico (ETT) y

transesofágico (ETE) son técnicas de imagen complementarias. El ETT es una técnica no invasiva que identifica vegetaciones valvulares mayores de 2 mm de diámetro: detecta vegetaciones en el 65% de los casos de EI definitiva. Aporta mayor resolución en EI del lado derecho, debido a la proximidad de las válvulas pulmonar y tricúspide a la pared torácica. El ETE es aún más sensible (90% de EI definitiva) y detecta tanto vegetaciones de menor tamaño como complicaciones intracardiacas, principalmente si la válvula es protésica ⁴². De hecho, el ETE puede realizarse como primera técnica ecocardiográfica en pacientes portadores de válvula protésica o en aquellos con mala ventana acústica por su condición física (obesidad, enfisema pulmonar). Las guías de práctica clínica difieren en cuanto a la indicación de ETE. La guía europea ⁴³ lo recomienda tanto para los casos en los que el ETT es negativo y la sospecha de EI es alta como para los casos en los que el ETT es positivo, para evaluar de las posibles complicaciones locales (absceso miocárdico, perforación valvular o fístula intracardiaca). La guía americana ⁴⁴, por el contrario, relega el ETE para los pacientes con ETT positivo sólo si hay datos clínicos que hagan sospechar que existan complicaciones locales. El momento más indicado para realizar la ecocardiografía no está claro, pero se sabe que estudios iniciales pueden ser falsos negativos en el 6-18% de los enfermos. Cuando hay alta sospecha de EI, un ETE inicial negativo no excluye el diagnóstico, sino que obliga a repetirlo en el plazo de 7-10 días. Una indicación clara de realización de ecocardiograma son los pacientes con bacteriemia por *Staph. aureus* dado el alto porcentaje de casos que se complican con EI ⁴⁵. Bastaría con un ETT en los pacientes que negativizan hemocultivos a las 72 horas de tratamiento, no tienen dispositivo intracardiaco ni catéter de hemodiálisis, la bacteriemia ha sido asociada a catéter y si no hay evidencia de foco secundario ni síntomas que hagan sospechar EI. Se han propuesto varios sistemas de puntuación para diferenciar entre los pacientes con bacteriemia por *Staph. aureus* aquellos con alto riesgo de desarrollar EI. Sin embargo, ninguno de los sistemas de puntuación ha sido evaluado prospectivamente. Cuando la ecocardiografía no es resolutive para los casos con alta sospecha de EI, se han evaluado de manera preliminar varias técnicas de imagen multimodal: ETE 3D, TC cardiaco, RMN cardiaca y PET-TC con ¹⁸F-fluordesoxiglucosa. En las guías europeas de 2015 ⁴³ ya se incorpora en el algoritmo diagnóstico de la EI sobre válvula protésica.

Los criterios menores modificados de Duke incluyen cardiopatía predisponente o UDVP, fiebre, fenómenos vasculares, fenómenos inmunológicos o evidencia microbiológica que no cumpla los criterios mayores.

Tabla 1. Criterios diagnósticos de endocarditis infecciosa. Adaptado de Li *et al*, 2000 ¹⁰

<p>EI DEFINITIVA: dos criterios mayores; uno mayor y tres menores; o cinco menores. EI POSIBLE: un criterio mayor y otro menor; o tres menores. EI DESCARTADA: si hay diagnóstico alternativo establecido, si los síntomas se resuelven y no recurren en menos de 4 días de tratamiento antimicrobiano, o si la cirugía o la autopsia tras 4 días de antimicrobiano no evidencian histológicamente la existencia de endocarditis.</p>
<p>CRITERIOS MAYORES</p>
<p>1.- HEMOCULTIVO POSITIVO Microorganismo típico de EI obtenido en 2 hemocultivos diferentes</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>S. viridans</i>, <i>S. gallolyticus</i>, grupo HACEK, <i>Staph. aureus</i> • Enterococos adquiridos en la comunidad en ausencia de un foco primario <p>Hemocultivo positivo persistente en:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hemocultivos extraídos con una separación >12 horas • Tres o más de 4 hemocultivos diferentes, separados al menos 1h entre primero y último <p>Un solo hemocultivo positivo para <i>C. burnetii</i> o Ac de fase I IgG positivo >1:800</p>
<p>2.-EVIDENCIA DE AFECTACIÓN ENDOCÁRDICA Ecocardiograma positivo</p> <ul style="list-style-type: none"> • Masa oscilante intracardiaca, en velo valvular, en estructuras de soporte, en el recorrido del jet de regurgitación, en el material implantado, sin que haya otra explicación anatómica alternativa • Abscesos • Nueva dehiscencia parcial de una prótesis valvular <p>Nueva insuficiencia valvular (la aparición o el aumento de un soplo no es suficiente)</p>
<p>CRITERIOS MENORES</p>
<p>1.- PREDISPOSICIÓN Cardiopatía predisponente Usuario de drogas por vía parenteral</p>
<p>2.- FIEBRE $\geq 38^{\circ}\text{C}$</p>
<p>3.- FENÓMENOS VASCULARES Embolia arterial relevante Infartos pulmonares sépticos Aneurisma micótico Hemorragia cerebral Hemorragia conjuntival Lesiones de Janeway</p>
<p>4.- FENÓMENOS INMUNOLÓGICOS Glomerulonefritis Nódulos de Osler Manchas de Roth Factor reumatoide</p>
<p>5.- EVIDENCIA MICROBIOLÓGICA Hemocultivos positivos que no cumplen criterios mayores Evidencia serológica de infección activa por bacteria u hongo con potencial para provocar EI</p>

Cuando los hemocultivos son negativos, pero la sospecha de EI es alta, existen otras pruebas disponibles en el campo de la microbiología clínica tales como la serología o el procesamiento de la válvula explantada con tinciones histológicas especiales, cultivo o técnicas de extracción de material genético con PCR (16S o 18S ribosomal) ³¹.

Las técnicas serológicas clásicamente incluidas en el estudio de EI con hemocultivos negativos eran las que determinaban los títulos de anticuerpo frente a *C. burnetii*, *Bartonella* spp., *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Chlamydomphila* spp. y *Brucella melitensis*. Sin embargo, se ha demostrado que sólo la serología para *Bartonella* spp y *C. burnetii* son rentables: la EI por *Mycoplasma* spp. y por *Legionella* spp. son muy infrecuentes y la mayoría de casos de EI atribuidos a *Chlamydomphila* spp probablemente son reacciones cruzadas con *Bartonella* spp ⁴⁶. La serología para *Brucella melitensis* debe seguir incluyéndose en los casos con factores de riesgo (residencia en área endémica, factor ocupacional, consumo de leche no pasteurizada). Extremadura es la región del estado español con mayor incidencia (0,93 casos/100.000 habitantes, frente a la media estatal 0,22/100.000 habitantes). Le siguen Andalucía y Castilla La Mancha ⁴⁷.

Los tests basados en PCR para otros organismos difíciles de cultivar, como *Tropheryma whippelii*, también presentan problemas metodológicos significativos como para incluirlos en el esquema de Duke. El principal escollo es la baja sensibilidad en la muestra de sangre y la escasa disponibilidad de estos test moleculares en la mayoría de los centros hospitalarios. Probablemente, la serología diferente a la fiebre Q y los test basados en PCR no se incluirán en los criterios diagnósticos hasta que se validen y estandaricen en un número suficiente de casos, se resuelvan los problemas técnicos y se universalice su disponibilidad.

Otras técnicas descritas en la literatura científica, pero actualmente sólo disponibles para investigación, son la inmunohistología ⁴⁸, la autoinmunohistoquímica ⁴⁹, el análisis metagenómico ^{50 51 52 53} y el estudio de la respuesta del hospedador.

1.9.- Técnicas diagnósticas moleculares

A pesar de que los criterios de Duke se han modificado y mejorado a lo largo de los años, el método diagnóstico fundamental sigue siendo el cultivo (de sangre o de tejido valvular). La limitación más importante del cultivo para la EI es su potencialidad de dar falsos negativos (hasta un 31% de los hemocultivos). Las técnicas diagnósticas de base

molecular, como el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se han venido utilizando sobre la válvula cardíaca explantada para identificar a los patógenos no cultivables que causan EI con hemocultivos negativos. Principalmente, la PCR a tiempo real específica de especie, dirigida a la etiología cuya sospecha es mayor, fundamentado en los datos clínico-epidemiológicos del paciente. Incluso se ha propuesto la realización sistemática de PCR específica para *C.burnetii* en los países donde la fiebre Q es endémica en todos los pacientes sometidos a reemplazo valvular y con una serología positiva, para optimizar el diagnóstico de una fiebre Q latente ⁵⁴.

En los últimos 20 años, se ha propuesto como técnica complementaria a los métodos convencionales de cultivo la PCR universal: dirigida a ADN bacteriano y/o fúngico (16S rDNA y 18S rDNA). Varios estudios han evaluado el potencial de esta PCR de amplio espectro para identificar el microorganismo causal de la EI concluyendo que es más efectiva que el método convencional basado en cultivo: mejora el manejo clínico del paciente hasta en el 20% de los casos y la sensibilidad diagnóstica hasta en el 96% ⁵⁵. Con este argumento, hay más autores que proponen que la PCR universal 16S/18S sea incluida en el esquema de Duke ^{50 56 57 58 58}. En la mayoría de estos trabajos, el diagnóstico etiológico proporcionado por la PCR fue monomicrobiano, identificándose algunas especies fúngicas y una amplia variedad de bacterias, principalmente estreptococos, estafilococos y enterococos. Sin embargo, estudios posteriores ^{59 60}, que utilizan una estrategia molecular más refinada (PCR 16S, con librerías clonales y secuenciación Sanger), identifican no sólo una especie patógena en cada muestra, sino una extensa lista de bacterias potencialmente implicadas en EI. Según los datos proporcionados clásicamente por la tinción de Gram y por los medios de cultivo, las infecciones polimicrobianas de las válvulas cardíacas son extremadamente raras en los sujetos no UDVP, y en estos, no superan el 5% de los casos de EI ⁶¹. Estas discrepancias entre las técnicas de cultivo y los métodos moleculares pueden tener varias explicaciones.

En primer lugar, los cultivos sólo identifican los microorganismos con crecimiento fácil, no así las bacterias de crecimiento exigente o lento. Por el contrario, la PCR universal identifica en ocasiones bacterias consideradas de fácil cultivo (como los bacilos gramnegativos) que no han crecido en el cultivo de esa muestra.

En segundo lugar, los pasos que implica el proceso de estudio molecular conllevan un riesgo potencial de contaminación: la resección valvular, el procesamiento de la muestra en el laboratorio de Microbiología Clínica, la exposición al material genético bacteriano

de la piel de los manipuladores, la contaminación de los componentes del kit de PCR como el agua o la polimerasa y la manipulación de los amplicones resultante. Existe un alto riesgo de obtener falsos positivos con las técnicas basadas en PCR.

Por consiguiente, a la hora de interpretar los resultados polimicrobianos de un estudio molecular en EI, es muy importante realizar una evaluación crítica y plantear que los hallazgos inesperados pueden deberse a contaminación durante la manipulación de la muestra. Para descartar o cuantificar el grado de contaminación de la técnica, los resultados han de cotejarse con varios controles internos de calidad que excluyan razonablemente la contaminación, o bien consigan una identificación óptima del “background” genético del laboratorio. Una vez descartada o anulado el grado de contaminación, podría plantearse el significado clínico de los resultados: la patogenicidad de los microorganismos identificados y, en casos de identificación múltiple, cuál tiene un papel más crucial en la enfermedad.

La interpretación clínica de los resultados polimicrobianos, o no concordantes con los proporcionados por los cultivos, tiene dos limitaciones fundamentales. La primera es que los métodos basados en PCR son incapaces de distinguir entre bacterias vivas o DNA desnudo de bacterias muertas, residual en el tejido estudiado. Este punto es controvertido, porque no está claro si realmente puede existir DNA desnudo en los tejidos. Branger *et al.*⁶² publicaron que el DNA de bacterias patógenas puede persistir meses o años después de una curación clínica, mientras que Post *et al.*⁶³ indicaron que el DNA desnudo se degrada rápidamente en el modelo animal. La segunda limitación interpretativa es que tampoco existe consenso en la literatura sobre si parte del DNA detectado en la válvula puede corresponder a bacteriemias transitorias asintomáticas procedentes de la propia microbiota humana. Este tipo de bacteriemia está bien descrita y es relativamente frecuente tras el cepillado de dientes, manipulación dental o intervenciones quirúrgicas. Si esto fuera así, en las válvulas cardíacas de pacientes sin EI podría detectarse material genético secundario a esas bacteriemias, pero hay estudios que demuestran lo contrario⁶⁴. Una manera de evaluar la relevancia clínica de los hallazgos podría ser la correlación de los patógenos identificados con la historia clínica de cada paciente y su tratamiento antimicrobiano, pero este abordaje tiene un alto grado de subjetividad. Lo ideal sería disponer de herramientas diagnósticas adicionales que ayuden a caracterizar mejor el papel patógeno de cada bacteria identificada mediante PCR 16S. Por ejemplo, secuenciar RNA del patógeno para valorar su actividad

fisiológica, o detectar DNA de genes de virulencia, patogenicidad o resistencia antibiótica.

En este sentido, en los últimos diez años se dispone de una nueva herramienta diagnóstica con gran potencial para mejorar el diagnóstico etiológico de la EI: la secuenciación de nueva generación (NGS: *Next Generation Sequencing*). Su advenimiento ha incrementado de forma masiva el rendimiento de las técnicas moleculares. Permitiendo la realización de múltiples PCR en paralelo, genera en poco tiempo una gran cantidad de información de cada muestra analizada ⁶⁵. Sus aplicaciones en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas van desde la detección e identificación de microorganismos patógenos y no patógenos, pasando por genes de resistencia antibiótica, hasta el estudio metagenómico del 16S rDNA, la secuenciación profunda de virus (hepatitis C, VIH) o del genoma completo presente en una muestra clínica (WGS: *Whole Genome Shotgun*). La NGS conserva los dos beneficios básicos de las técnicas moleculares que la preceden: rapidez frente a los métodos de cultivo y detección de patógenos no cultivables por haber recibido un tratamiento antimicrobiano previo o por requerimientos exigente de cultivo. Además, añade dos ventajas importantes. Primeramente, el estudio WGS rastrea la presencia de material genético en la muestra clínica, ya sea bacteriano, fúngico, vírico o humano. En segundo lugar, puede leer secuencias genéticas que cubren amplias regiones de genoma, pudiendo utilizarse para tipificación de secuencia multi-locus. Los métodos NGS que actualmente dominan el mercado son los de segunda generación (*Illumina, Ion Torrent, Solid*). Su mayor limitación es la lectura de fragmentos cortos, discontinua, que conlleva un pequeño error acumulativo y la dificultad para llegar a la identificación a nivel de especie. Esto queda mejorado con las técnicas NGS de tercera generación, que pueden secuenciar directamente una molécula completa de DNA.

Aún son escasos los datos publicados sobre la aplicación de NGS en el campo de la EI. En su aplicación como secuenciación masiva de 16S rDNA, Oberbach *et al.* ⁵¹ encuentran múltiples especies bacterianas con potencial patógeno en 8 válvulas nativas y protésicas de pacientes con EI. El cultivo de sangre y de tejido valvular de los 8 casos aisló 4 especies de 3 géneros bacterianos, mientras que la NGS reveló la presencia de material genético de 13 géneros bacterianos y 16 especies, 11 ya conocidas como causa de EI. Completan el estudio con una evaluación ultraestructural del tejido valvular utilizando microscopía electrónica de barrido con haz de iones focalizados (FIB-SEM), comprobando una distribución intramural e intracelular que podría explicar un escape

inmunológico. En su aplicación como barrido de genoma completo de la muestra (WGS) Imai *et al* ⁵² aplicaron NGS al estudio de 3 válvulas nativas de pacientes con EI: 2 de ellos con hemocultivo positivo (*Enterococcus faecalis* y *Streptococcus mutans*), y el tercero con hemocultivo negativo. El estudio metagenómico detectó un total de lecturas en torno a 350.000 pares de bases, siendo más del 95% del DNA analizado de origen humano. El DNA bacteriano leído concuerda con las especies cultivadas (caso 1: 2.251 lecturas para *E. faecalis*, caso 2: 145 para *S. mutans*) y en el caso de EI hemocultivo negativo proporciona un diagnóstico monobacteriano: *S. sanguinis* (72 lecturas). De manera similar, Fukui *et al.* ⁵³ proponen *Abiotrophia defectiva*, detectada mediante NGS, como diagnóstico etiológico de un caso de EI con hemocultivo negativo. Probablemente, la NGS no reemplazará a los métodos de diagnóstico tradicional, ya consolidados y más económicos, pero sí puede situarse como prueba de segunda línea cuando los métodos basados en cultivo o en PCR específica no sean concluyentes. La aplicación clínica del WGS es más probable por su alta sensibilidad para detectar patógenos sin información previa.

1.-10.-Tratamiento antimicrobiano

En la actualidad, queda demostrado que el abordaje de la EI por parte de un equipo médico multidisciplinar disminuye la mortalidad ⁶⁶. Este equipo debe incluir, al menos, un especialista en enfermedades infecciosas, un cardiólogo y un cirujano cardíaco. El pilar más importante del abordaje terapéutico es el tratamiento con antimicrobianos.

El objetivo primario del tratamiento antimicrobiano es erradicar la infección. Sin embargo, las características de las vegetaciones endocárdicas dificultan el éxito terapéutico por varios motivos: la alta densidad bacteriana y su efecto “inóculo”; el crecimiento bacteriano disminuido en los biofilms; las defensas locales relativamente deficientes; las bacterias metabólicamente inactivas del interior de la verruga resistentes al tratamiento antimicrobiano debido a su baja proliferación. Para curar la endocarditis es necesario destruir toda la carga bacteriana de la vegetación. Esta premisa obliga a realizar un tratamiento bactericida y prolongado. En general, los antimicrobianos deben ser administrados por vía parenteral y han de alcanzar unos niveles plasmáticos elevados para que, a través de la difusión pasiva, se logre una concentración eficaz en el interior de la vegetación. La duración del tratamiento suele calcularse a partir del momento en que la bacteriemia está aclarada, esto es, desde que los primeros

hemocultivos de control son negativos ⁶⁷. Si el cultivo del tejido valvular explantado es positivo, el tiempo debe calcularse desde el día de la cirugía cardíaca. También en la EI complicada con absceso paravalvular, en la infección de válvula protésica tratada parcialmente se administrará un esquema completo de tratamiento después de la operación ⁴³. Sólo se plantean terapias más cortas en caso de poder utilizarse antimicrobianos con rápida actividad bactericida o si la EI es del lado derecho, donde las vegetaciones habitualmente tienen menor densidad bacteriana. Para seleccionar de manera óptima el tratamiento antimicrobiano de cada paciente con EI han de tenerse en cuenta varios factores: la sensibilidad del microorganismo causal; la coexistencia de infección simultánea en otras localizaciones (meningitis); alergias previas del paciente; interacciones con otros fármacos concomitantes; riesgo de acontecimientos adversos. Iniciar el tratamiento de manera empírica, es decir, sin conocer aún el microorganismo responsable de la infección, debe hacerse siempre que la evolución de la enfermedad se prevea rápida y desfavorable y no permita esperar a que se establezca un diagnóstico etiológico. En estos casos, siempre debe extraerse antes una tanda de hemocultivos y elegir el tratamiento empírico teniendo en cuenta el contexto epidemiológico y demográfico del paciente. Dado que la mayoría de los casos de EI son causados por bacterias grampositivas, la vancomicina suele ser el antimicrobiano de primera elección. El uso de otros antimicrobianos debe plantearse según la microbiología y sensibilidad locales. Hay algunas consideraciones si la EI asienta sobre válvula protésica o dispositivos intracardiacos. En la EI sobre prótesis, la duración de tratamiento no suele ser menor a 6 semanas, mientras que, para las EI sobre válvula nativa, puede oscilar entre 2 y 6. Los antimicrobianos suelen ser los mismos, pero se valorará añadir gentamicina y rifampicina para optimizar la acción bactericida sobre la prótesis. El régimen de tratamiento recomendado para las EI sobre dispositivos intracardiacos es similar al de la EI sobre válvula nativa, aunque suceda sin afectación valvular y, en todos los casos, está recomendada la extracción del dispositivo para conseguir la curación ⁴⁴.

Tratamiento antimicrobiano dirigido

Streptococos

El tratamiento estándar de la EI estreptocócica es un ciclo de 4 semanas con un betalactámico (penicilina, amoxicilina o ceftriaxona) ⁶⁸. La adición de un

aminoglucósido una vez al día permite optimizar el tratamiento de las cepas de estreptococo con CMI elevada para penicilina o acortar el tratamiento a 2 semanas en casos muy seleccionados ⁶⁹. La pauta corta combinada no se recomienda ante una infección complicada de válvula nativa, infección de válvula protésica, cepa resistente a penicilina, variantes nutricionales del género *Granulicatella* o *Abiotrophia* y *Gemella morbillorum*se. Cuando no sea posible utilizar betalactámicos, la alternativa más estudiada y eficaz es la vancomicina ⁷⁰. No hay experiencia con daptomicina.

Enterococos

En el 90% de los casos de EI enterocócica se aísla *Enterococcus faecalis*, más raramente *E. faecium* u otras especies. Para conseguir destruir al enterococo se requiere un tratamiento prolongado (no menos de 6 semanas) y combinado, que permita la sinergia de un antimicrobiano activo sobre la pared celular (penicilina, ampicilina o vancomicina) y un aminoglucósido (gentamicina). Esto se debe a que los enterococos son bacterias altamente resistentes a la muerte inducida por antimicrobianos. En los últimos años, se ha investigado en alternativas a los aminoglucósidos para el tratamiento de la EI enterocócica, debido a las tasas crecientes de resistencia y a la toxicidad que conllevan. Así, se ha demostrado que la estreptomicina puede seguir siendo activa y que combinación de ampicilina con ceftriaxona puede ser efectiva (dos inhibidores de la pared celular) ⁷¹. Esta combinación, no es sólo útil en casos de resistencia a aminoglucósidos, sino que puede utilizarse para casos provocados por *E. faecalis* sensible a ampicilina, siendo igual de efectiva que la combinación ampicilina y ceftriaxona y permitiendo acortar el tratamiento a 2 semanas. La EI por enterococo resistente a vancomicina es rara hasta la fecha y hay publicados casos con éxito terapéutico usando linezolid y daptomicina a dosis altas ⁷². En las EI sensibles a penicilina, es preferible ampicilina frente a penicilina o amoxicilina por tener una CMI que es 2-4 veces menor.

Estafilococos

Para seleccionar el antimicrobiano más adecuado en un caso EI por *Staph. aureus* la cuestión fundamental es conocer la sensibilidad a oxacilina de la cepa aislada. Si se trata de una EI asociada a *Staph. aureus* meticilin-sensible (SAMS) la cloxacilina es el betalactámico de elección, dada la evidencia que aportan estudios observacionales indicando un peor pronóstico en los pacientes con bacteriemia por SAMS tratados con

vancomicina ⁷³. Se ha demostrado ser coste-efectivo realizar el test cutáneo de alergia para confirmar si el paciente es alérgico a penicilina en casos de EI o bacteriemia por SAMS. Si se trata de una EI asociada a *Staph. aureus* meticilin-resistente (SAMR), la vancomicina ha sido históricamente el antimicrobiano de primera elección y permanece como tratamiento de primera línea en las guías internacionales. Se recomienda administrar la vancomicina a una dosis que alcance una concentración mínima de 15 a 20 µg/ml. Cada vez se observan con más frecuencia cepas de *Staph. aureus* con sensibilidad reducida a la vancomicina, considerándose cuando la CMI para vancomicina es mayor a 1,5 µg/ml. Además, diversos artículos alertan de que la CMI elevada para vancomicina (>1,5 mg/l) es importante incluso en bacteriemias por SAMS no tratadas con vancomicina, por su posible asociación con un peor pronóstico. Por tanto, en estos supuestos, debería considerarse el uso de un antimicrobiano diferente a la vancomicina. Hasta la fecha, no hay datos claros en términos de mortalidad que permitan decantarse por la mejor alternativa a la vancomicina. La daptomicina está aprobada por la FDA para el tratamiento de la EI derecha por SAMR, a una dosis de 6 mg/kg/día, aunque hay autores que recomiendan el uso de mayores dosis (8- 10 mg/kg/día) para evitar el desarrollo de resistencias (hasta el 5%) y combinada, bien con betalactámico o fosfomicina en casos de EI sobre válvula nativa, bien con rifampicina y gentamicina sobre válvula protésica. La gentamicina acelera la erradicación de la carga bacteriana, pero ya no se recomienda para la EI sobre válvula nativa por estafilococo porque no ha demostrado mejorar las tasas de supervivencia y siempre supone un riesgo de nefrotoxicidad. Algo parecido ocurre con la rifampicina, que tampoco se recomienda como adyuvante en el tratamiento del EI sobre válvula nativa por asociarse a efectos adversos y bacteriemia prolongada. Sólo tendría sentido su uso en los pacientes que presenten otra afectación concomitante que se beneficie de añadir rifampicina (por ejemplo, una infección osteoarticular estafilocócica). Para la EI sobre válvula protésica estafilocócica, la recomendación sigue siendo un ciclo con triple terapia que incluya cloxacilina o vancomicina más gentamicina y rifampicina, con una duración de 6-8 semanas. La recomendación de añadir rifampicina, no desde el inicio, sino pasados 3-5 días, cuando ya esté aclarada la bacteriemia, se basa en el efecto antagonista contra las bacterias planctónicas y la sinergia observada contra las bacterias inactivas en biofilm. Dado que la evidencia actual que apoya el uso de gentamicina como de rifampicina es bastante débil, está en marcha un ensayo clínico para evaluar el papel adyuvante de la rifampicina en la bacteriemia por *Staph. aureus*. La EI por SAMS, no complicada y

limitada a la válvula tricúspide o pulmonar, es un trastorno casi exclusivo de sujetos UDVP. Estos casos pueden tratarse con la combinación cloxacilina y gentamicina durante dos semanas. Esta pauta corta debe cambiarse a la estándar si la fiebre persiste cinco días o más bajo tratamiento. Si la EI del lado derecho se debe a una cepa de MRSA el tratamiento recomendado son cuatro semanas con dosis estándar de vancomicina o daptomicina. Otras combinaciones de antimicrobianos usadas para EI estafilocócica con mayor o menor éxito terapéutico son la ceftarolina sola o con otro antiestafilocócico; la vancomicina o daptomicina combinadas con trimetropin-sulfametoxazol ⁷⁴; daptomicina y fosfomicina; fosfomicina con algún betalactámico. Las recomendaciones de tratamiento para la EI por *Staph. aureus* son extrapolables a los casos de EI por estafilococos coagulasa-negativo.

Otros microorganismos

El grupo HACEK (*Haemophilus* spp., *Aggregatibacter* spp., *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* and *Kingella* spp.) ha sido históricamente sensible a ampicilina. Sin embargo, las cepas productoras de β -lactamasa son cada vez más frecuentes. Dado que no siempre se dispone de antibiograma por el difícil aislamiento en medios de cultivo, el grupo HACEK debe ser considerado ampicilin-resistente y tratarse con ceftriaxona durante cuatro semanas.

La EI por bacilos gramnegativos no HACEK es tan poco frecuente que no hay una estrategia terapéutica definida. Habitualmente se requiere de un tratamiento prolongado (mínimo seis semanas) y combinado (betalactámico, aminoglucósido y quinolona o cotrimoxazol).

La EI fúngica también es rara, pero con una evolución invariablemente mala. Se observa con más frecuencia en pacientes portadores de prótesis, inmunodeprimidos o UDVP. Aunque no se ha demostrado que la cirugía conlleve mejores resultados, suele completarse el tratamiento con sustitución valvular. El tratamiento más consensuado es un ciclo parenteral de anfotericina B o una equinocandina, con secuenciación oral con un derivado azólico, de duración indefinida, especialmente si el enfermo no ha sido sometido a recambio valvular.

Tabla 2. Tratamiento antimicrobiano de la EI por estreptococos. ^{43 44}

Microorganismo	Fármaco (dosis para adultos con función renal normal, duración)	Comentarios
Estreptococos		
Estreptococos orales y digestivos sensibles a penicilina CMI <0,125 mg/l	<p>Penicilina G (2-3 M.U. iv/4h, 4 semanas) o</p> <p>Ceftriaxona (2 g iv/24h, 4 semanas) o</p> <p>Amoxicilina (100-200 mg/kg/día iv en 4-6 dosis)</p>	Preferido en pacientes > 65 años, con deterioro de la función renal o del par craneal VIII. Se recomiendan 6 semanas si la válvula afectada es protésica
	<p>Vancomicina (15 mg/kg iv/12h, 4 semanas)</p>	En pacientes con alergia grave o inmediata a penicilina
	<p>Penicilina G (2-3 M.U iv/4h.) o ceftriaxona (2 g iv/24h) + gentamicina (3 mg/kg/24h iv/im) 2 semanas</p>	Este esquema corto sólo está recomendado en pacientes con afectación de válvula nativa no complicada y con función renal normal.
Estreptococos resistentes a Penicilina CMI 0,125-2mg/l	<p>Penicilina G (4 M.U. iv/4h) o</p> <p>Ceftriaxona (2 g iv/24h) o</p> <p>Amoxicilina(100-200 mg/kg/día iv) + Gentamicina (3 mg/kg/24h iv/im) 4 semanas, 2 semanas con AMG</p>	Se recomiendan 6 semanas si es EI protésica. En pacientes con alergia a penicilina: Vancomicina + Gentamicina, 2 semanas.

Tabla 3. Tratamiento antimicrobiano de la EI por enterococos. ^{43 44}

Microorganismo	Fármaco (dosis, duración)	Comentarios
Enterococos		
Enterococo sensibles a betalactámicos y aminoglucósidos	Amoxicilina (200 mg/kg/día iv) + gentamicina (3 mg/kg/24h iv/im) 4-6 semanas	Se recomiendan 6 semanas si la válvula afectada es protésica. El aminoglucósido puede suspenderse tras 2 semanas si hay deterioro de la función renal.
	Ampicilina (2 g iv/4h) + Ceftriaxona (2 g iv/12h) 6 semanas.	Esta combinación no es activa frente a <i>E. faecium</i> . Recomendada en pacientes con EI por <i>E. faecalis</i> con alto grado de resistencia a aminoglucósidos.
	Vancomicina (15 mg/kg iv/12h) + gentamicina (3 mg/kg/24h iv/im) 6 semanas	En pacientes con alergia grave o inmediata a penicilina.

Tabla 4.1. Tratamiento antimicrobiano de la EI por estafilococos. ^{43 44}

Microorganismo	Fármaco (dosis, duración)	Comentarios
Estafilococos		
Válvula nativa		
Estafilococo sensible a metilicina	Cloxacilina (2 g iv/4h) o Cefazolina (6 g iv/día en 3 dosis) 4-6 semanas	No se recomienda añadir gentamicina por falta de beneficio clínico y mayor toxicidad renal.
	Cotrimoxazol (4.800 mg/día de sulfametoxazol y 960 mg/día de trimetopim, iv en 4-6 dosis) + Clindamicina (1.800 mg/día en 3 dosis) 1 semana + 5 tomas orales de CMX	Tratamiento alternativo para <i>Staph. aureus</i> recomendado por expertos, sea SAMS o SAMR.
Alérgicos a penicilina o estafilococo resistente a metilicina	Vancomicina (15-30 mg/kg iv/12h) o Daptomicina (10mg/kg/día iv) 4-6 semanas	La daptomicina es preferible a la vancomicina cuando la CMI para vancomicina es > 1,5 mg/l, sea SAMS o SAMR.

Tabla 4.2. Tratamiento antimicrobiano de la EI por estafilococos. ^{43 44}

Microorganismo	Fármaco (dosis, duración)	Comentarios
Estafilococos		
Válvula protésica		
Estafilococo sensible a metilicina	Cloxacilina (2 g iv/4h) 6-8 semanas + Rifampicina (900-1200 mg iv/oral en 2-3 dosis) 6-8 semanas + Gentamicina (3 mg/kg/día iv) 2 semanas	Algunos expertos recomiendan iniciar la rifampicina 5 días después de la cloxacilina y la gentamicina. Puede usarse cefazolina como alternativa a la cloxacilina.
Alérgicos a penicilina o estafilococo resistente a metilicina	Vancomicina (15-30 mg/kg/12h) + Rifampicina (900-1200 mg iv/oral en 2-3 dosis) 6-8 semanas + Gentamicina (3 mg/kg/día iv) 2 semanas	La daptomicina es preferible a la vancomicina cuando la CMI para vancomicina es > 1,5 mg/l, sea SAMS o SAMR

EI con hemocultivos negativos

La EI con hemocultivos negativos es particularmente difícil de manejar. Aunque la mayoría de los hemocultivos negativos se deben a que el paciente ha recibido antimicrobianos antes de la extracción de sangre, un porcentaje de casos se debe a la dificultad de aislar el microorganismo responsable por carecer de las técnicas microbiológicas adecuadas ⁷⁵, y otro porcentaje a causas no infecciosas de vegetaciones valvulares, tales como la endocarditis marántica o de Libman-Sacks. Optar por un tratamiento antimicrobiano requiere valorar la cobertura de todas las probables etiologías infecciosas y los efectos adversos derivados del uso de múltiples antimicrobianos. La investigación etiológica en estos casos siempre resulta rentable. ³¹

Tratamiento antimicrobiano empírico

Antes de iniciar el tratamiento empírico de una EI deben extraerse tres series de hemocultivos a intervalos de 30 minutos. Los datos clínicos y epidemiológicos son fundamentales para diseñar el régimen antimicrobiano en función de la sospecha etiológica: si ha recibido antimicrobianos previamente, si la infección afecta a una válvula nativa o protésica, cuándo se realizó la cirugía si se trata de una válvula protésica y si la adquisición es nosocomial o comunitaria. Los tratamientos recomendados deben cubrir siempre estafilococos, estreptococos y enterococos. Para las EI sobre prótesis precoz o la asociada a la asistencia sanitaria debe tenerse en cuenta el estafilococo resistente a oxacilina y los gram negativos no HACEK.

Tratamiento antimicrobiano ambulatorio

El régimen de tratamiento antimicrobiano ambulatorio puede plantearse en los pacientes muy colaboradores, con un entorno estable en su domicilio, que tienen cultivos negativos, se encuentran afebriles durante el tratamiento y no presentan datos clínicos o ecocardiográficos que sugieran el desarrollo inminente de una complicación. Sólo debe plantearse en caso de poder ofrecer un seguimiento cuidadoso y un acceso intravenoso asequible con régimen de antimicrobianos que son estables en solución. ^{76 77}. Con vistas a mejorar las complicaciones asociadas al tratamiento parenteral prolongado establecido en la EI, se está estudiando la efectividad y seguridad de estrategias terapéuticas que acorten la necesidad de un acceso venoso prolongado, tales como la secuenciación oral

precoz o el uso de antimicrobianos parenterales con administración discontinua gracias a una vida media muy prolongada.

El estudio POET es un estudio de no inferioridad, multicéntrico, prospectivo, aleatorizado, que incluye a 400 pacientes estables con EI izquierda por grampositivos (*Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp. o *Streptococcus* spp) ⁷⁸. En un brazo, los pacientes reciben la pauta estándar de cuatro a seis semanas de antimicrobiano intravenoso y en otro brazo, se procederá a secuenciación oral tras 10 días de antimicrobiano parenteral. El objetivo primario es la disminución de la mortalidad, la cirugía cardíaca no programada, los eventos embólicos y la bacteriemia persistente. El margen de no inferioridad propuesto es del 10%. El estudio RODEO utiliza el mismo objetivo primario y evalúa la misma hipótesis. Incluye 324 pacientes con EI izquierda por SAMS que reciben 10 días de antimicrobiano intravenoso y posteriormente se aleatorizan para completar un ciclo de cuatro a seis semanas de antimicrobiano parenteral o tratamiento oral con levofloxacino y rifampicina ⁷⁹.

Dos moléculas antimicrobianas potenciales candidatas para regímenes terapéuticos discontinuos podrían ser la dalbavancina y la oritavancina. Son glicopéptidos antiestafilocócicos aprobados en 2014 por la FDA para infecciones de la piel y las partes blandas. Su vida media está estimada en diez a catorce días. La administración recomendada de dalbavancina es en dosis única de 1500 mg, o bien dividida en dos dosis: una de carga de 1000 mg y otra de recuerdo de 500 mg al cabo de una semana ⁸⁰. La administración recomendada de oritavancina es en dosis única de 1200 mg mediante infusión intravenosa lenta (3 horas) ⁸¹.

1.-11.- Tratamiento quirúrgico

Los dos principales objetivos de la cirugía en la EI son la eliminación completa de los tejidos infectados y la reconstrucción de la morfología cardíaca, incluida la reparación o sustitución de las válvulas afectadas. En ausencia de estudios clínicos aleatorizados que evalúen el impacto de la cirugía en la supervivencia, las indicaciones de tratamiento quirúrgico de la EI se basan en estudios observacionales y en la opinión de expertos. Entre el 25 y el 40% de los pacientes con EI del lado izquierdo se someten a una cirugía cardíaca durante la infección aguda y la supervivencia es ligeramente mayor con la EI sobre prótesis que con los casos sobre válvula nativa.

En cuanto al momento más idóneo durante la enfermedad de practicar la cirugía, la evidencia que hay no es clara. Un ensayo clínico aleatorizado reciente ha demostrado una reducción significativa de la mortalidad intrahospitalaria y los eventos embólicos con cirugía precoz ⁸². Sin embargo, los sujetos de estudio eran más jóvenes, sanos e infectados por cepas menos virulentas que la mayoría de los pacientes de la práctica clínica real, lo que dificulta la generalización de las conclusiones a nivel poblacional. Por este motivo, es importante individualizar la decisión de la cirugía valvular en cada paciente concreto, sopesando tanto los riesgos como los beneficios y la cronología de la intervención.

Las tres indicaciones más consensuadas de cirugía valvular son la insuficiencia cardíaca, la infección no controlada y la prevención de eventos embólicos en pacientes con alto riesgo.

La insuficiencia cardíaca congestiva refractaria, moderada o grave, debida a una disfunción valvular nueva o a una disfunción valvular preexistente que empeora, es la principal indicación para el tratamiento quirúrgico de la EI. Durante el seguimiento durante seis meses de pacientes con EI de cavidades izquierdas con insuficiencia cardíaca moderada o pronunciada, por disfunción valvular, y no sometidos a cirugía sino únicamente a tratamiento médico, tienen una mortalidad del 50%. En cambio, los pacientes que complementan el tratamiento antimicrobiano con cirugía valvular, tienen una mortalidad del 15% ¹. El impacto de la cirugía en la supervivencia se observa tanto en la EI sobre válvula nativa como en la EI sobre prótesis valvular. La cirugía puede requerirse para aliviar una estenosis funcional secundaria a vegetaciones grandes o para restablecer la competencia de las válvulas insuficientes dañadas.

La infección persistente ocurre en un 10-15% de las EI sobre válvula nativa y en un 45-60% de las EI sobre válvula protésica y es más común cuando está afectada la válvula aórtica. La infección persistente puede manifestarse como absceso paravalvular, aumento de tamaño de la verruga o dehiscencia de la prótesis valvular. Se sospecha por la presencia de fiebre persistente inexplicable durante un tratamiento apropiado con hemocultivos persistentemente positivos o por la aparición de nuevas alteraciones electrocardiográficas de la conducción o pericarditis. Debe monitorizarse el ritmo cardíaco, puesto que el bloqueo aurículo-ventricular de alto grado puede requerir la implantación de un marcapasos.

Las vegetaciones mayores de 10 mm de diámetro y del lado izquierdo son más propensas a causar eventos embólicos. La morbimortalidad debida a émbolos sépticos

se debe principalmente a los casos en que provocan oclusión arterial cerebral o coronaria. La evaluación ecocardiográfica del tamaño y la anatomía de la vegetación permite seleccionar a los pacientes de alto riesgo de embolia sistémica, pero no identifica a aquellos en los cuales los beneficios de la cirugía destinada a la prevención de émbolos superan claramente a los riesgos relacionados con el procedimiento quirúrgico. Es más probable que la cirugía aporte beneficios netos cuando el riesgo de embolia es alto y cuando además la cirugía aporte otros efectos benéficos (p. ej., la reparación de una válvula moderadamente disfuncional o el desbridamiento de un absceso paravalvular). Sólo el 3.5% de los pacientes se somete a cirugía exclusivamente para prevenir embolias generalizadas.

Otro asunto importante es decidir el momento idóneo para programar una cirugía cardíaca a los pacientes con complicaciones neurológicas embólicas. Una cohorte prospectiva de casi 900 pacientes con EI complicada con ictus embólico isquémico encontró que no aportaba ningún beneficio diferir la cirugía más de un mes mientras que sí suponía un beneficio en aquellos pacientes con EI e ictus embólico con transformación hemorrágica (mortalidad 75% vs 40%)⁸³. Las recomendaciones actuales son, por tanto, no diferir 4 semanas la cirugía valvular en los pacientes con EI e ictus embólico isquémico, siempre que se haya descartado transformación hemorrágica y que la repercusión neurológica no sea un estado de coma.

Tradicionalmente, la cirugía valvular se recomendaba para aquellos patógenos de difícil tratamiento médico, tales como *Pseudomonas aeruginosa*, hongos y estafilococos resistentes a betalactámicos. Sin embargo, en los últimos años se cuestiona si realmente esta actitud aporta beneficios. Una etiología en la que la tasa de mortalidad mejora con la cirugía sigue siendo la EI por *Staph. aureus* sobre prótesis valvular (50% vs 25%). En pacientes con complicaciones intracardíacas secundarias a la infección de la prótesis valvular por *Staph. aureus*, el tratamiento quirúrgico reduce hasta 20 veces la mortalidad⁸⁴. También debe considerarse la cirugía en los pacientes con infección de la válvula mitral o aórtica nativas con vegetaciones demostrables por medio de ETT y que permanecen sépticos durante la semana inicial de tratamiento. La EI aislada de la válvula tricúspide, incluso en presencia de fiebre persistente, rara vez requiere cirugía.

En general, cuando el tratamiento quirúrgico de la EI está indicado porque el paciente cumple alguna de las condiciones descritas en el apartado anterior, la cirugía no debe retrasarse para permitir completar el tratamiento antimicrobiano. Después de catorce días de régimen antimicrobiano recomendado, las válvulas resecadas resultan con

cultivo tisular negativo en 99 y 50% de los pacientes con EI estreptocócica y por *Staph. aureus*, respectivamente. El retraso se justifica únicamente cuando la infección se ha contenido y la insuficiencia cardiaca se resuelve con tratamiento médico o cuando el paciente ha sufrido una complicación neurológica hemorrágica, por suponer un riesgo de deterioro neurológico adicional a consecuencia de la cirugía cardiaca. En caso de rotura de un aneurisma micótico deberá procederse a su tratamiento y esperar a que se resuelva el edema cerebral antes de emprender la cirugía cardiaca.

En cuanto a la valoración del riesgo quirúrgico, hay pocos estudios que hayan evaluado la utilidad de la puntuación del riesgo quirúrgico en el contexto de la EI. Aunque no existe ninguna clasificación de riesgo perfecta, es de suma importancia hacer una evaluación del riesgo operatorio individual antes de la intervención. La escala más utilizada es el EuroSCORE II, un sistema de puntuación que se desarrolló y se validó para la cirugía coronaria de bypass y valvular. Se han creado tres escalas de riesgo más específicas para la cirugía de EI. El propuesto por *Society of Thoracic Surgeons*⁸⁵ y el propuesto por De Feo *et al*⁸⁶, han sido validados sólo en 146 pacientes, pero mostrando resultados superiores al EuroSCORE II en cuanto a predicción de mortalidad⁴³. Más recientemente, un grupo español en colaboración con otro francés, han validado retrospectivamente en 2.299 pacientes la escala Risk-Endocarditis Score, mostrando mayor capacidad de predicción de mortalidad quirúrgica que los métodos anteriores⁸⁷.

1.-12. Otros tratamientos adyuvantes

Tanto la anticoagulación como la antiagregación no están indicadas en el tratamiento coadyuvante de la EI. Los pacientes que ya recibían alguno de los dos tratamientos por otra indicación, presentan un riesgo incrementado de muerte por hemorragia cerebral⁸⁸⁸⁹. Se recomienda mantener la anticoagulación o la antiagregación previas salvo a menos que el paciente desarrolle complicaciones hemorrágicas. Los datos sobre mantener la anticoagulación o pasar a heparina son contradictorios como para establecer recomendaciones claras⁹⁰. No hay una recomendación firme de realizar técnicas de imagen de manera sistemática a todos los pacientes con EI para descartar eventos embólicos subclínicos. Sin embargo, la identificación de focos metastásicos de infección es importante de cara a planificar el tratamiento de la EI y evitar la recurrencia, más aún si va a llevarse a cabo una sustitución valvular. Previo a la cirugía

y/o a la suspensión de antimicrobiano, se valorará si hay indicación de drenaje de abscesos susceptibles, de retirada de material protésico afectado, de ajuste del tratamiento antimicrobiano para focos de osteomielitis ⁹¹. La búsqueda activa del foco de origen o puerta de entrada del microorganismo responsable de la EI siempre es uno de los pilares para evitar recurrencias y puede conseguirse hasta en un 74% de los casos.

1.-13. Prevención

La considerable morbimortalidad asociada a la EI ha llevado a invertir muchos esfuerzos en prevenir esta infección en los grupos de alto riesgo. En el momento actual tres son los pilares de la prevención de EI: la salud bucodental, la prevención de bacteriemia asociada a catéter y las estrategias de inmunización aún en vías de investigación.

Históricamente la prevención se ha centrado en la salud bucodental, al suponer *S. viridans* hasta un 20% de las EI, los comités de expertos siempre han recomendado la administración de antimicrobiano profiláctico antes de procedimientos dentales en los pacientes con cardiopatías de base ⁹³. Este axioma de la prevención de EI, fundamentado en un beneficio teórico y biológicamente plausible en modelo animal, se ha venido cuestionando en los últimos años. Por un lado, no se ha demostrado la eficacia de los antimicrobianos profilácticos con estudios prospectivos aleatorizados y los estudios de coste-eficacia y el coste-beneficio sugieren que la profilaxis antibiótica supone un uso deficiente de los recursos. Por otro lado, hay evidencia suficiente de que la bacteriemia por *S. viridans* también se desencadena con actividades normales de la vida diaria tales como el cepillado de dientes, el uso de seda dental o el mascado de chicle ⁹⁴. Además, el cambio en la epidemiología de la EI con el protagonismo creciente de la infección asociada a cuidados sanitarios, orienta el foco de la prevención en evitar bacteriemias durante la exposición hospitalaria, principalmente la asociada a catéter. Así, en el año 2002 las guías francesas de profilaxis de EI fueron las primeras que redujeron drásticamente las indicaciones de profilaxis dental ⁹⁵. Las guías clínicas de la *American Heart Association* (AHA) de 2007 y de la *European Society of Cardiology* (ESC) en 2009 ⁹⁶ dejan de recomendar profilaxis antibiótica para procedimientos gastrointestinales o genitourinarios y restringen la indicación de profilaxis dental a procedimientos concretos y a los pacientes con mayor riesgo de morbimortalidad secundaria a la EI. Por el contrario, resaltan la importancia de una buena higiene oral y

la necesidad de ser extremadamente cuidadosos en la asepsia durante la manipulación de catéteres y otros procedimientos invasivos. Las manipulaciones dentales con indicación de profilaxis son las que manipulan el tejido gingival o perforan la mucosa oral.

Los cuatro tipos de pacientes con indicación de profilaxis son: portadores de prótesis valvular, antecedente personal de EI previa, de cardiopatía congénita intervenida o no y de trasplante cardíaco con valvulopatía posterior. Las guías del *National Institute for Health and Clinical Excellence* (NICE) en 2008 son aún más restrictivas y recomiendan no usar profilaxis antibiótica para ningún procedimiento dental, gastrointestinal, genitourinario o respiratorio ⁹⁷. Hasta la fecha, nueve estudios poblacionales han evaluado las tasas de EI antes y después de este cambio en las recomendaciones. Sin embargo, los datos microbiológicos son imprecisos y es difícil constatar si realmente hay un aumento de casos de EI estreptocócica y si hubiera una relación causal con los cambios de recomendaciones. Faltan estudios prospectivos aleatorizados que evalúen realmente la eficacia de la profilaxis.

Para disminuir las tasas de bacteriemia asociada a catéter se ha demostrado que lo más efectivo es la aplicación de intervenciones de calidad tipo “bundles” (paquete de medidas) o “checklists” (lista de control). Estas herramientas deben incluir los pasos fundamentales: higiene estricta de manos, uso de precauciones de barrera durante la inserción del catéter central, limpieza de la piel con clorhexidina, evitar la inserción femoral y retirar los catéteres innecesarios ⁹⁸.

En los últimos años se han invertido recursos en el desarrollo de vacunas contra las bacterias que más frecuentemente causan EI: *S. viridans*, *C. albicans*, *P. aeruginosa*, *Streptococcus* grupo B, *Staph. aureus*. El éxito no ha sido contundente y, en consecuencia, ninguna de las vacunas está comercializada en el momento actual. La mayoría de datos, provienen de vacunas para *Staph. aureus*. Se han probado estrategias de inmunización pasiva -usando anticuerpos ya existentes- y estrategias de inmunización activa -estimulando la respuesta humoral del huésped-.

La inmunización pasiva se ha propuesto asociada al tratamiento antimicrobiano estándar en una infección ya establecida, y como prevención en pacientes considerados de alto riesgo para desarrollar infección ²⁶. Como tratamiento adyuvante, se han ensayado tres compuestos sin demostrar eficacia en fase II (tefibazumab, Altastaph®, Aurograb®). Hay un cuarto compuesto, 514G3, actualmente en fase II de estudio, en pacientes hospitalizados con bacteriemia por *Staph. aureus*. Como prevención en pacientes de alto

riesgo, se han evaluado tres moléculas en fase III para disminuir la tasa de sepsis neonatal tardía estafilocócica, sin hallar diferencias significativas (Altastaph®, Veronate®, Pagibaximab).

Las estrategias de inmunización activa se han ensayado en adultos sometidos a hemodiálisis (StaphVAX), cirugía cardíaca (V710) y cirugía de columna (SA4Ag). StaphVAX es una vacuna bivalente polisacárida que se probó en 1.804 pacientes con acceso venoso permanente para hemodiálisis, sin conseguir demostrar una protección duradera, esto es, disminuir significativamente la tasa de bacteriemia por *Staph. aureus* pasados seis meses de la vacunación. V710 es una vacuna dirigida a la proteína IsdB de la pared celular bacteriana. Se probó en ocho mil pacientes que habían sido sometidos a esternotomía media, observándose falta de eficacia y mayor tasa de muerte por fracaso multiorgánico. La vacuna SA4Ag incluye cuatro epítomos: ClfA, MntC (Proteína Transportadora de Manganeso) y polisacáridos capsulares 5 y 8. Su estudio está en fase IIb, con el objetivo de evaluar eficacia y seguridad en pacientes que van a someterse a una cirugía programada de instrumentación posterior de columna lumbar. Hay al menos otras dos candidatas a vacuna en desarrollo preclínico avanzado. Una es NDV-3, que ha demostrado que protege a los ratones de la inoculación mucosa o intravenosa con *C. albicans* y *Staph. aureus* y que es segura e inmunogénica en adultos sanos. Otra es la compuesta por cinco antígenos determinantes de virulencia de *Staph. aureus*, que en el modelo animal provoca una respuesta con niveles elevados de linfocitos T helper 1.

1.-14.- Pronóstico

Los factores relacionados con un peor pronóstico en la EI son: edad avanzada, trastornos graves concomitantes, diagnóstico tardío, afección de válvulas protésicas o de la válvula aórtica, un microorganismo patógeno invasor (*Staph. aureus*), un microorganismo resistente a los antimicrobianos (*P. aeruginosa*, hongos), complicaciones intracardiacas y complicaciones neurológicas importantes.

La muerte suele ser consecuencia de procesos concomitantes o complicaciones cardíacas, más que del fracaso terapéutico. La tasa de supervivencia global para los pacientes con EI sobre válvula nativa causada por estreptococos *viridans*, microorganismos del grupo HACEK o enterococos (sensibles al tratamiento sinérgico) es de 85 a 90%. En el caso EI sobre válvula nativa por *Staph. aureus* en los pacientes UDVP la tasa de supervivencia asciende al 85-90%, mientras que en los pacientes no

UDVP se estima en el 55-70%. La EI sobre prótesis valvular precoz tiene una tasa de mortalidad del 40 a 50%, mientras que las tasas son sólo del 10 al 20% en los casos de instauración más tardía ⁹⁹.

Una vez finalizado el proceso terapéutico, debe establecerse un programa de seguimiento del paciente posterior al alta que incluya la realización de un ecocardiograma basal para posibles comparaciones, valorar la inclusión en un programa de deshabitación en el caso de UDVP, asegurar el mantenimiento de higiene y revisiones dentales. No se recomiendan hemocultivos de control tras el tratamiento antimicrobiano dada la baja tasa de positividad en los pacientes sin signos de infección activa. Deben monitorizarse las complicaciones de la EI, incluida la recaída, la insuficiencia cardíaca y las complicaciones del tratamiento antimicrobiano tales como la pérdida auditiva secundaria a los aminoglucósidos o la infección por *Clostridium difficile*.

Uno de los problemas asociados al diagnóstico de EI es el estrés que conlleva para el paciente entender que tiene una infección potencialmente mortal, sufrir una hospitalización prolongada con necesidad de acceso venoso y otros procedimientos invasivos y con posibles reacciones adversas al tratamiento. Hasta el 11% de los supervivientes pueden presentar un síndrome de estrés postraumático un año después y el 75% síntomas físicos tales como debilidad de los miembros inferiores, astenia o dificultad para la concentración ¹⁰⁰. Actualmente, está en marcha un ensayo clínico que pretende evaluar el impacto de programas de rehabilitación cardíaca sobre la calidad de vida de los pacientes con EI ¹⁰¹.

1.-15.- Endocarditis infecciosa con hemocultivos negativos

Los hemocultivos positivos son un criterio diagnóstico mayor en EI. El hecho de que el hemocultivo de un paciente con alta sospecha de EI sea negativo complica el diagnóstico, la elección de un régimen antimicrobiano óptimo, la monitorización del control de la infección y, además, conlleva el uso de antimicrobianos con potencial tóxico que podrían haberse evitado con la detección del patógeno y su patrón de sensibilidad. Por tanto, si fracasa el cultivo del (o los) microorganismo/s que causan una EI, se complican el diagnóstico y el tratamiento óptimo y precoz ²⁸.

Los casos de EI asociados a hemocultivos negativos constituyen alrededor del 5%-15% de todas las endocarditis, con un rango del 2,5%-31% ¹⁰².

Se ha propuesto una aplicación secuencial de cultivos, serodiagnóstico y biología molecular para conseguir el diagnóstico etiológico. La mayor serie publicada hasta la fecha de EI con verdaderos hemocultivos negativos fue publicada en el año 2.005 por el Centro de Referencia de Diagnóstico Etiológico de Francia ⁴⁶¹⁰³. Se trata de una serie con un posible sesgo de selección, puesto que analiza muestras derivadas de otros hospitales con alta sospecha de bacterias intracelulares. Sin embargo, también es una serie con alta rentabilidad y eficacia diagnóstica, gracias a una aplicación sistemática y a gran escala de una batería completa de técnicas. Sólo 5 de 348 casos quedaron sin diagnóstico etiológico. Los resultados revelaron que las principales bacterias intracelulares implicadas en la EI con hemocultivos negativos fueron *C. burnetii* y *Bartonella* spp. Teniendo en cuenta este hecho, los autores concluyen que la técnica de mayor rentabilidad de las aplicadas, fue un procedimiento diagnóstico simple y no invasivo como la serología específica para *C. burnetii* y especies de *Bartonella*. Estas serologías fueron suficientes para establecer el diagnóstico en el 78% de los casos.

Se requieren estudios adicionales para identificar las demás causas de EI con hemocultivos negativos. En algunos casos, el análisis tisular de la válvula afecta es fundamental. Las técnicas diagnósticas sobre tejido valvular explantado incluyen métodos microbiológicos, histopatológicos y moleculares, incluida la técnica de amplificación genética mediante PCR. La sistemática diagnóstica propuesta para las EI con hemocultivos negativos incluye la aplicación escalonada de las siguientes técnicas adicionales: análisis serológico de *Coxiella burnetii* y *Bartonella* spp (y *Brucella* spp. en zona endémica); determinación de ANA y factor reumatoide; PCR para *T. whipplei*, *Bartonella* spp, y hongos en sangre; PCR de RNA ribosomal 16S y 18S en la válvula resecada. Desafortunadamente, la mayoría de los laboratorios clínicos no disponen de estas pruebas diagnósticas y las muestras deben enviarse a laboratorios de referencia.

Otros micromicroorganismos raros causantes de EI con hemocultivos negativos identificados en algunos casos aislados son:

- *Abiotrophia elegans* sobre válvulas aórticas con lesiones preexistentes
- *Legionella pneumophila* en válvulas protésicas en un entorno nosocomial. Estos casos pueden ser debatidos porque únicamente se basan en serología positiva, sin otro apoyo diagnóstico evidente.
- *Mycoplasma hominis* con 6 casos publicados.

- *Chlamydophila* spp. con 28 casos publicados, probablemente sobreestimado debido a reacción cruzada serológica con especies de *Bartonella*.

En todos los casos de EI la adquisición de datos adicionales, clínicos y analíticos, puede orientar los ajustes del tratamiento empírico inicial y la sospecha diagnóstica.

De la entrevista clínica puede extraerse información sobre factores de riesgo epidemiológicos para una zoonosis potencial (fiebre Q, bartonelosis), así como recoger datos sobre cualquier síntoma extra-cardíaco sugestivo de una causa específica de EI (afectación articular, digestiva y/o neurológica típica de la enfermedad de Whipple) o específica de endocarditis no infecciosa (Behçet, Lupus, endocarditis marántica).

Los factores de riesgo para endocarditis fúngica también deberían ser investigados, dado que también puede presentarse como una EI con hemocultivos negativos: UDVP, nutrición parenteral, cirugía digestiva compleja y/o múltiple, cáncer activo y tratamiento antimicrobiano de amplio espectro durante tiempo prolongado.

El diagnóstico microbiológico puede obtenerse mediante hemocultivos con incubación prolongada, o con detección serológica de antígenos fúngicos (galactomanano, glucano)

46 .

2.- INTERÉS Y OBJETIVOS

2.-INTERÉS Y OBJETIVOS

2-1.- Interés de la investigación

El Hospital Universitario de Badajoz es un centro sanitario (913 camas) de cuarto nivel asistencial desde el año 2001. Atiende al área de Salud de Badajoz (273.977 habitantes, año 2017). A su vez es el hospital de referencia para toda la comunidad autónoma de Extremadura (1.088 millones de habitantes), siempre que los pacientes requieran ser atendidos por alguno de los doce servicios inexistentes en los hospitales de zona. Es el caso de los enfermos extremeños con EI ¹⁰⁴. Gran parte de estos pacientes son derivados al Hospital Universitario de Badajoz para recibir una atención conjunta por los servicios de Patología Infecciosa, Cirugía Cardíaca, Cardiología, Microbiología y Anestesiología y Reanimación.

La inauguración del Hospital Universitario de Badajoz data del año 1987, siendo Cardiología y Patología Infecciosa las primeras especialidades médicas en incorporarse. Cardiología dispone de la técnica ecocardiográfica transesofágica desde 1997. Cirugía Cardíaca se creó en el año 1993, dotada de una modesta cartera de servicios, motivo por el que había que trasladar a algunos enfermos a los hospitales de referencia de Madrid y Sevilla. Se puede considerar que el servicio de Cirugía Cardíaca dispuso de la dotación suficiente como para desempeñar una labor autónoma y equiparable al resto de hospitales del mismo nivel asistencial a partir del año 2005, cuando se creó la sección de Anestesia Cardíaca, especializada en la atención adecuada intra y postoperatoria de la cirugía cardíaca ¹⁰⁵. En cuanto al servicio de Microbiología, el procesamiento de hemocultivos ha ido automatizándose a lo largo de los años de manera paralela al resto de hospitales españoles e incorporando a la cartera de servicios las pruebas serológicas o moleculares apropiadas para la detección de los patógenos intracelulares o de difícil cultivo.

Extremadura es una región del estado español con unas características demográficas, económicas y epidemiológicas peculiares. La edad media de la población extremeña en 2015 alcanzó los 43,2 años, ligeramente por encima de la cifra nacional (42,4 años). En el 65% de los municipios extremeños la población mayor de 65 años supera el 24% de la población total. Aunque la distribución de población envejecida es muy heterogénea en los distintos municipios, también supera la cifra nacional del 18% ¹⁰⁶. La Comunidad

Autónoma de Extremadura tiene una densidad demográfica de 25 h/km², muy inferior a la media de España, lo cual dificulta la gestión de los recursos sanitarios accesibles y el desarrollo de programas de hospitalización a domicilio. La población extremeña es predominantemente de carácter rural y se concentra en los núcleos grandes. Solo el 26,25% de la población vive en las tres ciudades de más de 50.000 habitantes (Badajoz, Cáceres y Mérida) y el 44% en las ciudades de más de 10.000, aunque la mayoría de los pueblos son de tamaño medio (entre 1.000 y 10.000 habitantes). Los factores que favorecen esta concentración en grandes pueblos son muchos: la baja productividad de la tierra por hectárea, el tipo de explotación vigente en la dehesa extremeña, por medio del dominio directo, la gran propiedad y el carácter extensivo de la agricultura. El sector primario supone en Extremadura el 7% del producto interior bruto, por encima de la cifra media mundial (6%) y nacional (2,5%), siendo la primera comunidad autónoma en importancia relativa de la agricultura y la primera en número de cabezas de ganado ovino y bovino en explotación extensiva ¹⁰⁷.

El contacto estrecho con el ganado y el consumo de productos alimentarios de origen animal, mantiene en la región una epidemiología favorecedora de la transmisión de algunas zoonosis, muchas de ellas con potencial de afectación endocárdica que, habitualmente, dan un resultado negativo de los hemocultivos.

Teniendo en cuenta esta situación epidemiológica, no sería raro encontrar en Extremadura un porcentaje mayor que en otras zonas geográficas de EI con verdaderos hemocultivos negativos, es decir, causadas por patógenos intracelulares de difícil crecimiento en los medios habituales y de transmisión zoonótica, a destacar: *Brucella* spp. y *Coxiella burnetii*. En Extremadura, ambas infecciones han sido incluidas recientemente en la lista de enfermedades de declaración obligatoria (EDO). En España, desde 1990 existe el Programa Nacional de Erradicación de la Brucelosis Bovina y Ovina y Caprina, impulsado por el Ministerio de Sanidad ¹⁰⁸. Algunas comunidades autónomas han obtenido el estatuto de oficialmente indemnes en cuanto a brucelosis, pero no es el caso de Extremadura. En el año 2003 se aprobó una normativa europea sobre la vigilancia de las zoonosis y los agentes zoonóticos que también incluye la vigilancia de la fiebre Q ¹⁰⁹. El parlamento español asumió la normativa en el año 2004 ¹¹⁰. Las medidas implementadas en este tipo de programas de vigilancia van orientadas a evitar los factores de riesgo para la transmisión: el consumo de lácteos no pasteurizados, el contacto con los restos de partos o abortos del ganado, con los apriscos o materiales utilizados y el tratamiento o compostaje incorrecto del estiércol.

Un aspecto importante de la fiebre Q es su capacidad para provocar afectación endocárdica paucisintomática o latente. Se han publicado estudios en animales ¹¹¹ y en humanos ⁵⁴ demostrando (por PCR) la presencia de *Coxiella burnetii*, y datos histológicos de endocarditis, en válvulas cardíacas reemplazadas por otro motivo, sin que la EI fuera sospechada clínicamente. El estudio en humanos implica practicar obligatoriamente serología de *C. burnetii* a todos los pacientes sometidos a cirugía valvular cardíaca rutinaria en zonas endémicas de fiebre Q, y el consecuente análisis valvular en el caso de ser positiva. Estos hallazgos plantean la posibilidad de afectación valvular latente por *C. burnetii* incluso las EI con hemocultivos positivos por otro patógeno adicional que coloniza con posterioridad la zona endocárdica dañada por la fiebre Q que puede haber pasado desapercibida clínicamente.

Dado el carácter rural de la Comunidad Autónoma de Extremadura y la frecuencia del contacto profesional y de ocio con el ganado, hay alta probabilidad de que la carga de fiebre Q, con su tropismo valvular, sea lo suficientemente alta como para instaurar una vigilancia clínico-epidemiológica a favor de la seguridad de los pacientes. No se dispone en la actualidad de estudios que de prevalencia de esta enfermedad en Extremadura. En 2010, se publicó un estudio de seroprevalencia en animales, en concreto en población de ciervo ibérico salvaje de las áreas de Monfragüe, Sierra de San Pedro y Sierra de Hornachuelos, elegidas por la utilización ganadera, cinegética o mixta. Se obtuvo una prevalencia del 3,64% en total, del 11% en la zona de uso mixto y del 2,3% en la de uso exclusivo cinegético. La prevalencia más alta publicada hasta entonces había sido del 12% ¹¹². La clasificación de EDO de Salud Pública de Extremadura la considera de incidencia baja (1-5/caso al año), pero probablemente esté infraestimado y tal vez sea conveniente aumentar el diagnóstico y la declaración como EDO, con mayor conciencia entre la comunidad médica de la importancia de esta infección para mantener una alta sospecha clínica. No conocemos datos de seroprevalencia de fiebre Q en humanos, en Extremadura. Puede estimarse más elevada que en otras zonas de España amparados en las series publicadas. La mayor serie publicada hasta la fecha ¹¹³, multicéntrica española, recoge 83 casos de EI por *C. burnetii*. El hospital universitario de Badajoz fue el centro individual que más diagnósticos incluyó (9 pacientes). La serie unicéntrica publicada en 2007 por el Servicio de Patología Infecciosa de Badajoz, incluía 124 casos de fiebre Q diagnosticados durante los años 1992-2005, de los cuales un el 6% desarrolló endocarditis. El 61% de los pacientes de la cohorte vivía en el medio rural y el 47%

tenían contacto con animales de granja ¹¹⁴. En la Universidad de Extremadura se han defendido recientemente dos trabajos fin de máster (TFG) del Grado de Medicina explorando el campo de las EI zoonóticas en Extremadura. En 2016 se presentó un TFG que evaluaba el peso de las zoonosis en el grupo de EI con hemocultivos negativos en Extremadura. Durante los años 2001 a 2015, se identificaron 47 pacientes atendidos en el Hospital Universitario de Badajoz con el diagnóstico de EI con hemocultivos negativos. De los 47, se llegó al diagnóstico etiológico en 12 casos mediante serología, cultivo o PCR valvular. De las 12 EI, 8 eran por agentes zoonóticos: 4 por *C. burnetii*, 2 por *Bartonella* spp. y 2 por *Chl. pneumoniae* ¹¹⁵. Un noveno caso diagnosticado fue debido a *Tropheryma whipplei*, infección no claramente zoonótica aunque sí más frecuente en ambientes de contacto estrecho con animales y países mediterráneos ¹¹⁶. En el año 2017, se presentó otro TFG sobre las EI por fiebre Q en Extremadura, que estimó la prevalencia de EI por fiebre Q en el 2,3%. Un estudio de seroprevalencia en humanos llevado a cabo en la zona norte de Huelva, limítrofe con Extremadura, la seroprevalencia de fiebre Q calculada fue del 5% ¹¹⁷. Este dato contrasta con la baja incidencia calculada de fiebre Q aguda (12,7/100.000 hab/año), indicando que la mayoría de los contactos con *C. burnetii* provocan un cuadro clínico autolimitado, pero sin poder descartar la hipótesis lanzada por el grupo francés de afectación endocárdica latente ⁵⁴.

En este escenario epidemiológico y clínico, nos planteamos las siguientes preguntas: dado que la población extremeña convive con un riesgo de transmisión de zoonosis mayor que en otras zonas geográficas, muchas de ellas con potencial de daño valvular cardiaco: ¿son adecuadas las recomendaciones generales actuales sobre la prevención, el diagnóstico y el tratamiento empírico de la EI? Por otra parte, si Extremadura tiene una idiosincrasia epidemiológica y microbiológica diferente, con un presumible porcentaje de casos de EI en el que participan bacterias patógenas intracelulares, como etiología única o múltiple, ¿se requeriría una modificación en los protocolos más ajustada a su realidad?

La Universidad de Extremadura cuenta, desde el año 2010, con el Servicio de Técnicas Aplicadas a la Biociencia (STAB) ¹¹⁸. Este servicio de apoyo dispone de técnicas de NSG con la tecnología de Ion Torrent (ThermoFisher ®) desde 2016, una herramienta diagnóstica dotada de un gran potencial diagnóstico para la detección de múltiples microorganismos no cultivables por los métodos tradicionales. Con la imprescindible

colaboración del STAB, se plantea completar el estudio de este trabajo de investigación en busca de una respuesta a la cuestión planteada.

2.-2.- Hipótesis de trabajo

La epidemiología de algunas zoonosis en Extremadura tiene un destacado impacto en el perfil de las EI de la región, probablemente mayor del conocido o supuesto.

2.-3.- Objetivo primario

Conocer el perfil epidemiológico y clínico de la EI en Extremadura y la presencia de bacterias zoonóticas.

2.-4.- Objetivos secundarios

- 1.- Describir las características epidemiológicas, microbiológicas, clínicas, terapéuticas y de pronóstico de las EI en Extremadura.
- 2.- Describir la evolución de dichas características durante el periodo de estudio.
- 3.- Evaluar el papel de las nuevas técnicas de secuenciación genética (NGS, en sus difundidas siglas en inglés) para detectar la presencia bacteriana en el tejido valvular de pacientes con EI.

3.- MATERIAL Y MÉTODO

3.- MATERIAL Y MÉTODO

3.-1.- Estudio retrospectivo descriptivo

3.1.1.- Diseño del estudio

Se diseñó un estudio retrospectivo observacional y unicéntrico realizado en el Hospital Universitario de Badajoz, centro de referencia de cirugía cardíaca para toda la región de Extremadura. Se incluyeron todos los episodios de endocarditis infecciosa atendidos por el Servicio de Patología Infecciosa del hospital, en el periodo comprendido entre enero de 1990 y diciembre de 2015 (25 años).

Los 302 casos incluidos cumplían los criterios de endocarditis vigentes en cada momento: endocarditis probable según Von Reyn (1990-1994) ⁸, endocarditis definitiva según Durack (1994-2000) ⁹, endocarditis definitiva según Duke modificados por Li *et al* (2000-2015) ¹⁰. Se recogieron en un cuestionario informatizado (base de datos FileMaker de elaboración propia) variables epidemiológicas, de comorbilidad, tipo y localización de la EI, microbiológicas, clínicas, ecocardiográficas, quirúrgicas y de mortalidad. Estas variables se habían definido previamente al inicio de la recogida de datos.

3.1.2.- Etapas del periodo de estudio

Para el análisis de la variación del perfil clínico y epidemiológico se dividió el periodo del estudio en tres subperiodos con similar número de años en cada uno (8, 7 y 9 años respectivamente):

-1990-1997 con 40 casos

-1998-2005 con 50 casos

-2006-2015 con 212 casos.

Como se pretendía analizar la tendencia a lo largo del tiempo de las distintas variables, se necesitaban al menos tres periodos de estudio. Se han considerado como puntos de corte de los periodos diferentes dos hitos históricos fundamentales en el hospital de estudio: la disponibilidad del ecocardiograma transesofágico (a partir del año 1997) y una sección de Anestesia Cardíaca (desde 2005).

3.1.3.- Variables y definiciones

Las definiciones se ajustaron a las recomendadas por la International Collaboration on Endocarditis-Pro prospective Cohort Study ¹¹⁹. Son las siguientes:

Epidemiológicas: edad, sexo, año de diagnóstico, área de salud de procedencia, contacto con animales, uso de drogas por vía parenteral, adquisición comunitaria o nosocomial. Se incluyó como nosocomial tanto la adquisición en el entorno hospitalario como la adquisición asociada a cuidados sanitarios o nosocomial.

Comorbilidades: cáncer activo en el momento del diagnóstico de endocarditis, terapia renal sustitutiva en el momento del diagnóstico de endocarditis, diabetes mellitus, tratamiento inmunosupresor, infección por el VIH, valvulopatía.

Tipo y localización: de la válvula afectada.

Tipo: nativa, protésica o sobre cable. La temporalidad de las protésicas se definió como precoz si se diagnosticó en el primer año después del reemplazo valvular y tardía si se diagnosticó pasado un año. El cable podía ser de un dispositivo intracardiaco (marcapasos o DAI) o de un catéter venoso central. Se recoge si se procedió a la retirada del cable.

Localización: se estableció la localización en función del ecocardiograma y/o en función de la válvula cuando se cultivó. Dentro de la EI derecha, se reconoció el subgrupo de los 3 Noes: no EI izquierda asociada, no UDVP, no dispositivo intracardiaco ¹²⁰.

Microbiológicas: hemocultivos positivos al ingreso, serología o estudio valvular (cultivo o RT-PCR) en caso de que los hemocultivos hubieran sido negativos, microorganismos causales.

Clínicas: evolución clínica durante el ingreso, con ictus embólico, émbolos en otras localizaciones diferentes del sistema nervioso central, insuficiencia cardíaca, bloqueo de la conducción, infección persistente o sepsis.

Ecocardiográficas: presencia de o no de vegetaciones, presencia de absceso, presencia de insuficiencia valvular, realización de técnica transesofágica.

Quirúrgicas: realización de cirugía y si fue durante el ingreso o diferida.

Mortalidad: relacionada con la endocarditis durante el ingreso y en el primer año.

3.1.4.- Análisis estadístico

Los datos basales y de seguimiento se introdujeron en una base de datos creada con el programa SPSS 17.0 (SPSS Inc.; Chicago, Illinois, Estados Unidos). Se comprobó el ajuste a la distribución normal de los datos cuantitativos con el test de Kolmogorov-Smirnov.

Las variables continuas con distribución normal se expresaron como la media y desviación estándar.

Las variables cualitativas se expresaron en valor absoluto (porcentaje). La comparación entre los subperiodos se realizó con el test de la χ^2 para las variables cualitativas o el test de Fisher. Se consideraron significativos valores de $p < 0,05$. La asociación entre las diferentes variables con el resultado (mortalidad intrahospitalaria) fue analizado por un análisis univariante.

El análisis multivariante se llevó a cabo por regresión logística lineal. Se incluyeron en el modelo las variables con asociación significativa en el análisis univariante y las consideradas potencialmente relevantes desde el punto de vista clínico.

3.-2.- Estudio prospectivo con técnicas de secuenciación genética de nueva secuenciación (Next Generation Sequencing, NGS) sobre el tejido valvular humano

3.2.1.- Diseño

Se diseñó un estudio prospectivo experimental y unicéntrico, realizado en el Servicio de Técnicas Aplicadas a la Biociencia (STAB) de la Universidad de Extremadura, con muestras de tejido valvular humano procedentes de pacientes diagnosticados de EI. El estudio fue aprobado por la Gerencia del área de Salud de Badajoz y por el Comité Ético del Complejo Hospitalario Universitario de Badajoz. Se utilizó un consentimiento informado según la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica. Se garantizó en todo momento la confidencialidad de los donantes y la custodia de sus muestras en condiciones de seguridad. Se recogieron 24 válvulas cardiacas de pacientes con EI sometidos a reemplazo valvular en el Hospital Universitario de Badajoz, previo consentimiento informado, en el periodo comprendido entre marzo de 2013 y diciembre de 2016.

3.2.2. Pacientes

Desde marzo 2013 hasta diciembre 2016 fueron incluidos de modo prospectivo los pacientes con EI definitiva según los criterios de Duke modificados ¹⁰. Se revisaron las historias clínicas de cada sujeto y se recogió información clínica, demográfica, comorbilidad, el tratamiento antimicrobiano previo y los hallazgos ecocardiográficos. Todos los pacientes recibieron tratamiento antimicrobiano previo a la cirugía valvular. A cada paciente se le proporcionó un consentimiento informado antes de la inclusión en el estudio.

3.2.3. Cultivos microbiológicos convencionales

Se obtuvieron tres sets de hemocultivos en cada paciente con EI en el momento del diagnóstico y durante la monitorización del tratamiento. Fueron analizados con el sistema BACTEC FX[®] (Becton-Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA), usando dos tipos de botellas: BACTEC Plus Aerobic/F[®] y BACTEC Lytic/10 Anaerobic/F[®] (Becton-Dickinson).

Las muestras que generaban una señal positiva en el sistema de cultivo BACTEC fueron evaluadas en los paneles del MicroScan Combo[®] (Siemens Healthcare Systems, Malvern, PA, USA) y/o VITEK2 NH[®] (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) para llegar a la identificación de los patógenos.

Las muestras valvulares se cultivaron en placa de agar sangre, en medio específico de *Brucella* y en caldo de tioglicolato. Los cultivos tisulares positivos se identificaron con los mismos métodos que los hemocultivos positivos.

3.2.4. Estudio molecular. Extracción del DNA

Cada muestra valvular fue dividida en dos fragmentos: uno para ser analizado en el laboratorio de Microbiología y otro para ser analizado en el de Anatomía Patológica, según la práctica clínica habitual.

La extracción de ácido desoxirribonucleico de la muestra valvular se llevó a cabo a partir de la muestra conservada en bloques de parafina. Se realizó mediante el RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit[®] (ThermoFisher Scientific) de acuerdo al protocolo del fabricante:

Desparafinización: Se toman 1-2 mg de la válvula parafinada de núcleo preservado y se realiza la desparafinización añadiendo 1 ml de xileno 100% e incubación durante 3 minutos a unos 50° C.

Centrifugación: Se centrifuga durante 2 minutos a máxima velocidad y se desecha el xileno.

Lavado: Posteriormente se lava dos veces el precipitado con 1 ml de etanol 100%.

Digestión proteica: A continuación, se lleva a cabo la digestión de las proteínas con “buffer” de digestión del kit, suplementado con proteasa K, según se indica en el protocolo.

Incubación: Se incuba a 50° C durante 24 horas.

Aislamiento del DNA: La siguiente fase es el aislamiento del ácido nucléico, para lo cual se añade a la muestra una mezcla de etanol con aditivo de aislamiento y se pasa a través de una columna de filtro.

Lavado: Posteriormente, el filtro se lava con 700 µL de la solución Wash1 y con 500 µL de la solución Wash 2/3.

RNasa: Una vez retenidos los ácidos nucléicos en el filtro de la columna, se añade RNasa y se incuba durante 30 minutos a temperatura ambiente para eliminar el posible RNA contaminante.

Lavado: Finalmente, se lava con 700 µL de Wash1 y posteriormente dos veces con 500 µL de Wash 2/3.

Centrifugación: Se centrifuga una vez más para retirar el fluido residual y el DNA retenido en el filtro se eluye con 60 µL de agua libre de nucleasa, previamente calentada a 95°C.

3.2.5. Estudio molecular. PCR del 16rDNA y secuenciación

Una vez disponible el DNA extraído de cada muestra, se utilizó el kit Ion 16S™ Metagenomics® (ThermoFisher Scientific), para amplificar regiones específicas del DNA bacteriano presente en las muestras. Este kit incluye dos sets de iniciadores (*primers*) que amplifican selectivamente siete regiones hipervariables del DNA de 16S de la bacteria: el set de *primers* de las regiones denominadas V 2, 4 y 8, generando amplicones de 250 pares de bases (pb), 288 y 295, respectivamente, y el otro set de *primers* amplifica las regiones V 3, 6-7 y 9, dando lugar a amplicones de 215 pb, 260 y 209, respectivamente. Estos pools de *primers* se han diseñado para detectar más del

80% de las secuencias recogidas en la base de datos Greengenes[®]. Con los productos resultantes de la PCR se creó una librería mediante el kit Ion Plus Fragment Library[®] (ThermoFisher Scientific) identificando las muestras con unos adaptadores distintos y específicos para cada una (Ion Xpress[™] Barcode Adapters 1-96 Kit, Cat. ThermoFisher Scientific).

Preparación de la librería: La preparación de la librería para la posterior secuenciación, se realizó con la tecnología Ion One-Touch[™] 2 y el kit Ion PGM[™] Template OT2 400 (ThermoFisher Scientific).

Secuenciación: La secuenciación de los fragmentos amplificados se llevó a cabo en el sistema Ion S5 XL en el chip Ion 530[™], que permite la secuenciación simultánea de librerías de hasta 400 pares de bases de 10 muestras codificadas. El análisis preliminar de los datos fue llevado a cabo con el software Torrent Suite[™] v4.0, con un análisis secundario automático con el software Ion Reporter[™] v4.0. Este *software* clasifica las lecturas individuales mediante dos bibliotecas de referencia: las bases de datos Greengenes y MicroSEQ[®] ID. Las secuencias obtenidas se alinean con la herramienta BLAST[®] (*Basic Local Alignment Search Tool*). La base de datos Greengenes contiene más de 400.000 archivos y MicroSEQ[®] ID contiene una biblioteca con la lectura completa de secuencias 16S rDNA para más de 15.000 organismos, ajustada manualmente según la calidad de secuencias, la longitud, la filogenia y las actualizaciones taxonómicas.

3.2.6. Estudio molecular. Controles

Se realizaron controles internos (*no template controls*: NTCs) y externos de la técnica. Los NTCs consisten en la realización de la amplificación de las regiones del 16S rDNA en ausencia de DNA. Este tipo de control se incluyó en cada tanda de análisis de muestras. Su negatividad indica que no existe contaminación de los reactivos de PCR ni en los posteriores para la preparación de la muestra. Para evitar fuente contaminante durante la manipulación, los procedimientos empleados fueron rigurosos. Todo el proceso se realizó en cabina de PCR esterilizada con luz ultravioleta, la extracción de DNA se llevó a cabo en un laboratorio separado de los análisis de PCR, y todo el proceso se realizó con una pipeta con filtro de aerosol para prevenir la contaminación cruzada.

Como controles externos se analizaron 3 válvulas cardiacas recién extraídas, de pacientes sometidos a reemplazo valvular en el Servicio de Cirugía Cardíaca del Hospital Universitario de Badajoz, por razones diferentes a EI, previo consentimiento informado. La recogida de la muestra se hizo en el campo quirúrgico y en un recipiente tratado con DNAasa para desechar la potencial presencia de DNA ambiental contaminante. El procedimiento de extracción de DNA en el caso de estas válvulas se realizó con el kit GeneJET Genomic DNA Purification Kit® (Thermo Fisher), siguiendo los pasos indicados en su protocolo: la digestión con proteasa, la lisis con RNAasa, el aislamiento de ácido nucleico y la purificación final. Una vez extraído el DNA total de estas muestras controles, se procesa de la misma manera descrita en el apartado anterior para las muestras problema.

4.- RESULTADOS

4.- RESULTADOS

4.1.- Estudio retrospectivo descriptivo

4.1.1.- Características demográficas y epidemiológicas de los pacientes incluidos

Se recogió información de 302 casos diagnosticados de EI durante los 26 años estudiados (1990-2015). De los 302 casos incluidos, 19 fueron EI probables y 283 EI definitivas según los criterios vigentes en cada momento.

Doscientos diecisiete pacientes fueron hombres (71,9%). La ratio hombre-mujer fue de 2,5:1. En los tres periodos elegidos, fue incrementándose con el tiempo el porcentaje de mujeres (15%, 22% y 32,1%) y la edad media de la población estudiada (Tabla 1). La media de edad general fue de $59,39 \pm 16,23$, siendo mayor en el grupo de mujeres respecto al de hombres ($63,42 \pm 14,13$ vs $57,82 \pm 16,75$ años, $p = 0,007$).

El área de salud de procedencia de los pacientes incluidos fue mayoritariamente la zona a la que pertenece el hospital de estudio: Badajoz (39,4%). Este porcentaje era mayor en los primeros años (57,5%) y ha ido descendiendo hasta suponer la tercera parte (33,5%) en el último período. El descenso se acompaña de un aumento en el porcentaje de pacientes de otras áreas de salud. Exceptuando las zonas de Cáceres y de Don Benito, el resto de las áreas fue aumentando la derivación de pacientes con EI de forma progresiva en los 26 años estudiados.

La información sobre el contacto con animales de los pacientes incluidos, pudo recogerse en el 79,5% (240 casos). De ellos, el 27,5% convivían con animales domésticos o de granja. El porcentaje no ha descendido con el tiempo, sino que ha ido en aumento (12,5% vs 22,4% vs 33,1%).

En cuanto al uso de drogas por vía parenteral, supuso un factor de riesgo presente en el 6,6% de la cohorte (20 casos). Este grupo de pacientes tuvo una mayor representación en el periodo de los años 1990 al 1997, con el 35%, frente a un único caso incluido en el último periodo (2006-2015).

La adquisición en la comunidad de la EI fue la mayoritaria en la cohorte de estudio a nivel global, con el 62,5% de los casos. Sin embargo, la adquisición presumiblemente nosocomial ha ido en aumento con el paso de los años, pasando del 20% en los primeros 8 años de estudio al 38,7% a partir de 2006.

Tabla 5. Características epidemiológicas de los pacientes incluidos en la cohorte.

Tiempo Característica	Global	1990-1997	1998-2005	2006-2015	p
N	302	40	50	212	-
Sexo					
Ratio h:m	2,5:1	5,6:1	3,5:1	2,1:1	
Hombres (%)	71,9%	85%	78%	67,9%	0,05
Mujeres (%)	28,1%	15%	22%	32,1%	
Edad (años)					
Media ± SD	59,39±16,23	41,10 ±18,32	53,88 ±15,45	64,15 ± 12,84	< 0,0001
Área de salud					
Badajoz	39,4%	57,5%	50%	33,5%	
Cáceres	11,6%	2,5%	18%	11,8%	
Mérida	11,6%	7,5%	10%	12,7%	
Don Benito	11,9%	20%	2%	12,7%	0,02
Llerena	9,9%	7,5%	8%	10,8%	
Plasencia	8,6%	2,5%	8%	9,9%	
Coria	3%	0	0	4,2%	
Navalmoral	2,3%	0	0	3,3%	
Contacto con animales	27,5%	12,5%	22,4%	33,1%	< 0,0001
Uso de drogas vía parenteral	6,6%	35%	10%	0,5%	< 0,0001
Adquisición					
Comunitaria	62,3%	72,5%	72%	58%	0,02
Nosocomial	33,4%	20%	22%	38,7%	

Figura 1. Distribución de la edad por sexo en la población de pacientes.

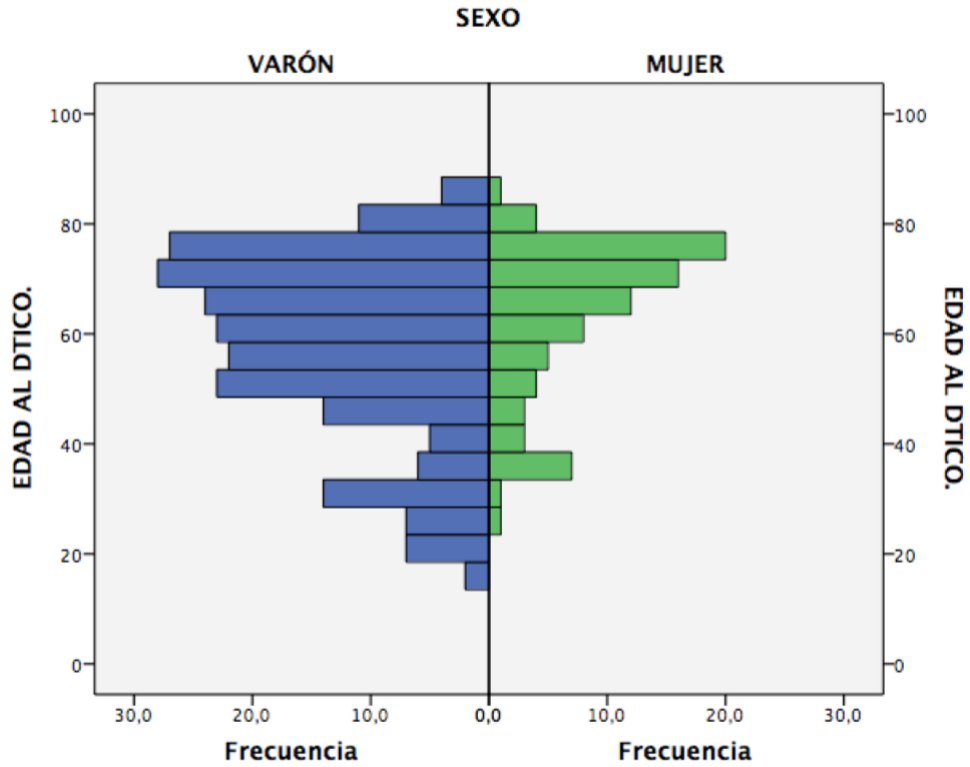


Figura 2a. Evolución temporal de la procedencia de los pacientes con EI del área de salud de Badajoz.

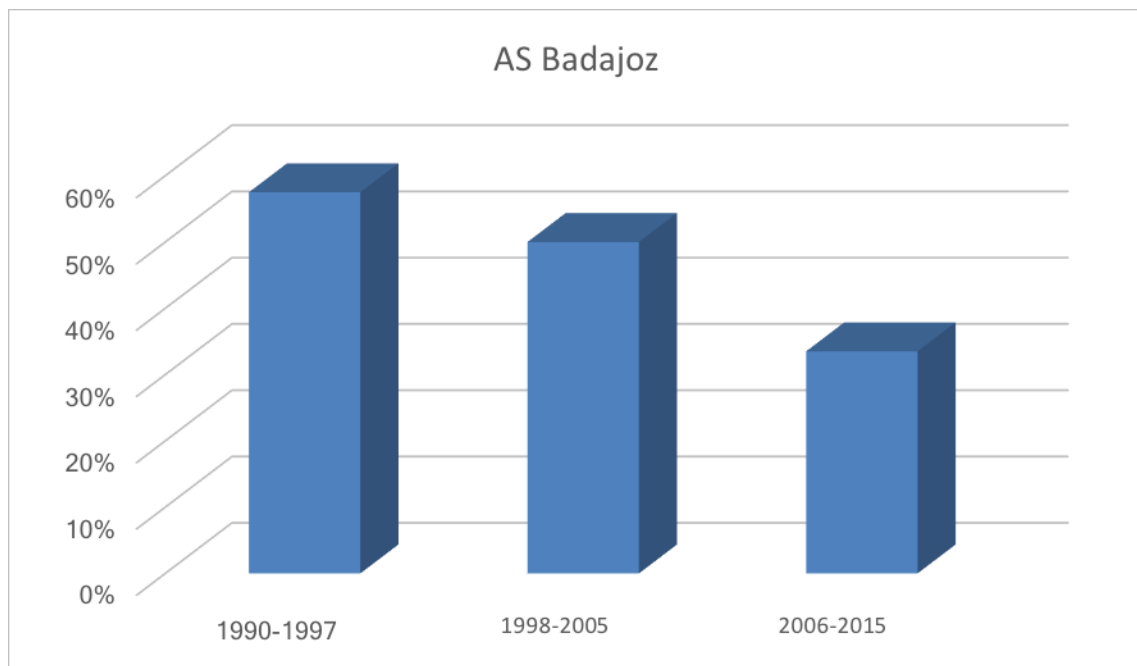


Figura 2b. Evolución temporal de la procedencia de los pacientes con EI de otras áreas de salud de la Comunidad Autónoma Extremeña.

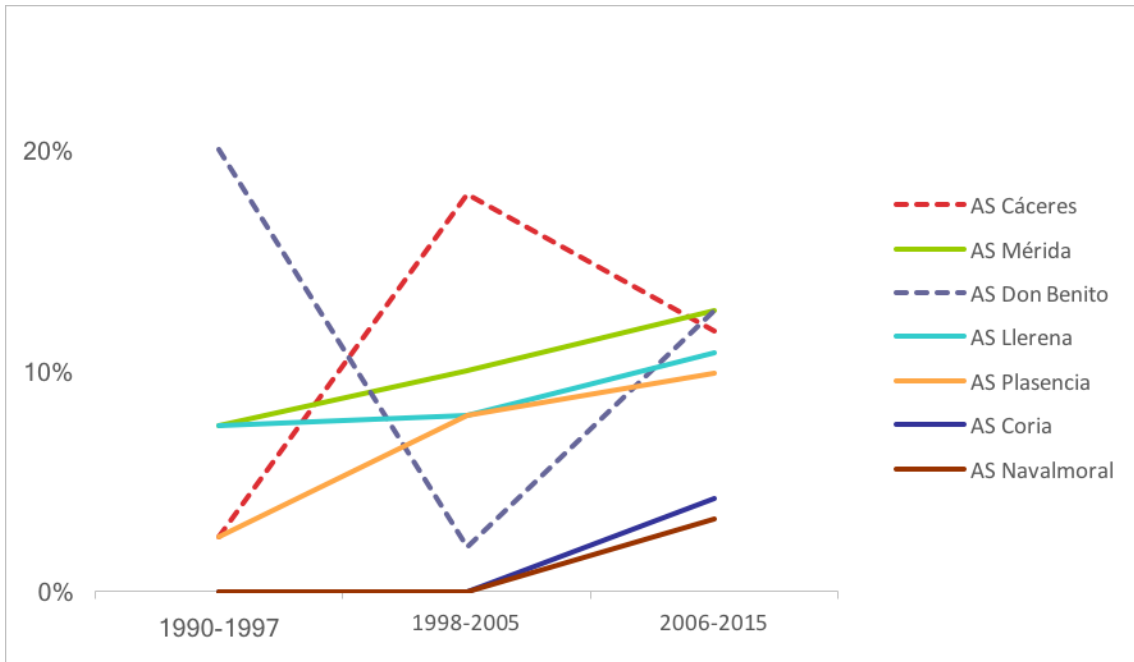
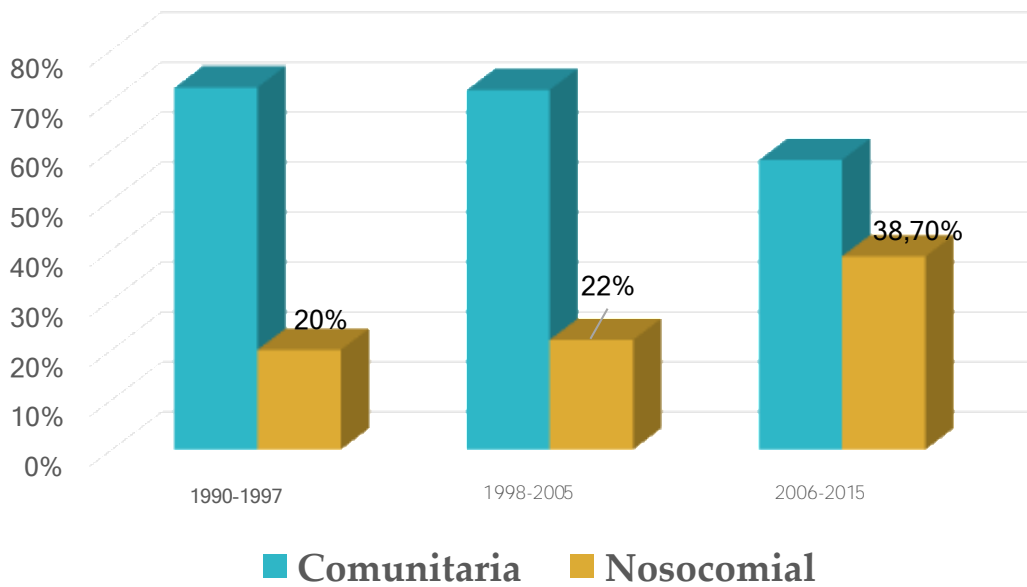


Figura 3. Evolución temporal de la adquisición de la EI en los pacientes.

Adquisición de la EI



4.1.2.- Características de las comorbilidades

En cuanto a la carga de comorbilidad de la cohorte estudiada, la valvulopatía previamente conocida y la diabetes mellitus fueron las enfermedades de base con mayor prevalencia (47% y 17,5%, respectivamente). Mucha menor representación supuso el cáncer (7,9%), la infección por el VIH (5,6%), el tratamiento inmunosupresor (4,3%) o la terapia renal sustitutiva (3,3%). Respecto a la evolución temporal, el porcentaje de casos con infección por el VIH fue disminuyendo de manera significativa, mientras que el resto de las comorbilidades recogidas en el estudio fue aumentando progresivamente. El 70,5 % de los casos con infección por el VIH eran usuarios de drogas vía parenteral.

Tabla 6. Comorbilidades de la cohorte en cada periodo de estudio.

Tiempo Comorbilidad	Global	1990-1997	1998-2005	2006-2015	p valor
Valvulopatía previa	47%	35%	34%	52,4%	0,01
Diabetes mellitus	17,5%	5%	10%	21,7%	< 0,0001
Neoplasia	7,9%	0	2%	10,8%	< 0,0001
VIH	5,6%	30%	8%	0,5%	< 0,0001
Tratamiento inmunosupresor	4,3%	0	0	6,1%	0,06
Hemodiálisis	3,3%	5%	0	3,8%	-

Figura 4. Comorbilidades de la cohorte a nivel global.

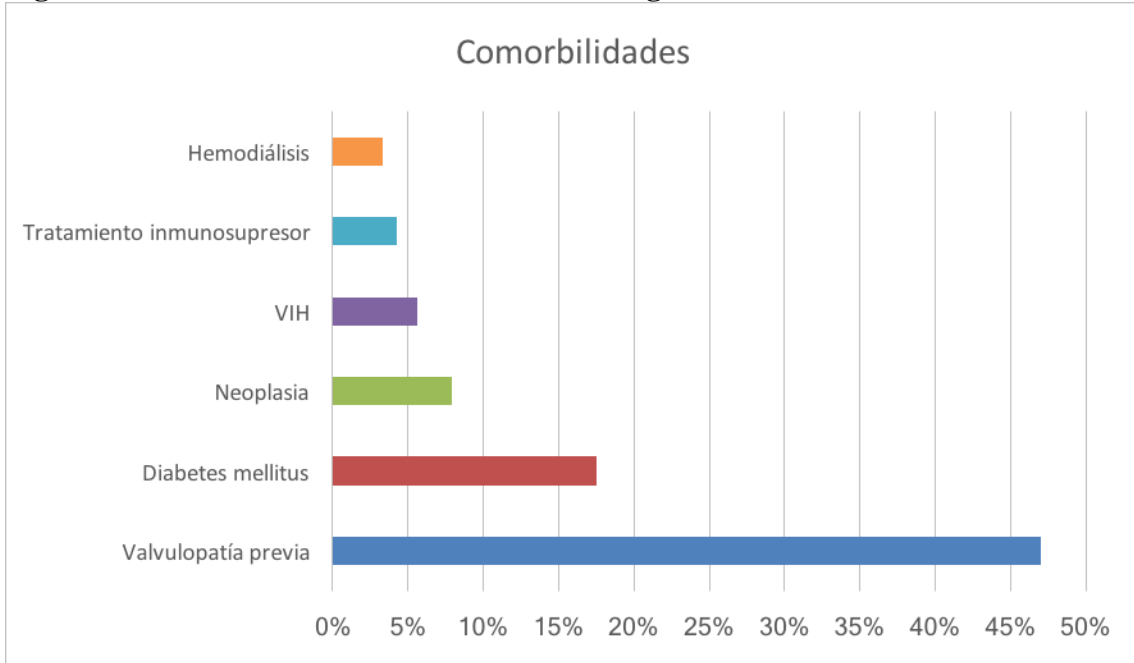
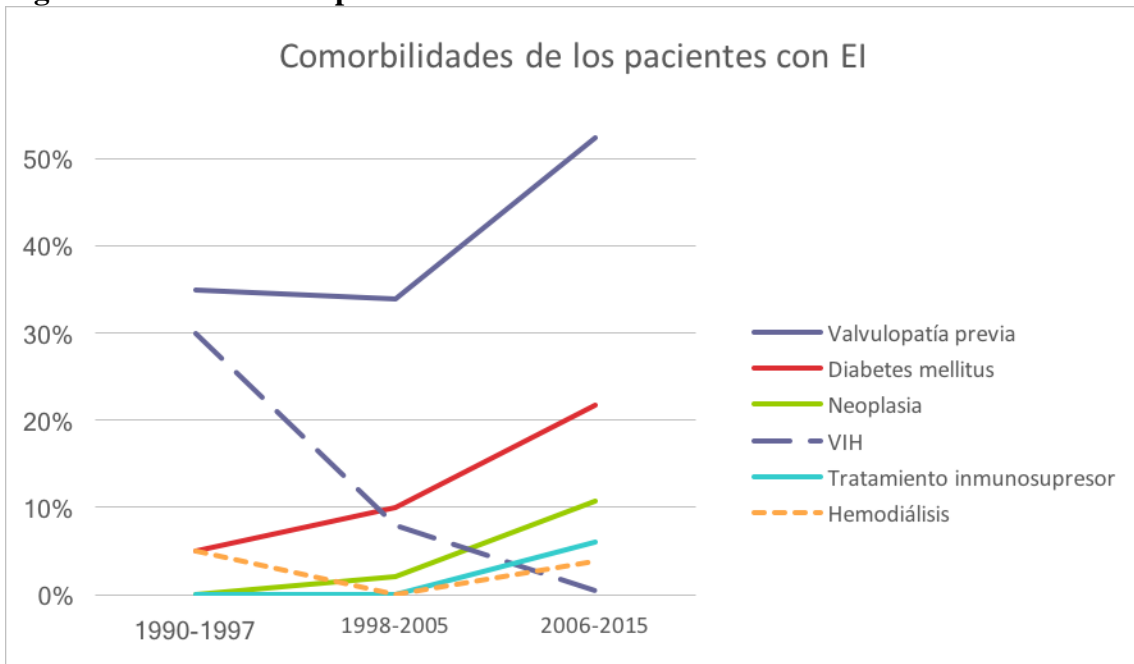


Figura 5. Evolución temporal de las comorbilidades de la cohorte.



4.1.3.- Tipo de endocarditis infecciosa

El tipo más frecuente encontrado de la cohorte de pacientes fue la EI sobre válvula nativa (61,6%). Le siguió la protésica con el 21,9% de los casos. En menor proporción se encontró la EI sobre cable (9,6%) y la EI en UDVP (6,6%). Más de la mitad de los casos de EI sobre prótesis fue tardía (42/67, 62,7%), mientras que el resto fueron EI diagnosticadas en el primer año post-implante valvular (25/67, 37,3%). De los 29 casos de EI sobre cable, 26 fueron diagnosticadas en el último periodo (2006-2015), y en 22 se retiró el cable (75,86%). Englobadas en el término “cable” se distribuyeron: 16 EI sobre marcapasos, 9 sobre DAI y 4 sobre catéter venoso central permanente. (Gráfico 6).

En el análisis por períodos, se halló que el porcentaje de EI nativa se mantuvo estable, y, por lo tanto, predominante a lo largo del tiempo (52,5% vs 70% vs 61,3%). El porcentaje de casos en UDVP experimentó un importante descenso progresivo (35% vs 10% vs 0,5%), mientras que los grupos de EI sobre prótesis y EI sobre cable mostraron un ascenso gradual (10% vs 16% vs 25,5% para EI protésica y 2,5% vs 4% vs 12,3% para EI sobre cable). La evolución del tipo de EI a lo largo de los años queda representada en el gráfico de barras.

Figura 6. Tipo de endocarditis.

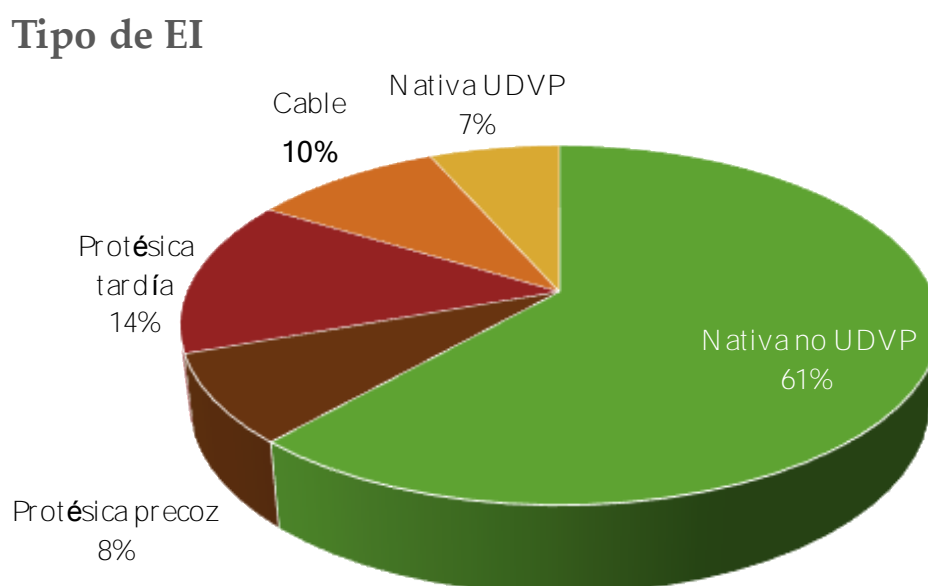


Figura 7. Evolución anual del tipo de endocarditis.

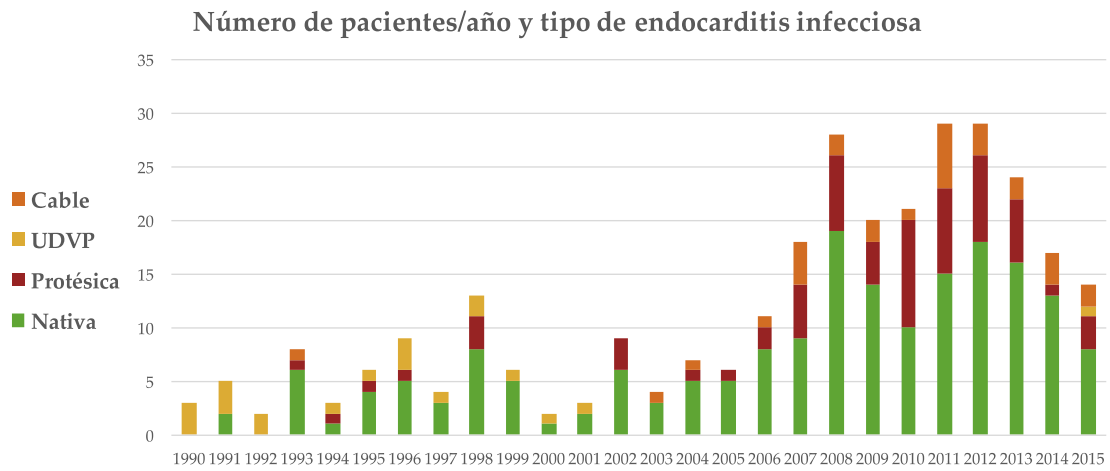
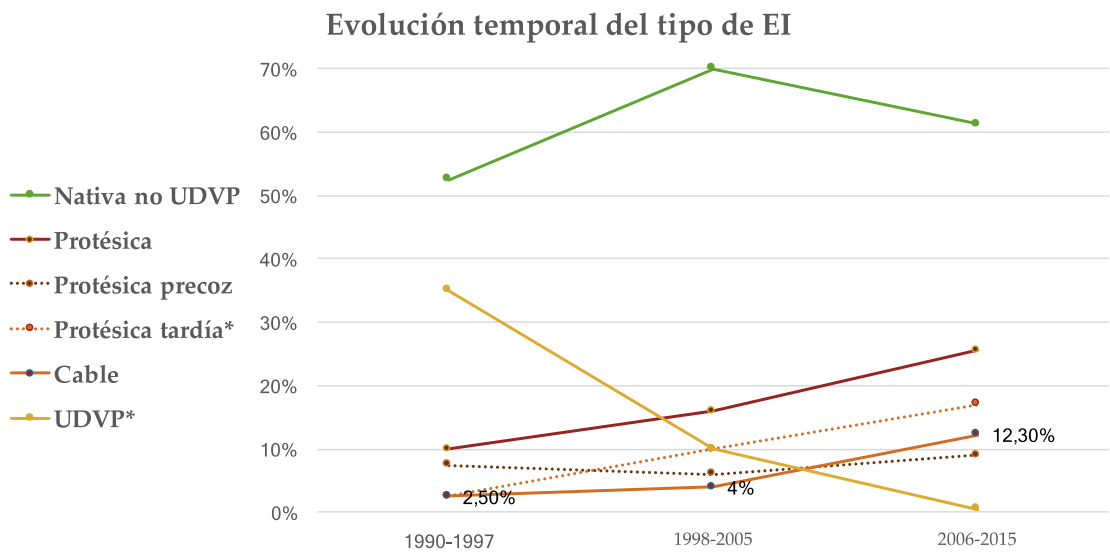


Figura 8. Evolución por períodos del tipo de EI.



4.1.4. Localización de la EI

En el 79,1% de la cohorte, la EI fue del lado izquierdo del corazón, el 14,9% fue exclusivamente localizada en el lado derecho y en el 6% se afectaron las válvulas de ambos lados. De las cuatro válvulas cardíacas, la afectada en más de la mitad de los casos fue la válvula mitral (52,7%), bien de manera aislada (39,1%) o bien con afectación asociada de otra válvula (11,3% con la aórtica y 2,3% con la tricúspide). En segundo lugar, la EI afectó a la válvula aórtica, suponiendo el 42,1% de casos (aisladamente un 30,5%, con la mitral un 11,3% y con la pulmonar un 0,3%).

Las válvulas derechas mostraron una afectación más minoritaria, con la participación de la tricúspide en el 13,2% de la cohorte (aislada 10,9%, con la mitral 2,3%) y de la pulmonar en sólo el 1% (0,7% sola y 0,3% con la válvula aórtica).

Dentro del grupo de las EI derechas, casi la mitad estaba asociada a un dispositivo (25/55, 45,5%) y en menor medida relacionadas con el uso de drogas vía parenteral (17/55, 31%) y del grupo de los tres Noes: no EI izquierda asociada, no UDVP, no dispositivo intracardiaco (13/55, 23,6%).

Figura 9. Localización de lado cardíaco de la EI en la cohorte a nivel global.

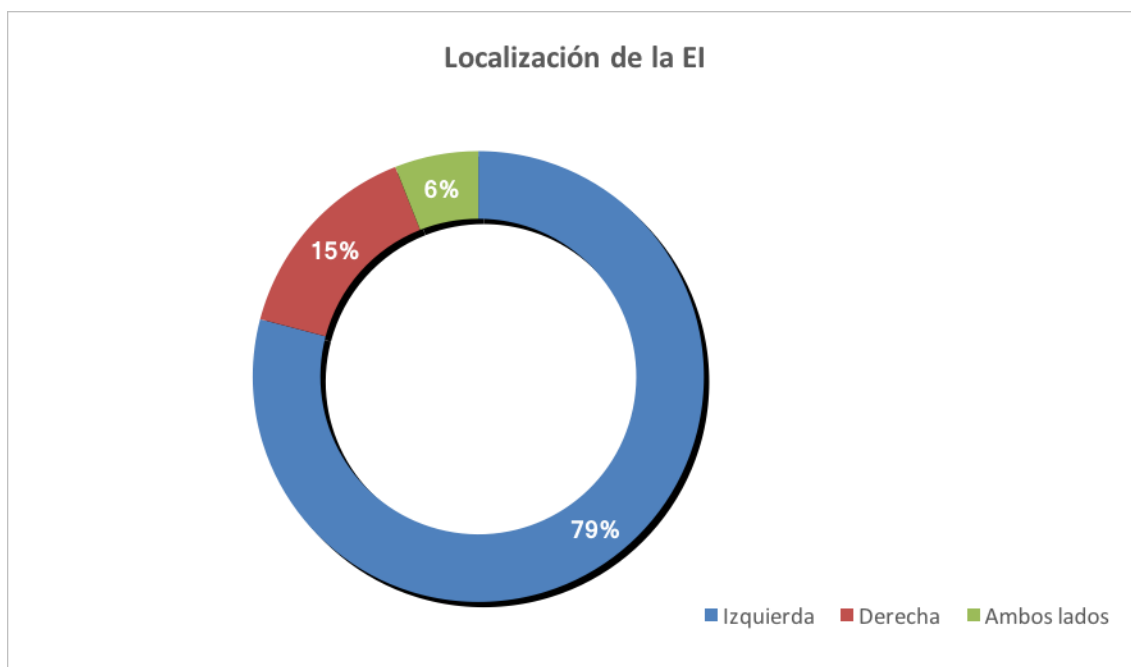


Figura 10. Localización a nivel valvular de la EI en la cohorte a nivel global.

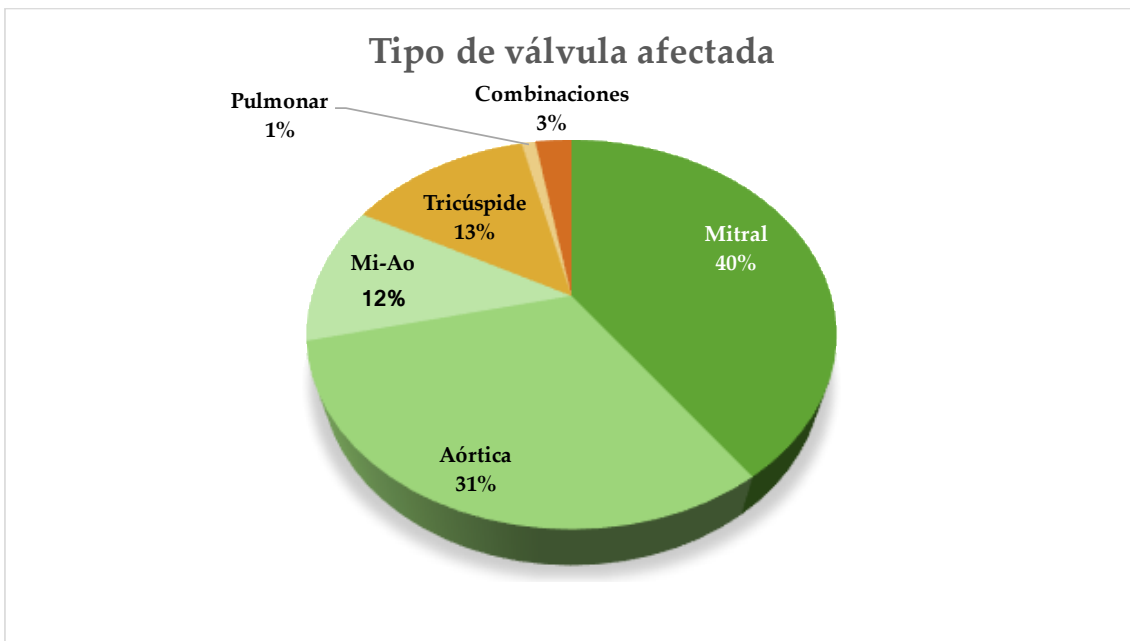
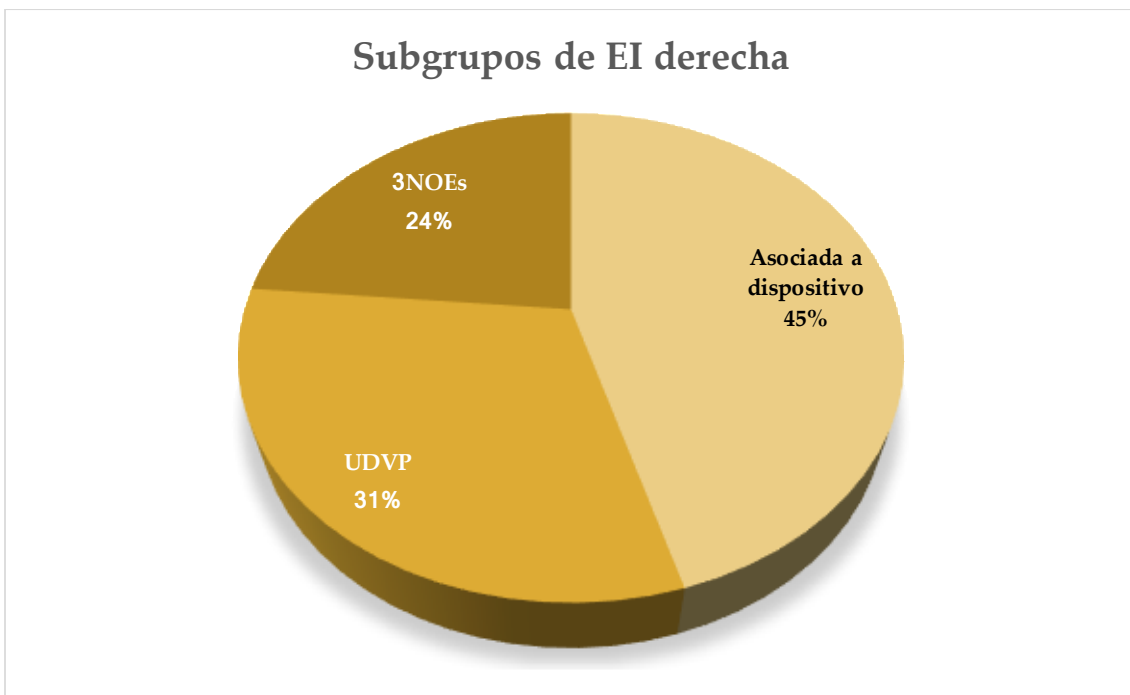


Figura 11. Tipo de EI derecha en la cohorte a nivel global.



El análisis por periodos reveló un aumento gradual del porcentaje de casos de EI localizados en el lado izquierdo (47,5% vs 82,2% vs 84,4%) y un descenso progresivo de la afectación derecha (47,5% vs 14% vs 9%). El porcentaje de afectación concomitante de ambos lados se mantuvo estable a lo largo del tiempo (5% vs 4% vs 6,6%).

De manera más detallada, parece que el ascenso de afectación del lado izquierdo del corazón se hizo a expensas del aumento en la participación aórtica, aislada o concomitante con la válvula mitral (aislada: 15% vs 30% vs 34%, mitro-aórtica: 2,5% vs 2% vs 15%, p 0,07).

Figura 12. Evolución de la localización de lado cardíaco.

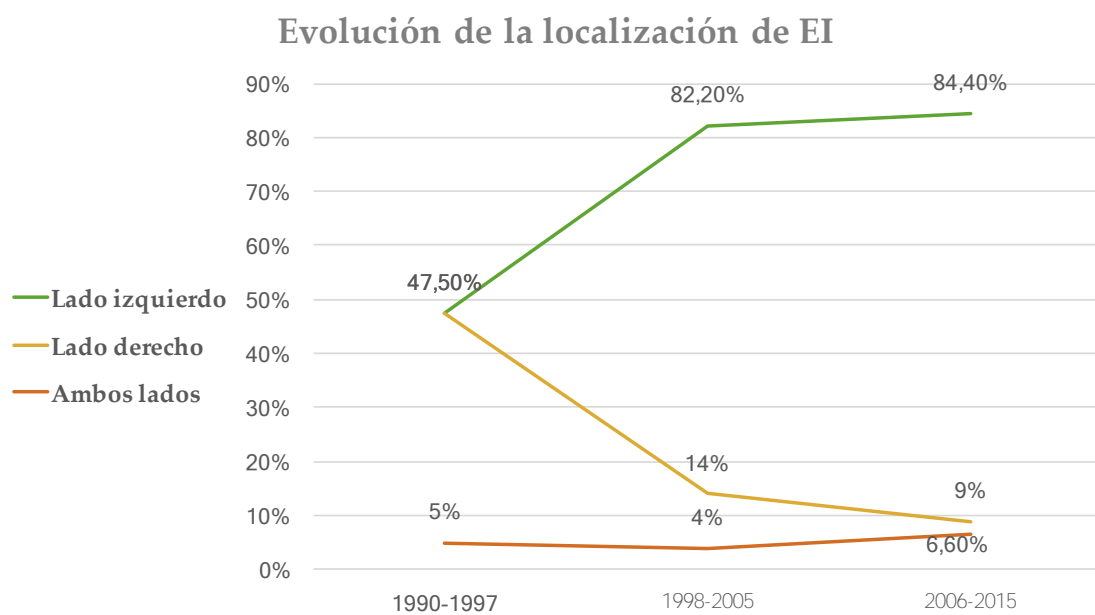
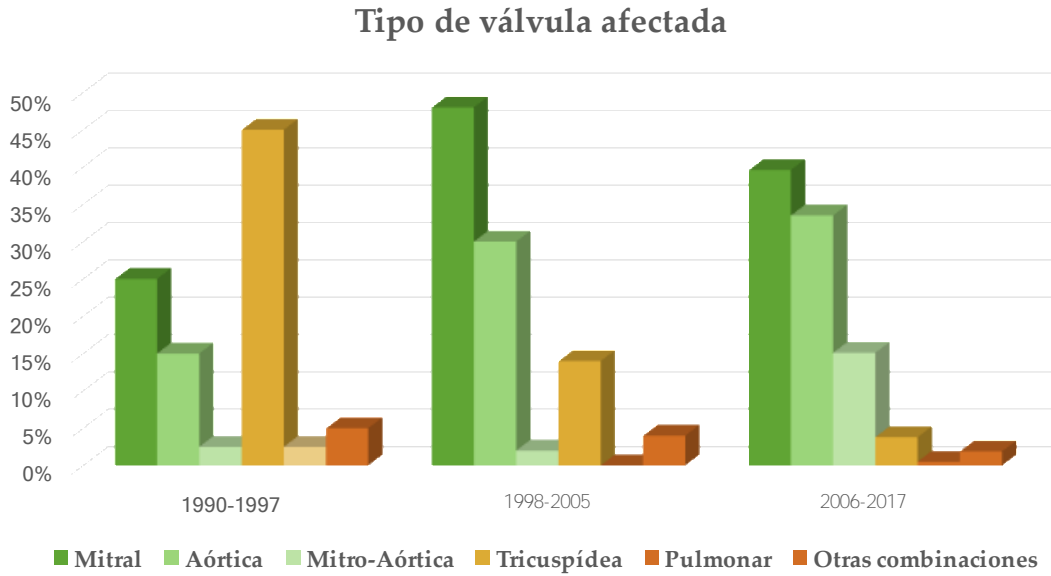
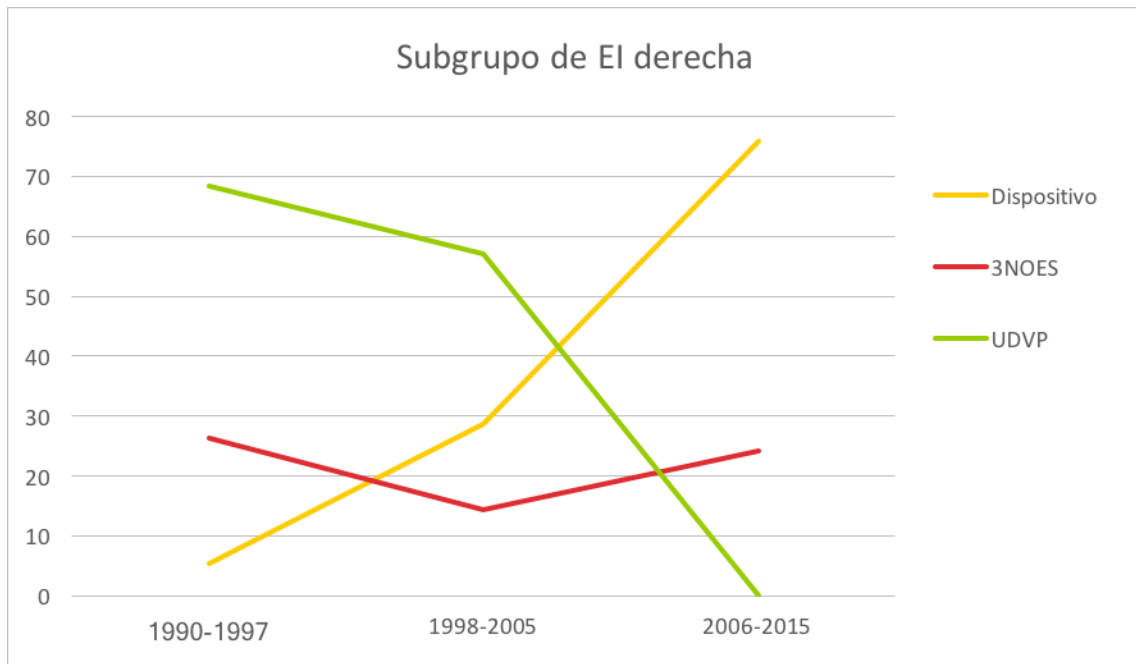


Figura 13. Evolución de la localización de la EI a nivel valvular.



En cuanto a la división de los tipos de EI derecha, también se detectaron cambios evolutivos, con un descenso de la EI en UDVP y un incremento de las asociadas a dispositivos.

Figura 14. Evolución del tipo de EI derecha.



4.1.5.- Perfil microbiológico de la EI

De los 302 pacientes, el 76,5% presentó hemocultivos positivos al ingreso. De los 71 casos con hemocultivos negativos, se llegó al diagnóstico etiológico en 32 (45%): mediante serología en 27 y por el estudio microbiológico de la válvula explantada en 5. En el 12,9% de los pacientes no se llegó al diagnóstico microbiológico causal.

La etiología hallada con más frecuencia fueron las bacterias, en primer lugar, los cocos grampositivos, en el 70,5% de la cohorte. Por orden: *Staphylococcus* spp. (36,1%), *Streptococcus* spp. (23,8%) y *Enterococcus* spp. (11,6%).

Entre los estafilococos, *Staph. aureus* supuso el 18,2% y los estafilococos coagulasa negativos el 17,5%.

De los estreptococos, los del grupo *viridans* u orales representaron el 17,5%, el *S. gallolyticus* se aisló en el 4,3% y el neumococo en un 1%.

Los enterococos identificados fueron *E. faecalis* en todos los casos.

Aislamientos más minoritarios a destacar fueron: bacterias anaerobias (2,3%), bacilos gramnegativos (2%) y bacilos grampositivos (1,7%).

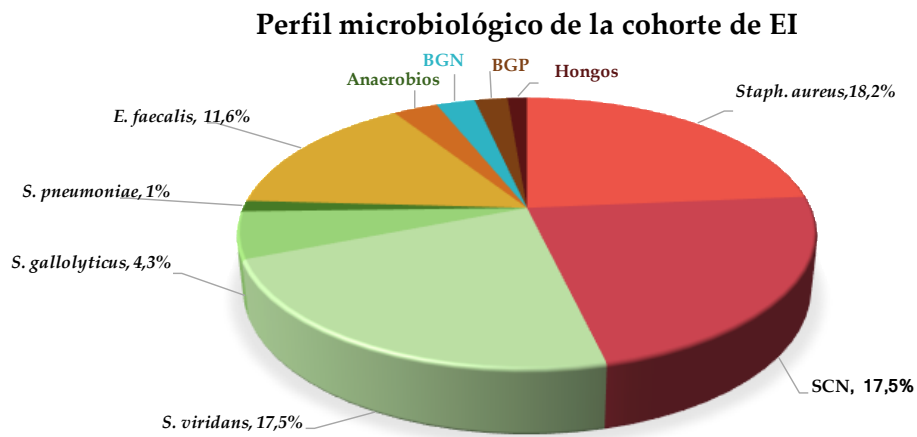
Las bacterias gramnegativas implicadas en esta cohorte fueron: *Escherichia coli* (4 casos), *Klebsiella pneumoniae* (1 caso), *Pseudomonas aeruginosa* (1 caso), y *Haemophilus parainfluenzae* del grupo HACEK (1 caso).

Los anaerobios encontrados fueron *Propionibacterium acnes* (3 casos), *Bacteroides* spp. (1 caso), *Aerococcus viridans* (1 caso), *Lactococcus garviae* (1 caso) y *Gemella morbillorum* (1 caso).

Entre los bacilos grampositivos se aisló *Listeria monocytogenes* (3 casos) y *Leuconostoc* spp (2 casos).

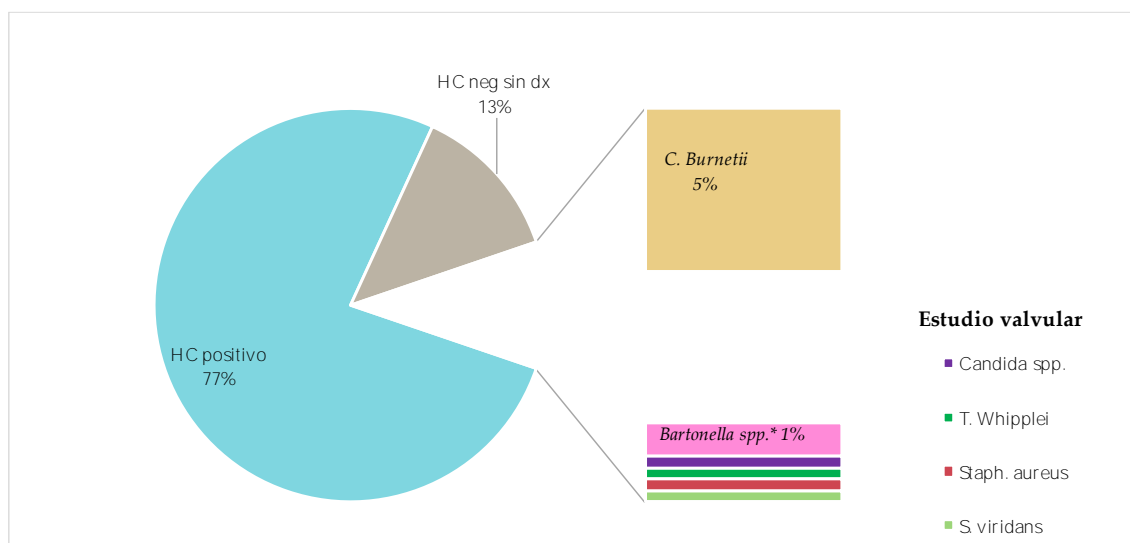
Los hongos supusieron sólo el 1% de la cohorte.

Figura 15. Perfil microbiológico global.



Respecto a los diagnósticos etiológicos atribuidos en los casos de EI con hemocultivos negativos, el mayoritario fue *Coxiella burnetii* (13 casos, 4,3%), seguido de *Brucella* (6 casos, 2%) y *Chlamydophila pneumoniae* (6 casos, 2%), todos ellos basados en la serología y en los datos clínico-epidemiológicos. En 5 de los pacientes con EI de hemocultivos negativos, se asumió el diagnóstico etiológico proporcionado por el estudio valvular: cultivo micológico positivo para *Candida* spp. (1 caso), PCR para *Tropheryma whipplei* positiva (1 caso), cultivo bacteriológico aerobio positivo (3 casos): *Staph. aureus*, estafilococo coagulasa negativo y *S. viridans*.

Figura 16. Diagnóstico etiológico en el grupo de EI con hemocultivos negativos.



* De los 2 casos de *Bartonella* spp., en 1 de ellos, además de la serología positiva, se dispuso de PCR a tiempo real sobre el tejido valvular explantado.

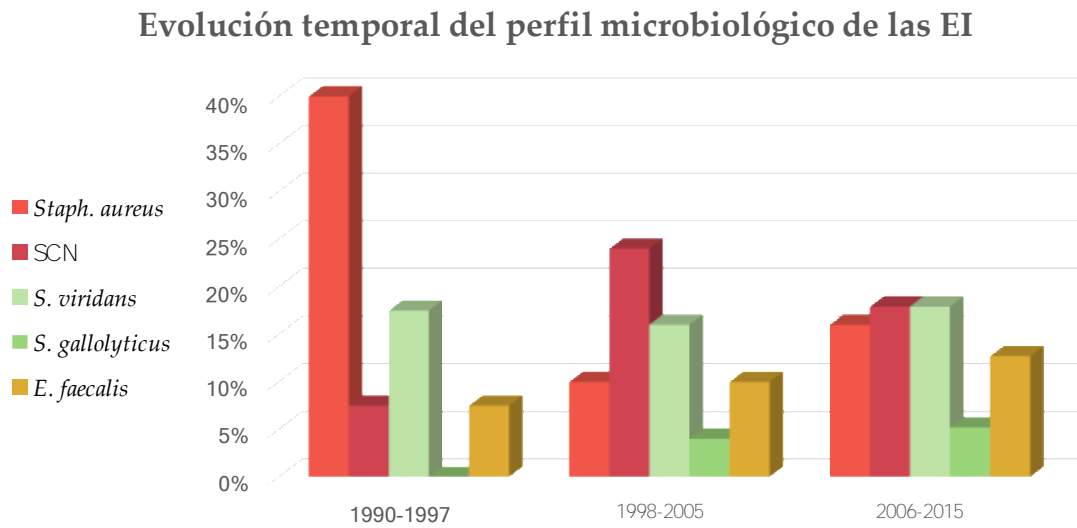
En el análisis de la evolución temporal, se encontró que el porcentaje de hemocultivos positivos se ha mantenido estable (75% vs 68% vs 78,8%). Se halló diferencia en el uso del estudio valvular como técnica diagnóstica alternativa al hemocultivo: los 5 casos en los que contribuyó a detectar el patógeno implicado en la EI fueron posteriores al año 2005.

El porcentaje de EI atribuido a *Staph. aureus* presentó variaciones significativas en los tres periodos de estudio. Supuso el 40% en el período 1990-1997, siendo la causa en el 50% de episodios de EI en UDVP. A partir del año 1998 sólo representó el 10%. A partir de 2006 vuelve a crecer (16%). El estafilococo coagulasa negativo ha ido creciendo en su implicación en las EI (7,5% vs 24% vs 17,9%, $p = 0,12$).

Las EI con implicación de *S. viridans* han mantenido su presencia estable a lo largo de los años de este estudio (17,5% vs 16% vs 17,9%, $p = 0,97$).

El aislamiento de las bacterias con foco probable de origen digestivo o urinario, *S. gallolyticus* y *E. faecalis*, mostraron un ascenso gradual temporal (0 vs 4% vs 5,2% y 7,5% vs 10% vs 12,7%, respectivamente).

Figura 17. Evolución del perfil microbiológico mayoritario.



En cuanto a las etiologías atribuidas a las EI con hemocultivos negativos, más minoritarias, presentaron cambios evolutivos. Por ejemplo, la infección por *C. burnetii*, fue diagnosticada con más frecuencia en el segundo período (0% vs 18% vs 1,9%, $p < 0,0001$). La infección por *Brucella* spp. también tuvo su mayor presencia en el primer y segundo período (5% vs 6% vs 0,5%, $p = 0,01$). En cuanto a los casos en los que se asumió el diagnóstico de *Bartonella* spp. (2 casos) y de *T. Whipplei* (1 caso), fueron pacientes pertenecientes al periodo final del estudio.

El porcentaje de pacientes en los que se consiguió un diagnóstico etiológico de la EI, a pesar de los hemocultivos negativos, fue mayor entre 1996 y 2005, sin mantener esa tendencia ascendente en el periodo siguiente (5% vs 24% vs 6,6%, $p = 0,005$).

Figura 18. Evolución del perfil microbiológico de las EI con hemocultivos negativos.

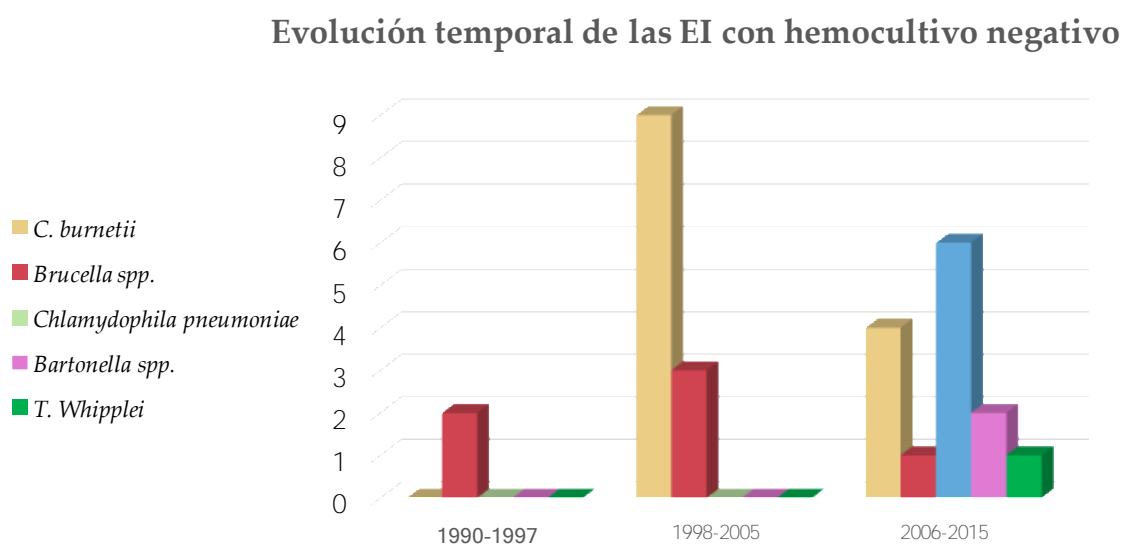


Tabla 7. Evolución del diagnóstico etiológico de las EI con hemocultivos negativos.

	Global	1990-1997	1998-2005	2006-2015	P valor
N	302	40	50	212	-
Hemocultivos negativos	67 (23%)	10 (25%)	16 (32%)	41 (20%)	p = 0,25
Sin diagnóstico etiológico	39 (13%)	8 (20%)	4 (8%)	27 (12,7%)	p = 0,005
Con diagnóstico etiológico	28 (10%)	2 (5%)	12 (24%)	14 (6,6%)	p = 0,005
<i>C. burnetii</i>	13 (4,3%)	0	9 (18%)	4 (1,9%)	p < 0,0001
<i>Brucella spp.</i>	6 (2%)	2 (5%)	3 (6%)	1 (0,5%)	p = 0,01
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	6 (2%)	0	0	6 (2,8%)	p = 0,33
<i>Bartonella spp.</i>	2 (0,6%)	0	0	2 (2,8%)	p = 0,33
<i>T. whipplei</i>	1 (0,3%)	0	0	1 (0,5%)	p = 0,46

La distribución de las etiologías bacterianas y de los hemocultivos negativos en los distintos tipos de EI también fue evaluado.

Tabla 8. Perfil microbiológico según el tipo de EI.

	EI nativa	EI protésica precoz	EI protésica tardía	EI sobre cable	EI en UDVP	P valor
N	186	25	42	29	20	
Estafilococos	30,1%	44%	28,6%	69%	50%	0,36
<i>Staph. aureus</i>	18,3%	4%	4,8%	27,6%	50%	0,006
SCN	11,3%	40%	23,8%	41,4%	0	0,001
Estreptococos	26,3%	4%	28,6%	6,9%	30%*	0,15
<i>S. viridans</i>	19,9%	4%	23,8%	3,4%	25%	0,09
<i>S. gallolyticus</i>	5,9%	0	23,8%	3,4%	0	0,42
Enterococos	11,8%	16%	19%	3,4%	0	0,42
Hemocultivos negativos	24,7%	32%	11,9%	10,3%	20%	0,18

* 5% restante corresponde a *S. pneumoniae*.

Figura 19.1. Perfil microbiológico según el tipo de EI.

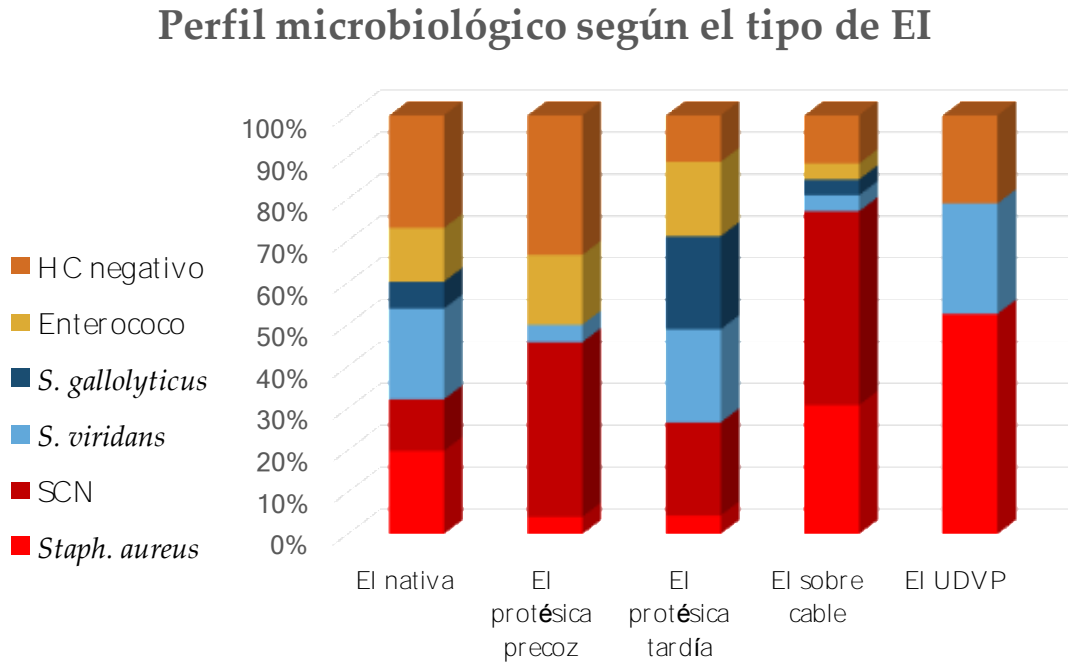
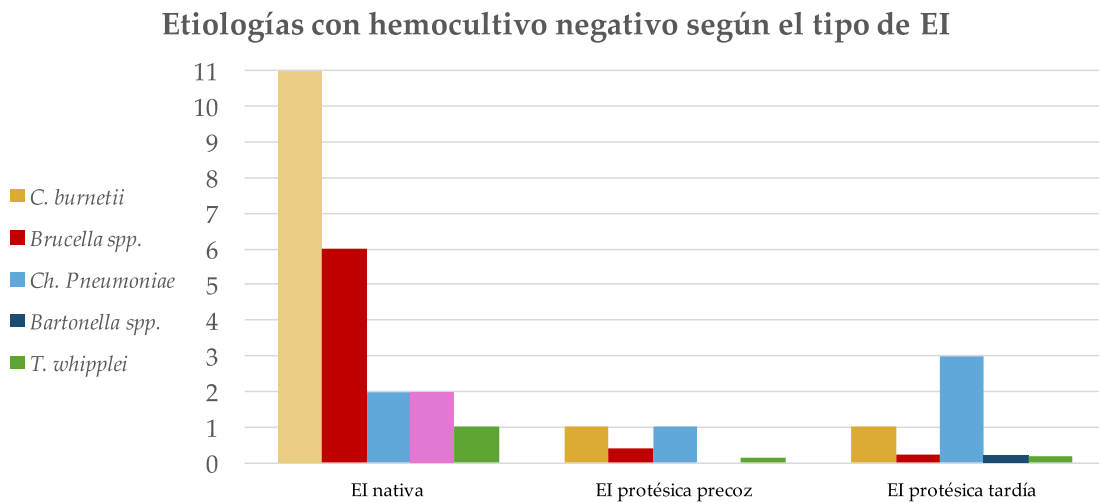


Figura 19.2. Perfil microbiológico según el tipo de EI.



4.1.6.- Evolución clínica del episodio de EI

Las complicaciones clínicas encontradas, por orden de frecuencia, fueron la embolización sistémica (35,1%), la insuficiencia cardíaca (34,1%), el ictus embólico (18,2%), la infección persistente (7,3%) y el bloqueo de conducción (4%).

En el análisis comparativo de los tres periodos, la embolización sistémica ha ido variando su porcentaje (55% vs 20% vs 34,9%). La insuficiencia cardíaca experimentó un ascenso significativo en el último periodo (15% vs 14% vs 42,5%, $p < 0,0001$). Los porcentajes de ictus embólico y de bloqueo de la conducción mostraron también un incremento en los últimos años (ictus: 10% vs 10% vs 21,7%, $p = 0,05$; bloqueo: 0% vs 4% vs 4,7%, $p = 0,51$).

La infección persistente no mostró cambios destacables en su porcentaje a lo largo del tiempo estudiado (5% vs 8% vs 7,5%, $p = 0,88$).

La embolización sistémica, por el contrario, sí fue variando en los tres periodos (55% vs 20% vs 34,9%, $p = 0,002$).

Figura 20. Complicaciones clínicas de los casos de EI.

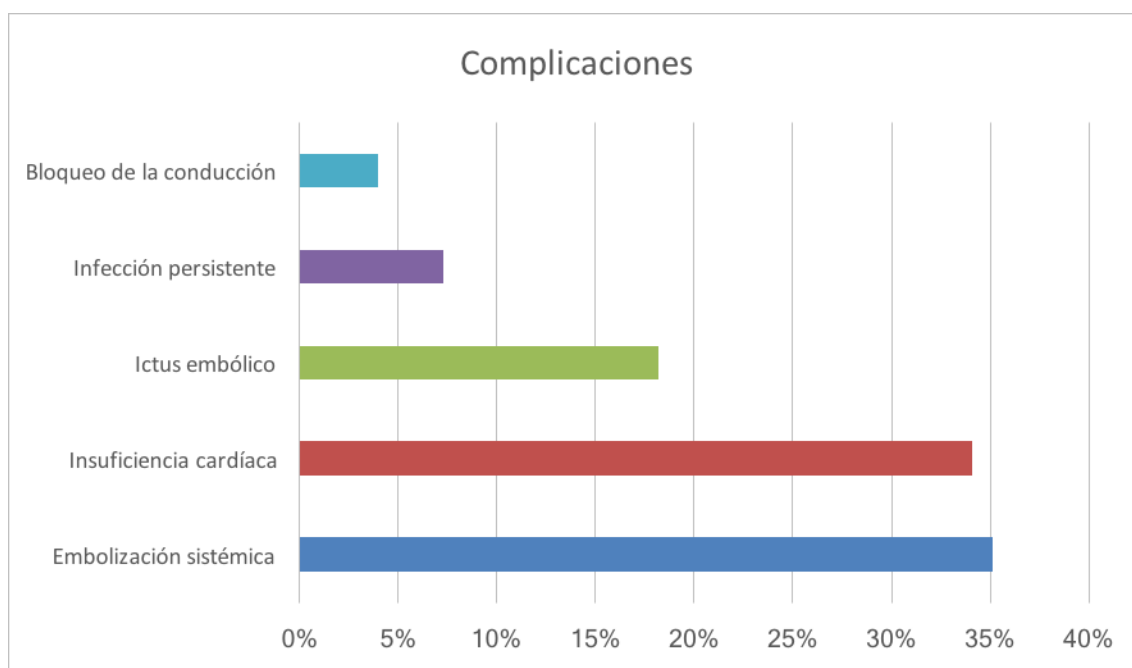
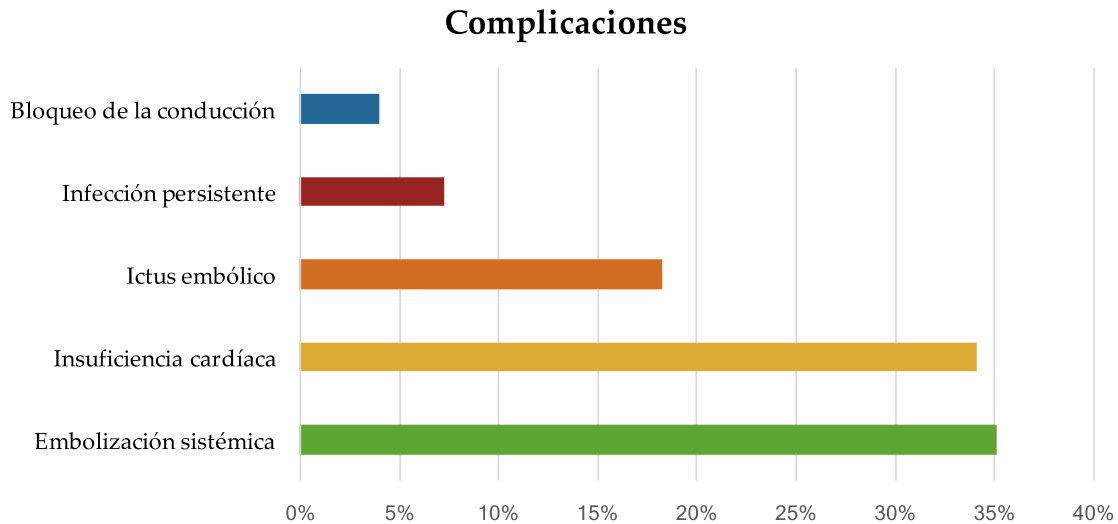


Figura 21. Evolución de las complicaciones clínicas.



4.1.7.- Hallazgos ecocardiográficos

En el 74,8% de los casos se visualizó una vegetación valvular, en el 15,6% sólo una insuficiencia valvular nueva, en el 6,6% un absceso paravalvular y un sólo caso presentó pseudoaneurisma como único hallazgo.

La técnica transesofágica se practicó en el 67,2% de los casos.

En el análisis temporal, teniendo en cuenta que el ETE estuvo disponible en el hospital de estudio sólo desde el año 1997, su práctica fue del 2,5% en el primer periodo (1990-1997), del 24% de los pacientes hasta 2005 y del 89,6% a partir de 2006.

4.1.8.- Tratamiento quirúrgico

La tasa de tratamiento quirúrgico global de los pacientes de la cohorte fue del 41,4%: el 35,1% durante el ingreso hospitalario por EI, el 6,3% de manera diferida tras el alta hospitalaria. Analizado por periodos, se apreció un incremento progresivo significativo en los casos sometidos a cirugía (12,5% vs 40% vs 47,2%, $p < 0,0001$), a expensas del aumento en la cirugía durante la fase activa.

Figura 22. Tratamiento quirúrgico.

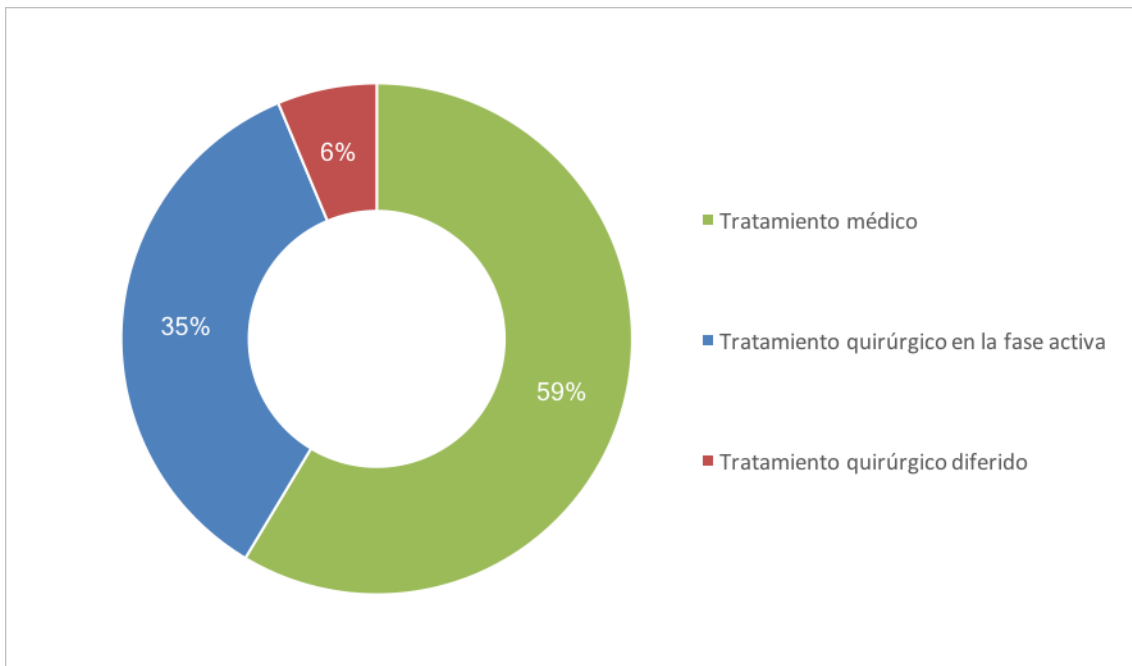
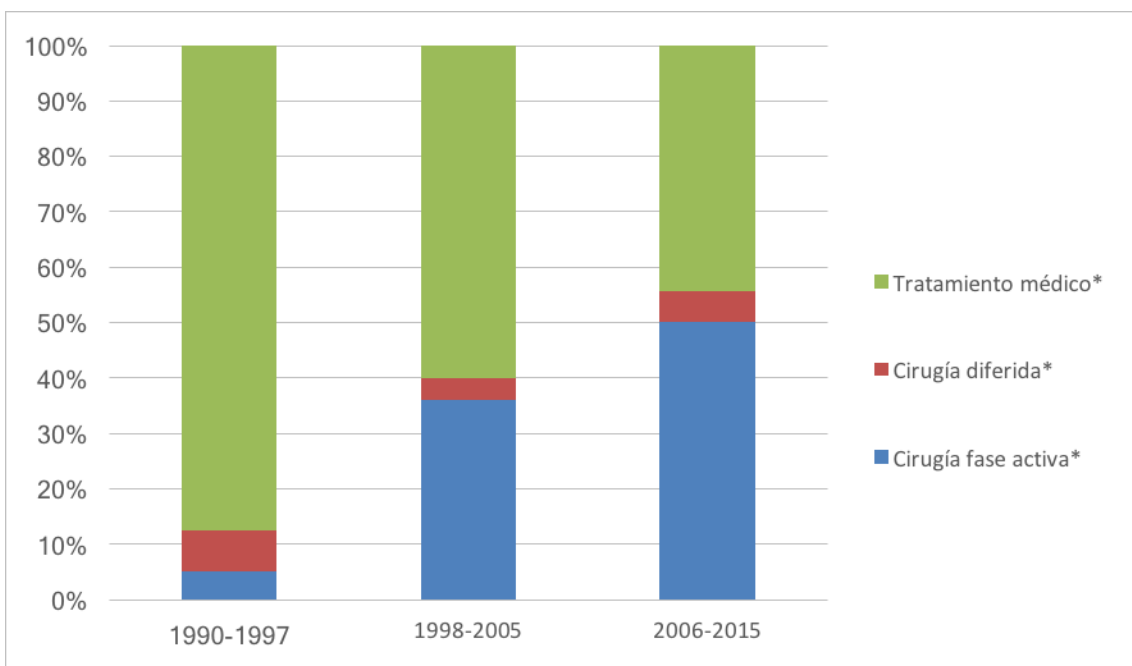


Figura 23. Evolución del tipo de tratamiento quirúrgico.



De los pacientes intervenidos durante el ingreso (106 casos), el 50% tenían insuficiencia cardíaca, el 25,5% tenían embolización sistémica, el 10,4% ictus isquémico, el 10,4%.

Tabla 9. Complicaciones en los pacientes con tratamiento quirúrgico en fase activa.

	Global	1990-1997	1998-2005	2006-2015	P valor
N	302	40	50	212	-
Cirugía fase activa	106 (35%)	2 (5%)	18 (36%)	86 (41%)	p = 0,0001
Insuficiencia cardíaca	53 (50%)	0	5 (28%)	48 (56%)	p = 0,014
Embolización sistémica	27 (25,5%)	0	2 (11%)	25 (29%)	p = 0,0001
Ictus embólico	11 (10,4%)	0	1 (5%)	10 (5%)	p = 0,92
Infección persistente	11 (10,4%)	0	2 (11%)	9 (11%)	p = 0,52
Bloqueo de la conducción	8 (7,5%)	0	1 (5%)	7 (3%)	p = 0,57

Tabla 10. Tratamiento quirúrgico por indicación de complicaciones clínicas.

	Global N = 302	1990-1997	1998-2005	2006-2015	P valor
N	302	40	50	212	
Insuficiencia cardíaca	103 (34,1%)	6 (15%)	7 (14%)	90 (42,5%)	p = 0,0001
Tratamiento quirúrgico de la insuf. cardíaca	53 (51,4%)	0	5 (71,4%)	48 (53,3%)	p = 0,014
Infección persistente	22 (7,3%)	2 (5%)	4 (8%)	16 (7,5%)	p = 0,88
Tratamiento quirúrgico de la inf. persistente	11 (50%)	0	2 (50%)	9 (56,3%)	p = 0,52

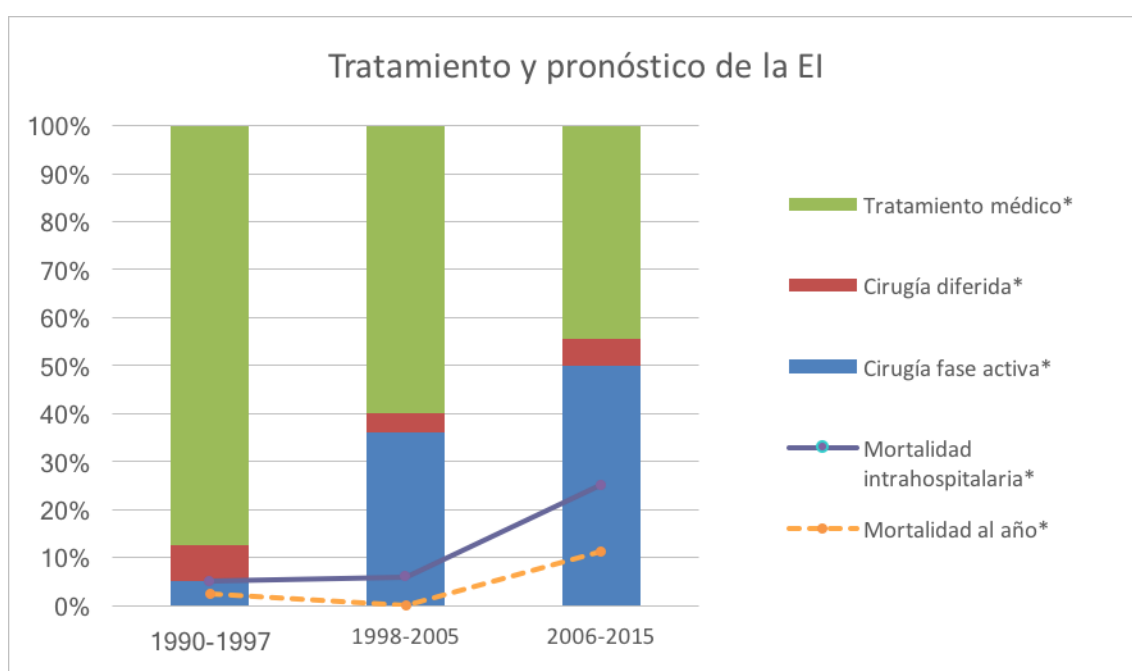
4.1.9.- Mortalidad intrahospitalaria y al cabo de un año

La tasa de mortalidad durante el ingreso por el episodio de EI fue del 19,2%. La mortalidad al año de seguimiento fue del 8,3%.

Analizada por periodos, la mortalidad intrahospitalaria presentó un ascenso llamativo en el último período (5% vs 6% vs 25%, $p = 0,001$).

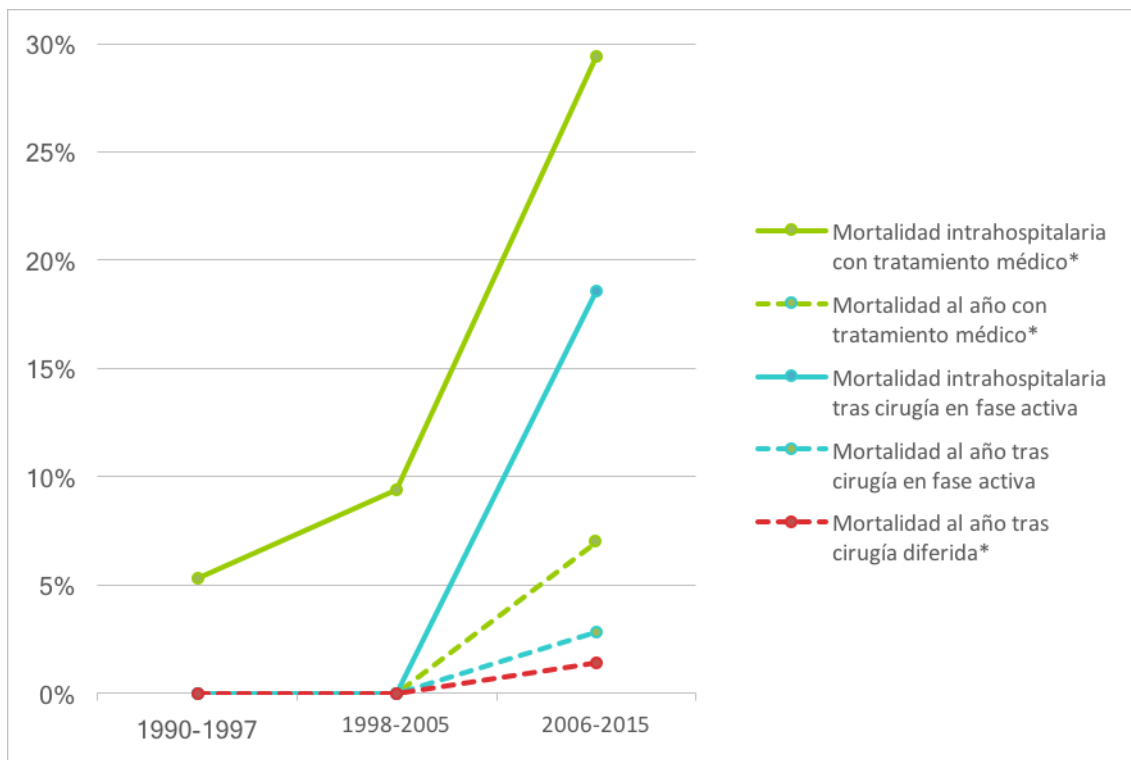
La mortalidad al año del episodio de EI también presentó variaciones temporales (2,5% vs 0% vs 11,3%, $p < 0,0001$).

Figura 24. Tratamiento y pronóstico.



La evolución temporal de la mortalidad se desglosó según el tratamiento recibido, si sólo fue médico y/o quirúrgico. Todas ellas presentaron un ascenso progresivo a lo largo del tiempo, aunque la magnitud porcentual mayor ocurrió en el grupo de pacientes que sólo recibió tratamiento médico.

Figura 25. Evolución de la mortalidad intrahospitalaria y al cabo de un año.



Para obtener un modelo estadístico explicativo de la mortalidad en la población estudiada, en primer lugar, se practicó un análisis univariante para identificar las variables relacionadas con la mortalidad intrahospitalaria. Resultaron significativas estadísticamente: la edad, el sexo femenino, la EI protésica tardía, el desarrollo de insuficiencia cardíaca, la infección persistente y presentar 2 o más complicaciones clínicas. En segundo lugar, se llevó a cabo el análisis multivariante utilizando una regresión logística binaria, en la que se incluyeron tanto las variables que resultaron significativas en el análisis previo, como aquellas que se consideraba podrían estar implicadas en el modelo según los datos obtenidos en el estudio descriptivo, como la cirugía intrahospitalaria.

Tabla 11.1. Análisis univariante de la mortalidad intrahospitalaria.

Variables	Total (n = 302)	Mueren (n = 58)	Viven (n = 254)	Univariante
Edad (media±DS)	59,39±16,23	67,59 ± 13,22	57,45 ± 16,30	p < 0,0001
Sexo femenino	85	28 (48,3%)	57 (26,4%)	p < 0,0001
Contacto animales	66	8 (13,8%)	58 (23,8%)	p < 0,0001
UDVP	20	2 (3,4%)	18 (7%)	p = 0,38
Cáncer	24	5 (8,6%)	19 (7,5%)	p = 0,07
Hemodiálisis	19	1 (1,7%)	9 (3,5%)	p = 0,03
Diabetes mellitus	53	8 (13,8%)	45 (17,8%)	p = 0,03
Tt inmunosupresor	13	2 (3,4%)	11 (4,3%)	p = 0,52
VIH	17	3 (5,2%)	14 (5,5%)	p = 1
Valvulopatía previa	142	33 (56,9%)	109 (43%)	p = 0,09
Adq. hospitalaria	101	19 (32,7%)	82 (32,2%)	p = 0,93
EI protésica	67			
EI protésica precoz	25	5 (8,6%)	20 (7,8%)	p = 0,54
EI protésica tardía	42	13 (22,4%)	29 (11,4%)	p= 0,03
EI izquierda	239	46 (79,3%)	193 (79,1%)	p = 0,18
Absceso en ETE	20	6 (10,3%)	14 (5,7%)	p = 0,19

Tabla 11.2. Análisis univariante de la mortalidad intrahospitalaria.

Variables	Total (n = 302)	Mueren (n = 58)	Viven (n = 254)	Univariante
HC negativo	71	9 (15,5%)	62 (25,4%)	p = 0,12
Sin dx etiológico	39	5 (8,6%)	34 (13,9%)	p = 0,27
<i>Staph. aureus</i>	55	10 (17,2%)	45 (18,4%)	p = 0,83
SCN	53	11 (19%)	42 (17,2%)	p = 0,75
<i>S. viridans</i>	53	13 (22,4%)	40 (16,4%)	p = 0,33
<i>Enterococcus</i>	35	6 (10,3%)	29 (11,9%)	p = 0,74
Émbolo sistémico	106	21 (36,2%)	85 (34,8%)	p = 0,84
I. cardíaca	103	37 (63,8%)	6 (27%)	p < 0,0001
Ictus embólico	55	13 (22,4%)	42 (17,2%)	p = 0,35
Bloq. conducción	12	2 (3,4%)	10 (4,1%)	p = 1
Infec. persistente	22	12 (20,7%)	10 (4,1%)	p < 0,0001
≥2 complicaciones	87	24 (41,4%)	63 (25,8%)	p < 0,0001
Tto intrahosp.	106	16 (25,6%)	90 (35,4%)	p = 0,18

Tabla 12. Regresión logística binaria para la mortalidad intrahospitalaria.

Variables	B	P valor	Exp(B)	IC 95% Exp(B)
Sexo femenino	1,055	0,003	2,873	1,421-5,809
Edad > 65 años	1,194	0,001	3,301	1,623-6,715
I.cardíaca	1,775	0,000	5,902	2,898-12,019
Infecç.persistente	2,106	0,000	8,217	2,945-22,931
Tto qx intrahosp.	-0,998	0,013	0,369	0,168-0,809

El análisis de regresión logística binaria mostró que existe asociación de las variables independientes sexo, edad > 65 años, insuficiencia cardíaca, infección persistente y tratamiento quirúrgico en fase activa con la variable dependiente mortalidad intrahospitalaria.

La cirugía practicada durante el ingreso por EI es el único factor de protección frente a la mortalidad identificado en la serie estudiada. Por el contrario, se identificaron cuatro factores de riesgo para la mortalidad: el sexo femenino, la edad superior a los 65 años, la insuficiencia cardíaca y la infección persistente.

Con estos datos, puede proponerse un modelo predictivo de mortalidad para la cohorte estudiada, según la siguiente ecuación:

$$\text{Logit (p)} = -2,82 + 2,873*(\text{mujer}) + 0,303*(>65 \text{ años}) + 5,902*(\text{i. cardíaca}) + 8,217*(\text{infección persistente}) + 0,369*(\text{tratamiento quirúrgico})$$

Una mujer presenta casi 3 veces más posibilidades de morir en un episodio de EI que un hombre.

Un paciente mayor de 65 años tiene más de 3 veces de posibilidades de morir por EI que un paciente menor de 65 años.

El desarrollo de insuficiencia cardíaca aumenta por casi 6 veces el riesgo.

La falta de control de la infección multiplica por 8 veces el riesgo.

4.2.- Estudio prospectivo experimental

Se analizaron 24 válvulas cardíacas de sujetos sometidos a reemplazo valvular, desde marzo 2013 hasta diciembre 2016. De los 24 pacientes, 21 fueron intervenidos por una EI que cumplía los criterios de Duke modificados. En los otros 3 sujetos el motivo de la cirugía cardíaca fue una disfunción valvular de etiología no infecciosa.

En el momento de redactar este trabajo, por razones logísticas ajenas a nosotros que han impedido completar los estudios moleculares previstos en las válvulas recogidas, sólo se ha concluido el análisis genético de 6 válvulas.

Entre los 6 casos de EI definitiva, los hemocultivos fueron positivos en 5 y el análisis microbiológico del tejido valvular mostró un aislamiento bacteriano en un solo paciente.

Los hemocultivos revelaron *Streptococcus* del grupo *viridans*, *Staphylococcus epidermidis* y *Enterococcus faecalis* en 3, 1 y 1 casos, respectivamente.

Tabla 13. Datos clínicos de los pacientes incluidos en el estudio de NGS valvular.

Caso	1	2	3	4	5	6
Sexo	Mujer	Varón	Varón	Mujer	Varón	Varón
Edad	54	65	56	43	51	74
A.P. interés	-	Animales, Tto IS, Valvulopatía	-	-	Animales, Valvulop	Animales, Neoplasia
Válvula afectada	Mitral	Aórtica	Mitral	CIV Ao y Pul	Mitral	Aórtica
Tipo válvula	Nativa	Nativa	Nativa	Nativa	Nativa	Protésica
Hemocultivo	<i>Strept. viridans</i>	<i>Staph. epidermidis</i>	<i>Strept. mutans</i>	Neg	<i>Strept. viridans</i>	<i>E. faecalis</i>
Cultivo valvular	<i>Strept. viridans</i>	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
Tratamiento antimicrobiano	Penicilina + AMG	Vancomicina + Cloxacilina + AMG	Penicilina + AMG	Cloxacilina + Ampicilina + Ceftriaxona	Penicilina + AMG	Ampicilina + Ceftriaxona
Complicaciones	I cardiaca	I cardiaca Bloqueo Sepsis	I cardiaca	I cardiaca	Émbolos sistémicos	Émbolos sistémicos y a SNC.
Seguimiento (1 año)	Sobrevive	Fallecido	Sobrevive	Sobrevive	Sobrevive	Sobrevive

El análisis del 16S rDNA reveló presencia bacteriana en todos los pacientes. En el momento actual, el análisis bioinformático profundo sólo dispone de los resultados de identificación a nivel de género, aunque el objetivo final es llegar a la identificación de especies. En todas las muestras analizadas se encontró DNA de los 3 géneros predominantes en las técnicas de cultivo: *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. y *Enterococcus* spp. En todas ellas, se demostró presencia de, al menos, dos de los géneros, incluso en la de hemocultivos negativos.

Tabla 14.1. Resultados de NGS sobre las muestras valvulares.

Caso	1	2	3	4	5	6
Hemocultivo	<i>Strept. viridans</i>	<i>Staph. epidermidis</i>	<i>Strept. mutans</i>	Neg	<i>Strept. viridans</i>	<i>E. faecalis</i>
Cultivo valvular	<i>Strept. viridans</i>	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
NGS						
Streptococcus	615 (0,3%)	49903 (9,3%)	29558 (5%)	188 (4%)	199 (5%)	9047 (1,4%)
Staphylococcus	205 (0,1%)	7867 (1,49%)	18723 (3,03%)		91 (1,96%)	5527 (0,9%)
Enterococcus				91 (1,9%)		214920 (33,4%)

Además de encontrar los tres géneros bien conocidos como causantes de EI, se demuestra por NGS la presencia polimicrobiana en todas las muestras estudiadas. Esta técnica identificó un total de 22 géneros bacterianos (entre 2 y 15 géneros por paciente), con una media de 10 géneros bacterianos por muestra analizada.

Se presentan las figuras proporcionadas por el software Ion Torrent, correspondientes al análisis de cada muestra, y las tablas 14.1 y 14.2 con los detalles del número de lecturas de la diversidad bacteriana.

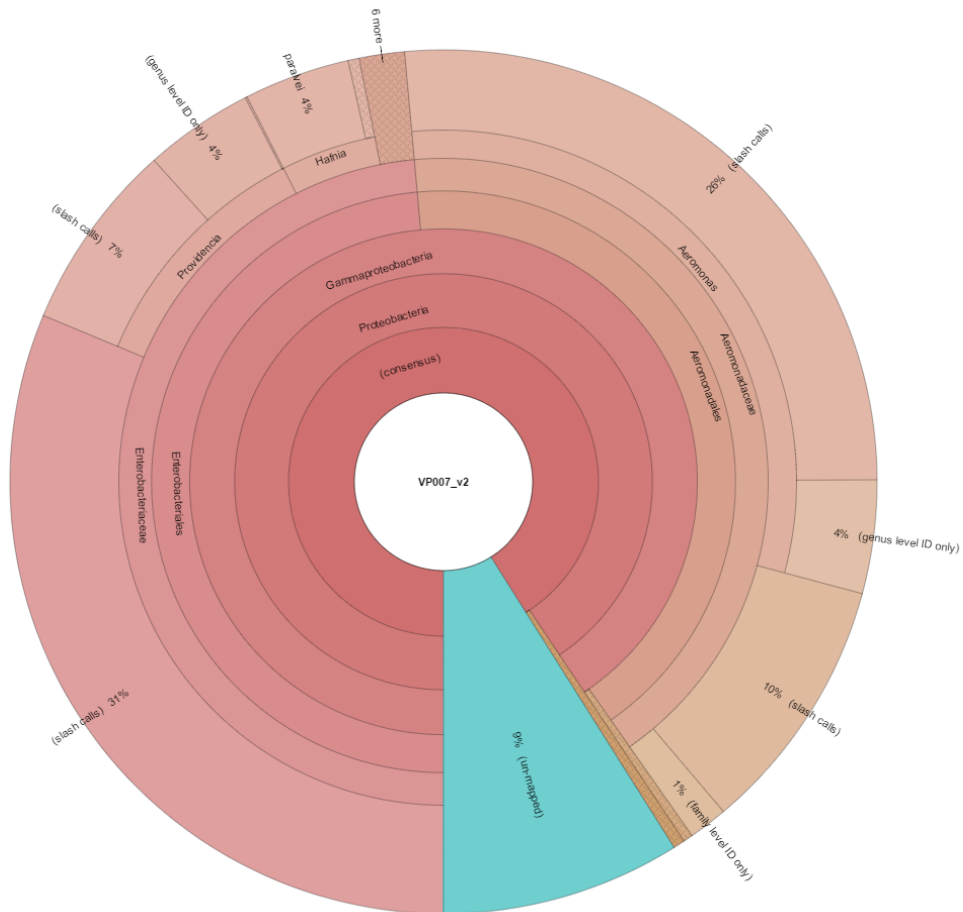


Figura 26. Analogía taxonómica de las lecturas de DNA 16S mediante NGS de la muestra valvular del caso 1 (*Streptococcus viridans* en el hemocultivo).



Figura 27. Analogía taxonómica de las lecturas de DNA 16S mediante NGS de la muestra valvular del caso 2 (*Staph. epidermidis* en el hemocultivo).



Figura 29. Analogía taxonómica de las lecturas de DNA 16S mediante NGS de la muestra valvular del caso 4 (hemocultivo negativo).



Figura 30. Analogía taxonómica de las lecturas de DNA 16S mediante NGS de la muestra valvular del caso 5 (*Streptococcus. viridans* en el hemocultivo).

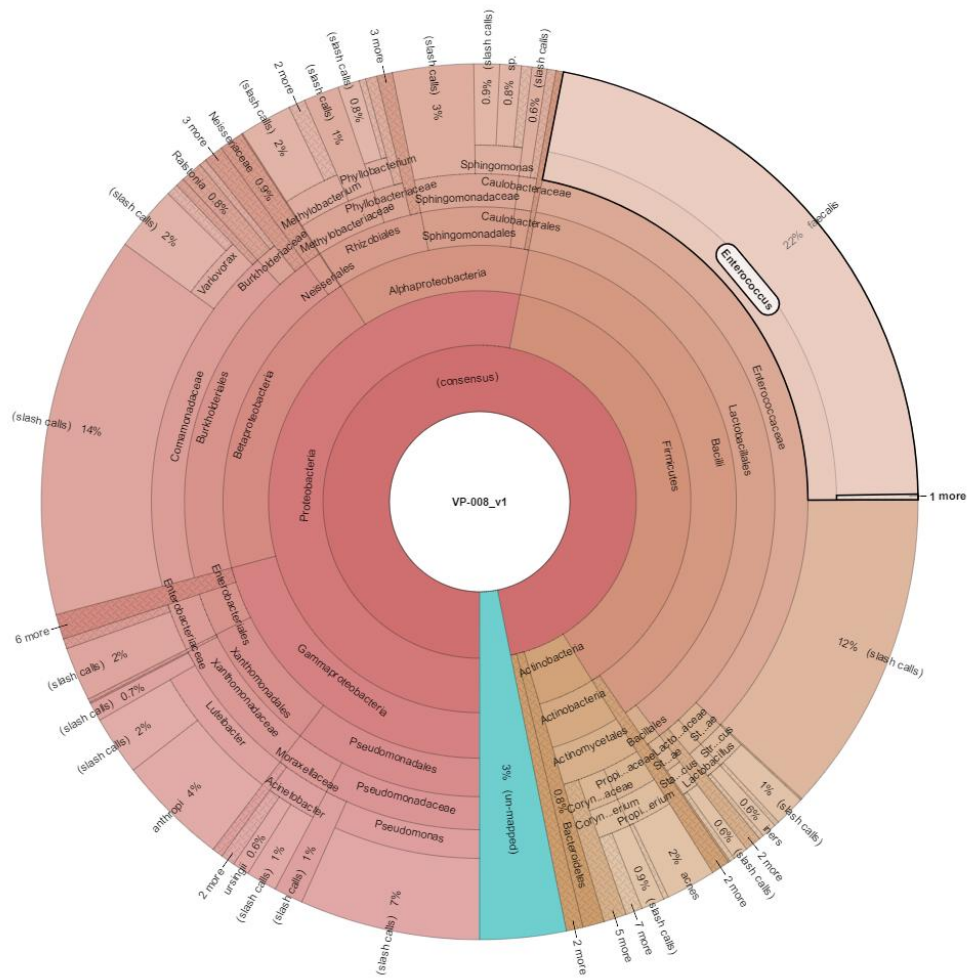


Figura 31. Analogía taxonómica de las lecturas de DNA 16S mediante NGS de la muestra valvular del caso 6 (*Enterococcus faecalis* en hemocultivo).

Dentro de los 22 géneros identificados, 3 son los ya comentados (*Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* spp.). Del resto, la mayoría (13/22) se trata de géneros que, aunque no son causas frecuentes de EI humana, están descritos en la literatura como etiologías de EI. Una minoría de la biodiversidad encontrada mediante NGS no han sido descritos como causa de EI, pero son patógenos humanos ya conocidos (4/22), o bien ni siquiera han sido descritos como patógenos humanos (2/22). En cuanto a la concordancia de los resultados obtenidos mediante NGS y por técnicas de cultivo, la técnica molecular detectó en todos ellos la presencia de la bacteria que había crecido en los cultivos. Sin embargo, desde el punto de vista cuantitativo, la bacteria cultivada sólo fue la predominante en la biodiversidad detectada mediante NGS en 2 casos (casos 5 y 6).

Tabla 14.2. Resultados de NGS sobre las muestras valvulares (número de lecturas de pares de bases).

Caso	1	2	3	4	5	6
Hemocultivo	<i>Strept. viridans</i>	<i>Staph. epidermidis</i>	<i>Strept. mutans</i>	Negativo	<i>Strept. viridans</i>	<i>E. faecalis</i>
NGS						
<i>Acinetobacter</i>				439	126	17599
<i>Aeromonas</i>	114792		15592		102	
<i>Actinomices</i>		14077	3380	31		
<i>Burkholderia</i>		4496	8759	216	107	7819
<i>Caulobacter</i>		49093	29558		73	
<i>Corynebacterium</i>		12039	15040			11187
<i>Lactobacillus</i>			20749	91		
<i>Luteibacter</i>				516	408	45973
<i>Methylobacterium</i>				541	261	24141
<i>Micrococcus</i>			21933	56		
<i>Neisseria</i>			30336			
<i>Phyllobacterium</i>						9786
<i>Prevotella</i>			11328			
<i>Propionibacterium</i>			11898		690	13055
<i>Pseudomonas</i>			12460	322	162	50043
<i>Serratia</i>			16352		79	
<i>Sphingomonas</i>			8769	705	238	31784
<i>Variovorax</i>				878	1699	117047
<i>Veillonella</i>					103	

Para entender los hallazgos, conviene hacer un repaso de los géneros encontrados en el estudio molecular valvular.

Tabla 15. Clasificación resultados biodiversidad bacteriana valvular por NGS.

Géneros con capacidad de provocar EI (16/22)	
Clásicos (3)	<i>Streptococcus, Staphylococcus, Enterococcus</i> spp
Anaerobios (3)	<i>Prevotella, Propionibacterium, Veillonella</i> spp
Bacilos gram-negativos (5)	<i>Acinetobacter, Aeromonas, Burkholderia, Pseudomonas, Serratia</i> spp
Cocos gram negativos (1)	<i>Neisseria</i> spp
Bacilos gram positivos (3)	<i>Actinomices, Corynebacterium, Lactobacillus</i>
Cocos gram positivos (1)	<i>Micrococcus</i>
Géneros no identificados previamente en EI en humanos (6/22)	
Patógenos humanos anteriormente descritos (4)	<i>Caulobacter, Luteibacter, Methylobacterium, Sphingomonas</i> spp.
Aún no descritos como patógenos humanos (2)	<i>Phyllobacterium</i> y <i>Variovorax</i> spp

Géneros con capacidad de provocar EI

Clásicos:

Streptococcus, Staphylococcus, Enterococcus spp, comentados ampliamente en la introducción de este trabajo.

Anaerobios:

- *Prevotella* spp: se han descrito casos de EI, sobre todo polimicrobiana, en UDVP, tras procedimientos dentales y sobre válvula protésica.

- *Propionibacterium* spp: los casos de EI por *Propionibacterium acnes* son casi exclusivos de pacientes con válvula protésica o cable. Generalmente se diagnostican de manera tardía por la presentación clínica subaguda y la dificultad en obtener un cultivo microbiológico exitoso, tanto de muestras sanguíneas como tisular valvular ¹²¹.

- *Veillonella* spp: *Veillonella* es un coco gramnegativo, anaerobio, parte de la microbiota normal de la cavidad oral y los tractos gastrointestinal y vaginal. *Veillonella dispar*, *V. atypica*, y *V. parvula* han sido cultivadas en muestras humanas, pero es un patógeno

infrecuente. Ha sido identificada como patógeno en meningitis, osteomielitis, infección de prótesis articular, endocarditis y bacteriemia. En la revista *Emerging Infectious Diseases* se publicó un caso de EI por una nueva especie, *V. montpellierensis*, abogando los autores en la conclusión la importancia de utilizar los análisis de 16S DNA para identificar etiologías de difícil cultivo y describir nuevas entidades clínicas ¹²².

Bacilos gramnegativos:

- *Acinetobacter* spp: la patogenicidad de *A. baumannii* era cuestionada hace años, pero en la última década ha emergido como uno de los principales agentes de infecciones nosocomiales, con un patrón de multirresistencia que conlleva una dificultad añadida en el tratamiento. Los procedimientos invasivos y el amplio uso de antimicrobianos de amplio espectro aumentan el riesgo de infección por *A. baumannii*. No son raros los episodios de bacteriemia por *A. baumannii* en pacientes ingresados en unidades de críticos y cada vez son más las publicaciones de EI nosocomial por esta bacteria, aunque es una etiología rara de EI.

- *Aeromonas* spp: se han descrito algunos casos de EI atribuibles a *Aeromonas hydrophila*. *Aeromonas hydrophila* es un bacilo gramnegativo acuático asociado a gastroenteritis e infecciones de piel y partes blandas. Se han descrito pocos casos de EI atribuible a *A. hydrophila*, sobre todo en pacientes cirróticos. Las fuentes de infección pueden ser pirañas, caimanes o la terapia con sanguijuelas para el edema de pacientes quemados ¹²³

- *Burkholderia* spp: *Burkholderia cepacia* se ha descrito como causa de EI en pacientes con unas condiciones predisponentes: inmunodeficiencia UDVP, válvulas protésicas, dispositivos intracardiacos o catéteres venosos centrales. Habitualmente contamina fuentes de agua, soluciones antisépticas o fluidos intravenosos.

- *Pseudomonas* spp: *Pseudomonas aeruginosa* se asocia típicamente a las infecciones nosocomiales y, como causa de EI, su adquisición comunitaria suele estar relacionada con el UDVP y el desarrollo de EI derecha.

- *Serratia* spp: *Serratia marcesens* ha sido publicada como causa de EI, en su mayoría en pacientes UDVP, con afectación aórtica o mitral, y tendencia a embolismos sistémicos ¹²⁴.

Cocos gramnegativos:

- *Neisseria* spp: *N. gonorrhoeae* es un diplococo gramnegativo ya propuesto como causa de EI en 1834. Su incidencia disminuyó drásticamente en la era antibiótica. Desde

entonces, se han publicado alrededor de 50 casos de EI gonocócica. Suelen ser pacientes jóvenes (edad media 27 años) con una historia de infecciones de transmisión sexual en más de un 30% de los casos. Otras especies de *Neisseria* spp. conocidas como causa de EI son *Neisseria elongata* subsp. *nitroreducens*, *N. elongata* subsp. *elongata*, *N. sicca*, o *N. subflava*. Por *Neisseria elongata* subsp. *Nitroreducens* se han descrito 27 casos, en adultos jóvenes (edad media 39 años) con valvulopatía predisponente en el 80% de los casos (incluyendo válvula protésica). La presentación clínica es bastante agresiva, con vegetaciones de gran tamaño y un proceso destructivo local con desarrollo de insuficiencia cardíaca y absceso miocárdico en un 30% de los casos. Por *N. sicca* se han publicado 14 casos ¹²⁵, también en pacientes jóvenes y con manifestaciones embólicas en la mayoría de pacientes.

Bacilos grampositivos:

- *Actynomices* spp: La EI actinomicótica se describió en 1993 (varios casos se han descrito posteriormente) sin clara puerta de entrada. Como características generales, la EI actinomicótica ocurre en un amplio espectro de edad, principalmente en varones, con alta propensión a fenómenos embólicos y normalmente sobre válvulas nativas. Es curable con un curso prolongado de penicilina.

- *Corynebacterium* spp. Hasta el momento de redactar este trabajo, se han descrito 67 casos de EI por *Corynebacterium diphtheriae* no toxigénica, la mayoría en forma de brote. Dado que esta bacteria coloniza el tracto respiratorio superior y la piel, es frecuente un antecedente reciente de faringitis o de UDVP en pacientes con una valvulopatía previa o insuficiencia renal ¹²⁶.

- *Lactobacillus* spp. Son bacterias aerobias grampositivas, ubicuas y generalmente comensales en cavidad oral, mucosa gastrointestinal y el tracto femenino. Se han descrito más de 30 casos de EI por *Lactobacillus* ¹²⁷. Características comunes son la alta frecuencia de embolismos sistémicos, manipulaciones dentales como puerta de entrada (75%) y valvulopatía previa (83%).

Cocos grampositivos

-*Micrococcus* spp: se han descrito menos de 20 casos de EI por *Micrococcus luteus*, tratados con terapia antibiótica combinada (vancomicina, gentamicina y rifampicina). La mayoría de los casos fueron sobre válvula protésica.

Géneros no identificados (hasta ahora) como etiología de EI:

- *Caulobacter*, *Luteibacter*, *Methylobacterium*, *Sphingomonas* spp. Se han descrito, en la última década, como patógenos humanos habiéndose aislado en muestras clínicas de pacientes mediante identificación del 16S DNA. Los casos clínicos de los que se atribuyen como causales van desde la meningitis en inmunodeprimidos, la peritonitis asociada a catéter de diálisis peritoneal y sepsis neonatal. No hemos encontrado ningún caso de endocarditis.

Géneros no identificados (hasta ahora) como patógenos en humanos:

- *Phylobacterium* no ha sido identificado hasta la fecha en muestras humanas. Sí se ha detectado con 16S en muestras ambientales y en garrapatas *Ixodes ricinus* de la zona de Bohemia Central.

- *Variovorax* se ha identificado en muestras humanas procedentes de sujetos sanos, en estudios de microbioma placentario y vaginal.

En cuanto a los controles externos, analizamos tres válvulas de pacientes intervenidos de sustitución valvular por causa no infecciosa. De las tres muestras control analizadas, dos fueron excluidas porque los controles internos no resultaron negativos, invalidando la fiabilidad de los resultados.



Figura 32. Analogía taxonómica de las lecturas de DNA 16S mediante NGS de la muestra control 1.

A pesar de los controles internos negativos y de la recogida de la muestra, la técnica de NGS detectó presencia de 16S DNA, correspondiendo a *Caulobacter* sp. en el 94,48% de lecturas.

5.- DISCUSIÓN

5.- DISCUSIÓN

5.1. Estudio descriptivo

El perfil de la enfermedad infecciosa endocardítica ha ido cambiando de manera uniforme en los países de renta alta, a lo largo de las tres últimas décadas. Son muchas las series publicadas hasta la fecha que muestran un cambio epidemiológico, microbiológico y clínico, con sus consecuencias terapéuticas y pronósticas ^{24 25}. En ellas, la presencia de bacterias causales de transmisión zoonótica es minoritaria y proviene de hospitales europeos o de la cuenca mediterránea (Argelia, Marruecos) ¹²⁸ ¹²⁹. El análisis descriptivo de la cohorte de pacientes analizada en este trabajo aporta unos datos que se asemejan al perfil descrito en los países de renta alta, sin que la presencia de casos de zoonosis, más elevada que en la mayoría de las series unicéntricas publicadas, altere la tendencia global similar al entorno occidental.

En cuanto a la representatividad de la muestra estudiada, se trata de 302 pacientes a lo largo de 26 años de estudio (1990-2015), que supera los 238 sujetos que recomienda como mínimo el cálculo del tamaño muestral realizado. Para calcular el tamaño óptimo de la muestra que permitiera estimar proporciones, se tuvo en cuenta la baja prevalencia de la enfermedad estudiada, un nivel de confianza del 95% y una precisión del 3%. El número calculado es el mismo tanto si se escoge como población de referencia toda Extremadura (1.088.000 habitantes) como si se elige el área de salud de Badajoz (273.977 habitantes). Sin embargo, tomando como valor de incidencia anual 3,49 casos/100.000 habitantes/año, la más elevada calculada en España, que corresponde a los últimos años (2014), los pacientes incluidos en los dos primeros períodos (90 casos en 16 años, 1990-2005) constituyen un 61% de los casos esperados de EI entre los habitantes del Área de Salud de Badajoz (148 casos esperados). A partir del año 2006, son 212 casos los incluidos en 10 años, suponiendo el 77% de los casos esperados de EI en toda la comunidad autónoma de Extremadura (392 casos esperados).

No en vano, al analizar la procedencia de los pacientes de la cohorte, es a partir de 2006 cuando empieza a crecer el porcentaje de casos derivados desde otras áreas de salud de Extremadura, pasando el porcentaje de Badajoz de más del 50% en los primeros periodos a una tercera parte del total en el último. Y es que fue a partir de 2005 cuando el hospital contó con una sección de Anestesia Cardíaca que convirtió al servicio de

Cirugía Cardiovascular de Badajoz en referencia para Extremadura. Esto implica que la inferencia de los datos de este estudio a la población extremeña sólo puede aplicarse en el último periodo de estudio (2006-2015).

En cuanto a la epidemiología de la EI de la cohorte estudiada, muestra un perfil muy parecido al publicado en sociedades occidentales. Se repite en este estudio el predominio en varones, la edad media en torno a los 60 años, con una tendencia etaria progresiva y una media mayor en mujeres. Como se ha expuesto con anterioridad, este incremento progresivo de la media de edad en los pacientes con EI puede explicarse por el aumento de esperanza de vida en la población general y por el aumento de casos de EI nosocomial, secundaria a patología digestiva y urinaria las cuales son más frecuentes en pacientes añosos y con comorbilidades.

La EI nosocomial se definió como endocarditis presumiblemente adquirida en el entorno hospitalario o asociada a cuidados sanitarios, por la dificultad, al tratarse de un estudio retrospectivo, de diferenciar con exactitud ambas entidades. La mayoría de las series de EI aportan datos de la EI nosocomial y de la no nosocomial por separado. Sin embargo, hay un estudio español con similitud metodológica con el que pueden establecerse comparaciones para discutir los resultados ¹⁴. Se trata de una serie también unicéntrica, de un hospital de Cataluña, con una n de 212 casos, y dos periodos de estudio: 2003-2006 y 2006-2010. El porcentaje de casos de EI no comunitaria que describen es de 31,4% en el primer periodo y de 38,4% en el segundo periodo. La cifra obtenida en la esta cohorte unicéntrica desde 2006 hasta 2015 está también en ese rango (38,7%).

Las características basales de los pacientes de nuestra serie muestran también similitud con las publicadas en otros estudios españoles ¹³⁰, europeos o mundiales ¹⁸. Analizando las características por orden de frecuencia, se encuentra que:

- la diabetes mellitus tipo 2 presenta una proporción en torno a 1 de cada 6, similar a lo publicado. (18% en este estudio, 16,5% en España, 14% en Europa, 16% mundial).
- las neoplasias ocurren en el 8% de los pacientes incluidos, porcentaje exactamente igual a lo publicado.
- la infección por el VIH se encuentra en una mayor proporción en esta cohorte (6% frente a 3% en Europa y 4% a nivel mundial), pero hay que tener en cuenta, que el grupo de pacientes infectados por el VIH con EI era frecuente sobre todo en relación con el uso de drogas por vía parenteral en la década de los años 80 y 90. La inclusión de la década de los 90 en la nuestra cohorte no la comparten las series de referencia

Europea y mundial, que enmarcan su estudio a partir del año 2000. Este hecho puede explicar el porcentaje mayor en la serie estudiada a nivel global. El porcentaje de infecciones por el VIH en el periodo que no incluye la década de los 90 (2006-2015) es de un 0,5%. La reducción de los pacientes infectados por el VIH a lo largo del periodo de estudio (35% vs 10% vs 0,5%) es similar a la descrita en otras series españolas (25% vs 6% vs 3%)^{131 132}.

- la necesidad de hemodiálisis presenta una proporción ligeramente menor en esta cohorte, más similar al entorno europeo que a los datos de la cohorte mundial (3% frente a 4% en Europa y 8% en el mundo)¹⁸.

Respecto al tipo y localización de la EI, el perfil encontrado en la nuestra cohorte es similar a los datos europeos y mundiales. Predomina el tipo EI sobre válvula nativa, en torno al 70% y protésica en torno al 20%. La EI sobre cable presenta un porcentaje ligeramente mayor en nuestra serie (10% frente a 7%). Dado que la EI sobre cable muestra una tendencia temporal de incremento, esta diferencia podría explicarse porque el periodo de estudio se extiende hasta 2015 y las series de referencia estudian hasta el año 2005. Una cohorte del hospital Reina Sofía de Córdoba, que recoge únicamente los casos de EI sobre dispositivo intracardiaco desde 1987 hasta 2013, encuentra en los años posteriores a 2005 un porcentaje del 9,32%, frente al 7,69% de los años 2001 a 2006¹³³.

La localización eminentemente en el corazón izquierdo, con un porcentaje de EI derechas del 15%, es similar a lo descrito en varios hospitales españoles, en un periodo de estudio parecido (14%, 1996-2012). En la década de los 90 la localización derecha llegó a suponer casi el 50%, en relación con el peso del grupo de pacientes UDVP (30%), que prácticamente desaparece en los siguientes años. El resto de las EI derechas, divididas en la literatura entre asociadas a dispositivos y las tres Noes (no izquierda, no dispositivo, no UDVP), la proporción encontrada en la cohorte extremeña es del 45% y el 16% respectivamente. En el estudio de Ortiz., también suponen más del doble las EI sobre dispositivo frente a la EI de los tres noes (54% vs 24%)¹²⁰.

El perfil microbiológico de los casos incluidos en el estudio descriptivo de este trabajo no dista mucho de lo publicado a nivel global en series provenientes de países de renta alta. En todas ellas, el porcentaje de cocos grampositivos oscila entre el 70 y el 80%. En la cohorte aquí analizada supone el 70%. La distribución entre los tres grandes grupos, estafilococos, estreptococos y enterococos, varía discretamente en las diferentes poblaciones estudiadas. Por ejemplo, a nivel mundial, según los datos de la cohorte

internacional de Murdoch ¹⁸ y según la revisión de Ambrosioni ²⁵, los estafilococos son la primera causa alargando la distancia con los estreptococos (42% vs 30%), con claro predominio de *Staph. aureus* frente a los coagulasa negativos (31% vs 11%). El grupo de los enterococos queda en tercer lugar, en torno al 10%. Sin embargo, en España, los datos del estudio poblacional ¹³⁰ y de cohortes multi ¹⁹ o unicéntricas ^{14 15 132} no muestran una distancia tan marcada entre estafilococos y estreptococos (29,3% vs 20,4%), ni entre *Staph. aureus* y los coagulasa negativos (17,1% vs 12,2%). Los resultados de la serie aquí analizados muestran un perfil microbiológico más similar al español, con una corta distancia entre los tipos de estafilococo, aunque predomine el *Staph. aureus* (18% vs 17%), y una diferencia no significativa con los estreptococos (35% vs 23%).

En cuanto a la evolución temporal, tanto a nivel de España como de otros países de renta alta, los estafilococos se mantienen como primera causa de EI, pero en los últimos años la proporción de casos por *Staph. aureus* ha disminuido y la incidencia de infecciones por enterococo y ECN se ha incrementado de manera significativa y regular. Sin embargo, en el estudio temporal de la nuestra cohorte, ninguna de las variaciones observadas en el perfil microbiológico en los tres periodos es significativa, y sólo el aumento de los enterococos y de *Strept. gallolyticus* sigue un patrón regular ascendente. El cambio microbiológico descrito por varios autores ^{20 134}, en cuanto al tipo de EI, sí puede verse en la nuestra cohorte: *Staph. aureus* predomina en las EI sobre válvula nativa y en UDVP, mientras que los ECN son la causa principal de la EI protésica precoz y la EI sobre cable.

Dado que el objetivo primario de la investigación incluye conocer la presencia de bacterias zoonóticas en la EI en Extremadura, dentro de la descripción del perfil microbiológico de la cohorte, es esencial profundizar en las EI con hemocultivos negativos, dentro de las cuales se enmarcan las etiologías bacterianas zoonóticas, de difícil cultivo y diagnóstico.

De los 302 casos de EI, el 23% tenían hemocultivos negativos, quedando sin diagnóstico etiológico el 13%. Un porcentaje bastante mayor al descrito en otras series españolas, europeas o en la cohorte internacional (en torno al 10%), aunque existen algunas publicaciones que mantienen el porcentaje en 14% ^{14 25}. Al tratarse de un estudio retrospectivo, no pudo recogerse de manera fiable el consumo previo de antimicrobianos, y por eso no se incluyó ese dato como variable. Por esta razón, no es posible especular sobre si el elevado porcentaje de EI con hemocultivos negativos se

debe a una mayor presencia de zoonosis, a un mayor consumo de antimicrobianos o a razones técnicas difíciles de evaluar. No todas las series que analizan el perfil de las EI detallan la etiología real de las EI con hemocultivos negativos. Dos excepciones son la cohorte internacional de Murdoch ¹⁸ y la andaluza de Gálvez-Acebal ¹⁹. En la serie internacional, los diagnósticos de zoonosis para EI con hemocultivos negativos provienen casi en su totalidad de los hospitales europeos y suponen menos del 2% de la cohorte: 17 casos de *Coxiella burnetii* (1,4%) y 18 de *Bartonella* spp (1,5%). En la serie andaluza, con datos de 7 hospitales y un total de 705 casos entre 1986 y 2006, hay incluidos 18 de EI por fiebre Q y 12 por *Brucella* spp (2%). Ambos estudios detectan un porcentaje de zoonosis mucho menor al nuestro: en torno al 7% (4% por fiebre Q, 2% por brucelosis y 0,6% por bartonelosis). La mayor cantidad de datos disponibles provienen principalmente de estudios específicos sobre EI con hemocultivos negativos. El grupo de investigación del centro de referencia en rickettsiosis, situado en Marsella (Francia) y liderado por Didier Raoult, es el centro mundial de referencia para estudio de zoonosis que suele liderar este tipo de publicaciones. A destacar, el estudio molecular de 348 válvulas de pacientes con EI con hemocultivos negativos recogidas entre 1983 hasta 2001 y enviadas al centro de referencia ¹⁰³. De ellas, con PCR específica de especie, se llegó al diagnóstico etiológico del 77%, siendo la mayoría por *Coxiella burnetii* y *Bartonella* spp. Este centro también ha diseñado estudios similares con muestras provenientes de países de la cuenca mediterránea, tales como Argelia o Marruecos ^{128 129}. En el estudio de muestras argelinas, de 108 pacientes con EI con hemocultivos negativos, 12 casos fueron por *Bartonella* spp., 2 por *Coxiella burnetii* y 2 por *Brucella* spp. En la cohorte estudiada en nuestro trabajo, hasta el 4% de los casos (13) pueden atribuirse a *C. burnetii*, el 2% a *Brucella* spp. (6 casos) y el 1% a *Bartonella* spp. (2 casos). No se ha mejorado el porcentaje de diagnóstico etiológico en el subgrupo de EI con hemocultivos negativos con el paso de los años.

La proporción de complicaciones clínicas de la EI durante el ingreso es comparable a la que se encuentra en varias publicaciones que comparten la definición e incluyen el periodo de estudio en mayor o menor medida. Pueden incluirse la revisión sistemática exhaustiva por Abdulhak (1990-2000) ²⁴, la cohorte internacional de Murdoch (2000-2005) ¹⁸, el subgrupo europeo de dicha cohorte y el estudio poblacional español recientemente publicado (2003-2014) ¹³⁰. El orden de frecuencia de las complicaciones es el mismo en la cohorte estudiada en este trabajo que en las cuatro publicaciones comentadas: embolización sistémica (excluyendo a sistema nervioso central) (35%),

insuficiencia cardíaca (34%), ictus embólico (18%), infección persistente (7%) y bloqueo de la conducción (4%). Llama la atención en la comparativa, que nuestra serie tiene el porcentaje más elevado de embolismos sistémicos y el más bajo del bloqueo de la conducción. En el estudio poblacional, sin embargo, el porcentaje de embolización sistémica es significativamente menor que en el resto de las publicaciones. Esto puede deberse a que la información recogida en el estudio poblacional se hace a través de diagnósticos codificados en historias clínicas y se trata de una tarea administrativa que no siempre cuenta con un grado de cumplimentación aceptable, pudiendo quedar infraestimada la complicación clínica real. Otra explicación es que las publicaciones de cohortes hospitalarias, ya sean uni o multicéntricas, suelen proceder de hospitales de referencia, que acogen a pacientes derivados de otras áreas sanitarias por mala evolución clínica o por indicación quirúrgica, quedando sobre-representadas las complicaciones clínicas respecto al estudio poblacional que incluye datos de hospitales sin servicio de Cirugía Cardíaca ni equipos multidisciplinares de atención a la EI. De hecho, esta segunda explicación podría justificar que el porcentaje de embolización sistémica no neurológica en los casos de EI incluidos en la cohorte extremeña supere el porcentaje encontrado en las publicaciones comparables. Si se analiza la relación entre la embolización sistémica y el área de salud de procedencia, los pacientes incluidos del área de salud de Badajoz presentan una tasa de embolización sistémica del 29%, más similar a las publicadas (cohorte europea, 25%; cohorte internacional, 23%). Los pacientes derivados del resto de áreas de salud de Extremadura superan ese porcentaje en su mayoría (Coria, 66,7%; Don Benito, 55,6%; Llerena-Zafra, 46,7%; Plasencia, 38,5%; Mérida, 31,4%). Se han descrito tres factores de riesgo independientes para embolización sistémica en caso de EI: vegetación valvular > 10 mm, *Staph. aureus* como etiología de la EI y afectación de la válvula mitral. El diseño del estudio descriptivo de esta investigación no ha incluido detalles ecocardiográficos por la dificultad en extraer información retrospectiva de los casos diagnosticados en la década de los noventa. Respecto a los otros dos factores descritos, los resultados descriptivos demuestran que, comparativamente con otras series publicadas, nuestra cohorte no presenta mayor proporción de casos por *Staph. aureus* ni con afectación mitral. Otra hipótesis a plantear es si la mayor tasa de embolización sistémica en la cohorte pudiera estar relacionada con el hecho de que en Extremadura persiste una proporción elevada de casos de EI con hemocultivos negativos por una mayor tasa de zoonosis que en otras zonas geográficas. Esta hipótesis queda razonablemente descartada haciendo un

subanálisis de la relación entre embolización sistémica y EI con hemocultivos negativos y entre embolización sistémica y zoonosis. Hay una tasa mayor de embolización sistémica en las EI con hemocultivos positivos (38,5% vs 23,9%, $p = 0,02$), y dentro de las EI con hemocultivos negativos, hay una mayor proporción de embolización sistémica en los casos que quedan sin diagnóstico frente a las zoonosis demostradas (35,9% vs 10,7%, $p = 0,01$).

En cuanto a la práctica del tratamiento quirúrgico en los pacientes incluidos en el estudio, a nivel global se intervino el 35% durante el ingreso hospitalario. Se trata de un porcentaje parecido a otras series españolas: la unicéntrica de Vall d'Hebron ¹³², que incluye 337 pacientes con EI izquierda desde el año 2000 al 2009, presenta un porcentaje de cirugía intrahospitalaria de 38%; la multicéntrica andaluza ¹⁹, que incluye 705 pacientes también con EI entre 1984 y 2006, el 30%. Queda lejos de la cifra publicada en la cohorte internacional de Murdoch (48%), y su subgrupo europeo (51%), pacientes de los años 2000 a 2005, con EI tanto derecha como izquierda. Sin embargo, si utilizamos los datos del último periodo de estudio de la cohorte, por ser el que ya cuenta con un servicio de Cirugía Cardíaca de referencia, la cifra asciende al 59,5%. Respecto a la cifra de cirugía tardía, 6% a nivel global, 7% a partir de 2005, se trata de una tasa baja, similar a la publicada por la cohorte cordobesa ²¹, que también realiza un seguimiento a largo plazo de los pacientes. La mortalidad intrahospitalaria hallada en la nuestra cohorte, a nivel global, proporciona un porcentaje del 19%, similar al de la cohorte internacional: 18%, y por debajo de la media española según el estudio poblacional (20%) y de la cifra aportada por la revisión sistemática global de Abdhulak para series unicéntricas (proporción mediana: 0,20). Sin embargo, el porcentaje de mortalidad intrahospitalaria más representativo de la realidad que nos ocupa sería el hallado a partir de 2005, año en que se dispone de un servicio de C. Cardíaca de referencia y el número de la muestra estudiada tiene mayor representatividad. En este caso, la cifra supera la media española, 25%, aunque se encuentra cerca de la mortalidad publicada por las series andaluza y catalana comentadas (29% y 30%, respectivamente) y la aceptada de manera global en las revisiones de la EI, entre 20% y 30% ²⁶. Uno de los datos llamativos en nuestra serie fue que la mortalidad estaba aumentada en algunos subgrupos, como el de las mujeres (14% vs 33%, $p < 0,0001$), o el de los pacientes tratados sólo médicamente (15% vs 23%, $p = 0,08$). Para entender hasta qué punto estos y otros factores podrían estar relacionados de manera independiente con la mortalidad de la cohorte, se llevó a cabo un estudio de regresión lineal. Los factores de riesgo

encontrados no han sido una sorpresa: la edad mayor de 65 años, la insuficiencia cardíaca y la infección no controlada. En cuanto al sexo femenino, otros estudios encuentran que la mortalidad es mayor en las mujeres, pero no que sea un factor predictivo y se atribuye a que las mujeres se operan menos y tienen mayor comorbilidad^{135 136}. Como factor protector se ha encontrado en nuestra cohorte el tratamiento quirúrgico durante el ingreso por el episodio de EI. Este hallazgo ya había sido publicado anteriormente^{19 137 138}, y puede tener relación con los casos complicados con insuficiencia cardíaca por disfunción valvular. El impacto exacto del tratamiento quirúrgico en la EI es controvertido y difícil de demostrar si no se lleva a cabo un ensayo clínico. De todos modos, para poder interpretar los resultados de esta regresión, hay que tener presente, en primer lugar, que derivan de un estudio observacional y, por tanto, ha de hacerse una interpretación muy cautelosa. En segundo lugar, dado que la cohorte aquí estudiada pretende mostrar una fotografía real y global de los casos de EI atendidos en el hospital de referencia, incluye tipos heterogéneos de EI (izquierda, derecha, protésica, nativa, nosocomial, comunitaria) y con seguridad estarán excluidos tanto los casos de EI que no se consideran candidatos a derivación (por buena evolución o por alto riesgo quirúrgico) como los casos que no llegan a diagnosticarse. Cabe destacar que la EI con hemocultivos negativos o las zoonosis documentadas no se han comportado como variables relacionadas de manera independiente con la mortalidad intrahospitalaria en el análisis de regresión.

Las limitaciones de este estudio descriptivo son las derivadas de su naturaleza observacional: los cambios en la gestión clínica de la EI a lo largo del período de estudio, el sesgo de referencia de los pacientes incluidos y la falta de realización sistemática de ETE a todos los pacientes incluidos.

5.2.- Estudio prospectivo

El estudio prospectivo de 24 válvulas cardíacas humanas mediante NGS ¹³⁹ aporta datos preliminares de siete muestras: seis procedentes de pacientes con endocarditis monomicrobiana (según las técnicas de cultivo) y una procedente de un paciente sin infección conocida. La demostración mediante NGS de la presencia de diversidad bacteriana en todas las muestras (incluso en la utilizada como control y presuntamente estéril), origina más dudas que certezas a la vez que abre un planteamiento nuevo en el campo de la investigación de las EI. Otros grupos de investigación han comunicado resultados similares al aplicar la técnica NGS a válvulas cardíacas explantadas por EI ⁵¹ o a otras muestras clínicas en cuadros diversos infecciosos ¹⁴⁰. Sin embargo, en las muestras analizadas de la nuestra cohorte, llama la atención que, entre los géneros bacterianos encontrados en las válvulas, ninguno corresponde a bacterias de transmisión zoonótica como pretendía explorar la hipótesis de nuestra investigación. Las distintas posibilidades que cabe cuestionarse ante los hallazgos descritos son:

1. *Contaminación microbiana*: Probablemente parte del material genético detectado por NGS puede ser ajeno a la etiología real de la endocarditis. El riesgo de contaminación y la elevada sensibilidad de estas técnicas genéticas son razones de peso a tener en muy cuenta a la hora de interpretar los resultados de la manipulación de las válvulas cardíacas, desde su extracción a corazón abierto en el quirófano de cirugía cardiovascular hasta ser procesadas en el laboratorio de NGS, se deba hacer en condiciones mucho más estrictas de las que en la actualidad se hacen para el cultivo convencional o para PCR. De ese modo, muy probablemente disminuiría la posibilidad de contaminación microbiana (genética) ambiental. ⁶⁰

2. *Etiología polimicrobiana*. La detección de dos o varios microorganismos no cultivables por NGS abre la interrogante de si todas las endocarditis son realmente monomicrobianas o, por el contrario, si hay un número no cuantificado de EI polimicrobianas no detectadas, o insuficientemente detectadas, por los métodos diagnósticos actuales (hemocultivos, serología, cultivo valvular, histopatología, PCR). Hasta ahora, la etiología polimicrobiana cabía atribuirle a contaminación de la muestra, a una EI en el contexto del uso de drogas por vía IV (cada vez menos frecuentes en nuestro medio asistencial) o, con más rareza, a una etiología mixta (aerobios, anaerobios) asociada a pacientes inmunodeprimidos y/o con patología intraabdominal. Pero tal vez haya que replantear esta cuestión a la luz de lo que ofrece la NGS. Si bien,

por otra parte, no está resuelto definitivamente el enigma de la duración o persistencia del ADN desnudo (*naked DNA*) en el cuerpo. Mientras algunos autores postulan que este tipo de ADN puede persistir durante meses o años ⁶³, otros, estudiando un modelo animal (chinchilla), aseguran que el material genético es degradado rápidamente ⁶⁴. Son necesarios más estudios que caractericen la presencia bacteriana detectada, su viabilidad, su función y su papel patógeno, para conocer el impacto clínico de estos hallazgos.

3. *Hemocultivo como guía del tratamiento*: El anterior apartado plantearía la duda de si la información obtenida por medio de un hemocultivo positivo a una determinada bacteria sería suficiente para tomar decisiones terapéuticas y evolutivas. En el caso de la endocarditis monomicrobiana, no cabe duda de su valor como método apropiado de seguimiento.

4. *Colaboración microbiana*: En esta línea de argumentación, cabe preguntarse también si la detección mediante NGS de una o más bacterias no cultivables (en realidad, del material genético bacteriano) en el tejido valvular traduce alguna forma de colaboración microbiológica desconocida hasta ahora, más allá del clásico biofilm o de la transferencia horizontal de genes. Es decir, si la EI diagnosticada en la clínica no sería consecuencia de episodios previos de algún modo de participación microbiana en forma de sustrato favorecedor del asentamiento, colonización y proliferación de las bacterias que clásicamente causan la EI (*Staphylococcus aureus* y coagulasa negativos, *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp, bacilos gram negativos, *Coxiella burnetii*, etcétera). Algunas publicaciones demuestran la existencia de un microbioma sanguíneo en individuos sanos y en pacientes con patología digestiva ¹⁴². Cabe especular si no existe un tipo de organización social microbiana similar a la demostrada *in vitro* en la resistencia a la colonización ¹⁴³.

5. *Microbioma valvular*: Ante el hallazgo de presencia bacteriana también en la válvula control, presuntamente estéril, cabe preguntar si el tejido endocárdico no tendrá su propio microbioma formado a lo largo de una vida de episodios repetidos e inadvertidos de bacteriemias asintomáticas por microbios de cultivo exigente o no cultivables. En determinados casos, y si ciertas circunstancias concurren, podrían definir el futuro valvular por la posibilidad de originar una endocarditis infecciosa convencional. La demostración de que el líquido amniótico no es estéril porque existe un microbioma placentario podría ser un interesante modelo a considerar ¹⁴¹.

6.- CONCLUSIONES

6.- CONCLUSIONES

1.- El **perfil de EI** de la muestra estudiada es similar desde el punto de vista epidemiológico, microbiológico, clínico, terapéutico, pronóstico y evolutivo en el tiempo a lo descrito ampliamente en la literatura científica sobre EI en otros hospitales, comunidades españolas y países europeos y occidentales.

2.- El porcentaje de **bacterias zoonóticas** detectadas en los casos de EI incluidos en la muestra es mayor al del entorno comparable, sin que esto afecte a la fotografía global ni suponga un peor pronóstico.

3.- Las **técnicas microbiológicas** disponibles en la práctica clínica durante el periodo de estudio (1990-2015) son insuficientes para obtener el diagnóstico etiológico de las EI con hemocultivos negativos.

4.- Para conocer la verdadera presencia de **bacterias zoonóticas** en las válvulas cardíacas (como agente de endocarditis único o en infección polimicrobiana, como infección latente en disfunciones valvulares) se necesitaría explorar la aplicación de **técnicas con mayor resolución microbiológica, tales como la NGS**.

7.- BIBLIOGRAFÍA

7.- BIBLIOGRAFÍA

1. Longo D, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Jameson J, Loscalzo J. Harrison's Principles of Internal Medicine, 18th Edition. McGraw Hill Professional; 2011.
2. Riviere L, Tournes, Weinhart FC, Dobel JJ, Horst JD. Lazari Riverii ... Opera medica universa quibus continentur, I. Institutionum medicarum libri quinque. II. Praxeos medicae libri septemdecim. III. Observationum medicarum centuria quatuor ... [Internet]. Genevae: sumptibus Fratrum de Tournes; 1737. Disponible en: <http://catalog.hathitrust.org/Record/009286071>
3. Traité clinique des maladies du coeur... | Jean-Baptiste Bouillaud [Internet]. Europeana.; Disponible en: http://www.europeana.eu/portal/record/9200110/BibliographicResource_1000126584764.html
4. Brandenburg RO, Giuliani ER, Wilson WR, Geraci JE. Infective endocarditis--a 25 year overview of diagnosis and therapy. *J Am Coll Cardiol* 1983;1(1):280-91.
5. Osler W. The Gulstonian Lectures, on Malignant Endocarditis. *Br Med J* 1885;1(1262):467-70.
6. Levy L. Results in the treatment of subacute bacterial endocarditis. *Arch Intern Med* 1946;77(4):367.
7. Roshe J, Highman B, Altland PD. Effect of Hufnagel valve on susceptibility of dogs to endocarditis. *AMA Arch Surg* 1957;75(4):680-3.
8. Von Reyn CF, Levy BS, Arbeit RD, Friedland G, Crumpacker CS. Infective endocarditis: an analysis based on strict case definitions. *Ann Intern Med* 1981;94(4 pt 1):505-18.
9. Durack DT, Lukes AS, Bright DK. New criteria for diagnosis of infective endocarditis: utilization of specific echocardiographic findings. Duke Endocarditis Service. *Am J Med* 1994;96(3):200-9.
10. Li JS, Sexton DJ, Mick N, et al. Proposed modifications to the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2000;30(4):633-8.
11. Fournier PE, Casalta JP, Habib G, Messana T, Raoult D. Modification of the diagnostic criteria proposed by the Duke Endocarditis Service to permit improved diagnosis of Q fever endocarditis. *Am J Med* 1996;100(6):629-33.
12. Raoult D. Chronic Q fever: expert opinion versus literature analysis and consensus. *J Infect* 2012;65(2):102-8.
13. Fernández-Hidalgo N, Almirante B, Tornos P, et al. Prognosis of left-sided infective endocarditis in patients transferred to a tertiary-care hospital--prospective analysis of referral bias and influence of inadequate antimicrobial

- treatment. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis* 2011;17(5):769–75.
14. Núñez Aragón R, Pedro-Botet Montoya ML, Mateu Pruñonosa L, et al. Associated factors and descriptive analysis of healthcare-related infective endocarditis in a tertiary reference hospital. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2013;31(1):15–22.
 15. Martínez-Sellés M, Muñoz P, Estevez A, et al. Long-term outcome of infective endocarditis in non-intravenous drug users. *Mayo Clin Proc* 2008;83(11):1213–7.
 16. Castillo JC, Anguita MP, Ruiz M, et al. Cambios epidemiológicos de la endocarditis infecciosa sobre válvula nativa. *Rev Esp Cardiol* 2011;64(7):594–8.
 17. Thach Tran C, Kjeldsen K. Endocarditis at a tertiary hospital: Reduced acute mortality but poor long term prognosis. *Scand J Infect Dis* 2006;38(8):664–70.
 18. Murdoch DR, Corey G, Hoen B, et al. Clinical presentation, etiology, and outcome of infective endocarditis in the 21st century: The international collaboration on endocarditis—prospective cohort study. *Arch Intern Med* 2009;169(5):463–73.
 19. Gálvez-Acebal J, Rodríguez-Baño J, Martínez-Marcos FJ, et al. Prognostic factors in left-sided endocarditis: results from the Andalusian multicenter cohort. *BMC Infect Dis* 2010;10:17.
 20. Muñoz P, Kestler M, De Alarcon A, et al. Current Epidemiology and Outcome of Infective Endocarditis: A Multicenter, Prospective, Cohort Study. *Medicine (Baltimore)* 2015;94(43):e1816.
 21. Anguita Sánchez M, Torres Calvo F, Castillo Domínguez JC, et al. Pronóstico a corto y largo plazo de la endocarditis infecciosa en pacientes no usuarios de drogas por vía parenteral. Resultados durante un período de 15 años (1987-2001). *Rev Esp Cardiol* 2005;58(10):1188–96.
 22. Benito N, Miró JM, de Lazzari E, et al. Health care-associated native valve endocarditis: importance of non-nosocomial acquisition. *Ann Intern Med* 2009;150(9):586–94.
 23. San Román JA, López J, Revilla A, et al. Rationale, design, and methods for the early surgery in infective endocarditis study (ENDOVAL 1): A multicenter, prospective, randomized trial comparing the state-of-the-art therapeutic strategy versus early surgery strategy in infective endocarditis. *Am Heart J* 2008;156(3):431–6.
 24. Bin Abdulhak AA, Baddour LM, Erwin PJ, et al. Global and regional burden of infective endocarditis, 1990-2010: a systematic review of the literature. *Glob Heart* 2014;9(1):131–43.
 25. The Hospital Clinic Infective Endocarditis Investigators, Ambrosioni J, Hernandez-Meneses M, et al. The Changing Epidemiology of Infective Endocarditis in the Twenty-First Century. *Curr Infect Dis Rep [Internet]* 2017

[cited 2017 Dec 15];19(5). Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11908-017-0574-9>

26. Holland TL, Baddour LM, Bayer AS, Hoen B, Miro JM, Fowler VG. Infective endocarditis. *Nat Rev Dis Primer* 2016;2:16059.
27. Thiene G, Basso C. Pathology and pathogenesis of infective endocarditis in native heart valves. *Cardiovasc Pathol Off J Soc Cardiovasc Pathol* 2006;15(5):256–63.
28. Lamas CC, Fournier P-E, Zappa M, et al. Diagnosis of blood culture-negative endocarditis and clinical comparison between blood culture-negative and blood culture-positive cases. *Infection* 2016;44(4):459–66.
29. Díez-Villanueva P, Muñoz P, Marín M, et al. Infective endocarditis: Absence of microbiological diagnosis is an independent predictor of inhospital mortality. *Int J Cardiol* 2016;220:162–5.
30. Ferrera C, Vilacosta I, Fernández C, et al. Reassessment of blood culture-negative endocarditis: its profile is similar to that of blood culture-positive endocarditis. *Rev Espanola Cardiol Engl Ed* 2012;65(10):891–900.
31. Fournier P-E, Thuny F, Richet H, et al. Comprehensive Diagnostic Strategy for Blood Culture-Negative Endocarditis: A Prospective Study of 819 New Cases. *Clin Infect Dis* 2010;51(2):131–40.
32. Durack DT, Beeson PB, Petersdorf RG. Experimental bacterial endocarditis. 3. Production and progress of the disease in rabbits. *Br J Exp Pathol* 1973;54(2):142–51.
33. Gross L. Nonbacterial thrombotic endocarditis: classification and general description. *Arch Intern Med* 1936;58(4):620.
34. Veloso TR, Chaouch A, Roger T, et al. Use of a human-like low-grade bacteremia model of experimental endocarditis to study the role of *Staphylococcus aureus* adhesins and platelet aggregation in early endocarditis. *Infect Immun* 2013;81(3):697–703.
35. Scheld WM, Valone JA, Sande MA. Bacterial adherence in the pathogenesis of endocarditis. Interaction of bacterial dextran, platelets, and fibrin. *J Clin Invest* 1978;61(5):1394–404.
36. Werdan K, Dietz S, Löffler B, et al. Mechanisms of infective endocarditis: pathogen-host interaction and risk states. *Nat Rev Cardiol* 2014;11(1):35–50.
37. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 2002;15(2):167–93.
38. Xiong YQ, Fowler VG, Yeaman MR, Perdreau-Remington F, Kreiswirth BN, Bayer AS. Phenotypic and genotypic characteristics of persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia in vitro and in an experimental endocarditis model. *J Infect Dis* 2009;199(2):201–8.

39. Laxdal T, Messner RP, Williams RC, Quie PG. Opsonic, agglutinating, and complement-fixing antibodies in patients with subacute bacterial endocarditis. *J Lab Clin Med* 1968;71(4):638–53.
40. Vernachio J, Bayer AS, Le T, et al. Anti-clumping factor A immunoglobulin reduces the duration of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia in an experimental model of infective endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(11):3400–6.
41. Weinstein MP, Mirrett S, Wilson ML, Reimer LG, Reller LB. Controlled evaluation of 5 versus 10 milliliters of blood cultured in aerobic BacT/Alert blood culture bottles. *J Clin Microbiol* 1994;32(9):2103–6.
42. Daniel WG, Mügge A, Martin RP, et al. Improvement in the diagnosis of abscesses associated with endocarditis by transesophageal echocardiography. *N Engl J Med* 1991;324(12):795–800.
43. Members AF, Habib G, Lancellotti P, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis. *Eur Heart J* 2015;ehv319.
44. Nishimura RA, Otto CM, Bonow RO, et al. 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients With Valvular Heart Disease: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2014;63(22):2438–88.
45. Gudiol F, Aguado JM, Almirante B, et al. Diagnosis and treatment of bacteremia and endocarditis due to *Staphylococcus aureus*. A clinical guideline from the Spanish Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (SEIMC). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2015;33(9):625.e1-625.e23.
46. Houpiikian P, Raoult D. Diagnostic methods current best practices and guidelines for identification of difficult-to-culture pathogens in infective endocarditis. *Infect Dis Clin North Am* 2002;16(2):377–392, x.
47. Rodríguez E, Ordóñez P, Sánchez LP. Situación de la brucelosis humana en España. *Bol Epidemiológico Sem* 2013;20(17):177–81.
48. Woods GL, Walker DH. Detection of infection or infectious agents by use of cytologic and histologic stains. *Clin Microbiol Rev* 1996;9(3):382–404.
49. Lepidi H, Coulibaly B, Casalta J-P, Raoult D. Autoimmunohistochemistry: a new method for the histologic diagnosis of infective endocarditis. *J Infect Dis* 2006;193(12):1711–7.
50. Marín M, Muñoz P, Sánchez M, et al. Molecular diagnosis of infective endocarditis by real-time broad-range polymerase chain reaction (PCR) and sequencing directly from heart valve tissue. *Medicine (Baltimore)* 2007;86(4):195–202.
51. Oberbach A, Schlichting N, Feder S, et al. New insights into valve-related intramural and intracellular bacterial diversity in infective endocarditis. *PLOS ONE* 2017;12(4):e0175569.

52. Imai A, Gotoh K, Asano Y, et al. Comprehensive metagenomic approach for detecting causative microorganisms in culture-negative infective endocarditis. *Int J Cardiol* 2014;172(2):e288-289.
53. Fukui Y, Aoki K, Okuma S, Sato T, Ishii Y, Tateda K. Metagenomic analysis for detecting pathogens in culture-negative infective endocarditis. *J Infect Chemother Off J Jpn Soc Chemother* 2015;21(12):882-4.
54. Grisoli D, Million M, Edouard S, et al. Latent Q fever endocarditis in patients undergoing routine valve surgery. *J Heart Valve Dis* 2014;23(6):735-43.
55. Millar BC, Habib G, Moore JE. New diagnostic approaches in infective endocarditis. *Heart Br Card Soc* 2016;102(10):796-807.
56. Goldenberger D, Künzli A, Vogt P, Zbinden R, Altwegg M. Molecular diagnosis of bacterial endocarditis by broad-range PCR amplification and direct sequencing. *J Clin Microbiol* 1997;35(11):2733-9.
57. Bosshard PP, Kronenberg A, Zbinden R, Ruef C, Böttger EC, Altwegg M. Etiologic diagnosis of infective endocarditis by broad-range polymerase chain reaction: a 3-year experience. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2003;37(2):167-72.
58. Millar BC, Moore JE. Current trends in the molecular diagnosis of infective endocarditis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol* 2004;23(5):353-65.
59. Lang S. Getting to the heart of the problem: serological and molecular techniques in the diagnosis of infective endocarditis. *Future Microbiol* 2008;3(3):341-9.
60. Wolff TY, Moser C, Bundgaard H, Høiby N, Nielsen PH, Thomsen TR. Detection of microbial diversity in endocarditis using cultivation-independent molecular techniques. *Scand J Infect Dis* 2011;43(11-12):857-69.
61. Nomura R, Nakano K, Nemoto H, et al. Molecular analyses of bacterial DNA in extirpated heart valves from patients with infective endocarditis. *Oral Microbiol Immunol* 2009;24(1):43-9.
62. García-Granja PE, López J, Vilacosta I, et al. Polymicrobial Infective Endocarditis: Clinical Features and Prognosis. *Medicine (Baltimore)* 2015;94(49):e2000.
63. Branger S, Casalta JP, Habib G, Collard F, Raoult D. *Streptococcus pneumoniae* endocarditis: persistence of DNA on heart valve material 7 years after infectious episode. *J Clin Microbiol* 2003;41(9):4435-7.
64. Post JC, Aul JJ, White GJ, et al. PCR-based detection of bacterial DNA after antimicrobial treatment is indicative of persistent, viable bacteria in the chinchilla model of otitis media. *Am J Otolaryngol* 1996;17(2):106-11.

65. Vondracek M, Sartipy U, Aufwerber E, Julander I, Lindblom D, Westling K. 16S rDNA sequencing of valve tissue improves microbiological diagnosis in surgically treated patients with infective endocarditis. *J Infect* 2011;62(6):472–8.
66. Hasman H, Saputra D, Sicheritz-Ponten T, et al. Rapid whole-genome sequencing for detection and characterization of microorganisms directly from clinical samples. *J Clin Microbiol* 2014;52(1):139–46.
67. Botelho-Nevers E, Thuny F, Casalta JP, et al. Dramatic Reduction in Infective Endocarditis–Related Mortality With a Management-Based Approach. *Arch Intern Med* 2009;169(14):1290.
68. López J, Sevilla T, Vilacosta I, et al. Prognostic role of persistent positive blood cultures after initiation of antibiotic therapy in left-sided infective endocarditis. *Eur Heart J* 2013;34(23):1749–54.
69. Francioli P, Ruch W, Stamboulian D. Treatment of streptococcal endocarditis with a single daily dose of ceftriaxone and netilmicin for 14 days: a prospective multicenter study. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 1995;21(6):1406–10.
70. Sexton DJ, Tenenbaum MJ, Wilson WR, et al. Ceftriaxone once daily for four weeks compared with ceftriaxone plus gentamicin once daily for two weeks for treatment of endocarditis due to penicillin-susceptible streptococci. Endocarditis Treatment Consortium Group. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 1998;27(6):1470–4.
71. Levy CS, Kogulan P, Gill VJ, Croxton MB, Kane JG, Lucey DR. Endocarditis Caused by Penicillin-Resistant Viridans Streptococci: 2 Cases and Controversies in Therapy. *Clin Infect Dis* 2001;33(4):577–9.
72. Gavaldà J, Len O, Miró JM, et al. Brief communication: treatment of *Enterococcus faecalis* endocarditis with ampicillin plus ceftriaxone. *Ann Intern Med* 2007;146(8):574–9.
73. Pericás JM, Zboromyrska Y, Cervera C, et al. Enterococcal endocarditis revisited. *Future Microbiol* 2015;10(7):1215–40.
74. Apellaniz G, Valdés M, Pérez R, et al. [Teicoplanin versus cloxacillin, cloxacillin-gentamycin and vancomycin in the treatment of experimental endocarditis caused by methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1991;9(4):208–10.
75. Casalta J-P, Zaratzian C, Hubert S, et al. Treatment of *Staphylococcus aureus* endocarditis with high doses of trimethoprim/sulfamethoxazole and clindamycin–Preliminary report. *Int J Antimicrob Agents* 2013;42(2):190–1.
76. Brouqui P, Raoult D. Endocarditis due to rare and fastidious bacteria. *Clin Microbiol Rev* 2001;14(1):177–207.

77. Andrews MM, von Reyn CF. Patient selection criteria and management guidelines for outpatient parenteral antibiotic therapy for native valve infective endocarditis. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2001;33(2):203–9.
78. Cervera C, del Río A, García L, et al. Efficacy and safety of outpatient parenteral antibiotic therapy for infective endocarditis: a ten-year prospective study. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica* 2011;29(8):587–92.
79. Iversen K, Høst N, Bruun NE, et al. Partial oral treatment of endocarditis. *Am Heart J* 2013;165(2):116–22.
80. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 2000 Feb 29 - . Identifier NCT02701595, Oral Switch During Treatment of Left-sided Endocarditis Due to Multi-susceptible Staphylococcus; 2016 Mar 8 Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02701595>
81. Raad I, Darouiche R, Vazquez J, et al. Efficacy and safety of weekly dalbavancin therapy for catheter-related bloodstream infection caused by gram-positive pathogens. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2005;40(3):374–80.
82. Deck DH, Jordan JM, Holland TL, et al. Single-Dose Oritavancin Treatment of Acute Bacterial Skin and Skin Structure Infections: SOLO Trial Efficacy by Eron Severity and Management Setting. *Infect Dis Ther* 2016;5(3):353–61.
83. Kang D-H, Kim Y-J, Kim S-H, et al. Early Surgery versus Conventional Treatment for Infective Endocarditis. *N Engl J Med* 2012;366(26):2466–73.
84. Barsic B, Dickerman S, Krajinovic V, et al. Influence of the timing of cardiac surgery on the outcome of patients with infective endocarditis and stroke. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2013;56(2):209–17.
85. Chirouze C, Alla F, Fowler VG, et al. Impact of early valve surgery on outcome of Staphylococcus aureus prosthetic valve infective endocarditis: analysis in the International Collaboration of Endocarditis-Pro prospective Cohort Study. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2015;60(5):741–9.
86. Gaca JG, Sheng S, Daneshmand MA, et al. Outcomes for endocarditis surgery in North America: a simplified risk scoring system. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2011;141(1):98-106.e1-2.
87. De Feo M, Cotrufo M, Carozza A, et al. The need for a specific risk prediction system in native valve infective endocarditis surgery. *ScientificWorldJournal* 2012;2012:307571.
88. Olmos C, Vilacosta I, Habib G, et al. Risk score for cardiac surgery in active left-sided infective endocarditis. *Heart Br Card Soc* 2017;103(18):1435–42.
89. Tornos P, Almirante B, Mirabet S, Permanyer G, Pahissa A, Soler-Soler J. Infective endocarditis due to Staphylococcus aureus: deleterious effect of anticoagulant therapy. *Arch Intern Med* 1999;159(5):473–5.

90. Chan K-L, Tam J, Dumesnil JG, et al. Effect of long-term aspirin use on embolic events in infective endocarditis. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2008;46(1):37–41.
91. Snygg-Martin U, Rasmussen RV, Hassager C, Bruun NE, Andersson R, Olaison L. Warfarin therapy and incidence of cerebrovascular complications in left-sided native valve endocarditis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol* 2011;30(2):151–7.
92. Park K-H, Cho O-H, Lee JH, et al. Optimal Duration of Antibiotic Therapy in Patients With Hematogenous Vertebral Osteomyelitis at Low Risk and High Risk of Recurrence. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2016;62(10):1262–9.
93. Wilson W, Taubert KA, Gewitz M, et al. Prevention of infective endocarditis: guidelines from the American Heart Association: a guideline from the American Heart Association Rheumatic Fever, Endocarditis and Kawasaki Disease Committee, Council on Cardiovascular Disease in the Young, and the Council on Clinical Cardiology, Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, and the Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group. *J Am Dent Assoc* 1939 2007;138(6):739–45, 747–60.
94. Forner L, Larsen T, Kilian M, Holmstrup P. Incidence of bacteremia after chewing, tooth brushing and scaling in individuals with periodontal inflammation. *J Clin Periodontol* 2006;33(6):401–7.
95. Danchin N, Duval X, Leport C. Prophylaxis of infective endocarditis: French recommendations 2002. *Heart Br Card Soc* 2005;91(6):715–8.
96. Habib G, Hoen B, Tornos P, et al. Guidelines on the prevention, diagnosis, and treatment of infective endocarditis (new version 2009): the Task Force on the Prevention, Diagnosis, and Treatment of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) and the International Society of Chemotherapy (ISC) for Infection and Cancer. *Eur Heart J* 2009;30(19):2369–413.
97. Richey R, Wray D, Stokes T. Prophylaxis against infective endocarditis: summary of NICE guidance. *BMJ* 2008;336(7647):770–1.
98. Blot K, Bergs J, Vogelaers D, Blot S, Vandijck D. Prevention of central line-associated bloodstream infections through quality improvement interventions: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2014;59(1):96–105.
99. Perrotta S, Aljassim O, Jeppsson A, Bech-Hanssen O, Svensson G. Survival and quality of life after aortic root replacement with homografts in acute endocarditis. *Ann Thorac Surg* 2010;90(6):1862–7.
100. Verhagen DWM, Hermanides J, Korevaar JC, et al. Health-related quality of life and posttraumatic stress disorder among survivors of left-sided native valve endocarditis. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2009;48(11):1559–65.

101. Rasmussen TB, Zwisler AD, Thygesen LC, Bundgaard H, Moons P, Berg SK. High readmission rates and mental distress after infective endocarditis - Results from the national population-based CopenHeart IE survey. *Int J Cardiol.* 2017 May 15;235:133-140.
102. Tattevin P, Watt G, Revest M, Arvieux C, Fournier P-E. Update on blood culture-negative endocarditis. *Med Mal Infect* 2014;
103. Houpiikian P, Raoult D. Blood culture-negative endocarditis in a reference center: etiologic diagnosis of 348 cases. *Medicine (Baltimore)* 2005;84(3):162–73.
104. Presentación del área de salud de Badajoz. [Internet]. Servicio Extremeño de Salud. Consejería de Sanidad y Dependencia de la Junta de Extremadura. 2016. Consultado el 31 de enero de 2018. Disponible en: <http://www.areasaludbadajoz.com/index.php/el-area>.
105. Juan Pedro Macías Pingarrón. Blog de la Unidad de Cirugía Cardíaca de Badajoz. [Internet] 2012. Consultado el 31 de enero de 2018. Disponible en <http://cirugiacardiocabadajoz.blogspot.com.es/2012/02/presentacion.html#>
106. Instituto de Estadística de Extremadura. [Internet] Junta de Extremadura. Indicadores demográficos de 2015. Consultado el 31 de enero de 2018. Disponible en: <http://estadistica.gobex.es/web/guest/indicadores-demograficos1>
107. Central Intelligence Agency. [Internet] The World Factbook. GDP composition, by sector of origin (%). 2017 data. Consultado el 31 de enero de 2018. Disponible en: <https://www.cia.gov/library/publications/the-world-factbook/>
108. España. Programa Nacional de erradicación de Brucelosis Ovina y Caprina 2017-2018. [Internet] Ministerio de Agricultura, Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria. Disponible en: http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/pneboc2017_2018_2_tcm7-443752.pdf
109. España. Directiva 2003/99/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 17 de noviembre de 2003, sobre la vigilancia de las zoonosis y los agentes zoonóticos y por la que se modifica la Decisión 90/424/CEE del Consejo y se deroga la Directiva 92/117/CEE del Consejo. Disponible en: <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2003-82060>
110. España. Real Decreto 1940/2004, de 27 de septiembre, sobre la vigilancia de las zoonosis y los agentes zoonóticos. Disponible en: <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2004-16934>
111. Agerholm JS, Jensen TK, Agger JF, Engelsma MY, Roest HIJ. Presence of *Coxiella burnetii* DNA in inflamed bovine cardiac valves. *BMC Vet Res* [Internet] 2016;13(1). Disponible en: <http://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-017-0988-5>
112. Castillo L, Fernández-Llario P, Carranza Almansa J, Bermejo F, Hermoso de Mendoza J. First seropositive cases of *Coxiella burnetii* in red deer populations in the southwest Iberian peninsula. *J Zoo Wildl Med Off Publ Am Assoc Zoo Vet* 2010;41(3):468–73.

113. Mogollón MV, Anguita MP, Aguado JM, et al. Q fever endocarditis in Spain. Clinical characteristics and outcome. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica* 2011;29(2):109–16.
114. Muñoz-Sanz A, Vera A, Rodríguez Vidigal FF. Fiebre Q en Extremadura: una infección emergente. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica* 2007;25(4):230–4.
115. College of Veterinary Medicine. [Internet]. Iowa State University. Clamidirosis zoonótica. Última actualización: octubre 2009. Disponible en: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/chlamydiosis-es.pdf>
116. Dutly F, Altwegg M. Whipple's Disease and "Tropheryma whippelii." *Clin Microbiol Rev* 2001;14(3):561–83.
117. Lepe JA, Guerrero FJ, Ruiz-Calderón A, et al. [The epidemiology of Q fever in the northern area of Huelva, Spain]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1999;17(2):65–8.
118. Universidad de Extremadura. [Internet] Servicio de Técnicas Aplicadas a la Biociencia (STAB). Consultado el 31 de enero de 2018. Disponible en: <http://culturacientifica.unex.es:85/index.php>
119. Fowler VG, Miro JM, Hoen B, et al. Staphylococcus aureus endocarditis: a consequence of medical progress. *JAMA* 2005;293(24):3012–21.
120. Ortiz C, López J, García H, et al. Clinical classification and prognosis of isolated right-sided infective endocarditis. *Medicine (Baltimore)* 2014;93(27):e137.
121. A. Calvo Cano, JT. Silva, J. Pérez-Cervera, FF. Rodríguez-Vidigal, A.Vera Tomé, N. Nogales-Muñoz , A. Muñoz-Sanz . Hospital de Badajoz. Endocarditis por anaerobios. VI Congreso Sociedad Española de infecciones cardiovasculares (SEICAV). Septiembre, 2017. Barcelona. Disponible en: <http://www.seicav2017.com/index.php/es/comunicaciones/posters>
122. Rovey C, Etienne A, Foucault C, Berger P, Brouqui P. *Veillonella montpellierensis* Endocarditis. *Emerg Infect Dis* 2005;11(7):1112–4.
123. Torroba Alvarez L, Fortún Abete J, Montilla de Mora P, Parras Vázquez F, Buzón Rueda LM. [Endocarditis caused by *Aeromonas hydrophila*]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1989;7(2):114–5.
124. Mills J. *Serratia marcescens* Endocarditis: A Regional Illness Associated with Intravenous Drug Abuse. *Ann Intern Med* 1976;84(1):29.
125. López-Vélez R, Fortun J, de Pablo C, Martínez Beltran J. Native-valve endocarditis due to *Neisseria sicca*. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 1994;18(4):660–1.
126. Pérez Civantos D, Pérez Giraldo C, Carande J, Muñoz Sanz A. [*Corynebacterium* sp. bacteremia in chronic renal insufficiency]. *Med Clin (Barc)* 1986;87(5):217–8.
127. Antony S, Dummer S, Stratton C. *Lactobacillus* bacteremia and endocarditis. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 1998;26(6):1483–4.

128. Boudebouch N, Sarih M, Chakib A, et al. Blood Culture–Negative Endocarditis, Morocco. *Emerg Infect Dis* 2017;23(11):1908–9.
129. Benslimani A, Fenollar F, Lepidi H, Raoult D. Bacterial Zoonoses and Infective Endocarditis, Algeria. *Emerg Infect Dis* 2005;11(2):216–24.
130. Olmos C, Vilacosta I, Fernández-Pérez C, et al. The Evolving Nature of Infective Endocarditis in Spain. *J Am Coll Cardiol* 2017;70(22):2795–804.
131. López-Dupla M, Hernández S, Olona M, et al. Características clínicas y evolución de la endocarditis infecciosa en una población general no seleccionada, atendida en un hospital docente que no dispone de cirugía cardíaca. Estudio de 120 casos. *Rev Esp Cardiol* 2006;59(11):1131–9.
132. Fernández-Hidalgo N, Almirante B, Tornos P, et al. Immediate and long-term outcome of left-sided infective endocarditis. A 12-year prospective study from a contemporary cohort in a referral hospital. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis* 2012;18(12):E522-530.
133. Carrasco F, Anguita M, Ruiz M, et al. Clinical features and changes in epidemiology of infective endocarditis on pacemaker devices over a 27-year period (1987-2013). *Eur Eur Pacing Arrhythm Card Electrophysiol J Work Groups Card Pacing Arrhythm Card Cell Electrophysiol Eur Soc Cardiol* 2016;18(6):836–41.
134. Slipczuk L, Codolosa JN, Davila CD, et al. Infective Endocarditis Epidemiology Over Five Decades: A Systematic Review. *PLoS ONE* 2013;8(12):e82665.
135. Castillo JC, Anguita MP, Delgado M, et al. [Clinical characteristics and prognosis of infective endocarditis in women]. *Rev Esp Cardiol* 2008;61(1):36–40.
136. Curlier E, Hoen B, Alla F, et al. Relationships between sex, early valve surgery and mortality in patients with left-sided infective endocarditis analysed in a population-based cohort study. *Heart* 2014;100(15):1173–8.
137. Chu VH, Cabell CH, Benjamin DK, et al. Early predictors of in-hospital death in infective endocarditis. *Circulation* 2004;109(14):1745–9.
138. Hasbun R, Vikram HR, Barakat LA, Buenconsejo J, Quagliarello VJ. Complicated left-sided native valve endocarditis in adults: risk classification for mortality. *JAMA* 2003;289(15):1933–40.
139. Calvo-Cano A, Gutiérrez-Martínez Y, Álvarez-Barrientos A, Muñoz-Sanz A. Bacterial communities in human heart valves. Towards a new paradigm in infectious endocarditis? *Fraunhofer Life Science Symposium*. Noviembre 2017. Leipzig. Disponible en: http://www.fs-leipzig.com/scientific_program.php
140. Dempsey KE, Riggio MP, Lennon A, et al. Identification of bacteria on the surface of clinically infected and non-infected prosthetic hip joints removed during revision arthroplasties by 16S rRNA gene sequencing and by microbiological culture. *Arthritis Res Ther* 2007;9(3):R46.

141. Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The Placenta Harbors a Unique Microbiome. *Sci Transl Med* 2014;6(237):237ra65-237ra65.
142. Li Q, Wang C, Tang C, Zhao X, He Q, Li J. Identification and Characterization of Blood and Neutrophil-Associated Microbiomes in Patients with Severe Acute Pancreatitis Using Next-Generation Sequencing. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018 Jan 23;8:5.
- 143.- Sassone-Corsi M; Raffatellu M. No vacancy: how beneficial microbes cooperate with immunity to provide colonization resistance to pathogens. *J Immunol.* 2015 May 1; 194 (9): 4081-7.

