

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

**Nuevas perspectivas epidemiológicas, diagnósticas y
terapéuticas del paciente con infección endovascular**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

David Alonso Menchén

DIRIGIDA POR

Patricia Carmen Muñoz García
Emilio Bouza Santiago

Madrid

© David Alonso Menchén, 2024

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

Nuevas perspectivas epidemiológicas, diagnósticas y terapéuticas
del paciente con infección endovascular

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

DAVID ALONSO MENCHÉN

DIRECTORES

Patricia Carmen Muñoz García
Emilio Bouza Santiago

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA



**Nuevas perspectivas epidemiológicas, diagnósticas y
terapéuticas del paciente con infección endovascular**

TESIS DOCTORAL

Programa de Investigación en Ciencias Médico-Quirúrgicas

DAVID ALONSO MENCHÉN

DIRECTORES

**Patricia Carmen Muñoz García
Emilio Bouza Santiago**

Madrid, 2024

© David Alonso Menchén, 2024

Tesis Doctoral dirigida por los Profesores Doña Patricia Carmen Muñoz García y Don Emilio Bouza Santiago, en el Departamento de Medicina de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid para la obtención del grado de Doctor, presentada por Don David Alonso Menchén.

DEDICATORIAS

A María, Cristina, Javi, Rebe, Bea, Alexis y Andrés.

Por haber conseguido que acabar la residencia en medio de una pandemia pueda tener
una parte positiva.

A mis compañeros del Gregorio Marañón, por haberme hecho sentir parte de este equipo.

A mis amigos de siempre, compañeros de vida, presentes hasta en la distancia.

A Nacho, Dani, Luis y la banda. Por esta forma de entender la vida, por las canciones.

A Esther. Por hacer que los días sean fáciles. Porque compartir así, sí es vivir, sí es ser feliz.

Y en especial, a toda mi familia, a mis abuelos, primos, tíos, sobrinas, hermanos y padres,
por haber entendido todas mis decisiones
y haberme apoyado incondicionalmente en cada una de ellas.

“There is a crack in everything. That’s how the light gets in.”

Leonard Cohen

AGRADECIMIENTOS

A Patricia y Emilio, por toda su ayuda, sus consejos, su paciencia, y por abrirme las puertas
del Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

A todos mis compañeros del Servicio de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas
del Hospital Universitario Gregorio Marañón y del grupo GAMES, sin cuya labor
incombustible desde hace años este trabajo no hubiera sido posible.

A Carlos Sánchez, por ofrecer su ayuda desde el primer momento, por su dedicación,
por ser una fuente de luz para todos sus compañeros.

A Belén y David, por su colaboración, por las conversaciones entre pipeteos.

A Mercedes y el servicio de Bioquímica Clínica, por su participación en el proyecto.

A Iván y Rocío, estadísticos, solucionadores de problemas, y, especialmente,
buenas personas.

A Vance, por su manera de transmitir su pasión y haberme animado a seguir la mía.

INDICE

I. RESUMEN.....	1
1.1 RESUMEN	2
1.2 SUMMARY	5
II. INTRODUCCIÓN.....	7
2.1 ANTECEDENTES.....	8
2.2 EPIDEMIOLOGÍA Y CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES DE LA BACTERIEMIA	21
2.3 FACTORES DE RIESGO	32
2.4 DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LA BACTERIEMIA	39
2.5 ENDOCARDITIS INFECCIOSA	47
2.6 ESTADO DEL ARTE	59
2.7 ESTRUCTURA Y OBJETIVOS GLOBALES	65
III. MATERIAL Y MÉTODOS.....	67
3.1 Metodología objetivo 1.....	68
3.2 Metodología objetivo 2	68
3.3 Metodología objetivo 3	72
3.4 Metodología objetivo 4.....	75
3.5 Metodología objetivo 5	78
3.6 Metodología objetivo 6.....	80

IV. RESULTADOS	83
4.1 RESULTADOS DEL OBJETIVO 1.....	84
4.2 RESULTADOS DEL OBJETIVO 2.....	118
4.3 RESULTADOS DEL OBJETIVO 3.....	147
4.4 RESULTADOS DEL OBJETIVO 4.....	171
4.5 RESULTADOS DEL OBJETIVO 5.....	194
4.6 RESULTADOS DEL OBJETIVO 6.....	213
V. DISCUSIÓN	225
5.1 Discusión integradora de resultados.....	226
5.2 Situación actual y perspectivas de futuro	239
VI. CONCLUSIONES.....	255
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	259
VIII. ANEXOS	291
8.1 Anexo 1. Publicación Artículo 1.	294
8.2 Anexo 2. Publicación Artículo 2.	313
8.3 Anexo 3. Publicación Artículo 3	323
8.4 Anexo 4. Comunicaciones a congresos	330

ABREVIATURAS

- ADN: ácido desoxirribonucleico
- ALT: alanina aminotransferasa
- AMS: antimicrobial stewardship
- ARN: ácido ribonucleico
- AST: aspartato aminotransferasa
- AUC: área bajo la curva
- BLEE: betalactamasas de espectro extendido
- BRC: bacteriemia relacionada con catéter
- BSI: bloodstream infection
- CA: community associated bloodstream infection
- CIE: community-acquired infective endocarditis
- CIED: cardiac implantable electronic device
- CK: creatina quinasa
- CKD: chronic kidney disease
- CLABSI: central line-associated bloodstream infections
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute
- CNS: central nervous system
- CNS: coagulase-negative streptococci
- COVID-19: coronavirus disease 2019
- CRBSI: catheter-related bloodstream infection
- CRP: C-reactive protein
- DCI: dispositivos cardiacos implantables

- EARS-Net: European Antimicrobial Resistance Surveillance Network
- ECN: estafilococos coagulasa-negativa
- EI: endocarditis infecciosa
- EIRAS: endocarditis infecciosa relacionada con la asistencia sanitaria
- EIVP: endocarditis infecciosa sobre válvula protésica
- EPINE: Estudio de Prevalencia de la Infección Nosocomial en España
- ESBL: extended-spectrum beta-lactamase
- EUCAST: European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing
- EURO-ENDO: European Infective Endocarditis Registry
- FA: fosfatasa alcalina
- FISH: fluorescence in situ hybridization
- FUBC: follow-up blood cultures
- GAMES: Grupo de Apoyo al Manejo de la Endocarditis Infecciosa en España
- GGT: gamma-glutamyl transpeptidasa
- GNB: Gram-negative bacilli
- HA: hospital-acquired bloodstream infection
- HCA: healthcare associated bloodstream infection
- HCIE: non-nosocomial healthcare-associated infective endocarditis
- HOB: hospital-onset bacteremia
- IC: intervalo de confianza.
- ICE-PCS: International Collaboration on Endocarditis–Prospective Cohort Study
- IQR: interquartile range

- IV: intravenoso/a (s)
- LDH: lactato deshidrogenasa
- LightGBM: Light Gradient Boosting Machine
- MALDI-TOF MS: matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry
- MDR: multi-drug resistant
- MRSA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*
- NEWS score: National Early Warning Score
- NIE: nosocomial infective endocarditis
- NVIE: native valve infective endocarditis
- OR: odds ratio
- PCR: proteína C reactiva
- PCR: reacción en cadena de la polimerasa o polymerase chain reaction
- PET-TC: tomografía por emisión de positrones con tomografía multicorte con ¹⁸F fluorodesoxiglucosa
- PLS-DA: Partial Least Squares-Discriminant Analysis
- PROA: Programas de Optimización de Antimicrobianos
- PVIE: prosthetic valve infective endocarditis
- PWID: people who inject drugs
- qSOFA: quick sequential (sepsis related) organ failure assessment
- RF: Random Forest
- RMN: resonancia magnética nuclear
- ROC: receiver-operating-characteristic

- RT-PCR: reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa
- RTs: rapid techniques
- SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina
- SARS-CoV-2: severe acute respiratory syndrome coronavirus 2
- SD: standard deviation
- SEIMC: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica
- SIRS: síndrome inflamatorio de respuesta sistémica
- SOFA: Sequential (Sepsis-related) Organ Failure Assessment Score (SOFA score)
- SPOT: Sepsis Prediction and Optimization of Therapy
- SVM: Support Vector Machine
- TAC: tomografía axial computarizada
- TAVI: transcatheter aortic-valve implantation
- TEE: transesophageal echocardiography
- TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos
- TREWS: Targeted Real-Time Early Warning System
- TTE: transthoracic echocardiography
- TTP: time to positivity
- UFC: unidades formadoras de colonias
- VIH: virus de la inmunodeficiencia humana
- VRE: vancomycin-resistant enterococci
- 16SPCR: secuenciación del gen 16S rRNA por PCR

INDICE DE TABLAS

Introducción

1. Tabla I. Principales características de las bacteriemias según su lugar de adquisición
2. Tabla II. SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) Score
3. Tabla III. Principales características de las bacteriemias según la enfermedad subyacente
4. Tabla IV. Recomendaciones de tratamiento antibiótico empírico en la EI

Resultados Objetivo 1

5. Table 1. Estimated incidence of bacteremia and site of acquisition, according to population-based studies published since 2010
6. Table 2. Most relevant microorganisms in bacteremia according to population-based studies published since 2010
7. Table 3. Specific indications for blood culture extraction in clinical guidelines
8. Table 4. Recommendations on the number of blood cultures and volume of blood to be drawn in blood cultures
9. Table 5. Studies analyzing clinical impact of MALDI-TOF with prospective design or using a comparator
10. Table 6. Summary of a sample of studies proposing a reduction of the 5-day incubation time

11. Table 7. Representation of the heterogeneity of results and methodology of a selection of recent studies on the usefulness of time to blood culture positivity as a predictor of severity

Resultados Objetivo 2

12. Table 1. Evolution of blood culture laboratory workload over a 12-year period
13. Table 2. Evolution of BSI episodes and rates per 1,000 admissions caused by Gram-positive microorganisms in a 12-year period
14. Table 3. Evolution of BSI episodes and rates per 1,000 admissions caused by Gram-negative microorganisms in a 12-year period
15. Supplemental Table 1. Evolution of BSI episodes and rates per 1,000 admissions caused by anaerobic microorganisms in a 12-year period
16. Supplemental Table 2. Evolution of BSI episodes and rates per 1,000 admissions caused by fungi in a 12-year period
17. Supplemental Table 3. Evolution of catheter-related BSI episodes and rates per 1,000 admissions in a 12-year period
18. Supplemental Table 4. Overall evolution of estimated incidences per 100,000 inhabitants in a 12-year period

Resultados Objetivo 3

19. Table 1. Demographic characteristics, predisposing factors and site of HCIE with respect to CIE and NIE
20. Table 2. Main etiologies of HCIE with respect to CIE and NIE
21. Table 3. Suspected source of HCIE (N=457)

22. Table 4. Complications and outcomes of patients with CIE, HCIE and NIE
23. Table 5. HCIE patients receiving versus not receiving hemodialysis (N=457)
24. Supplemental Table 1. Standardized differences in demographic characteristics, predisposing factors and site of HCIE with respect to CIE and NIE
25. Supplemental Table 2. Multivariate analysis of clinical variables associated with HCIE (N=1,666)
26. Supplemental Table 3. Published series of non-nosocomial healthcare-associated endocarditis (HCIE)

Resultados Objetivo 4

27. Table 1. Clinical characteristics of 67 cases of IE caused by *Cutibacterium* spp.
28. Table 2. Clinical evolution of 67 cases of IE caused by *Cutibacterium* spp.
29. Table 3. Clinical characteristics and evolution of 48 cases of valvular IE and 16 cases of CIED-IE caused by *Cutibacterium* spp.
30. Table 4. Positivity rate of diagnostic tests used in 67 cases of *Cutibacterium* spp. infective endocarditis involving cardiac valves or cardiac devices
31. Supplemental Table 1. Clinical characteristics, evolution and positive microbiological tests in 7 cases of infective endocarditis on native valve due to *Cutibacterium* spp.
32. Supplemental Table 2. Concordance of diagnostic tests in 23 cases of IE due to *Cutibacterium* spp. in which blood cultures, PCR and other cultures have been performed

Resultados Objetivo 5

33. Tabla 1. Análisis bioquímico de botellas de hemocultivos basales (n=50), considerando botellas aerobias (n=26) y anaerobias (n=24)
34. Tabla 2. Análisis bioquímico de botellas de hemocultivos basales (n=50), botellas negativas (n=50) y botellas positivas (n=50)
35. Tabla 3. Representación de las diferencias bioquímicas y su significación estadística de cada variable entre botellas basales, negativas y positivas y área bajo la curva univariante de botellas positivas vs negativas
36. Tabla 4. Análisis bioquímico en botellas de hemocultivos positivas y comparación según microorganismos Gram-negativos (n=30) y Gram-positivos (n=20)

Resultados Objetivo 6

37. Tabla 1. Aplicación de modelos basados en MALDI-TOF y machine learning para la identificación de hemocultivos positivos y tasa de acierto (%) en el análisis de espectro completo
38. Tabla 2. Aplicación de modelos basados en MALDI-TOF y machine learning para la identificación de hemocultivos positivos y tasa de acierto (%) en el análisis por picos

INDICE DE FIGURAS

Introducción

1. Figura I. Porcentaje de aislados invasivos de *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenems en Europa, según país, en el año 2022
2. Figura II. Evolución del gasto medio total por paciente séptico ajustado a edad entre 2000 y 2014

Resultados Objetivo 2

3. Figure 1. Evolution of total bloodstream infection episodes and catheter-related bloodstream infection episodes per 1,000 admissions in a 12-year period
4. Figure 2. Evolution of the etiology of bloodstream infection episodes per 1,000 admissions in a 12-year period
5. Supplemental Figure 1. Evolution of the quinquennial mean number of BSI episodes per 1,000 admissions in a 37-year period (1985-2021)
6. Supplemental Figure 2. Evolution of methicillin-susceptible and methicillin-resistant *S. aureus* bloodstream infection in a 12-year period
7. Supplemental Figure 3. Evolution of BSI episodes caused by *E. coli* and proportion of ESBL-producing strains in a 12-year period.
8. Supplemental Figure 4. Evolution of BSI episodes caused by *Klebsiella* spp. and ESBL-producing and carbapenemase-producing strains in a 12-year period
9. Supplemental Figure 5. Evolution of catheter-related BSIs and percentage with respect to total BSI episodes over a 12-year period

10. Supplemental Figure 6. Evolution of BSI episodes caused by *Candida* species and catheter-related candidemia per 1,000 admissions in a 12-year period
11. Supplemental Figure 7. Evolution of hospital-onset bacteremia per 1,000 admissions in a 12-year period

Resultados Objetivo 3

12. Figure 1. Survival curve of patients with HCIE according to hemodialysis treatment

Resultados Objetivo 4

13. Figure 1. *Cutibacterium* spp. infective endocarditis in a nationwide multicenter prospective cohort flowchart

Resultados Objetivo 5

14. Figura 1. Representación gráfica de la discriminación entre botellas basales, negativas y positivas según para un nivel de glucosa de 85 mg/dL y 4 mg/dL
15. Figura 2. Representación gráfica de la discriminación entre botellas negativas y positivas para un nivel de creatinina de 2 mg/dL
16. Figura 3. Representación gráfica de la discriminación entre botellas positivas con microorganismos Gram-negativos y Gram-positivos para un nivel de hierro de 70 µg/dL

I. RESUMEN

1.1 RESUMEN

Título: Nuevas perspectivas epidemiológicas, diagnósticas y terapéuticas del paciente con infección endovascular

Introducción:

La infección endovascular es un síndrome clínico complejo y dinámico. Según ha ido evolucionando nuestra comprensión sobre esta entidad y han mejorado los métodos diagnósticos y opciones terapéuticas, también se han modificado sus características epidemiológicas. Esta Tesis Doctoral analiza la evolución reciente de algunos aspectos de la bacteriemia y la endocarditis infecciosa.

Síntesis y conclusiones:

Inicialmente, se ofrece una revisión de la literatura que sintetiza la evidencia disponible sobre algunos de los puntos más conflictivos en el abordaje de la bacteriemia, y se analiza su evolución epidemiológica en un periodo de 12 años en un hospital terciario. Nuestros datos sugieren que la incidencia de episodios de infección endovascular no se ha modificado significativamente desde 2010, siendo los Gram-negativos los principales agentes etiológicos en la actualidad. No se detecta un claro aumento en los fenotipos de resistencia antimicrobiana en nuestra institución, con un descenso de los episodios causados por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. La pandemia COVID-19 contribuyó a un incremento de los episodios de infección endovascular, en probable relación a un aumento de infecciones relacionadas con catéteres intravenosos.

La evolución de los sistemas sanitarios, el envejecimiento de la población y los avances terapéuticos han favorecido que en la actualidad exista un mayor contacto con la asistencia sanitaria fuera de los hospitales y una proporción creciente de pacientes portadores de catéteres intravenosos, válvulas protésicas o dispositivos cardíacos implantables, como reflejan las nuevas guías clínicas y criterios diagnósticos de la endocarditis infecciosa. En este escenario, se ha revisado la situación actual de la endocarditis relacionada con la asistencia sanitaria y de la endocarditis causada por *Cutibacterium* spp. en España, a través del análisis de una serie prospectiva multicéntrica nacional.

La endocarditis infecciosa relacionada con la asistencia sanitaria representa un 10% del total de casos de esta serie. Sus características, muy similares a las de la endocarditis de adquisición nosocomial, no justifican su consideración como una entidad diferenciada, y plantean la opción de modificar el modelo actual de clasificación.

Los casos de endocarditis infecciosa causada por *Cutibacterium* spp. se asocian especialmente con pacientes portadores de material protésico endovascular. Aunque infrecuente, puede ser potencialmente grave, por lo que se requiere un elevado índice de sospecha en estos pacientes, en los que la cirugía y la retirada de dispositivos juegan un papel clave. Las técnicas de diagnóstico molecular, incluidas en los nuevos criterios diagnósticos, han mostrado su utilidad en esta entidad en nuestra serie.

En este sentido, los avances en el diagnóstico de la infección endovascular incluyen diversas tecnologías que se están aplicando para intentar acelerar la identificación

de microorganismos en hemocultivos. Nuestros últimos objetivos analizan la hipótesis de que la presencia de bacterias en botes de hemocultivos desencadena unos cambios bioquímicos y proteómicos que pueden ser detectables y medibles para identificar los hemocultivos positivos. A través de un estudio prospectivo con muestras de hemocultivos positivos, se han identificado parámetros bioquímicos y picos de proteínas que podrían actuar como biomarcadores para identificar hemocultivos positivos, cuya detección precoz podría ser útil en el diagnóstico rápido de la bacteriemia.

1.2 SUMMARY

Title: New epidemiological, diagnostic and therapeutic perspectives on the patient with endovascular infection

Introduction:

Endovascular infection is a complex and dynamic clinical syndrome. As our understanding of this entity has evolved and diagnostic methods and therapeutic options have improved, its epidemiological characteristics have also changed. This Doctoral Thesis analyzes the recent evolution of some aspects of bacteremia and infective endocarditis.

Summary and conclusions:

Initially, we offer a review of the literature that synthesizes the available evidence on some of the most conflictive points in the approach to bacteremia, and we analyze its epidemiological evolution over a 12-year period in a tertiary hospital. Our data suggest that the incidence of endovascular infection episodes has not changed significantly since 2010, with Gram-negatives being the main etiological agents at present. No clear increase in antimicrobial resistance phenotypes is detected in our institution, with a decrease in episodes caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. The COVID-19 pandemic contributed to an increase in episodes of endovascular infection, probably related to an increase in intravenous catheter-related infections.

The evolution of healthcare systems, the ageing of the population and therapeutic advances have led to greater contact with healthcare outside hospitals and an increasing proportion of patients with intravenous catheters, prosthetic valves, or implantable cardiac devices, as reflected in the new clinical guidelines and diagnostic criteria for infective endocarditis. In this scenario, the current situation of healthcare-associated endocarditis and endocarditis caused by *Cutibacterium* spp. in Spain has been reviewed through the analysis of a national multicenter prospective series.

Cases of infective endocarditis caused by *Cutibacterium* spp. are particularly associated with patients carrying endovascular prosthetic material. Although infrequent, it can be potentially severe, so a high index of suspicion is required in these patients, in whom surgery and device removal play a key role. Molecular diagnostic techniques, included in the new diagnostic criteria, have proven useful in this entity in our series.

In this regard, advances in the diagnosis of endovascular infection include various technologies that are being applied to try to expedite the identification of microorganisms in blood cultures. Our latest objectives analyze the hypothesis that the presence of bacteria in blood culture bottles triggers biochemical and proteomic changes that may be detectable and measurable to identify positive blood cultures. Through a prospective study with positive blood culture samples, biochemical parameters and protein peaks that could act as biomarkers to identify positive blood cultures have been identified, whose early detection could be useful in the rapid diagnosis of bacteremia.

II. INTRODUCCIÓN

2.1 ANTECEDENTES

2.1.1 Generalidades y conceptos

La **infección endovascular** supone un síndrome clínico complejo y dinámico caracterizado por la presencia de microorganismos en el torrente circulatorio, que se evidencia normalmente por su aislamiento en hemocultivos. Específicamente, los términos **bacteriemia** y **fungemia** hacen referencia a la presencia de bacterias y hongos en sangre, respectivamente.

La infección endovascular suele ser una consecuencia derivada de la evolución de infecciones graves bacterianas o fúngicas, que desde distintos focos son capaces de alcanzar el torrente circulatorio si no se controlan adecuadamente por el sistema reticuloendotelial. No obstante, la bacteriemia no es excepcional en personas sanas y asintomáticas, de manera que se pueden producir episodios transitorios de bacteriemia ante alteraciones de la barrera cutánea (como heridas o cortes) o al realizar actividades cotidianas (como al realizar higiene dental o al comer), que son eliminados por el sistema inmunitario del huésped.

En el desarrollo de sepsis participan diferentes mecanismos como la activación del complemento, la coagulopatía, el efecto de mediadores o la disfunción microcirculatoria, cuyo comportamiento e interrelación sigue sin comprenderse totalmente en la actualidad. Los principales textos de referencia exponen algunos escenarios clínicos para extraer información sobre la interacción entre los agentes microbianos y el huésped humano [1], como se sintetiza a continuación.

II. INTRODUCCIÓN

A consecuencia de una infección, lesión o enfermedad que produce respuestas inmunosupresoras en un huésped, es frecuente que bacterias comensales oportunistas puedan producir infección a través de epitelios alterados, provocando una respuesta inflamatoria intensa desencadenada por la detección de moléculas microbianas conservadas. Esta respuesta inflamatoria puede no ser capaz de contener la infección en casos de inmunosupresión, obstrucción de drenajes o a la propia virulencia del agente etiológico entre otros factores, de manera que estas bacterias invaden el torrente circulatorio. Así, la evolución clínica está relacionada con el estado fisiológico subyacente del huésped.

De igual forma, se conoce la existencia de microorganismos con capacidad demostrada de sobrevivir y causar infección en personas previamente sanas, siendo *Neisseria meningitidis* uno de los ejemplos más estudiados [2]. Estos microorganismos pueden invadir y producir infección a raíz de lesiones cutáneas o infecciones como neumonías, sin precisar un estado inflamatorio significativo. Dado que en muchos casos puede no existir una inflamación local que pueda impedir la invasión bacteriana, si las defensas innatas del organismo no logran controlar su crecimiento, puede producirse la invasión del torrente circulatorio, la infección del endotelio vascular y/o células circulantes y la liberación de toxinas proinflamatorias.

Otro factor relevante es la presencia de estímulos como los superantígenos típicos de bacterias Gram-positivas, que activan los linfocitos T en sangre y los tejidos para liberar citocinas con capacidad de producir disfunción orgánica y shock.

II. INTRODUCCIÓN

Todos estos ejemplos son capaces de conducir a un estado de sepsis, pero las grandes diferencias en los mecanismos patogénicos en cada caso cuestionan la noción de que la evolución desde la infección al shock séptico es un camino idéntico al que se llega de múltiples formas, sugiriendo que cada interacción entre agente patogénico y huésped puede producir sepsis de maneras diferentes, influenciado por múltiples factores cuyo impacto no comprendemos con exactitud, como la susceptibilidad genética, la edad y comorbilidades o el foco de infección [1].

A modo de simplificación, podemos decir que la enfermedad se produce, por tanto, cuando la bacteriemia es capaz de superar las defensas del sistema inmunológico. Para ello, los microorganismos patógenos disponen de una amplia variedad de factores de virulencia que facilitan el desarrollo de bacteriemia y sepsis, y que se tratarán con mayor profundidad en el *Apartado 2.3.3*.

Evadida la respuesta inmune, los microorganismos alcanzan el torrente circulatorio bien desde un **foco extravascular** (a través de capilares sanguíneos o vasos linfáticos) o bien desde un **foco intravascular** (cuando la diseminación es consecuencia de infecciones endovasculares como la endocarditis infecciosa o cuando el foco es un catéter intravascular) [3].

En este sentido, se entiende por **bacteriemia primaria** como aquella que se origina de una infección endovascular, y por **bacteriemia secundaria** como aquella que se produce cuando ésta procede de una infección de un tejido no cardiovascular. Así, los organismos causantes de infección pueden acceder al

torrente circulatorio desde infecciones respiratorias, digestivas, urinarias o de la piel y tejidos blandos, entre otros.

Existen numerosos factores de riesgo, dependientes o no del huésped, que favorecen el desarrollo de la bacteriemia y también influyen en la amplia variedad de expresiones clínicas y diferentes pronósticos con los que puede manifestarse esta entidad. En el *Apartado 2.2.4* y *Apartado 2.3* se abordan específicamente las manifestaciones clínicas y los factores de riesgo de la bacteriemia, respectivamente.

A principio de la década de los 2000 surgieron trabajos donde se observó que las características clínicas de los pacientes que adquirirían una bacteriemia en la comunidad no eran las mismas si estos pacientes habían recibido un alta hospitalaria reciente, si se les había realizado algún procedimiento, si estaban institucionalizados o si no tenían ningún tipo de contacto con el sistema sanitario [4].

A raíz de estos hallazgos, las guías clínicas para el diagnóstico y tratamiento del paciente con bacteriemia de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) [5] recomiendan, con un nivel de evidencia BIII, clasificar la bacteriemia según el lugar de adquisición en tres grupos:

- **Bacteriemia de adquisición comunitaria**: originada en la comunidad y detectada en las primeras 48 horas de hospitalización, sin haberse realizado ningún procedimiento asistencial que pudiera haber provocado el episodio.
- **Bacteriemia asociada a los cuidados sanitarios**: se incluyen en este grupo las bacteriemias secundarias a procedimientos diagnósticos o

II. INTRODUCCIÓN

terapéuticos pero realizadas ambulatoriamente en pacientes no hospitalizados, las que ocurren en pacientes que reciben hemodiálisis crónica o diálisis peritoneal o en pacientes institucionalizados en residencias de ancianos o centros de larga estancia, y las que ocurren en pacientes que han estado en hospitalización domiciliaria en el último mes o que han tenido un ingreso hospitalario en los últimos 3 meses [4, 6]. Según algunos trabajos, este tipo de bacteriemias puede representar más del 50% de todas las infecciones endovasculares [7].

- **Bacteriemia nosocomial**: son las detectadas tras al menos 48 horas de ingreso hospitalario. Esta clasificación engloba grupos de pacientes que tienen incidencias y etiologías distintas entre sí, como los pacientes ingresados en Unidades de Cuidados Intensivos, pacientes quirúrgicos, pacientes con cáncer o neutropenia postquimioterapia, portadores de catéteres intravenosos o grandes quemados.

Las principales características clínicas de la bacteriemia según el lugar de adquisición se resumen a continuación en la **Tabla I** y posteriormente se tratarán con mayor profundidad en el *Apartado 2.2* bajo los epígrafes de incidencia, mortalidad y etiología.

Tabla I. Principales características de las bacteriemias según su lugar de adquisición

Adquisición	Incidencia (/1.000 ingresos)	Etiología (%)				Microorganismos principales	Origen	Mortalidad
		Gram- positivos	Gram- negativos	Hongos	Anaerobios			
Comunitaria	6-10	31	68	0	1	<i>E. coli</i> <i>S. pneumoniae</i> <i>S. aureus</i>	Urinario (46-53%) Respiratorio (12-27%) Desconocido (9%)	11-16%
Asociada a cuidados sanitarios	-	32	64	0,3	3	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i> <i>K. pneumoniae</i>	Urinario (17-43%) Catéter (12-42%) Desconocido (12%)	20-34%
Nosocomial	6	65	25	9,5	0-2	Estafilococos coagulasa-negativa <i>S. aureus</i> Enterococos	Catéter (26-52%) Urinario (18-33%) Desconocido (16%)	27-37%

Adaptado de: Guía para el diagnóstico y tratamiento del paciente con bacteriemia. Guías clínicas SEIMC. 2006. [5] Disponible en:

https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/guiasclinicas/seimc-GuiaClinica4_2006_Bacteriemia.pdf

2.1.2 Bacteriemia y sepsis

La **sepsis** (término griego que significa “putrefacción”) constituye un síndrome clínico en el que se produce una respuesta inapropiada y exagerada del organismo ante una infección, provocando una disfunción orgánica secundaria potencialmente mortal. Todos los pacientes con infección diseminada o bacteriemia están en riesgo de desarrollar sepsis eventualmente, por lo que ambos conceptos están íntimamente relacionados, y tradicionalmente se ha entendido la sepsis como un continuo cuyo espectro de manifestaciones va desde la bacteriemia hasta el desarrollo de shock séptico.

II. INTRODUCCIÓN

Las definiciones de sepsis y shock séptico han ido evolucionando progresivamente a lo largo de las tres últimas décadas. Durante los últimos 20 años se han utilizado las definiciones elaboradas en el *Critical Care Medicine Consensus* de 1992 [8], que fueron revisadas en 2001 [9, 10], y donde se definieron los siguientes conceptos:

- **Bacteriemia**: es la presencia de bacterias viables en la sangre, evidenciada por la positividad de hemocultivos.
- **Síndrome inflamatorio de respuesta sistémica (SIRS)**: es la respuesta del organismo a una agresión grave, definida por dos o más alteraciones en la temperatura, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria o recuento leucocitario consecuencia de un estado de inflamación generalizada [9].
- **Sepsis**: es el SIRS de etiología infecciosa.
- **Sepsis grave**: es el estado de sepsis que se acompaña de disfunción orgánica, alteraciones de la perfusión o hipotensión arterial [11].
- **Shock séptico**: es un shock de tipo distributivo caracterizado por hipotensión arterial debida a la sepsis que no responde al uso de fluidoterapia.
- **Síndrome de disfunción multiorgánica**: hace referencia al estado en el que la disfunción progresiva de al menos dos órganos vitales provoca que la homeostasis no sea posible sin soporte terapéutico. No es, por tanto, específico de la sepsis, pero ayuda a identificar aquellos pacientes con mayor riesgo de morir a causa de una infección.

Las definiciones actuales son fruto del consenso Sepsis-3 publicado en 2016, en el que participaron múltiples sociedades como la *Society of Critical Care Medicine* y

la *European Society of Intensive Care Medicine* [12], y en el que se intentó minimizar las limitaciones presentes en los criterios previos, principalmente la enorme importancia atribuida a la inflamación, la escasa especificidad y sensibilidad de los criterios SIRS y la concepción tradicional, probablemente errónea, de que existe un continuo desde la sepsis al shock [13].

En este consenso se refuerza la idea de sepsis como una disfunción orgánica aguda que entraña riesgo vital causada por una respuesta alterada frente a una infección. Esta definición supone el abandono de los criterios SIRS utilizados previamente, que no indican necesariamente una respuesta exagerada y potencialmente letal y se encuentran en muchos pacientes hospitalizados sin procesos infecciosos concurrentes, remarcando la necesidad de documentar disfunción orgánica para el diagnóstico de sepsis, representada como un incremento en 2 o más puntos en el *Sequential (Sepsis-related) Organ Failure Assessment Score* (SOFA score) respecto del basal (**Tabla II**). El concepto de sepsis grave fue eliminado al considerarse redundante.

Mientras que los criterios SIRS pueden resultar útiles para el diagnóstico de la infección, pudiendo orientar sobre el foco anatómico, estos criterios pueden reflejar una respuesta adaptativa adecuada del huésped. La sepsis implica disfunción orgánica, sugiriendo un mecanismo patogénico mucho más complejo que simplemente la presencia de una infección y una respuesta inflamatoria secundaria, donde existe una activación de mecanismos pro- y anti-inflamatorios, así como alteraciones en los procesos fisiológicos cardiovasculares, neuronales, hormonales, metabólicos o de coagulación, entre otros, con importancia

II. INTRODUCCIÓN

pronóstica [12]. Esta perspectiva global también enfatiza la importante heterogeneidad biológica y clínica, en la que la edad, comorbilidades, procesos intercurrentes, medicación y fuente de infección repercuten en el desarrollo de la sepsis.

Tabla II. SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) Score.

Sistema	Score				
	0	1	2	3	4
Respiratorio					
PaO ₂ /FIO ₂ , mmHg (kPa)	≥400 (53,3)	<400 (53,3)	<300 (40)	<200 (26,7) con soporte respiratorio	<100 (13,3) con soporte respiratorio
Coagulación					
Plaquetas (x10 ³ /microL)	≥150	<150	<100	<50	<20
Hígado					
Bilirrubina, mg/dL (mmol/L)	<1,2 (20)	1,2-1,9 (20- 32)	2,0-5,9 (33- 101)	6,0-11,9 (102- 204)	>12,0 (204)
Cardiovascular					
	PAM ≥70 mmHg	PAM <70 mmHg	Dopamina <5 o dobutamina	Dopamina 5,1-15 o epinefrina ≤0,1 o norepinefrina ≤0,1	Dopamina >15 o epinefrina >0,1 o norepinefrina >0,1
Sistema nervioso central					
Escala de coma de Glasgow	15	13-14	10-12	6-9	<6
Renal					
Creatinina, mg/dL (mmol/L)	<1,2 (110)	1,2-1,9 (110- 170)	2,0-3,4 (171- 299)	3,5-4,9 (300- 440)	>5,0 (440)
Diuresis, mL/d				<500	<200

FIO₂: fracción de oxígeno inspirada; PAM: presión arterial media; PaO₂: presión parcial de oxígeno

Adaptada de: The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3) [12].

II. INTRODUCCIÓN

El shock séptico fue expandido y se definió como un estado de sepsis que conduce a alteraciones circulatorias, metabólicas y celulares que se asocian a mayor riesgo de la mortalidad que la sepsis en sí misma, que incluye a los pacientes que cumplen criterios para sepsis, y que, a pesar de una adecuada resucitación con fluidoterapia, muestran hipotensión refractaria con necesidad de vasopresores para mantener una presión arterial media mayor o igual a 65mmHg e hiperlactacidemia (> 2 mmol/l).

De igual forma, en un intento de reducir la mortalidad asociada a la sepsis, se creó un modelo denominado *quick sequential (sepsis related) organ failure assessment* (qSOFA), para intentar identificar con la mayor brevedad posible a aquellos pacientes en riesgo de desarrollar sepsis. Este modelo se basa en alteraciones en la frecuencia respiratoria, la tensión arterial y/o la escala de coma de Glasgow de manera que la presencia de dos de estos factores predice una mayor mortalidad en pacientes con sospecha de infección, identificando a pacientes con sospecha de sepsis en los que debe evaluarse el grado de disfunción orgánica con el sistema SOFA score previamente mencionado.

Este modelo fue validado en 2016, siendo especialmente útil fuera de las Unidades de Cuidados Intensivos [14], pero la evidencia respecto a su utilidad en estas unidades o en servicios de Urgencias es controvertida. Por ello, muchos autores consideran que debe evaluarse en mayor profundidad antes de ser utilizado rutinariamente para predecir el riesgo de muerte por sepsis. En este sentido, existen otras escalas como el *National Early Warning Score* (NEWS score) que también han demostrado utilidad [15].

II. INTRODUCCIÓN

La importancia de reconocer los posibles casos de sepsis para iniciar un tratamiento antibiótico empírico precoz se ve reflejada en la creación de alertas como el **código sepsis**, cuyos objetivos principales son la detección precoz de los pacientes de riesgo y la aplicación rápida y estructurada de un conjunto de medidas para diagnosticar, monitorizar y tratar a estos pacientes. El documento de consenso nacional con todas las recomendaciones, en el que participan múltiples sociedades científicas, puede ser consultado en el siguiente enlace:

<https://seguriddelpaciente.sanidad.gob.es/informacion/publicaciones/2016/sepsis.htm>.

Aunque estas recomendaciones son adaptadas para hacerlas funcionales en cada hospital, siempre es recomendable la toma de 2-3 hemocultivos de manera precoz antes del inicio del tratamiento antimicrobiano, además de la recogida de otras muestras clínicas del presumible foco de la infección, sobre las que se aplicarán todas las técnicas diagnósticas rápidas disponibles para emitir informes preliminares en el menor plazo de tiempo posible [5].

La toma de cultivos, con la importancia primordial de los hemocultivos, y el uso de técnicas de imagen o análisis de biomarcadores y citocinas en sangre son herramientas muy útiles para el diagnóstico de la sepsis. Siempre que sea posible, si la situación clínica del paciente lo permite, deben extraerse muestras microbiológicas antes de iniciar el tratamiento antibiótico.

2.1.3 Bacteriemia y endocarditis infecciosa

Una de las entidades más íntimamente relacionadas con la bacteriemia es la **endocarditis infecciosa** (EI). Entendemos por EI la inflamación del endocardio de etiología infecciosa, normalmente bacteriana, que suele manifestarse en forma de vegetaciones sobre las válvulas cardíacas, aunque también puede afectar al endocardio mural, a las cuerdas tendinosas, los músculos papilares, o asociarse a válvulas protésicas o dispositivos cardíacos implantables (DCI) como marcapasos o desfibriladores automáticos.

Las primeras descripciones sobre esta entidad se realizaron en el siglo XIX, cuando se relacionó esta patología con una etiología bacteriana y Sir William Osler realizó en el año 1885 una detallada descripción de los hallazgos típicos de la EI [16]. Desde aquellas descripciones, los avances médicos y los cambios sociales a lo largo del siglo XX, con el uso generalizado de prótesis valvulares y dispositivos cardíacos o la asociación con personas usuarias de drogas intravenosas (IV) han expandido el concepto actual de EI.

De manera resumida, en la patogenia de la EI actúan distintos factores que han de ocurrir de manera relacionada para propiciar su desarrollo, empezando por alteraciones de la superficie valvular que favorecen la adherencia y colonización por bacterias. Esto suele ser consecuencia de alteraciones estructurales que provocan flujos sanguíneos turbulentos y/o de la acción de los propios patógenos, y resultan en el depósito de plaquetas, fibrina y otros ligandos para acabar produciendo vegetaciones “estériles” sobre la superficie valvular [13].

II. INTRODUCCIÓN

Las bacterias deben adherirse a estas estructuras e invadir y persistir en este tejido, multiplicándose y favoreciendo el crecimiento de las vegetaciones. En este sentido, algunos patógenos como *Staphylococcus aureus* posee mecanismos particulares que facilitan su adhesión valvular y su persistencia posterior, como adhesinas y alfa-toxinas.

La progresión en la comprensión de esta entidad a lo largo del tiempo queda patente al observar el desarrollo de los criterios diagnósticos de la EI, que han ido modificándose progresivamente para adaptarse a la realidad actual. Este punto, así como otros temas relacionados con la EI, son tratados con más detalle en el *Apartado 2.5*.

2.2 EPIDEMIOLOGÍA Y CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES DE LA BACTERIEMIA

En las últimas décadas se ha producido un profundo cambio en la epidemiología, la etiología y las características clínicas de la bacteriemia. A continuación, se resumen los aspectos más relevantes de la incidencia, mortalidad, agentes etiológicos, manifestaciones clínicas, abordaje terapéutico y coste asociado de la infección endovascular.

2.2.1 Incidencia

La evidencia disponible apunta a un aumento progresivo de los episodios de infección endovascular desde mediados del siglo XX. Los datos clásicos del Boston City Hospital proporcionaron cifras de 7,4 episodios de bacteriemia por cada 1.000 ingresos en 1935 y 12,1 episodios en 1951 [17], aumentando hasta aproximadamente 30 episodios/1.000 ingresos en la década de 1970 [18]. De igual forma, entre los años 1979 y 2000, hubo un incremento anual del 8,7% en la incidencia de sepsis en Estados Unidos, pasando de 82,7 a 240,4 por cada 100.000 habitantes [19].

En España, datos más recientes apuntan a un aumento del número de episodios de bacteriemia por 1.000 ingresos pasando de 16 a 31,2 entre 1986 y 2006 (un incremento anual de 0,83 episodios por cada 1.000 ingresos) y una media de 191,2 episodios por cada 100.000 habitantes [20]. En Andalucía, otros autores situaban la incidencia de episodios de bacteriemia en 14,7 por cada 1.000 ingresos y 109,2 por cada 100.000 habitantes/año en 2006 [21].

II. INTRODUCCIÓN

Algunos autores consideran que el 36-50% de las bacteriemias tienen origen comunitario, y que hasta el 37% de las bacteriemias consideradas previamente como comunitarias pueden reclasificarse como asociadas a los cuidados sanitarios desde la introducción de este concepto [6]. En España, datos de Rodríguez-Baño et al. señalaron una incidencia de 19,2, 25,2 y 64,8 episodios por cada 100.000 habitantes y 2,7, 2,5 y 8,4 episodios por cada 1.000 ingresos para las bacteriemias de origen comunitario, asociadas a la asistencia sanitaria y nosocomial, respectivamente [21].

Como se puede deducir, la incidencia de infección endovascular también depende de los factores de riesgo específicos de cada población, de manera que se han estimado incidencias de 2,9 episodios/1.000 procedimientos de hemodiálisis y 35,2 episodios/1.000 días de neutropenia, por ejemplo [22, 23].

2.2.2 Mortalidad

Se ha estimado que la mortalidad de la infección endovascular alcanza 250.000 muertes anuales en Norteamérica y Europa de manera combinada [24], aunque las tasas de mortalidad son muy variadas y van en algunos estudios del 18 al 60%, siendo mayor en pacientes con trasplante de hígado, bacteriemia por *S. aureus* o en pacientes ancianos [25].

Según su lugar de adquisición, existen estudios que estiman la mortalidad de la bacteriemia entre el 11-16% para las de origen comunitario, entre el 20-24% para las relacionadas con la asistencia sanitaria, y entre el 10-32% para las nosocomiales, con distintas cifras en función de si se trata de pacientes ingresados en servicios

quirúrgicos o si son pacientes neutropénicos o ingresados en Unidades de Cuidados Intensivos [26-28].

Los resultados de una reciente revisión sistemática donde se analizan los factores de riesgo universales de mortalidad en la infección endovascular señalan la edad, las comorbilidades, el lugar de adquisición, la severidad, el foco de infección, los microorganismos multirresistentes y el tratamiento antibiótico empírico adecuado como principales factores [29]. No obstante, sus autores apuntan que la multirresistencia podría no implicar necesariamente mayor letalidad, pudiendo comportarse como un marcador subrogado que se traduzca una mayor exposición al sistema sanitario.

2.2.3 Agentes etiológicos

Los agentes etiológicos causantes de infección endovascular son muy variados en función de diversos factores socioeconómicos, biológicos y clínicos. Globalmente, los géneros *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. y *Enterococcus* spp. suelen ser los más frecuentes entre las bacterias Gram-positivas, mientras que los agentes etiológicos Gram-negativos suelen pertenecer a las enterobacterias. Desde el punto de vista clínico, la etiología está condicionada al foco de infección, al lugar de adquisición y a los factores predisponentes del huésped, principalmente.

Identificar el foco de la infección es relevante porque puede orientar hacia el agente etiológico responsables, al encontrar cierto tipo de bacterias que frecuentemente proceden de focos concretos [38]:

- Bacteriemia de origen respiratorio: aunque existen muchas posibilidades, es frecuente encontrar bacterias como *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* o *Pseudomonas aeruginosa* en determinadas circunstancias.
- Bacteriemia de origen cutáneo o partes blandas: causadas normalmente por bacterias que forman parte de la flora cutánea habitual, como bacterias Gram-positivas del género *Staphylococcus* o *Streptococcus*.
- Bacteriemia de origen urinario: normalmente causadas por bacterias aerobias Gram-negativas pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* como *Escherichia coli*, el principal agente etiológico.
- Bacteriemia de origen abdominal: aunque no es infrecuente encontrar bacteriemias producidas por flora mixta, algunas de las bacterias más habituales en este foco son enterobacterias o anaerobios, como *E. coli* o *Bacteroides* spp.

En cuanto a la influencia del lugar de adquisición sobre la etiología, podemos encontrar algunas diferencias en cada caso:

- Adquisición comunitaria: suelen predominar las bacterias Gram-negativas (68%), siendo *E. coli* la más común (49%). Los focos de infección más frecuentes son el tracto urinario (46-53%), seguido de neumonía (12-27%) e infección intraabdominal (4-9%) [4, 6].

II. INTRODUCCIÓN

- Adquisición relacionada con la asistencia sanitaria: predominan las bacterias Gram-negativas, aunque con una mayor proporción de episodios causados por *S. aureus* resistente a meticilina (SARM). El foco de infección suele ser el tracto urinario tras manipulaciones de la vía urinaria o la piel o tejidos blandos en relación con úlceras de decúbito [4].
- Adquisición nosocomial: las bacterias Gram-positivas son las más frecuentes (65%), predominando los estafilococos y enterococos [30]. No obstante, los agentes y sus patrones de sensibilidad pueden variar de manera significativa entre cada servicio y entre centros hospitalarios, por lo que es imprescindible conocer la epidemiología local de cada institución.

Los factores predisponentes del huésped también pueden asociar cierto tipo de agentes etiológicos con mayor frecuencia, como las bacteriemias por SARM en pacientes que reciben hemodiálisis o las causadas por bacterias Gram-negativas como *P. aeruginosa* en pacientes inmunosuprimidos [31, 32].

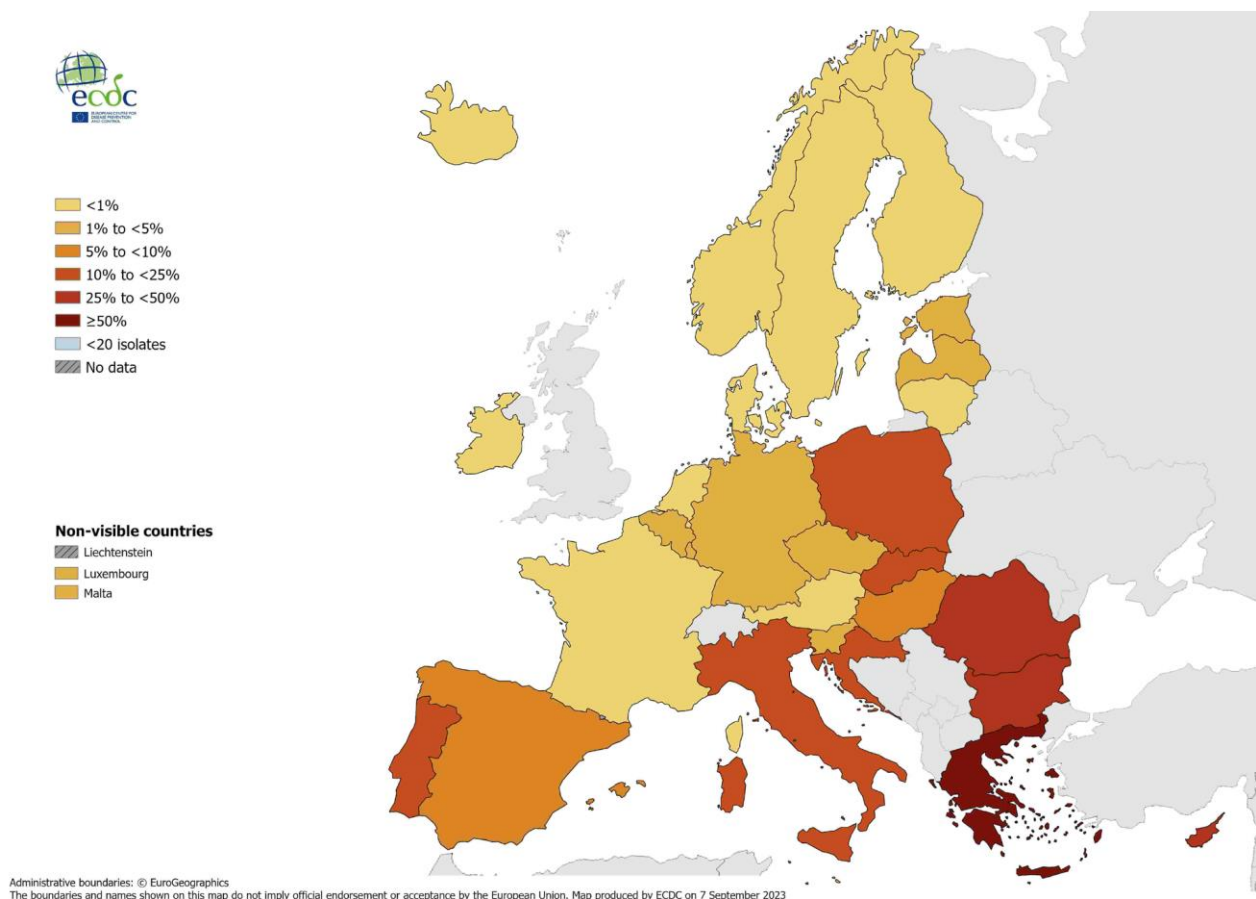
En 2022, la Comisión europea identificó la resistencia a los antimicrobianos como una de las tres principales amenazas prioritarias para la salud [33]. En general, los últimos datos muestran tendencias ascendentes en el número de infecciones y muertes atribuibles a múltiples combinaciones de resistencias bacterianas, y se estima que cerca del 70% de los casos fueron infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria [34].

Aunque las cifras son variables entre países, los datos de los estudios de vigilancia epidemiológica apuntan a un ascenso global de las infecciones causadas por bacilos Gram-negativos multirresistentes [35, 36], siendo especialmente llamativo

II. INTRODUCCIÓN

el ascenso progresivo en los episodios causados por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas en Europa. Aunque según datos del *European Centre for Disease Prevention and Control* y la *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network* (EARS-Net) en España representan menos del 10% de los aislados totales, en algunos países de nuestro entorno llegan a superar el 50% de los aislados (**Figura I**).

Figura I. Porcentaje de aislados invasivos de *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenems en Europa, según país, en el año 2022.



Fuente: *Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net). Annual Epidemiological Report for 2022* [36].

2.2.4 Manifestaciones clínicas

La infección endovascular puede manifestarse clínicamente de maneras muy distintas, desde cuadros que pueden pasar inadvertidos con una baja carga microbiana en sangre, a cuadros graves de shock séptico con elevada mortalidad.

Las manifestaciones clínicas de la sepsis pueden ser ampliamente variables y no específicos, por lo que el diagnóstico de sepsis es complejo. Entre los síntomas y signos en pacientes con sepsis, suele encontrarse la presencia de hipotensión arterial, taquicardia, fiebre o leucocitosis, que se acompañan de oliguria y alteración del estado mental si la enfermedad progresa [15]:

- Hipotensión arterial (tensión arterial sistólica <90 mmHg).
- Temperatura >38,3°C o <36°C.
- Taquicardia (>90 latidos por minuto o más de 2 desviaciones estándar por encima del valor normal por edad).
- Taquipnea (>20 respiraciones/minuto).
- Signos de hipoperfusión: pueden producir manifestaciones cutáneas (cianosis, petequias...), alteración del nivel de conciencia, oliguria o anuria.
- En función del foco de infección, pueden encontrarse distintas manifestaciones clínicas, como la presencia de tos o disnea en caso de neumonía.

Aunque algunos parámetros de laboratorio como la leucocitosis/leucopenia o el aumento de reactantes de fase aguda, proteína C reactiva o procalcitonina pueden orientar el diagnóstico, ninguno de ellos posee suficiente sensibilidad ni especificidad por sí mismo para establecer un diagnóstico definitivo, y ninguno se

incluye en el SOFA score para el diagnóstico de disfunción orgánica comentado con anterioridad (**Tabla II**).

2.2.5 Tratamiento antibiótico

Es conocido que el riesgo de mortalidad de los pacientes con sepsis se incrementa por cada hora de retraso del inicio de un tratamiento antibiótico apropiado [37]. Aunque el objetivo de esta sección no es revisar en detalle algo tan complejo como el abordaje terapéutico de la bacteriemia, cabe mencionar que el tratamiento antibiótico, especialmente en escenarios de sepsis y shock séptico, es fundamental.

Existen múltiples guías clínicas que ayudan a decidir la mejor estrategia en múltiples escenarios. A modo de resumen, en función de los microorganismos más probables asociados a cada foco de infección, comentados previamente, o de las circunstancias propias de cada paciente, se puede diseñar un tratamiento empírico inicial [5, 38]:

- Bacteriemia de origen en piel o partes blandas: antibióticos como la oxacilina, clindamicina o cefalosporinas son opciones que cubren las bacterias Gram-positivas más frecuentemente implicadas en estas opciones. En circunstancias de alta incidencia de infección por SARM, deben incluirse otras opciones como vancomicina.
- Bacteriemia de origen abdominal: es razonable el uso de betalactámicos combinados con inhibidores de betalactamasas, cefalosporinas de tercera o

cuarta generación con metronidazol, o carbapenémicos, según el escenario clínico.

- Bacteriemia de origen urinario: los regímenes empíricos incluyen frecuentemente fármacos como cefalosporinas o fluoroquinolonas en estos casos.
- Bacteriemia en el paciente crítico: la cobertura antibiótica inicial debe ser de amplio espectro inicialmente en estos pacientes hasta disponer de información adicional.
- Bacteriemia en el paciente neutropénico: las cefalosporinas antipseudomónicas, carbapenémicos o piperacilina-tazobactam son frecuentemente utilizadas en este escenario para asegurar la actividad contra *P. aeruginosa*, valorando además el uso de otros fármacos como vancomicina si se sospecha la participación de SARM.
- Bacteriemia de origen nosocomial o relacionada con la asistencia sanitaria: es razonable que la cobertura inicial incluya microorganismos resistentes como SARM o *P. aeruginosa*.

2.2.6 Coste asociado

La heterogeneidad en las definiciones utilizadas en la literatura, las diferencias en el coste entre servicios hospitalarios y entre países y la falta de criterios uniformes para evaluarlos, entre otros factores, inciden en la dificultad para evaluar el impacto económico de la infección endovascular y la sepsis. Aun

así, las cifras de mortalidad y de coste económico justifican que sea uno de los problemas más importantes en salud pública.

La sepsis tiene un coste de más de 20 billones de dólares, representando el 5,2% del total del gasto hospitalario en Estados Unidos en 2011 [15]. Según algunas estimaciones, los pacientes ingresados con sepsis suponen un coste medio de 36.191 euros (aunque las cifras son muy variables entre países y van de 1.101 a 91.951 euros) [39], y pueden suponer una diferencia media de gasto económico que supera los 43.000 dólares respecto al resto de pacientes hospitalizados [40].

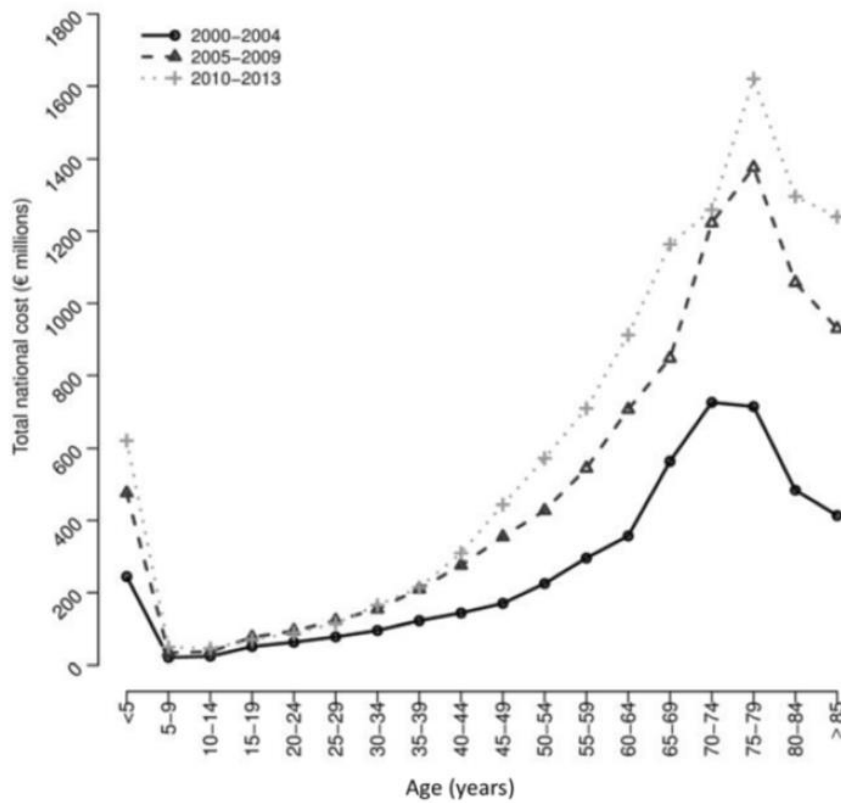
En España, un estudio realizado entre 2000 y 2013 situó el coste medio de la sepsis en 9.090 euros por paciente, con un coste menor en pacientes supervivientes (8.423 vs. 10.219 euros), en pacientes en servicios médicos respecto a servicios quirúrgicos (5.334 vs. 32.854 euros) y en pacientes con menores datos de disfunción orgánica (7.307 vs. 15.120 euros) [41]. La **Figura II** muestra la evolución del gasto medio total por paciente ajustado por edad.

Algunos estudios han calculado que el gasto aproximado que supone una hospitalización aumenta entre 10.000 y 20.000 dólares en caso de producirse una infección endovascular [42], y que la bacteriemia relacionada con catéteres centrales es la infección relacionada con la asistencia sanitaria que más gasto produce [43].

En cuanto al impacto económico de la resistencia antimicrobiana, se ha calculado que, de no controlarse, para el año 2050 podría suponer costes superiores a 100 billones de dólares del producto interior bruto mundial, y causar a los países más

pobres una pérdida de más del 5% de su producto interior bruto, empujando a 28 millones de personas a la pobreza [44, 45].

Figura II. Evolución del gasto medio total por paciente séptico ajustado a edad entre 2000 y 2014.



Fuente: Álvaro-Meca A et al. Epidemiological trends of sepsis in the twenty-first century (2000-2013): an analysis of incidence, mortality, and associated costs in Spain [41].

2.3 FACTORES DE RIESGO

Existen numerosos factores de riesgo que propician el desarrollo de bacteriemia y sepsis. Algunos son intrínsecos al propio huésped, otros son extrínsecos o ambientales y otros dependen de las características del propio agente etiológico de la infección.

Como se ha comentado, todo ello justifica la amplia variedad de expresiones clínicas y diferentes pronósticos con los que puede manifestarse esta entidad, por lo que conocer la presencia de estos factores es esencial para interpretar la bacteriemia en un determinado contexto clínico. La EI tiene sus propios factores de riesgo, que serán comentados en mayor profundidad en el *Apartado 2.5.2*.

2.3.1 Dependientes del huésped

Los factores demográficos y las comorbilidades tienen gran relevancia en el desarrollo de bacteriemia y sepsis. Así, la edad avanzada, el sexo masculino, la raza negra, el estado nutricional, el estatus vacunal y los polimorfismos genéticos se han relacionado con el desarrollo de sepsis [13, 46].

Por su parte, las enfermedades subyacentes también pueden determinar la predisposición a cierto tipo de bacteriemias y la presencia de enfermedades crónicas o alteraciones del sistema inmunitario favorecen el desarrollo de sepsis. Un ejemplo frecuente son los pacientes inmunodeprimidos, cuyos tratamientos (principalmente quimioterápicos) alteran las barreras mucocutáneas y facilitan la

aparición de bacteriemias secundarias espontáneas producidas por la traslocación de bacterias intestinales hacia el torrente circulatorio.

Las guías clínicas de la SEIMC resumen las principales características clínicas de las bacteriemias en función de la enfermedad subyacente (**Tabla III**) [5]. Entre las entidades predisponentes destacan principalmente:

- Hemodiálisis crónica: el acceso vascular de estos pacientes es un origen muy común de infección endovascular, siendo 7 veces superior cuando éste se realiza a través de un catéter respecto a una fístula arteriovenosa. En este tipo de episodios predominan las bacteriemias causadas por Gram-positivos, principalmente *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa-negativos* [22].
- Receptores de trasplantes de órgano sólido: aunque el órgano trasplantado suele ser el foco de infección, múltiples factores influyen en el desarrollo de bacteriemia en estos pacientes, desde el tipo de órgano trasplantado al periodo postrasplante en el que ocurre el episodio. Los trasplantes con mayor riesgo de desarrollo de bacteriemia son el trasplante hepático (22-29%), el cardíaco (16%) y el renal (12%) [47-49]. La mayoría de episodios ocurren durante el primer mes postrasplante, de manera que pasados 12 meses desde el injerto, la epidemiología se asemeja más a la de la población general.
- Receptores de trasplante de progenitores hematopoyéticos: la neutropenia y la enfermedad de injerto contra huésped son especialmente relevantes para el desarrollo de bacteriemia en estos pacientes.

II. INTRODUCCIÓN

- Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH): a raíz de la introducción del tratamiento antirretroviral de gran actividad, la infección endovascular ha cambiado claramente en este tipo de pacientes, siendo mucho menos frecuente en la actualidad. Hoy en día está más relacionada al ámbito nosocomial y, aunque han aumentado los episodios causados por Gram-positivos, las bacteriemias por *P. aeruginosa* o *Salmonella* siguen siendo relevantes en pacientes con una cifra de linfocitos CD4 inferior a 50 cel/mm³ [50].
- Otras poblaciones: los pacientes con cirrosis hepática, esplenectomizados o usuarios de drogas por vía parenteral, entre otros, también tienen un mayor riesgo de desarrollo de bacteriemia [51-53].

Muchos de estos pacientes precisan con frecuencia ingresos hospitalarios y atención especializada, por lo que suman, además, los riesgos inherentes a la infección nosocomial y asociada a los cuidados sanitarios.

De igual forma, múltiples comorbilidades se han relacionado con el desarrollo de sepsis, como la enfermedad renal crónica, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, el uso de fármacos inmunosupresores, el cáncer o la diabetes. Según algunos estudios, los pacientes con cáncer tienen de 3 a 4 veces más probabilidades de sepsis y mayor riesgo de mortalidad que la población general [54].

Tabla III. Principales características de las bacteriemias según la enfermedad subyacente.

Tipo de paciente	Incidencia	Etiología				Microorganismos principales	Origen	Mortalidad
		Gram-positivos	Gram-negativos	Hongos	Anaerobios			
Hemodiálisis	2,9 ^a	60-90	5-45	<3	-	<i>ECN, S. aureus, Enterococcus</i>	Acceso vascular, respiratorio	12-36%
Trasplante hepático	22-29 ^b	63	29	5	2	<i>Estafilococos, enterococos, enterobacterias</i>	Abdominal, vía biliar, catéter	21-26%
Trasplante renal	11 ^b	51	47	2	-	<i>Estafilococos, P. aeruginosa, E. coli</i>	Urinario, catéter	5%
Trasplante cardíaco	16 ^b	48	58	2	-	<i>S. aureus, enterobacterias, P. aeruginosa</i>	Pulmonar, catéter	59%
TPH	21-36 ^c	62-75	15-38	4	<2	<i>SCN, Streptococcus, enterobacterias, P. aeruginosa</i>	Catéter, respiratorio	7-40%
Infección VIH	2,4 ^d 15 ^e	60-67	18-30	5-8	3	<i>S. aureus, S. pneumoniae, Salmonella</i>	Catéter, piel y partes blandas	20-25%
Usuarios de drogas inyectables	9 ^f	75	20	5	-	<i>S. aureus, estreptococos, bacilos Gram-negativos</i>	Piel y partes blandas, vascular, respiratorio	7-10%
Cirrosis hepática	18,3 ^g	47	50	1	2	<i>E. coli, S. aureus, S. pneumoniae</i>	Abdominal, vascular	53%
Esplenectomía	2,3 ^h	-	-	-	-	<i>S. pneumoniae, H. influenzae, N. meningitidis</i>	Respiratorio	15-70%
Lesión medular	5,6 ⁱ	-	-	-	-	<i>Enterococos, E. coli, P. aeruginosa, S. aureus</i>	Urinario, piel y partes blandas, respiratorio	13%

ECN: estafilococos coagulasa-negativa; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos. ^anº episodios por 1.000 procedimientos, ^bnº episodios por 100 receptores de trasplante, ^cnº episodios por 100 pacientes, ^dnº episodios por 1.000 días de hospitalización, ^enº episodios por 1.000 pacientes-año, ^f% sobre el número global de bacteriemias extrahospitalarias, ^gpor 1.000 pacientes y año, ^hnº episodios por cada 100 personas-año, ⁱ% sobre el número de ingresos en unidades específicas.

Adaptado de: Guía para el diagnóstico y tratamiento del paciente con bacteriemia. Guías clínicas SEIMC. 2006. Disponible en:

https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/guiasclinicas/seimc-GuiaClinica4_2006_Bacteriemia.pdf

2.3.2 Ambientales

Diversos factores ambientales y sociales se relacionan con el desarrollo de sepsis, de manera que el riesgo es mayor en pacientes con un peor estatus socioeconómico [55] y determinadas entidades son más frecuentes según el periodo estacional [56].

El ingreso hospitalario también se asocia a una serie de factores de riesgo inherentes a la propia hospitalización, de forma que su duración, la aparición de complicaciones postquirúrgicas o la presencia de catéteres urinarios o intravenosos también favorecen el desarrollo de sepsis [13].

Cabe destacar en este sentido la presencia de catéteres intravenosos como causa muy frecuente de infección endovascular, al suponer una ruptura de las barreras mucocutáneas y un acceso directo al torrente circulatorio. La **bacteriemia relacionada con catéter (BRC)** ocurre en asociación con catéteres periféricos intravenosos o catéteres venosos centrales, cada vez más frecuentes tanto en el ámbito hospitalario como ambulatorio.

Según cifras del Estudio de Prevalencia de la Infección Nosocomial en España (EPINE), los catéteres intravenosos se han relacionado con hasta el 50% de las bacteriemias nosocomiales y la prevalencia en el año 2016 fue de 1,18 episodios por 100 pacientes [57].

El riesgo de desarrollo de bacteriemia depende del tipo de catéter empleado, su localización, el tiempo desde su implantación, el número de manipulaciones del mismo o la ubicación del paciente.

II. INTRODUCCIÓN

Así, el mayor riesgo de infección se observa con catéteres venosos centrales no tunelizados temporales o con localización a nivel femoral [58, 59]. La colocación de catéteres en servicios de Urgencias tiene mayor riesgo de infección, por lo que han de seguirse unos cuidados estrictos y valorar su recambio precoz. Aunque los catéteres periféricos no se han asociado tradicionalmente a un riesgo tan elevado como los centrales, este riesgo está probablemente infraestimado; la flebitis es una complicación muy frecuente y observaciones recientes han relacionado hasta un 23% de las BRC nosocomiales con catéteres periféricos [60].

El *National Healthcare Safety Network* define las *central line-associated bloodstream infections* (o CLABSI por su acrónimo en inglés) como infecciones endovasculares en un paciente que ha tenido un catéter venoso central durante más de 48 horas antes de la fecha de extracción de hemocultivos, si no se encuentra otro foco de bacteriemia o fungemia. Esta definición podría, por tanto, sobreestimar la verdadera incidencia de CLABSI si no se identifica un foco alternativo con facilidad. Además, aunque a veces se tiende a usar indistintamente los términos CLABSI y CRBSI (*catheter-related bloodstream infection*), la definición de CRBSI sí incluye parámetros clínicos y la identificación del catéter como foco de infección. Esto tiene repercusiones evidentes en la heterogeneidad de los estudios, complicando la interpretación de resultados.

2.3.3 Dependientes del microorganismo

Las bacterias poseen una amplia variedad de mecanismos y factores de virulencia que les ayudan a escapar de la respuesta inmune y alcanzar el torrente circulatorio [13]. A través del proceso conocido como *quorum sensing*, las bacterias son capaces de comunicarse entre ellas y regular su expresión génica, de manera que pueden permanecer inactivas para no ser detectadas, o incrementar la expresión de factores de virulencia para lanzar una respuesta coordinada [61].

Algunas bacterias son capaces de producir toxinas con el objetivo de dañar mucosas del huésped, como los superantígenos responsables del shock tóxico estafilocócico o estreptocócico [62]. De igual forma, existen múltiples *pathogen associated molecular patterns*, como el lipopolisacárido o el peptidoglicano, con capacidad de provocar hiperinflamación, daño tisular y contribuyendo al desarrollo de shock séptico.

Por último, la diseminación de bacterias que expresan mecanismos de resistencia antimicrobiana en las últimas décadas es un punto de gran relevancia, pues compromete, dificulta y obliga a modificar tratamientos empíricos [63]. Además, existe evidencia de que la resistencia antimicrobiana podría aumentar las tasas de mortalidad [29]. Si bien en algunos estudios la infección por SARM se ha asociado de manera independiente con mayor mortalidad [7, 64], no siempre se ha demostrado esta relación entre multiresistencia y mortalidad [65].

2.4 DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LA BACTERIEMIA

El diagnóstico microbiológico de la infección endovascular es una de las responsabilidades fundamentales de los servicios de Microbiología. Actualmente, el **hemocultivo** continúa siendo el pilar fundamental del diagnóstico etiológico de la infección endovascular. La concentración de microorganismos en sangre en un episodio de bacteriemia, que suele oscilar entre 10 y 10^4 unidades formadoras de colonias (UFC) por mililitro, puede ser tan baja como $0,1$ UFC/mililitro.

A continuación, se revisarán brevemente las características más relevantes del hemocultivo, su procesamiento en caso de ser positivo, y los métodos de análisis de sensibilidad antimicrobiana. Las recomendaciones generales en cuanto a las indicaciones, metodología de extracción, transporte y procesamiento de los hemocultivos pueden ser consultadas en documentos científicos de sociedades como la SEIMC [3] o del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) [66] y no serán abordadas en este punto.

2.4.1 Hemocultivos

El hemocultivo es una prueba fácil de realizar, barata, y supone la única técnica que permite el aislamiento de microorganismos viables para determinar su sensibilidad antibiótica. Un resultado positivo supone una información de importancia crítica, al poder traducir potenciales situaciones de sepsis.

Entre sus desventajas podemos señalar que no es una prueba inmediata, exigiendo un tiempo de incubación variable hasta la obtención de resultados; su rendimiento

II. INTRODUCCIÓN

disminuye en pacientes que reciben tratamiento antibiótico previo y ante la infección por ciertos microorganismos de crecimiento lento (como *Cutibacterium* spp.), con requerimientos nutricionales especiales, u hongos; implica un proceso que puede ser molesto para el paciente; y en una proporción de casos no desdeñable, pueden verse contaminados por bacterias colonizadoras de la piel durante su extracción, produciendo diagnósticos erróneos, tratamientos innecesarios y elevando el gasto económico.

En este sentido, un punto crítico a la hora de valorar el resultado del hemocultivo positivo es distinguir entre los casos de contaminación y las verdaderas infecciones. El *National Healthcare Safety Network* define como **contaminación o falso positivo** aquel hemocultivo en el que se aíslan especies propias de la flora cutánea o del ambiente, como los *Staphylococcus* coagulasa-negativa, *Cutibacterium acnes*, *Corynebacterium* spp., *Aerococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Bacillus* spp. y algunos estreptococos del grupo viridans.

Sin embargo, es imprescindible analizar el contexto clínico y el número de hemocultivos positivos antes de interpretar el aislamiento de estos microorganismos como no significativo, pues en determinadas circunstancias también pueden producir infección endovascular. El aislamiento de estafilococos coagulasa negativa, *Enterococcus* spp. o *Streptococcus* del grupo viridans pueden suponer una interpretación problemática, pues se asocian a bacteriemias verdaderas en el 38%, 78% y 15%, respectivamente [3]. Por el contrario, el aislamiento de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *P. aeruginosa*, enterobacterias y *Candida albicans* casi siempre implican bacteriemias verdaderas.

II. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los hospitales cuentan con sistemas automatizados para el procesamiento de hemocultivos de distintas marcas comerciales, en los que las muestras son incubadas a una temperatura constante y son monitorizados periódicamente para la detección de frascos donde se produce multiplicación de microorganismos.

Igualmente, existen diferentes tipos de frascos de hemocultivos según la compañía con especificaciones concretas. Los más relevantes son los frascos para el aislamiento de bacterias aerobias y anaerobias facultativas, y los frascos para el aislamiento de anaerobios facultativos y estrictos, aunque existen otras botellas optimizadas para hongos o para usar en Pediatría, donde se obtienen menores volúmenes de sangre. Los frascos para aislamiento de anaerobios, cuya utilidad ha sido cuestionada por el bajo porcentaje de bacteriemias causadas por anaerobios estrictos, siguen siendo recomendados por las guías clínicas, al permitir detectar más rápidamente un 10% de las bacterias anaerobias facultativas y poder ayudar a localizar el foco de la infección.

Los frascos suelen contener medios de cultivo enriquecidos con diferentes nutrientes que utilizan como anticoagulante polianetol sulfonato de sodio, capaz de neutralizar la actividad bactericida del suero e inhibir la acción de algunos antibióticos, así como resinas o partículas de carbón que inhiben la actividad de algunos antibióticos y de los componentes de la cascada del complemento [3].

Se calcula que la probabilidad pretest de obtener resultados positivos en hemocultivos es entre el 20-50% en casos de sepsis grave, y de más del 50% en casos de shock séptico [67, 68]. Se han descrito varios factores que se relacionan

con la sensibilidad del hemocultivo, como la administración previa de antibióticos, la atmósfera de incubación o el retraso en su procesamiento, siendo el volumen de sangre inoculada uno de los factores más determinantes en su rentabilidad [69, 70].

Con los medios actuales, el 85-90% de los hemocultivos son positivos en menos de 48 horas desde su incubación, aunque se mantienen durante un período de 5 días antes de ser considerados negativos y desechados. No obstante, las guías clínicas recomiendan prolongar el tiempo de incubación en patologías como la endocarditis infecciosa, que pueden estar causadas por bacterias de crecimiento lento, o cuando se sospeche la presencia de hongos, micobacterias, *Brucella* spp., *Legionella* spp., *Bartonella* spp. o *Nocardia* spp. [3], aunque su prolongación favorece la recuperación de microorganismos contaminantes cuya interpretación ha de realizarse cuidadosamente.

2.4.2 Procesamiento de hemocultivos positivos

Siguiendo las recomendaciones del documento científico de la SEIMC, ante un resultado positivo, debe realizarse un examen directo mediante tinción de Gram para confirmar la presencia de microorganismos y obtener información preliminar que puede ser de gran utilidad [3].

Posteriormente, cada institución tiene sus propios algoritmos para la identificación del agente etiológico, aunque en general el proceso incluye la realización de subcultivos en medios sólidos y el uso de sistemas rápidos no

basados en cultivos para obtener información de manera más precoz sobre la etiología y, en ocasiones, la sensibilidad antibiótica del microorganismo [71].

Los subcultivos se realizan independientemente del resultado de la tinción de Gram, inoculando sangre del frasco en diferentes medios de cultivo: siempre se debe inocular en agar sangre y/o agar chocolate, pudiendo usar además placas selectivas para cocos Gram-positivos y bacilos Gram-negativos o placas de agar Saboureaud o con medios cromogénicos si se sospecha infección fúngica. Las placas se incuban a 37°C y deben revisarse a las 24 horas, manteniéndolas más tiempo si son negativas.

Entre los mencionados métodos de diagnóstico etiológico no basados en cultivo, encontramos las siguientes técnicas [3]:

- Serología: Dado que determinados microorganismos como *Bartonella* spp. o *Leptospira* spp., no son cultivables o exigen métodos lentos y costosos, se puede usar la detección de anticuerpos. Su mayor desventaja es que pueden ofrecer resultados negativos en la fase aguda de la enfermedad, por lo que se limita su utilidad práctica.
- Técnicas basadas en la detección de ácidos nucleicos: estas técnicas tienen algunas ventajas muy relevantes, como su rapidez y su utilidad en casos de microorganismos de difícil crecimiento o no cultivables o cuando se ha iniciado un tratamiento antimicrobiano previo a la toma de muestras. En algunos casos, también pueden ofrecer información sobre la sensibilidad antibiótica del agente etiológico a través de la detección de determinantes de resistencia. A pesar de ser más caras, su uso se ha extendido en gran

II. INTRODUCCIÓN

medida por los laboratorios de Microbiología, aunque se requiere personal experto para la realización de la técnica y para la interpretación de resultados, pues pueden detectar ADN de bacterias no viables.

- Técnicas basadas en espectrometría de masas: la introducción de los sistemas de MALDI-TOF MS (*matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry*) ha revolucionado los protocolos de trabajo convencionales. Son capaces de ofrecer información sobre la etiología en cuestión de minutos tras realizar la tinción de Gram, permitiendo acortar mucho el tiempo en comparación con los métodos tradicionales. Sus resultados son muy fiables en la identificación de enterobacterias y levaduras, y menos para *S. pneumoniae*, *Streptococcus mitis* y *Streptococcus oralis* o para bacteriemias polimicrobianas. También resulta muy útil para la detección de microorganismos de cultivo lento o difícil.

Existen otras numerosas técnicas que se pueden utilizar, bien sobre frascos de hemocultivos positivos (como la tecnología FISH o *fluorescence in situ hybridization*, o las técnicas inmunocromatográficas), o bien directamente a partir de la sangre del paciente (como los sistemas T2MR, que usan nanotecnología basada en resonancia magnética para detectar la presencia de especies de *Candida*), aunque estos métodos son más caros y su beneficio clínico y económico aún ha de evaluarse con mayor profundidad, por lo que en general son menos utilizados actualmente.

2.4.3 Sensibilidad antimicrobiana

Existen distintos métodos que se utilizan con objetivo de disminuir el tiempo hasta disponer de información sobre la sensibilidad antimicrobiana del agente etiológico, tan relevante en el abordaje de la bacteriemia, entre los que cabe destacar:

- Métodos fenotípicos: a pesar de que su realización directamente del frasco del hemocultivo positivo no está avalada por las recomendaciones del *European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) ni del CLSI, sus resultados parecen ofrecer una elevada correlación con respecto a los resultados del método de referencia (a partir de la colonia aislada en un medio sólido) [3]. Aunque permiten acortar en 24 horas el tiempo de respuesta, es imprescindible confirmar los resultados con métodos estandarizados. Existen otros métodos de utilidad, pero aún menos validados, como los métodos de gradiente de difusión (Etest®), o el uso de placas con medios cromogénicos (para *S. aureus* resistente a meticilina, enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido [BLEE] o carbapenemasas, o enterococos resistentes a vancomicina).
- Métodos de amplificación genómica: existen varios sistemas capaces de detectar la presencia del genoma de distintos patógenos y además de determinados genes relacionados con la resistencia antibiótica con elevada sensibilidad y especificidad, siendo *FilmArray Blood Culture Identification Panel* (BioFire Diagnostics) y *GeneXpert* (Cepheid) algunos de los más comunes.

II. INTRODUCCIÓN

- Nefelometría: utilizada por el sistema Alfred AST (Alifax) para monitorizar el crecimiento bacteriano, es capaz de cuantificar bacterias vivas a partir de tubos con medio de enriquecimiento y antibiótico junto con una alícuota del hemocultivo positivo y ofrecer en un tiempo de unas 5 horas información sobre la sensibilidad antimicrobiana.

Disponemos, por tanto, de diferentes herramientas para conseguir un diagnóstico. Integrar la información clínica con los hallazgos de diagnóstico microbiológico de manera rápida y eficiente es fundamental para un abordaje óptimo de la bacteriemia.

2.5 ENDOCARDITIS INFECCIOSA

La EI continúa teniendo gran relevancia en materia de salud pública a nivel mundial [72]. En este apartado se comentarán las características más relevantes a nivel epidemiológico y clínico de esta entidad en los últimos años.

2.5.1 Epidemiología

En un estudio realizado en 19 países de renta alta entre 1990 y 2019, los ratios de incidencia estandarizada por edad aumentaron en los últimos 30 años, con cifras entre 10 y 20 episodios por 100.000 habitantes [73]. Realizar estimaciones sobre la incidencia de esta entidad, relativamente infrecuente, implica afrontar dificultades metodológicas a la hora de encontrar denominadores poblacionales que ofrezcan información fiable y comparable, por lo que los datos que manejamos provienen de un número limitado de estudios, que normalmente son estudios poblacionales o realizados a partir de registros nacionales de hospitalizaciones. Además, las definiciones precisas de cada caso no son universalmente uniformes entre autores y estudios, dificultando aún más estos cálculos [74].

En cualquier caso, estos trabajos señalan un aumento en la incidencia de EI en las últimas dos décadas en países desarrollados [73, 75-78], aunque algunos autores señalan que su incidencia podría haberse estabilizado en los últimos años en algunos países [73]. En Europa, la incidencia anual en Francia se estimó en 33,8 casos por millón de habitantes en 2008 [79], y en Alemania la incidencia entre 2007 y 2019 fue creciendo de 6,3 a 10,2/100.000 habitantes [80]. En España se ha comunicado un aumento en la incidencia de 2,72 a 3,49 episodios por 100.000

II. INTRODUCCIÓN

personas-año entre 2003 y 2014, lo que supone un aumento del 2% por año, especialmente en pacientes ancianos [81]. Precisamente el aumento de la esperanza de vida puede ser una de las principales causas de los aumentos de incidencia observados a lo largo del tiempo [82].

La mortalidad de la EI también parece haber ido aumentando a lo largo del tiempo, con cifras entre 0,5 y 3 muertes por cada 100.000 habitantes y año, y aunque las cifras parecen haberse estabilizado en los últimos años [73], la mortalidad al año sigue siendo muy elevada y puede alcanzar el 30% [83].

La EI, al igual que la bacteriemia, se clasifica en función del lugar de adquisición. Aunque las definiciones son muy heterogéneas en la literatura, en general suelen utilizarse las empleadas en los estudios de la cohorte ICE-PCS (*International Collaboration on Endocarditis–Prospective Cohort Study*) [84]:

- EI de adquisición comunitaria: aquella EI diagnosticada durante las primeras 48 horas de ingreso en un paciente que no cumple criterios para infección nosocomial o relacionada con la asistencia sanitaria.
- EI nosocomial: EI diagnosticada en un paciente hospitalizado más de 48 horas antes del inicio de los síntomas sugestivos de infección.
- EI relacionada con la asistencia sanitaria o nosohusial: es la EI diagnosticada en las 48 horas siguientes al ingreso en un paciente que cumple cualquiera de los siguientes criterios: tratamiento intravenoso ambulatorio, cuidado de heridas o cuidados especializados de Enfermería en domicilio en los 30 días previos al inicio de los síntomas; uso de hemodiálisis o quimioterapia intravenosa en los 30 días previos;

hospitalización por 2 o más días en los 90 días previos; institucionalizados en residencias o centros de larga estancia.

2.5.2 Factores de riesgo

Los microorganismos pueden acceder al torrente circulatorio desde infecciones locales (de piel y partes blandas, orales, del tracto digestivo o urinario) o mediante el uso de drogas vía intravenosa, o a través de una exposición a la asistencia sanitaria que conlleve procedimientos diagnósticos o terapéuticos invasivos.

Existen numerosos factores de riesgo relacionados con el desarrollo de EI, entre los que destacan la edad, el sexo masculino, las cardiopatías estructurales, valvulares y congénitas, la mala higiene bucodental, el uso de drogas intravenosas, la presencia de material protésico endovascular o el uso de hemodiálisis, entre otros [85-87].

En la reciente actualización de las guías europeas de manejo de la EI de 2023 [88], los grupos de pacientes que se considera de alto riesgo de EI son:

- Pacientes con episodios de EI previa.
- Pacientes con válvulas protésicas (implantadas vía quirúrgica o transcatéter) o con cualquier material de reparación valvular, incluyendo válvulas biológicas.
- Pacientes con cardiopatías congénitas como la cardiopatía congénita no tratada y aquellos que reciben cirugía con implante de material protésico o shunts.

- Pacientes con dispositivos de asistencia ventricular como terapia de destino.

En estos pacientes se recomienda la profilaxis antibiótica previa a procedimientos dentales de riesgo (que incluyen extracciones dentales, cirugía periodontal, implantes, biopsias o procedimientos que impliquen manipulación del tejido gingival o región periapical dental), y puede ser considerada ante procedimientos diagnósticos y terapéuticos del tracto respiratorio, gastrointestinal, genitourinario, cutáneo o musculoesquelético (recomendación de clase IIb con un nivel de evidencia C).

Los pacientes con cardiopatía reumática, cardiopatía valvular degenerativa, válvula aórtica bicúspide congénita, portadores de dispositivos electrónicos implantables cardiacos y con miocardiopatía hipertrófica se consideran de riesgo intermedio. En estos pacientes, la profilaxis no está recomendada de manera rutinaria y ha de considerarse individualmente [88].

2.5.3 Agentes etiológicos

Los estudios de la cohorte ICE-PCS y del registro EURO-ENDO (*European Infective Endocarditis Registry*) indican que los microorganismos más frecuentes como causantes de EI son *S. aureus* (31%), seguido de estreptococos orales (17%) y estafilococos coagulasa-negativa (11%) [89, 90], aunque otros trabajos señalan incidencias en ascenso de casos causados por otros microorganismos, como *E. faecalis* [91].

II. INTRODUCCIÓN

Cabe mencionar que, aún en ausencia de los factores de riesgo específicos previamente mencionados, el aislamiento de cierto tipo de microorganismos en hemocultivos debería alertar sobre la posibilidad de EI. En este sentido, además de la presencia de *S. aureus*, el aislamiento de estafilococos coagulasa-negativa en pacientes portadores material protésico endovascular debería ser considerado como relevante, especialmente en casos de bacteriemia completa en todas las botellas extraídas o de bacteriemia persistente. En este grupo destaca especialmente *Staphylococcus lugdunensis*, cuya virulencia es similar a la de *S. aureus* [92].

En cuanto a los estreptococos, la prevalencia de EI en episodios causados por especies del grupo viridans como *Streptococcus gallolyticus*, *S. mitis*, *S. sanguinis*, *S. gordonii* y *S. mutans* es superior al 30%. En cambio, la prevalencia de EI en episodios de bacteriemia por *S. pyogenes* y *S. pneumoniae* es baja, salvo en casos de síndrome de Austrian que cursen con meningitis, neumonía y EI [93].

El aislamiento de *E. faecalis*, por su incidencia en aumento, y de *Haemophilus* spp., *Aggregatibacter* spp., *Cardiobacterium* spp., *Eikenella* spp. y *Kingella* spp. del grupo HACEK (aunque menos frecuente, representan la causa más frecuente de EI por Gram-negativos [94]), también debería conducir a iniciar un estudio de despistaje de EI.

2.5.4 Diagnóstico. Características clínicas y evolución de los criterios diagnósticos

El diagnóstico se realiza en base a una sospecha clínica apoyada por la presencia de hallazgos microbiológicos y/o de pruebas de imagen compatibles con EI, donde el hemocultivo y la ecocardiografía son los pilares fundamentales. La sospecha clínica es compleja, debido a la gran variabilidad de manifestaciones clínicas que puede producir, desde casos graves y rápidamente progresivos a casos de enfermedad subaguda, con o sin fiebre. Además, sus complicaciones pueden suponer que las primeras manifestaciones clínicas sean a nivel neurológico o hacer sospechar enfermedades autoinmunes.

En el registro EURO-ENDO los hallazgos clínicos más frecuentes fueron la presencia de fiebre (78%), soplos cardiacos (65%) e insuficiencia cardiaca (27%), mientras que las complicaciones embolígenas ocurrieron en el 25% de los casos [90].

Esta información clínica, microbiológica y de técnicas de imagen se integra en unos **criterios diagnósticos** que han ido evolucionando desde hace más de 40 años, y cuya utilidad ha sido no solo apoyar la toma de decisiones clínicas, sino unificar definiciones para facilitar la realización de estudios de investigación.

Los primeros criterios fueron descritos en 1981, en los que Von Reyn et al. clasificaban la EI como rechazada, posible, probable o definitiva, para lo cual era imprescindible disponer de un examen histológico tras una cirugía o autopsia [95]. La introducción de la ecocardiografía transtorácica y transesofágica ayudó de manera trascendental al diagnóstico de la EI, incorporándose a la actualización de los criterios diagnósticos realizada por Durack et al. en 1994 en la Universidad de

Duke [96], en los que se puede alcanzar la clasificación de EI definitiva solo con criterios clínicos.

Posteriormente, los cambios en la microbiología asociados al mundo industrializado en las sociedades occidentales y el contacto con el entorno sanitario propiciaron una nueva actualización, en lo que se conoce como los criterios modificados de Duke, realizada por Li et al. en el año 2000 [97], que han permanecido vigentes durante más de dos décadas. Entre otros cambios, se introdujeron nuevas estrategias diagnósticas como el uso de la serología, se eliminó la ecocardiografía como criterio menor, y la bacteriemia por *Staphylococcus aureus* en dos hemocultivos pasó a ser un criterio mayor independientemente de su lugar de adquisición o de la existencia de un foco identificable, reconociendo la importancia superlativa de este microorganismo en la patogénesis de la EI. Aunque ofrecen una sensibilidad del 80%, su utilidad es más limitada en presencia de material protésico (como válvulas, injertos o dispositivos cardiacos), donde la ecocardiografía puede ser normal o inespecífica en hasta un 30% de los casos [98, 99].

Desde entonces, los avances radiológicos y en medicina nuclear permitieron el uso de técnicas como la tomografía axial computarizada (TAC), la resonancia magnética nuclear (RMN), la gammagrafía cardíaca con leucocitos marcados, o la tomografía por emisión de positrones con tomografía multicorte con 18 fluorodesoxiglucosa (PET-TC) para diagnosticar complicaciones cardiacas y extracardiacas de la EI, como los abscesos o los embolismos o metástasis a distancia. Estas herramientas fueron recogidas en las guías de la Sociedad Europea

de Cardiología en el año 2015 [100], que reflejaron estos cambios que se estaban realizando en la práctica clínica diaria.

Un gran avance en las técnicas de diagnóstico microbiológico fue la aparición y consolidación del uso de las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos de los genes 16S-ARN de bacterias (y 18S-ARN de hongos) mediante reacción en cadena de la polimerasa o PCR (*polymerase chain reaction*), que ofrecen una elevada sensibilidad y especificidad para la identificación de microorganismos en vegetaciones valvulares, abscesos u otras muestras [101].

Pero además, durante los últimos 8 años hemos asistido a la aparición de grandes avances en el diagnóstico microbiológico, como la detección de ADN libre de microorganismos en sangre y tejidos (*cell-free DNA*), la metagenómica, o el uso de hibridación in situ combinada con secuenciación (FISHseq) [102-104], que han permitido aumentar las posibilidades de realizar diagnósticos microbiológicos en casos donde años atrás no se hubiera podido encontrar ningún agente etiológico, aunque su sensibilidad y especificidad debe ser evaluada en mayor profundidad.

Todos estos avances han conducido a la más reciente actualización de los **criterios Duke-ISCVID** en 2023, tras más de 20 años desde los criterios previos [105]. A modo de resumen, los cambios más relevantes que ha aportado esta actualización en cada grupo de criterios son:

- Criterios patológicos:
 - o Se puede realizar la identificación de microorganismos sobre muestras apropiadas por PCR, amplicón o secuenciación metagenómica o hibridación in situ.

- Criterios clínicos mayores:
 - Se eliminaron los requisitos de tiempo y venopunciones separadas en la extracción de hemocultivos.
 - Se reconocen como microorganismos típicos *S. lugdunensis*, *E. faecalis*, todos los estreptococos salvo *S. pneumoniae* y *S. pyogenes*, especies de *Granulicatella*, *Abiotrophia* y *Gemella*; además, en presencia de material protésico intracardiaco, también se consideran típicos estafilococos coagulasa-negativa, *Corynebacterium striatum*, *C. jeikeium*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Cutibacterium acnes*, micobacterias no tuberculosas y *Candida* spp.
 - Se añadieron como criterios mayores la identificación en sangre por PCR o amplicón/secuenciación metagenómica para *Coxiella burnetii*, *Bartonella* sp. o *T. whipplei*, y una serología mayor de 1:800 para anticuerpos IgG de *B. henselae* o *B. quintana*.
 - El TAC cardiaco y el PET-CT cardíaco se añadieron como criterios mayores de imagen. Los hallazgos positivos en un PET-TC sobre dispositivos cardiacos o válvulas protésicas después de 3 meses desde el implante son equivalentes a la ecocardiografía.
 - La inspección intraoperatoria se añadió como criterio mayor, en ausencia de otro criterio por imagen o histopatología.
- Criterios clínicos menores:
 - Se añadieron los implantes y reparaciones de válvulas transcáteter, los dispositivos de electroestimulación cardíaca y el diagnóstico previo de EI como factores predisponentes.

II. INTRODUCCIÓN

- Los abscesos cerebrales y esplénicos se añadieron a la lista de fenómenos vasculares.
- Se añadió la identificación por PCR o secuenciación de amplicón/megatenómica de un microorganismo típico a los criterios microbiológicos menores.
- Los hallazgos positivos en un PET-TC sobre dispositivos cardiacos o válvulas protésicas antes de 3 meses desde el implante constituyen un criterio menor.
- La auscultación de un nuevo soplo constituye un criterio menor cuando no se dispone de ecocardiografía (eliminado de los criterios mayores).

En los estudios de validación publicados hasta el momento, estos nuevos criterios parecen ofrecer una sensibilidad mayor a los criterios modificados del año 2000 y a los criterios de la guía europea de 2015 [106, 107]. No obstante, la especificidad de todos los criterios fue baja en uno de estos trabajos, en probable relación a la adición del cultivo y PCR sobre dispositivos cardiacos como criterio patológico de EI.

2.5.5 Abordaje terapéutico

El tratamiento antibiótico de la EI debe iniciarse vía intravenosa, a altas dosis y usando fármacos bactericidas. Sin embargo, aunque la EI es una enfermedad con una mortalidad del 100% si no se trata, el inicio del tratamiento

antimicrobiano no suele ser una urgencia médica. En general, la antibioterapia no debería iniciarse hasta la obtención de un diagnóstico etiológico, salvo en situación de sepsis, ante la presencia de complicaciones como insuficiencia cardiaca, o ante un riesgo elevado de embolia, y siempre debería extraerse al menos 3 sets de hemocultivos previamente.

En caso de considerarse necesario, el inicio del tratamiento no ha de diferirse. El tratamiento empírico ha de tener en cuenta la presentación clínica del paciente, el contacto con la asistencia sanitaria, el uso de antibioterapia previa, y la presencia de material protésico intravascular y el tiempo desde su implante, por su impacto en el perfil microbiológico.

Dado que la mayor parte de la evidencia proviene de estudios observacionales y hay pocos ensayos clínicos randomizados al respecto, la ausencia de una evidencia sólida justifica, en parte, las diferencias sobre el tratamiento empírico entre las diferentes guías clínicas [100, 108]. Las recomendaciones sobre el tratamiento empírico de las últimas guías europeas se resumen en la **Tabla IV** [88].

Las guías actuales recomiendan un tratamiento antibiótico en dos fases [88]. La primera fase consiste en un tratamiento intravenoso en régimen hospitalario de al menos dos semanas, durante el que ha de plantearse la necesidad de abordaje quirúrgico, la retirada de dispositivos y el drenaje de abscesos. Las principales indicaciones de cirugía son la presencia de insuficiencia cardiaca, la infección no controlada (como en caso de sepsis, bacteriemia persistente, complicaciones locales o presencia de microorganismos agresivos o resistentes) y la prevención de

la embolización (ante la presencia de vegetaciones mayores de 10mm o episodios embólicos).

Posteriormente, en casos seleccionados, puede plantearse la finalización del tratamiento en régimen ambulatorio o con tratamiento vía oral, siempre que se haya descartado la presencia de complicaciones o progresión local de la infección.

La duración del tratamiento suele ser de 2-6 semanas en casos de EI sobre válvula nativa, mientras que la EI sobre válvula protésica implica tratamientos de al menos 6 semanas de duración.

Tabla IV. Recomendaciones de tratamiento antibiótico empírico en la EI.

Escenario clínico	Recomendación	Nivel de evidencia
EI nativa o EI protésica tardía (>12 meses desde su implante) de adquisición comunitaria	Ampicilina (12g/día en 4-6 dosis) en combinación con ceftriaxona (4g/día IV en 2 dosis) o cloxacilina (12g día IV en 4-6 dosis) y gentamicina (3mg/kg/día en 1 dosis)	IIa C
EI protésica precoz (<12 meses desde implante) o EI de adquisición nosocomial o relacionada con la asistencia sanitaria	Vancomicina (30mg/kg/día en 2 dosis) o daptomicina (10mg/kg/día) en combinación con gentamicina (3mg/kg/día en 1 dosis) y rifampicina (900-1.200 mg/día en 2-3 dosis)	IIb C

Adaptado de las recomendaciones de la Guía Europea de manejo de la endocarditis de la Sociedad Europea de Cardiología de 2023 [88].

2.6 ESTADO DEL ARTE

A lo largo de todos los apartados anteriores se ha tratado de exponer, de manera sintetizada, las características principales de la bacteriemia y la EI, recogiendo la información sobre la que se dispone de mayor evidencia científica. A continuación, se revisará la perspectiva actual de la infección endovascular, señalando algunos de los aspectos donde hemos considerado que existe menos información disponible en la actualidad, sobre los que hemos centrado los objetivos de esta Tesis Doctoral.

En cuanto a la incidencia, parece evidente que a lo largo del siglo XX se describió un aumento progresivo del número de episodios de bacteriemia. Si bien existen datos estables en cuanto a la incidencia y mortalidad de la sepsis en España entre 2010 y 2013 [41], la información sobre la evolución global de la bacteriemia en la última década es limitada. Los trabajos más recientes se centran en la evolución de la bacteriemia por microorganismos específicos, en tipos concretos de pacientes o evalúan periodos cortos de tiempo [109-112]. Los estudios poblacionales realizados en los últimos 10 años ofrecen resultados muy heterogéneos [113-122] y la información aportada desde los propios hospitales es escasa y no se ha actualizado recientemente [20, 123].

De igual forma, el cambio hacia las bacterias Gram-positivas como etiología predominante a nivel mundial desde la década de 1980 está bien documentado, y continúan siendo la etiología principal en los episodios de bacteriemia adquiridos en el hospital o relacionados con la asistencia sanitaria [30]. Sin embargo, los estudios de vigilancia epidemiológica apuntan a un aumento de los episodios

II. INTRODUCCIÓN

causados por bacilos Gram-negativos en general y *E. coli* en particular desde comienzos de los años 2000, siendo los principales agentes etiológicos en la actualidad [35, 124, 125]. En cuanto a los fenotipos de resistencia antimicrobiana, la evidencia en la última década señala un descenso en los episodios de bacteriemia causados por SARM y un aumento de los causados por bacilos Gram-negativos multirresistentes [35, 126-128].

El impacto que la pandemia COVID-19 (*coronavirus disease 2019*) causada por el virus SARS-CoV-2 (*severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*) ha tenido sobre la incidencia y los agentes etiológicos de la bacteriemia no está bien documentado, siendo la información que aportan los estudios disponibles aún más heterogénea y limitada.

En cuanto al diagnóstico de la infección endovascular, el hemocultivo sigue siendo la herramienta fundamental, pero sus resultados se ven supeditados a un tiempo de incubación de unas 48 horas y su rentabilidad depende del uso previo de antibioterapia y del volumen de sangre inoculado en cada botella. Como se ha comentado previamente, existen distintos métodos que buscan proporcionar un diagnóstico precoz, principalmente basados en la detección de proteínas, en el caso de MALDI-TOF MS, o de ácidos nucleicos, como las pruebas de diagnóstico molecular basadas en PCR. Actualmente disponemos de varios métodos de diagnóstico molecular basados en PCR que se pueden aplicar en sangre periférica [129].

II. INTRODUCCIÓN

Existen otras pruebas, como T₂MR (T₂ Biosystems), un sistema que utiliza nanotecnología basada en la resonancia magnética para detectar especies del género *Candida* en muestras de sangre en un tiempo de 5 horas [3], siendo muy útil en el diagnóstico de la infección fúngica invasora [130], aunque es un método caro y poco disponible en la actualidad en la mayoría de centros hospitalarios.

En el caso de MALDI-TOF MS, su aplicación se basa en el uso de colonias subcultivadas o en la separación de proteínas bacterianas mediante centrifugaciones diferenciales u otros métodos de purificación a partir de hemocultivos positivos. Con objetivo de intentar acelerar el proceso diagnóstico, se están investigando otras opciones, como el uso de MALDI-TOF MS utilizando colonias tras 3-6 horas de incubación, o para detectar mecanismos de resistencia antimicrobiana [131].

En este escenario, cabe plantearse la posibilidad de si pudieran existir otras alternativas no exploradas que pudieran ser útiles en el diagnóstico de la infección endovascular. El análisis bioquímico de los hemocultivos, por ejemplo, nunca ha sido evaluado en este sentido. Si asumimos que la presencia de microorganismos en las botellas de hemocultivos puede conllevar una serie de reacciones bioquímicas que puedan ser detectables, su análisis podría identificar las botellas de hemocultivos positivas.

Por otro lado, el análisis proteómico de hemocultivos utilizando MALDI-TOF MS se basa actualmente en la identificación de proteínas bacterianas a partir de colonias subcultivadas o tras técnicas de purificación en muestras directas de hemocultivos positivos. Pero si asumimos que la presencia del microorganismo

produce una respuesta inflamatoria en el huésped y cambios en los botes de hemocultivos, es razonable plantear que el análisis proteómico de hemocultivos podría identificar biomarcadores relacionados con los hemocultivos positivos.

Pocas entidades reflejan de una manera más clara la evolución de la medicina moderna como en el caso de la EI, donde hemos asistido a un cambio de paradigma respecto a lo que esta enfermedad representaba en el pasado. En la actualidad, el paciente con EI suele tener edad avanzada, cardiopatías previas, y suele ser portador de DCI o material protésico endovascular.

Los cambios en las características clínicas y agentes etiológicos de la EI a lo largo del último siglo se reflejan en la reciente publicación de unas nuevas guías clínicas para el manejo de esta entidad y la importante actualización de los criterios de Duke en 2023 [88, 105]. Estos documentos recogen el descenso de la prevalencia de enfermedad reumática como factor predisponente en el mundo industrializado, o el aumento de episodios sobre válvulas protésicas o dispositivos cardiacos implantables y de episodios de adquisición relacionada con la asistencia sanitaria [74, 132-134], la mayoría de los cuales suelen tener origen en un catéter intravascular [84].

El uso de estos catéteres, fundamental en los pacientes hospitalizados, es cada vez más frecuente en pacientes que no están ingresados en un hospital, permitiendo la aplicación de multitud de terapias (como la hemodiálisis, quimioterapia, antibioterapia o nutrición parenteral), pero supone que los pacientes ambulatorios

que reciben estos tratamientos pueden estar expuestos a un riesgo de desarrollar bacteriemia similar, si no idéntico, al de los pacientes hospitalizados.

Asimismo, el aumento del número de procedimientos invasivos que se realizan fuera del hospital y de la proporción de pacientes institucionalizados ha provocado un aumento de la EI nosohusial o relacionada con la asistencia sanitaria (EIRAS) [84, 90, 134], hasta el punto de que las últimas guías clínicas recomiendan considerar la profilaxis antibiótica sistémica en pacientes de alto riesgo antes de la realización de procedimientos diagnósticos y terapéuticos del tracto respiratorio, gastrointestinal, genitourinario, cutáneo o musculoesquelético [88].

Mientras que la EI de adquisición comunitaria muestra claras diferencias con la EI nosocomial, la información sobre la EIRAS es mucho más limitada y heterogénea, basada en estudios que en su mayor parte tienen un tamaño limitado o no se han revisado en los últimos años [84, 135-141]. Cabe plantearse el verdadero valor en la actualidad de la clasificación de la EI como adquisición comunitaria, nosocomial o relacionada con la asistencia sanitaria, siguiendo el mismo modelo que el planteado para los lugares de adquisición de la bacteriemia.

El aumento del número de implantes de válvulas protésicas y dispositivos cardiacos a lo largo de los años [142, 143] también puede tener repercusiones sobre la epidemiología de la EI. De hecho, los nuevos criterios Duke-ISCVID añaden, entre sus novedades, el reconocimiento de *Cutibacterium acnes* como microorganismo típico de EI en presencia de material protésico intravascular, reconociendo la relevancia que puede tener este microorganismo, tradicionalmente considerado poco virulento, en la patogénesis de la EI.

II. INTRODUCCIÓN

Sin embargo, la información sobre la EI por *Cutibacterium* spp. no es abundante, proviniendo en su mayoría de pequeñas series de casos [144-147], y con pocas grandes series recientes que analicen esta entidad [148, 149]. Además, los múltiples cambios incorporados recientemente a los nuevos criterios Duke-ISCVID, como las técnicas de diagnóstico molecular o las nuevas técnicas de imagen, no han estado siempre disponibles ni han sido evaluadas adecuadamente en la literatura.

2.7 ESTRUCTURA Y OBJETIVOS GLOBALES

En resumen, esta tesis doctoral se ha realizado como un compendio de artículos estructurado en 6 estudios donde se ha buscado dar respuesta a los siguientes objetivos principales:

- **Objetivo 1:** A modo de introducción, se ha realizado una **revisión de la literatura** cuyos objetivos son: identificar los aspectos con más incertidumbre en el abordaje de la infección endovascular en la última década; resumir la evidencia disponible más reciente en cuanto a la evolución de la incidencia, mortalidad y etiología de la bacteriemia; revisar la metodología del diagnóstico de la bacteriemia y del análisis de hemocultivos; y valorar la evidencia sobre los métodos de transmisión de la información de resultados microbiológicos.

- **Objetivo 2:** Describir la **evolución de los episodios de infección endovascular**, analizando los cambios en la incidencia, los agentes etiológicos y en la carga de trabajo que produce en un hospital terciario de Madrid en un período de 12 años, incluyendo el impacto de la pandemia COVID-19.

- **Objetivo 3:** Definir la realidad actual de la **EI relacionada con la asistencia sanitaria**. Describir su prevalencia y características más relevantes, sus diferencias con la EI comunitaria y EI nosocomial para valorar su valor como

entidad diferenciada, y revisar la literatura disponible para comparar estos resultados.

- **Objetivo 4:** Determinar la incidencia, características clínicas, métodos diagnósticos y evolución clínica de los pacientes con **El causada por *Cutibacterium spp.*** en España y examinar el impacto de la aplicación de los nuevos criterios diagnósticos Duke-ISCVID.

Además, como perspectiva de futuro, se han planteado dos objetivos para evaluar una prueba de concepto con la hipótesis de que el análisis bioquímico y proteómico de los hemocultivos pudiera predecir el resultado positivo de los hemocultivos antes que los métodos tradicionales:

- **Objetivo 5:** Analizar si existen **parámetros bioquímicos** característicos e identificativos en los frascos de hemocultivos positivos y negativos, y si pueden discriminar entre microorganismos Gram-positivos y Gram-negativos.
- **Objetivo 6:** Desarrollar modelos predictivos basados en **MALDI-TOF MS** y **machine learning** capaces de distinguir entre hemocultivos ya catalogados como positivos o negativos a partir de muestras directas (sin precisar su obtención desde colonias subcultivadas ni la separación de las proteínas bacterianas mediante centrifugaciones diferenciales), e identificar los hemocultivos con aislamiento de *Escherichia coli*.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

Para alcanzar estas metas, se expone a continuación la metodología empleada en cada uno de los objetivos planteados:

3.1 Metodología objetivo 1

Revisión de la literatura disponible en PubMed desde un punto de vista crítico, formulando una serie de 15 preguntas que se suelen plantear en la práctica clínica diaria en el abordaje de pacientes con infección endovascular. En primer lugar se aborda la evidencia sobre la evolución de la incidencia, mortalidad y etiología de la bacteriemia. Después se revisan los aspectos metodológicos del análisis de hemocultivos, incluyendo las indicaciones de extracción y técnicas de laboratorio, así como algunos aspectos de la bacteriemia relacionada con catéter. Por último, se revisa la información sobre diferentes métodos de comunicar los resultados desde el laboratorio de Microbiología.

3.2 Metodología objetivo 2

Para el análisis de la evolución de la infección endovascular, se han analizado los resultados de todos hemocultivos recibidos para cultivo bacteriano y fúngico en el laboratorio de Microbiología del Hospital General Universitario Gregorio Marañón desde enero de 2010 a diciembre de 2021 (12 años). Se excluyeron del estudio los episodios causados por micobacterias. Se trata de un hospital terciario que atiende a una población aproximada de 850.000 habitantes, con servicios quirúrgicos y servicios dedicados a pacientes receptores de trasplantes de órgano sólido y hematológicos, entre otros. El número de camas se

ha reducido desde 1.750 a 1.062 entre 2006 y 2021, aunque se llegaron a habilitar 1.572 camas durante la pandemia COVID-19.

3.2.1 Sistemas de hemocultivos

En este centro se recomienda la extracción rutinaria de tres sets de hemocultivos ante la sospecha de bacteriemia, con el objetivo de conseguir un volumen de sangre de aproximadamente 60mL de sangre, a dividir en una botella con atmósfera aerobia y otra con atmósfera anaerobia en cada set. Las muestras positivas se subcultivan y analizan usando tinción de Gram.

Durante todo el periodo del estudio se utilizó el sistema BD BACTEC™ FX. El procesamiento de hemocultivos positivos, la identificación de microorganismos aislados y los estudios de sensibilidad antimicrobiana se realizaron según los procedimientos y recomendaciones generales de las guías clínicas [3, 66]. Se utilizó MALDI-TOF MS para identificar colonias desde subcultivos mediante el sistema Bruker Biotyper System® (Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany). Además del antibiograma por el método de difusión en disco, de manera rutinaria se realiza un antibiograma adicional mediante el método de microdilución (MicroScan®, Beckman Coulter, CA, USA) o mediante el método de gradiente de difusión si es preciso.

3.2.2 Definiciones

Se utilizaron los siguientes conceptos:

- Hemocultivo: volumen de sangre, obtenida bajo condiciones asépticas, inoculada en una o más botellas para el aislamiento de microorganismos.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

Cada set de hemocultivos consiste normalmente de dos botellas e implica una venopunción.

- Episodio de infección endovascular: hace referencia a cada episodio de bacteriemia o fungemia en cada paciente, no al número de hemocultivos. Todos los microorganismos aislados de muestras del mismo paciente en un periodo inferior a una semana se consideraron parte del mismo episodio. La significación clínica de cada episodio fue evaluada con el equipo médico responsable del paciente en caso de duda.
- Microorganismos contaminantes: salvo que se demuestre lo contrario, la presencia de los siguientes microorganismos se consideró como un probable contaminante: *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp. (salvo *C. jeikeium*), *Lactobacillus* spp. y *Cutibacterium* spp. Los estafilococos coagulasa-negativa, estreptococos del grupo viridans o *Clostridium* spp. son considerados probables patógenos si se recuperan de al menos dos o más muestras, o en escenarios clínicos concretos. Dadas las dificultades para obtener sangre en neonatos, la presencia de estafilococos coagulasa-negativa u otros contaminantes en las dos botellas de un set de hemocultivos se considera significativa en estos pacientes. En cualquier caso, la interpretación de resultados se realiza en base a las recomendaciones de la SEIMC [3], y todos los episodios de bacteriemia son evaluados por el servicio de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas individualmente.
- Bacteriemia polimicrobiana: aislamiento de más de un microorganismo en el mismo episodio de bacteriemia.

- Bacteriemia y candidemia relacionada con catéter intravenoso: episodio de bacteriemia/candidemia donde el microorganismo aislado en hemocultivos coincide con el aislamiento del mismo patógeno en el cultivo de la punta de un catéter retirado en un periodo de una semana.
- Bacteriemia nosocomial: episodio de bacteriemia que se demuestra en hemocultivos tomados al menos 48 horas después del ingreso hospitalario.

La evolución de los fenotipos de resistencia antimicrobiana se evaluó para SARM, enterococos resistentes a vancomicina, *E. coli* productor de BLEE y *K. pneumoniae* productor de BLEE y carbapenemasas durante el periodo de estudio.

3.2.3 Base de datos

Los episodios de infección endovascular considerados como significativos se registraron prospectivamente a diario por el equipo del Área de Hemocultivos del hospital, incluyendo identificación del paciente, servicio de ingreso, fecha y número de hemocultivos extraídos, fecha de positividad y número de hemocultivos positivos, microorganismos identificados, sensibilidad antimicrobiana y diagnóstico de VIH (si se realizó).

3.2.4 Análisis estadístico

Las tendencias de incidencia en este periodo se representan por 1.000 ingresos, calculada a partir del número de episodios detectados durante los 12 años del periodo de estudio, dividido por el número de ingresos (en miles) en la institución en ese periodo. La incidencia poblacional se calculó de manera similar por cada 100.000 habitantes, usando el registro total de habitantes en el área sanitaria a la que ofrece asistencia este hospital [150]. La evolución de las

tendencias de incidencia se analizó por regresión simple. Un valor de p inferior a 0,05 se consideró estadísticamente significativo. Se seleccionó una muestra aleatoria de 100 episodios para calcular una tasa de mortalidad aproximada. Todos los análisis fueron realizados utilizando SPSS 15.0 (SPSS, Chicago, IL).

3.3 Metodología objetivo 3

La EI relacionada con la asistencia sanitaria fue analizada utilizando los datos de la serie GAMES (Grupo de Apoyo al Manejo de la Endocarditis Infecciosa en España), una cohorte nacional multicéntrica que ha registrado prospectivamente casos consecutivos de EI según los criterios modificados de Duke [97] en 45 hospitales españoles desde 2008. Este estudio es un análisis retrospectivo observacional de estos datos recogidos prospectivamente. Desde enero de 2008 a diciembre de 2021 se diagnosticaron 4.520 casos de EI definitiva.

3.3.1 Datos analizados

Por cada episodio de EI se completa un formulario estandarizado con información sobre el episodio activo y el seguimiento, donde se incluye información clínica, incluyendo el índice de comorbilidad de Charlson [151], así como resultados microbiológicos y ecocardiográficos. Todos los pacientes firman un consentimiento informado para ser incluidos en el registro. Todos los casos se revisan un año después de su inclusión en el registro para analizar su resolución, muerte o recurrencia.

3.3.2 Definiciones

Para simplificar la clasificación, y con el propósito de explorar su valor como entidad diferenciada, la EI relacionada con la asistencia sanitaria (EIRAS) se define en este trabajo como la EI nosohusial, y no incluye, por tanto, los casos de adquisición nosocomial. EIRAS se definió como la EI diagnosticada en el momento del ingreso o tras 48 horas de ingreso, en un paciente que cumpla cualquiera de los siguientes criterios:

- 1) Recibe tratamiento intravenoso en casa; recibe cuidados de herida o cuidados de enfermería especializados proporcionados por una agencia sanitaria, la familia o amigos; o tuvo tratamiento médico intravenoso auto administrado en los 30 días previos a la bacteriemia.
- 2) Acudió al hospital o clínica de hemodiálisis o recibió quimioterapia intravenosa en los 30 días previos a la bacteriemia.
- 3) Fue hospitalizado en un centro de atención de agudos durante 2 ó más días en los 90 días previos a la bacteriemia.
- 4) Residió en una residencia o centro de atención a largo plazo.

Todos los casos asociados con hemodiálisis fueron clasificados como EIRAS.

La EI nosocomial se definió como la EI en un paciente que ha sido hospitalizado durante más de 48 horas antes del inicio de los signos o síntomas relacionados con la infección.

La EI de adquisición comunitaria se definió como la EI diagnosticada en las primeras 48 horas de ingreso hospitalario o si los signos o síntomas consistentes

con EI empezaron antes del ingreso hospitalario, en un paciente que no cumple los criterios para EIRAS. El foco odontogénico se consideró dentro de la EI de adquisición comunitaria, salvo en 2 pacientes clasificados como EIRAS tras intervenciones dentales de gran complejidad con recambio de todas las piezas dentales.

3.3.3 Análisis estadístico

Las características de la EIRAS, EI nosocomial y EI de adquisición comunitaria fueron comparadas. Las variables categóricas se representaron como frecuencias y porcentajes, y las variables continuas como medianas y rangos intercuartílicos (percentiles 25-75). Las variables categóricas fueron comparadas mediante el test *U* de Mann-Whitney. La significación estadística se estableció en un valor de *p* inferior a 0,05. Para una mejor interpretación de los resultados, se calculó la magnitud de los efectos para cada comparación. Para variables numéricas, la *d* de Cohen fue utilizada, mientras que para variables categóricas se utilizó odds ratio.

Para identificar las variables clínicas que se asociaron a la presencia de EIRAS, se realizó un análisis multivariable por regresión logística mediante un sistema condicional hacia atrás, introduciendo solo variables epidemiológicas presentes antes del episodio de EI y el ingreso hospitalario que presentaran diferencias significativas entre EIRAS y EI nosocomial en el análisis univariante, o aquellas consideradas como relevantes clínicamente.

Nuestro modelo incluyó sexo, edad, índice de Charlson ajustado por edad, EI sobre válvula nativa, presencia de dispositivos intracardiacos, cirugía cardiaca previa, EI previa, y presencia de catéteres intravenosos. La curva de supervivencia para la

EIRAS relacionada con hemodiálisis se calculó utilizando el método de Kaplan-Meier. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete IBM SPSS Statistics for Windows, version 26.

Para la revisión de la literatura, se realizó una búsqueda en PubMed utilizando los comandos (endocarditis [MeSH Terms]) AND (healthcare [Title]), health-care [Title] AND endocarditis [Title], non- nosocomial [Title] AND endocarditis [Title], healthcare-associated [Title] AND endocarditis [Title], (healthcare[MeSH Terms]) AND (endocarditis[MeSH Terms]) y (healthcare[MeSH Terms]) AND (endocarditis[Title]) sin restricción temporal. También se incluyeron artículos de interés seleccionados manualmente. No se incluyeron artículos donde se analiza la EIRAS incluyendo la EI nosocomial.

3.3.4 Aspectos éticos:

El formulario para registro de la información fue aprobado por el comité de ética (Comité ético de Investigación Clínica Regional de la Comunidad de Madrid CEIC-R; EC 18/07; fecha 11/01/2008). Se obtuvo el consentimiento informado por escrito en todos los casos.

3.4 Metodología objetivo 4

El análisis de la EI causada por *Cutibacterium* spp. también fue un análisis retrospectivo de los casos obtenidos prospectivamente en la cohorte nacional multicéntrica GAMES desde 2008 a 2023, incluyendo en este caso los datos del Hospital Universitario Vall d'Hebron en Barcelona.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

Para este trabajo, los casos clasificados como EI posible y casos asociados a DCI según los criterios modificados de Duke [97] y las guías europeas [152], respectivamente, se reanalizaron según los nuevos criterios diagnósticos Duke-ISCVID [105]. Todos los casos de EI asociada a DCI fueron casos relacionados a cables intravasculares. Las recurrencias se clasificaron reinfecciones (causadas por microorganismos diferentes) o recaídas (causadas por el mismo microorganismo).

La etiología fue determinada mediante el aislamiento de especies de *Cutibacterium* en hemocultivos, cultivos convencionales o mediante secuenciación del gen 16S rRNA por PCR (16SPCR), o cualquier combinación de estos tests, realizados sobre válvulas cardíacas, dispositivos cardíacos o material protésico intravascular. La rentabilidad diagnóstica de cada prueba fue evaluada según el número de casos en los que se realizó y su tasa de positividad.

Un ecocardiograma positivo se definió como la detección de nueva regurgitación, absceso cardíaco y/o vegetaciones valvulares o sobre cables de dispositivos. Un set de hemocultivos se definió como la sangre inoculada en dos botellas por venopunción. El uso rutinario de la sonicación y su aplicación, así como los métodos de realización de 16SPCR dependen de los protocolos específicos de cada institución participante.

Cada caso fue evaluado individualmente por un equipo multidisciplinar en cada centro, donde el diagnóstico y el tratamiento a seguir fueron establecidos. Las indicaciones quirúrgicas se evaluaron por cada equipo multidisciplinar y según las recomendaciones de las guías clínicas en cada periodo [100, 152].

3.4.1 Datos analizados:

Por cada episodio de EI se completa un formulario estandarizado con información sobre el episodio activo y el seguimiento, donde se incluye información clínica, incluyendo el índice de comorbilidad de Charlson [151], así como resultados microbiológicos y ecocardiográficos. El uso de PET-TC no se consideró inicialmente en el protocolo y fue incluida posteriormente. El tiempo hasta la positividad de hemocultivos no se incluye rutinariamente en el protocolo y fue analizado específicamente para este trabajo. Todos los casos fueron evaluados un año después de su inclusión en el registro para valorar su resolución, muerte o recurrencia.

3.4.2 Análisis estadístico

Las variables categóricas fueron representadas como frecuencias o porcentajes, y las variables continuas como medianas y rangos intercuartílicos (percentil 25-75). Las variables categóricas fueron comparadas usando el test chi-cuadrado (o el test exacto de Fisher en caso necesario). Las variables sin distribución normal fueron comparadas usando el test U de Mann-Whitney. La significación estadística se estableció en una p inferior a 0,05. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete IBM SPSS Statistics for Windows, version 26.

3.4.3 Aspectos éticos:

El formulario para registro de la información fue aprobado por el comité de ética (Comité ético de Investigación Clínica Regional de la Comunidad de Madrid

CEIC-R; EC 18/07; fecha 11/01/2008). Se obtuvo el consentimiento informado por escrito en todos los casos.

3.5 Metodología objetivo 5

Se realizó un estudio prospectivo a partir de muestras de hemocultivos que ya han sido clasificados como positivos o negativos por los métodos tradicionales tras al menos 48 horas de incubación y antes de ser desechados a los 5 días. Se aplicó esta hipótesis al aislamiento únicamente de bacterias (Gram-positivas y Gram-negativas) y no de hongos.

Se analizaron 150 muestras en total de hemocultivos: 50 botes sin sangre inoculada, 50 botes con sangre y resultado negativo y 50 botes con sangre y resultado positivo, a las que se hará referencia como botellas basales, botellas negativas y botellas positivas, respectivamente.

Inicialmente se comprobó la viabilidad de las mediciones en los botes basales de hemocultivos y la reproducibilidad de resultados. Posteriormente se analizaron los resultados de las botellas negativas (incubados durante 5 días según el método estándar, antes de ser descartados). Finalmente, se compararon los resultados de las botellas positivas (tras al menos 48 horas de incubación y antes de que las muestras fueran desechadas tras 5 días de incubación).

El análisis bioquímico se realizó mediante la extracción de una muestra de 20mL de cada botella analizada e incluyó la determinación de los siguientes parámetros: ácido úrico, albúmina, alanina aminotransferasa (ALT), amilasa, aspartato aminotransferasa (AST), bilirrubina total, calcio, calcio libre, creatina quinasa

III. MATERIAL Y MÉTODOS

(CK), cloro, colesterol, creatinina, fosfatasa alcalina (FA), fosfato, glucosa, gamma-glutamyl transpeptidasa (GGT), hierro, magnesio, proteína C reactiva (PCR), potasio, procalcitonina, proteínas totales, transferrina, triglicéridos, urea, vitamina D, vitamina B₁₂, ferritina, ácido fólico, lactato, pH, calcio iónico, interleucina-6, lactato deshidrogenasa (LDH), sodio, vitamina A y vitamina E.

El estudio se desarrolló en su totalidad en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid, desde el servicio de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas, con la colaboración del servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos. El proceso de incubación de hemocultivos se realizó en todas las fases utilizando el sistema de análisis automatizado BD BACTEC™ FX y los botes de hemocultivos BD BACTEC™ Plus Aerobic/F para microorganismos aerobios y BD BACTEC™ Plus Aerobic/F para anaerobios.

Las determinaciones bioquímicas se realizaron en los analizadores automatizados de Siemens Healthcare Diagnostics, ADVIA CHEMISTRY XPT, por técnicas espectrofotométricas. Para la determinación del pH y de lactato en sangre se utilizó el equipo GEM PREMIER 5000 de Werfen, por técnicas potenciométricas y amperométricas respectivamente. Los valores se midieron en las unidades de referencia para cada variable, representadas en las tablas.

Para el análisis estadístico, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis y de Mann-Whitney para las comparaciones entre grupos al tratarse de variables con distribuciones que no muestran una distribución normal. Se calcularon curvas ROC univariantes y el área bajo la curva (AUC) para valorar la capacidad discriminativa de cada variable, globalmente y según el tipo de bote utilizado.

Aspectos éticos

Este trabajo (MICRO.HGUGM.2023-21) cuenta con el dictamen favorable del Comité de Ética de la Investigación con Medicamentos del Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid, donde se exime de la necesidad de obtención de consentimiento informado firmado en base a las características de este trabajo. Las muestras se conservarán durante el tiempo que el estudio esté vigente y tras su finalización se eliminarán. En ningún caso se precisó la extracción de nuevas muestras de sangre de ningún paciente.

3.6 Metodología objetivo 6

Se realizó un estudio prospectivo a partir de muestras de hemocultivos que ya han sido clasificados como positivos o negativos por los métodos tradicionales. Para seguir un criterio uniforme y facilitar el desarrollo del estudio, se aplicó esta hipótesis al aislamiento únicamente de bacterias (Gram-positivas y Gram-negativas) y no de hongos.

Se analizaron 110 hemocultivos, tras determinar la presencia (n=57) o ausencia (n=53) de crecimiento bacteriano tras al menos 48 horas de incubación mediante el proceso automatizado estándar, y antes de ser desechados a los 5 días de incubación. Los 57 hemocultivos positivos incluyeron 15 microorganismos Gram-positivos y 42 Gram-negativos, con 24 aislamientos de *E. coli*.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

A partir de 1 mililitro de hemocultivo, se realizó un proceso de extracción de proteínas mediante el MB-WCX Profiling Kit (Bruker Daltonics), que se analizaron con MALDI-TOF. Los espectros obtenidos se procesaron con el software Clover MSDAS. Se analizó el espectro completo y se aplicaron modelos de machine learning supervisados -Partial Least SquaresDiscriminant Analysis (PLS-DA), Support Vector Machine (SVM), Random Forest (RF) y Light Gradient Boosting Machine (LightGBM).

Los espectros de proteínas de cada muestra se adquirieron utilizando un espectrómetro Microflex LT MALDI-TOF (Bruker Daltonics, Bremen, Alemania) y el software FlexControl 3.3 (Bruker Daltonics). Se aplicó la configuración predeterminada y se registraron para cada muestra dos espectros de cada posición. Las matrices de picos generadas por los picos relevantes y sus correspondientes valores de intensidad se obtuvieron en el rango de 2.000 m/z a 20.000 m/z. Los espectros obtenidos se analizaron de forma automatizada mediante el software Clover MS Data Analysis (Granada, España). Este software es capaz de generar una matriz de picos correspondiente a cada aislado analizado.

El estudio se desarrolló en su totalidad en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid. El sistema de análisis (BD BACTEC™ FX) disponible en el servicio rutinariamente será el utilizado para la incubación habitual de los hemocultivos. En todas las fases se utilizaron los botes de hemocultivos que se usan de manera rutinaria en el servicio: BD BACTEC™ Plus Aerobic/F para microorganismos aerobios y BD BACTEC™ Plus Aerobic/F para anaerobios.

Aspectos éticos

Este trabajo (MICRO.HGUGM.2023-21) cuenta con el dictamen favorable del Comité de Ética de la Investigación con Medicamentos del Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid, donde se exime de la necesidad de obtención de consentimiento informado firmado en base a las características de este trabajo. Las muestras se conservarán durante el tiempo que el estudio esté vigente y tras su finalización se eliminarán. En ningún caso se precisó la extracción de nuevas muestras de sangre de ningún paciente.

IV. RESULTADOS

4.1 **RESULTADOS DEL OBJETIVO 1**

4.1.1 *Abstract*

Bacteremia is an important cause of morbidity and mortality worldwide and, despite the diagnostic and therapeutic advances of the last decades, the evidence supporting many diagnostic aspects of bacteremia is scarce. Information on the epidemiological evolution of this entity is limited and many methodological aspects of blood culture collection and analysis are under discussion. Furthermore, the recommendations of the main scientific societies on many of these aspects are variable and, in many cases, have not been updated recently.

In this scenario, we have arranged a series of questions on different aspects of bacteremia and reviewed the literature trying to find proper answers for them. We offer our opinion on the topics where the evidence was weak.

The topics covered include epidemiological aspects of bacteremia, indications for blood culture extraction, methods for obtaining and incubating samples, or ways of transmitting results from the microbiology laboratory.

We do not intend to summarize the current clinical practice guidelines, nor will we deal with the therapeutic management of this entity. The aim of this paper is to review the current perspective on the diagnosis of bacteremia with a critical approach, to point out the gaps in the literature, to offer the opinion of a team dedicated to infectious diseases and clinical microbiology, and to identify some areas of knowledge on which future studies should focus.

4.1.2 *Resumen*

La bacteriemia es una causa importante de morbilidad y mortalidad en todo el mundo y, a pesar de los avances diagnósticos y terapéuticos de las últimas décadas, la evidencia que apoya muchos aspectos diagnósticos suele ser escasa. La información sobre la evolución epidemiológica de esta entidad es limitada y muchos aspectos metodológicos sobre la obtención y análisis de hemocultivos están en discusión. Además, las recomendaciones de las principales sociedades científicas sobre muchos de estos aspectos son variables y, en muchos casos, no se han actualizado recientemente.

En este escenario, hemos preparado una serie de preguntas sobre diferentes aspectos de la bacteriemia y hemos revisado la literatura tratando de encontrar respuestas adecuadas para ellas. Ofrecemos nuestra opinión sobre los temas en los que la evidencia era débil.

Los temas tratados incluyen los aspectos epidemiológicos de la bacteriemia, las indicaciones para la extracción de hemocultivos, los métodos de obtención e incubación de muestras o las formas de transmisión de los resultados desde el laboratorio de microbiología.

No pretendemos resumir las guías de práctica clínica actuales, ni trataremos el manejo terapéutico de esta entidad. El objetivo de este trabajo es revisar la perspectiva actual sobre el diagnóstico de la bacteriemia con un enfoque crítico, señalar las carencias en la literatura, ofrecer la opinión de un equipo dedicado a las enfermedades infecciosas y a la microbiología clínica, e identificar algunas áreas de conocimiento en las que deberían centrarse futuros estudios.

4.1.3 Artículo 1

INTRODUCTION:

Bloodstream infection (BSI) is an entity with a high morbi-mortality worldwide. A study in Finland during 2004–2018, using data from national registries, identified a total of 173,715 BSIs with an annual incidence that increased from 150 to 309 cases/100,000 population, and a 1-month all-cause mortality rate of patients with BSI that rose from 20 to 39 deaths/100,000 population [121]. In addition, the increase of some multi-drug resistant (MDR) microorganisms causing bacteremia in recent years has become a public health concern [153].

Despite the great advances in alternative diagnostic methods of BSI in recent decades [154], blood culture remains the fundamental piece in the diagnostic approach to this entity.

However, many epidemiological and diagnostic aspects of bacteremia remain controversial. The information on the evolution of its incidence and etiology over the years is highly heterogeneous, studies show conflictive results on some key issues, and clinical guidelines offer little or no advice in some aspects of blood culture analysis.

In this scenario, we have reviewed the available literature on the diagnosis of bacteremia from a critical point of view, formulating a series of 15 questions that often arise in the evaluation of these patients. First, we analyzed the evidence about the evolution of the incidence, mortality and etiology of bacteremia. Then, we reviewed methodological aspects of blood culture analysis, including blood culture indications and various laboratory techniques, and some aspects of

catheter-related bacteremia. Finally, we reviewed the information on the different methods of reporting blood cultures results from the Microbiology laboratory.

The following pages summarize the discussion and opinion on each of these questions by a team dedicated to Clinical Microbiology and Infectious Diseases.

1. Has the incidence of bacteremia changed in recent years? Has the COVID-19 pandemic had any impact on it?

The incidence of bacteremia has been progressively increasing over the last 50 years, but current data do not give a clear idea of its more recent evolution. Information on the epidemiology of bacteremia in the last decade is very heterogeneous in the few population-based studies available, even more so when analyzing data at the institutional level, with numbers ranging from 101 to 309 episodes per 100,000 inhabitants/year [114, 121] and between 1.3 to 15.4 episodes per 1,000 hospital admissions [116, 120] (**Table 1**). In Spain, data ranging from 14.7 to 31.2 episodes per 1,000 admissions have been published [20, 21], and in our own institution, the mean number of bacteremic episodes has barely changed, from an average of 30.17 to 31.45 episodes per 1,000 admissions between 2002-2011 and 2012-2021, respectively (unpublished data). These numbers have not changed substantially in the last 10 years [155] with respect to data published in the previous decade [20, 21, 156].

Table 1 collects some of the data we have discussed [113-122, 157, 158]. Moreover, very few studies compare the evolution with respect to previous studies in the same region or hospital [113, 159]. Therefore, there is a lack of evidence to be able

to delineate a clear temporal trend in the incidence of bacteremia over the last decade.

For all these reasons, there is a need to carry out population-based studies with more recent data, studying the same regions analyzed and including the years of the pandemic, as well as to continue with institutional surveillance systems.

Information on the impact of COVID-19 on the incidence of bacteremia comes from single or multicenter cohorts. In general, low rates of bacteremia are reported in these patients, although very heterogeneous numbers ranging from 3 to 68% have been described, depending on the selected cohort [160-169]. The rate of bacteremia appears to increase in patients who have more severe disease and require ICU admission [162, 163, 170]. COVID-19 had a particular impact on catheter-related BSI (CR-BSI), which, after steadily decreasing in the pre-pandemic years [171-173], suffered an alarming 24% (and up to 50% in ICU) increase in incidence during the pandemic [174, 175]. In our institution we observed an increase in CR-BSI from 1.89 to 5.53 episodes per 1,000 hospitalizations between 2019 and 2020 [176].

Conclusion:

We cannot establish that there is a clear increase or change of trend in the incidence of bacteremia in the last ten years. The COVID-19 pandemic could have caused an increase in episodes of bacteremia, fundamentally those originating in intravascular catheters.

2. Has the mortality of bacteremia changed in recent years?

Most of the available information on mortality rates has been extrapolated from multicenter cohorts, and the available population-based studies provide very disparate results (**Table 1**). This variability depends on multiple factors, such as the design of the studies, the population selected, the incidence of bacteremia, the causative microorganism, or the different definitions used (sepsis vs. bacteremia).

It has been estimated that mortality of patients with bacteremia reaches 250,000 deaths annually in North America and Europe combined [24]. According to the results of population-based studies published since 2010 (**Table 1**), the current global mortality rate for bacteremic episodes is approximately 21-32 deaths per 100,000 population, although the data are very heterogeneous [113, 116, 118, 121, 157, 159]. These numbers are not very different from previous estimates [19, 30, 177, 178].

The data are highly variable depending on the site of acquisition, with numbers ranging from 10-19% for community-onset bacteremia, to 17-28% for nosocomial-acquired episodes [21, 112, 116, 157, 179]. It reaches up to 35-50% in patients with septic shock or admitted to intensive care units [180-182].

In the case of the elderly population, a 30-day mortality rate of 22% and an annual mortality of 133 per 100,000 inhabitants have been described [183]. A 19.5% mortality rate has been estimated in nursing-home populations in a study from Spain [112].

Conclusion:

Bacteremia-associated mortality remains significantly high, but there is no convincing evidence of an increase in the last ten years.

3. Has the etiology of bacteremia changed in recent decades?

E. coli and *S. aureus* are the most frequent microorganisms causing bacteremia [35, 184], with the incidence of *E. coli* [155] probably being higher nowadays (Table 2). The etiology varies according to the site of acquisition, such that *S. aureus* and *P. aeruginosa* are associated with the healthcare setting, whereas *S. pneumoniae* and *E. coli* are usually associated with community onset [35, 112, 155].

Although, according to epidemiological surveillance programs, there seems to be an increase in bacteremias caused by Gram-negative bacilli (GNB) in general and *E. coli* in particular [35, 124, 125], the available information is, again, very heterogeneous [35, 112, 113, 125, 128, 157, 185, 186]. At our institution, between 2019-2021, the incidence of Gram-positive bacteremia has been reported to range between 13.8-17.2 episodes per 1,000 admissions, compared to 18.4-19.1 episodes per 1,000 admissions for GNB (unpublished data).

The reduction in the incidence of *S. aureus* and *S. pneumoniae* can be attributed to prevention campaigns in hospitals and to the application of pneumococcal vaccines, respectively [35].

The evidence is more robust in terms of the evolution of resistance phenotypes, highlighting a stabilization or decline in the proportion of episodes caused by resistant Gram-positive pathogens, mainly methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA)

[35, 126-128, 187], and an increase in those caused by multidrug-resistant GNB (MDR-GNB) [35]. The increase of bacteremias produced by MDR-GNB coincides with the global expansion of ESBLs [188] and carbapenemases [189], with *Klebsiella pneumoniae* being the most frequent carbapenem-resistant Gram-negative bacteria causing bacteremia [190, 191], although there is considerable geographical heterogeneity in the prevalence of these enzymes.

Conclusion:

***E. coli* seems to be the main cause of bacteremia at present, but current data do not allow to define a clear generalized change in the trend of Gram-positive and Gram-negative episodes. There is evidence pointing to a decrease in MRSA cases and a progressive increase in MDR-GNB, with differences according to the geographical area.**

4. What are the fundamental indications and the ideal time to obtain blood cultures?

Although the diagnosis of bacteremia depends directly on the results of blood cultures, the information offered by guidelines regarding the indications for their extraction is very limited, with imprecise information that has not been reviewed recently [192] or without specific recommendations in this regard [193] (**Table 3**). Moreover, clinical variables that usually guide the indication of blood cultures, such as fever or the presence of leukocytosis, do not correctly predict the presence of bacteremia in immunocompetent patients [68, 194].

Different models that attempt to predict the presence of bacteremia have been proposed [195, 196] (although they are not implemented in clinical practice nor are there currently data to evaluate their safety or cost-effectiveness [197]), as well as algorithms that propose the extraction of blood cultures according to the pretest probability of bacteremia [68, 198], in an effort to obtain the maximum cost-effectiveness of the test.

In our opinion, it is not advisable to make a very restrictive use of blood cultures, given the critical importance of the diagnosis of bacteremia. Blood culture is an inexpensive, very specific and practically harmless test, patient's treatment and prognosis depend on its result, and it has epidemiological importance. We believe that the greater probability of obtaining false positive results can be overcome with a good extraction methodology, and that the associated costs are offset by the importance of the information provided by a positive result. Thus, we agree with the broader recommendations to obtain blood cultures of some societies [3, 192], which also include the presence of fever, chills, hypothermia or sudden decay in neonates and the elderly or a clinical deterioration that justifies a hospital admission not justified by other causes.

The time of blood culture collection does not seem to be a decisive factor in its cost-effectiveness, which does not depend on its coincidence with fever spikes, which can occur within 1-2 hours of bacteremia [199, 200]. Therefore, their extraction should not be postponed, especially in situations of sepsis. Although it is common to draw blood cultures with an arbitrary time separation of 10-30 minutes, Li et al. [201] did not observe increased performance when drawing blood

cultures simultaneously or at different intervals over a 24-hour period. Unless attempting to document ongoing bacteremia for suspected endovascular infection, cultures can be drawn simultaneously [66].

Conclusion:

The indications for obtaining blood cultures should be re-discussed and clarified by the scientific societies most concerned. We are not in favor of a restrictive use of blood cultures, nor do we believe that they should be limited to febrile episodes. Current predictive models are still based on speculation and not in the complex reality of daily clinical practice.

5. How many blood cultures should be taken routinely and what volume of blood should be obtained?

Assuming that a blood culture set is usually composed of two bottles per venipuncture (one for aerobic microorganisms and one for anaerobes), it is generally recommended that two to four sets be drawn, with at least 40-80mL of blood in total (i.e. 20-30mL of blood per set, with 10mL per bottle, depending on the manufacturer). Unfortunately, current guidelines are often not specific as to the volume and number of bottles that should comprise each set (**Table 4**) [3, 66, 192, 193]. There is less evidence on the ideal volume to extract in the pediatric age, which depends on the age and weight of the patient [66, 202].

Drawing enough volume of blood is the most important factor in improving the performance of blood cultures [69, 70]. Since episodes of bacteremia have been

documented with low concentrations of microorganisms (from 1-10 colony-forming units per milliliter) [203, 204], there is evidence that the larger the volume of blood cultured, the higher the yield of the test [205-211], whose sensitivity can increase on the order of 3% per milliliter of cultured blood [212].

Despite its importance, it has been published that, in daily practice, up to 48% of blood cultures may have insufficient blood volume inoculated [213, 214]. To determine whether sufficient volume has been drawn, visual analysis or weighing of bottles (before and after inoculation) in the laboratory [210, 215] have been used, but these are tedious procedures. Therefore, tools based on different technologies have been developed to estimate the volume of cultured blood while incubating (BACTEC™ FX system, BacT/ALERT®VIRTUO™) with apparent good results [216-218]. However, these tools are currently poorly implemented and their validity and clinical impact should be studied in depth [219].

Regarding the specific number of blood cultures, the extraction of a single set should be avoided in all cases because of its low sensitivity and potential difficulties in the interpretation of results. In a study analyzing the value of drawing three sets, the omission of the third set would result in missing up to 7.5% of bloodstream infections [220]. Therefore, in our institution, the standard of care is the extraction of three sets of blood cultures routinely. Drawing more than three sets of blood cultures is not usually necessary.

Conclusion:

In adults whose hemodynamic situation allows it, three sets of blood cultures should be drawn, ensuring the collection of at least 60mL of blood.

6. In patients in whom blood cultures are taken, is there any evidence on the diagnostic value and the ability to advance the diagnosis of bacteremia of other samples obtained simultaneously with blood cultures?

There is practically no evidence on the simultaneous extraction of samples in parallel to blood cultures to try to predict a positive result, but it is very common to receive blood cultures and other samples in parallel in the laboratory. Since it is necessary to wait for the growth of microorganisms in blood cultures to guide antibiotic treatment, it is worth considering whether the information provided by those other biological samples could be used.

In our institution, rapid urine testing has been useful in patients with simultaneous referral of blood and urine samples to the laboratory [221]. Our data show that the presence in urine of microorganisms visible with a Gram stain doubles the possibility of having positive blood cultures in the next hours and could provide guidance on the etiology. In addition, there is evidence that in patients with bacteremic urinary tract infections in whom the same pathogen is isolated in both samples, urine culture susceptibility results correctly predict blood culture results [222], allowing fast targeted antibiotic treatment. We couldn't find any studies analyzing other types of samples, which could help to identify and treat bacteremic infections sooner.

Conclusion:

There is a need for studies evaluating the contribution of a rapid examination of samples simultaneously submitted with blood cultures to microbiology departments.

7. Compared to conventional blood culture identification, is there a positive clinical impact associated with the use of MALDI-TOF and other rapid techniques?

Since the introduction of molecular and proteomic bacterial diagnostic methods, there is increasing evidence of the usefulness of these techniques. Rapid techniques (RTs) include tests such as PCR (polymerase chain reaction), MALDI-TOF MS (matrix-assisted laser desorption/ionization-time off light mass spectrometry) or PNA-FISH (peptide nucleic acid fluorescent in situ hybridization), which provide results in less than 2 hours. These techniques allow shortening the time needed to identify microorganisms from sample receipt compared to conventional blood culture analysis [223]. In a meta-analysis of their clinical impact [224], RTs are associated with significant decreases in mortality in the presence of an antimicrobial stewardship (AMS) team, but not in its absence. In our opinion, although they pose an important benefit, their actual clinical impact and cost-effectiveness has not yet been analyzed in depth.

MALDI-TOF systems are one of the most widespread tools in recent years. Most evidence on the clinical impact of this procedure comes from retrospective observational studies, and few studies have a prospective design or use a comparator (**Table 5**) [225-232]. The potential benefit of this technique, including

lower mortality [226, 228], is associated with the existence of an AMS team in most cases. For complex patients, such as critically ill or immunosuppressed, the evidence of efficacy for these techniques is lower [233].

The use of molecular tests, such as those based on PCR panels, have also been shown to be useful in achieving a shorter time to appropriate treatment and to guide de-escalation strategies [234, 235].

Conclusion:

There is insufficient evidence on the clinical impact of routine use of MALDI-TOF and other RTs in patients with bacteremia. The benefit lies in the combination of the technique results and rapid expert information to the clinicians by a specialized team.

8. Are there any automated incubation systems for blood cultures clearly superior to others?

The introduction of automated incubation systems and continuous monitoring of blood cultures led to a significant improvement in the efficiency of these processes compared to manual methods. Currently, the most widely used systems are BacT/Alert® VIRTUO™, BD BACTEC™ FX and, to a lesser extent in Europe, VersaTREK, with some differences among them.

The only study that directly compares these three systems is by Yarbrough et al. [236], using simulations of blood cultures under standardized conditions with the

same inoculum for all three systems, also comparing time to positivity (TTP) in different volumes and culture media. In this study, VIRTUO detected the main causes of bacteremia earlier, although it also showed a higher TTP for *B. fragilis* and failures in the detection of *K. kingae*.

Although most studies seem to reflect lower TTP with VIRTUO for most microorganisms [237-239], they are performed under standardized conditions, using simulations, and the results are not uniform [240].

Conclusion:

The clinical impact of the different automatic growth detection systems in blood cultures has not been adequately studied and their advantages and disadvantages are usually deduced from laboratory tests.

9. Should blood culture incubation be maintained for five days before being discarded?

With the evolution of automated blood culture systems, a five-day incubation period is now recommended for most commercial systems [66, 192] and incubation for seven or more days is not necessary [241]. However, certain microorganisms, such as mycobacteria and dimorphic fungi, may require prolonging this period [193].

Although infective endocarditis guidelines [100, 108] do not recommend a specific incubation time and suggest that detection of fastidious microorganisms, such as the HACEK group (*Haemophilus*, *Aggregatibacter*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, and

Kingella) may require prolonging this period, there is evidence that these could be detected with a five-day period with current systems [242, 243]. The information on incubation time for *Brucella* spp. is more heterogeneous [244-246], but it is currently assumed that the standard five-day period is sufficient.

The evidence is not favorable to extending the incubation period generally, although some authors propose lengthening this period in specific circumstances, such as men carrying prosthetic material at risk of *C. acnes* infection [149, 247, 248].

On the other hand, optimizing blood culture incubation time may be an important factor in avoiding unnecessary antimicrobial treatments, reducing laboratory workload, and improving antibiotic policies. In the study by Ransom et al. [249], a four-day period was sufficient to detect the vast majority of microorganisms, and only 0.11% of blood cultures were positive after four days of incubation. There is already some evidence in favor of reducing this period below five days [166, 249-252], although it comes from retrospective studies using different culture systems and media, as reflected in **Table 6**.

Conclusion:

A five-day incubation period is sufficient to detect the vast majority of microorganisms, and only in individual cases should its extension be considered. In our opinion, there is insufficient data to recommend a reduction of the incubation time below five days at present.

10. Can time to positivity of blood cultures be a predictor of etiology or prognosis of bacteremia?

Time to positivity (TTP) is defined as the time from start of incubation to the detection of growth by an automated system, and it provides indirect information on the bacterial inoculum: theoretically, the higher the bacterial load, the higher the growth rate and the lower the TTP. Its main use at present is in the diagnosis of catheter-related bacteremia, and other potential uses of this determination are being investigated, as a marker of severity and predictor of the etiology of bacteremia, or to guide de-escalation treatments; but the evidence is currently contradictory and heterogeneous (**Table 7**).

A recent meta-analysis concludes that a short TTP is a prognostic marker associated with mortality and septic shock, applicable for most analyzed species except *Candida* spp., but it has substantial limitations [253]. Although there is evidence in favor of TTP being associated with worse prognosis in bacteremia due to *S. aureus* [254, 255], *E. coli* [256], *S. pneumoniae* [257], *P. aeruginosa* [258], or *K. pneumoniae* [259], not all cases have been able to demonstrate this association between TTP and mortality [260]. Furthermore, a linear relationship is not always found, with a worse prognosis being described with both short and long TTP for *S. aureus* [261], and with long TTP for *C. albicans* [260, 262].

A possible association between TTP and etiology has been described for *S. pneumoniae*, beta-hemolytic streptococci, *E. coli*, *Klebsiella* spp. and *S. aureus* [263], as well as for *P. aeruginosa* [264]. TTP has also been associated with the

presence of endocarditis in cases of bacteremia by *S. aureus* [265], *E. faecalis* [266] and *A. baumannii* [267], but not by non-beta-hemolytic streptococci [268].

The use of TTP has important limitations (such as different definitions of what is considered a short or long TTP) and is related to multiple confounding factors (such as the volume of blood drawn or the time between collection and start of incubation) that have not been analyzed in most studies. In addition, variability of TTP depending on blood culture incubation systems has also been described [236]. The heterogeneity of the literature, as well as the absence of evidence on its real clinical impact, limit the use of TTP in daily clinical practice, although it is likely that it may be useful in the future.

Conclusion:

Currently, the use of TTP to predict severity and etiology of bacteremia is controversial, and it requires a careful evaluation.

11. In which cases are follow-up blood cultures indicated after initiating appropriate treatment?

Follow-up blood cultures (FUBC) are recommended in cases of infective endocarditis (IE) [100, 108] or endovascular infection (such as pacemaker infection, catheter infection or septic thrombophlebitis) [269], as well as candidemia [270] or bacteremia due to *S. aureus* or *S. lugdunensis*. Their extraction is also reasonable in other clinical circumstances, such as patients at high risk of endovascular infection, suspected central nervous system infection or

in areas difficult to access for antimicrobials, or in the presence of poor evolution despite appropriate treatment, among others.

In the case of Gram-positive microorganisms, there is evidence that justifies the extraction of FUBC in the presence of *S. aureus* bacteremia [271] due to its high virulence and capacity to produce persistent bacteremia. The same recommendations are made for *S. lugdunensis* [272]. Evidence for the rest of Gram-positives is scarce. FUBCs have limited utility in streptococcal bacteremia, and their collection should be limited in patients at low risk for deep infections, persistent bacteremia or endovascular infection [273].

The usefulness of FUBC in Gram-negative bacilli bacteremia has been evaluated in multiple studies recently [274], with very heterogeneous results. There are several cases where FUBC would have little value due to the low probability of obtaining positive cultures, which was estimated to range between 5-10.9% [275-277]. However, these studies have important limitations, including small heterogeneous populations [275, 276], or assessing only episodes produced by *K. pneumoniae* [278] or bacteremias with urinary tract focus [279]. In contrast, in other studies the cost-effectiveness of FUBC reached 38.5% [280] and their collection was associated with lower mortality [280, 281]. Some tools have been proposed to identify those patients with GNB bacteremia at higher risk in whom FUBC should be performed [277, 281, 282].

In some cases such as *Pseudomonas* spp., FUBC are usually negative if adequate focus control is obtained, but these are small series [283], and there is little

evidence about their usefulness in bacteremia due to other microorganisms such as *Stenotrophomonas* or *Acinetobacter* [198].

Conclusion:

Follow-up blood cultures are recommended in bacteremia due to *S. aureus*, *S. lugdunensis*, and candidemia, or in cases of uncontrolled infection. In all other cases, the evidence is controversial.

12. In patients with an endovascular catheter and no clinical suspicion of catheter-related bloodstream infection, can blood cultures be drawn from the catheter?

When obtaining blood cultures, it is recommended that blood should be drawn by direct venipuncture and extraction from the catheter should be avoided [3, 70, 284], unless catheter-associated infection is suspected. However, in clinical practice it is common to draw blood from the catheter in certain clinical scenarios (such as patients with poor peripheral venous access or with multiple episodes of blood collection), or to draw one set of blood cultures from the catheter and another from venipuncture, because it is a less difficult and uncomfortable process for the patient.

The recommendation not to obtain blood cultures from the catheter is based on the results of studies that point to higher false positive rates in blood cultures obtained from the catheter. In a systematic review and meta-analysis [284], all

nine studies analyzed offer lower contamination rates with extraction via venipuncture.

In a systematic review of six studies [285], blood cultures obtained from the catheter have higher sensitivity and negative predictive value than those obtained by venipuncture, but also have lower specificity and positive predictive value. According to this study, out of 1,000 patients whose blood cultures are obtained from a catheter, 8 more cases of bacteremia would be detected than if they were obtained by venipuncture (103 versus 96), but 59 cases would also be incorrectly diagnosed (84 versus 25). Its higher sensitivity makes some authors consider obtaining at least one set of blood cultures from the catheter [285, 286].

Conclusion:

Blood cultures should not be drawn from an endovascular catheter unless catheter-associated infection is suspected. Their extraction from the catheter in certain circumstances requires a very careful interpretation of results.

13. What is the diagnostic approach in patients with endovascular catheters and suspected catheter-related bloodstream infections (CR-BSI)?

In case of suspected CR-BSI, the latest SEIMC guidelines recommend obtaining at least two sets of blood cultures, one from peripheral venipuncture and one from the catheter, drawing blood from all lumens in case of multi-lumen catheters

[287], while other guidelines do not specify this recommendation [288]. There are several studies that support obtaining blood from all catheter lumens [289, 290], being equally effective the extraction from several lumens for the same culture as the extraction of a culture from each lumen [291]. In one of these studies, performed at our institution [289], if two cultures for triple-lumen catheters were eliminated, up to 37.3% of CR-BSI episodes would have been missed.

Indirect markers, such as differential time to positivity (TTP), or quantitative methods can be used to diagnose CR-BSI. Differential TTP has been implemented as the main diagnostic tool, and positivity of blood cultures obtained from a catheter 120 minutes or more apart from a culture obtained from peripheral puncture is highly suggestive of CR-BSI. The use of this cutoff point has a sensitivity and specificity of 72-96% and 90-95%, respectively [292, 293]. However, there is uncertainty about its usefulness in critically ill patients [294] and in the case of certain microorganisms, such as *S. aureus* [295, 296] or *Candida* sp. [297]. Therefore, the status of the host and the microorganism causing the infection must be considered, and a negative result does not exclude the diagnosis.

The reference quantitative methods are based on lysis-centrifugation procedures, being suggestive of CR-BSI if a 3-fold higher colony count is observed in the sample obtained from the catheter. Although it offers good results, it is a relatively complex and laborious technique, and it requires the sample to be processed in 20-30 minutes from blood inoculation [287], so its use is infrequent.

Conclusion:

If CR-BSI is suspected, blood culture collection from all catheter lumens should be taken in parallel with blood from peripheral veins. A differential TTP ≥ 120 minutes in blood cultures taken through the catheter lumen and peripheral veins is highly suggestive of catheter-related infection of bacterial etiology.

14. Should a blood culture request constitute a sepsis alert?

Prompt recognition of sepsis and early use of appropriate antibiotic therapy have been shown to reduce mortality from sepsis [15]. Assuming that a request for blood cultures implies a suspicion of bacteremia and a potential septic episode, it is pertinent to ask whether the simple request for blood cultures should in itself constitute a sepsis alert in an institution.

It is noteworthy that the literature is practically non-existent regarding the potential implied value of a blood culture request in itself. Currently, both clinical guidelines and current recommendations on the implementation of the sepsis code only recommend early blood culture collection [15, 298].

We are only aware of one study analyzing this aspect [299]. In this prospective study, conducted at our institution, a telephone interview from the Microbiology department after receipt of blood cultures was generally well received and was associated with better recognition of sepsis, optimization of antimicrobial treatment and lower associated costs. We observed that medical and nursing staff outside the intensive care unit tend to underestimate the presence of sepsis, even if blood cultures have been requested.

In our opinion, not only should attention be paid to a positive blood culture result, but its request alone should be considered an alert for sepsis. Further studies are needed on the appropriateness of implementing a sepsis alert from the Microbiology Department upon receipt of a simple blood culture request.

Conclusion:

A request for blood cultures should constitute a sepsis alert. A phone call from the Microbiology Department can contribute to the better recognition and clinical management of sepsis.

15. What is the best method of transmitting information from the microbiologist to the physician in charge of the patient in the event of a positive blood culture result?

Obtaining a positive blood culture result can have a major clinical impact. There are studies on the usefulness of the preliminary information provided by the Gram stain [300]. However, it is surprising that the best way to deliver this information has not been analyzed in depth.

In a clinical trial [301], communication of results through written reports in the patient's medical record, and oral communication at the bedside along with clinical advice, were significantly associated with a higher proportion of appropriate treatment days and lower economic costs with respect to simply issuing a report, although no associated shorter hospital stay or mortality could be demonstrated.

Although controversial and scarce, there is evidence in favor of a presential assessment by the infectious diseases specialist over a telephone assessment [302, 303]. In our opinion, the person and method of transmitting blood culture results is also relevant. Although the ideal method probably involves active presential communication by an infectious disease specialist providing clinical support, studies directly comparing the clinical impact and cost-effectiveness of different procedures of communicating this information are lacking.

Given that each day of delay until definitive blood culture information is available is associated with an increase in mortality of 1.2 times per day [301], analyzing the clinical impact of different methods of transmitting information to optimize this process would influence the management of patients with bacteremia and should be considered an issue in future research.

Conclusion:

The limited evidence available suggests that there is a clinical benefit associated with the active communication of results of a positive blood culture, either orally or in writing, compared to only issuing a conventional report.

TABLES

Table 1. Estimated incidence of bacteremia and site of acquisition, according to population-based studies published since 2010.

(ver página siguiente)

Leyenda:

CA: community associated bloodstream infection. HCA: healthcare associated bloodstream infection. HA: hospital-acquired bloodstream infection. ^aIn-hospital case fatality rate, ^b30-day case fatality rate, ^cmortality per 100,000 person-years, ^dmortality per 100,000 admissions.

IV. RESULTADOS

Reference	Period	Country	Overall incidence		Community acquired	Health-care related acquisition	Nosocomial acquisition	Mortality
			x100.000 inhabitants	x1.000 admissions				
Søgaard [157]	1992-2006	Denmark	114-166	-	45.1-53.3%	8,4-19,6%	35-38.4%	20,6-22,7% ^b
Wilson [158]	2004-2008	England	189	-	-	-	-	-
Skogberg [113]	2004-2007	Finland	159 (149-168)	-	-	-	-	13% ^b 20.8 (19.2-21.6) ^c
Laupland [114]	1998-2005	Canada	101.2	-	-	-	-	13% ^a
Nielsen [115]	2000-2008	Denmark	215.7 (198-254)	-	99 (x100,000 person-years)	50 (x100.000 personas-año)	66.7 (x100,000 person-years)	-
Holmbom [116]	2000-2013	Sweden	169-265	9.4-15.4	67%	-	33%	12.8% ^b 10.6% CA-BSI ^b 17.2% HA-BSI ^b 142-205 ^d
Laupland [117]	2010-2015	Canada	117.8	-	48.6 (x100,000)	69.2 (x100,000)	-	10.6% ^a 12.7% HCA-BSI ^a 7.6% CA-BSI ^a
Mehl [118]	2002-2013	Norway	215	-	102 (x100,000 person-years)	85 (x100,000 person-years)	30 (x100,000 person-years)	32 ^c
Buetti [119]	2008-2014	Switzerland	220 (211-240)	-	-	-	-	-
Rhodes [120]	2007-2014	Thailand	110	1.3	89%	-	9,9%	-
Kontula [121]	2004-2018	Finland	216 (150-309)	-	29%	71%	-	13% ^b 28 ^c
Verway [122]	2017	Canada	150	-	17.1%	1.1%	81.8%	17% ^b

Table 2. Most relevant microorganisms in bacteremia according to population-based studies published since 2010.

Reference	Period	Country	Most frequent etiology (in order of frequency)	Comment
Søgaard [157]	1992-2006	Denmark	1. <i>E. coli</i> 2. <i>S. aureus</i> 3. <i>S. pneumoniae</i>	- Significant increase in urinary and intra-abdominal infection. - Rise in <i>E. coli</i> episodes. - No change in the prevalence of Gram-positive infections.
Wilson [158]	2004-2008	England	1. <i>E. coli</i> (23%) 2. CNS (16.9%) 3. <i>S. aureus</i> (11.4%)	- <i>E. coli</i> increased by 33% during this period. - Increase in bacteremia due to GNB. - Decrease of <i>S. aureus</i> .
Skogberg [113]	2004-2007	Finland	1. <i>E. coli</i> (27%) 2. <i>S. aureus</i> (13%) 3. <i>S. pneumoniae</i> (9%)	- No significant changes in trends in Gram-positive and Gram-negative infections. - Important gender-associated differences.
Laupland [114]	1998-2005	Canada	1. <i>E. coli</i> (32x10 ⁵ patient-years) 2. <i>S. aureus</i> (15.5x10 ⁵ patient-years) 3. <i>S. pneumoniae</i> (10.2x10 ⁵ patient-years)	- Only evaluates community acquired bacteremia.
Nielsen [115]	2000-2008	Denmark	1. <i>E. coli</i> (28.3%) 2. <i>S. aureus</i> (12.3%) 3. CNS (10%) 4. <i>S. pneumoniae</i> (9.1%)	- Decrease in CNS bacteremia. - Decrease in <i>E. coli</i> bacteremia - Increase of enterococcal bacteremia.
Holmbom [116]	2000-2013	Sweden	1. <i>E. coli</i> 2. <i>S. aureus</i> 3. CNS	- Increase of <i>E. coli</i> and <i>S. aureus</i> by 126% and 77%, respectively.
Laupland [117]	2010-2015	Canada	1. <i>E. coli</i> (37%) 2. <i>S. aureus</i> (16%) 3. <i>S. pneumoniae</i> (6%)	- Increase in bacteremias due to enterococcus, <i>Pseudomonas</i> and enterobacteria other than <i>E. coli</i> - Decrease in episodes due to <i>S.</i>

IV. RESULTADOS

				<i>viridans</i> in nosocomial acquired bacteremias.
Mehl [118]	2002-2013	Norway	<ol style="list-style-type: none"> 1. <i>E. coli</i> 2. <i>S. pneumoniae</i> 3. <i>S. aureus</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Increase in bacteremias due to GNB and <i>E. coli</i>. - Decrease in Gram-positive bacteremia.
Buetti [119]	2008-2014	Switzerland	<ol style="list-style-type: none"> 1. <i>E. coli</i> 2. <i>S. aureus</i> 3. GNB (other than <i>E. coli</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> - Rise of bacteremias due to <i>E. coli</i>, GNB and enterococci. - Stable incidence of <i>S. aureus</i>.
Rhodes [120]	2007-2014	Thailand	<p>Community-acquired:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <i>E. coli</i> 2. <i>K. pneumoniae</i> 3. <i>Burkholderia pseudomallei</i> <p>Hospital-acquired:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <i>E. coli</i> 2. <i>Acinetobacter spp.</i> 3. <i>K. pneumoniae</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Performed in rural areas - Frequent isolation of ESBLs in <i>E. coli</i> and <i>Acinetobacter spp.</i> - No clear trend in MRSA
Kontula [121]	2004-2018	Finland	<ol style="list-style-type: none"> 1. <i>E. coli</i> (29%) 2. <i>S. aureus</i> (13%) 3. CNS (8%), Streptococcus B-hemolyticus (8%) 4. <i>S. pneumoniae</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Significant increase in the incidence of bacteremia due to <i>E. coli</i> - Low proportion of BMR bacteremia, but with an upward trend, especially due to an increase in ESBL <i>E. coli</i>.
Verway [122]	2017	Canada	<ol style="list-style-type: none"> 1. <i>E. coli</i> (26.9%) 2. <i>S. aureus</i> (15.9%) 3. CNS (9.2%) 4. <i>Klebsiella spp.</i>(8.2%) 	<ul style="list-style-type: none"> - No data on antibiotic susceptibilities to differentiate the burden of susceptible from resistant pathogens.

CNS: Coagulase-negative streptococci; GNB: Gram-negative bacilli; MRSA: Methicillin-resistant *S.*

aureus;

Table 3. Specific indications for blood culture extraction in clinical guidelines.

Reference	Fever or hypothermia	Leukocytosis or leukopenia	Neutropenia	Clinical deterioration	Extreme ages
SEIMC [3]	Yes	Yes	No	Yes	Yes
ASM Cumitech [192]	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
CLSI [66]	Yes	Yes	Yes	No	No
IDSA, ASM [193]	No specific recommendations				

SEIMC: Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology; ASM Cumitech: American Society for Microbiology Cumitech 1C, Blood Cultures IV; IDSA, ASM: Infectious Diseases Society of America, American Society for Microbiology; CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Table 4. Recommendations on the number of blood cultures and volume of blood to be drawn in blood cultures.

Reference	Year	Recommended volume	Recommended number of blood cultures
ASM Cumitech [192]	2005	20-30 mL per set	2-4 sets
CLSI [66]	2022	20-30 mL per set	2-3 sets
SEIMC [3]	2017	10-20 mL per set	2-4 sets
IDSA [193]	2018	20-30 mL per set	2-4 sets

ASM Cumitech: American Society for Microbiology Cumitech 1C, Blood Cultures IV; CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute; SEIMC: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica; IDSA: Infectious Diseases Society of America.

Table 5. Studies analyzing clinical impact of MALDI-TOF with prospective design or using a comparator.

Reference	Year	Design	Result	Comment
Vlek et al. [225]	February-April 2010	Prospective comparative study.	<ul style="list-style-type: none"> - Reduction of species identification time by 28.8 hours. - Increase of 11.3% in the proportion of patients with appropriate treatment. 	<ul style="list-style-type: none"> - Does not evaluate mortality or cost-effectiveness
Huang et al. [226]	September - November 2012	Pre-post quasi-experimental study.	<ul style="list-style-type: none"> - MALDI-TOF and PROA reduces microorganism identification time and time to effective treatment. - Mortality, length of stay and recurrent bacteremia were lower in the intervention group. 	<ul style="list-style-type: none"> - Integration with antimicrobial stewardship (AMS) team.
Clerc et al. [227]	2010	Prospective, observational	<ul style="list-style-type: none"> - MALDI-TOF had an impact on 35% of Gram-negative bacteremia cases. 	<ul style="list-style-type: none"> - Single arm. - Does not evaluate hospital stay, clinical impact or mortality.
Perez et al. [228]	2012-2013	Quasi-experimental study.	<ul style="list-style-type: none"> - Reduced time to optimal and effective treatment, shorter hospitalization time, lower mortality and estimated lower associated costs. 	<ul style="list-style-type: none"> - Integration with AMS team.
Verroken et al. [229]	2013-2014	Prospective comparative study with two sequential intervention periods.	<ul style="list-style-type: none"> - Reduced time to identification and time to optimal treatment 	<ul style="list-style-type: none"> - Integration with AMS team.
Lockwood et al. [230]	2014	Prospective comparative study.	<ul style="list-style-type: none"> - Reduced time to identification and time to optimal treatment 	<ul style="list-style-type: none"> - Integration with AMS team.
Osthoff et al. [231]	2014-2015	Prospective, open-label, controlled clinical trial	<ul style="list-style-type: none"> - Reduced treatment of contaminated blood cultures - Shorter time to active 	<ul style="list-style-type: none"> - Integration with AMS team.

IV. RESULTADOS

			treatment and admission to ICU in intervention group	
O'Donnell et al. [232]	2015	Pragmatic, controlled clinical trial	- Shorter time to definitive treatment, shorter antibiotic therapy and shorter hospital stay	- Integration with AMS team.

Table 6. Summary of a sample of studies proposing a reduction of the 5-day incubation time

Reference	Year	Country	Design	System	Number of samples	Results and comments
Ransom et al. [249]	2018-2019	United States	Retrospective	- BacT/Alert Virtuo (FA Plus and FN plus bottles)	158,710	- No benefit is observed in prolonging incubation longer than 4 days, including simulation with HACEK group.
Sepulveda et al. [166]	January-March 2020	United States	Retrospective	- Bactec FX - VersaTrek	88,201	- No benefit is observed in prolonging incubation for more than 4 days, detecting 98% of microorganisms. - Conducted with a large proportion of COVID-19 patients, with a possible low proportion of bacteremia.
Bourbeau et al. [250]	N/A (30 months)	United States	Retrospective	- BacT/Alert (FA and FN bottles)	35,500	- 3 days may be sufficient for detection of bacteria and fungi. - Use a specific type of media only.
Bourbeau et al. [251]	N/A (18 months)	United States	Retrospective	- BacT/Alert (FAN bottles)	17,887	- 3 days may be sufficient for detection of bacteria and fungi. - Use a specific type of media only.
Doern et al. [252]	1994-1995	United States	Retrospective	- Difco ESP	7,362	- No decrease in the detection of microorganisms is observed when decreasing to 4 days, except for <i>K. pneumoniae</i> .

Table 7. Representation of the heterogeneity of results and methodology of a selection of recent studies on the usefulness of time to blood culture positivity as a predictor of severity.

Reference	Country	Type of study	Result	Comment
Hsieh et al. [253]	Multinational	Meta-analysis	A short time to positivity (TTP) was associated with higher mortality and septic shock in some bacterial species, but not in <i>Candida</i> .	- Notable biases, presence of heterogeneity, mixing of pediatric and adult populations, important confounding factors not assessed, meta-regression analysis not significant.
Hamilton et al. [260]	United Kingdom	Prospective multicenter cohort study.	TTP not associated with mortality except in <i>Candida</i> (elevated TTP) and possibly in <i>Streptococcus</i> .	- More methodological soundness than most studies (includes time to incubation). - Limitations: does not assess time to effective treatment, small samples in some groups.
Siméon et al. [265],	France	Prospective multicenter cohort study.	A short TTP is related to mortality and to the presence of endocarditis in <i>S. aureus</i> bacteremia.	- Some limitations: small sample, blood culture systems used, does not analyze blood culture volume.
Kim et al. [261]	Canada	Retrospective study	Elevated TTP is associated with mortality in <i>S. aureus</i> bacteremia.	- Some limitations: retrospective, does not have detailed clinical information, does not analyze foci of infection, does not analyze antibiotic treatment.
Oldberg et al. [266]	Sweden	Retrospective observational study	No association was observed between TTP with mortality or the presence of endocarditis in <i>E. faecalis</i> bacteremia.	- Some limitations: retrospective study, transesophageal echocardiogram not performed in all patients, does not include patients under treatment, does not analyze blood culture volume.

4.2 RESULTADOS DEL OBJETIVO 2

4.2.1 Abstract

Introduction: The epidemiological evolution of bloodstream infections in the last decade is not clearly defined. Our aim was to analyze the changes in the workload in our institution and to describe the evolution of the incidence and etiology of bloodstream infections in a 12-year period, including the COVID-19 pandemic.

Methods: All blood cultures received in the laboratory of a tertiary general hospital between 2010 and 2021 were analyzed. Bloodstream infection episodes refers to each episode of bacteremia or fungemia in each patient. Incidence rates per 1,000 admissions and per 100,000 population were calculated.

Results: No significant changes in the incidence of bloodstream infection episodes/1,000 admissions were observed (mean, 31.1), while estimated population-based incidences showed declining trends (mean, 182.8/100,000 inhabitants). There was a slight increase in bloodstream infection episodes per 1,000 admissions caused by Gram-negatives (mean, 16.6/1,000 admissions) and *E. coli* was the most frequent pathogen (mean, 8.5/1,000 admissions). There was no significant rise in episodes caused by ESBL- and carbapenemase-producing *E. coli* or *K. pneumoniae*, with a decline in those caused by methicillin-resistant *S. aureus*. A spike in bloodstream infection episodes, fungal bloodstream infections and catheter-related infections was detected in 2020, during the COVID-19 outbreak.

Conclusion: No clear increase in the incidence of bloodstream infection episodes was detected in our center over this period. Gram-negatives are the most frequent etiology, with no clear rise in antimicrobial resistance phenotypes. The COVID-19 pandemic accounted for a small increase in bloodstream infection episodes in 2020, probably related to the increase of catheter-related infections.

4.2.2 Resumen

Introducción: La evolución epidemiológica de la infección endovascular en la última década no está claramente definida. Nuestro objetivo fue analizar los cambios en la carga de trabajo en nuestra institución y describir la evolución de la incidencia y etiología de las infecciones endovasculares en un periodo de 12 años, incluyendo la pandemia COVID-19.

Métodos: Se analizaron todos los hemocultivos recibidos en el laboratorio de un hospital general terciario entre 2010 y 2021. Cada episodio de infección endovascular hace referencia a cada episodio de bacteriemia o fungemia en cada paciente. Se calcularon tasas de incidencia por 1.000 ingresos y por 100.000 habitantes.

Resultados: No se observaron cambios significativos en la incidencia de episodios de infección endovascular por 1.000 ingresos (media 31,1), mientras que las estimaciones por 100.000 habitantes mostraron tendencias descendentes (media 182,8/100.000 habitantes). Hubo un leve aumento de los episodios de infección endovascular por 1.000 ingresos causados por Gram-negativos (media 16,6/1.000 ingresos) y *E. coli* fue el patógeno más frecuente (media 8,5/1.000 ingresos). No

hubo ascensos significativos en los episodios causados por *E. coli* o *K. pneumoniae* productoras de BLEE o carbapenemasas, con un descenso en los episodios causados por *S. aureus* resistente a meticilina. Se detectó un pico en los episodios de bacteriemia, fungemia e infecciones relacionadas con catéteres en 2020, durante la pandemia COVID-19.

Conclusión: No se detectó un ascenso significativo en la incidencia de episodios de infección endovascular en nuestro centro durante este periodo. Los Gram-negativos son la etiología más frecuente, sin claro ascenso de los fenotipos de resistencia antimicrobiana. La pandemia COVID-19 provocó un pequeño ascenso en los episodios de infección endovascular en 2020, en probable relación al aumento de infecciones relacionadas con catéteres.

4.2.3 *Artículo 2*

INTRODUCTION

Bloodstream infection (BSI) is an important cause of morbidity and mortality worldwide [24, 304], but information regarding its incidence and epidemiology in recent years is very limited. The most recent information is focused on the evolution of BSI by some specific microorganisms [109], in selected types of patients [110, 111], or covering a short time frame [112]. Data coming from population-based studies in the last 10 years is very heterogeneous [113-122], and information from single institutions is scarce and outdated [123].

Our institution has been recording information on BSI episodes occurring in our center for more than 35 years, and data collected between 1985 and 2006 were previously published [20]. At this point, where the impact of the COVID-19 pandemic is not well characterized and BSI caused by multi-resistant microorganisms has become a global concern in recent years [153], we consider it necessary to update this information [305].

Our aim was to describe the evolution of BSI in our hospital between 2010 and 2021, including the COVID-19 pandemic, by analyzing its changes on incidence and etiology and in the workload it produced in our laboratory. We also attempted to provide population-based incidences per 100,000 inhabitants, an approximate BSI mortality rate, and to define the status of hospital-onset bacteremia as a marker of nosocomial infection in this period.

MATERIALS AND METHODS

Our center is a tertiary teaching hospital currently serving a population of approximately 850,000 inhabitants, with programs for transplant recipients, immunocompromised patients, and all surgical services. The number of available beds has been reduced from approximately 1,750 in 2006 to 1,062 in 2021, although 1,572 beds were made available during the pandemic.

Study period

All blood samples sent for bacterial and fungal culture to our laboratory from January 2010 to December 2021 (12 years) were analyzed, except for episodes caused by *Mycobacterium* species.

Blood culture systems

In our center, three sets of blood cultures are routinely recommended for suspected bacteremia, in order to obtain a total volume of approximately 60mL of blood, to be divided into one bottle for aerobes and one for anaerobes in each set. Positive samples are subcultured and analyzed with Gram stain. Blood culture processing was performed using the BD BACTEC™ FX system throughout the entire period analyzed. The processing of positive blood cultures, identification of isolated microorganisms and antimicrobial sensitivity studies are performed according to standard procedures [3, 66], using MALDI-TOF to identify colonies from subcultures with the Bruker Biotyper System® (Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany). In addition to the antibiogram by the disc diffusion technique, an additional antibiogram is performed by the automated broth microdilution

method (MicroScan®, Beckman Coulter, CA, USA) or by the gradient diffusion method when necessary.

Definitions

The following concepts have been used:

Blood culture: a volume of blood, obtained under aseptic conditions, inoculated into 1 or more bottles for the isolation of microorganisms. Each blood culture set usually consists of two bottles and involves a single venipuncture.

BSI episode: refers to each episode of bacteremia or fungemia in each patient, not to the number of blood cultures. All microorganisms isolated from samples from the same patient within a period of less than one week were considered part of the same episode. The clinical significance of each episode was assessed with the responsible medical team when in doubt.

Contaminating microorganisms: unless proven otherwise, the presence of the following microorganisms in blood were considered as probable contaminants: *Bacillus* species, *Corynebacterium* species (except *C. jeikeium*), *Lactobacillus* species and *Propionibacterium* species. Coagulase-negative staphylococci, viridans group streptococci or *Clostridium spp.* are considered likely pathogens only if recovered from at least two or more samples or in specific clinical situations. Due to difficulties in obtaining samples in neonates, the presence of coagulase-negative staphylococci or other contaminants in the two bottles of a blood culture set is considered significant in this age group. The rest of microorganisms were considered as probable pathogens. In any case, the interpretation of results is based on the recommendations of the Spanish Society of Infectious Diseases and

Clinical Microbiology [3], and all episodes of bacteremia are assessed by our service on an individual basis.

Polymicrobial bacteremia: isolation of more than one microorganism in the same episode of bacteremia.

Catheter-related bacteremia and catheter-related candidemia were defined as a BSI episode where the microorganism isolated from blood cultures coincided with the isolation of the same pathogen from a removed catheter tip culture within a week range.

Hospital-onset bacteremia was defined as an episode of BSI demonstrated in blood cultures taken at least 48 hours after admission to hospital.

The evolution of antimicrobial resistance phenotypes was evaluated for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), vancomycin-resistant enterococci (VRE), extended-spectrum beta-lactamases (ESBL)-producing *Escherichia coli*, and ESBL- and carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* during the study period.

Database

Episodes of significant bacteremia were prospectively recorded in a database on a daily basis by a staff member (CSC), including patient identification, admitting service, date and number of blood cultures taken, date of positivity and number of positive blood cultures, microorganisms identified, antimicrobial susceptibility and HIV diagnosis (if performed).

Statistical analysis

Incidence trends in this period are represented per 1,000 admissions throughout Tables 1-3. The overall incidence of BSI episodes per 1,000 admissions was calculated as the number of episodes detected during the 12 years of the study, divided by the number of admissions (in thousands) of the institution in that period. Population-based trends were calculated similarly per 100,000 inhabitants, using the total number of inhabitants in our area [150]. The evolution of incidence trends was analyzed by simple regression. A p value < 0.05 was considered significant. A sample of 100 BSI episodes was randomly selected to calculate an approximate fatality rate. All analysis were carried out with SPSS 15.0 (SPSS, Chicago, IL).

RESULTS

Evolution of BSI incidence and laboratory workload

Table 1 shows the evolution of the blood culture laboratory workload between 2010 and 2021. A total of 578,741 admissions were recorded in our institution during the 12 years of the study (mean, 48,228 admissions/year). The number of blood cultures obtained/1,000 admissions varied from 725 blood cultures/1,000 admissions in 2010 to 887/1,000 in 2021.

Overall, 57,532 blood cultures detected growth of 1 or more microorganisms (global positivity rate 12.36%), representing 17,938 episodes of significant bacteremia/fungemia (15,149 patients). Of these blood cultures, 1,709 were

considered contaminated (3.0% mean annual rate). In total, 2,037 of the significant BSI episodes were polymicrobial (11.4%).

The incidence of BSI episodes per 1,000 admissions remained stable for most of this period (mean 31.1 episodes/1,000 admissions) (Figure 1). Using data from our previous study [20], evolution of the quinquennial mean number of BSI episodes per 1,000 admissions from 1985 to 2021 is represented in Supplemental Figure 1.

A total of 399 episodes occurred in people living with HIV (2.2% of all BSI episodes), with a decrease from 65 in 2010 to 13 in 2021.

Etiology

Figure 2 represents the evolution of the main groups of microorganisms causing BSI in our institution over the 12 years analyzed. Overall, 45% of the episodes were caused by Gram-positive microorganisms, 47% by Gram-negative, 4% by anaerobes and 4% by fungi.

Gram-positive microorganisms

No major change in the incidence of BSI episodes per 1,000 admissions caused by Gram-positive bacteria was observed, with an annual average of 763.7 episodes (15.8 episodes per 1,000 admissions) (Table 2).

Enterococcus sp. is currently the second most frequent Gram-positive microorganism after coagulase-negative staphylococci, with a mean annual incidence of 163.8 episodes (3.4/1,000 admissions). The proportion of episodes caused by *E. faecium* rose from 30.1% in 2010 to 50.3% in 2021. *S. aureus* had a

mean annual incidence of 139 episodes (2.9/1,000 admissions). The evolution of other Gram-positive bacteria is shown in Table 2.

Gram-negative microorganisms

Gram-negative bacteria showed a slight progressive increase per 1,000 admissions per year (IC_{95%} 0.06 – 0.44, p=0.01), with an annual average of 798.3 episodes (16.6 episodes/1,000 admissions). Table 3 shows the incidence per 1,000 admissions of BSI episodes due to the main Gram-negative agents.

There were 4,899 episodes of BSI due to *E. coli* during this period, with an annual mean of 408.3 episodes (8.5 episodes/1,000 admissions). A slight increase in BSI episodes per 1,000 admissions caused by *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp, and *Citrobacter* spp was observed. *P. aeruginosa* caused 741 episodes, with an annual mean of 61.8 episodes (1.25 episodes/1,000 admissions).

Anaerobic bacteria

An annual mean of 74.8 episodes caused by anaerobic microorganisms was recorded during this period (averaging 1.6 episodes/1,000 admissions per year), with a small rise in episodes per 1,000 admissions (CI_{95%} 0.01-0.09, p=0.017) (Supplemental Table 1). Incidence per 1,000 admissions of episodes caused by Gram-negative anaerobic rods, *Fusobacterium* spp. and Gram-positive rods remained stable.

Fungi

Fungal BSI caused an average of 63.8 episodes per year (1.3 episodes/1,000 admissions), without major changes in the incidence per 1,000 admissions

(Supplemental Table 2). After *C. albicans*, the second most frequent species was *C. parapsilosis* (mean annual incidence 0.3/1,000 admissions).

Evolution of antimicrobial-resistant bacteria

A reduction in the number of episodes caused by MRSA was identified, with no other change in trend for the rest of the species analyzed (Tables 2 and 3). Episodes caused by MRSA decreased from 56 episodes in 2010 to 28 in 2021, representing 24.3% of all episodes caused by *S. aureus* (Supplemental Figure 2). Episodes caused by VRE remained at very low levels throughout the study (Table 2), representing on average 5% of all *E. faecium* isolates in this period (data not shown on tables).

ESBL-producing *E. coli* caused 54 BSI episodes in 2010 and 36 episodes in 2021 (Supplemental Figure 3), accounting for 11.2% and 9.7% of the total BSI episodes caused by *E. coli* (average 11.9%). No ascending trend in episodes caused by ESBL- and carbapenemase-producing *Klebsiella* spp. is identified (Supplemental Figure 4).

Population-based estimated incidences

While the overall incidences per 1,000 admissions have not shown significant changes during the 12 years analyzed, the estimated incidences per 100,000 population show mostly decreasing trends (Supplemental Table 4). The decrease in episodes caused by *S. pneumoniae*, from 7.6 to 2.5 episodes between 2010 and 2021, is particularly remarkable.

Catheter-related bloodstream infections

The incidence of episodes of catheter-related bacteremia and catheter-related candidemia per 1,000 admissions remained stable (Supplemental Table 3, Figure 1). There was an annual average of 107.8 episodes of catheter-related bacteremia (2.2 episodes/1,000 admissions). The proportion of BSIs caused by catheter-related bacteremia and the evolution of BSI episodes caused by *Candida* species and catheter-related candidemia per 1,000 admissions in this period are represented in Supplemental Figures 5 and 6.

Bloodstream infection in 2020 and 2021

While the overall incidences per 1,000 admissions have not shown significant changes during the 12 years analyzed, there were some increases in the incidence of BSI episodes, episodes caused by Gram-positive bacteria, *Enterococcus* spp, *Candida* spp. and catheter-related bacteremia and catheter-related candidemia between 2020 and 2021 (Table 2, Supplemental Tables 2 and 3, Figures 1 and 2). Similarly, hospital-onset bacteremia episodes increased in this period (Supplemental Figure 7).

Estimated mortality rate

In a random sample of 100 patients with BSI episodes during this period, the overall 30-day mortality was 18% (95%CI 10.3-25.7%), and all-cause 1-year mortality rate was 32% (95%CI 22.7-41.3%).

DISCUSSION

We did not find substantial changes in the incidence of BSI episodes or an increase in antimicrobial resistance phenotypes of pathogens isolated from the bloodstream over 12 years in our institution. Our findings correspond to a single center and cannot be attributed to technological changes or blood cultures processing methodology, with a mean positivity rate of 12.4% and a mean contamination rate of 2.97%, in accordance with clinical guidelines recommendations [66, 192].

We found a stable incidence of BSI episodes in our hospital during this period (average 31.1 episodes/1,000 admissions), while population-based data showed a slight decrease. Previously published data from our institution showed figures of 24.3 episodes of BSI/1,000 admissions between 1985 and 2006 [20]. Data from other institutions in the last decade are scarce and offer highly variable incidence rates, ranging from 1.3 to 15.4 episodes/1,000 admissions and from 101 to 309 episodes/100,000 inhabitants [114, 116, 120, 121].

The main etiologic agents of BSI have not changed substantially, with a slight increase in episodes caused by Gram-negatives. This represents a change from the predominance of BSI caused by Gram-positive bacteria in previous decades at our institution [20], in line with the global trend [35], which could be related to infection control policies for intravenous catheters. Our study shows a slight decrease in BSI episodes caused by *S. aureus*, and an increase in episodes caused by *Enterococcus* species, which has also been noted by other authors [306]. *S. pneumoniae* continues to show a downward trend since the introduction of

pneumococcal vaccines [307], recommended for the adult population in the Community of Madrid since 2005 [308].

While antimicrobial resistance is one of the most important threats we must confront, our data does not show a steadily worsening picture. We found stable figures for ESBL-producing *E. coli* and ESBL- and carbapenemase-producing *Klebsiella* spp., a decrease in episodes caused by MRSA, all of which featured increasing numbers in previous decades in our center [20], and a low incidence of VRE. The activity of the antimicrobial stewardship team and the implementation of screening programs for MRSA and VRE may have contributed to this situation. Similar results have been reported in other regions of Spain in this period [309].

Although resistant phenotypes among Gram-positive pathogens appear to be declining globally [35, 128, 310], VRE represented up to 43.1% of all *E. faecium* isolates in some European countries in 2013 [311] and is still rising in some areas [306]. Furthermore, there is evidence of the spread of ESBL and carbapenemase enzymes worldwide [35], and carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* pose a significant threat across southern Europe [312]. All these data justify keeping a strict surveillance on the evolution of these phenotypes.

While generally stable, our figures still show a high incidence of BSI and catheter-related bacteremia, justifying surveillance efforts and infection control policies. This could be related to the fact that the number of blood cultures obtained increased between 2010 and 2021. Furthermore, 3 sets of blood cultures are routinely requested in our center, attempting to maximize their yield by collecting approximately 60mL of blood [210]. This information is not usually provided in

the literature, where 2 pairs of blood cultures are usually drawn. While educational and antimicrobial stewardship programs have helped to stabilize the current situation in Spanish hospitals [313], they do not seem to be drastically improving these figures. New strategies to address this issue need to be considered.

Reported BSI rates during the COVID-19 pandemic vary widely depending on the selected cohort [162, 166]. Our data from 2020 and 2021 show an increase in the number of blood cultures obtained per 1,000 admissions, in the contamination rate and, especially, in the number of episodes of catheter-related bacteremia and catheter-related candidemia, related to lower adherence to hospital-acquired infection prevention measures [174-176]. Hospital-onset bacteremia, proposed as a comprehensive quality metric to improve nosocomial infection prevention practices [314], showed a decreasing trend except in 2020 and 2021, where COVID-19 caused an increase in BSI episodes of nosocomial origin (Supplemental Figure 7) [315].

This increase in catheter-related BSI might explain the rise in the number of Gram-positive and fungal BSI in 2020 (Supplemental Figures 5 and 6). The high number of episodes caused by *Enterococcus* sp. in COVID-19 patients has also been reported by other authors [162, 316, 317], and might be related to SARS-CoV-2 enterocyte tropism [318], gut translocation, or the indiscriminate use of empirical antibiotherapy with third-generation cephalosporins during the pandemic.

Although the main focus of our work was not to evaluate the clinical evolution of patients with BSI, our estimated 30-day and 1-year mortality rates (18 and 32%,

respectively) are similar to previous reports in the last decade [113, 121], although the available evidence is very heterogeneous. A recent study from Israel reported a 25.6% fatality rate and 46.4% after one year, which is even higher than our estimate [304].

Our work has some limitations. This study is based on information from one single institution, so our results may not be extrapolable to other regions, but we believe that the absence of similar studies coming from different centers further justifies our work. The estimated incidence rates per 100,000 inhabitants are an approximation based on the official population register for the area served by our hospital, which seems to be slowly increasing over the years and might have led to declining population-based rates. Our definition of catheter-related bacteremia and catheter-related candidemia, which requires catheter tip culture, has been used for decades and gives strength to our findings; however, it is worth considering that the overall figures could be even higher than reported, due to the potential episodes in which the catheter is not sent for culture. The assessment of the mortality rate is only an approximation in a small sample, so our findings are not generalizable.

Nevertheless, this work offers very valuable information to define the evolution of endovascular infection, based on the analysis of one of the largest series contributed by a single hospital. Comparing our findings with those of other institutions would provide very useful information, and we encourage other centers to carry out similar studies. Maintaining this type of research is very relevant to continue defining the evolution of BSI in the coming years.

In conclusion, no clear increase in the incidence of BSI episodes can be identified in our center over this 12-year period. Gram-negatives have overtaken Gram-positives as the most frequent etiology, while no clear rise in antimicrobial resistance phenotypes can be identified, with a decrease in the proportion of MRSA. The COVID-19 pandemic may account for a small increase in BSI episodes, mainly those originating from an intravascular catheter.

TABLES**Table 1. Evolution of blood culture laboratory workload over a 12-year period**

Year	Admissions	No. of blood cultures (per 1,000 admissions)	Positivity (%)	Contamination (%)	BSI episodes (per 1,000 admissions)	Polymicrobial episodes (%)
2010	55,137	39,950 (724.5)	12.99	3.4	1,644 (29.8)	204 (12.4)
2011	52,911	41,483 (784)	12.96	3.1	1,645 (31.1)	174 (10.5)
2012	49,336	40,002 (809.4)	12.2	3.2	1,500 (30.3)	149 (9.9)
2013	48,247	37,571 (778.7)	13.2	3.2	1,531 (31.7)	162 (10.6)
2014	48,238	39,467 (818.2)	12	2.8	1,492 (30.9)	145 (9.7)
2015	48,838	40,497 (829.2)	11.6	2.7	1,470 (30.1)	177 (12)
2016	48,652	39,144 (811.4)	12.8	2.9	1,525 (31.6)	179 (11.7)
2017	48,059	36,218 (753.6)	11.5	2.7	1,373 (28.6)	178 (13)
2018	47,298	37,773 (798.6)	12.1	2.8	1,438 (30.4)	184 (12.8)
2019	47,048	38,400 (816.1)	11.8	2.6	1,460 (31)	162 (11.1)
2020	42,446	36,984 (871.3)	12.6	3.2	1,367 (32.2)	166 (12.1)
2021	42,531	37,740 (887.3)	12.6	3.1	1,491 (35)	157 (10.5)
Annual average	48,228	38,769.1 (806.9)	12.4	3.0	1,494.8 (31.1)	169.8 (11.4)
Annual increase (95% CI)	-	8.78* (2.84 - 14.72)	-	-	-	-
Annual decrease (95% CI)	-889.3 (-1213 - -565.7)	-	-	-	-	-
p Value	<0.0001	0.008	NS	NS	NS	NS

Rates per 1,000 admissions are represented in parentheses. *Referred to number of blood cultures per 1,000 admissions. NS: not significant

IV. RESULTADOS

Table 2. Evolution of BSI episodes and rates per 1,000 admissions caused by Gram-positive microorganisms in a 12-year period

Year	Gram-positive BSI	<i>S. aureus</i>	MSSA	MRSA	CNS	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. agalactiae</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>S. viridans</i> group	<i>Enterococcus</i> spp.	VRE	<i>Listeria</i> spp.
2010	841 (15.0)	177 (3.2)	121 (2.2)	56 (1.0)	329 (6.0)	61 (1.1)	19 (0.3)	9 (0.2)	53 (1.0)	156 (3)	0 (0.0)	8 (0.1)
2011	829 (15.6)	134 (2.5)	93 (1.8)	41 (0.8)	337 (6.3)	65 (1.2)	17 (0.3)	10 (0.2)	69 (1.3)	187 (3.5)	0 (0.0)	8 (0.2)
2012	820 (16.5)	168 (3.4)	113 (2.3)	55 (1.1)	340 (6.8)	55 (1.1)	13 (0.3)	12 (0.2)	44 (0.9)	162 (3.2)	0 (0.0)	8 (0.2)
2013	772 (16.0)	135 (2.8)	96 (2.0)	39 (0.8)	339 (7.0)	41 (0.8)	12 (0.2)	6 (0.1)	46 (1.0)	168 (3.5)	7 (0.1)	5 (0.1)
2014	771 (16.0)	148 (3.1)	112 (2.3)	36 (0.7)	326 (6.7)	46 (0.9)	15 (0.3)	10 (0.2)	37 (0.8)	146 (3.0)	3 (0.1)	7 (0.1)
2015	734 (15.0)	119 (2.4)	90 (1.8)	29 (0.6)	293 (6.0)	64 (1.3)	16 (0.3)	7 (0.1)	39 (0.8)	150 (3.0)	1 (0.0)	5 (0.1)
2016	827 (17.0)	148 (3.0)	117 (2.4)	31 (0.6)	318 (6.5)	52 (1.1)	13 (0.3)	13 (0.3)	40 (0.8)	168 (3.5)	0 (0.0)	7 (0.1)
2017	685 (14.2)	139 (2.9)	99 (2.0)	40 (0.8)	254 (5.3)	54 (1.1)	11 (0.2)	8 (0.2)	30 (0.6)	138 (2.9)	6 (0.1)	8 (0.2)
2018	747 (15.8)	142 (3.0)	108 (2.3)	34 (0.7)	236 (5.0)	60 (1.3)	13 (0.3)	14 (0.3)	31 (0.7)	168 (3.6)	4 (0.1)	5 (0.1)
2019	653 (13.9)	129 (2.7)	99 (2.1)	30 (0.6)	205 (4.6)	45 (1.0)	16 (0.3)	13 (0.3)	35 (0.7)	147 (3.1)	12 (0.3)	9 (0.2)
2020	748 (17.7)	114 (2.7)	89 (2.1)	25 (0.6)	282 (6.6)	27 (0.6)	11 (0.3)	2 (0.0)	35 (0.8)	196 (4.6)	4 (0.1)	3 (0.1)
2021	737 (17.3)	115 (2.7)	87 (2.0)	28 (0.7)	287 (6.7)	21 (0.5)	4 (0.1)	3 (0.1)	53 (1.2)	179 (4.2)	5 (0.1)	7 (0.2)
Annual average	763.7 (15.8)	139.0 (2.9)	102 (2.1)	27 (0.8)	295.5 (6.1)	49.3 (1.0)	13.3 (0.3)	8.9 (0.2)	42.7 (0.9)	163.8 (3.4)	3.5 (0.1)	6.7 (0.1)
Annual increase† (95% CI)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Annual decrease† (95% CI)	-	-	-	-0.03 (-0.05 - -0.01)	-	-	-	-	-	-	-	-
p Value	NS	NS	NS	0.01	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

MSSA: methicillin-susceptible *S. aureus*; MRSA: methicillin-resistant *S. aureus*; CNS: coagulase-negative staphylococci. Rates per 1,000 admissions are represented in parentheses; VRE: vancomycin-resistant enterococci. †Referred to episodes per 1,000 admissions. NS: not significant

Table 3. Evolution of BSI episodes and rates per 1,000 admissions caused by Gram-negative microorganisms in a 12-year period

Year	Gram-negative BSI	<i>E. coli</i>	ESBL-producing <i>E. coli</i>	<i>Klebsiella</i> spp.	ESBL-producing <i>Klebsiella</i> spp.	Carbapenemase producing- <i>Klebsiella</i> spp.	<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Serratia</i> spp.	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Haemophilus</i> spp.	<i>Citrobacter</i> spp.	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Morganella</i> spp.	<i>Proteus</i> spp.	<i>Brucella</i> spp.	N. meningitidis
2010	869 (15.7)	480 (8.8)	54 (1.0)	129 (2.3)	9 (0.2)	0 (0.0)	46 (0.8)	26 (0.5)	67 (1.2)	10 (0.2)	6 (0.1)	11 (0.2)	7 (0.1)	42 (0.7)	0 (0.0)	2 (0.03)
2011	845 (15.9)	436 (8.2)	43 (0.8)	125 (2.3)	10 (0.2)	0 (0.0)	46 (0.9)	29 (0.5)	86 (1.6)	5 (0.1)	10 (0.1)	8 (0.1)	16 (0.3)	27 (0.5)	0 (0.0)	3 (0.1)
2012	716 (14.4)	363 (7.3)	36 (0.7)	109 (2.2)	10 (0.2)	0 (0.0)	59 (1.2)	13 (0.3)	77 (1.5)	11 (0.2)	5 (0.1)	20 (0.4)	8 (0.2)	16 (0.3)	0 (0.0)	1 (0.02)
2013	798 (16.5)	408 (8.5)	49 (1.0)	125 (2.6)	12 (0.2)	2 (0.0)	50 (1.0)	24 (0.5)	72 (1.5)	6 (0.1)	6 (0.1)	16 (0.3)	10 (0.2)	28 (0.6)	0 (0.0)	1 (0.02)
2014	775 (16.1)	412 (8.5)	40 (0.8)	133 (2.7)	24 (0.5)	11 (0.2)	40 (0.8)	18 (0.4)	55 (1.1)	7 (0.1)	12 (0.2)	10 (0.2)	11 (0.2)	20 (0.4)	0 (0.0)	0 (0.0)
2015	823 (16.8)	409 (8.4)	41 (0.8)	180 (3.7)	56 (1.1)	34 (0.7)	32 (0.7)	19 (0.4)	59 (1.2)	10 (0.2)	15 (0.3)	15 (0.3)	6 (0.1)	22 (0.4)	0 (0.0)	5 (0.1)
2016	763 (16.1)	415 (8.5)	56 (1.2)	127 (2.6)	34 (0.7)	20 (0.4)	32 (0.7)	24 (0.5)	53 (1.1)	8 (0.2)	17 (0.3)	4 (0.04)	9 (0.2)	30 (0.6)	0 (0.0)	2 (0.04)
2017	802 (16.7)	415 (8.7)	61 (1.3)	161 (3.3)	23 (0.5)	11 (0.2)	51 (1.1)	21 (0.4)	49 (1.0)	11 (0.2)	19 (0.4)	5 (0.1)	10 (0.2)	17 (0.3)	1 (0.02)	2 (0.04)
2018	789 (16.7)	414 (8.7)	55 (1.2)	138 (2.9)	27 (0.6)	10 (0.2)	38 (0.8)	18 (0.4)	44 (0.9)	7 (0.2)	16 (0.3)	5 (0.1)	8 (0.2)	26 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.02)
2019	872 (18.5)	448 (9.5)	63 (1.3)	159 (3.4)	26 (0.6)	10 (0.2)	64 (1.4)	14 (0.3)	63 (1.3)	12 (0.3)	9 (0.2)	5 (0.1)	13 (0.3)	22 (0.5)	0 (0.0)	3 (0.1)
2020	695 (16.4)	329 (7.8)	51 (1.2)	141 (3.3)	29 (0.7)	6 (0.1)	50 (1.2)	25 (0.6)	46 (1.1)	7 (0.2)	14 (0.3)	10 (0.2)	7 (0.2)	19 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)
2021	812 (19.1)	370 (8.7)	36 (0.8)	155 (3.6)	15 (0.4)	6 (0.1)	63 (1.5)	37 (0.9)	70 (1.6)	3 (0.1)	12 (0.3)	2 (0.1)	8 (0.2)	24 (0.6)	0 (0.0)	0 (0.0)
Annual average	798.3 (16.6)	408.3 (8.5)	48.8 (1.0)	140.2 (2.9)	22.9 (0.5)	9.2 (0.2)	47.6 (0.2)	22.3 (0.5)	61.8 (1.3)	8.1 (0.2)	11.8 (0.2)	9.3 (0.2)	9.4 (0.2)	24.4 (0.5)	0.1 (0.0)	1.7 (0.0)
Annual increase [†] (95% CI)	0.25 (0.06 – 0.44)	-	-	0.12 (0.09 – 0.15)	-	-	0.04 (0.00 – 0.08)	-	-	-	0.02 (0.01 – 0.03)	-	-	-	-	-
Annual decrease [†] (95% CI)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
p Value	0.01	NS	NS	<0.0001	NS	NS	0.049	NS	NS	NS	0.001	NS	NS	NS	NS	NS

ESBL: extended-spectrum beta-lactamase. Rates per 1,000 admissions are represented in parentheses. †Referred to episodes per 1,000 admissions. NS: not significant

Supplemental Table 1. Evolution of BSI episodes and rates per 1,000 admissions caused by anaerobic microorganisms in a 12-year period

Year	Anaerobes	Gram-Negative Rods	<i>Fusobacterium</i> spp.	Gram-Positive Rods
2010	84 (1.5)	49 (0.9)	5 (0.1)	30 (0.5)
2011	71 (1.3)	42 (0.8)	10 (0.2)	18 (0.3)
2012	60 (1.2)	35 (0.7)	2 (0.04)	21 (0.4)
2013	70 (1.4)	46 (1.0)	6 (0.1)	23 (0.5)
2014	68 (1.4)	42 (0.9)	4 (0.1)	23 (0.5)
2015	67 (1.4)	40 (0.8)	3 (0.1)	22 (0.5)
2016	91 (1.9)	53 (1.1)	5 (0.1)	33 (0.7)
2017	68 (1.4)	35 (0.7)	2 (0.04)	32 (0.7)
2018	90 (1.9)	57 (1.0)	3 (0.1)	23 (0.5)
2019	80 (1.7)	49 (1.0)	7 (0.2)	25 (0.5)
2020	64 (1.5)	31 (0.7)	5 (0.1)	22 (0.5)
2021	87 (2.0)	56 (1.3)	12 (0.3)	22 (0.5)
Annual average	75 (1.6)	44.6 (0.9)	5.3 (0.1)	24.5 (0.5)
Annual increase [†] (95% CI)	0.04 (0.01 – 0.09)	-	-	-
Annual decrease [†] (95% CI)	-	-	-	-
<i>p</i> Value	0.017	NS	NS	NS

Rates per 1,000 admissions are represented in parentheses. [†]Referred to episodes per 1,000 admissions. NS: not significant

Supplemental Table 2. Evolution of BSI episodes and rates per 1,000 admissions caused by fungi in a 12-year period

Year	Fungi	<i>Candida</i> spp.	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. neoformans</i>
2010	83 (1.5)	82 (1.5)	48 (0.9)	15 (0.3)	5 (0.1)	9 (0.2)	2 (0.0)	0 (0.0)
2011	96 (1.8)	93 (1.8)	44 (0.8)	28 (0.5)	7 (0.1)	12 (0.2)	2 (0.0)	1 (0.0)
2012	77 (1.6)	71 (1.4)	33 (0.7)	19 (0.4)	12 (0.2)	8 (0.2)	3 (0.1)	0 (0.0)
2013	58 (1.2)	55 (1.1)	23 (0.5)	17 (0.4)	6 (0.1)	4 (0.1)	1 (0.0)	2 (0.0)
2014	56 (1.1)	54 (1.1)	25 (0.5)	14 (0.3)	2 (0.0)	9 (0.2)	2 (0.0)	1 (0.0)
2015	60 (1.2)	59 (1.2)	28 (0.6)	14 (0.3)	2 (0.0)	12 (0.2)	2 (0.0)	0 (0.0)
2016	55 (1.1)	54 (1.1)	31 (0.6)	15 (0.3)	1 (0.0)	8 (0.2)	2 (0.0)	0 (0.0)
2017	41 (0.9)	40 (0.8)	19 (0.4)	8 (0.2)	2 (0.0)	8 (0.2)	1 (0.0)	0 (0.0)
2018	59 (1.3)	57 (1.2)	28 (0.6)	15 (0.3)	4 (0.1)	12 (0.3)	1 (0.0)	0 (0.0)
2019	59 (1.3)	56 (1.2)	29 (0.6)	16 (0.3)	5 (0.1)	7 (0.2)	2 (0.0)	0 (0.0)
2020	70 (1.7)	67 (1.6)	41 (1.0)	7 (0.2)	6 (0.1)	9 (0.2)	3 (0.1)	1 (0.0)
2021	51 (1.2)	49 (1.2)	24 (0.6)	12 (0.3)	5 (0.1)	6 (0.1)	2 (0.0)	1 (0.0)
Annual average	63.7 (1.3)	61.4 (1.3)	31.1 (0.7)	15 (0.3)	4.8 (0.1)	8.7 (0.2)	1.9 (0.0)	0.5 (0.0)
Annual increase [†] (95% CI)	-	-	-	-	-	-	-	-
Annual decrease [†] (95% CI)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>p</i> Value	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Rates per 1,000 admissions are represented in parentheses. [†]Referred to episodes per 1,000 admissions. NS: not significant

Supplemental Table 3. Evolution of catheter-related BSI episodes and rates per 1,000 admissions in a 12-year period

Year	Catheter-related bacteremia	Catheter-related candidemia	Catheter-related <i>C. albicans</i> candidemia	Catheter-related <i>C. parapsilosis</i> candidemia	Catheter-related <i>C. tropicalis</i> candidemia	Catheter-related <i>C. glabrata</i> candidemia
2010	136 (2.4)	26 (0.5)	16 (0.3)	5 (0.1)	1 (0.0)	3 (0.1)
2011	124 (2.2)	27 (0.5)	11 (0.2)	6 (0.1)	3 (0.1)	6 (0.1)
2012	120 (2.4)	22 (0.4)	10 (0.2)	6 (0.1)	3 (0.1)	3 (0.1)
2013	99 (2.0)	11 (0.2)	6 (0.1)	5 (0.1)	0 (0.0)	0 (0.0)
2014	87 (1.8)	12 (0.2)	7 (0.1)	4 (0.1)	0 (0.0)	1 (0.0)
2015	87 (1.8)	30 (0.6)	18 (0.4)	6 (0.1)	0 (0.0)	3 (0.1)
2016	118 (2.4)	17 (0.4)	5 (0.1)	9 (0.2)	1 (0.0)	1 (0.0)
2017	98 (2.0)	16 (0.3)	9 (0.2)	5 (0.1)	0 (0.0)	2 (0.0)
2018	99 (2.1)	19 (0.4)	11 (0.2)	7 (0.1)	0 (0.0)	1 (0.0)
2019	84 (1.8)	22 (0.5)	11 (0.2)	6 (0.1)	3 (0.1)	1 (0.0)
2020	138 (3.3)	25 (0.6)	16 (0.4)	3 (0.1)	3 (0.1)	2 (0.0)
2021	103 (2.4)	11 (0.3)	3 (0.1)	5 (0.1)	3 (0.1)	0 (0.0)
Annual average	107.8 (2.2)	19.8 (0.4)	10.3 (0.2)	5.6 (0.1)	1.4 (0.0)	1.9 (0.0)
Annual increase [†] (95% CI)	-	-	-	-	-	-
Annual decrease [†] (95% CI)	-	-	-	-	-	-
<i>p</i> Value	NS	NS	NS	NS	NS	NS

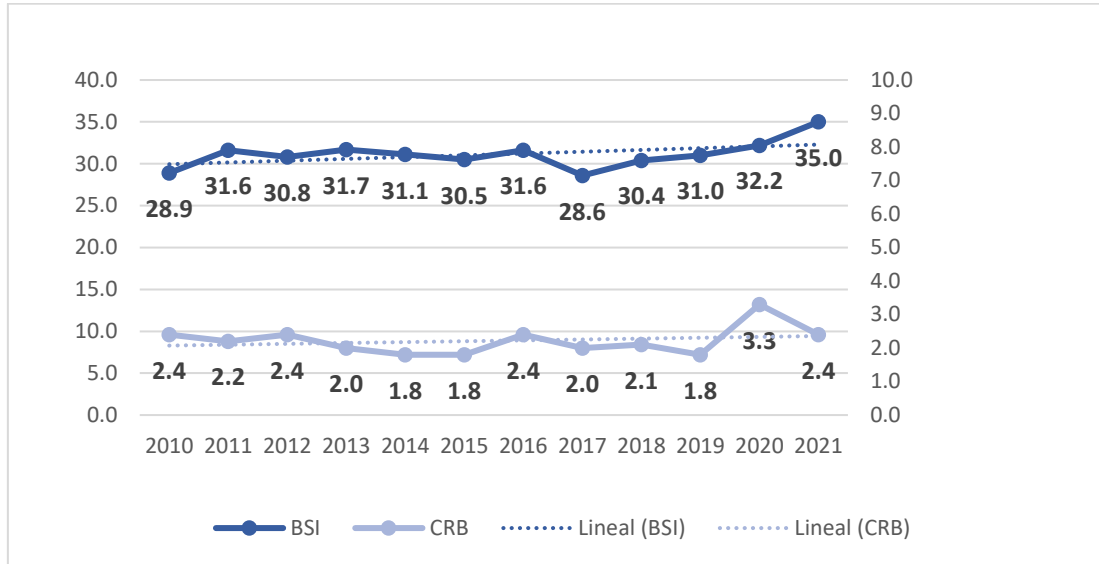
Rates per 1,000 admissions are represented in parentheses. [†]Referred to episodes per 1,000 admissions. NS: not significant

Supplemental Table 4. Overall evolution of estimated incidences per 100,000 inhabitants in a 12-year period.

Year	Inhabitants	BSI episodes	Gram-positives	<i>S. aureus</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>Enterococcus</i>	Gram-negatives	<i>E. coli</i>	Anaerobes	Fungi
2010	806,769	203.8	104.2	21.9	7.6	19.3	107.7	59.5	10.4	10.3
2011	810,445	203	102.3	16.5	8.0	23.1	104.3	53.8	8.8	11.8
2012	812,083	184.7	101.0	20.7	6.8	19.9	88.2	44.7	7.4	9.5
2013	810,464	188.9	95.3	16.7	5.1	20.7	98.5	50.3	8.6	7.2
2014	805,228	185.3	95.7	18.4	5.7	18.1	96.2	51.2	8.4	7.0
2015	801,325	183.4	91.6	14.9	8.0	18.7	102.7	51.0	8.4	7.5
2016	806,405	189.1	102.6	18.4	6.4	20.8	97.1	51.5	11.3	6.8
2017	809,972	169.6	84.6	17.2	6.7	17.0	99.0	51.2	8.4	5.1
2018	820,904	175.2	91.0	17.3	7.3	20.5	96.1	50.4	11.0	7.2
2019	833,717	175.1	78.3	15.5	5.4	17.6	104.6	53.7	9.4	7.1
2020	853,253	160.2	87.7	13.4	3.2	23.0	81.5	38.6	7.5	8.2
2021	851,057	175.2	86.6	13.5	2.5	21.0	95.4	43.5	10.2	6.0
Annual average	818,469	182.8	93.4	17.0	6.0	20.0	97.6	50.0	9.1	7.8

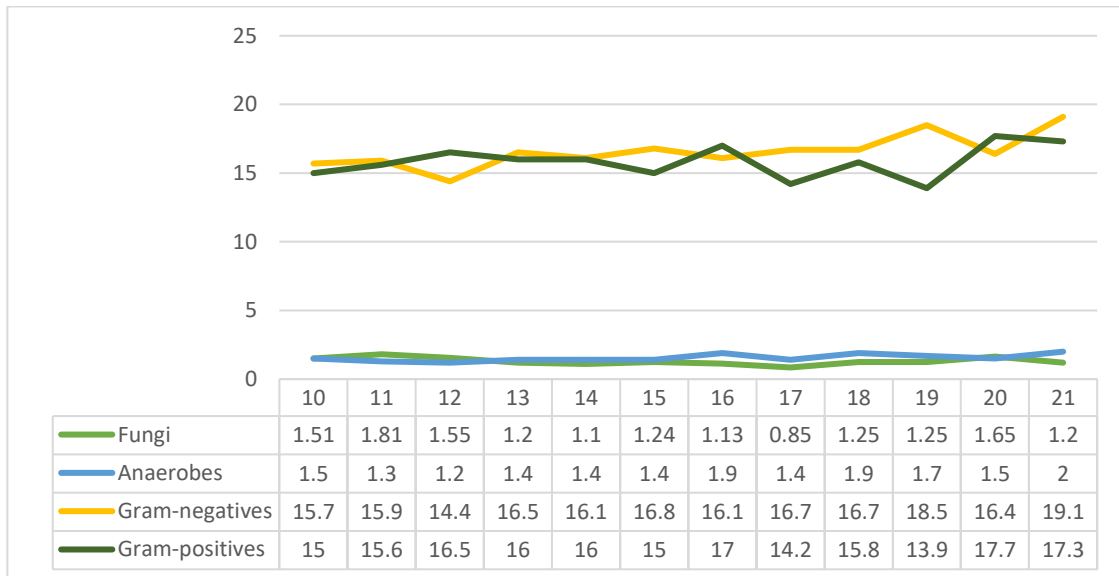
FIGURES

Figure 1. Evolution of total bloodstream infection episodes and catheter-related bloodstream infection episodes per 1,000 admissions in a 12-year period.

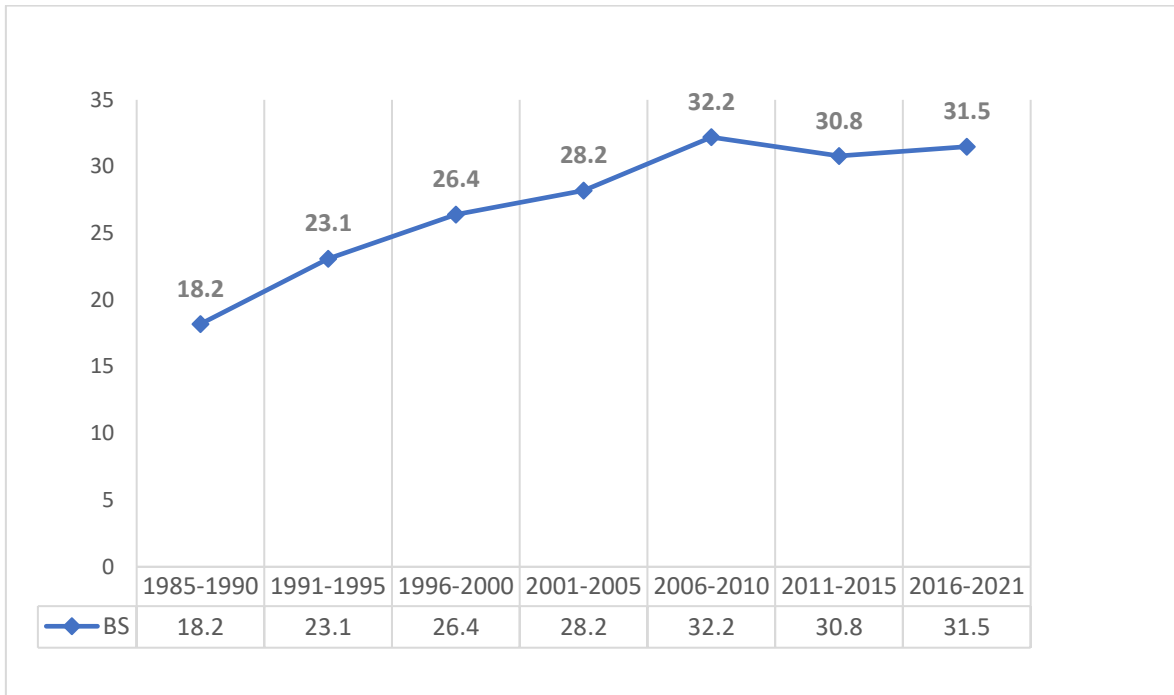


BSI: bloodstream infection; CRB: catheter-related bloodstream infection

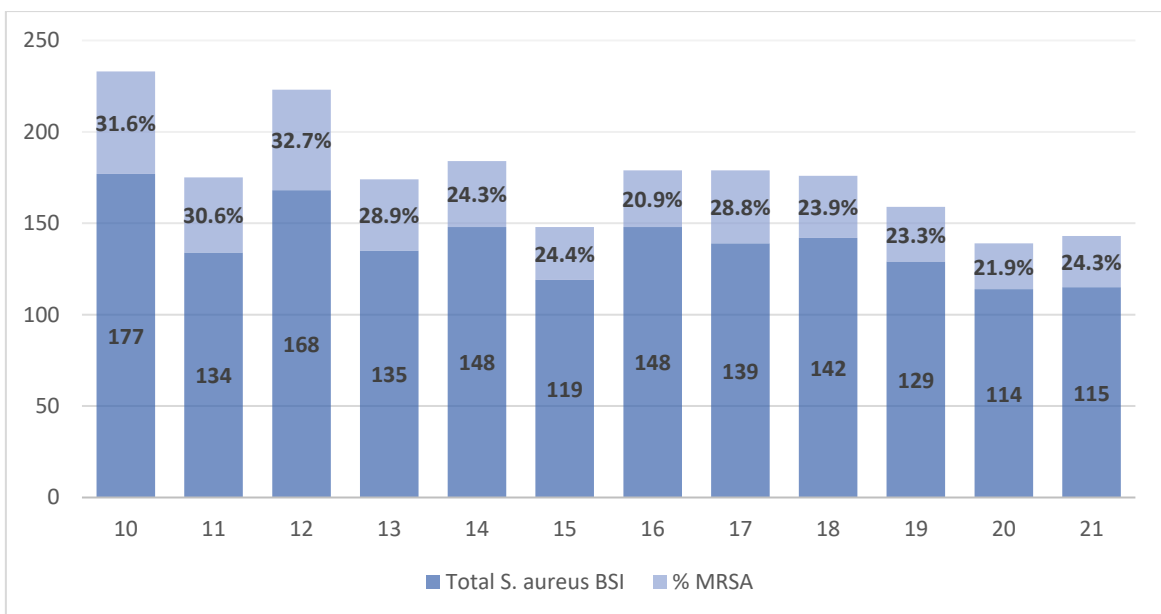
Figure 2. Evolution of the etiology of bloodstream infection episodes per 1,000 admissions in a 12-year period.



Supplemental Figure 1. Evolution of the quinquennial mean number of BSI episodes per 1,000 admissions in a 37-year period (1985-2021)

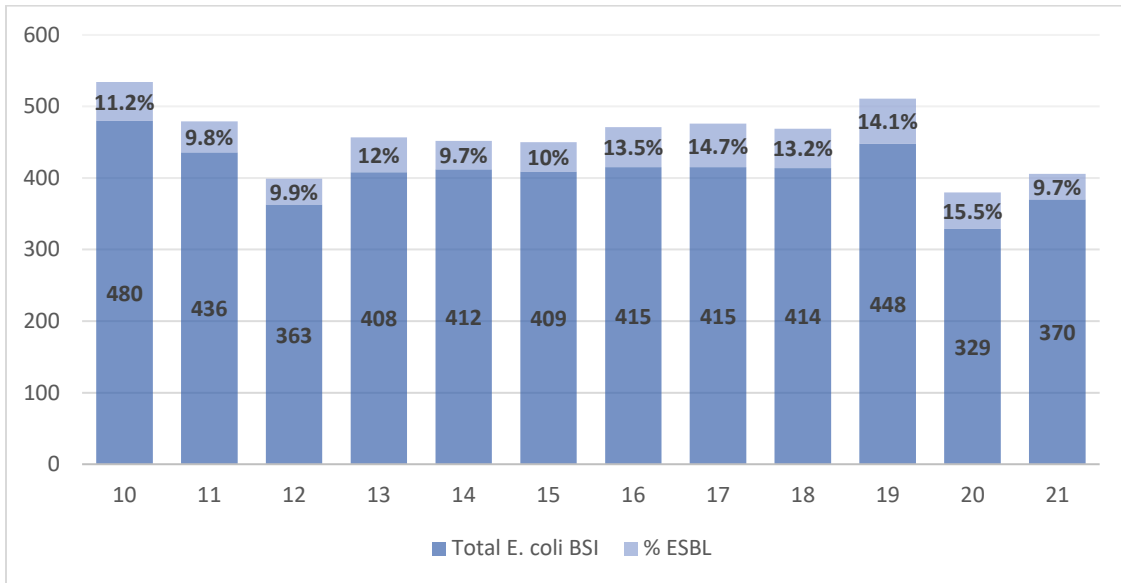


Supplemental Figure 2. Evolution of methicillin-susceptible and methicillin-resistant *S. aureus* bloodstream infection in a 12-year period.



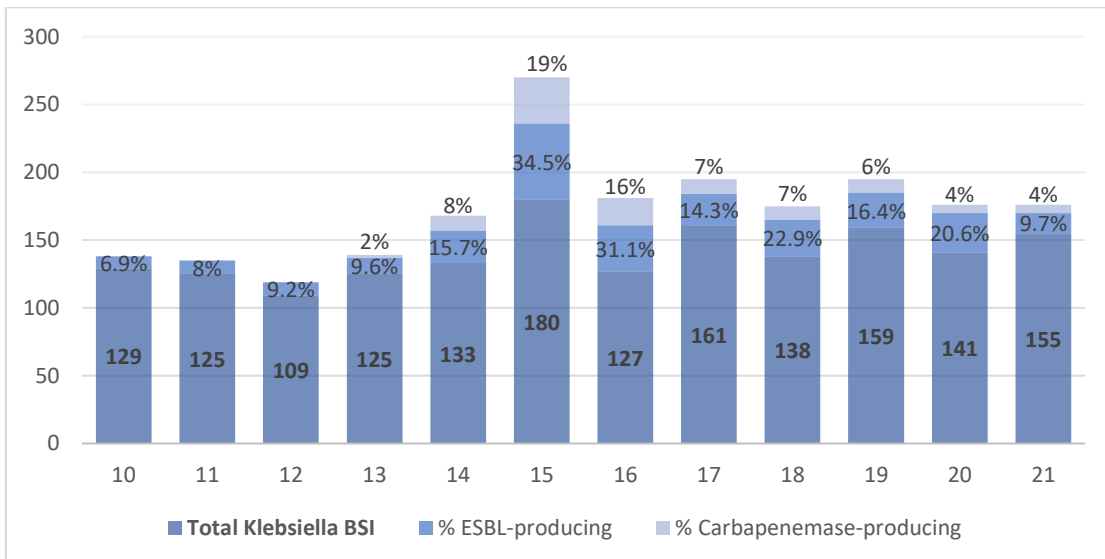
BSI: bloodstream infection; MRSA: methicillin-resistant *S. aureus*

Supplemental Figure 3. Evolution of BSI episodes caused by *E. coli* and proportion of ESBL-producing strains in a 12-year period.



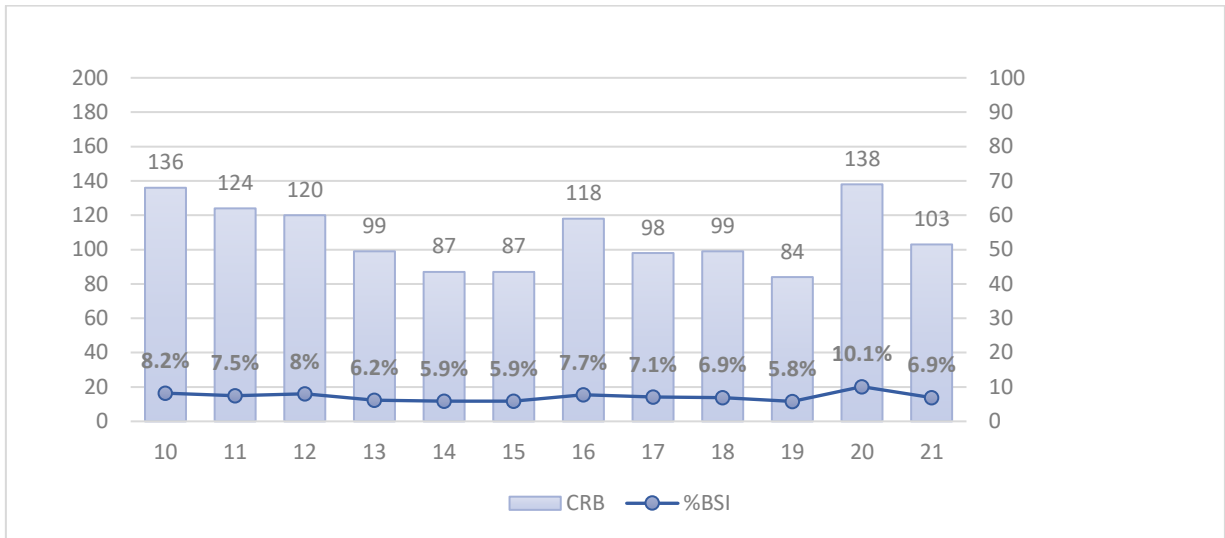
BSI: bloodstream infection; ESBL: extended-spectrum beta-lactamases

Supplemental Figure 4. Evolution of BSI episodes caused by *Klebsiella* spp. and ESBL-producing and carbapenemase-producing strains in a 12-year period.



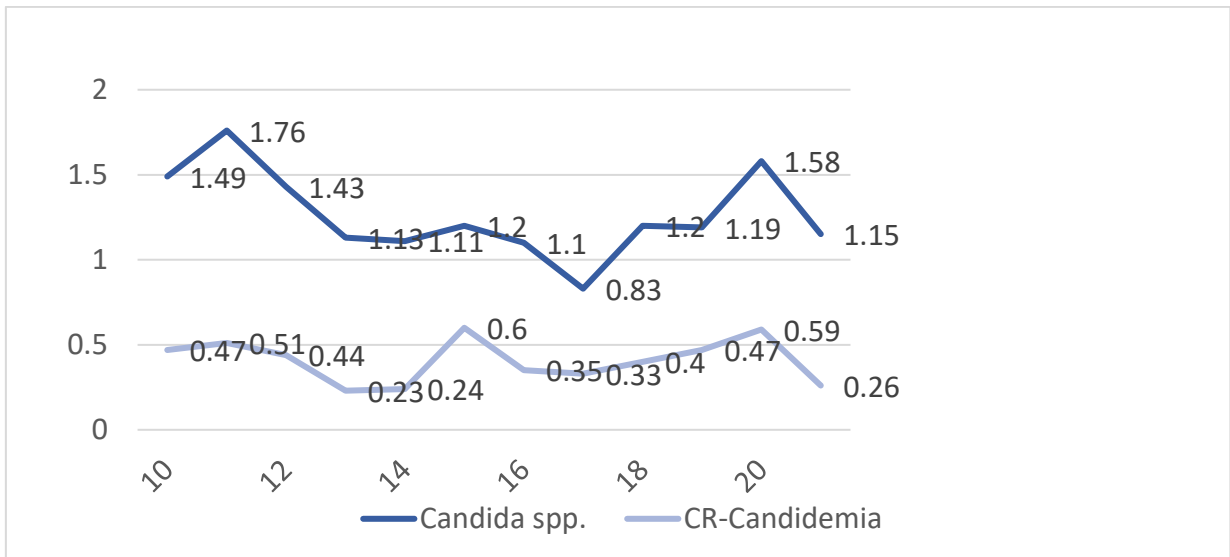
BSI: bloodstream infection; ESBL: extended-spectrum beta-lactamases

Supplemental Figure 5. Evolution of catheter-related BSIs and percentage with respect to total BSI episodes over a 12-year period.



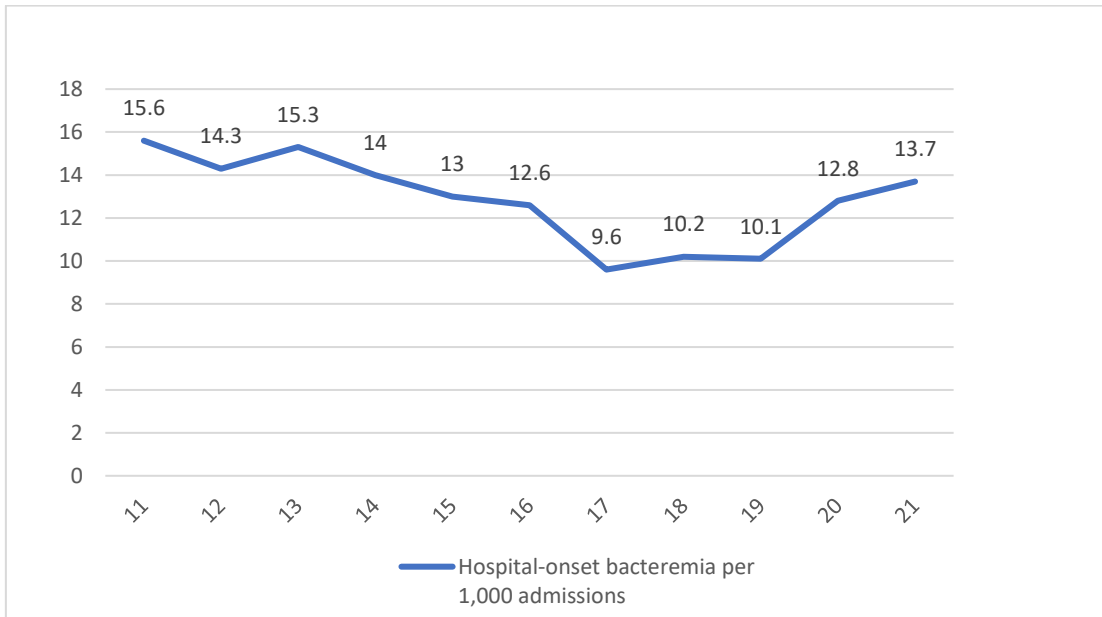
BSI: bloodstream infection; CRB: catheter-related bloodstream infection

Supplemental Figure 6. Evolution of BSI episodes caused by *Candida* species and catheter-related candidemia per 1,000 admissions in a 12-year period.



CR-Candidemia: catheter-related candidemia

Supplemental Figure 7. Evolution of hospital-onset bacteremia per 1,000 admissions in a 12-year period.



4.3 RESULTADOS DEL OBJETIVO 3

4.3.1 Abstract

Background: Patients who acquire infective endocarditis (IE) following contact with the healthcare system, but outside the hospital, are classified as having non-nosocomial healthcare-associated IE (HCIE). Our aim was to characterize HCIE and establish whether its etiology, diagnosis and therapeutic approach suggest it should be considered a distinct entity.

Methods: This study retrospectively analyzes data from a nationwide, multicenter, prospective cohort including consecutive cases of IE at 45 hospitals across Spain from 2008 to 2021. HCIE was defined as IE detected in patients in close contact with the healthcare system (e.g. patients receiving intravenous treatment, hemodialysis or institutionalized). The prevalence and main characteristics of HCIE were examined and compared with those of community-acquired IE (CIE) and nosocomial IE (NIE), and with literature data.

Results: IE was diagnosed in 4,520 cases, of which 2,854 (63%) were classified as CIE, 1,209 (27%) as NIE, and 457 (10%) as HCIE. Patients with HCIE showed a high burden of comorbidities, a high presence of intravascular catheters and a predominant staphylococcal etiology, *S. aureus* being identified as the most frequent causative agent (35%). They also experienced more persistent bacteremia, underwent fewer surgeries and showed a higher mortality rate than those with CIE (32.4 vs. 22.6%). However, mortality in this group was similar to that recorded for NIE (32.4 vs. 34.9%, respectively, $p= 0.40$).

Conclusions: Our data do not support considering HCIE as a distinct entity. HCIE affects a substantial number of patients, is associated with a high mortality, and shares many characteristics with NIE.

4.3.2 *Resumen*

Introducción: Los pacientes que adquieren endocarditis infecciosa (EI) tras contacto con el sistema sanitario, pero fuera del hospital, se clasifican como EI relacionada con la asistencia sanitaria no nosocomial (EIRAS). Nuestro objetivo fue caracterizar la EIRAS y establecer si su etiología y aproximación diagnóstico-terapéutica sugieren que sea considerada como una entidad diferenciada.

Métodos: Este estudio analiza retrospectivamente datos de una cohorte nacional, multicéntrica y prospectiva incluyendo casos de EI de 45 hospitales en España entre 2008 y 2021. EIRAS se definió como la EI detectada en pacientes en contacto estrecho con el sistema sanitario (como pacientes que reciben tratamiento intravenoso, hemodiálisis o institucionalizados). La prevalencia y principales características de la EIRAS fueron examinadas y comparadas con las de la EI de adquisición comunitaria (CIE) y EI nosocomial (NIE) y con la literatura disponible.

Resultados: Se diagnosticaron 4.520 casos de EI, de los cuales 2.854 (63%) se clasificaron como CIE, 1.209 (27%) como NIE, y 457 (10%) como EIRAS. Los pacientes con EIRAS mostraron una elevada carga de comorbilidades, una elevada presencia de catéteres intravasculares y una etiología predominantemente estafilocócica, siendo *S. aureus* el agente causal más frecuente (35%). También sufrieron mayor bacteriemia persistente, recibieron menos cirugías y mostraron

mayor mortalidad que aquellos con CIE (32,4 vs 22,6%). Sin embargo, la mortalidad en este grupo fue similar a la registrada para NIE (32,4 vs 34,9%, respectivamente, $p=0,40$).

Conclusión: Nuestros datos no apoyan la consideración de EIRAS como una entidad diferenciada. EIRAS afecta a un número considerable de pacientes, se asocia a una elevada mortalidad y comparte muchas características con NIE.

4.3.3 *Artículo 3*

BACKGROUND

The clinical and epidemiological characteristics of infective endocarditis (IE) have changed over time [89, 319]. According to place of acquisition, a distinction was traditionally made between community-acquired and nosocomial IE, with different etiological agents and prognoses in each case. The concept of healthcare-associated IE was introduced to describe IE acquired at hospital or affecting patients in close contact with the healthcare system [84, 136, 139, 141]. However, the increasing number of invasive procedures performed outside the hospital setting, and the growing number of patients from healthcare institutions, have determined an increase over the last few decades in non-nosocomial healthcare-associated IE (HCIE) [84, 90, 134].

While community-acquired IE (CIE) has been clearly differentiated from nosocomial IE (NIE), there is less information on HCIE. The limited evidence available has been derived from heterogeneous studies that, in most cases, are outdated and involve small sample sizes [135, 140], and consists of widely varying definitions, etiologies and prognoses. In this scenario, it is worth considering the dimension of this problem, and whether this group of patients has etiological, therapeutic or prognostic differences for HCIE to be considered a distinct entity.

From a public health perspective, the need to characterize this group of patients is warranted by an ever-increasing number of institutionalized patients and of invasive procedures performed outside the hospital, as well as a lack of clear indications regarding the need for prophylaxis before such procedures.

In this work, we set out to define the current reality of HCIE based on data from a large prospective cohort. Our objectives were: 1) to describe the prevalence and most relevant characteristics of HCIE; 2) to analyze its differences with respect to CIE and NIE along with its value as a distinct entity; and 3) to review the available literature to compare these data with our findings.

MATERIAL AND METHODS

The GAMES cohort is a nationwide, multicenter registry that from 2008 has prospectively included consecutive cases of definite IE according to modified Duke criteria [97] in 45 hospitals across Spain. The present study is an observational retrospective analysis of these prospectively obtained data. GAMES stands for ‘Grupo de Apoyo al Manejo de la Endocarditis Infecciosa en España’ or ‘Spanish Collaboration on Endocarditis’. Over the period January 2008 to December 2021, 4,520 definite cases of IE were diagnosed.

Data collection:

A standardized case report form was completed in each case to record the active IE episode and follow-up data, which included clinical information, including Charlson comorbidity index [151], as well as microbiological and echocardiographic results. All patients provided informed consent to be included in the registry. All cases were assessed one year after inclusion in the registry to record resolution, death or relapse.

Definitions:

To simplify classification, and for the purpose of exploring its value as a distinct entity, in this work, HCIE refers to nosohusial IE, and does not therefore include cases of nosocomial acquisition. HCIE was defined as an IE diagnosed at the time of admission or within 48 hours of admission, if a patient met any of the following criteria:

1. Received intravenous (IV) treatment at home; received wound care or skilled nursing care provided by a healthcare provider, family, or friends; or received self-administered IV medical treatment in the 30 days prior to bacteremia.
2. Visited an outpatient hospital or hemodialysis clinic or received IV chemotherapy in the 30 days prior to bacteremia.
3. Was hospitalized in an acute care facility for two or more days in the 90 days prior to bacteremia.
4. Lived in a nursing home or long-term care facility.

All IE cases associated with hemodialysis were classified as HCIE. NIE was defined as IE in a patient who had been hospitalized for more than 48 hours before the onset of signs or symptoms consistent with IE. CIE was defined as IE diagnosed within the first 48 hours of admission or according to signs or symptoms consistent with IE starting before hospital admission in a patient who did not fulfill the criteria for HCIE. While an odontogenic source was considered within the definition of CIE, in 2 patients HCIE was attributed to dental interventions of greater complexity involving total replacement of dental pieces.

Statistical analysis:

The characteristics of HCIE, CIE and NIE were compiled and compared. Categorical variables were summarized as frequencies and percentages, and continuous variables as medians and interquartile ranges (percentile 25 – percentile 75). Categorical variables were compared using the chi-square test (or Fisher's exact test where necessary). Variables with non-normal distribution were compared using the Mann-Whitney U test. Significance was set at $p < 0.05$. For a better interpretation of the results, effect sizes were calculated for each comparison. For numerical variables, Cohen's d (standardized mean difference) was used, while odds ratio are provided for categorical variables.

To identify clinical variables that were differentially associated with the presence of HCIE, a multivariate logistic regression analysis was performed through a conditional backward procedure, entering only epidemiological variables present before the IE episode and hospital admission that varied significantly between HCIE and NIE in the univariate analysis, or which were considered to be of clinical relevance. Our model included sex, age, age-adjusted Charlson comorbidity index score, native valve IE, presence of intracardiac device, previous cardiac surgery, previous IE, and presence of intravenous catheters. The survival curve for hemodialysis-related HCIE was constructed using the Kaplan-Meier method. All statistical tests were performed using the package IBM SPSS Statistics for Windows, Version 26.

For the literature review, a search was performed of PubMed using the commands (endocarditis [MeSH Terms]) AND (healthcare [Title]), health-care [Title] AND

endocarditis [Title], non-nosocomial [Title] AND endocarditis [Title], Healthcare-associated [Title] AND endocarditis [Title], (healthcare[MeSH Terms]) AND (endocarditis[MeSH Terms]) and (healthcare[MeSH Terms]) AND (endocarditis[Title]) with no time restriction. Manually selected papers of interest were also included. To the best of our knowledge, only five studies have analyzed HCIE in a differentiated manner [84, 135, 137, 138, 140]. Studies assessing nosohusial and nosocomial IE combined were not included in our review [136, 139, 141].

Patient consent statement:

The case report form used was approved by the ethics committee (Comité ético de Investigación Clínica Regional de la Comunidad de Madrid CEIC-R; EC 18/07; date 11/01/2008). Written consent was obtained in all cases.

RESULTS

In total, 4,520 episodes of definite IE were recorded in the cohort. Of these, 2,854 episodes (63%) were classified as CIE, 1,209 (27%) as NIE, and 457 (10%) as HCIE. The main characteristics of these episodes of HCIE and their comparison with those of CIE and NIE are provided in Table 1 (an analysis of standardized differences can be found in Supplemental Table 1).

Characteristics of HCIE

Patients in the HCIE group were characterized by a significant number of comorbidities, a high proportion of them having hypertension, chronic kidney

disease (CKD), diabetes, and heart failure. Most IE cases developed in native valves (71%). In 195 patients (43%), an intravascular catheter was present at the onset of symptoms (Table 1). The most frequent etiology was *S. aureus* (161 episodes, 35%), 19% of which were methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) (Table 2). Coagulase-negative staphylococci and *Enterococcus* caused 23% and 19.5% of cases, respectively. Hemodialysis was described as the source of infection in 49% of HCIE cases (Table 3).

When we considered clinical outcomes (Table 4), we found that a high proportion of patients developed heart failure, acute renal failure and intracardiac complications (39%, 33% and 32%, respectively). While 42% of the HCIE patients underwent cardiac surgery, 26% with an indication for surgery could not be operated on. In-hospital mortality among the HCIE patients was 32%. There were fewer deaths among those who underwent surgery compared to those who did not undergo surgery (11.1% vs. 21.2%).

Analysis of hemodialysis-related HCIE

Of the 457 episodes of HCIE examined, almost half were recorded in patients on hemodialysis (n=223, 49%). These patients on hemodialysis had more comorbidities, experienced septic shock more frequently, more often could not have indicated surgery and showed a higher mortality than patients not receiving hemodialysis (Table 5). The main etiologic agent was *S. aureus* (46%). Interestingly, the percentage of those with CKD was also high in the no-hemodialysis group (28.6%). Patients who did not receive hemodialysis had a

significantly lower mortality ($p < 0.01$) than those who did so, as may be observed in the Kaplan-Meier survival curve (Figure 1).

Comparison of HCIE with CIE and NIE

HCIE and CIE are clearly different clinical entities (Table 1). Patients with HCIE showed a higher age-adjusted Charlson index score, were admitted fewer days after symptom onset and diagnosis, and had a different disease etiology. In terms of the clinical course, patients with HCIE showed more persistent bacteremia, more instances of indicated surgery not performed, and a higher mortality than those with CIE, who underwent indicated surgery more frequently.

Differences were less evident between HCIE and NIE, especially in terms of etiology and prognosis (Tables 1, 2, 4 and Supplemental Table 1). Native valves were affected more frequently in the group of participants with HCIE. In both the HCIE and NIE groups, the main etiology was staphylococcal, and there was no difference in MRSA proportions. Patients with HCIE also underwent surgery on fewer occasions, but this did not give rise to a significant difference in mortality between these two groups (32.4 vs. 34.9%, respectively, $p = 0.40$). Remarkably, there were no significant differences in the proportions of patients receiving adequate empirical treatment for *S. aureus* (i.e. antibiotic therapy started before culture results are available) in the groups HCIE, CIE, and NIE (Table 1).

When HCIE and NIE were compared, epidemiological variables identified as significantly associated with HCIE were native valve IE (OR 1.81) and age-adjusted Charlson comorbidity index score (OR 1.14) (Supplemental Table 2).

Review of the literature:

Only five studies were found to have analyzed HCIE in a differential manner, excluding nosocomial acquisition [84, 135, 137, 138, 140]. Only one of these reports provided data for more than 200 patients [84]. The most frequent characteristics reported are detailed in Supplemental Table 3 (Supplemental material). Hemodialysis patients are routinely included in this group.

Including the results of our cohort, 839 cases of HCIE have been reported to date. For these cases, the average age was 60 years and there was a high proportion of comorbidities, including hemodialysis, diabetes, and valvular heart disease. The predominance of a staphylococcal etiology coincides with most cases [84, 137, 138, 140]. Mortality figures vary widely and in some cases can be up to 50% [137, 138], with an overall mortality rate of 29.3% (246/839).

DISCUSSION

Based on current criteria, 10% of cases in our large multicenter cohort were classified as HCIE, representing one third of all IE cases that are not community-acquired. Previous studies have provided figures that vary widely [84, 135, 137, 138, 140].

We found no reason to consider HCIE as a distinct entity. In our opinion, defining a new major subclass of IE would only be justified in the case of differences in etiology, diagnosis, therapeutic approach or prognosis. Below we provide our reasoning for this argument.

HCIE patients show a high burden of comorbidities and share many features with NIE. The few differences detected between HCIE and NIE only reflect the initial characteristics of the patients, not their clinical course.

Endovascular procedures appear to be the most common causative mechanism for both HCIE and NIE. Forty-nine percent of HCIE patients received hemodialysis and 21% had been fitted with some type of IV catheter, whose presence has been linked to the origin of HCIE in up to 40-60% of cases [136, 137].

The presence of HCIE fails to identify a group of patients with a different etiology to NIE. In our cohort, *S. aureus* was the most frequent etiological agent. In effect, staphylococci are the most frequent etiology in both HCIE and NIE. Other authors have reported similar findings (Supplemental Table 3) describing a population with a high prevalence of comorbidities, many patients on hemodialysis and a predominantly staphylococcal etiology.

This classification should be useful to ensure the rapid and correct identification of HCIE patients. As these patients are community-derived, they could easily be misclassified as CIE, with a worse prognosis and many similar characteristics to NIE. Remarkably, we observed no diagnostic delay in our HCIE series.

For IE associated with diagnostic and therapeutic procedures, empiric coverage of methicillin-resistant staphylococci, enterococci, and Gram-negative pathogens is recommended [100]. According to our findings, the empirical treatment of HCIE should not differ from that of NIE. In effect, there were no significant differences in the proportions of correct empirical treatment for *S. aureus* between both

groups in our cohort. To our knowledge, this issue has not been previously addressed.

Patients with HCIE were found to receive surgical treatment less frequently than those with NIE. However, this was not the consequence of diagnostic delay, but rather of the high burden of comorbidities and poor baseline status of this group of patients.

A key finding of our study was the similar mortality rate detected among patients with HCIE or NIE. Other reports have indicated widely varying mortality rates of up to 58% in some cases [137, 140]. Patients with IE receiving hemodialysis have been identified as a group showing high mortality [87, 320]. Our data also reveal the importance of ruling out HCIE in patients with IV catheters or under hemodialysis, in whom the absence of prosthetic valves should not preclude the need for an echocardiogram. Infection prevention measures and catheter care precautions are essential in these patients.

Our work has several limitations. Reports describing HCIE are scarce, heterogeneous, and based on small sample sizes. Although there is a notable lack of unification of classification criteria, our definition uses the criteria described in the International Collaboration on Endocarditis-Pro prospective Cohort Study [84]. A significant percentage of HCIE in our series affected hemodialysis patients. This could be related to the high prevalence of CKD, catheters, or episodes caused by *S. aureus* in this group. Despite this, we consider that our study has several strengths as it provides data for the largest HCIE cohort to date, and includes prosthetic valve IE.

The concept of healthcare-associated infection in the case of other diseases is also under debate [321]. This classification scheme is based merely on the geographical location of the patient (community, hospital, nursing homes...), yet ever-changing healthcare practices such as increasing proportions of out-of-hospital invasive procedures and home treatments have blurred these boundaries.

Within the framework of this controversial topic, our aim was to make a case for a discussion that we consider necessary. While we feel that the place of IE acquisition is important, we could not find relevant differences between acquiring IE at hospital or another health care setting, such that this classification does not serve to identify a group of patients showing a different pathogenic mechanism or etiology, nor does it help to make an early diagnosis, or have any therapeutic or prognostic consequences.

Our argument is that the place of IE acquisition might be less relevant than other factors such as the mechanism of acquisition. For example, if a patient acquires a bloodstream infection as a result of phlebitis due to intravenous treatment, for disease classification purposes, it probably matters little whether treatment was received at home, in an out-patient clinic, or at hospital. A classification system that distinguishes between community-acquired or healthcare-acquired IE, including hospital admission and all medical actions with risk factors for endovascular infection, might be more appropriate. As the invasive procedure performed (endovascular catheter placement, colonoscopy...) may influence the presence of a certain type of pathogen, a more directed management approach and concise prognosis could be provided according to a model based on the

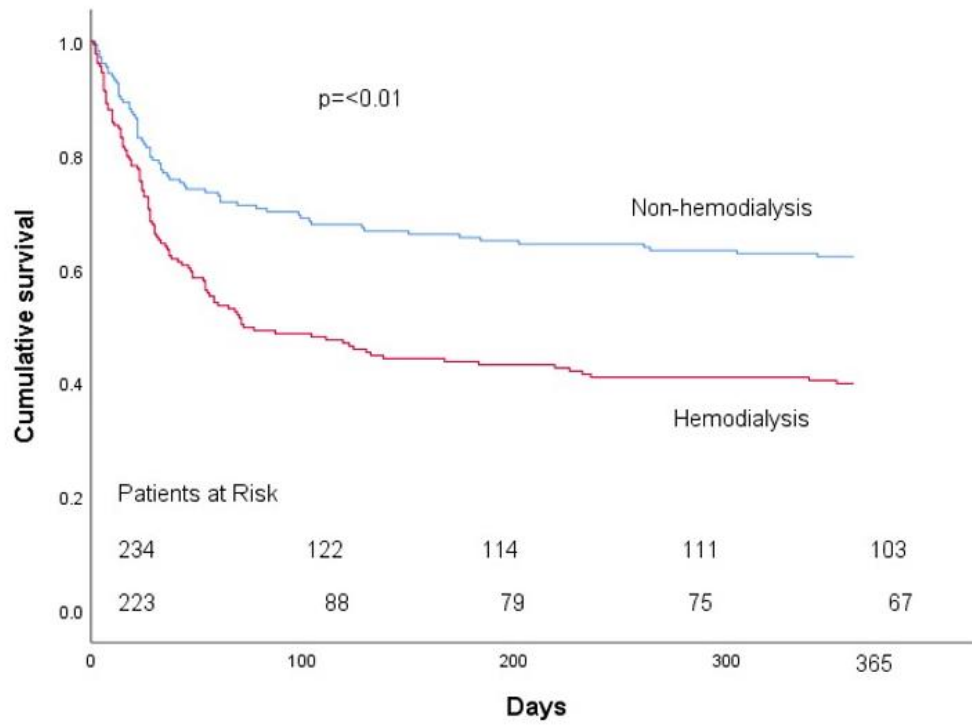
pathogenic mechanism of IE acquisition. Given the prognosis of this group of patients, there is a need to correctly define its characteristics. This would help guide public health strategies, for example, those directed towards identifying a need or not for prophylaxis before extrahospital interventions such as dental or endoscopic procedures.

CONCLUSION:

HCIE affected 10% of patients in our large contemporary series. These patients had significant comorbidities, a high mortality, and the predominant disease etiology was staphylococcal. The lack of differential characteristics and prognostic factors with respect to NIE does not support its consideration as a distinct entity, and makes us question the usefulness of the current classification of IE. A pathogenic approach that analyses individual risk factors for the acquisition of IE could help to better manage this entity.

FIGURES:

Figure 1. Survival curve of patients with HCIE according to hemodialysis treatment.



TABLES:**Table 1. Demographic characteristics, predisposing factors and site of HCIE with respect to CIE and NIE**

	CIE (2,854)	p value (HCIE vs CIE)	HCIE (457)	p value (HCIE vs NIE)	NIE (1,209)
Median age (IQR)	67 (55 - 76)	0.90	67 (56 -76)	<0.01	70 (61 - 77)
Male sex, n (%)	1,991 (70)	0.14	303 (66.3)	0.67	788 (65.1)
Comorbidities, n (%)					
Age adjusted Charlson index (IQR)	4 (2 - 6)	<0.01	6 (4 - 8)	<0.01	5 (3 - 7)
Pulmonary disease	473 (16.5)	0.40	83 (18.1)	0.05	272 (22.5)
Hypertension	1,494 (52.3)	<0.01	322 (70.6)	<0.01	726 (60.2)
Coronary heart disease	655 (22.9)	0.03	126 (27.5)	0.06	392 (32.4)
Heart failure	770 (26.9)	<0.01	166 (36.3)	<0.01	524 (43.3)
Diabetes	734 (25.7)	<0.01	177 (38.7)	0.03	399 (33.0)
HIV	70 (2.4)	0.23	7 (1.5)	0.20	10 (0.8)
PWID	110 (3.8)	<0.01	6 (1.3)	<0.01	3 (0.2)
Peripheral vascular disease	221 (7.7)	<0.01	108 (23.6)	<0.01	155 (12.8)
Cerebrovascular disease	336 (11.7)	0.60	58 (12.7)	0.47	170 (14.0)
Neoplasm	377 (13.2)	<0.01	106 (23.2)	0.19	245 (20.2)
CKD	541 (19.0)	<0.01	289 (63.2)	<0.01	326 (27.0)
Liver disease	290 (10.1)	0.22	55 (12.0)	0.03	104 (8.6)
Immunosuppressive therapy	91 (3.1)	<0.01	60 (13.1)	0.03	107 (9.0)
Cardiac history, n (%)					
Native valve disease	1,324 (46.4)	0.02	184 (40.3)	<0.01	594 (49.1)
Congenital heart disease	211 (7.4)	<0.01	13 (2.8)	0.10	56 (4.6)
Previous endocarditis	217 (7.6)	0.86	34 (7.4)	0.86	93 (7.6)
Previous cardiac surgery	899 (31.5)	<0.01	106 (23.2)	<0.01	567 (46.9)
Dental procedure n (%)	264 (9)	<0.01	2 (0.004)	-	0 (0.0)
Intravascular catheter present at symptom onset, n (%)	0 (0.0)	-	195 (42.6)	0.01	411 (33.9)
Peripheral	0 (0.0)	-	36 (7.8)	<0.01	269 (22.2)
Central short duration	0 (0.0)	-	24 (5.2)	0.052	97 (8.0)
Central long duration	0 (0.0)	-	125 (27.3)	<0.01	36 (2.9)
Intra-arterial Swan Ganz	0 (0.0)	-	10 (2.1)	0.01	9 (0.7)
Days from symptom onset to diagnosis (median, IQR)	15 (10 - 60)	<0.01	10 (3 - 21)	0.18	10 (2 - 21)
Days from symptom onset to admission (median, IQR)	16 (10 - 60)	<0.01	10 (4 - 21)	0.03	10 (2 - 21)
IE type, n (%)					
Native IE	1,976 (69.2)	0.53	323 (70.7)	<0.01	550 (45.5)
Prosthetic IE	775 (27.2)	<0.01	87 (19.0)	<0.01	523 (43.3)
Cardiac device	168 (5.9)	<0.01	51 (11.2)	0.18	165 (13.6)
IE site, n (%)					
Aortic	1,563 (54.8)	<0.01	206 (45.1)	0.02	620 (51.3)
Mitral	1,339 (46.9)	0.15	198 (43.3)	0.04	458 (37.9)
Tricuspid	155 (5.4)	<0.01	44 (9.6)	<0.01	67 (5.5)
Pulmonary	41 (1.6)	0.9	7 (1.5)	0.80	21 (1.7)
Number of patients	403 (14.1)	0.28	56 (12.2)	0.24	175 (14.4)

IV. RESULTADOS

receiving empirical treatment					
Adequate empirical treatment for <i>S. aureus</i> *	62 (88.6)	0.81	19 (90.5)	0.72	42 (87.5)

IE: infective endocarditis; IQR: interquartile range; HIV: human immunodeficiency virus; PWID: people who inject drugs; CKD: chronic kidney disease; HCIE: healthcare-associated IE; CIE: community-acquired IE; NIE: nosocomial IE.

*Adequate empirical treatment for *S. aureus* was evaluated in 139 cases (CIE: 70, HCIE: 21 and NIE: 48).

Standardized differences can be found in Supplemental Table 1.

Table 2. Main etiologies of HCIE with respect to CIE and NIE

	CIE (2,854)	<i>p</i> value	HCIE (457)	<i>p</i> value	NIE (1,209)
<i>Staphylococcus aureus</i>	574 (20.1)	0.03	161 (35.2)	0.03	360 (29.8)
MRSA	58 (2.0)	<0.01	30 (6.5)	0.46	92 (7.6)
CNS	332 (11.6)	<0.01	105 (23.0)	<0.01	405 (33.5)
<i>Enterococcus</i> spp.	402 (14.1)	<0.01	89 (19.5)	0.06	188 (15.6)
<i>Streptococcus</i> spp.	1,126 (39.5)	<0.01	50 (10.9)	<0.01	65 (5.4)
Gram-negative bacilli	117 (4.1)	0.29	14 (3.1)	0.20	53 (4.4)
Anaerobes	44 (1.5)	0.06	2 (0.4)	0.88	6 (0.5)
<i>Candida</i> spp.	15 (0.5)	<0.01	11 (2.4)	0.14	47 (3.9)

CNS: coagulase-negative staphylococci; MRSA: methicillin-resistant *S. aureus*; HCIE: healthcare-associated IE; CIE: community-acquired IE; NIE: nosocomial IE; spp.: species.

Table 3. Suspected source of HCIE (N=457)

Infection source	N (%)
Hemodialysis	223 (48.8)
Intravenous catheter	57 (12.5)
Colonoscopy	47 (10.3)
Urological procedure	32 (7.0)
Pacemaker implantation	32 (7.0)
Previous surgery	12 (2.6)
Dental manipulation	2 (0.4)
Other	52 (11.4)

HCIE: healthcare-associated IE.

Table 4. Complications and outcomes of patients with CIE, HCIE and NIE

	CIE (2,854)	<i>p</i> value	HCIE (457)	<i>p</i> value	NIE (1,209)
Complications					
Intracardiac complications	1,016 (35.6)	0.15	147 (32.2)	0.33	411 (34.0)
Vascular phenomena	287 (10.0)	0.15	36 (7.8)	0.13	71 (5.8)
Heart failure	1,195 (41.8)	0.20	177 (38.7)	0.13	518 (42.8)
Persistent bacteremia	262 (9.1)	<0.01	60 (13.1)	0.05	206 (17.0)
CNS involvement	649 (22.7)	<0.01	66 (14.4)	0.04	228 (18.8)
Embolization	742 (25.9)	<0.01	92 (20.1)	0.92	241 (19.9)
New murmur	1,064 (37.2)	0.10	152 (33.2)	0.07	347 (28.7)
Vegetation present	1,957 (68.5)	0.08	332 (72.2)	<0.01	786 (65.0)
Acute renal failure	1,000 (35.0)	0.31	149 (32.6)	<0.01	509 (42.1)
Septic shock	340 (11.9)	0.04	70 (15.3)	0.81	191 (15.8)
Sepsis	478 (16.7)	0.04	94 (20.5)	0.89	245 (20.2)
Indication for surgery	2,022 (70.8)	0.03	301 (65.9)	<0.01	880 (72.8)
Cardiac surgery	1,484 (52.0)	<0.01	190 (41.6)	0.02	579 (47.9)
Indicated surgery not performed	567 (19.9)	<0.01	117 (25.6)	0.93	312 (25.8)
Duration of treatment	39 (28 - 45)	0.53	38 (26 - 45)	0.31	41 (23 - 48)
Hospital stay	34 (21 - 50)	0.11	36 (23 - 53)	<0.01	41 (24 - 58)
Mortality, n (%)					
In-hospital	645 (22.6)	<0.01	148 (32.4)	0.40	418 (34.9)
With surgery	274 (9.6)	0.29	51 (11.1)	0.60	146 (12.1)
Without surgery	371 (12.9)	<0.01	97 (21.2)	0.60	272 (22.5)
1-year mortality	779 (27.3)	<0.01	191 (41.8)	0.80	497 (41.2)
1-year recurrence*	35 (1.5)	0.10	9 (2.9)	0.04	9 (1.1)
Sequelae at discharge*	334 (15.1)	0.80	45 (14.5)	0.36	133 (16.8)

CNS: central nervous system; HCIE: healthcare-associated IE; CIE: community-acquired IE; NIE: nosocomial IE; *1-year recurrence and sequelae at discharge rates were calculated using surviving patients as the denominator (CIE: 2,209, HCIE: 309, NIE: 791).

Table 5. HCIE patients receiving versus not receiving hemodialysis (N=457)

	No hemodialysis (234)	Hemodialysis (223)	p value
Age, median in years (IQR)	69 (59 - 78)	66 (54 - 74)	<0.01
Male sex, n (%)	161 (68.8)	142 (63.6)	0.25
Comorbidities, n (%)			
Pulmonary disease	44 (18.8)	39 (17.4)	0.72
Hypertension	170 (72.6)	152 (68.1)	0.29
Coronary heart disease	58 (24.7)	68 (30.5)	0.17
Heart failure	74 (31.6)	92 (41.2)	0.03
Diabetes	78 (33.3)	99 (44.4)	0.02
Peripheral vascular disease	35 (14.9)	73 (32.7)	<0.01
Neoplasm	72 (30.8)	34 (15.3)	<0.01
CKD	67 (28.6)	223 (100.0)	<0.01
Native valve disease	95 (40.6)	89 (39.9)	0.88
Immunosuppressive therapy	30 (12.8)	30 (13.4)	0.84
Etiology			
<i>Staphylococcus aureus</i>	58 (24.8)	103 (46.2)	<0.01
MRSA	14 (5.9)	16 (7.1)	0.8
CNS	45 (19.2)	60 (26.9)	0.05
<i>Enterococcus</i> spp.	62 (26.5)	27 (12.1)	<0.01
<i>Streptococcus</i> spp.	40 (17.1)	10 (4.5)	<0.01
<i>Candida</i> spp.	5 (2.1)	6 (2.7)	0.65
Gram-negative bacilli	10 (4.3)	4 (1.8)	0.12
Complications			
Septic shock	24 (10.2)	46 (20.6)	<0.01
Sepsis	33 (14.1)	61 (27.3)	<0.01
Indication for surgery	159 (67.9)	142 (63.7)	0.35
Cardiac surgery	116 (49.6)	74 (33.2)	<0.01
Indicated surgery not performed	46 (19.7)	71 (31.8)	<0.01
Duration of antibiotic treatment	39 (28 - 44)	38 (21 - 46)	0.61
Hospital stay	37 (24 - 53)	32 (20 - 53)	0.15
Mortality, n (%)			
In-hospital exitus	54 (23.1)	94 (42.2)	<0.01
1-year mortality	75 (32.0)	116 (52.0)	<0.01
1-year recurrence*	7 (3.8)	2 (1.5)	0.11
Sequelae at discharge*	33 (18.3)	12 (9.3)	<0.01

CKD: chronic kidney disease; CNS: coagulase-negative staphylococci; MRSA: methicillin-resistant *S. aureus*;

HCIE: healthcare-associated IE; *1-year recurrence and sequelae at discharge rates were calculated using surviving patients as the denominator (no hemodialysis: 180, hemodialysis: 129).

Supplemental Table 1. Standardized differences in demographic characteristics, predisposing factors and site of HCIE with respect to CIE and NIE

Variable	CIE (2,854)	p value (HCIE vs CIE)	Standardized differences*	HCIE (457)	p value (HCIE vs NIE)	Standardized differences*	NIE (1,209)
Median age (IQR)	67 (55 – 76)	0.90	0.0441 (-.0546-1.429)	67 (56 – 76)	<0.01	-0.1710 (-0.2784-0.0635)	70 (61 – 77)
Male sex, n (%)	1,991 (70)	0.14	0.853 (0.691-1.053)	303 (66.3)	0.67	1.057 (0.842-1.328)	788 (65.1)
Comorbidities, n (%)							
Age-adjusted Charlson index (IQR)	4 (2 - 6)	<0.01	0.6766 (.5803-.7729)	6 (4 - 8)	<0.01	0.2913 (0.0545-0.1843)	5 (3 – 7)
Pulmonary disease	473 (16.5)	0.40	1.194 (0.918-1.553)	83 (18.1)	0.05	0.794 (0.601-1.050)	272 (22.5)
Hypertension	1,494 (52.3)	<0.01	2.183 (1.760-2.708)	322 (70.6)	<0.01	1.583 (1.253-1.999)	726 (60.2)
Coronary heart disease	655 (22.9)	0.03	1.271 (1.015-1.591)	126 (27.5)	0.06	0.802 (0.631-1.019)	392 (32.4)
Heart failure	770 (26.9)	<0.01	1.537 (1.248-1.892)	166 (36.3)	<0.01	0.740 (0.592-0.924)	524 (43.3)
Diabetes	734 (25.7)	<0.01	1.835 (1.493-2.256)	177 (38.7)	0.03	1.286 (1.028-1.608)	399 (33.0)
HIV	70 (2.4)	0.23	0.619 (0.283-1.356)	7 (1.5)	0.20	1.842 (0.697-4.869)	10 (0.8)
PWID	110 (3.8)	<0.01	0.331 (0.145-0.758)	6 (1.3)	<0.01	5.329 (1.327-21.398)	3 (0.2)
Peripheral vascular disease	221 (7.7)	<0.01	3.749 (2.901-4.845)	108 (23.6)	<0.01	2.146 (1.631-2.824)	155 (12.8)
Cerebrovascular disease	336 (11.7)	0.60	1.095 (.813-1.475)	58 (12.7)	0.47	0.893 (0.648 – 1.229)	170 (14.0)
Neoplasm	377 (13.2)	<0.01	1.977 (1.551-2.520)	106 (23.2)	0.19	1.181 (0.911-1.529)	245 (20.2)
Renal insufficiency	541 (19.0)	<0.01	7.350 (5.950-9.091)	289 (63.2)	<0.01	4.659 (3.707-5.857)	326 (27.0)
Liver disease	290 (10.1)	0.22	1.203 (0.885-1.635)	55 (12.0)	0.03	1.451 (1.026-2.051)	104 (8.6)
Immunosuppressive therapy	91 (3.1)	<0.01	4.571 (3.244-6.441)	60 (13.1)	0.03	1.558 (1.112-2.181)	107 (9.0)
Cardiological history, n (%)							
Natural valve disease	1,324 (46.4)	0.02	0.779 (0.637-0.952)	184 (40.3)	<0.01	0.698 (0.561-0.868)	594 (49.1)
Congenital heart disease	211 (7.4)	<0.01	0.367 (0.208-0.648)	13 (2.8)	0.10	0.603 (0.326-1.113)	56 (4.6)
Previous endocarditis	217 (7.6)	0.86	0.977 (0.671-1.422)	34 (7.4)	0.86	0.965 (0.641 – 1.451)	93 (7.6)
Previous Surgery	899 (31.5)	<0.01	0.657 (0.521-0.827)	106 (23.2)	<0.01	0.342 (0.268-0.437)	567 (46.9)
Dental procedure, n (%)	264 (9)	<0.01	0.041 (0.010-0.167)	2 (0.004)	-	-	0 (0)
Intravascular catheter present at symptom onset, n (%)	0 (0.0)	-	-	195 (42.6)	0.01	1.309 (1.049-1.633)	411 (33.9)
Peripheral	0 (0.0)	-	-	36 (7.8)	<0.01	0.116 (0.007-0.175)	269 (22.2)
Central short duration	0 (0.0)	-	-	24 (5.2)	.052	0.441 (0.272-0.716)	97 (8.0)
Central long duration	0 (0.0)	-	-	125 (27.3)	<0.01	17.361 (11.114-27.119)	36 (2.9)
Intra-arterial Swan Ganz	0 (0.0)	-	-	10 (2.1)	.013	2.351 (.940-5.881)	9 (0.7)
Days of symptoms to diagnosis (median, IQR)	15 (10 - 60)	<0.01	-0.1090 (-0.2099 - -0.0081)	10 (3 - 21)	0.18	0.1057 (0.0040-0.2154)	10 (2 - 21)
Days of symptoms to admission (median, IQR)	16 (10 - 60)	<0.01	-0.1323 (-0.2330 - -0.0316)	10 (4 - 21)	0.03	0.0736 (-0.0390-0.1863)	10 (2 - 21)

IV. RESULTADOS

IE type, n (%)							
Natural IE	1,976 (69.2)	0.53	1.071 (0.863-1.330)	323 (70.7)	<0.01	2.888 (2.292-3.639)	550 (45.5)
Prosthetic IE	775 (27.2)	<0.01	0.631 (0.492-0.808)	87 (19.0)	<0.01	0.308 (0.238-0.400)	523 (43.3)
Cardiac device	168 (5.9)	<0.01	2.008 (1.443-2.793)	51 (11.2)	0.18	0.795 (0.569-1.110)	165 (13.6)
IE location, n (%)							
Aortic	1,563 (54.8)	<0.01	0.678 (0.556-0.827)	206 (45.1)	0.02	0.780 (0.628-0.968)	620 (51.3)
Mitral	1,339 (46.9)	0.15	0.865 (0.709-1.056)	198 (43.3)	0.04	1.254 (1.008-1.560)	458 (37.9)
Tricuspid	155 (5.4)	<0.01	1.855 (1.307-2.634)	44 (9.6)	<0.01	1.816 (1.221-2.700)	67 (5.5)
Pulmonary	41 (1.6)	0.9	1.067 (0.476-2.394)	7 (1.5)	0.80	0.880 (0.372-2.084)	21 (1.7)
Number of patients receiving empirical treatment	403 (14.1)	0.28	0.847 (0.628-1.142)	56 (12.2)	0.24	0.826 (0.598-1.140)	175 (14.4)

PWID: people who inject drugs.

*t-test used for quantitative variables. Odds ratio used for categorical variables (CI 95%)

Supplemental Table 2. Multivariate analysis of clinical variables associated with HCIE (N=1,666)

Clinical variable	Exp(B), IC95%	p value
Native valve IE	1.81 (1.34 – 2.46)	<0.001
Previous cardiac surgery	0.55 (0.40 – 0.76)	<0.001
Age-adjusted Charlson comorbidity index score	1.14 (1.09 – 1.19)	<0.001
Age	0.98 (0.97 – 0.99)	<0.001

IE: infective endocarditis; HCIE: healthcare-associated IE

Supplemental Table 3. Published series of non-nosocomial healthcare-associated endocarditis (HCIE)

Reference	Country	Period	Definition	Number of cases and percentage of total IE	Age, male sex	Hemodialysis and other comorbidities	Main etiology	Valve or device involvement	Source of infection	Surgery	In-hospital mortality
Siegmán-igra et al. ¹	Israel	2003 - 2005	Admission in the 6 months prior to onset or frequent healthcare contact (dialysis, institutionalized)	52/125 (42%)	69 (51-87); 62%	HD 8 (15%), Intravenous drug abuse 2 (4%)	<i>Enterococcus</i> spp. 22 (41%), CNS 11 (21%), MSSA 1 (2%), MRSA 5 (9%), <i>S. viridans</i> 7 (13%), <i>S. bovis</i> 2 (4%), beta-hemolytic streptococcus 2 (4%), GNB 1 (2%)	PV 16 (30.7%), cardiac device 10 (19.2%)	Valvular surgery 5, cardiovascular surgery 9, IV line 9, urological procedure 7, orthopedic procedure 2, intra-abdominal procedure 4, dental 2	N/A	11 (23%)
Benito et al. ³	28 countries	2000 - 2005	IV treatment, wound care, nursing care, HD or IV therapy in the previous 30 days; hospitalization in the previous 90 days; institutionalized	254/1,622 (16%)	58 (46-69); 62%	HD 54%, DM 31%, NP 17%, IST 19%	<i>S. aureus</i> 107 (42%), MRSA 41 (41%), enterococci 42 (17%), streptococci 14 (6%), other 36 (14%)	All cases in this work are native valve IE.	IV catheter 54%, dental procedures 10%, other invasive procedures 35%	96 (38%)	54 (21%)
Lomas et al. ³	Spain	1984 - 2007	Significant invasive procedure in the previous 6 months (including HD). Early prosthetic valve IE excluded	26/793 (3%)	55 +/- 12.6; 50%	HD 21 (80.7%), CKD (14%), chronic liver disease (9%), NP (8%), Charlson index: 4.2 +/- 2.4	MSSA 6 (23%), MRSA 0, CNS 12 (46%), <i>E. faecalis</i> 1 (3.8%), GNB 1 (4%), fungal 1 (4%), polymicrobial 1 (4%), negative cultures 3 (11.5%)	PV 1 (3.8%)	HD 21 (80.7%), 5 (19.2%) associated with chemotherapy	7 (27%)	15 (58%)
Wu et al. ⁴	Taiwan	2004 - 2009	IV treatment, wound care, nursing care, HD or IV therapy in the previous 30 days; hospitalization in the previous 90 days; institutionalized	30/200 (15%)	67 (45-84); 56.6%	HT 20 (66.7%), DM 17 (56.7%), HD 14 (46.6%), predisposing heart disease 6 (20%), CHF 4 (13.3%), Charlson index: 4 (2-6)	Staphylococci 23 (77%), MSSA 8 (27%), MRSA 13 (43.3%), CNS 2, streptococci 4 (13%), enterococci 3 (10%)	PV 1 (3.8%), NV 10 (38.5%)	N/A	N/A	15 (50%)
Yang et al. ⁵	China	1992 - 2002	IV treatment, wound care, nursing care, HD	20/154 (13%)	44 (39-56), 65%	Valvular rheumatic disease 7 (35%), DM 3 (15%), NP 3 (15%)	Negative blood cultures 6 (30%), staphylococci 4 (38.6%), <i>S. aureus</i> 3	PV 7 (35%)	Previous admission 13 (65%), cardiac surgery 5, intestinal surgery 3,	12 (60%)	3 (15%)

			or IV therapy in the previous 30 days; hospitalization in the previous 90 days; institutionalized	457/4,520 (10%)		IST: 2 (10%), HD 1 (5%), congenital heart disease 1 (5%), Charlson comorbidity index ≥ 2 in 7 (35%)	(15%), streptococci 3 (15%), enterococci 2 (10%), <i>C. albicans</i> 2 (10%), GNB 1 (5%)			pacemaker implant 1, chemotherapy 2 (10%), wound care 4 (20%), HD 1 (5%), other 4	
PR	Spain	2008 - 2021	IV treatment; wound care, HD in the previous 30 days; hospitalized in the previous 90 days; institutionalized	67 (56-76), 66%	HT 322 (7%), CKD 289 (63%), HD 223 (49%), DM 177 (39%), CHF 166 (36%), coronary heart disease 126 (28%), peripheral vascular disease 108 (24%), NP 106 (23%), Charlson index: 6 (4-8)	<i>S. aureus</i> 161 (35.2%), MRSA 30 (6.5%), CNS 105 (23%), enterococci 89 (19.5%), streptococci 50 (10.9%)	PV 87 (19%), NV 323 (70.7%), cardiac device 51 (11.2%)	HD 223 (48.8%), IV catheter 57 (12.5%), colonoscopy 47 (10.3%), urological procedure 32 (7%), pacemaker implantation 32 (7%), previous surgery 12 (2.6%), dental manipulation 2 (0.4%), other 52 (11%)	190 (41.6%)	148 (32%)	

HD: hemodialysis, DM: diabetes mellitus, NP: neoplasm, IST: immuno suppressive treatment, HT: hypertension, CHF: chronic heart failure, CKD: chronic kidney disease, MSSA: methicillin-susceptible *S. aureus*, MRSA: methicillin-resistant *S. aureus*, CNS: coagulase-negative streptococci, GNB: Gram-negative bacilli, NV: native valve, PV: prosthetic valve, IV: intravenous, N/A: not available, PR: present report

References:

1. Siegman-Igra Y, Koifman B, Porat R, Porat D, Giladi M. Healthcare associated infective endocarditis: a distinct entity. Scandinavian Journal of Infectious Diseases 2008; 40(6-7): 474-80.
2. Benito N, Miró JM, de Lazzari E, et al. Health care-associated native valve endocarditis: importance of non-nosocomial acquisition. Annals of Internal Medicine 2009; 150(9): 586-94.
3. Lomas JM, Martínez-Marcos FJ, Plata A, et al. Healthcare-associated infective endocarditis: an undesirable effect of healthcare universalization. Clinical Microbiology and Infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 2010; 16(11): 1683-90.
4. Wu KS, Lee SS, Tsai HC, et al. Non-nosocomial healthcare-associated infective endocarditis in Taiwan: an underrecognized disease with poor outcome. BMC Infectious Diseases 2011; 11: 221.
5. Yang F, Zhang B, Yu J, et al. Epidemiology and the prognosis of healthcare-associated infective endocarditis in China: the significance of non-nosocomial acquisition. Emerging Microbes & Infections 2015; 4(7): e38.

4.4 RESULTADOS DEL OBJETIVO 4

4.4.1 Abstract

Objectives: There is limited information on *Cutibacterium* infective endocarditis (IE), where modifications in the new Duke-ISCVID criteria are not yet properly evaluated. We examined clinical characteristics, outcomes and performance of diagnostic tests in valvular IE and cardiac implantable electronic device IE (CIED-IE) caused by *Cutibacterium* spp.

Methods: All cases of *Cutibacterium* IE from a prospective national cohort including 46 Spanish hospitals from 2008 to 2023 were analyzed. Possible IE cases were reassessed using the new criteria. The sensitivity of blood cultures, valvular and CIED cultures, and PCR of the 16SrRNA gene and sequencing (16SPCR) was examined.

Results: Overall, 67/6,692 (1%) cases of IE were caused by *Cutibacterium* spp. and 85% were men. There were 50 valvular IE cases (45 prosthetic valve IE and 5 native valve IE) and 17 CIED-IE cases. The new criteria identified 8 additional cases and reclassified 15 cases as definitive IE. Intracardiac complications occurred in 23/50 (46%) valvular IE cases, with an 18% mortality rate that reached 40% if surgery was indicated but could not be performed. All CIED-IE cases underwent device extraction and none died. Blood cultures, valve/device cultures and 16SPCR had an overall positivity rate of 52%, 70% and 82%, respectively.

Conclusion: *Cutibacterium* IE is a rare yet potentially severe entity that warrants a high index of suspicion in men with endovascular prosthetic material. Implementing the new Duke-ISCVID criteria and molecular techniques are useful for diagnosis. Considering the significant complication rate, cardiac surgery and removal of CIEDs play a key role in reducing mortality.

4.4.2 Resumen

Objetivos: Existe escasa información sobre la endocarditis infecciosa (EI) causada por *Cutibacterium*, donde las modificaciones de los nuevos criterios Duke-ISCVID no han sido aún evaluadas adecuadamente. Hemos examinado las características clínicas, pronóstico y rentabilidad de las pruebas diagnósticas en la EI valvular y EI asociada a dispositivos cardiacos implantables (EI-DCI) causada por *Cutibacterium* spp.

Métodos: Se analizaron todos los casos de EI por *Cutibacterium* spp. en una cohorte prospectiva nacional incluyendo 46 hospitales españoles entre 2008 y 2023. Los casos de EI posible se revaloraron usando los nuevos criterios. La sensibilidad de los hemocultivos, cultivos valvulares y de DCI y la secuenciación del gen 16SrRNA por PCR (16SPCR) fueron examinados.

Resultados: Globalmente, 67/6.692 (1%) de los casos de EI fueron causados por *Cutibacterium* spp. y el 85% fueron varones. Hubo 50 casos de EI valvular (45 sobre válvula protésica y 5 sobre válvula nativa) y 17 de EI-DCI. Los nuevos criterios identificaron 8 casos adicionales y reclasificaron 15 casos como EI definitiva. Hubo complicaciones intracardiacas en 23/50 (46%) de los casos de EI valvular, con un

18% de mortalidad que alcanzó el 40% si la cirugía estaba indicada pero no se pudo realizar. En todos los casos de EI-DCI se retiró el dispositivo y ninguno murió. Los hemocultivos, cultivos de válvula/DCI y 16SPCR tuvieron una tasa de positividad global del 52%, 70% y 82%, respectivamente.

Conclusión: La EI por *Cutibacterium* es una entidad rara pero potencialmente grave que justifica un alto índice de sospecha en varones con material protésico endovascular. La implementación de los nuevos criterios Duke-ISCVID y las técnicas de diagnóstico molecular son útiles para el diagnóstico. Considerando la elevada tasa de complicaciones, la cirugía cardíaca y la retirada de DCI juegan un papel esencial en disminuir la mortalidad.

4.4.3 Artículo 4**INTRODUCTION**

The genus *Cutibacterium* (formerly *Propionibacterium*) is composed of slow-growing, microaerophilic, Gram-positive bacilli that are part of the skin microbiota, and are frequently regarded as contaminants when isolated in blood cultures. Although usually considered non-pathogenic and low virulent, this genus has been associated with endovascular infections, especially in the presence of prosthetic material, so its isolation in clinical samples must be interpreted with caution in these cases.

In fact, *Cutibacterium acnes* has come to be recognized as a typical infective endocarditis (IE) microorganism in patients with endovascular prosthetic material in the new Duke-ISCVID criteria for the diagnosis of IE published in 2023 [105], indicating a greater recognition of its pathogenic role and the need to better describe the infections it can cause.

However, data on *Cutibacterium* spp. IE in the literature have usually been published as case reports or small size case series [144-146], and few large studies have recently reviewed this entity [148, 149]. Furthermore, molecular techniques and other modern diagnostic methods, newly incorporated into the updated diagnostic criteria [105], have not been always available or properly evaluated, so the real significance of this entity remains unclear.

In this scenario, our objectives were: to determine the incidence, clinical characteristics, diagnosis and outcomes of patients with IE caused by *Cutibacterium* spp. in a large nationwide multicenter prospective cohort in Spain,

including both valvular IE and cases associated with cardiac implantable electronic devices (CIED-IE); and to examine the impact of implementing the new Duke-ISCVID diagnostic criteria for the diagnosis of IE.

METHODS

This was an observational retrospective analysis of the prospectively obtained data from the GAMES cohort: a nationwide, multicenter cohort that has prospectively registered consecutive cases of IE in 45 hospitals across Spain according to modified Duke criteria [97] since 2008, including more than 6,600 cases to date. Cases from Hospital Universitari Vall d'Hebron in Barcelona were also included. GAMES stands for 'Grupo de Apoyo al Manejo de la Endocarditis Infecciosa en España' or 'Spanish Collaboration on Endocarditis'. Cases diagnosed between January 2008 and December 2023 were analyzed (16 years).

For this work, cases recorded as possible IE and CIED-IE cases using modified Duke criteria [97] and European guidelines [152], respectively, have been reassessed according to the new Duke-ISCVID criteria [105]. All CIED-IE cases were intracardiac lead related IE. Recurrences were classified as reinfections (caused by different microorganisms) or relapses (caused by the same microorganism).

Etiology was determined by isolation of *Cutibacterium* spp. in blood cultures, conventional cultures or by PCR and sequence analysis of the 16S ribosomal RNA gene polymerase chain reaction (16SPCR), or any combination of these tests, performed on heart valves, cardiac devices or intravascular prosthetic material.

The performance of each test was evaluated by the number of cases in which they were performed and their positivity rate.

A positive echocardiogram was defined as detection of new regurgitation, cardiac abscess and/or valve or device lead vegetations.

A blood culture set was defined as blood inoculated in two bottles per venipuncture (one with aerobic and one with anaerobic atmospheres). The routine use of sonication and its application as well as the methods of performing 16SPCR are dependent on the specific protocols of each participating institution.

Each case was evaluated individually by a multidisciplinary team in each center, where the diagnosis and treatment to be followed were established. Surgical indications were evaluated by each multidisciplinary team and in accordance with existing clinical guidelines for each period [100, 152].

Data collection:

A standardized case report form was completed in each case, which included clinical information, Charlson comorbidity index score [151], as well as microbiological and echocardiographic results. The use of positron emission tomography-computed tomography (PET-CT) was not initially considered and was added to the protocol subsequently. Time to blood culture positivity is not routinely included in the protocol and was examined for this work. All cases were evaluated one year after inclusion in the registry for resolution, death or recurrence.

Statistical analysis:

Categorical variables were summarized as frequencies and percentages, and continuous variables as medians and interquartile ranges (IQR) (percentile 25 – percentile 75). Categorical variables were compared using the chi-square test (or Fisher's exact test where necessary). Variables with non-normal distribution were compared using the Mann-Whitney U test. Significance was set at $p < 0.05$. All statistical tests were performed using the package IBM SPSS Statistics for Windows, Version 26.

Ethics statement:

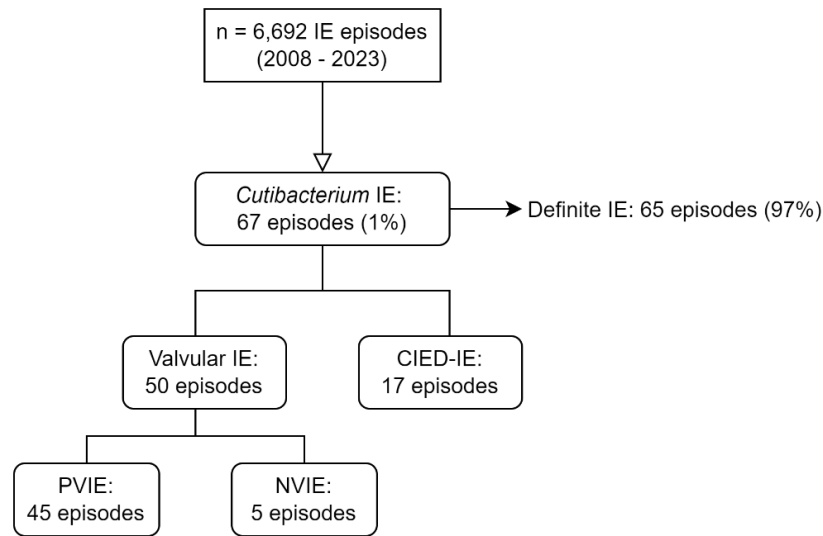
The case report form used was approved by the ethics committee (Comité ético de Investigación Clínica Regional de la Comunidad de Madrid CEIC-R; EC 18/07; date 11/01/2008). Written consent was obtained in all cases.

RESULTS

A total of 6,692 episodes of IE were diagnosed in the study period, with 67 cases (1%) caused by *Cutibacterium* species (Figure 1). A diagnosis of definite IE was established in 65 cases (97%).

Fifty patients had valvular IE: 45 (67%) were prosthetic valve IE (PVIE) and 5 (8%) were native valve IE (NVIE) without any prosthetic material involved. CIED-IE was diagnosed in 17 cases (25%), and two of them also had associated tricuspid valve involvement. The median time from CIED or prosthetic valve implantation to IE diagnosis was 19 (IQR 2-90) and 46 (IQR 24-95) months, respectively (Table 1).

Figure 1. *Cutibacterium* spp. infective endocarditis in a nationwide multicenter prospective cohort flowchart



IE: infective endocarditis; CIED-IE: cardiac implantable electronic device infective endocarditis; NVIE: native valve infective endocarditis; PVIE: prosthetic valve infective endocarditis

Cutibacterium IE represented 25/2,831 (0.9%) of all IE cases in the first half or the period analyzed (2008-2015) and 42/2,836 (1.5%) in the second half (2016-2023) ($p=0.037$). *C. acnes* was the most frequent species (62 episodes, 93%). The remaining species correspond to *C. avidum* ($n=3$), *C. lymphophilium* ($n=1$) and *Cutibacterium* sp. ($n=1$).

Eighty-five percent (57/67) of all cases were male with a high number of comorbidities, especially high blood pressure, previous valvular heart disease, heart failure and coronary artery disease (Table 1), and patients with valvular IE showed a higher burden of comorbidities (Table 3). The duration of symptoms until IE diagnosis was longer than 4 weeks in 36% of the episodes. Fever was present in 48% of all cases and the median C-reactive protein (CRP) level was 12.8

mg/L (IQR 3-50). Clinical characteristics of NVIE are shown in Supplemental Table 1.

Overall, both transthoracic echocardiography (TTE) and transesophageal echocardiography (TEE) were performed in 52 cases (78%), TTE alone was performed in 6 cases (8.9%) and TEE was performed equally in 6 cases (9%). When both tests were performed, TEE provided more information in 33 cases (64%). Among the 64 cases in which echocardiography was performed, 50 (78%) were positive for regurgitation, abscess and/or vegetation (Table 2). Valve vegetations were detected in 39 cases (61%), which corresponded to 21 PVIE, 15 CIED-IE and 5 NVIE cases (as 2 cases had simultaneous tricuspid valve and device electrode involvement), with a mean size of 12.4mm (maximum diameter, standard deviation 7.2mm).

PET-CT was performed in 19 cases, showing abnormal ¹⁸F-fluorodeoxyglucose uptake consistent with infection in 9 of them.

Performance of diagnostic tests

Overall, the positivity rate of blood cultures, valve or device cultures and 16SPCR was 52% (32/62), 70% (35/50) and 82% (23/28), respectively (Table 5). In 23 episodes in which all tests were performed, 16SPCR was again the test with the highest positivity rate (18/23 cases, 78%) (Supplemental Table 2).

Of the 67 cases, 47 had a single positive laboratory diagnostic test, 17 had a combination of 2 positive tests and 3 had all three positive tests. Among cases with a single positive test, 20 had positive valve or device cultures, 19 had positive blood cultures and 8 had a positive 16SPCR.

Blood cultures showed the lowest positivity rate, although antibiotic therapy prior to blood culture extraction was administered in 15 cases. Notably, they were positive in only 3/16 (19%) CIED-IE cases, while 29/46 (63%) valvular IE cases had positive blood cultures. Time to positivity of blood cultures was longer than 5 days in 55% (11/20) of the episodes where this information was available.

Valve culture was positive in 19/33 (58%) valvular IE cases, while device culture showed a 94% (16/17) positivity rate in CIED-IE cases. 16SPCR was positive in 20/23 (87%) valvular IE cases, being the only positive test in 8/20 (40%) of these episodes.

Implementation of new Duke-ISCVID diagnostic criteria

In our series, the implementation of the new diagnostic criteria enabled the inclusion of 8 cases of definite PVIE where a positive 16SPCR performed on a heart valve was the only positive diagnostic test. Additionally, one case of PVIE and 14 cases of CIED-IE that were considered possible IE were reclassified as definitive IE. Although their classification remained unchanged, 7 cases of PVIE due to *C. acnes* in which only 2 sets of positive blood cultures were documented, and 9 cases with a positive PET-CT scan, have now a new major microbiologic criterion.

Clinical evolution and mortality

There were some important differences between valvular IE and CIED-IE cases. Intracardiac complications were observed in 23 cases (34%), all of which were valvular IE cases (Tables 2 and 3). Cardiac abscess was the most frequent (14/23, 61%) and 20 cases developed heart failure (30%). Other notable complications

were acute renal failure (13/67, 19%) and embolization to the central nervous system (6/67, 9%) or to other locations (8/67, 12%).

Antibiotic treatment was based on beta-lactams in 54 episodes (81%), mainly ceftriaxone (58%), while vancomycin and daptomycin were less used alternatives. All isolates in blood cultures were penicillin-susceptible (in 17/32 episodes where this information was available). Combination therapy of a first-line drug with rifampin or gentamicin for at least two weeks was used in 11 (22%) and 4 (8%) cases, respectively. Only one episode of CIED-IE with pulmonary embolisms received chronic suppressive treatment for more than a year.

Overall, the median duration of antibiotic treatment was 42 days (IQR 28-48 days). Although valvular IE cases received a longer course of antibiotic treatment (42 days, IQR 30-50) than CIED-IE cases (37 days, IQR 25-42), there were no statistically significant differences in duration of treatment between both groups (Table 3) nor between cases with conservative management and those who underwent surgery in any subgroup.

Globally, 53/67 (79%) patients underwent surgery: 36/50 (72%) cases of valvular IE underwent cardiac valve replacement, and all 17 (100%) cases of CIED-IE underwent device extraction (Table 3).

While the overall in-hospital mortality rate was 13% (9/67), patients with valvular IE had a mortality rate of 18% (9/50) (Tables 2 and 3). Notably, mortality rates in valvular IE episodes who did not have surgical indications and in episodes where surgery was indicated and performed were 11% (1/9) and 17% (6/36), respectively,

while valvular IE cases where surgery was indicated but could not be performed had a poorer prognosis, whose mortality reached 40% (2/5).

On the other hand, CIED-IE patients showed a much better prognosis, as all 17 cases underwent device extraction, there were no cases of intracardiac complications, persistent bacteremia or sepsis and no deaths in this group (Table 3).

No patient died after one year of follow-up. There were 3 recurrences: 2 of them were reinfections on prosthetic valves (1 caused by *Enterococcus faecalis*, 1 with unknown etiology) and 1 was a relapse in 1 episode of CIED-IE.

DISCUSSION

Data from our contemporary large multicenter cohort confirm that *Cutibacterium* IE is a rare entity that primarily affects men with endovascular prosthetic material, involving mainly prosthetic valves with a prolonged time from prosthesis implantation to IE diagnosis, and that often presents with a subacute course and subtle clinical manifestations.

The recent update of IE diagnostic criteria [105] will have impactful repercussions in the diagnosis of IE, leading to more episodes meeting sufficient criteria to be considered definitive IE. Our work illustrates the high value of molecular diagnostic techniques in the diagnosis of IE nowadays, and the important role it had in our series. 16SPCR allowed the inclusion of 8 cases of PVIE in our series, representing 12% of all cases, and increased the number of definitive IE.

Cutibacterium IE accounted for 1% of all IE cases in our large national multicenter cohort. Previous studies of *Propionibacterium* IE showed similar incidence rates [149, 322]. There were more cases detected in the second half of our study, what might be related to a progressive increase in the number of prosthetic heart valves and cardiac devices implanted over the years [142, 143] and the widespread use of molecular diagnostic techniques.

The predominance of cases in men has been related to the higher proportion of pilosebaceous glands in the male chest, in which *C. acnes* proliferates [323], what could predispose to infection in the surgical act after performing a sternotomy, while the high number of cases involving prosthetic material is attributable to the ability of these bacteria to produce biofilm [324].

Fever was reported in less than half of the cases and there was not a marked rise in CRP levels, in line with recent observations of *C. acnes* IE [148]. These findings, as well as the high proportion of cases involving prosthetic material, differ from global data on IE caused by all other etiological agents previously published in our series, where PVIE and CIED-IE accounted for 27.9% and 9.3% of all IE cases, respectively, and fever was present in more than 80% of cases in both groups [319].

Clinical guidelines indicate that identification of vegetations can be difficult in the presence of prosthetic valves and that diagnosis of IE affecting intracardiac devices can be challenging even with the use of TEE [100]. In our series, 78% of cases in which echocardiography was performed had positive results, remaining an essential tool for diagnosis. The use of PET-CT has also proven useful both in our series and in recent work [148, 325].

Furthermore, reaching an etiological diagnosis might be difficult in *Cutibacterium* IE. Our findings support the routine use of molecular techniques and the recommendation to extend the incubation period of blood cultures beyond 5 days in cases where *Cutibacterium* IE is suspected [149, 247, 248]. In addition, some authors have reported that the specific blood culture bottle and type of medium are also relevant for the detection of *C. acnes* in blood [326]. The difficulties in isolating *C. acnes* from blood cultures are well known [144, 323], so device and valvular cultures and the use of molecular techniques have a crucial role. In this sense, in cases of endovascular prosthetic material, sonication of the material has been shown to improve the diagnostic yield of cultures [327, 328].

Regarding the implementation of the new diagnostic criteria, we believe that they may be overestimating the value of CIED cultures as a pathological criterion for definite endocarditis [105]. Given that a positive 16SPCR from a transcutaneously extracted pacemaker lead is deemed a minor criterion, it prompts consideration of whether comparable precautions should be applied to device cultures.

There is limited information and no gold standard regarding the best antibiotic treatment strategy in *Cutibacterium* infections [323, 329], that is predominantly beta-lactam based. Surgical treatment seems to be a much more decisive factor in *Cutibacterium* IE [148], given the high number of complications. In patients with surgical indications who cannot be operated, chronic suppressive treatment also needs to be evaluated as a possible long-term alternative, as the limited evidence on its use comes from isolated case reports [146, 330].

Possibly related to its prolonged clinical course, there was a high number of complications detected among valvular IE cases and a substantial number of cases with large vegetations (>10mm). This could explain that 72% of these patients received surgical treatment in our work, which is a higher proportion of patients than in general PVIE due to all etiologies, both in our global cohort (43%) and in other regions [319, 331].

While the overall mortality rate was 13%, valvular IE cases with surgical indication who did not undergo surgery had a poorer outcome with a 40% mortality rate. Surgical treatment was able to reduce the mortality of operated patients (17%) close to that of those without surgical indication (11%). Previous works show similar mortality figures [144, 148]. In contrast, there were no deaths among the CIED-IE cases, which had fewer clinical complications and all of which had the device removed. This reinforces the importance of removing cardiac devices in CIED-IE [88, 152, 269, 332].

This high rate of surgical interventions might explain that there was only 1 relapse in our series, as not performing cardiac surgery and/or extracting CIEDs have been linked to recurrence [146, 148, 333].

Isolation of *Cutibacterium* spp. from endovascular material should be considered relevant. However, we acknowledge that outside of an appropriate clinical context, it may be interpreted as colonization [334]. In this respect, molecular methods can contribute to diagnostic accuracy.

Our work has some limitations. Given the nationwide nature of this work, it was not possible to obtain the same samples and apply the same diagnostic techniques

in each participating center. Our protocol does not include all the variables analyzed; hence, some needed to be acquired retrospectively and could not be retrieved for all cases. Two cases were included in 2023, whose evolution after one year has yet to be assessed. There is no specific data available regarding the systematic use of sonication and the specific type of blood culture bottle employed at each institution throughout the years. Due to the low incidence of this entity, this work lacks the statistical power to compare outcomes of each antibiotic strategy. Nevertheless, this study represents one of the largest published series of IE due to *Cutibacterium* spp. to date, where both valvular IE and CIED-IE have been analyzed, and the diagnostic performance of each laboratory test has been assessed, including the high value of 16SPCR.

In conclusion, *Cutibacterium* IE is a rare yet potentially severe entity that warrants a high index of suspicion, especially in men with endovascular prosthetic material, where the incubation time of blood cultures should be extended. The implementation of the new Duke-ISCVID criteria will facilitate reaching a diagnosis. Molecular diagnostic tests have proven useful and should be routinely applied. A substantial proportion of cases experience complications, so cardiac surgery and removal of CIEDs play a key role in reducing mortality.

TABLES**Table 1. Clinical characteristics of 67 cases of IE caused by *Cutibacterium* spp.**

Variable	<i>Cutibacterium</i> spp. IE (n=67)
Age, median (IQR)	66 (55 - 75)
Sex (Men)	57 (85)
Comorbidities	
Age-adjusted Charlson comorbidity index score	4 (2 - 6)
Hypertension	40 (60)
Native valve disease	36 (54)
Dyslipemia	28 (42)
Chronic heart failure	24 (36)
Coronary artery disease	21 (31)
Diabetes	15 (22)
Cerebrovascular disease	15 (22)
Chronic kidney disease	13 (19)
Congenital heart disease	12 (18)
Pulmonary disease	9 (13)
Previous IE	4 (6)
PLWH	0 (0)
PWID	0 (0)
Time from symptom onset to admission	
<2 weeks	18 (28)
2-4 weeks	13 (20)
>4 weeks	23 (36)
Unknown	10 (16)
Presence of fever (>38°C)	32 (48)
CRP level, median (IQR)	13 (3 - 50)
Definite IE [§]	65 (97)
Location	
Aortic	39 (58)
Mitral	11 (16)
Tricuspid	3 (5)
Pulmonar	1 (2)
Native valve IE*	5 (8)
Prosthetic valve IE	45 (67)
CIED-IE	17 (25)
Months from valve prosthesis implantation to diagnosis (median, IQR)	46 (24 - 95)

Months from CIED implantation to diagnosis (median, IQR)	19 (2 – 90)
--	-------------

IQR: interquartile range; IE: infective endocarditis; CRP: C-reactive protein; CIED: cardiac implantable electronic device; PLWH: people living with HIV; PWID: people who inject drugs; SD: standard deviation.
 *Native valve infective endocarditis cases excluding 2 cases associated with cardiac implantable electronic devices.

§According to Duke-ISCVID criteria for the diagnosis of IE

Table 2. Clinical evolution of 67 cases of IE caused by *Cutibacterium* spp.

Variable	<i>Cutibacterium</i> spp. IE (n=67)
Echocardiography	64 (96)
Only TTE performed, (n=64)	6 (9)
Only TEE performed, (n=64)	6 (9)
Both TTE and TEE, (n=64)	52 (81)
Positive echocardiogram*, (n=64)	50 (78)
Days from admission to echocardiography	3 (1 – 6)
Vegetations	39 (58)
Mean vegetation size in mm, maximum diameter (SD)	12.4 (7)
Duration of antibiotic treatment (days)	42 (28 - 48)
Intracardiac complications	23 (34)
Abscess, (n=23)	14 (61)
Pseudoaneurysm, (n=23)	8 (35)
Perforation, (n=23)	4 (17)
Intracardiac fistula, (n=23)	3 (13)
Acute heart failure	20 (30)
Persistent bacteraemia	3 (5)
CNS embolism	6 (9)
Embolization (other than CNS)	8 (12)
Acute renal failure	13 (19)
Septic shock	3 (5)
Sepsis	4 (6)
Indication for surgery	58 (87)
Surgery	53 (79)
In-hospital mortality	9 (13)
1-year mortality (cumulative)	9 (13)
Recurrences	3 (4)
Reinfection	2 (3)
Relapse	1 (1)

CNS: central nervous system; TTE: transthoracic echocardiogram; TEE: transesophageal echocardiogram

*Positive echocardiogram: positive for regurgitation, abscess and/or vegetation

Table 3. Clinical characteristics and evolution of 48 cases of valvular IE and 16 cases of CIED-IE caused by *Cutibacterium* spp.

Variable	Valvular IE (n=50)	CIED-IE (n=17)	p
Age, median (IQR)	66 (55 - 75)	65 (49 - 75)	0.71
Sex (men)	44 (88)	13 (77)	0.25
Definite IE ^s	48 (96)	17 (100)	0.75
Native valve IE	6 (12)	2 (12)	0.98
Prosthetic valve IE	44 (88)	0	-
Location			
Aortic	39 (78)	0	-
Mitral	11 (22)	0	-
Tricuspid	1 (2)	2 (12)	0.09
Pulmonar	1 (2)	0	-
Comorbidities			
Age-adjusted Charlson comorbidity index score	4 (2 - 7)	3 (1 - 5)	0.08
Pulmonary disease	8 (16)	1 (6)	0.29
Coronary artery disease	17 (34)	4 (24)	0.06
Chronic heart failure	21 (42)	3 (18)	0.07
Diabetes	11 (22)	4 (24)	0.90
Hypertension	32 (64)	8 (47)	0.22
CKD	11 (22)	2 (12)	0.36
Cerebrovascular disease	13 (26)	2 (12)	0.22
Native valve disease	30 (60)	6 (35)	0.18
Congenital heart disease	6 (12)	6 (35)	0.06
Previous IE	3 (6)	1 (6)	0.99
Clinical course			
Intracardiac complications	23 (46)	0	-
Abscess, (n=23)	14 (61)	0	-
Pseudoaneurysm, (n=23)	8 (35)	0	-
Perforation, (n=23)	4 (17)	0	-
Intracardiac fistula, (n=23)	3 (13)	0	-
Acute heart failure	19 (38)	1 (6)	0.01
New murmur	16 (32)	1 (6)	0.07
Persistent bacteremia	3 (6)	0	-
CNS embolism	6 (12)	0	-
Embolization (other than CNS)	5 (10)	3 (18)	0.15
Acute renal failure	11 (22)	2 (12)	0.36
Sepsis	4 (8)	0	-
Surgery	36 (72)	17 (100)	0.01

IV. RESULTADOS

Indication for surgery	41 (82)	17 (100)	0.06
Duration of antibiotic treatment (days), median (IQR)	42 (30 - 50)	37 (25 - 42)	0.08
In-hospital mortality	9 (18)	0	-
1-year mortality (cumulative)	9 (18)	0	-
Recurrences	2 (4)	1 (6)	0.75
Reinfection	2 (4)	0	-
Relapse	0 (0)	1 (6)	-

CIED: cardiac implantable electronic device; CKD: chronic kidney disease; CNS: central nervous system; CRP: C-reactive protein; IQR: interquartile range; IE: infective endocarditis; PLWH: people living with HIV; PWID: people who inject drugs.

§According to Duke-ISCVID criteria for the diagnosis of IE

Table 4. Positivity rate of diagnostic tests used in 67 cases of *Cutibacterium* spp. infective endocarditis involving cardiac valves or cardiac devices.

Test	Valvular IE (n=50)	CIED IE (n=17)	Total (n=67)
Blood cultures, positive/performed, (%)	29/46 (63%)	3/16 (19%)	32/62 (52%)
Only BC	18/29 (62%)	1/3 (33%)	19/32 (59%)
BC and cultures	4/29 (14%)	1/3 (33%)	5/32 (16%)
BC and 16SPCR	5/29 (17%)	0/3 (0%)	5/32 (16%)
BC, cultures and 16SPCR	2/29 (7%)	1/3 (33%)	3/32 (9%)
Other cultures, positive/performed, (%)	19/33 (58%)	16/17 (94%)	35/50 (70%)
Only cultures	8/19 (42%)	12/16 (75%)	20/35 (57%)
Cultures and BC	4/19 (21%)	1/16 (6%)	5/35 (14%)
Cultures and 16SPCR	5/19 (26%)	2/16 (13%)	7/35 (20%)
Cultures, BC and 16SPCR	2/19 (11%)	1/16 (6%)	3/35 (9%)
16SPCR, positive/performed, (%)	20/23 (87%)	3/5 (60%)	23/28 (82%)
Only 16SPCR	8/20 (40%)	0/3 (0%)	8/23 (35%)
16SPCR and BC	5/20 (25%)	0/3 (0%)	5/23 (22%)
16SPCR and cultures	5/20 (25%)	2/3 (67%)	7/23 (30%)
16SPCR, BC and cultures	2/20 (10%)	1/3 (33%)	3/23 (13%)

Global positivity rates of each test (when performed) are represented in gray rows. White rows represent the different combinations of positive techniques in each group.

Other cultures: valve and/or cardiac device culture

BC: blood cultures; 16SPCR: 16S ribosomal RNA gene sequencing by polymerase chain reaction

Supplemental Table 1. Clinical characteristics, evolution and positive microbiological tests in 7 cases of infective endocarditis on native valve due to *Cutibacterium* spp.

Variable	NVIE (n=7)
Age, median (IQR)	58 (46 - 84)
Sex (men)	4 (57)
Definite IE	5 (71)
Location	
Aortic	3 (43)
Mitral	2 (29)
Tricuspid	2 (29)
CIED-IE	2 (29)
Comorbidities	
Age-adjusted Charlson comorbidity index score	5 (0 - 11)
Native valve disease	2 (29)
Congenital heart disease	2 (29)
Previous IE	2 (29)
Clinical course	
Intracardiac complications	
Perforation	1 (14)
Abscess	1 (14)
Heart failure	3 (43)
Persistent bacteremia	1 (14)
CNS embolism	1 (14)
Acute renal failure	2 (29)
Sepsis	1 (14)
Surgery	4 (57)
Indication for surgery	5 (71)
Reinfection	0 (0)
In-hospital mortality	2 (29)
1-year mortality	2 (29)
Positive microbiological tests	

Blood cultures	3 (43)
Blood cultures and valve culture	0 (0)
Valve culture	3 (43)
Valve culture and 16SPCR	1 (14)

CNS: central nervous system; 16SPCR: 16S ribosomal RNA gene sequencing by polymerase chain reaction

Supplemental Table 2. Concordance of diagnostic tests in 23 cases of IE due to *Cutibacterium* spp. in which blood cultures, PCR and other cultures have been performed

Positive test	IE cases with BC, 16SPCR and cultures performed (23)
BC, 16SPCR and cultures	3 (13%)
BC and 16SPCR	4 (17%)
BC and cultures	1 (4%)
16SPCR and cultures	6 (26%)
Only 16SPCR	5 (22%)
Only Cultures	3 (13%)
Only BC	1 (4%)
Total	
BC	9/23 (39%)
Cultures	13/23 (57%)
16SPCR	18/23 (78%)

BC: blood cultures; 16SPCR: 16S ribosomal RNA gene sequencing by polymerase chain reaction

4.5 RESULTADOS DEL OBJETIVO 5

4.5.1 Abstract

Introduction: Biochemical analysis of blood cultures, inexpensive and available in all hospitals, has never been evaluated in the approach to endovascular infection. Our aim was to evaluate whether there are characteristic and identifiable biochemical parameters in positive and negative blood culture bottles, and whether they can discriminate between Gram-positive and Gram-negative microorganisms.

Methods: Biochemical analysis was performed using 20 mL of blood from 150 blood culture bottles: 50 standard (no blood), 50 negative (with blood and negative result), and 50 positive (with blood and positive result) bottles after at least 48 hours of incubation using the routine automated process, and before being discarded after 5 days of incubation. Bacteria in positive bottles were Gram-negative in 30 cases and Gram-positive in 20 cases.

Results: Statistically significant differences were found in the biochemical composition of multiple variables between standard, negative and positive bottles. A glucose level ≤ 4 mg/dL offers overall high discriminatory ability (AUC 0.985) to distinguish positive from negative bottles in all groups. In anaerobic bottles, a creatinine value ≤ 2 mg/dL fully discriminates positive from negative bottles, and an iron value ≤ 70 μ g/dL correctly identifies all positive bottles with Gram-negative microorganisms (AUC=1).

Conclusion: Biochemical changes in the composition of positive blood cultures could be useful for the diagnosis of bacteremia. We hypothesised that they could

predict the outcome of blood cultures early if they could be detected in less than 48 hours of incubation.

4.5.2 *Resumen*

Introducción: El análisis bioquímico de hemocultivos, barato y disponible en todos los hospitales, nunca ha sido evaluado en el abordaje de la infección endovascular. Nuestro objetivo fue evaluar si existen parámetros bioquímicos característicos e identificativos en los frascos de hemocultivos positivos y negativos, y si pueden discriminar entre microorganismos Gram-positivos y Gram-negativos.

Métodos: Se realizó un análisis bioquímico utilizando 20 mL de sangre a partir de 150 botellas de hemocultivos: 50 botellas basales (sin sangre), 50 negativas (con sangre y resultado negativo), y 50 positivas (con sangre y resultado positivo) tras al menos 48 horas de incubación mediante el proceso automatizado estándar, y antes de ser desechados a los 5 días de incubación. El agente etiológico en las botellas positivas correspondió a bacterias Gram-negativas en 30 casos y Gram-positivas en 20 casos.

Resultados: Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la composición bioquímica de múltiples variables entre botellas basales, negativas y positivas. Un nivel de glucosa ≤ 4 mg/dL ofrece globalmente una gran capacidad discriminatoria (AUC 0,985) para distinguir botellas positivas de negativas en todos los grupos. En las botellas anaerobias, un valor de creatinina ≤ 2 mg/dL discrimina totalmente las botellas positivas de las negativas, y un valor de hierro

≤ 70 $\mu\text{g/dL}$ identifica correctamente todas las botellas positivas con microorganismos Gram-negativos (AUC=1).

Conclusión: Los cambios bioquímicos en la composición de los hemocultivos positivos podrían ser útiles para el diagnóstico de la bacteriemia. Hipotetizamos que podrían predecir el resultado de los hemocultivos de forma precoz si pudieran detectarse en menos de 48 horas de incubación.

4.5.3 Artículo 5

INTRODUCCIÓN

El análisis de hemocultivos continúa siendo el “gold standard” en el diagnóstico de la infección endovascular, aunque el proceso puede precisar generalmente unas 48 horas para ofrecer resultados y su rentabilidad depende de otros factores como el uso previo de antibióticos o el volumen de sangre inoculada [210].

El análisis bioquímico de botellas de hemocultivos, barato y accesible para cualquier hospital, nunca ha sido utilizado en el abordaje de la infección endovascular, y la única información sobre la composición bioquímica de las botellas de hemocultivos es la proporcionada en las especificaciones de cada fabricante. Los potenciales cambios en los parámetros bioquímicos de los hemocultivos en función de si crecen microorganismos en ellos y su potencial utilidad clínica no han sido analizados previamente. De detectarse, hipotetizamos que la detección precoz de estos cambios en un sencillo análisis bioquímico podría ayudar al diagnóstico rápido de la bacteriemia.

Los objetivos de este trabajo fueron: analizar si existen parámetros bioquímicos característicos e identificativos en los frascos de hemocultivos positivos y negativos; y comprobar si pueden discriminar entre microorganismos Gram-positivos y Gram-negativos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo a partir de muestras de hemocultivos que ya han sido clasificados como positivos o negativos por los métodos tradicionales tras al menos 48 horas de incubación y antes de ser desechados a los 5 días. Se aplicó esta hipótesis al aislamiento únicamente de bacterias (Gram-positivas y Gram-negativas) y no de hongos.

Se analizaron 150 muestras en total de hemocultivos: 50 botes sin sangre inoculada, 50 botes con sangre y resultado negativo y 50 botes con sangre y resultado positivo, a las que se hará referencia como botellas basales, botellas negativas y botellas positivas, respectivamente.

Inicialmente se comprobó la viabilidad de las mediciones en los botes basales de hemocultivos y la reproducibilidad de resultados. Posteriormente se analizaron los resultados de las botellas negativas (incubados durante 5 días según el método estándar, antes de ser descartados). Finalmente, se compararon los resultados de las botellas positivas (tras al menos 48 horas de incubación y antes de que las muestras fueran desechadas tras 5 días de incubación).

El análisis bioquímico se realizó mediante la extracción de una muestra de 20mL de cada botella analizada e incluyó la determinación de los siguientes parámetros: ácido úrico, albúmina, alanina aminotransferasa (ALT), amilasa, aspartato aminotransferasa (AST), bilirrubina total, calcio, calcio libre, creatina quinasa (CK), cloro, colesterol, creatinina, fosfatasa alcalina (FA), fosfato, glucosa, gamma-glutamil transpeptidasa (GGT), hierro, magnesio, proteína C reactiva (PCR), potasio, procalcitonina, proteínas totales, transferrina, triglicéridos, urea, vitamina

D, vitamina B₁₂, ferritina, ácido fólico, lactato, pH, calcio iónico, interleucina-6, lactato deshidrogenasa (LDH), sodio, vitamina A y vitamina E.

El estudio se desarrolló en su totalidad en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid, desde el servicio de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas, con la colaboración del servicio de Bioquímica Clínica. El proceso de incubación de hemocultivos se realizó en todas las fases utilizando el sistema de análisis automatizado BD BACTEC™ FX y los botes de hemocultivos BD BACTEC™ Plus Aerobic/F para microorganismos aerobios y BD BACTEC™ Plus Aerobic/F para anaerobios.

Las determinaciones bioquímicas se realizaron en los analizadores automatizados de Siemens Healthcare Diagnostics, ADVIA CHEMISTRY XPT, por técnicas espectrofotométricas. Para la determinación del pH y de lactato en sangre se utilizó el equipo GEM PREMIER 5000 de Werfen, por técnicas potenciométricas y amperométricas respectivamente. Los valores se midieron en las unidades de referencia para cada variable, representadas en las tablas.

Para el análisis estadístico, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis y de Mann-Whitney para las comparaciones entre grupos al tratarse de variables con distribuciones que no muestran una distribución normal. Se calcularon curvas ROC univariantes y el área bajo la curva (AUC) para valorar la capacidad discriminativa de cada variable, globalmente y según el tipo de bote utilizado.

Aspectos éticos

Este trabajo (MICRO.HGUGM.2023-21) cuenta con el dictamen favorable del Comité de Ética de la Investigación con Medicamentos del Hospital General

Universitario Gregorio Marañón de Madrid, donde se exime de la necesidad de obtención de consentimiento informado firmado en base a las características de este trabajo. Las muestras se conservarán durante el tiempo que el estudio esté vigente y tras su finalización se eliminarán. En ningún caso se precisó la extracción de nuevas muestras de sangre de ningún paciente.

RESULTADOS

Se analizaron un total de 150 botellas de hemocultivos: 50 botellas basales (26 aerobias, 24 anaerobias), 50 botellas negativas (28 aerobias, 22 anaerobias) y 50 botellas positivas (26 aerobias, 24 anaerobias). En total, se analizaron 80 botellas aerobias y 70 anaerobias. Entre las 50 botellas positivas, 30 corresponden a microorganismos Gram-negativos y 20 a microorganismos Gram-positivos.

En las botellas positivas, los microorganismos aislados fueron *Escherichia coli* (21 botellas), *Staphylococcus coagulasa-negativa* (11 botellas), *Enterococcus faecalis* (3 botellas), *Klebsiella pneumoniae* (3 botellas), *Staphylococcus aureus* (3 botellas), *Serratia marcescens* (2 botellas), *Haemophilus influenzae* (1 botella), *Proteus mirabilis* (1 botella), *Pseudomonas putida* (1 botella), *Raoultella ornitolytica* (1 botella), *Streptococcus mitis* (1 botella), *S. parasanguinis* (1 botella) y *S. pneumoniae* (1 botella).

Las variables ácido úrico, albúmina, ALT, amilasa, AST, bilirrubina total, calcio, calcio libre, CK, colesterol, FA, fosfato, GGT, potasio, procalcitonina, proteínas totales, transferrina, vitamina D, ácido fólico, lactato, pH, calcio iónico, LDH, sodio, vitamina A y vitamina E fueron finalmente excluidas del análisis por ofrecer

resultados negativos o no detectables por posible interferencia en todas las muestras.

Análisis general

Se encontraron diferencias significativas en los niveles de numerosas variables entre las botellas basales aerobias y las anaerobias (Tabla 1), siendo las más llamativas los niveles de creatinina (mediana 0,16 mg/dL en aerobias, 3,3 mg/dL en anaerobias), hierro (mediana 285 µg/dL en aerobias, 90,5 µg/dL en anaerobias) y glucosa (mediana 97,5 mg/dL en aerobias, 119 mg/dL en anaerobias).

La Tabla 2 muestra la mediana de los resultados del análisis bioquímico para cada variable en las botellas basales, negativas y positivas. Globalmente, se encuentran diferencias significativas entre la mayoría de variables analizadas. La glucosa presenta un AUC de 0,993, mostrando una capacidad casi perfecta para distinguir entre las botellas basales, negativas y positivas para unos niveles de glucosa de 85 mg/dL y 4 mg/dL (Tabla 3, Figura 1). Los niveles de triglicéridos disminuyen llamativamente en las botellas positivas respecto a las negativas (mediana 16 vs 80,5 mg/dL, respectivamente).

La Tabla 3 muestra las comparaciones dos a dos entre botellas basales, negativas y positivas. Entre las botellas negativas y las positivas, se encontraron diferencias significativas en los niveles de creatinina, glucosa, magnesio, triglicéridos, ácido fólico e interleucina 6. La glucosa mantiene un AUC de 0,985 para distinguir entre estas categorías: para un valor de glucosa ≤ 4 mg/dL, hay un 97,8% de

probabilidades de que se trate de una botella positiva, mientras que por encima de 4 mg/dL hay un 96% de probabilidades de que sea una botella negativa (Figura 1).

Al discriminar entre hemocultivos negativos y positivos según el tipo de botella (datos no mostrados en tablas), la glucosa mantiene muy buena capacidad discriminativa tanto en las botellas aerobias como anaerobias (AUC de 0,993 y 0,977, respectivamente). Llamativamente, en las botellas anaerobias la creatinina alcanza un AUC = 1; la presencia de un nivel de creatinina ≤ 2 mg/dL identifica correctamente todas las botellas positivas, mientras que un nivel por encima de 2 identifica todas las botellas negativas, con una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo del 100% (Figura 2).

Botellas positivas

Las medianas de cada variable en las botellas positivas en función del tipo de microorganismo aislado y su AUC se representan en la Tabla 4. Los niveles de magnesio y triglicéridos ofrecen una buena capacidad discriminatoria para distinguir entre Gram-positivos y Gram-negativos (AUC por encima de 0,80).

Si distinguimos por el tipo de botella (datos no mostrados en tablas), los niveles de hierro ofrecen un AUC de 0,84 para botellas aerobias, mientras que en las botellas anaerobias el AUC es 1: en las botellas anaerobias, un nivel de hierro ≤ 70 $\mu\text{g/dL}$ identifica correctamente todas las botellas positivas con microorganismos Gram-negativos, mientras que todas las botellas positivas con microorganismos Gram-positivos muestran un nivel por encima de 70 $\mu\text{g/dL}$ (Figura 3).

DISCUSIÓN

El análisis bioquímico de los hemocultivos, barato y accesible para cualquier hospital, nunca ha sido evaluado en el diagnóstico de la bacteriemia en la literatura. Este trabajo nos ha permitido identificar una serie de variables cuya determinación podría ser potencialmente útil en el diagnóstico de la bacteriemia, siendo capaz de identificar botellas positivas e incluso el tipo de microorganismo aislado.

Dada la ausencia de información sobre la composición bioquímica de los hemocultivos, nuestro trabajo empieza analizando los componentes de las botellas basales, sin sangre analizada, donde se comprueba que existen diferencias en la mayoría de parámetros analizados.

Pero los hallazgos más relevantes se observan al comparar las diferencias entre las botellas negativas y positivas, como en el caso de la glucosa o los triglicéridos. La glucosa tiene una capacidad discriminativa casi perfecta para distinguir entre botellas positivas y negativas, mostrando niveles inferiores a 4 mg/dL de manera constante en todas las botellas positivas. Esta capacidad se mantiene, además, independientemente de si se trata de botellas aerobias o anaerobias.

Atendiendo a las reacciones bioquímicas que podrían estar teniendo lugar para explicar estos hallazgos, es conocido que las bacterias son capaces de obtener energía mediante el proceso de glicolisis, que consiste en la ruptura de la glucosa en piruvato a través de una serie de reacciones químicas. Tratando de simplificar este complejo proceso, podemos resumir que en condiciones aeróbicas la enzima piruvato deshidrogenasa transforma el piruvato en acetil coenzima A, que es

aprovechado en el ciclo de Krebs, mientras que en la respiración anaerobia se obtiene lactato a partir del piruvato, utilizado para la obtención de energía [335, 336]. Dado que este mecanismo se ha descrito para bacterias aerobias y anaerobias, se puede justificar el descenso en los niveles de glucosa en las botellas positivas.

En el caso concreto de las botellas anaerobias, la determinación de creatinina muestra una capacidad discriminativa perfecta para identificar botellas positivas en nuestro trabajo. De manera similar a la glucosa, nuestra hipótesis es que las bacterias organótrofas, que requieren compuestos orgánicos como carbohidratos, lípidos y proteínas (entre otros) para su metabolismo, podrían utilizar la creatinina presente en las botellas para obtener energía [336]. Este razonamiento también sería aplicable a los triglicéridos, explicando los menores niveles de creatinina y triglicéridos en las botellas positivas.

Para distinguir el tipo de microorganismo aislado en las botellas positivas, aunque los niveles de triglicéridos y magnesio ofrecen buenos resultados globalmente, es destacable la capacidad discriminativa de los niveles de hierro en las botellas anaerobias, donde un punto de corte de 70 $\mu\text{g/dL}$ es capaz de distinguir entre botellas con Gram-positivos de las que tienen Gram-negativos. Dado que el hierro es un elemento esencial que ejerce de cofactor de múltiples enzimas y forma parte de muchos compuestos del metabolismo bacteriano, siendo la captación de hierro un paso principal de la multiplicación de bacterias en el huésped [337], es razonable pensar que las bacterias utilicen el hierro disponible en el medio de las botellas.

Las bacterias poseen diversos mecanismos de captación de hierro, basados en sideróforos (moléculas con elevada afinidad por el hierro) o en una interacción directa de los receptores bacterianos con las proteínas del huésped que transportan el hierro [337, 338]. Estos mecanismos se expresan en distinta medida en bacterias Gram-negativas y Gram-positivas y a nivel de especies bacterianas, lo que podría estar implicado en el menor nivel de hierro observado en las botellas positivas con Gram-negativos. Hipotetizamos que los Gram-negativos parecen captar más eficientemente el hierro disponible en el medio, o que los Gram-positivos estarían utilizando otros mecanismos como proteasas para liberar el hierro de las proteínas transportadoras, aumentando su concentración en el medio de cultivo y consecuentemente los niveles detectados en nuestras mediciones. El metabolismo del hierro es, precisamente, una de las vías utilizadas por cefiderocol, un antibiótico de reciente comercialización conjugado con un sideróforo, para ejercer su efecto [339].

Este trabajo cuenta con varias limitaciones, como un escaso tamaño muestral y una potencia insuficiente para evaluar el efecto del tiempo de incubación en cada grupo, lo que también podría tener un efecto sobre las determinaciones bioquímicas. Los 50 hemocultivos positivos analizados corresponden a muestras de 36 pacientes, por lo que hay muestras que provienen del mismo paciente. Aunque esto limita la extrapolación de resultados, también resulta útil para verificar la reproducibilidad de las mediciones. Las reacciones bioquímicas del metabolismo bacteriano son distintas en medios aeróbicos y anaeróbicos. Dado que la atmósfera de las botellas anaerobias se pierde en el proceso de extracción de

las muestras de sangre y análisis bioquímico, desconocemos el efecto real que este hecho puede provocar sobre las mediciones.

En cuanto a la aplicación práctica de esta idea, ha de tenerse en cuenta las convenientes medidas de bioseguridad en el laboratorio en la manipulación de muestras de hemocultivos con microorganismos viables: en este estudio se han seleccionado muestras donde ya se conocía el microorganismo presente, pero en caso de realizarse estudios prospectivos en este sentido con muestras clínicas reales cuyo resultado es desconocido, debe plantearse un circuito donde se puedan manejar muestras donde potencialmente puedan detectarse bacterias con nivel de bioseguridad 3 y riesgo de aerosolización como *Brucella* spp. [3].

En cualquier caso, nuestros datos sugieren que las reacciones secundarias al metabolismo bacteriano producen cambios bioquímicos detectables por un sencillo análisis, y que estas determinaciones pueden resultar útiles para predecir la positividad de los hemocultivos y orientar sobre la etiología. Si su detección fuera posible en las primeras 48 horas de incubación de las botellas, esta información podría aportar valiosa información complementaria al análisis convencional de hemocultivos, e incluso proporcionar datos de manera más precoz que el análisis rutinario por los medios automatizados.

CONCLUSIÓN

El análisis de parámetros bioquímicos fácilmente medibles es capaz de discriminar entre hemocultivos positivos y negativos y entre microorganismos Gram-positivos y Gram-negativos. Hipotetizamos que estos cambios bioquímicos

podrían ser potencialmente útiles para la predicción de la positividad antes que los métodos tradicionales, de detectarse con menos de 48 horas de incubación.

TABLAS

Tabla 1. Análisis bioquímico de botellas de hemocultivos basales (n=50), considerando botellas aerobias (n=26) y anaerobias (n=24)

Variable	Mediana	P
Cloruro (mmol/L)		<0,05
Basal aerobia	72,5	
Basal anaerobia	91	
Creatinina (mg/dL)		<0,05
Basal aerobia	0,16	
Basal anaerobia	3,3	
Glucosa (mg/dL)		<0,05
Basal aerobia	97,5	
Basal anaerobia	119	
Hierro (µg/dL)		<0,05
Basal aerobia	285	
Basal anaerobia	90,5	
Magnesio (mg/dL)		<0,05
Basal aerobia	1,7	
Basal anaerobia	2,3	
Proteína C reactiva (mg/L)		0,273
Basal aerobia	4	
Basal anaerobia	4	
Triglicéridos (mg/dL)		<0,05
Basal aerobia	78,5	
Basal anaerobia	65	
Ácido fólico (µg/L)		<0,05
Basal aerobia	19,2	
Basal anaerobia	20	
Interleucina 6 (pg/mL)		0,56

Basal aerobia	2,3	
Basal anaerobia	2,2	
Sodio (mmol/L)		<0,05
Basal aerobia	111	
Basal anaerobia	144	

Tabla 2. Análisis bioquímico de botellas de hemocultivos basales (n=50), botellas negativas (n=50) y botellas positivas (n=50)

Variable	Mediana	P	AUC
Cloruro (mmol/L)		<0,05	0,644
Basal	74		
Negativa	77		
Positiva	81		
Creatinina (mg/dL)		<0,05	0,412
Basal	0,27		
Negativa	0,65		
Positiva	0,67		
Glucosa (mg/dL)		<0,05	0,993*
Basal	101,5		
Negativa	53		
Positiva	4		
Hierro (µg/dL)		0,298	0,412
Basal	92,5		
Negativa	103		
Positiva	128		
Magnesio (mg/dL)		<0,05	0,295
Basal	2		
Negativa	1,9		
Positiva	1,7		
Proteína C reactiva (mg/L)		<0,05	0,635
Basal	4		
Negativa	4		
Positiva	5,3		
Triglicéridos (mg/dL)		<0,05	0,904**
Basal	72		
Negativa	80,5		
Positiva	16		
Urea (mg/dL)		<0,05	0,674
Basal	11		
Negativa	14		
Positiva	18		
Vitamina B12 (ng/L)		<0,05	0,519
Basal	148		

IV. RESULTADOS

Negativa	148		
Positiva	148		
Ferritina (µg/L)		<0,05	0,777
Basal	2		
Negativa	47		
Positiva	59,5		
Ácido fólico (µg/L)		<0,05	0,687
Basal	20		
Negativa	17,65		
Positiva	20		
Interleucina 6 (pg/mL)		<0,05	0,850
Basal	2,2		
Negativa	7,15		
Positiva	45,75		
Sodio (mmol/L)		0,447	0,563
Basal	114,5		
Negativa	115		
Positiva	117,5		

Se expresa en negrita los valores con diferencias estadísticamente significativas y los mejores valores de AUC. AUC: área bajo la curva; *₁/Glucosa; **₁/Triglicéridos.

Tabla 3. Representación de las diferencias bioquímicas y su significación estadística de cada variable entre botellas basales, negativas y positivas y área bajo la curva univariante de botellas positivas vs negativas

Variable	P		AUC Negativa vs positiva
	Basal vs Negativa	Negativa vs Positiva	
Cloruro	0,15	0,07	0,608
Creatinina	0,08	<0,05	0,358
Glucosa	<0,05	<0,05	0,985
Hierro	0,82	0,27	0,426
Magnesio	0,20	<0,05	0,306
Proteína C reactiva	<0,05	0,36	0,552
Triglicéridos	0,24	<0,05	0,904
Urea	<0,05	0,65	0,526
Vitamina B12	<0,05	0,63	0,483
Ferritina	<0,05	0,31	0,559
Ácido fólico	<0,05	<0,05	0,763
Interleucina 6	<0,05	<0,05	0,724
Sodio	0,82	0,23	0,571

AUC: área bajo la curva

Tabla 4. Análisis bioquímico en botellas de hemocultivos positivas y comparación según microorganismos Gram-negativos (n=30) y Gram-positivos (n=20)

Variable	Mediana	P	AUC
Cloruro (mmol/L)		<0,05	0,746
Gram-negativo	75		
Gram-positivo	95		
Creatinina (mg/dL)		<0,05	0,686
Gram-negativo	0,40		
Gram-positivo	0,74		
Glucosa (mg/dL)		0,80	0,508
Gram-negativo	4		
Gram-positivo	4		
Hierro (µg/dL)		0,26	0,612
Gram-negativo	164		
Gram-positivo	110		
Magnesio (mg/dL)		<0,05	0,805
Gram-negativo	1,6		
Gram-positivo	1,9		
Proteína C reactiva (mg/L)		0,10	0,366
Gram-negativo	6,75		
Gram-positivo	4		
Triglicéridos (mg/dL)		<0,05	0,840
Gram-negativo	13		
Gram-positivo	30		
Urea (mg/dL)		0,31	0,414
Gram-negativo	19		
Gram-positivo	14		
Vitamina B12 (ng/L)		0,20	0,562
Gram-negativo	148		
Gram-positivo	148		
Ferritina (µg/L)		<0,05	0,319
Gram-negativo	78		
Gram-positivo	32		
Ácido fólico (µg/L)		0,31	0,434
Gram-negativo	20		
Gram-positivo	20		
Interleucina 6 (pg/mL)		<0,05	0,292
Gram-negativo	125,8		
Gram-positivo	19,45		
Sodio (mmol/L)		0,08	0,650
Gram-negativo	114,5		
Gram-positivo	142		

FIGURAS

Figura 1. Representación gráfica de la discriminación entre botellas basales, negativas y positivas según para un nivel de glucosa de 85 mg/dL y 4 mg/dL

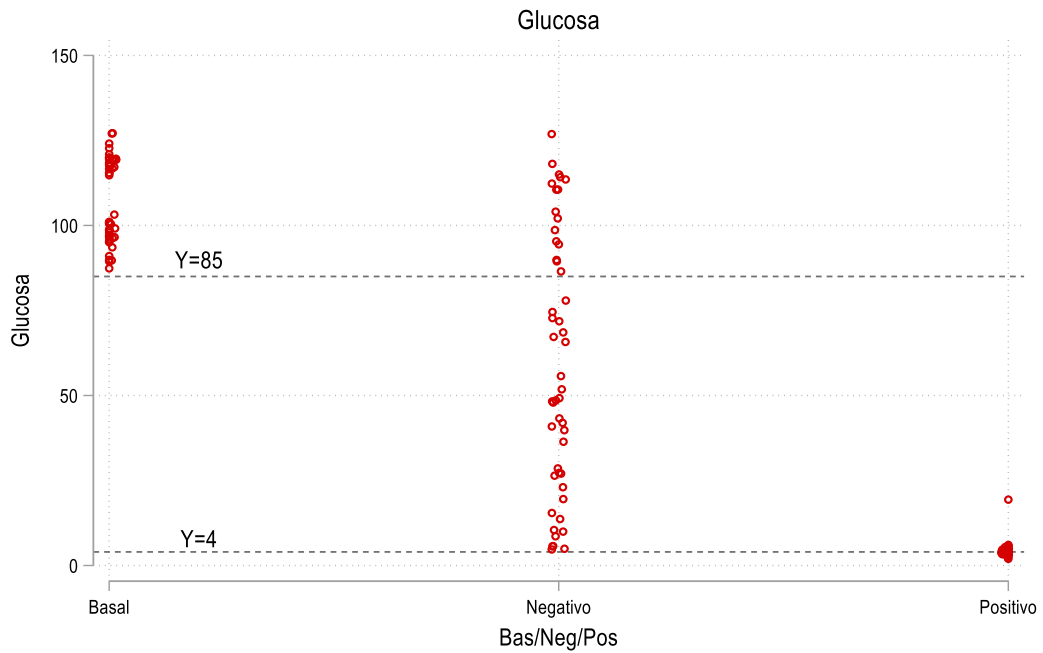
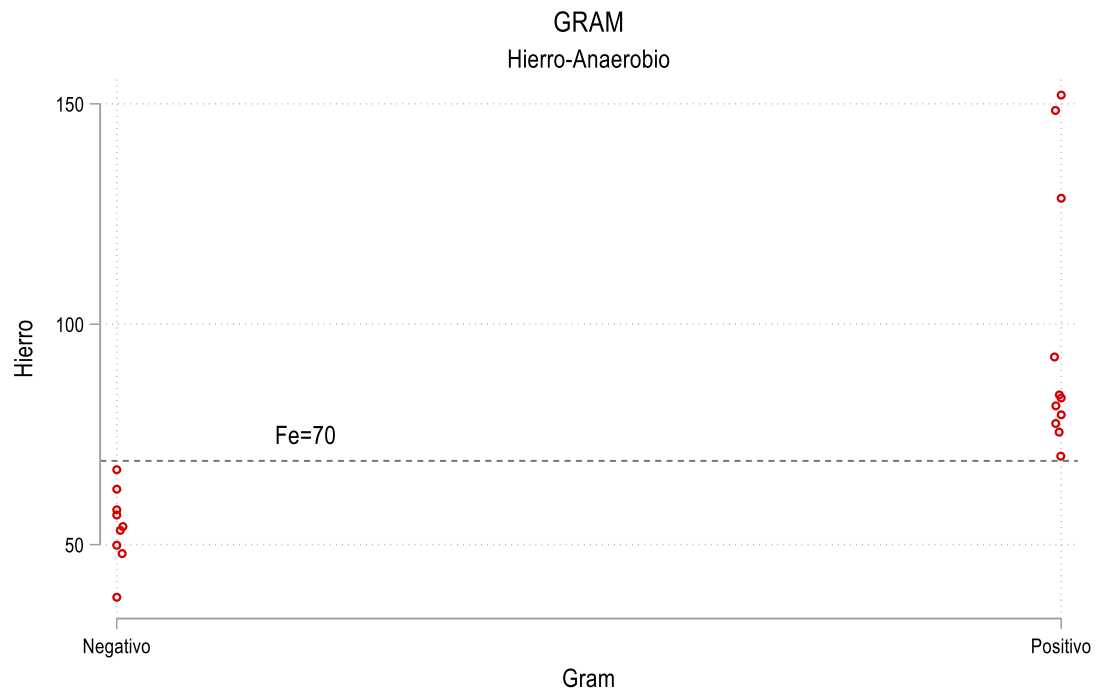


Figura 2. Representación gráfica de la discriminación entre botellas negativas y positivas para un nivel de creatinina de 2 mg/dL



Figura 3. Representación gráfica de la discriminación entre botellas positivas con microorganismos Gram-negativos y Gram-positivos para un nivel de hierro de 70 $\mu\text{g}/\text{dL}$



4.6 RESULTADOS DEL OBJETIVO 6

4.6.1 Abstract

Introduction: The use of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) techniques have proven very valuable for bacterial identification, although their application in bloodstream infection is based on the use of subcultured colonies or on the separation of bacterial proteins by differential centrifugations from positive blood cultures. Our objectives were: to develop predictive models based on MALDI-TOF MS and machine learning capable of distinguishing between blood cultures already classified as positive or negative from direct samples; and to identify blood cultures with isolation of *Escherichia coli*.

Methods: Proteomic analysis was performed on 110 blood culture bottles (57 positive and 53 negative bottles) after at least 48 hours of incubation, using a protein extraction process from 1 millilitre of blood culture that was analysed with MALDI-TOF MS. The full spectrum was analysed with Clover MSDAS software and supervised machine learning models were applied -Partial Least Squares-Discriminant Analysis (PLS-DA), Support Vector Machine (SVM), Random Forest (RF) and Light Gradient Boosting Machine (LightGBM).

Results: Full-spectrum analysis using SVM and LightGBM provided the best results for distinguishing between positive and negative samples (94.5% and 89.9%, respectively). When discriminating between *E. coli* and negative blood cultures, best results were obtained with SVM and Light-GBM (97.4%), and with

RF (96.0%). Peak analysis identified the presence of several peaks with good discriminatory ability, whereby SVM correctly classified 98.7% of the samples.

Conclusion: Analysis of direct blood culture samples using predictive models based on MALDI-TOF MS and machine learning correctly identifies positive samples. We hypothesised that these positive blood culture peaks could act as potentially useful biomarkers for predicting positivity earlier than traditional methods, if detected with less than 48 hours of incubation.

4.6.2 Resumen

Introducción: El uso de técnicas de *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight mass spectrometry* (MALDI-TOF MS) han mostrado gran utilidad para la identificación bacteriana, aunque su aplicación se basa en el uso de colonias subcultivadas o en la separación de proteínas bacterianas mediante centrifugaciones diferenciales a partir de hemocultivos positivos. Nuestros objetivos fueron: desarrollar modelos predictivos basados en MALDI-TOF MS y *machine learning* capaces de distinguir entre hemocultivos ya catalogados como positivos o negativos a partir de muestras directas; e identificar los hemocultivos con aislamiento de *Escherichia coli*.

Métodos: Se realizó un análisis proteómico en 110 botellas de hemocultivos (57 positivos y 53 negativos) tras al menos 48 horas de incubación mediante el proceso automatizado estándar, mediante un proceso de extracción de proteínas a partir de 1 mililitro de hemocultivo que se analizaron con MALDI-TOF MS. Se analizó el espectro completo con el software Clover MSDAS y se aplicaron modelos de

machine learning supervisados -*Partial Least Squares-Discriminant Analysis* (PLS-DA), *Support Vector Machine* (SVM), *Random Forest* (RF) y *Light Gradient Boosting Machine* (LightGBM).

Resultados: El análisis de espectro completo mediante SVM y LightGBM ofreció los mejores resultados para distinguir entre muestras positivas y negativas (94,5% y 89,9%, respectivamente). Al distinguir entre *E. coli* y hemocultivos negativos, mejores resultados se obtuvieron con SVM y Light-GBM (97,4%), y con RF (96,0%). El análisis por picos identificó la presencia de varios picos con buena capacidad discriminatoria, mediante los cuales SVM clasificó correctamente el 98,7% de las muestras.

Conclusión: El análisis de muestras directas de hemocultivos usando modelos predictivos basados en MALDI-TOF MS y *machine learning* identifica correctamente muestras positivas. Hipotetizamos que estos picos marcadores de hemocultivo positivo podrían actuar como biomarcadores potencialmente útiles para la predicción de la positividad antes que los métodos tradicionales, de detectarse con menos de 48 horas de incubación.

4.6.3 Artículo 6**INTRODUCCIÓN**

El análisis de hemocultivos continúa siendo el “gold standard” en el diagnóstico de la infección endovascular. Sin embargo, el proceso puede precisar generalmente unas 48 horas para ofrecer resultados y su rentabilidad depende de otros factores como el uso previo de antibióticos o el volumen de sangre inoculada [210].

El uso de *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight mass spectrometry* (MALDI-TOF MS) ha pasado a formar parte de la rutina de los laboratorios de Microbiología en todo el mundo para identificar microorganismos, y se han usado modelos predictivos basados en esta tecnología para diferenciar especies de *Enterobacter* o *Aspergillus* con anterioridad [340, 341].

Sin embargo, su aplicación se basa en el uso de colonias subcultivadas o en la separación de proteínas bacterianas mediante centrifugaciones diferenciales a partir de hemocultivos positivos [71], y no se ha planteado su uso para otras determinaciones en la práctica clínica diaria. El análisis por espectrometría de masas del medio de los hemocultivos podría identificar otras proteínas, relacionadas con el patógeno o los procesos inflamatorios que desencadene su presencia, que podrían proporcionar información no analizada hasta ahora.

Los objetivos de este trabajo fueron: desarrollar modelos predictivos basados en MALDI-TOF MS y *machine learning* capaces de distinguir entre hemocultivos ya catalogados como positivos o negativos a partir de muestras directas, sin precisar su cultivo en medios sólidos ni la separación de las proteínas bacterianas mediante

centrifugaciones diferenciales, e identificar los hemocultivos con aislamiento de *Escherichia coli*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo a partir de muestras de hemocultivos que ya habían sido clasificados como positivos o negativos por los métodos tradicionales. Para seguir un criterio uniforme y facilitar el desarrollo del estudio, se aplicó esta hipótesis al aislamiento únicamente de bacterias (Gram-positivas y Gram-negativas) y no de hongos.

Se analizaron 110 hemocultivos, tras determinar la presencia (n=57) o ausencia (n=53) de crecimiento bacteriano tras al menos 48 horas de incubación mediante el proceso automatizado estándar, y antes de ser desechados a los 5 días de incubación. Los 57 hemocultivos positivos incluyeron 15 microorganismos Gram-positivos y 42 Gram-negativos, con 24 aislamientos de *E. coli*.

A partir de 1 mililitro de hemocultivo, se realizó un proceso de extracción de proteínas mediante el MB-WCX Profiling Kit (Bruker Daltonics), que se analizaron con MALDI-TOF. Los espectros obtenidos se procesaron con el software Clover MSDAS. Se analizó el espectro completo y se aplicaron modelos de *machine learning* supervisados -*Partial Least Squares Discriminant Analysis* (PLS-DA), *Support Vector Machine* (SVM), *Random Forest* (RF) y *Light Gradient Boosting Machine* (LightGBM).

Los espectros de proteínas de cada muestra se adquirieron utilizando un espectrómetro MALDI Biotyper Smart (Bruker Daltonics, Bremen, Alemania) y el software FlexControl 3.3 (Bruker Daltonics). Se aplicó la configuración predeterminada y se registraron dos espectros de cada una de las tres posiciones en las que analizó cada muestra. Los espectros obtenidos se analizaron de forma automatizada mediante el software Clover MS Data Analysis (Granada, España). Este software es capaz de generar una matriz de picos correspondiente a cada aislado analizado. Las matrices se generan con los picos relevantes y sus correspondientes valores de intensidad, obtenidos en el rango de 2.000 m/z a 20.000 m/z.

El estudio se desarrolló en su totalidad en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid. El sistema de análisis (BD BACTEC™ FX) disponible en el servicio rutinariamente será el utilizado para la incubación habitual de los hemocultivos. En todas las fases se utilizaron los botes de hemocultivos que se usan de manera rutinaria en el servicio: BD BACTEC™ Plus Aerobic/F para microorganismos aerobios y BD BACTEC™ Plus Aerobic/F para anaerobios.

Aspectos éticos

Este trabajo (MICRO.HGUGM.2023-21) cuenta con el dictamen favorable del Comité de Ética de la Investigación con Medicamentos del Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid, donde se exime de la necesidad de obtención de consentimiento informado firmado en base a las características de este trabajo. Las muestras se conservarán durante el tiempo que el estudio esté

vigente y tras su finalización se eliminarán. En ningún caso se precisó la extracción de nuevas muestras de sangre de ningún paciente.

RESULTADOS

Se analizó el espectro de 110 hemocultivos en total: 53 hemocultivos negativos y 57 hemocultivos positivos, los cuales incluyeron 15 microorganismos Gram-positivos y 42 Gram-negativos, con 24 aislamientos de *E. coli*.

La **Tabla 1** muestra la aplicación de los modelos de *machine learning* (PLS-DA, SVM, RF y LightGBM) y su tasa de acierto en el análisis de espectro completo y por picos para distinguir entre hemocultivos positivos y negativos y entre hemocultivos en los que se detectó *E. coli* vs. hemocultivos negativos.

Los algoritmos SVM y LightGBM dieron los mayores porcentajes de acierto en el análisis global de muestras positivas vs. negativas (94,5% y 89,9%, respectivamente).

En la identificación de hemocultivos con *E. coli* vs. hemocultivos negativos, los mejores resultados en el análisis de espectro completo se obtuvieron con SVM y Light-GBM (97,4%), y con RF (96,0%).

La **Tabla 2** muestra la aplicación de estos modelos y su tasa de acierto en el análisis por picos para distinguir entre hemocultivos positivos y negativos y entre *E. coli* vs. hemocultivos negativos.

El análisis de picos específicos para cada categoría de hemocultivos (positivos, negativos y positivos por *E. coli*) demostró la presencia de algunos picos

marcadores prometedores que podrían indicar la presencia de *E. coli* -5097, 6256 y 9066 *m/z*-. Basándose en la presencia/ausencia de estos picos, SVM clasificó correctamente el 98,7% de las muestras analizadas.

DISCUSIÓN

En este trabajo, el análisis mediante MALDI-TOF MS a partir de muestras directas de hemocultivos ha permitido identificar picos de proteínas que podrían ser analizados mediante *machine learning* para crear modelos predictivos de hemocultivos positivos y de muestras con *E. coli*, posibilitando la aplicación de esta tecnología de una manera distinta a la realizada hasta el momento.

En la actualidad, la aplicación de MALDI-TOF MS en el diagnóstico de la bacteriemia se basa en la utilización de colonias subcultivadas o en la separación de proteínas bacterianas mediante centrifugaciones diferenciales, u otros métodos, a partir de hemocultivos positivos [71, 342]. Dado que nuestra hipótesis es que el análisis proteómico podría detectar no solo picos de proteínas de los propios microorganismos, sino otros biomarcadores en sangre del paciente, consecuencia de la respuesta inmune desencadenada por la infección, nuestra metodología no incluye la separación de las proteínas bacterianas de las proteínas y células del huésped como los métodos convencionales.

Con este planteamiento, el análisis proteómico de muestras directas identificó unos picos de proteínas con los que los algoritmos de *machine learning* SVM y LightGBM fueron capaces de determinar correctamente el 94,5 y 89,9% de las muestras, respectivamente. En el subgrupo de hemocultivos positivos con *E. coli*,

los modelos predictivos usando el espectro completo también ofrecieron resultados muy prometedores, mientras que el análisis por picos identificó la presencia de picos con cuya presencia SVM fue capaz de clasificar correctamente el 98,7% de las muestras.

El diagnóstico rápido a través de muestras directas de sangre ha sido evaluado principalmente para pruebas moleculares basadas en métodos de PCR, aunque la limitada correlación con los resultados del análisis convencional de hemocultivos las sitúan en la actualidad como una herramienta útil pero complementaria [129].

El análisis proteómico a partir de muestras directas de hemocultivos es una perspectiva que está siendo estudiada por otros autores. En su trabajo, Kondori et al. observaron que la detección de bacterias utilizando la espectrometría de masas y la identificación de péptidos específicos de especies (*shotgun proteotyping*) podría resultar más sensible y precisión frente al uso convencional de MALDI-TOF MS [343], aunque su utilidad práctica aún ha de evaluarse para poder ser implantado en la práctica.

En nuestra hipótesis, la detección de estos picos de proteínas podría resultar especialmente útil si se detectaran precozmente, de modo que proporcionaran información antes que los métodos automatizados convencionales. Dado que en el estudio de Kondori et al. se observó que MALDI-TOF MS fue capaz de detectar muestras ficticias de hemocultivos inoculados con concentraciones conocidas de *E. coli* tras una incubación de una noche [343], la hipótesis de que habría picos detectables con menos de 48 horas de incubación parece una opción factible. Sin

embargo, MALDI-TOF MS no fue capaz de identificar las muestras con *S. aureus* usando este tiempo de incubación.

En la actualidad, se está evaluando el uso de MALDI-TOF MS para identificar subespecies bacterianas y para detectar determinantes de resistencia antimicrobiana [344]. Los modelos predictivos utilizados aquí para discriminar hemocultivos positivos y negativos ya han sido utilizados con éxito para diferenciar especies del complejo *Enterobacter cloacae* [341] y especies de *Aspergillus fumigatus* sensu stricto de otras especies del complejo *A. fumigatus*, así como para la detección de *A. fumigatus* sensu stricto resistente a azoles [340].

Este trabajo cuenta con algunas limitaciones. El escaso tamaño muestral y la inclusión de bacterias de especies distintas limita la capacidad de acierto de los modelos, pero consideramos que estos datos son prometedores para nuestro planteamiento. Las 110 muestras analizadas corresponden a hemocultivos de 98 pacientes, por lo que hay muestras del mismo paciente. No se ha evaluado el efecto de la incubación sobre las mediciones.

En cualquier caso, creemos que este trabajo muestra que el análisis proteómico de muestras directas de hemocultivos es capaz de identificar biomarcadores que pueden resultar de utilidad en el diagnóstico de la bacteriemia. El análisis con MALDI-TOF ya está instaurado en la amplia mayoría de centros hospitalarios y su coste económico es mucho menor comparado con las técnicas diagnósticas que están surgiendo en los últimos años. Si estos picos marcadores de hemocultivos pudieran ser detectados de manera precoz, hipotetizamos que podrían predecir la

positividad de hemocultivos, y potencialmente el agente causal en el caso de *E. coli*, antes que los medios tradicionales.

CONCLUSIÓN

El análisis de muestras directas de hemocultivos usando modelos predictivos basados en MALDI-TOF y *machine learning* es capaz de identificar correctamente muestras positivas. Hipotetizamos que estos picos marcadores de hemocultivo positivo podrían actuar como biomarcadores potencialmente útiles para la predicción de la positividad antes que los métodos tradicionales, de detectarse con menos de 48 horas de incubación.

TABLAS

Tabla 1. Aplicación de modelos basados en MALDI-TOF y *machine learning* para la identificación de hemocultivos positivos y tasa de acierto (%) en el análisis de espectro completo

	PLS-DA	SVM	RF	LightGBM
Hemocultivo positivo vs. negativo	80,7	94,5	87,2	89,9
<i>E. coli</i> vs. hemocultivo negativo	89,5	97,4	96,0	97,4

PLS-DA: Partial Least Squares-Discriminant Analysis; SVM: Support Vector Machine; RF: Random Forest (RF); LightGBM: Light Gradient Boosting Machine.

Tabla 2. Aplicación de modelos basados en MALDI-TOF y *machine learning* para la identificación de hemocultivos positivos y tasa de acierto (%) en el análisis por picos

	PLS-DA	SVM	RF	LightGBM
Hemocultivo positivo vs. negativo	88,2	85,4	88,2	79,1
<i>E. coli</i> vs. hemocultivo negativo	90,9	98,7	96,1	94,8

PLS-DA: Partial Least Squares-Discriminant Analysis; SVM: Support Vector Machine; RF: Random Forest (RF); LightGBM: Light Gradient Boosting Machine.

V. DISCUSIÓN

Los trabajos incluidos en esta Tesis Doctoral ofrecen resultados que pretenden ayudar a comprender mejor la evolución y la situación actual de la infección endovascular. Tras revisar algunos asuntos sobre los que existe mayor incertidumbre, se ha valorado la evolución epidemiológica de los principales agentes etiológicos en un hospital terciario de Madrid, así como las características de la EI asociada a los cuidados sanitarios y la EI producida por especies de *Cutibacterium* en España. Finalmente, se ha realizado una prueba de concepto con la hipótesis de que el análisis bioquímico y proteómico de los hemocultivos puede ser útil en el abordaje de la infección endovascular.

Dado que la discusión individual de cada trabajo se presenta de manera integrada con el resto de los resultados en el *Apartado IV*, en esta sección se realizará una discusión integradora subrayando los elementos que consideramos más importantes de nuestras observaciones, para acabar ofreciendo algunas reflexiones sobre el futuro inmediato de la infección endovascular.

5.1 Discusión integradora de resultados

En la revisión inicial de la literatura sobre la evolución epidemiológica de la infección endovascular no se encontró información que permita identificar un cambio de tendencia en la incidencia, mortalidad o etiología entre 2010 y 2021. Estos datos, así como el análisis de su evolución en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón, permiten extraer algunas conclusiones generales para definir la evolución reciente de la infección endovascular.

En nuestra institución, la incidencia de episodios por cada 1.000 ingresos entre 1986 y 2006 creció de 16,0 a 31,2 episodios (media de 24,3 episodios/1.000 ingresos), lo que supone un aumento anual de 0,83 episodios/1.000 ingresos (IC95% 0,61-1,05, $p < 0,001$) [20]. En cambio, entre 2010 y 2021 los datos se han mantenido estables, con una media de 31,1 episodios/1.000 ingresos. Esta estabilidad se refleja en la Figura Suplementaria 1 del *Apartado 4.2*, que representa la evolución quinquenal media de episodios de infección endovascular entre 1985 y 2021 en nuestro hospital. Los escasos datos de incidencia publicados desde instituciones hospitalarias en la última década ofrecen cifras muy variables, entre 1,3 y 15,4 episodios/1.000 ingresos.

Es reseñable que, durante los años 2020 y 2021, marcados por la enorme presión asistencial que provocó la pandemia COVID-19, sí se puede apreciar un aumento en la incidencia de episodios de infección endovascular en nuestra institución. Además de un incremento en el número de hemocultivos extraídos durante estos años, el aumento paralelo de episodios causados por Gram-positivos, *Candida spp.*, episodios de bacteriemia y candidemia relacionadas con catéteres y episodios de bacteriemia nosocomial en este periodo hace pensar que este aumento pueda estar asociado a un descenso en la adherencia a las medidas de prevención de la infección nosocomial durante la pandemia [174-176]. Estos datos justifican mantener una vigilancia activa en los próximos años para analizar su evolución y la posible existencia de otros factores implicados.

A nivel poblacional, nuestras estimaciones de incidencia entre 2010 y 2021, con una media de 182,8 episodios/100.000 habitantes, se encuentran entre las cifras

aportadas desde otros estudios que van de 101 a 309 episodios/100.000 habitantes [114, 121].

La mortalidad de los episodios de bacteriemia tampoco parece haber variado significativamente durante la última década, con cifras que van entre 21-32 episodios/100.000 habitantes [113, 118], aunque las tasas de letalidad varían mucho según el lugar de adquisición, siendo del 10% para las bacteriemias de adquisición comunitaria [116] y hasta del 35-50% para las que ocurren en Unidades de Cuidados Intensivos [180-182]. En nuestro estudio, el análisis de una muestra aleatoria de 100 pacientes ofreció una tasa de mortalidad del 18% (IC95% 10,3-25,7%) a los 30 días y del 32% (IC95% 22,7-41,3%) al año, aunque el pequeño tamaño muestral no permite extrapolar estos resultados con fiabilidad.

El cambio de paradigma en cuanto a los agentes etiológicos, con la predominancia de bacterias Gram-negativas como principal etiología en la actualidad [35], también se objetiva en los datos de nuestro hospital, donde también se observa un descenso en los episodios causados por *S. aureus* y un ascenso de los causados por especies de *Enterococcus*. Hipotetizamos que este descenso en el número de episodios causados por Gram-positivos podría estar relacionado con una mejoría en las medidas de prevención de infección de catéteres a lo largo de los años, entre otros factores.

Las cifras en cuanto a los fenotipos de resistencia antimicrobiana en nuestra institución ofrecen hallazgos interesantes. Se objetiva un descenso en el número de episodios causados por *S. aureus* resistente a meticilina y niveles muy bajos de episodios causados por enterococos resistentes a vancomicina. Asimismo, la

evolución de los episodios causados por cepas de *E. coli* productoras de BLEE y *Klebsiella* spp. productoras de BLEE y carbapenemasas ofrecen cifras estables durante el periodo analizado. Nuestras observaciones son similares a las comunicadas por otros autores en Andalucía en la última década [309]. El descenso de episodios causados por SARM también ha sido observado de manera general en Europa [128]. Los programas de screening de portadores para SARM y enterococos resistentes a vancomicina, así como la actividad de los equipos PROA (Programas de Optimización de Antimicrobianos) están probablemente relacionados con estos hallazgos.

Nuestros resultados contrastan con los últimos datos comunicados por los sistemas de vigilancia epidemiológica. En el último informe de la *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network* (EARS-Net) del año 2022 [36], si bien la incidencia de episodios de bacteriemia por SARM y *E. coli* resistente a cefalosporinas de tercera generación disminuyó entre 2019 y 2022, la incidencia global en Europa de los episodios causados por *K. pneumoniae* resistente a carbapenems aumentó casi un 50%. Son particularmente alarmantes las cifras de *K. pneumoniae* resistente a carbapenems y el aumento en los últimos años de *E. faecium* resistente a vancomicina, que representaron el 10,9% y el 17,6% de los aislados globales en 2022. De igual forma, los datos del registro global SENTRY entre 1997 y 2016 también muestran un ascenso de los episodios causados por bacilos Gram-negativos multirresistentes [35].

Esta información proveniente de los estudios de vigilancia epidemiológica, junto a los hallazgos de estudios de países europeos de nuestro entorno donde la

incidencia de episodios de enterobacterias productoras carbapenemasas es mucho mayor [312], obligan a mantener estrictas medidas de vigilancia y control de la infección nosocomial.

Algunos autores han propuesto los estudios poblacionales como el *gold standard* para evaluar la epidemiología de la infección endovascular por su naturaleza universal y minimización de sesgos [345], aunque consideramos que los datos que pueden ofrecer instituciones concretas, como en nuestro estudio, con una larga tradición de análisis de sus propios datos, pueden contribuir de manera notable en este objetivo.

En cuanto a la epidemiología de la EI, su incidencia tampoco ha disminuido en las últimas décadas a pesar de los avances médicos en estos años, con cifras en torno a 1,5-9,6 casos/100.000 habitantes en países desarrollados [346], y no sería desproporcionado aventurar que su incidencia podría aumentar en la próxima década. Este hecho está probablemente relacionado con la evolución de los factores de riesgo de EI a lo largo del tiempo [347], con repercusión en la epidemiología, mecanismos patogénicos y agentes etiológicos implicados, y a una mejoría en los métodos de diagnóstico etiológico y por imagen de la EI. En los próximos años encontraremos una población cada vez más envejecida, con una elevada proporción de material protésico endovascular, y un mayor contacto con el sistema sanitario, desde la realización de procedimientos invasivos ambulatoriamente al número de personas institucionalizadas en residencias o instituciones sociosanitarias.

En países industrializados, se ha objetivado una reducción significativa de la EI relacionada con valvulopatía reumática, a la vez que ha aumentado el número de casos relacionados con valvulopatías degenerativas, válvulas protésicas (EIVP) o asociados a DCI [134]. Los casos asociados a usuarios de drogas vía parenteral, que producen una proporción considerable de casos en algunos países, no son tan numerosos en España en la actualidad.

El aumento de la esperanza de vida de la población general ha supuesto un aumento del número de cirugías de recambio valvular y de implantes de TAVI (*transcatheter aortic-valve implantation*), así como del número de DCI (marcapasos, desfibriladores, o terapias de resincronización cardiaca) y del uso de catéteres intravenosos de larga duración [134]. Así como las válvulas protésicas y los catéteres IV son factores de riesgo reconocidos para EI [348], el incremento en el número de implantes de DCI también se ha visto asociado a un incremento en el número de infecciones de estos dispositivos [349].

Todos estos factores han provocado un aumento de los casos de infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria [132, 134]. En 2009, Benito et al. señalaron que la EI nosocomial y EIRAS representaban el 34% de todos los episodios de EI y describieron las características de los pacientes con EIRAS en la ICE-PCS (*International Collaboration on Endocarditis Prospective Cohort Study*), cuyas características clínicas eran muy similares a las de adquisición nosocomial [84]. Sin embargo, los estudios que analizan este tipo de EI son escasos y muy heterogéneos, con definiciones muy diversas, y no actualizados recientemente [84, 135-141].

Las últimas guías europeas de manejo de la EI reflejan todos estos cambios, recomendando considerar la profilaxis antibiótica sistémica en pacientes de alto riesgo antes de la realización de procedimientos diagnósticos y terapéuticos del tracto respiratorio, gastrointestinal, genitourinario, cutáneo o musculoesquelético [88].

En este escenario, uno de nuestros objetivos fue analizar la realidad actual de la EIRAS en España usando los datos de la cohorte nacional multicéntrica GAMES (*Apartado 4.3*). Según nuestros datos, el 10% del total de los pacientes de esta cohorte tienen una EIRAS no nosocomial, representando un tercio de todos los casos que no son adquiridos en la comunidad. Estos pacientes, con una elevada carga de comorbilidades y elevada mortalidad, comparten múltiples características clínicas con los casos de EI nosocomial, por lo que, en nuestra opinión, los casos de EIRAS no constituyen una entidad diferenciada por sí misma.

En ambos casos, los procedimientos endovasculares parecen ser un mecanismo patogénico común, hasta el punto de que el 49% de los casos de EIRAS en nuestra serie recibían hemodiálisis y el 21% tenía algún tipo de catéter IV, cuya presencia se ha relacionado con el desarrollo de EI hasta en el 40-60% de los casos en otras series [136, 137]. Tampoco se diferencian en cuanto a sus agentes etiológicos, siendo la etiología estafilocócica la más frecuente en ambos casos y *S. aureus* el principal agente etiológico en nuestra serie, por lo que el tratamiento antibiótico empírico de la EIRAS no debería diferir del de la EI nosocomial.

La mortalidad de EIRAS, que en algunos estudios alcanza el 58% [137], fue del 32% en nuestra serie, sin diferencias significativas con la EI nosocomial (35%). La

elevada proporción de pacientes que reciben hemodiálisis en el grupo de EIRAS, en los que se ha descrito una elevada mortalidad [87, 320], puede haber contribuido al mal pronóstico de este grupo.

El modelo de clasificación actual de la EI podría ser útil para identificar de manera precoz estos casos de EIRAS que, aunque son derivados desde fuera del hospital, comparten muchas características y un pronóstico similar con la EI nosocomial. Sin embargo, es destacable que no hubo retrasos diagnósticos en los casos de EIRAS en nuestra serie. Todos datos nos hacen poner en duda el modelo actual de clasificación de la EI, basado únicamente en el lugar físico de adquisición de la infección (comunidad, hospital...): un modelo cuyas subclasificaciones no implican cambios relevantes en la etiología, diagnóstico, tratamiento o pronóstico puede carecer de utilidad real en la práctica clínica. Aunque el lugar de adquisición de la infección es indudablemente un punto importante a valorar, hipotetizamos si en el momento actual, donde el número de procedimientos invasivos realizados fuera del hospital ha difuminado estas fronteras físicas, una clasificación basada en el mecanismo patogénico de adquisición de la infección (uso de catéteres IV, realización de procedimientos diagnósticos invasivos, etc...) podría resultar más útil.

El mencionado aumento en el número de implantes de válvulas protésicas y DCI a lo largo de los años [132, 142, 143] y su repercusión en la epidemiología de la EI también se ve reflejado en la última actualización de los criterios Duke-ISCVID, donde se reconoce un nuevo grupo de microorganismos como agentes típicos de EI en presencia de material protésico intravascular, entre los que se encuentra

Cutibacterium acnes [105]. La información sobre la EI por *Cutibacterium* spp., que ha sido analizada en pocas grandes series recientemente [148, 149], no evalúa muchos de los cambios añadidos a los nuevos criterios Duke-ISCVID, como las nuevas técnicas de imagen o de diagnóstico molecular.

El *Apartado 4.4* ofrece los resultados de nuestro trabajo sobre la EI por *Cutibacterium* spp. en España. Nuestros datos señalan que esta entidad es poco frecuente pero potencialmente grave, afectando mayoritariamente a varones portadores de material protésico endovascular. De los 67 casos analizados, el 67% (45/67) ocurrieron sobre válvulas protésicas y el 25% (17/67) ocurrió sobre DCI. Se encontró una mayor proporción de casos en la segunda mitad de nuestro estudio, lo cual podría estar en relación con el mencionado aumento del número de DCI implantados a lo largo de los años, entre otros factores.

La implantación de los nuevos criterios Duke-ISCVID permitirá el diagnóstico de un mayor número de casos de EI y de casos que alcancen la categoría de EI definitiva respecto a los criterios modificados de Duke 2001. En nuestra serie, el uso de PCR_{16S} permitió incluir 8 casos de EIVP que no tenían ninguna otra prueba positiva, además de aumentar el número de casos de EI definitiva. La utilidad de los métodos de diagnóstico molecular en el diagnóstico de la EI y su inclusión en los nuevos criterios queda claramente justificada a la luz de resultados como los de este trabajo.

En el caso particular de la EI asociada a DCI, creemos que los nuevos criterios podrían estar sobreestimando el papel del cultivo de estos dispositivos, que suponen un criterio patológico de EI. Dado que un resultado positivo en una

PCR16S de un cable de un DCI extraído vía transcutánea supone un criterio menor, cabe plantearse si no deberían tomarse precauciones similares a la hora de valorar los cultivos de DCI.

A pesar de presentarse con un curso subagudo y sin un curso clínico florido, el elevado porcentaje de complicaciones que encontramos justifica mantener un elevado índice de sospecha, especialmente en varones portadores de material protésico endovascular, en los que es recomendable extender el periodo de incubación de los hemocultivos más allá de 5 días en caso de sospecha de EI.

La tasa de mortalidad global del 13% ascendió hasta el 40% en los casos de EI valvular con indicación quirúrgica en los que no se pudo realizar tratamiento quirúrgico, lo cual señala el importante papel que juega la cirugía cardiaca en disminuir la mortalidad en estos pacientes. De manera similar, en todos los pacientes con EI asociada a DCI se retiraron los dispositivos y no hubo ningún fallecimiento en este grupo, lo cual remarca la importancia de la retirada de DCI en este grupo.

Nuestros últimos objetivos (*Apartado 4.5* y *Apartado 4.6*) suponen una prueba de concepto con la hipótesis de que la medición de parámetros bioquímicos y proteómicos de los hemocultivos puede ser una herramienta útil en el diagnóstico de la infección endovascular. Como se ha comentado previamente en el *Apartado 2.4*, el hemocultivo sigue siendo el pilar fundamental del diagnóstico de la bacteriemia, pero sus resultados dependen del uso previo de antibioterapia y del volumen de sangre inoculado, entre otros factores [3, 210].

En primer lugar, se ha evaluado el valor del análisis bioquímico de los hemocultivos, cuyo uso nunca ha sido analizado en la literatura. Este análisis, barato y accesible para cualquier hospital, nos ha permitido identificar una serie de variables cuya determinación se asocia a un resultado positivo del hemocultivo, e incluso podrían orientar sobre la etiología.

Por su gran capacidad discriminativa entre botellas positivas y negativas, resultan especialmente llamativos los resultados obtenidos con la determinación de glucosa y creatinina (en el caso de botellas anaerobias), cuya reducción de niveles en las botellas positivas podría estar en relación con el metabolismo bacteriano de los microorganismos que contienen. Por otro lado, observamos que, en el caso de las botellas positivas, una reducción en los niveles de hierro se asocia con que el agente etiológico sea un Gram-negativo. Dado que ambos tipos de bacterias precisan de la captación de hierro para su desarrollo y multiplicación, hipotetizamos que los Gram-negativos podrían estar mostrando un mecanismo más eficiente de captación de hierro del ambiente, o bien los Gram-positivos podrían utilizar otras moléculas como proteasas que liberen el hierro de las proteínas transportadoras, aumentando su concentración en el medio y secundariamente los niveles detectados en las mediciones.

A pesar de las evidentes limitaciones de este trabajo que se han comentado previamente, consideramos que estos hallazgos son de interés, mostrando como las reacciones bioquímicas secundarias al metabolismo bacteriano son fácilmente medibles y potencialmente útiles para ayudar en el diagnóstico de la bacteriemia. Si estos cambios pudieran ser detectados con menos de 48 horas de incubación de

los hemocultivos, esta estrategia podría ofrecer información útil sobre el resultado y la etiología del hemocultivo antes que los métodos de incubación tradicionales.

El análisis proteómico de hemocultivos también ofrece resultados prometedores. El uso de MALDI-TOF MS ha pasado a formar parte de los laboratorios de Microbiología, donde actualmente se utiliza en colonias subcultivadas o a partir de muestras directas de hemocultivos tras procesos de purificación para separar las proteínas bacterianas. En la actualidad, esta tecnología se está evaluando también para identificar subespecies bacterianas y para detectar determinantes de resistencia antimicrobiana [340, 341, 344].

Nuestro planteamiento ha sido que la presencia de microorganismos podría desencadenar una serie de reacciones inflamatorias en el huésped y en las botellas de hemocultivos que podrían ser detectables a partir de muestras directas de hemocultivos utilizando MALDI-TOF MS, y analizadas utilizando algoritmos de *machine learning* para diseñar modelos capaces de predecir la positividad de hemocultivos.

En nuestro trabajo, el análisis proteómico de muestras directas, sin necesidad de realizar centrifugaciones diferenciales ni otros métodos de purificación, identificó unos picos de proteínas con los que los algoritmos de *machine learning* SVM y LightGBM fueron capaces de identificar correctamente el 94,5 y 89,9% de las muestras, respectivamente. En el subgrupo de muestras con *E. coli*, los modelos predictivos usando el espectro completo también ofrecieron resultados muy prometedores, mientras que el análisis por picos identificó la presencia de ciertos

picos con cuya presencia SVM fue capaz de clasificar correctamente el 98,7% de las muestras.

El escaso tamaño muestral y la inclusión de bacterias de especies distintas limita la capacidad de acierto de los modelos, pero consideramos que estos datos son prometedores para nuestro planteamiento. El análisis con MALDI-TOF MS ya está instaurado en la amplia mayoría de centros hospitalarios y su coste económico es mucho menor comparado con las técnicas diagnósticas que están surgiendo en los últimos años.

Si estos picos marcadores de hemocultivos pudieran ser detectados de manera precoz a partir de muestra directas de las botellas de hemocultivos en incubación, hipotetizamos que podrían predecir la positividad de hemocultivos, y potencialmente el agente causal en el caso de *E. coli*, antes que los medios tradicionales.

Nuestros datos apuntan a que el análisis bioquímico y proteómico de los hemocultivos son factibles y pueden ofrecer información útil en el diagnóstico de la infección endovascular. Cabe plantearse asimismo si además pudieran orientar en el pronóstico de la infección, permitiendo identificar de manera rápida a aquellos pacientes con mayor probabilidad de desarrollo de sepsis y mayor mortalidad. Su utilidad real ha de ser evaluada en estudios con mayor tamaño muestral y donde se pueda analizar el tiempo hasta que estos cambios bioquímicos y marcadores proteómicos pueden ser detectados. Sin embargo, creemos que nuestros datos apoyan positivamente la hipótesis de su potencial aplicación en el diagnóstico de la bacteriemia.

5.2 Situación actual y perspectivas de futuro

El resto de esta discusión será dedicado a una reflexión personal en base a la literatura disponible y la propia opinión del autor sobre la situación actual y algunas perspectivas sobre el futuro de la infección endovascular. La amplitud de un tema como este obliga a centrar la discusión en ciertos aspectos epidemiológicos, y del diagnóstico, tratamiento y prevención de la bacteriemia y la EI que hemos considerado más relevantes.

Situación actual de la infección endovascular

Como se trata de mostrar en la Introducción de este trabajo (*Apartado 2.1*), el estudio de la infección endovascular y la sepsis es muy complejo, por diversos motivos. Muchos estudios que analizan la incidencia o la mortalidad de la infección endovascular examinan específicamente casos de bacteriemia o de sepsis, contribuyendo a la heterogeneidad de resultados. Además, no siempre se recogen las mismas variables para evaluar la mortalidad, dificultando la interpretación de sus conclusiones. Varon et al. realizaron una revisión sistemática para intentar identificar aquellos factores que se asocian en mayor medida con la mortalidad de la bacteriemia [29], lo cual podría facilitar la uniformidad en la selección de variables para futuros estudios. Este tipo de iniciativas pueden contribuir a aumentar la interpretación y extrapolación de resultados.

En el caso de la sepsis, la ausencia de una única y sencilla definición de lo que representa la sepsis, o de unos criterios específicos (clínicos, de imagen o de laboratorio) que permitan identificar pacientes sépticos de manera inequívoca,

repercute en la amplia variedad de cifras reportadas de incidencia y mortalidad en la literatura. Esta idea señala la importancia de utilizar criterios uniformes que permitan identificar elementos relacionados con la sepsis (con la infección, respuesta del huésped y con la disfunción orgánica) de manera sencilla, que puedan ser obtenidos de manera rápida y con un coste razonable [12].

También es destacable la ausencia de criterios uniformes y universalmente aceptados en muchos aspectos del abordaje de la infección endovascular desde el punto de vista clínico. A pesar de las recomendaciones oficiales que se resumen en el *Apartado 2.4* y la evidencia revisada en nuestra revisión de la literatura (*Apartado 4.1*), no todas las guías clínicas ofrecen las mismas indicaciones ni todos los autores las aplican de la misma manera.

Desde el punto de vista del diagnóstico de la bacteriemia, varios estudios muy recientes plantean alternativas interesantes. Según el estudio de Mahieu et al., la extracción de un solo hemocultivo con 40mL de sangre en pacientes ingresados en Unidades de Cuidados Intensivos disminuye la contaminación de hemocultivos sin repercutir en su rendimiento diagnóstico [350], mientras que Ekwall-Larson et al. defienden que la extracción de todos los hemocultivos de una sola venopunción aumenta la positividad y el volumen extraído [351]. En nuestra opinión, este tipo de iniciativas que desafían las recomendaciones tradicionales de obtención de hemocultivos necesitan ser evaluadas en mayor medida antes de poder ser recomendadas de manera global.

En el abordaje terapéutico también se están valorando alternativas a las pautas tradicionales de tratamiento, buscando reducir la duración de tratamientos y minimizar el uso de la vía IV sin afectar a la efectividad. Estudios recientes muestran que el cambio a un tratamiento oral después de 3-5 días de tratamiento IV en el caso de las bacteriemias por bacilos Gram-negativos de bajo riesgo tuvo resultados similares a la continuación de la terapia IV [352]. Pero la hipótesis de que es necesario iniciar un tratamiento IV en todo paciente con bacteriemia también ha sido puesta en duda; en su estudio, Casado et al. señalan que los pacientes atendidos en servicios de Urgencias en los que se diagnostica una bacteriemia de bajo riesgo después de haber sido dados de alta no tienen una peor evolución ni mayor mortalidad que los pacientes sin bacteriemia, a pesar de haber recibido todo el tratamiento vía oral [353]. Así, el tratamiento oral y ambulatorio de bacteriemias de bajo riesgo parece razonable en determinados escenarios, poniendo en duda la necesidad de terapia IV desde su inicio y permitiendo la creación de programas de tratamiento ambulatorio para estos pacientes.

En el caso de la EI, el tratamiento médico también ha recibido novedades en los últimos años, suponiendo cambios importantes respecto a las pautas tradicionales. Los programas de hospitalización a domicilio suponen en la actualidad una opción frecuente para completar el tratamiento antibiótico ambulatoriamente, representando una opción que ha probado ser segura y eficaz [354]. Además, desde la publicación del ensayo POET, sabemos que tras una fase inicial de tratamiento IV, hasta un 20% de los pacientes en los que se alcanza la estabilidad clínica y se aclara la bacteriemia pueden completar el tratamiento antibiótico por vía oral [355]. Los fármacos *long-acting*, con vidas medias prolongadas que permiten su

administración cada 1-2 semanas, como dalbavancina, han empezado a utilizarse en tratamientos de consolidación [356], aunque la evidencia al respecto aún es escasa.

Asimismo, conviene recordar que algunas recomendaciones de las guías clínicas, como la necesidad de utilizar rifampicina en El sobre válvula protésica de etiología estafilocócica si la cepa es sensible [88], están siendo desafiadas por estudios recientes que muestran que los pacientes que no recibieron rifampicina no tuvieron un peor pronóstico [357, 358].

El papel esencial de los catéteres venosos centrales como herramienta que posibilita la aplicación de distintas terapias en una sociedad donde cada vez se aplican más cuidados sanitarios fuera del hospital ya ha sido expuesto con anterioridad. El impacto de la pandemia COVID-19 en el aumento de la BRC y, secundariamente, en el aumento de episodios de bacteriemia global durante 2020 y 2021, ha de hacernos reflexionar sobre las políticas de prevención de la BRC en la actualidad.

Aunque las infecciones relacionadas con catéteres han disminuido notablemente a lo largo de los últimos 20 años, mediante el uso de nuevos dispositivos y estrategias con eficacia demostrada en la prevención de infecciones [359, 360], la pandemia puso de manifiesto que estas estrategias dependen demasiado de que haya unos medios humanos con los conocimientos, los medios y el tiempo suficiente para ponerlos en práctica, lo cual no siempre puede llevarse a cabo con facilidad.

Como apunta O'Grady en una revisión reciente, es probable que en este escenario sea necesario implantar medidas con un potencial beneficio razonable y que suponen poco coste adicional, aunque no esté claramente demostrada la utilidad de cada intervención individualmente, como los catéteres impregnados en antiséptico, apósitos impregnados en clorhexidina o tapones bañados en alcohol [361]. En el caso de catéteres centrales en pacientes sometidos a hemodiálisis, la terapia de sellado de catéter con taurolidina/heparina se asoció a un menor riesgo de desarrollo de BRC respecto al uso de heparina en un estudio reciente [362]. Las guías clínicas también recogen la estrategia de sellado de catéteres para profilaxis en pacientes con difícil acceso venoso y episodios recurrentes de BRC [360]. El impacto de estas medidas podría ser importante en un escenario en el que se estima que el 15-30% de las bacteriemias nosocomiales se relacionan con catéteres intravenosos [21].

Los episodios de CLABSI han sido utilizados como indicadores de la calidad en la atención hospitalaria, conduciendo a cambios en las políticas de salud pública que contribuyeron al mencionado descenso en el número de infecciones relacionadas con catéteres en las últimas décadas. Sin embargo, la introducción de penalizaciones económicas a las instituciones hospitalarias por los casos de CLABSI, que tenían por objetivo reforzar las políticas de prevención de la infección de catéteres, también supusieron de manera indirecta cambios en las definiciones utilizadas por las instituciones hospitalarias o en los métodos utilizados para el diagnóstico de CLABSI, que podrían haber contribuido artificialmente al descenso de episodios registrados [361]. Por ello, es importante adaptar los sistemas de monitorización para que no dependan de artefactos de este tipo.

En los últimos años, se ha propuesto expandir la monitorización de la infección endovascular más allá de los episodios de CLABSI con nuevos parámetros. La bacteriemia o fungemia nosocomial o *hospital-onset bacteremia* (HOB) es un parámetro mucho más amplio, que además de los casos de CLABSI incluye también los casos no relacionados con catéteres centrales, como las bacteriemias secundarias desde un foco urinario, respiratorio o abdominal, reconociendo que hay otros riesgos más allá de los catéteres. Por ser un parámetro potencialmente más fácil de medir y correlacionado con CLABSI, se ha propuesto su uso como marcador de infección nosocomial y de calidad de la atención hospitalaria [314, 363].

No obstante, los datos de un estudio reciente indican que una elevada proporción de casos de HOB no son prevenibles (hasta un 56%), señalando que este marcador podría identificar a una población más compleja y con mayor mortalidad, pero sería poco factible como objetivo de mejora [364]. Los autores indican que, de sustituir CLABSI por HOB como parámetro para monitorizar la infección endovascular, se podría penalizar a aquellos centros hospitalarios que ofrezcan cuidados a los pacientes más graves. Por tanto, aunque probablemente la monitorización de CLABSI es un parámetro mejorable, es necesario realizar más estudios que traten de validar la HOB como parámetro válido para la vigilancia de la infección endovascular antes de poder implantar esta medida.

Las estrategias de prevención de la infección también han de reconocer que una elevada proporción de pacientes son derivados al hospital desde instituciones sociosanitarias. Los resultados de estudios recientes sugieren que estrategias sencillas como la descolonización universal con baños de clorhexidina tópica y yodóforos nasales en residencias de ancianos se asocian significativamente con un menor riesgo de ingresos hospitalarios secundarios a infecciones que los cuidados convencionales [365]. Según algunas estimaciones, entre 1,6 y 3,8 millones de infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria ocurren anualmente en residencias de ancianos en Estados Unidos, provocando 150.000 ingresos hospitalarios y hasta 380.000 muertes [366], por lo que la implantación de este tipo de medidas es probablemente recomendable a todos los efectos.

El Consejo de la Unión Europea adoptó unas recomendaciones en 2023 para combatir la resistencia antimicrobiana desde una perspectiva *One Health* [33], fijando unos objetivos para 2030 entre los que se incluye disminuir los episodios de bacteriemia causados por SARM, *E. coli* resistente a cefalosporinas y *K. pneumoniae* resistente a carbapenemasas en un 15%, 10% y 5%, respectivamente.

Aunque los datos observados en nuestra institución entre 2010 y 2021 no son alarmantes y muestran niveles estables o en descenso, las tendencias que se observan en otras regiones a las que se ha hecho referencia en apartados previos justifican reforzar y optimizar las estrategias para combatir este problema. Entre ellas, mejorar las medidas de higiene y políticas de control de infecciones nosocomiales, reducir el uso de antimicrobianos y concienciar sobre el uso

correcto de la antibioterapia en todos los ámbitos de la asistencia sanitaria y en otros campos desde una perspectiva *one health*, expandir los programas de PROA o incorporar a personal especialista en Enfermedades Infecciosas, aumentar la investigación en nuevos tratamientos y reforzar los esfuerzos en vigilancia epidemiológica son esenciales para conseguir estos objetivos.

Perspectivas de futuro

Los avances más importantes en el futuro de la infección endovascular probablemente estén relacionados con una mejora de las estrategias de prevención, un diagnóstico precoz y un tratamiento cada vez más individualizado.

En cuanto a las técnicas diagnósticas, la importancia de disponer de un diagnóstico rápido de la sepsis propiciará el desarrollo y expansión de pruebas de diagnóstico molecular como la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) y otras pruebas de amplificación de ácidos nucleicos. Además, es probable que cada vez sea más factible la aplicación de este tipo de avances a pie de cama del paciente (*point-of-care*), sin precisar de equipo especializado de laboratorio, permitiendo un diagnóstico e inicio de tratamiento precoz.

Como se ha comentado previamente (*Apartado 2.4* y *Apartado 2.6*), en la actualidad ya existen técnicas moleculares que se pueden realizar directamente sobre muestras directas de sangre del paciente sin necesidad de incubación previa,

posibilitando la identificación del microorganismo y detección de mecanismos de resistencia asociados y evitando el tiempo que exige la realización de cultivos convencionales [3].

Aunque su impacto clínico debe evaluarse con mayor profundidad y su beneficio va unido a la disponibilidad de un equipo experto en la interpretación de los resultados que transmita la información con agilidad [367], los avances recientes en técnicas de secuenciación masiva o nanotecnología indican que muy probablemente este tipo de técnicas seguirán evolucionando.

Las tecnologías de **secuenciación masiva o *next-generation sequencing***, que incluyen la secuenciación de genoma completo, la secuenciación dirigida y la metagenómica, con capacidad de analizar gran cantidad de ADN de forma masiva y paralela, cada vez tendrán un papel más relevante. Su aplicación puede resultar especialmente útil en la identificación de microorganismos en muestras clínicas, en la detección de genes de resistencia a antibióticos, o en el ámbito de la vigilancia epidemiológica y el control de brotes de infección nosocomial [368-370]. Su aplicación en sangre o plasma podría proporcionar un diagnóstico etiológico en casos de pacientes con sepsis con hemocultivos negativos, por ejemplo. Sin embargo, aún es necesario estandarizar y automatizar los procedimientos, demostrar su utilidad en múltiples escenarios, establecer unas indicaciones de uso y probar que el beneficio clínico justifique los elevados costes que conlleva su uso en este momento [371].

Estas técnicas también son especialmente relevantes en el caso de la EI. Se ha mencionado previamente que las pruebas de diagnóstico molecular por PCR y de metagenómica, con capacidad de evitar algunas de las limitaciones más importantes de las técnicas basadas en el cultivo, han sido añadidas formalmente a los nuevos criterios Duke-ISCVID [105].

Mientras que la PCR ya ha demostrado su utilidad en la literatura, sirva como ejemplo de ello su papel en el diagnóstico de la EI por *Cutibacterium* spp. en nuestra serie (*Apartado 4.4*), el papel de las técnicas de secuenciación masiva aún está por estudiar y validar en profundidad. Sin embargo, el escenario que plantean estas nuevas pruebas es tremendamente interesante, con potencial para mejorar de manera sustancial el diagnóstico de la EI, especialmente en casos de EI con hemocultivos negativos.

A diferencia de la baja rentabilidad que ofrecen las técnicas de PCR del gen 16SrRNA y secuenciación por Sanger convencionales al realizarse en sangre periférica o plasma, las nuevas técnicas de secuenciación podrían ofrecer buenos resultados en estas muestras, habiendo sido evaluadas ya en casos de metagenómica dirigida (o *targeted metagenomic sequencing*) y técnicas de *shotgun metagenomics* basadas en la detección de ADN libre de células microbianas (*microbial cell-free DNA*) [102, 103]. Esta última técnica, conocida como Karius test, puede detectar el patógeno en sangre durante más tiempo que los hemocultivos, y el *microbial cell-free DNA* podría servir como marcador de seguimiento de la infección, pues su señal disminuye cuando se consigue control del foco.

Además, al margen de las pruebas de diagnóstico etiológico, las pruebas de diagnóstico por imagen de la EI también adquirirán una relevancia mayor en los próximos años, donde probablemente asistamos a un uso más rutinario de técnicas como el PET-TC y la ecocardiografía intracardiaca o en 3D.

Todos estos avances, y el ritmo al que se han desarrollado, justifican que los nuevos criterios Duke-ISCVID se hayan planteado como un *documento vivo*, que se pretende actualizar con una periodicidad menor, de manera que se puedan incluir cambios y mejoras sin tener que esperar décadas a una nueva actualización. Cualquier guía clínica con objetivo de modificar la práctica clínica en el futuro debería aspirar a este tipo de funcionamiento, para evitar quedar obsoleta poco después de su publicación.

Tras los grandes avances que hemos presenciado en las tecnologías de *big data*, algoritmos de *machine learning* y modelos de inteligencia artificial (IA) en los últimos años, con capacidad de analizar enormes conjuntos de datos, es probable que este tipo de metodología pueda ser aplicada eficientemente al diagnóstico de la infección endovascular próximamente. Los resultados de uno de los trabajos expuestos anteriormente (*Apartado 4.6*) pueden servir como ejemplo del uso de estas técnicas con resultados satisfactorios.

Algunos trabajos recientes adelantan algunas de las prometedoras aplicaciones de esta tecnología. Por ejemplo, se han diseñado sistemas basados en IA con potencial de identificar pacientes en riesgo de sepsis antes que los métodos tradicionales, combinando datos del historial del paciente con datos clínicos y

resultados de laboratorio para alertar al equipo médico en casos de sepsis. Los sistemas TREWS (*Targeted Real-Time Early Warning System*) y SPOT (*Sepsis Prediction and Optimization of Therapy*) ya han sido evaluados prospectivamente con resultados prometedores, reduciendo la mortalidad de los pacientes con sepsis entre un 3-10% [372, 373], aunque su efectividad depende de que las alertas sean atendidas por el equipo médico de manera rápida y su especificidad aún es limitada [374].

Como en otros ámbitos de la medicina, el abordaje terapéutico va encaminado a la medicina de precisión, un escenario donde factores individuales de cada paciente, desde factores genéticos a su estado inmunitario, unidos a las características específicas del agente etiológico responsable de la infección, serán parámetros sobre los que diseñar un esquema de tratamiento personalizado.

En este sentido, una medicina de precisión implica la identificación de nuevos biomarcadores que formen parte del proceso desencadenado por la sepsis en el huésped que puedan ser utilizados tanto para el diagnóstico como el tratamiento, en un enfoque que se ha denominado *theranostics* (de la combinación de *therapeutics* y *diagnostics*) [375]. Este enfoque ya está siendo evaluado con éxito especialmente en la medicina oncológica [376]. Su aplicación en el ámbito de la sepsis podría, además, servir para monitorizar la respuesta al tratamiento y evaluar su evolución a un mayor tiempo de seguimiento que los estudios actuales, alejando los esfuerzos de la investigación de intentar modificar la respuesta inmediata del

huésped para intentar conseguir una recuperación más rápida y completa a largo plazo [13].

La investigación sobre nuevas dianas terapéuticas también es un campo activo de investigación en la EI. Por ejemplo, es conocido que las adhesinas producidas por *S. aureus* juegan un papel fundamental en la invasión del endotelio vascular [377], pero las relaciones específicas entre la superficie microbiana y el ligando receptor del huésped son desconocidas para la mayoría de patógenos [13]. La inhibición de estos eventos podría tener importantes repercusiones en el tratamiento y profilaxis de la EI en el futuro. Además, las adhesinas, entre otros elementos, también podrían funcionar como objetivo de nuevas terapias basadas en anticuerpos para el tratamiento del biofilm en casos de EI [378].

A corto plazo, algunos de los retos que afronta el tratamiento médico de la EI incluyen dar respuesta a la posibilidad de utilizar tratamiento oral, incluso desde el inicio, y a cuál es la duración más adecuada del tratamiento. En este sentido, están en marcha los ensayo POET II, en el que se investigará la seguridad de pautas de antibioterapia aceleradas de 2-4 semanas en casos de EI izquierda causadas por *Streptococcus* spp., *S. aureus* o *E. faecalis* [379], y SATIE, en el que se valorará si una pauta de dos semanas de tratamiento IV en pacientes con EI causada por cocos Gram-positivos y sin datos de complicación no es inferior al tratamiento convencional [380].

Como parte del arsenal terapéutico de la EI en el futuro, la terapia con fagos podría ser otra alternativa muy útil en el abordaje de la EI, especialmente en casos que ocurren sobre material protésico intravascular u otros focos que no pueden ser

retirados quirúrgicamente. Esta terapia se basa en el uso de fagos, virus con capacidad de infectar exclusivamente bacterias de manera muy específica, y que resultan inocuos para el organismo y para el resto de la flora bacteriana del huésped [381]. Hasta ahora la evidencia de su uso en EI es muy escasa, limitada a casos clínicos, pero su desarrollo abriría una opción terapéutica para casos de EI donde la terapia médica convencional no suele ofrecer grandes garantías de éxito, como en infecciones que asientan sobre dispositivos de asistencia ventricular o válvulas protésicas no subsidiarias de abordaje quirúrgico [382, 383].

Otro avance prometedor en el campo del tratamiento es la nanomedicina. Esta tecnología permite la formulación de tratamientos en materiales nanométricos de manera que son transportados hasta el lugar donde deben ejercer su efecto, evitando toxicidad sistémica en otros tejidos, y permitiendo el transporte de moléculas que podrían usarse con fines diagnósticos y terapéuticos [384]. Este campo ya se está estudiando en diversos ámbitos de las enfermedades infecciosas, como en una formulación oral de anfotericina B encocleada que ha sido utilizada con éxito en la meningitis criptocócica en pacientes con VIH [385], o como estrategia para combatir las infecciones causadas por bacterias productoras de biofilm [386].

Es razonable pensar que la combinación de las mejoras en las técnicas diagnósticas y un tratamiento cada vez más personalizado tenga un impacto positivo sobre la epidemiología de los fenotipos de resistencia antimicrobiana y podrá ayudar a disminuir su incidencia, al evitar tratamientos antibióticos empíricos o no necesarios.

En resumen, es probable que, al presentarnos ante un paciente con sospecha de sepsis en los próximos años, un análisis de sangre nos permita obtener la secuenciación genética de los principales patógenos causantes de infección endovascular y analizar simultáneamente la respuesta inmunitaria del huésped a pie de cama, ofreciendo unos datos cuyo análisis mediante IA y algoritmos de *machine learning* permita diseñar tratamientos individualizados para cada paciente, disminuyendo la mortalidad de la infección endovascular.

VI. CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES

1. El análisis de los episodios de infección endovascular de nuestra institución no permite identificar un claro cambio en la incidencia de la infección endovascular entre los años 2010 y 2021.
2. Las bacterias Gram-negativas han sobrepasado a las Gram-positivas como etiología principal de la infección endovascular en la actualidad.
3. La evolución de los fenotipos de resistencia antimicrobiana en los patógenos causantes de bacteriemia muestra una disminución de los episodios causados por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y una situación estable en los episodios causados por bacilos Gram-negativos multirresistentes en nuestra institución en este periodo.
4. Durante la pandemia COVID-19 se detectó un aumento del número de episodios de bacteriemia y candidemia en nuestra institución, en relación a un incremento en el número de episodios de infecciones relacionada con catéteres intravenosos.
5. Nuestro estudio sobre la endocarditis infecciosa relacionada con la asistencia sanitaria en la serie GAMES no justifica su consideración como una entidad diferenciada e invita a plantear otros métodos de clasificación de la endocarditis infecciosa en el escenario actual.

6. *Cutibacterium* spp. causan el 1% de los casos de endocarditis infecciosa en la serie GAMES y afecta especialmente a varones portadores de válvulas protésicas o dispositivos cardiacos electrónicos implantables.
7. La endocarditis infecciosa causada por *Cutibacterium* spp. se asocia a un elevado número de complicaciones y puede ser potencialmente grave, por lo que justifica un alto índice de sospecha en varones portadores de material protésico endovascular, en los que la cirugía y la retirada de dispositivos juega un papel clave en reducir la mortalidad.
8. La aplicación de los nuevos criterios de Duke-ISCVID para el diagnóstico de la endocarditis infecciosa ha resultado útil en los casos de endocarditis infecciosa causados por especies de *Cutibacterium* y justifican la utilización rutinaria de técnicas de diagnóstico molecular.
9. Nuestra prueba de concepto utilizando la detección de parámetros bioquímicos de los caldos de hemocultivos como potenciales identificadores de positividad ofrece resultados prometedores, permitiendo distinguir entre muestras positivas y negativas, así como entre muestras con bacterias Gram-positivas y Gram-negativas.

10. Nuestra prueba de concepto utilizando el análisis de muestras directas del caldo de hemocultivos mediante modelos predictivos basados en MALDI-TOF y *machine learning* es capaz de identificar correctamente muestras positivas y muestras con *Escherichia coli*.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. John E. Bennet RD, Martin J. Blaser. Mandell, Douglas y Bennett. Enfermedades infecciosas. Principios y práctica. Octava edición.: Elsevier, **2015**.
2. Stephens DS, Zimmer SM. Pathogenesis, Therapy, and Prevention of Meningococcal Sepsis. *Current infectious disease reports* **2002**; 4(5): 377-86.
3. Rodríguez Díaz JC, Guna Serrano M, Larrosa Escartín N, Marín Arriaza M. Diagnóstico microbiológico de la bacteriemia y la fungemia: hemocultivos y métodos moleculares. 2017. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) **2017**.
4. Siegman-Igra Y, Fourer B, Orni-Wasserlauf R, et al. Reappraisal of community-acquired bacteremia: a proposal of a new classification for the spectrum of acquisition of bacteremia. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2002**; 34(11): 1431-9.
5. Javier Cobo Reinoso MPR, Jesús Rodríguez Baño, Miguel Salavert Lletí. GUÍAS CLÍNICAS SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y MICROBIOLOGIA CLINICA (SEIMC). Guía para el diagnóstico y tratamiento del paciente con bacteriemia. **2006**.
6. Friedman ND, Kaye KS, Stout JE, et al. Health care--associated bloodstream infections in adults: a reason to change the accepted definition of community-acquired infections. *Annals of internal medicine* **2002**; 137(10): 791-7.
7. Shorr AF, Tabak YP, Killian AD, Gupta V, Liu LZ, Kollef MH. Healthcare-associated bloodstream infection: A distinct entity? Insights from a large U.S. database. *Critical care medicine* **2006**; 34(10): 2588-95.
8. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Critical care medicine* **1992**; 20(6): 864-74.
9. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Critical care medicine* **2003**; 31(4): 1250-6.
10. Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM. Septic shock. *Lancet (London, England)* **2005**; 365(9453): 63-78.
11. Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *The New England journal of medicine* **2013**; 369(9): 840-51.
12. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *Jama* **2016**; 315(8): 801-10.
13. John E. Bennet RD, Martin J. Blaser. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Ninth Edition.: Elsevier, **2020**.
14. Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ, et al. Assessment of Clinical Criteria for Sepsis: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *Jama* **2016**; 315(8): 762-74.
15. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive care medicine* **2021**; 47(11): 1181-247.
16. Osler W. The Gulstonian Lectures, on Malignant Endocarditis. *British medical journal* **1885**; 1(1262): 467-70.

17. McGowan JE, Jr, Barnes MW, Finland M. Bacteremia at Boston City Hospital: Occurrence and mortality during 12 selected years (1935-1972), with special reference to hospital-acquired cases. *The Journal of infectious diseases* **1975**; 132(3): 316-35.
18. McGowan JE, Jr. Changing etiology of nosocomial bacteremia and fungemia and other hospital-acquired infections. *Reviews of infectious diseases* **1985**; 7 Suppl 3: S357-70.
19. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *The New England journal of medicine* **2003**; 348(16): 1546-54.
20. Rodríguez-Crélixems M, Alcalá L, Muñoz P, Cercenado E, Vicente T, Bouza E. Bloodstream infections: evolution and trends in the microbiology workload, incidence, and etiology, 1985-2006. *Medicine* **2008**; 87(4): 234-49.
21. Rodríguez-Baño J, López-Prieto MD, Portillo MM, et al. Epidemiology and clinical features of community-acquired, healthcare-associated and nosocomial bloodstream infections in tertiary-care and community hospitals. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2010**; 16(9): 1408-13.
22. Taylor G, Gravel D, Johnston L, Embil J, Holton D, Paton S. Incidence of bloodstream infection in multicenter inception cohorts of hemodialysis patients. *American journal of infection control* **2004**; 32(3): 155-60.
23. Dettenkofer M, Wenzler-Röttele S, Babikir R, et al. Surveillance of nosocomial sepsis and pneumonia in patients with a bone marrow or peripheral blood stem cell transplant: a multicenter project. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2005**; 40(7): 926-31.
24. Goto M, Al-Hasan MN. Overall burden of bloodstream infection and nosocomial bloodstream infection in North America and Europe. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2013**; 19(6): 501-9.
25. McNamara JF, Righi E, Wright H, Hartel GF, Harris PNA, Paterson DL. Long-term morbidity and mortality following bloodstream infection: A systematic literature review. *The Journal of infection* **2018**; 77(1): 1-8.
26. Petti CA, Sanders LL, Trivette SL, Briggs J, Sexton DJ. Postoperative bacteremia secondary to surgical site infection. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2002**; 34(3): 305-8.
27. Wisplinghoff H, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Current trends in the epidemiology of nosocomial bloodstream infections in patients with hematological malignancies and solid neoplasms in hospitals in the United States. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2003**; 36(9): 1103-10.
28. Alvarez-Lerma F, Palomar M, Olaechea P, Otal JJ, Insausti J, Cerdá E. [National Study of Control of Nosocomial Infection in Intensive Care Units. Evolutive report of the years 2003-2005]. *Medicina intensiva* **2007**; 31(1): 6-17.
29. Varon B, Palacios-Baena ZR, de Kraker MEA, et al. Universal Risk Factors for Mortality in Bloodstream Infections (UNIFORM): a systematic review and Delphi survey.

Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases **2024**.

30. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2004**; 39(3): 309-17.
31. Skov Dalgaard L, Nørgaard M, Jespersen B, et al. Risk and Prognosis of Bloodstream Infections among Patients on Chronic Hemodialysis: A Population-Based Cohort Study. *PloS one* **2015**; 10(4): e0124547.
32. Parkins MD, Gregson DB, Pitout JD, Ross T, Laupland KB. Population-based study of the epidemiology and the risk factors for *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infection. *Infection* **2010**; 38(1): 25-32.
33. Recomendación del Consejo sobre la intensificación de las medidas de la UE para luchar contra la resistencia a los antimicrobianos de acuerdo con el concepto «Una sola salud». Available at: Disponible en: <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-Z-2023-70029> [accedido en marzo 2024].
34. Assessing the health burden of infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU/EEA, 2016-2020. European Centre for Disease Prevention and Control. 2022. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/health-burden-infections-antibiotic-resistant-bacteria-2016-2020>. [Visitado en marzo 2024].
35. Diekema DJ, Hsueh PR, Mendes RE, et al. The Microbiology of Bloodstream Infection: 20-Year Trends from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **2019**; 63(7).
36. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual Epidemiological Report 2022. Stockholm: ECDC; 2023.
37. Seymour CW, Gesten F, Prescott HC, et al. Time to Treatment and Mortality during Mandated Emergency Care for Sepsis. *The New England journal of medicine* **2017**; 376(23): 2235-44.
38. Nigar Kirmani MD, Stephen Liang. Manual Washington de especialidades clínicas. Enfermedades infecciosas., **2020**.
39. van den Berg M, van Beuningen FE, Ter Maaten JC, Bouma HR. Hospital-related costs of sepsis around the world: A systematic review exploring the economic burden of sepsis. *Journal of critical care* **2022**; 71: 154096.
40. Bates DW, Yu DT, Black E, et al. Resource utilization among patients with sepsis syndrome. *Infection control and hospital epidemiology* **2003**; 24(1): 62-70.
41. Álvaro-Meca A, Jiménez-Sousa MA, Micheloud D, et al. Epidemiological trends of sepsis in the twenty-first century (2000-2013): an analysis of incidence, mortality, and associated costs in Spain. *Population health metrics* **2018**; 16(1): 4.
42. Kilgore M, Brossette S. Cost of bloodstream infections. *American journal of infection control* **2008**; 36(10): S172.e1-3.
43. Zimlichman E, Henderson D, Tamir O, et al. Health care-associated infections: a meta-analysis of costs and financial impact on the US health care system. *JAMA internal medicine* **2013**; 173(22): 2039-46.

44. Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. The Review on Antimicrobial Resistance Chaired by Jim O'Neill, **2014**. Disponible en: https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nation_s_1.pdf [visitado en febrero 2024]
45. Jonas OBI, Alec; Berthe, Franck Cesar Jean; Le Gall, Francois G.; Marquez, Patricio V. Drug-resistant infections : a threat to our economic future (Vol. 2) : final report (English). HNP/Agriculture Global Antimicrobial Resistance Initiative Washington, D.C. : World Bank Group., **2017**.
46. Mayr FB, Yende S, Angus DC. Epidemiology of severe sepsis. *Virulence* **2014**; 5(1): 4-11.
47. Moreno A, Mensa J, Almela M, et al. [138 episodes of bacteremia or fungemia in patients with solid organ (renal or hepatic) transplantation]. *Medicina clinica* **1994**; 103(5): 161-4.
48. Rodríguez C, Muñoz P, Rodríguez-Créixems M, Yañez JF, Palomo J, Bouza E. Bloodstream infections among heart transplant recipients. *Transplantation* **2006**; 81(3): 384-91.
49. Torre-Cisneros J, Herrero C, Cañas E, Reguera JM, De La Mata M, Gómez-Bravo MA. High mortality related with *Staphylococcus aureus* bacteremia after liver transplantation. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology **2002**; 21(5): 385-8.
50. Petrosillo N, Viale P, Nicastrì E, et al. Nosocomial bloodstream infections among human immunodeficiency virus-infected patients: incidence and risk factors. *Clinical infectious diseases* : an official publication of the Infectious Diseases Society of America **2002**; 34(5): 677-85.
51. Thulstrup AM, Sørensen HT, Schønheyder HC, Møller JK, Tage-Jensen U. Population-based study of the risk and short-term prognosis for bacteremia in patients with liver cirrhosis. *Clinical infectious diseases* : an official publication of the Infectious Diseases Society of America **2000**; 31(6): 1357-61.
52. Davidson RN, Wall RA. Prevention and management of infections in patients without a spleen. *Clinical microbiology and infection* : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases **2001**; 7(12): 657-60.
53. Wall BM, Mangold T, Huch KM, Corbett C, Cooke CR. Bacteremia in the chronic spinal cord injury population: risk factors for mortality. *The journal of spinal cord medicine* **2003**; 26(3): 248-53.
54. Williams MD, Braun LA, Cooper LM, et al. Hospitalized cancer patients with severe sepsis: analysis of incidence, mortality, and associated costs of care. *Critical care (London, England)* **2004**; 8(5): R291-8.
55. Mendu ML, Zager S, Gibbons FK, Christopher KB. Relationship between neighborhood poverty rate and bloodstream infections in the critically ill. *Critical care medicine* **2012**; 40(5): 1427-36.
56. Danai PA, Sinha S, Moss M, Haber MJ, Martin GS. Seasonal variation in the epidemiology of sepsis. *Critical care medicine* **2007**; 35(2): 410-5.

57. Sociedad Española de Medicina Preventiva SPeH. Análisis EPINE-EPPS 2016. Informe global de España. . **2016**.
58. Dryden MS, Samson A, Ludlam HA, Wing AJ, Phillips I. Infective complications associated with the use of the Quinton 'Permcath' for long-term central vascular access in haemodialysis. *The Journal of hospital infection* **1991**; 19(4): 257-62.
59. Merrer J, De Jonghe B, Golliot F, et al. Complications of femoral and subclavian venous catheterization in critically ill patients: a randomized controlled trial. *Jama* **2001**; 286(6): 700-7.
60. Mermel LA. Short-term Peripheral Venous Catheter-Related Bloodstream Infections: A Systematic Review. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2017**; 65(10): 1757-62.
61. Asad S, Opal SM. Bench-to-bedside review: Quorum sensing and the role of cell-to-cell communication during invasive bacterial infection. *Critical care (London, England)* **2008**; 12(6): 236.
62. Spaulding AR, Salgado-Pabón W, Kohler PL, Horswill AR, Leung DY, Schlievert PM. Staphylococcal and streptococcal superantigen exotoxins. *Clinical microbiology reviews* **2013**; 26(3): 422-47.
63. Shorr AF, Micek ST, Welch EC, Doherty JA, Reichley RM, Kollef MH. Inappropriate antibiotic therapy in Gram-negative sepsis increases hospital length of stay. *Critical care medicine* **2011**; 39(1): 46-51.
64. Hanberger H, Walther S, Leone M, et al. Increased mortality associated with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection in the intensive care unit: results from the EPIC II study. *International journal of antimicrobial agents* **2011**; 38(4): 331-5.
65. Hanberger H, Antonelli M, Holmbom M, et al. Infections, antibiotic treatment and mortality in patients admitted to ICUs in countries considered to have high levels of antibiotic resistance compared to those with low levels. *BMC infectious diseases* **2014**; 14: 513.
66. CLSI. Principles and Procedures for Blood Cultures. 2nd ed. CLSI guideline M47. Clinical and Laboratory Standards Institute, **2022**.
67. Rhee C, Filbin MR, Massaro AF, et al. Compliance With the National SEP-1 Quality Measure and Association With Sepsis Outcomes: A Multicenter Retrospective Cohort Study. *Critical care medicine* **2018**; 46(10): 1585-91.
68. Coburn B, Morris AM, Tomlinson G, Detsky AS. Does this adult patient with suspected bacteremia require blood cultures? *Jama* **2012**; 308(5): 502-11.
69. Riedel S, Carroll KC. Blood cultures: key elements for best practices and future directions. *Journal of infection and chemotherapy : official journal of the Japan Society of Chemotherapy* **2010**; 16(5): 301-16.
70. Garcia RA, Spitzer ED, Beaudry J, et al. Multidisciplinary team review of best practices for collection and handling of blood cultures to determine effective interventions for increasing the yield of true-positive bacteremias, reducing contamination, and eliminating false-positive central line-associated bloodstream infections. *American journal of infection control* **2015**; 43(11): 1222-37.

71. Opota O, Croxatto A, Prod'hom G, Greub G. Blood culture-based diagnosis of bacteraemia: state of the art. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2015**; 21(4): 313-22.
72. Institute for Health Metrics Evaluation. University of Washington S. Global Burden of Disease Metrics. Available at: Disponible en: <https://vizhub.healthdata.org/gbd-compare/>. Accessed Enero 2024.
73. Hammond-Haley M, Hartley A, Al-Khayatt BM, et al. Trends in the incidence and mortality of infective endocarditis in high-income countries between 1990 and 2019. *International journal of cardiology* **2023**; 371: 441-51.
74. Tleyjeh IM, Abdel-Latif A, Rahbi H, et al. A systematic review of population-based studies of infective endocarditis. *Chest* **2007**; 132(3): 1025-35.
75. Federspiel JJ, Stearns SC, Peppercorn AF, Chu VH, Fowler VG, Jr. Increasing US rates of endocarditis with *Staphylococcus aureus*: 1999-2008. *Archives of internal medicine* **2012**; 172(4): 363-5.
76. Bor DH, Woolhandler S, Nardin R, Bruschi J, Himmelstein DU. Infective endocarditis in the U.S., 1998-2009: a nationwide study. *PloS one* **2013**; 8(3): e60033.
77. DeSimone DC, Lahr BD, Anavekar NS, et al. Temporal Trends of Infective Endocarditis in Olmsted County, Minnesota, Between 1970 and 2018: A Population-Based Analysis. *Open forum infectious diseases* **2021**; 8(3): ofab038.
78. Pant S, Patel NJ, Deshmukh A, et al. Trends in infective endocarditis incidence, microbiology, and valve replacement in the United States from 2000 to 2011. *Journal of the American College of Cardiology* **2015**; 65(19): 2070-6.
79. Selton-Suty C, Célar M, Le Moing V, et al. Preeminence of *Staphylococcus aureus* in infective endocarditis: a 1-year population-based survey. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2012**; 54(9): 1230-9.
80. Becher PM, Goßling A, Fluschnik N, et al. Temporal trends in incidence, patient characteristics, microbiology and in-hospital mortality in patients with infective endocarditis: a contemporary analysis of 86,469 cases between 2007 and 2019. *Clinical research in cardiology : official journal of the German Cardiac Society* **2024**; 113(2): 205-15.
81. Olmos C, Vilacosta I, Fernández-Pérez C, et al. The Evolving Nature of Infective Endocarditis in Spain: A Population-Based Study (2003 to 2014). *Journal of the American College of Cardiology* **2017**; 70(22): 2795-804.
82. Momtazmanesh S, Saeedi Moghaddam S, Malakan Rad E, et al. Global, regional, and national burden and quality of care index of endocarditis: the global burden of disease study 1990-2019. *European journal of preventive cardiology* **2022**; 29(8): 1287-97.
83. Cahill TJ, Prendergast BD. Infective endocarditis. *Lancet (London, England)* **2016**; 387(10021): 882-93.
84. Benito N, Miró JM, de Lazzari E, et al. Health care-associated native valve endocarditis: importance of non-nosocomial acquisition. *Annals of internal medicine* **2009**; 150(9): 586-94.
85. Castillo FJ, Anguita M, Castillo JC, Ruiz M, Mesa D, Suárez de Lezo J. Changes in Clinical Profile, Epidemiology and Prognosis of Left-sided Native-valve Infective

Endocarditis Without Predisposing Heart Conditions. *Revista española de cardiología (English ed)* **2015**; 68(5): 445-8.

86. Hill EE, Herijgers P, Claus P, Vanderschueren S, Herregods MC, Peetermans WE. Infective endocarditis: changing epidemiology and predictors of 6-month mortality: a prospective cohort study. *European heart journal* **2007**; 28(2): 196-203.

87. Pericàs JM, Llopis J, Jiménez-Exposito MJ, et al. Infective Endocarditis in Patients on Chronic Hemodialysis. *Journal of the American College of Cardiology* **2021**; 77(13): 1629-40.

88. Delgado V, Ajmone Marsan N, de Waha S, et al. 2023 ESC Guidelines for the management of endocarditis. *European heart journal* **2023**; 44(39): 3948-4042.

89. Habib G, Erba PA, Iung B, et al. Clinical presentation, aetiology and outcome of infective endocarditis. Results of the ESC-EORP EURO-ENDO (European infective endocarditis) registry: a prospective cohort study. *European heart journal* **2019**; 40(39): 3222-32.

90. Murdoch DR, Corey GR, Hoen B, et al. Clinical presentation, etiology, and outcome of infective endocarditis in the 21st century: the International Collaboration on Endocarditis-Prospective Cohort Study. *Archives of internal medicine* **2009**; 169(5): 463-73.

91. Escolà-Vergé L, Fernández-Hidalgo N, Larrosa MN, Fernandez-Galera R, Almirante B. Secular trends in the epidemiology and clinical characteristics of *Enterococcus faecalis* infective endocarditis at a referral center (2007-2018). *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology **2021**; 40(6): 1137-48.

92. Non LR, Santos CA. The occurrence of infective endocarditis with *Staphylococcus lugdunensis* bacteremia: A retrospective cohort study and systematic review. *The Journal of infection* **2017**; 74(2): 179-86.

93. Chamat-Hedemand S, Dahl A, Østergaard L, et al. Prevalence of Infective Endocarditis in Streptococcal Bloodstream Infections Is Dependent on Streptococcal Species. *Circulation* **2020**; 142(8): 720-30.

94. Bouza E, Muñoz P, Burillo A. Gram-negative endocarditis: disease presentation, diagnosis and treatment. *Current opinion in infectious diseases* **2021**; 34(6): 672-80.

95. Von Reyn CF, Levy BS, Arbeit RD, Friedland G, Crumpacker CS. Infective endocarditis: an analysis based on strict case definitions. *Annals of internal medicine* **1981**; 94(4 pt 1): 505-18.

96. Durack DT, Lukes AS, Bright DK. New criteria for diagnosis of infective endocarditis: utilization of specific echocardiographic findings. Duke Endocarditis Service. *The American journal of medicine* **1994**; 96(3): 200-9.

97. Li JS, Sexton DJ, Mick N, et al. Proposed modifications to the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis. *Clinical infectious diseases* : an official publication of the Infectious Diseases Society of America **2000**; 30(4): 633-8.

98. Habib G, Derumeaux G, Avierinos JF, et al. Value and limitations of the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis. *Journal of the American College of Cardiology* **1999**; 33(7): 2023-9.

99. Hill EE, Herijgers P, Claus P, Vanderschueren S, Peetermans WE, Herregods MC. Abscess in infective endocarditis: the value of transesophageal echocardiography and outcome: a 5-year study. *American heart journal* **2007**; 154(5): 923-8.
100. Habib G, Lancellotti P, Antunes MJ, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis: The Task Force for the Management of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by: European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), the European Association of Nuclear Medicine (EANM). *European heart journal* **2015**; 36(44): 3075-128.
101. Lang S, Watkin RW, Lambert PA, Bonser RS, Littler WA, Elliott TS. Evaluation of PCR in the molecular diagnosis of endocarditis. *The Journal of infection* **2004**; 48(3): 269-75.
102. Eichenberger EM, Degner N, Scott ER, et al. Microbial Cell-Free DNA Identifies the Causative Pathogen in Infective Endocarditis and Remains Detectable Longer Than Conventional Blood Culture in Patients with Prior Antibiotic Therapy. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2023**; 76(3): e1492-e500.
103. Flurin L, Wolf MJ, Fisher CR, et al. Pathogen Detection in Infective Endocarditis Using Targeted Metagenomics on Whole Blood and Plasma: a Prospective Pilot Study. *Journal of clinical microbiology* **2022**; 60(9): e0062122.
104. Hajduczenia MM, Klefisch FR, Hopf AGM, et al. New Perspectives for Prosthetic Valve Endocarditis: Impact of Molecular Imaging by FISHseq Diagnostics. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2023**; 76(6): 1050-8.
105. Fowler VG, Durack DT, Selton-Suty C, et al. The 2023 Duke-ISCVID Criteria for Infective Endocarditis: Updating the Modified Duke Criteria. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2023**.
106. van der Vaart TW, Bossuyt PMM, Baddour LM, et al. 963. External Validation of the 2023 Duke - International Society for Cardiovascular Infectious Diseases (ISCVID) Diagnostic Criteria for Infective Endocarditis (IE). *Open forum infectious diseases* **2023**; 10(Suppl 2).
107. Goehringer F, Lalloué B, Selton-Suty C, et al. 2400. Compared Performance Indices of the 2023 Duke-ISCVID, the 2000 Modified Duke, and the 2015 ESC Criteria for the Diagnosis of Infective Endocarditis. *Open forum infectious diseases* **2023**; 10(Suppl 2).
108. Baddour LM, Wilson WR, Bayer AS, et al. Infective Endocarditis in Adults: Diagnosis, Antimicrobial Therapy, and Management of Complications: A Scientific Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association. *Circulation* **2015**; 132(15): 1435-86.
109. Hindy JR, Quintero-Martinez JA, Lee AT, et al. Incidence Trends and Epidemiology of Staphylococcus aureus Bacteremia: A Systematic Review of Population-Based Studies. *Cureus* **2022**; 14(5): e25460.
110. Suzuki M, Satoh N, Nakamura M, Horita S, Seki G, Moriya K. Bacteremia in hemodialysis patients. *World journal of nephrology* **2016**; 5(6): 489-96.
111. Taramasso L, Tatarelli P, Di Biagio A. Bloodstream infections in HIV-infected patients. *Virulence* **2016**; 7(3): 320-8.

112. Pérez-Crespo PMM, Lanz-García JF, Bravo-Ferrer J, et al. Revisiting the epidemiology of bloodstream infections and healthcare-associated episodes: results from a multicentre prospective cohort in Spain (PRO-BAC Study). *International journal of antimicrobial agents* **2021**; 58(1): 106352.
113. Skogberg K, Lyytikäinen O, Ollgren J, Nuorti JP, Ruutu P. Population-based burden of bloodstream infections in Finland. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2012**; 18(6): E170-6.
114. Laupland KB, Kibsey PC, Gregson DB, Galbraith JC. Population-based laboratory assessment of the burden of community-onset bloodstream infection in Victoria, Canada. *Epidemiology and infection* **2013**; 141(1): 174-80.
115. Nielsen SL, Pedersen C, Jensen TG, Gradel KO, Kolmos HJ, Lassen AT. Decreasing incidence rates of bacteremia: a 9-year population-based study. *The Journal of infection* **2014**; 69(1): 51-9.
116. Holmbom M, Giske CG, Fredrikson M, et al. 14-Year Survey in a Swedish County Reveals a Pronounced Increase in Bloodstream Infections (BSI). Comorbidity - An Independent Risk Factor for Both BSI and Mortality. *PloS one* **2016**; 11(11): e0166527.
117. Laupland KB, Pasquill K, Parfitt EC, Naidu P, Steele L. Burden of community-onset bloodstream infections, Western Interior, British Columbia, Canada. *Epidemiology and infection* **2016**; 144(11): 2440-6.
118. Mehl A, Åsvold BO, Lydersen S, et al. Burden of bloodstream infection in an area of Mid-Norway 2002-2013: a prospective population-based observational study. *BMC infectious diseases* **2017**; 17(1): 205.
119. Buetti N, Atkinson A, Marschall J, Kronenberg A. Incidence of bloodstream infections: a nationwide surveillance of acute care hospitals in Switzerland 2008-2014. *BMJ open* **2017**; 7(3): e013665.
120. Rhodes J, Jorakate P, Makprasert S, et al. Population-based bloodstream infection surveillance in rural Thailand, 2007-2014. *BMC public health* **2019**; 19(Suppl 3): 521.
121. Kontula KSK, Skogberg K, Ollgren J, Järvinen A, Lyytikäinen O. Population-Based Study of Bloodstream Infection Incidence and Mortality Rates, Finland, 2004-2018. *Emerging infectious diseases* **2021**; 27(10): 2560-9.
122. Verway M, Brown KA, Marchand-Austin A, et al. Prevalence and Mortality Associated with Bloodstream Organisms: a Population-Wide Retrospective Cohort Study. *Journal of clinical microbiology* **2022**: e0242921.
123. Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM, et al. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **1997**; 24(4): 584-602.
124. de Kraker ME, Jarlier V, Monen JC, Heuer OE, van de Sande N, Grundmann H. The changing epidemiology of bacteraemias in Europe: trends from the European Antimicrobial Resistance Surveillance System. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2013**; 19(9): 860-8.

125. Douglas NM, Hennessy JN, Currie BJ, Baird RW. Trends in Bacteremia Over 2 Decades in the Top End of the Northern Territory of Australia. *Open forum infectious diseases* **2020**; 7(11): ofaa472.
126. Anderson DJ, Moehring RW, Sloane R, et al. Bloodstream infections in community hospitals in the 21st century: a multicenter cohort study. *PloS one* **2014**; 9(3): e91713.
127. Jokinen E, Laine J, Huttunen R, et al. Trends in incidence and resistance patterns of *Staphylococcus aureus* bacteremia(). *Infectious diseases (London, England)* **2018**; 50(1): 52-8.
128. Gagliotti C, Högberg LD, Billström H, et al. *Staphylococcus aureus* bloodstream infections: diverging trends of meticillin-resistant and meticillin-susceptible isolates, EU/EEA, 2005 to 2018. *Euro surveillance : bulletin European sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* **2021**; 26(46).
129. Opota O, Jatón K, Greub G. Microbial diagnosis of bloodstream infection: towards molecular diagnosis directly from blood. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2015**; 21(4): 323-31.
130. Monday LM, Parraga Acosta T, Alangaden G. T2Candida for the Diagnosis and Management of Invasive Candida Infections. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)* **2021**; 7(3).
131. Briggs N, Campbell S, Gupta S. Advances in rapid diagnostics for bloodstream infections. *Diagnostic microbiology and infectious disease* **2021**; 99(1): 115219.
132. Toyoda N, Chikwe J, Itagaki S, Gelijns AC, Adams DH, Egorova NN. Trends in Infective Endocarditis in California and New York State, 1998-2013. *Jama* **2017**; 317(16): 1652-60.
133. Cresti A, Chiavarelli M, Scalese M, et al. Epidemiological and mortality trends in infective endocarditis, a 17-year population-based prospective study. *Cardiovascular diagnosis and therapy* **2017**; 7(1): 27-35.
134. Ambrosioni J, Hernandez-Meneses M, Téllez A, et al. The Changing Epidemiology of Infective Endocarditis in the Twenty-First Century. *Current infectious disease reports* **2017**; 19(5): 21.
135. Siegman-Igra Y, Koifman B, Porat R, Porat D, Giladi M. Healthcare associated infective endocarditis: a distinct entity. *Scandinavian journal of infectious diseases* **2008**; 40(6-7): 474-80.
136. Fernández-Hidalgo N, Almirante B, Tornos P, et al. Contemporary epidemiology and prognosis of health care-associated infective endocarditis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2008**; 47(10): 1287-97.
137. Lomas JM, Martínez-Marcos FJ, Plata A, et al. Healthcare-associated infective endocarditis: an undesirable effect of healthcare universalization. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2010**; 16(11): 1683-90.
138. Wu KS, Lee SS, Tsai HC, et al. Non-nosocomial healthcare-associated infective endocarditis in Taiwan: an underrecognized disease with poor outcome. *BMC infectious diseases* **2011**; 11: 221.

139. 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]. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* **2013**; 31(1): 15-22.
140. Yang F, Zhang B, Yu J, et al. Epidemiology and the prognosis of healthcare-associated infective endocarditis in China: the significance of non-nosocomial acquisition. *Emerging microbes & infections* **2015**; 4(7): e38.
141. Kiriyaama H, Daimon M, Nakanishi K, et al. Comparison Between Healthcare-Associated and Community-Acquired Infective Endocarditis at Tertiary Care Hospitals in Japan. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society* **2020**; 84(4): 670-6.
142. Pombo Jiménez M, Chimen García J, Bertomeu González V, Cano Pérez Ó. Spanish pacemaker registry. 20th official report of the Heart Rhythm Association of the Spanish Society of Cardiology (2022). *Revista española de cardiología (English ed)* **2023**; 76(12): 1032-41.
143. Carnero-Alcázar M, Maroto-Castellanos LC, Hernández-Vaquero D, et al. Isolated aortic valve replacement in Spain: national trends in risks, valve types, and mortality from 1998 to 2017. *Revista española de cardiología (English ed)* **2021**; 74(8): 700-7.
144. Sohail MR, Gray AL, Baddour LM, Tleyjeh IM, Virk A. Infective endocarditis due to *Propionibacterium* species. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2009**; 15(4): 387-94.
145. Fry C, Primus CP, Serafino-Wani R, Woldman S. Recurrent strokes in an occult case of recurrent *Cutibacterium acnes* prosthetic valve infective endocarditis: a case report. *European heart journal Case reports* **2021**; 5(6): ytab148.
146. Abdelhamid AA, Kobayashi T, Tholany J, Sekar P. Recurrent *Cutibacterium acnes* prosthetic valve endocarditis. *BMJ case reports* **2021**; 14(7).
147. Patel PM, Camps NS, Rivera CI, Gomez I, Tuda CD. *Cutibacterium acnes*: An emerging pathogen in culture negative bacterial prosthetic valve infective endocarditis (IE). *IDCases* **2022**; 29: e01555.
148. Heinen FJ, Arregle F, van den Brink FS, et al. Clinical Characteristics and Outcomes of Patients With *Cutibacterium acnes* Endocarditis. *JAMA network open* **2023**; 6(7): e2323112.
149. Lindell F, Söderquist B, Sundman K, Olaison L, Källman J. Prosthetic valve endocarditis caused by *Propionibacterium* species: a national registry-based study of 51 Swedish cases. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* **2018**; 37(4): 765-71.
150. Padrón anual. Resultados detallados. Series anuales. Instituto de Estadística. Comunidad de Madrid. Disponible en: <https://www.madrid.org/iestadis/fijas/estructu/demograficas/padron/estructupcrd.htm>. Visitado noviembre 2023.
151. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *Journal of chronic diseases* **1987**; 40(5): 373-83.

152. Blomström-Lundqvist C, Traykov V, Erba PA, et al. European Heart Rhythm Association (EHRA) international consensus document on how to prevent, diagnose, and treat cardiac implantable electronic device infections-endorsed by the Heart Rhythm Society (HRS), the Asia Pacific Heart Rhythm Society (APHRS), the Latin American Heart Rhythm Society (LAHRS), International Society for Cardiovascular Infectious Diseases (ISCVID), and the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *European heart journal* **2020**; 41(21): 2012-32.
153. Organization; WH. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report 2021., **2021**.
154. She RC, Bender JM. Advances in Rapid Molecular Blood Culture Diagnostics: Healthcare Impact, Laboratory Implications, and Multiplex Technologies. *The journal of applied laboratory medicine* **2019**; 3(4): 617-30.
155. Kern WV, Rieg S. Burden of bacterial bloodstream infection-a brief update on epidemiology and significance of multidrug-resistant pathogens. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2020**; 26(2): 151-7.
156. Uslan DZ, Crane SJ, Steckelberg JM, et al. Age- and sex-associated trends in bloodstream infection: a population-based study in Olmsted County, Minnesota. *Archives of internal medicine* **2007**; 167(8): 834-9.
157. Søgaaard M, Nørgaard M, Dethlefsen C, Schønheyder HC. Temporal changes in the incidence and 30-day mortality associated with bacteremia in hospitalized patients from 1992 through 2006: a population-based cohort study. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2011**; 52(1): 61-9.
158. Wilson J, Elgohari S, Livermore DM, et al. Trends among pathogens reported as causing bacteraemia in England, 2004-2008. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2011**; 17(3): 451-8.
159. Holmbom M, Möller V, Nilsson LE, et al. Low incidence of antibiotic-resistant bacteria in south-east Sweden: An epidemiologic study on 9268 cases of bloodstream infection. *PloS one* **2020**; 15(3): e0230501.
160. Soriano MC, Vaquero C, Ortiz-Fernández A, Caballero A, Blandino-Ortiz A, de Pablo R. Low incidence of co-infection, but high incidence of ICU-acquired infections in critically ill patients with COVID-19. *The Journal of infection* **2021**; 82(2): e20-e1.
161. DeVoe C, Segal MR, Wang L, et al. Increased rates of secondary bacterial infections, including Enterococcus bacteremia, in patients hospitalized with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Infection control and hospital epidemiology* **2021**: 1-8.
162. Bonazzetti C, Morena V, Giacomelli A, et al. Unexpectedly High Frequency of Enterococcal Bloodstream Infections in Coronavirus Disease 2019 Patients Admitted to an Italian ICU: An Observational Study. *Critical care medicine* **2021**; 49(1): e31-e40.
163. Kokkoris S, Papachatzakis I, Gavrielatou E, et al. ICU-acquired bloodstream infections in critically ill patients with COVID-19. *The Journal of hospital infection* **2021**; 107: 95-7.

164. Garcia-Vidal C, Sanjuan G, Moreno-García E, et al. Incidence of co-infections and superinfections in hospitalized patients with COVID-19: a retrospective cohort study. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2021**; 27(1): 83-8.
165. Hughes S, Troise O, Donaldson H, Mughal N, Moore LSP. Bacterial and fungal coinfection among hospitalized patients with COVID-19: a retrospective cohort study in a UK secondary-care setting. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2020**; 26(10): 1395-9.
166. Sepulveda J, Westblade LF, Whittier S, et al. Bacteremia and Blood Culture Utilization during COVID-19 Surge in New York City. *Journal of clinical microbiology* **2020**; 58(8).
167. Giacobbe DR, Battaglini D, Ball L, et al. Bloodstream infections in critically ill patients with COVID-19. *European journal of clinical investigation* **2020**; 50(10): e13319.
168. Engsbro AL, Israelsen SB, Pedersen M, et al. Predominance of hospital-acquired bloodstream infection in patients with Covid-19 pneumonia. *Infectious diseases (London, England)* **2020**; 52(12): 919-22.
169. Cataldo MA, Tetaj N, Selleri M, et al. Incidence of bacterial and fungal bloodstream infections in COVID-19 patients in intensive care: An alarming "collateral effect". *Journal of global antimicrobial resistance* **2020**; 23: 290-1.
170. Goyal P, Choi JJ, Pinheiro LC, et al. Clinical Characteristics of Covid-19 in New York City. *The New England journal of medicine* **2020**; 382(24): 2372-4.
171. Rupp ME, Karnatak R. Intravascular Catheter-Related Bloodstream Infections. *Infectious disease clinics of North America* **2018**; 32(4): 765-87.
172. Centers for Disease Control and Prevention. National and State Healthcare-Associated Infections Progress Report. 2019. **2019**.
173. European Centre for Disease Prevention and Control. Healthcare-associated infections acquired in intensive care units. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2017. Stockholm: ECDC; 2019.
174. Centers for Disease Control and Prevention. National and State Healthcare-Associated Infections Progress Report. Disponible en: <https://www.cdc.gov/hai/data/archive/archive.html> [visitado en marzo 2023]. **2020**.
175. ENVIN COVID. Estudio nacional de vigilancia de infección nosocomial en servicios de medicina intensiva. Oleada 2. Informe 2020. (2020) Available at: <https://semicyuc.org/envin> [visitado en marzo 2023].
176. Pérez-Granda MJ, Carrillo CS, Rabadán PM, et al. Increase in the frequency of catheter-related bloodstream infections during the COVID-19 pandemic: a plea for control. *The Journal of hospital infection* **2022**; 119: 149-54.
177. Diekema DJ, Beekmann SE, Chapin KC, Morel KA, Munson E, Doern GV. Epidemiology and outcome of nosocomial and community-onset bloodstream infection. *Journal of clinical microbiology* **2003**; 41(8): 3655-60.
178. Bearman GM, Wenzel RP. Bacteremias: a leading cause of death. *Archives of medical research* **2005**; 36(6): 646-59.

179. Lenz R, Leal JR, Church DL, Gregson DB, Ross T, Laupland KB. The distinct category of healthcare associated bloodstream infections. *BMC infectious diseases* **2012**; 12: 85.
180. Prowle JR, Echeverri JE, Ligabo EV, et al. Acquired bloodstream infection in the intensive care unit: incidence and attributable mortality. *Critical care (London, England)* **2011**; 15(2): R100.
181. Timsit JF, Laupland KB. Update on bloodstream infections in ICUs. *Current opinion in critical care* **2012**; 18(5): 479-86.
182. Wang YC, Shih SM, Chen YT, Hsiung CA, Kuo SC. Clinical and economic impact of intensive care unit-acquired bloodstream infections in Taiwan: a nationwide population-based retrospective cohort study. *BMJ open* **2020**; 10(11): e037484.
183. Laupland KB, Pasquill K, Steele L, Parfitt EC. Burden of bloodstream infection in older persons: a population-based study. *BMC geriatrics* **2021**; 21(1): 31.
184. Laupland KB, Church DL. Population-based epidemiology and microbiology of community-onset bloodstream infections. *Clinical microbiology reviews* **2014**; 27(4): 647-64.
185. Asgeirsson H, Gudlaugsson O, Kristinsson KG, Heiddal S, Kristjansson M. *Staphylococcus aureus* bacteraemia in Iceland, 1995-2008: changing incidence and mortality. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2011**; 17(4): 513-8.
186. Thorlacius-Ussing L, Sandholdt H, Larsen AR, Petersen A, Benfield T. Age-Dependent Increase in Incidence of *Staphylococcus aureus* Bacteremia, Denmark, 2008-2015. *Emerging infectious diseases* **2019**; 25(5): 875-82.
187. Burton DC, Edwards JR, Horan TC, Jernigan JA, Fridkin SK. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* central line-associated bloodstream infections in US intensive care units, 1997-2007. *Jama* **2009**; 301(7): 727-36.
188. McDanel J, Schweizer M, Crabb V, et al. Incidence of Extended-Spectrum β -Lactamase (ESBL)-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* Infections in the United States: A Systematic Literature Review. *Infection control and hospital epidemiology* **2017**; 38(10): 1209-15.
189. Tängdén T, Giske CG. Global dissemination of extensively drug-resistant carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: clinical perspectives on detection, treatment and infection control. *Journal of internal medicine* **2015**; 277(5): 501-12.
190. De Angelis G, Fiori B, Menchinelli G, et al. Incidence and antimicrobial resistance trends in bloodstream infections caused by ESKAPE and *Escherichia coli* at a large teaching hospital in Rome, a 9-year analysis (2007-2015). *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* **2018**; 37(9): 1627-36.
191. Satlin MJ, Chen L, Patel G, et al. Multicenter Clinical and Molecular Epidemiological Analysis of Bacteremia Due to Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae (CRE) in the CRE Epicenter of the United States. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **2017**; 61(4).
192. Baron EJ, Weinstein MP, Dunne MW, Yagupsky P, Welch DF, Wilson DM. *Cumitech 1C, Blood Cultures IV*. ASM Press, Washington, DC **2005**.

193. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2018**; 67(6): 813-6.
194. Seigel TA, Cocchi MN, Saliccioli J, et al. Inadequacy of temperature and white blood cell count in predicting bacteremia in patients with suspected infection. *The Journal of emergency medicine* **2012**; 42(3): 254-9.
195. Eliakim-Raz N, Bates DW, Leibovici L. Predicting bacteraemia in validated models--a systematic review. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2015**; 21(4): 295-301.
196. Julián-Jiménez A, Iqbal-Mirza SZ, de Rafael González E, et al. Predicting bacteremia in patients attended for infections in an emergency department: the 5MPB-Toledo model. *Emergencias : revista de la Sociedad Española de Medicina de Emergencias* **2020**; 32(2): 81-9.
197. Gentil PR. Predicting bacteremia in the Emergency Room: Why and how. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* **2022**.
198. Fabre V, Sharara SL, Salinas AB, Carroll KC, Desai S, Cosgrove SE. Does This Patient Need Blood Cultures? A Scoping Review of Indications for Blood Cultures in Adult Nonneutropenic Inpatients. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2020**; 71(5): 1339-47.
199. Riedel S, Bourbeau P, Swartz B, et al. Timing of specimen collection for blood cultures from febrile patients with bacteremia. *Journal of clinical microbiology* **2008**; 46(4): 1381-5.
200. Bennett IL, Jr., Beeson PB. Bacteremia: a consideration of some experimental and clinical aspects. *The Yale journal of biology and medicine* **1954**; 26(4): 241-62.
201. Li J, Plorde JJ, Carlson LG. Effects of volume and periodicity on blood cultures. *Journal of clinical microbiology* **1994**; 32(11): 2829-31.
202. Huber S, Hetzer B, Crazzolara R, Orth-Höller D. The correct blood volume for paediatric blood cultures: a conundrum? *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2020**; 26(2): 168-73.
203. Kreger BE, Craven DE, Carling PC, McCabe WR. Gram-negative bacteremia. III. Reassessment of etiology, epidemiology and ecology in 612 patients. *The American journal of medicine* **1980**; 68(3): 332-43.
204. Henry NK, McLimans CA, Wright AJ, Thompson RL, Wilson WR, Washington JA, 2nd. Microbiological and clinical evaluation of the isolator lysis-centrifugation blood culture tube. *Journal of clinical microbiology* **1983**; 17(5): 864-9.
205. Washington JA, 2nd. Blood cultures: principles and techniques. *Mayo Clinic proceedings* **1975**; 50(2): 91-8.
206. Weinstein MP, Murphy JR, Reller LB, Lichtenstein KA. The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and

- fungemia in adults. II. Clinical observations, with special reference to factors influencing prognosis. *Reviews of infectious diseases* **1983**; 5(1): 54-70.
207. Jonsson B, Nyberg A, Henning C. Theoretical aspects of detection of bacteraemia as a function of the volume of blood cultured. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica* **1993**; 101(8): 595-601.
208. Cockerill FR, 3rd, Wilson JW, Vetter EA, et al. Optimal testing parameters for blood cultures. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2004**; 38(12): 1724-30.
209. Lee A, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP. Detection of bloodstream infections in adults: how many blood cultures are needed? *Journal of clinical microbiology* **2007**; 45(11): 3546-8.
210. Bouza E, Sousa D, Rodríguez-Crèixems M, Lechuz JG, Muñoz P. Is the volume of blood cultured still a significant factor in the diagnosis of bloodstream infections? *Journal of clinical microbiology* **2007**; 45(9): 2765-9.
211. Patel R, Vetter EA, Harmsen WS, Schleck CD, Fadel HJ, Cockerill FR, 3rd. Optimized pathogen detection with 30- compared to 20-milliliter blood culture draws. *Journal of clinical microbiology* **2011**; 49(12): 4047-51.
212. Mermel LA, Maki DG. Detection of bacteremia in adults: consequences of culturing an inadequate volume of blood. *Annals of internal medicine* **1993**; 119(4): 270-2.
213. Coorevits L, Van den Abeele AM. Evaluation of the BD BACTEC FX blood volume monitoring system as a continuous quality improvement measure. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* **2015**; 34(7): 1459-66.
214. Henning C, Aygül N, Dinnétz P, Wallgren K, Özenci V. Detailed Analysis of the Characteristics of Sample Volume in Blood Culture Bottles. *Journal of clinical microbiology* **2019**; 57(8).
215. Neves L, Marra AR, Camargo TZ, et al. Correlation between mass and volume of collected blood with positivity of blood cultures. *BMC research notes* **2015**; 8: 383.
216. Cattoir L, Claessens J, Cartuyvels R, Van den Abeele AM. How to achieve accurate blood culture volumes: the BD BACTEC FX blood volume monitoring system as a measuring instrument and educational tool. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* **2018**; 37(9): 1621-6.
217. Lee S, Kim S. Accuracy of BacT/Alert Virtuo for Measuring Blood Volume for Blood Culture. *Annals of laboratory medicine* **2019**; 39(6): 590-2.
218. Khare R, Kothari T, Castagnaro J, Hemmings B, Tso M, Juretschko S. Active Monitoring and Feedback to Improve Blood Culture Fill Volumes and Positivity Across a Large Integrated Health System. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2020**; 70(2): 262-8.
219. Hazen KC, Polage CR. Using Data to Optimize Blood Bottle Fill Volumes and Pathogen Detection: Making Blood Cultures Great Again. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2020**; 70(2): 269-70.

220. Collazos-Blanco A, Pérez-García F, Sánchez-Carrillo C, de Egea V, Muñoz P, Bouza E. Estimation of missed bloodstream infections without the third blood culture set: a retrospective observational single-centre study. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2019**; 25(4): 469-73.
221. Burillo A, Bouza Santiago E. Solicitud simultánea de hemocultivos y urocultivos: ¿una alerta de sepsis de origen urinario para el Servicio de Microbiología? Póster presentado en el XXV Congreso de la Sociedad Española de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas (pendiente publicación) **2022**.
222. Lam PW, Wiggers JB, Lo J, MacFadden DR, Daneman N. Utility of Urine Cultures in Predicting Blood Culture Susceptibilities in Patients with Bacteremic Urinary Tract Infection. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **2019**; 63(1).
223. Dixon P, Davies P, Hollingworth W, Stoddart M, MacGowan A. A systematic review of matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry compared to routine microbiological methods for the time taken to identify microbial organisms from positive blood cultures. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* **2015**; 34(5): 863-76.
224. Timbrook TT, Morton JB, McConeghy KW, Caffrey AR, Mylonakis E, LaPlante KL. The Effect of Molecular Rapid Diagnostic Testing on Clinical Outcomes in Bloodstream Infections: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2017**; 64(1): 15-23.
225. Vlek AL, Bonten MJ, Boel CH. Direct matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry improves appropriateness of antibiotic treatment of bacteremia. *PloS one* **2012**; 7(3): e32589.
226. Huang AM, Newton D, Kunapuli A, et al. Impact of rapid organism identification via matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight combined with antimicrobial stewardship team intervention in adult patients with bacteremia and candidemia. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2013**; 57(9): 1237-45.
227. Clerc O, Prod'hom G, Vogne C, Bizzini A, Calandra T, Greub G. Impact of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry on the clinical management of patients with Gram-negative bacteremia: a prospective observational study. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2013**; 56(8): 1101-7.
228. Perez KK, Olsen RJ, Musick WL, et al. Integrating rapid diagnostics and antimicrobial stewardship improves outcomes in patients with antibiotic-resistant Gram-negative bacteremia. *The Journal of infection* **2014**; 69(3): 216-25.
229. Verroken A, Defourny L, le Polain de Waroux O, et al. Clinical Impact of MALDI-TOF MS Identification and Rapid Susceptibility Testing on Adequate Antimicrobial Treatment in Sepsis with Positive Blood Cultures. *PloS one* **2016**; 11(5): e0156299.
230. Lockwood AM, Perez KK, Musick WL, et al. Integrating Rapid Diagnostics and Antimicrobial Stewardship in Two Community Hospitals Improved Process Measures and Antibiotic Adjustment Time. *Infection control and hospital epidemiology* **2016**; 37(4): 425-32.

231. Osthoff M, Gürtler N, Bassetti S, et al. Impact of MALDI-TOF-MS-based identification directly from positive blood cultures on patient management: a controlled clinical trial. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2017**; 23(2): 78-85.
232. O'Donnell JN, Rhodes NJ, Miglis CM, et al. Impact of early antimicrobial stewardship intervention in patients with positive blood cultures: results from a randomized comparative study. *International journal of antimicrobial agents* **2022**; 59(2): 106490.
233. de la Pedrosa EG, Gimeno C, Soriano A, Cantón R. [Studies of the cost effectiveness of MALDI-TOF and clinical impact]. *Enfermedades infecciosas y microbiología clinica* **2016**; 34 Suppl 2: 47-52.
234. Banerjee R, Teng CB, Cunningham SA, et al. Randomized Trial of Rapid Multiplex Polymerase Chain Reaction-Based Blood Culture Identification and Susceptibility Testing. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2015**; 61(7): 1071-80.
235. Rule R, Paruk F, Becker P, Neuhoff M, Chausse J, Said M. Clinical utility of the BioFire FilmArray Blood Culture Identification panel in the adjustment of empiric antimicrobial therapy in the critically ill septic patient. *PloS one* **2021**; 16(7): e0254389.
236. Yarbrough ML, Wallace MA, Burnham CD. Comparison of Microorganism Detection and Time to Positivity in Pediatric and Standard Media from Three Major Commercial Continuously Monitored Blood Culture Systems. *Journal of clinical microbiology* **2021**; 59(7): e0042921.
237. Somily AM, Habib HA, Torchyan AA, et al. Time-to-detection of bacteria and yeast with the BACTEC FX versus BacT/Alert Virtuo blood culture systems. *Annals of Saudi medicine* **2018**; 38(3): 194-9.
238. Menchinelli G, Liotti FM, Fiori B, et al. In vitro Evaluation of BACT/ALERT® VIRTUO®, BACT/ALERT 3D®, and BACTEC™ FX Automated Blood Culture Systems for Detection of Microbial Pathogens Using Simulated Human Blood Samples. *Frontiers in microbiology* **2019**; 10: 221.
239. Li Z, Liu S, Chen H, et al. Comparative evaluation of BACTEC FX, BacT/ALERT 3D, and BacT/ALERT VIRTUO automated blood culture systems using simulated blood cultures. *Acta clinica Belgica* **2022**; 77(1): 71-8.
240. Park J, Han S, Shin S. Comparison of Growth Performance of the BacT/ALERT VIRTUO and BACTEC FX Blood Culture Systems Under Simulated Bloodstream Infection Conditions. *Clinical laboratory* **2017**; 63(1): 39-46.
241. Wilson ML, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP, Reimer LG. Recovery of clinically important microorganisms from the BacT/Alert blood culture system does not require testing for seven days. *Diagnostic microbiology and infectious disease* **1993**; 16(1): 31-4.
242. Baron EJ, Scott JD, Tompkins LS. Prolonged incubation and extensive subculturing do not increase recovery of clinically significant microorganisms from standard automated blood cultures. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2005**; 41(11): 1677-80.
243. Petti CA, Bhally HS, Weinstein MP, et al. Utility of extended blood culture incubation for isolation of *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, and

- Kingella organisms: a retrospective multicenter evaluation. *Journal of clinical microbiology* **2006**; 44(1): 257-9.
244. Brouqui P, Raoult D. Endocarditis due to rare and fastidious bacteria. *Clinical microbiology reviews* **2001**; 14(1): 177-207.
245. Sagi M, Neshet L, Yagupsky P. The Bactec FX Blood Culture System Detects *Brucella melitensis* Bacteremia in Adult Patients within the Routine 1-Week Incubation Period. *Journal of clinical microbiology* **2017**; 55(3): 942-6.
246. Yagupsky P, Morata P, Colmenero JD. Laboratory Diagnosis of Human Brucellosis. *Clinical microbiology reviews* **2019**; 33(1).
247. Fida M, Dylla BL, Sohail MR, Pritt BS, Schuetz AN, Patel R. Role of prolonged blood culture incubation in infective endocarditis diagnosis. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology **2019**; 38(1): 197-8.
248. Fihman V, Faury H, Moussafeur A, et al. Blood Cultures for the Diagnosis of Infective Endocarditis: What Is the Benefit of Prolonged Incubation? *Journal of clinical medicine* **2021**; 10(24).
249. Ransom EM, Alipour Z, Wallace MA, Burnham CA. Evaluation of Optimal Blood Culture Incubation Time To Maximize Clinically Relevant Results from a Contemporary Blood Culture Instrument and Media System. *Journal of clinical microbiology* **2021**; 59(3).
250. Bourbeau PP, Foltzer M. Routine incubation of BacT/ALERT FA and FN blood culture bottles for more than 3 days may not be necessary. *Journal of clinical microbiology* **2005**; 43(5): 2506-9.
251. Bourbeau PP, Pohlman JK. Three days of incubation may be sufficient for routine blood cultures with BacT/Alert FAN blood culture bottles. *Journal of clinical microbiology* **2001**; 39(6): 2079-82.
252. Doern GV, Brueggemann AB, Dunne WM, Jenkins SG, Halstead DC, McLaughlin JC. Four-day incubation period for blood culture bottles processed with the Difco ESP blood culture system. *Journal of clinical microbiology* **1997**; 35(5): 1290-2.
253. Hsieh YC, Chen HL, Lin SY, Chen TC, Lu PL. Short time to positivity of blood culture predicts mortality and septic shock in bacteremic patients: a systematic review and meta-analysis. *BMC infectious diseases* **2022**; 22(1): 142.
254. Marra AR, Edmond MB, Forbes BA, Wenzel RP, Bearman GM. Time to blood culture positivity as a predictor of clinical outcome of *Staphylococcus aureus* bloodstream infection. *Journal of clinical microbiology* **2006**; 44(4): 1342-6.
255. Hsu MS, Huang YT, Hsu HS, Liao CH. Sequential time to positivity of blood cultures can be a predictor of prognosis of patients with persistent *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Clinical microbiology and infection* : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases **2014**; 20(9): 892-8.
256. Chen Y, Huang X, Wu A, et al. Prognostic roles of time to positivity of blood cultures in patients with *Escherichia coli* bacteremia. *Epidemiology and infection* **2020**; 148: e101.

257. Cillóniz C, Ceccato A, de la Calle C, et al. Time to blood culture positivity as a predictor of clinical outcomes and severity in adults with bacteremic pneumococcal pneumonia. *PloS one* **2017**; *12*(8): e0182436.
258. Willmann M, Kuebart I, Vogel W, et al. Time to positivity as prognostic tool in patients with *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infection. *The Journal of infection* **2013**; *67*(5): 416-23.
259. Liao CH, Lai CC, Hsu MS, et al. Correlation between time to positivity of blood cultures with clinical presentation and outcomes in patients with *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia: prospective cohort study. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2009**; *15*(12): 1119-25.
260. Hamilton F, Evans R, Ghazal P, MacGowan A. Time to positivity in bloodstream infection is not a prognostic marker for mortality: analysis of a prospective multicentre randomized control trial. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2022**; *28*(1): 136.e7-e13.
261. Kim J, Gregson DB, Ross T, Laupland KB. Time to blood culture positivity in *Staphylococcus aureus* bacteremia: association with 30-day mortality. *The Journal of infection* **2010**; *61*(3): 197-204.
262. Nunes CZ, Marra AR, Edmond MB, da Silva Victor E, Pereira CA. Time to blood culture positivity as a predictor of clinical outcome in patients with *Candida albicans* bloodstream infection. *BMC infectious diseases* **2013**; *13*: 486.
263. Martínez JA, Pozo L, Almela M, et al. Microbial and clinical determinants of time-to-positivity in patients with bacteraemia. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2007**; *13*(7): 709-16.
264. Cobos-Triguero N, Zboromyrska Y, Morata L, et al. Time-to-positivity, type of culture media and oxidase test performed on positive blood culture vials to predict *Pseudomonas aeruginosa* in patients with Gram-negative bacilli bacteraemia. *Revista espanola de quimioterapia : publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia* **2017**; *30*(1): 9-13.
265. Siméon S, Le Moing V, Tubiana S, et al. Time to blood culture positivity: An independent predictor of infective endocarditis and mortality in patients with *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2019**; *25*(4): 481-8.
266. Oldberg K, Thorén R, Nilson B, Gilje P, Inghammar M, Rasmussen M. Short time to blood culture positivity in *Enterococcus faecalis* infective endocarditis. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* **2021**; *40*(8): 1657-64.
267. Huang L, Sun L, Yan Y. Time to positivity of blood culture is predictive for nosocomial infection and infectious endocarditis instead of other clinical characteristics and prognosis in *Acinetobacter baumannii* bloodstream infection. *The Journal of infection* **2014**; *68*(2): 198-200.

268. Krus D, Kahn F, Nilson B, Sunnerhagen T, Rasmussen M. Blood culture time to positivity in non- β -hemolytic streptococcal bacteremia as a predictor of infective endocarditis-a retrospective cohort study. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology **2022**; 41(2): 325-9.
269. Baddour LM, Epstein AE, Erickson CC, et al. Update on cardiovascular implantable electronic device infections and their management: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* **2010**; 121(3): 458-77.
270. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical infectious diseases* : an official publication of the Infectious Diseases Society of America **2016**; 62(4): e1-50.
271. Kuehl R, Morata L, Boeing C, et al. Defining persistent *Staphylococcus aureus* bacteraemia: secondary analysis of a prospective cohort study. *The Lancet Infectious diseases* **2020**; 20(12): 1409-17.
272. Zinkernagel AS, Zinkernagel MS, Elzi MV, et al. Significance of *Staphylococcus lugdunensis* bacteremia: report of 28 cases and review of the literature. *Infection* **2008**; 36(4): 314-21.
273. Siegrist EA, Wungwattana M, Azis L, Stogsdill P, Craig WY, Rokas KE. Limited Clinical Utility of Follow-up Blood Cultures in Patients With Streptococcal Bacteremia: An Opportunity for Blood Culture Stewardship. *Open forum infectious diseases* **2020**; 7(12): ofaa541.
274. Cogliati Dezza F, Curtolo A, Volpicelli L, Ceccarelli G, Oliva A, Venditti M. Are Follow-Up Blood Cultures Useful in the Antimicrobial Management of Gram Negative Bacteremia? A Reappraisal of Their Role Based on Current Knowledge. *Antibiotics (Basel, Switzerland)* **2020**; 9(12).
275. Canzoneri CN, Akhavan BJ, Tosur Z, Andrade PEA, Aisenberg GM. Follow-up Blood Cultures in Gram-Negative Bacteremia: Are They Needed? *Clinical infectious diseases* : an official publication of the Infectious Diseases Society of America **2017**; 65(11): 1776-9.
276. Wiggers JB, Xiong W, Daneman N. Sending repeat cultures: is there a role in the management of bacteremic episodes? (SCRIBE study). *BMC infectious diseases* **2016**; 16: 286.
277. Jung J, Song KH, Jun KI, et al. Predictive scoring models for persistent gram-negative bacteremia that reduce the need for follow-up blood cultures: a retrospective observational cohort study. *BMC infectious diseases* **2020**; 20(1): 680.
278. Kang CK, Kim ES, Song KH, et al. Can a routine follow-up blood culture be justified in *Klebsiella pneumoniae* bacteremia? A retrospective case-control study. *BMC infectious diseases* **2013**; 13: 365.
279. Shi H, Kang CI, Cho SY, Huh K, Chung DR, Peck KR. Follow-up blood cultures add little value in the management of bacteremic urinary tract infections. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology **2019**; 38(4): 695-702.

280. Giannella M, Pascale R, Pancaldi L, et al. Follow-up blood cultures are associated with improved outcome of patients with gram-negative bloodstream infections: retrospective observational cohort study. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2020**; 26(7): 897-903.
281. Maskarinec SA, Park LP, Ruffin F, et al. Positive follow-up blood cultures identify high mortality risk among patients with Gram-negative bacteraemia. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2020**; 26(7): 904-10.
282. Kim H, Seo H, Chung H, et al. Bedside risk prediction for positive follow-up blood culture in Gram-negative bacilli bacteremia: for whom is follow-up blood culture useful? *Infection* **2022**.
283. Fabre V, Amoah J, Cosgrove SE, Tamma PD. Antibiotic Therapy for *Pseudomonas aeruginosa* Bloodstream Infections: How Long Is Long Enough? *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2019**; 69(11): 2011-4.
284. Snyder SR, Favoretto AM, Baetz RA, et al. Effectiveness of practices to reduce blood culture contamination: a Laboratory Medicine Best Practices systematic review and meta-analysis. *Clinical biochemistry* **2012**; 45(13-14): 999-1011.
285. Falagas ME, Kazantzi MS, Bliziotis IA. Comparison of utility of blood cultures from intravascular catheters and peripheral veins: a systematic review and decision analysis. *Journal of medical microbiology* **2008**; 57(Pt 1): 1-8.
286. DesJardin JA, Falagas ME, Ruthazer R, et al. Clinical utility of blood cultures drawn from indwelling central venous catheters in hospitalized patients with cancer. *Annals of internal medicine* **1999**; 131(9): 641-7.
287. Chaves F, Garnacho-Montero J, Del Pozo JL, et al. Diagnosis and treatment of catheter-related bloodstream infection: Clinical guidelines of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology and (SEIMC) and the Spanish Society of Spanish Society of Intensive and Critical Care Medicine and Coronary Units (SEMICYUC). *Med Intensiva (Engl Ed)* **2018**; 42(1): 5-36.
288. Mermel LA, Allon M, Bouza E, et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2009**; 49(1): 1-45.
289. Guembe M, Rodríguez-Créixems M, Sánchez-Carrillo C, Pérez-Parra A, Martín-Rabadán P, Bouza E. How many lumens should be cultured in the conservative diagnosis of catheter-related bloodstream infections? *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2010**; 50(12): 1575-9.
290. Cuellar-Rodriguez J, Connor D, Murray P, Gea-Banacloche J. Discrepant results from sampling different lumens of multilumen catheters: the case for sampling all lumens. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* **2014**; 33(5): 831-5.
291. Herrera-Guerra AS, Garza-González E, Martínez-Resendez MF, Llaca-Díaz JM, Camacho-Ortiz A. Individual versus pooled multiple-lumen blood cultures for the

diagnosis of intravascular catheter-related infections. *American journal of infection control* **2015**; 43(7): 715-8.

292. Catton JA, Dobbins BM, Kite P, et al. In situ diagnosis of intravascular catheter-related bloodstream infection: a comparison of quantitative culture, differential time to positivity, and endoluminal brushing. *Critical care medicine* **2005**; 33(4): 787-91.

293. Bouza E, Alvarado N, Alcalá L, Pérez MJ, Rincón C, Muñoz P. A randomized and prospective study of 3 procedures for the diagnosis of catheter-related bloodstream infection without catheter withdrawal. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2007**; 44(6): 820-6.

294. Rijnders BJ, Verwaest C, Peetermans WE, et al. Difference in time to positivity of hub-blood versus nonhub-blood cultures is not useful for the diagnosis of catheter-related bloodstream infection in critically ill patients. *Critical care medicine* **2001**; 29(7): 1399-403.

295. Bouzidi H, Emirian A, Marty A, et al. Differential time to positivity of central and peripheral blood cultures is inaccurate for the diagnosis of *Staphylococcus aureus* long-term catheter-related sepsis. *The Journal of hospital infection* **2018**; 99(2): 192-9.

296. Orihuela-Martín J, Rodríguez-Núñez O, Morata L, et al. Performance of differential time to positivity as a routine diagnostic test for catheter-related bloodstream infections: a single-centre experience. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2020**; 26(3): 383.e1-e7.

297. Bouza E, Alcalá L, Muñoz P, Martín-Rabadán P, Guembe M, Rodríguez-Créixems M. Can microbiologists help to assess catheter involvement in candidaemic patients before removal? *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2013**; 19(2): E129-35.

298. Palencia Herrejón E, González Del Castillo J, Ramasco Rueda F, et al. [Consensus document for sepsis code implementation and development in the Community of Madrid]. *Revista española de quimioterapia : publicacion oficial de la Sociedad Española de Quimioterapia* **2019**; 32(4): 400-9.

299. Bunsow E, Vecchio MG, Sanchez C, Muñoz P, Burillo A, Bouza E. Improved Sepsis Alert With a Telephone Call From the Clinical Microbiology Laboratory: A Clinical Trial. *Medicine* **2015**; 94(39): e1454.

300. Cunney RJ, McNamara EB, Alansari N, Loo B, Smyth EG. The impact of blood culture reporting and clinical liaison on the empiric treatment of bacteraemia. *Journal of clinical pathology* **1997**; 50(12): 1010-2.

301. Bouza E, Sousa D, Muñoz P, Rodríguez-Créixems M, Fron C, Lechuz JG. Bloodstream infections: a trial of the impact of different methods of reporting positive blood culture results. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2004**; 39(8): 1161-9.

302. Forsblom E, Ruotsalainen E, Ollgren J, Järvinen A. Telephone consultation cannot replace bedside infectious disease consultation in the management of *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2013**; 56(4): 527-35.

303. Chu VH, Sexton DJ. Editorial commentary: telephone consultation for *Staphylococcus aureus* bacteremia: opening Pandora's box. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2013**; 56(4): 536-8.
304. Schechner V, Wulffhart L, Temkin E, et al. One-year mortality and years of potential life lost following bloodstream infection among adults: A nation-wide population based study. *The Lancet regional health Europe* **2022**; 23: 100511.
305. Alonso-Menchén D, Muñoz P, Sánchez-Carrillo C, Pérez-Latorre L, Bouza E. Unresolved issues in the epidemiology and diagnosis of bacteremia: an opinion paper. *Revista española de quimioterapia : publicación oficial de la Sociedad Española de Quimioterapia* **2022**.
306. Monticelli J, Di Bella S, Giacobbe DR, et al. Trends in the Incidence and Antibiotic Resistance of Enterococcal Bloodstream Isolates: A 7-Year Retrospective Multicenter Epidemiological Study in Italy. *Microbial drug resistance (Larchmont, NY)* **2021**; 27(4): 529-35.
307. Moberley S, Holden J, Tatham DP, Andrews RM. Vaccines for preventing pneumococcal infection in adults. *The Cochrane database of systematic reviews* **2013**; 2013(1): Cd000422.
308. Vacunación frente a neumococo en el adulto. Información para profesionales sanitarios. Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid. Disponible en: <https://www.comunidad.madrid/servicios/salud/vacunas-informacion-profesionales>. Visitado en enero 2024.
309. Martínez Pérez-Crespo PM, López-Cortés LE, Retamar-Gentil P, et al. Epidemiologic changes in bloodstream infections in Andalucía (Spain) during the last decade. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2021**; 27(2): 283.e9-.e16.
310. Hindy JR, Quintero-Martinez JA, Lahr BD, et al. Incidence of Monomicrobial *Staphylococcus aureus* Bacteremia: A Population-Based Study in Olmsted County, Minnesota-2006 to 2020. *Open forum infectious diseases* **2022**; 9(7): ofac190.
311. Ryan L, O'Mahony E, Wrenn C, et al. Epidemiology and molecular typing of VRE bloodstream isolates in an Irish tertiary care hospital. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* **2015**; 70(10): 2718-24.
312. Iacchini S, Sabbatucci M, Gagliotti C, et al. Bloodstream infections due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Italy: results from nationwide surveillance, 2014 to 2017. *Euro surveillance : bulletin Européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* **2019**; 24(5).
313. Encuesta de Prevalencia de infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria y uso de antimicrobianos en hospitales de agudos en España 2012-2021. Grupo de trabajo EPINE, **2022**.
314. Dantes RB, Abbo LM, Anderson D, et al. Hospital epidemiologists' and infection preventionists' opinions regarding hospital-onset bacteremia and fungemia as a potential healthcare-associated infection metric. *Infection control and hospital epidemiology* **2019**; 40(5): 536-40.
315. Zhu N, Rawson TM, Mookerjee S, et al. Changing patterns of bloodstream infections in the community and acute care across two COVID-19 epidemic waves: a

retrospective analysis using data linkage. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2021**.

316. DeVoe C, Segal MR, Wang L, et al. Increased rates of secondary bacterial infections, including *Enterococcus* bacteremia, in patients hospitalized with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Infection control and hospital epidemiology* **2022**; 43(10): 1416-23.

317. Giacobbe DR, Labate L, Tutino S, et al. Enterococcal bloodstream infections in critically ill patients with COVID-19: a case series. *Annals of medicine* **2021**; 53(1): 1779-86.

318. Lamers MM, Beumer J, van der Vaart J, et al. SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes. *Science (New York, NY)* **2020**; 369(6499): 50-4.

319. Muñoz P, Kestler M, De Alarcon A, et al. Current Epidemiology and Outcome of Infective Endocarditis: A Multicenter, Prospective, Cohort Study. *Medicine* **2015**; 94(43): e1816.

320. Nucifora G, Badano LP, Viale P, et al. Infective endocarditis in chronic haemodialysis patients: an increasing clinical challenge. *European heart journal* **2007**; 28(19): 2307-12.

321. Wunderink RG, Srinivasan A, Barie PS, et al. Antibiotic Stewardship in the Intensive Care Unit. An Official American Thoracic Society Workshop Report in Collaboration with the AACN, CHEST, CDC, and SCCM. *Annals of the American Thoracic Society* **2020**; 17(5): 531-40.

322. Banzon JM, Rehm SJ, Gordon SM, Hussain ST, Pettersson GB, Shrestha NK. *Propionibacterium acnes* endocarditis: a case series. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2017**; 23(6): 396-9.

323. Achermann Y, Goldstein EJ, Coenye T, Shirtliff ME. *Propionibacterium acnes*: from commensal to opportunistic biofilm-associated implant pathogen. *Clinical microbiology reviews* **2014**; 27(3): 419-40.

324. Corvec S. Clinical and Biological Features of *Cutibacterium* (Formerly *Propionibacterium*) *avidum*, an Underrecognized Microorganism. *Clinical microbiology reviews* **2018**; 31(3).

325. DeSimone DC, Sohail MR. Approach to Diagnosis of Cardiovascular Implantable-Electronic-Device Infection. *Journal of clinical microbiology* **2018**; 56(7).

326. Rentenaar RJ, Kusen SM, Riemens-van Zetten GMA, van Mourik MSM. Detection of Clinical *Cutibacterium acnes* Isolates in Different Becton Dickinson Blood Culture Vials. *Journal of clinical microbiology* **2018**; 56(1).

327. Rohacek M, Erne P, Kobza R, Pfyffer GE, Frei R, Weisser M. Infection of cardiovascular implantable electronic devices: detection with sonication, swab cultures, and blood cultures. *Pacing and clinical electrophysiology : PACE* **2015**; 38(2): 247-53.

328. Nagpal A, Patel R, Greenwood-Quaintance KE, et al. Usefulness of sonication of cardiovascular implantable electronic devices to enhance microbial detection. *The American journal of cardiology* **2015**; 115(7): 912-7.

329. Corvec S, Aubin GG, Bayston R, Ashraf W. Which is the best treatment for prosthetic joint infections due to *Propionibacterium acnes*: need for further biofilm in vitro and experimental foreign-body in vivo studies? *Acta orthopaedica* **2016**; 87(3): 318-9.
330. Beliaev AM, Ruygrok P, C JB, Haydock DA, Sibal AK. Heart transplantation for recurrent *Cutibacterium* (*Propionibacterium*) *acnes* prosthetic heart valve endocarditis. *ANZ journal of surgery* **2021**; 91(1-2): 196-7.
331. Wang A, Athan E, Pappas PA, et al. Contemporary clinical profile and outcome of prosthetic valve endocarditis. *Jama* **2007**; 297(12): 1354-61.
332. Kusumoto FM, Schoenfeld MH, Wilkoff BL, et al. 2017 HRS expert consensus statement on cardiovascular implantable electronic device lead management and extraction. *Heart rhythm* **2017**; 14(12): e503-e51.
333. Freedman M, Aflatooni JO, Foster R, Haggerty PG, Derber CJ. Persistent *Cutibacterium* (Formerly *Propionibacterium*) *acnes* Bacteremia and Refractory Endocarditis in a Patient with Retained Implantable Pacemaker Leads. *Case reports in infectious diseases* **2020**; 2020: 8883907.
334. Muñoz P, Bouza E, Marín M, et al. Heart valves should not be routinely cultured. *Journal of clinical microbiology* **2008**; 46(9): 2897-901.
335. Passalacqua KD, Charbonneau ME, O'Riordan MXD. Bacterial Metabolism Shapes the Host-Pathogen Interface. *Microbiology spectrum* **2016**; 4(3).
336. P. J. *Medical Microbiology*. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston. Chapter 4. Bacterial Metabolism., **1996**.
337. Garrido Ocaña ME. Tesis Doctoral. Caracterización de los sistemas de captación de hierro y zinc del patógeno animal *Pasteurella multocida*: Universitat Autònoma de Barcelona, **2005**.
338. Ratledge C, Dover LG. Iron metabolism in pathogenic bacteria. *Annual review of microbiology* **2000**; 54: 881-941.
339. Sato T, Yamawaki K. Cefiderocol: Discovery, Chemistry, and In Vivo Profiles of a Novel Siderophore Cephalosporin. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2019**; 69(Suppl 7): S538-s43.
340. Zvezdanova ME, Arroyo MJ, Méndez G, et al. Detection of azole resistance in *Aspergillus fumigatus* complex isolates using MALDI-TOF mass spectrometry. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2022**; 28(2): 260-6.
341. Candela A, Guerrero-López A, Mateos M, et al. Automatic Discrimination of Species within the *Enterobacter cloacae* Complex Using Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry and Supervised Algorithms. *Journal of clinical microbiology* **2023**; 61(4): e0104922.
342. Christner M, Rohde H, Wolters M, Sobottka I, Wegscheider K, Aepfelbacher M. Rapid identification of bacteria from positive blood culture bottles by use of matrix-assisted laser desorption-ionization time of flight mass spectrometry fingerprinting. *Journal of clinical microbiology* **2010**; 48(5): 1584-91.
343. Kondori N, Kurtovic A, Piñeiro-Iglesias B, et al. Mass Spectrometry Proteotyping-Based Detection and Identification of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and

- Candida albicans* in Blood. *Frontiers in cellular and infection microbiology* **2021**; *11*: 634215.
344. Florio W, Tavanti A, Barnini S, Ghelardi E, Lupetti A. Recent Advances and Ongoing Challenges in the Diagnosis of Microbial Infections by MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Frontiers in microbiology* **2018**; *9*: 1097.
345. Laupland KB. Defining the epidemiology of bloodstream infections: the 'gold standard' of population-based assessment. *Epidemiology and infection* **2013**; *141*(10): 2149-57.
346. Bin Abdulhak AA, Baddour LM, Erwin PJ, et al. Global and regional burden of infective endocarditis, 1990-2010: a systematic review of the literature. *Global heart* **2014**; *9*(1): 131-43.
347. Moreillon P, Que YA. Infective endocarditis. *Lancet (London, England)* **2004**; *363*(9403): 139-49.
348. Prendergast BD. The changing face of infective endocarditis. *Heart (British Cardiac Society)* **2006**; *92*(7): 879-85.
349. 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). *Europace : European pacing, arrhythmias, and cardiac electrophysiology : journal of the working groups on cardiac pacing, arrhythmias, and cardiac cellular electrophysiology of the European Society of Cardiology* **2016**; *18*(6): 836-41.
350. Mahieu R, Lemarié C, Douillet D, et al. Impact of a strategy based on unique blood culture sampling on contamination rate and detection of bloodstream infections in critically ill patients. *Annals of intensive care* **2023**; *13*(1): 13.
351. Ekwall-Larson A, Yu D, Dinnézt P, Nordqvist H, Özenci V. Single-Site Sampling versus Multisite Sampling for Blood Cultures: a Retrospective Clinical Study. *Journal of clinical microbiology* **2022**; *60*(2): e0193521.
352. Omrani AS, Abujarir SH, Ben Abid F, et al. Switch to oral antibiotics in Gram-negative bacteraemia: a randomized, open-label, clinical trial. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2023**.
353. Casado A, Gimeno A, Aguilar-Guisado M, et al. Safety of early oral ambulatory treatment of adult patients with bloodstream infections discharged from the emergency department. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **2023**; *67*(11): e0078023.
354. Pericà SJ, Llopis J, González-Ramallo V, et al. Outpatient Parenteral Antibiotic Treatment for Infective Endocarditis: A Prospective Cohort Study From the GAMES Cohort. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2019**; *69*(10): 1690-700.
355. Iversen K, Ihlemann N, Gill SU, et al. Partial Oral versus Intravenous Antibiotic Treatment of Endocarditis. *The New England journal of medicine* **2019**; *380*(5): 415-24.
356. Hidalgo-Tenorio C, Sadyrbaeva-Dolgova S, Enríquez-Gómez A, et al. EN-DALBACEN 2.0 Cohort: real-life study of dalbavancin as sequential/consolidation therapy in patients with infective endocarditis due to Gram-positive cocci. *International journal of antimicrobial agents* **2023**; *62*(3): 106918.

357. Le Bot A, Lecomte R, Gazeau P, et al. Is Rifampin Use Associated With Better Outcome in Staphylococcal Prosthetic Valve Endocarditis? A Multicenter Retrospective Study. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2021**; 72(9): e249-e55.
358. Shrestha NK, Shah SY, Wang H, et al. Rifampin for Surgically Treated Staphylococcal Infective Endocarditis: A Propensity Score-Adjusted Cohort Study. *The Annals of thoracic surgery* **2016**; 101(6): 2243-50.
359. O'Grady NP, Alexander M, Burns LA, et al. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2011**; 52(9): e162-93.
360. Buetti N, Marschall J, Drees M, et al. Strategies to prevent central line-associated bloodstream infections in acute-care hospitals: 2022 Update. *Infection control and hospital epidemiology* **2022**; 43(5): 553-69.
361. O'Grady NP. Prevention of Central Line-Associated Bloodstream Infections. *The New England journal of medicine* **2023**; 389(12): 1121-31.
362. Agarwal AK, Roy-Chaudhury P, Mounts P, Hurlburt E, Pfaffle A, Poggio EC. Taurolidine/Heparin Lock Solution and Catheter-Related Bloodstream Infection in Hemodialysis: A Randomized, Double-Blind, Active-Control, Phase 3 Study. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* **2023**; 18(11): 1446-55.
363. Yu KC, Patkar A. Hospital-onset bacteremia: clinical and regulatory ramifications. *Future microbiology* **2023**; 18: 1133-6.
364. Stack MA, Dbeibo L, Fadel W, Kelley K, Sadowski J, Beeler C. Etiology and utility of hospital-onset bacteremia as a safety metric for targeted harm reduction. *American journal of infection control* **2024**; 52(2): 195-9.
365. Miller LG, McKinnell JA, Singh RD, et al. Decolonization in Nursing Homes to Prevent Infection and Hospitalization. *The New England journal of medicine* **2023**; 389(19): 1766-77.
366. Department of Health and Human Services. National action plan to prevent health care-associated infections: road map to elimination. April 2013:194-239. Disponible en: [health.gov/sites/default/files/2019-09/hai-action-plan-ltcf.pdf](https://www.health.gov/sites/default/files/2019-09/hai-action-plan-ltcf.pdf) [consultado Febrero 2024].
367. Donner LM, Campbell WS, Lyden E, Van Schooneveld TC. Assessment of Rapid-Blood-Culture-Identification Result Interpretation and Antibiotic Prescribing Practices. *Journal of clinical microbiology* **2017**; 55(5): 1496-507.
368. Ellington MJ, Ekelund O, Aarestrup FM, et al. The role of whole genome sequencing in antimicrobial susceptibility testing of bacteria: report from the EUCAST Subcommittee. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2017**; 23(1): 2-22.
369. Besser J, Carleton HA, Gerner-Smidt P, Lindsey RL, Trees E. Next-generation sequencing technologies and their application to the study and control of bacterial infections. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2018**; 24(4): 335-41.
370. Udaondo Z, Jenjaroenpun P, Wongsurawat T, et al. Two Cases of Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* Bacteremia With Development of Daptomycin-Resistant

Phenotype and its Detection Using Oxford Nanopore Sequencing. *Open forum infectious diseases* **2020**; 7(6): ofaa180.

371. Mitchell SL, Simner PJ. Next-Generation Sequencing in Clinical Microbiology: Are We There Yet? *Clinics in laboratory medicine* **2019**; 39(3): 405-18.

372. Adams R, Henry KE, Sridharan A, et al. Prospective, multi-site study of patient outcomes after implementation of the TREWS machine learning-based early warning system for sepsis. *Nature medicine* **2022**; 28(7): 1455-60.

373. Perlin JB, Jackson E, Hall C, et al. 2019 John M. Eisenberg Patient Safety and Quality Awards: SPOTting Sepsis to Save Lives: A Nationwide Computer Algorithm for Early Detection of Sepsis: Innovation in Patient Safety and Quality at the National Level (Eisenberg Award). *Joint Commission journal on quality and patient safety* **2020**; 46(7): 381-91.

374. Henry KE, Adams R, Parent C, et al. Factors driving provider adoption of the TREWS machine learning-based early warning system and its effects on sepsis treatment timing. *Nature medicine* **2022**; 28(7): 1447-54.

375. Burkett BJ, Bartlett DJ, McGarrah PW, et al. A Review of Theranostics: Perspectives on Emerging Approaches and Clinical Advancements. *Radiology Imaging cancer* **2023**; 5(4): e220157.

376. Sartor O, de Bono J, Chi KN, et al. Lutetium-177-PSMA-617 for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *The New England journal of medicine* **2021**; 385(12): 1091-103.

377. Moreillon P, Que YA, Bayer AS. Pathogenesis of streptococcal and staphylococcal endocarditis. *Infectious disease clinics of North America* **2002**; 16(2): 297-318.

378. Han J, Poma A. Molecular Targets for Antibody-Based Anti-Biofilm Therapy in Infective Endocarditis. *Polymers* **2022**; 14(15).

379. Østergaard L, Pries-Heje MM, Hasselbalch RB, et al. Accelerated treatment of endocarditis-The POET II trial: Rationale and design of a randomized controlled trial. *American heart journal* **2020**; 227: 40-6.

380. Olmos C, Vilacosta I, López J, et al. Short-course antibiotic regimen compared to conventional antibiotic treatment for gram-positive cocci infective endocarditis: randomized clinical trial (SATIE). *BMC infectious diseases* **2020**; 20(1): 417.

381. Kortright KE, Chan BK, Koff JL, Turner PE. Phage Therapy: A Renewed Approach to Combat Antibiotic-Resistant Bacteria. *Cell host & microbe* **2019**; 25(2): 219-32.

382. Aslam S, Pretorius V, Lehman SM, Morales S, Schooley RT. Novel bacteriophage therapy for treatment of left ventricular assist device infection. *The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation* **2019**; 38(4): 475-6.

383. Gilbey T, Ho J, Cooley LA, Petrovic Fabijan A, Iredell JR. Adjunctive bacteriophage therapy for prosthetic valve endocarditis due to *Staphylococcus aureus*. *The Medical journal of Australia* **2019**; 211(3): 142-3.e1.

384. Theek B, Rizzo LY, Ehling J, Kiessling F, Lammers T. The Theranostic Path to Personalized Nanomedicine. *Clinical and translational imaging* **2014**; 2(1): 66-76.

VII. BIBLIOGRAFÍA

385. Boulware DR, Atukunda M, Kagimu E, et al. Oral Lipid Nanocrystal Amphotericin B for Cryptococcal Meningitis: A Randomized Clinical Trial. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **2023**; 77(12): 1659-67.
386. Blanco-Cabra N, Alcàcer-Almansa J, Admella J, Arévalo-Jaimes BV, Torrents E. Nanomedicine against biofilm infections: A roadmap of challenges and limitations. *Wiley interdisciplinary reviews Nanomedicine and nanobiotechnology* **2024**; 16(1): e1944.

VIII. ANEXOS

Los siguientes anexos incluyen la producción científica derivada de la realización de los estudios propuestos en el Objetivo 1, Objetivo 2 y Objetivo 3, y los certificados de presentación de trabajos derivados de estos objetivos en distintos congresos nacionales e internacionales.

1. **Anexo 1.** *Unresolved issues in the epidemiology and diagnosis of bacteremia: an opinion paper.*

Publicado en la *Revista Española de Quimioterapia* (Julio de 2022).

Autores: David Alonso-Menchén, Patricia Muñoz, Carlos Sánchez-Carrillo, Leire Pérez-Latorre, Emilio Bouza.

2. **Anexo 2.** *Bloodstream infections: trends and evolution of incidence and etiology in a 12-year period (2010-2021).*

Publicado en *Infectious Diseases* (Febrero de 2024).

Autores: David Alonso-Menchén, Carlos Sánchez-Carrillo, Luis Alcalá, Ana Soriano-Martín, Emilia Cercenado, Almudena Burillo, Julia Serrano-Lobo, Leire Pérez-Latorre, Patricia Muñoz, Emilio Bouza.

3. **Anexo 3.** *Non-nosocomial Healthcare-Associated Infective Endocarditis: A distinct Entity? Data from the GAMES Series (2008-2021).*

Publicado en *Open Forum Infectious Diseases* (Agosto de 2023).

Autores: David Alonso-Menchén, Emilio Bouza, Maricela Valerio, Arístides de Alarcón, Encarnación Gutiérrez-Carretero, José M. Miró, Miguel Ángel Goenaga-Sánchez, Antonio Plata-Ciézar, Claudia González-Rico, Luis Eduardo López-Cortés, M^a Ángeles Rodríguez Esteban, Francisco Javier Martínez-Marcos, Patricia Muñoz, en representación del resto de autores de GAMES.

Los estudios derivados del *Objetivo 4*, *Objetivo 5* y *Objetivo 6* se encuentran en trámite de publicación o profundizando en el análisis previo a su publicación:

- **Objetivo 4:** *Cutibacterium species valvular and cardiac device-related infective endocarditis: contemporary data from the GAMES prospective cohort (2008 – 2023)*

Autores: David Alonso-Menchén, Mercedes Marín-Arriaza, Miguel Villamarín, Nuria Fernández-Hidalgo, Juan Carlos López-Azor, Jorge Calderón-Parra, Estefanía Águila Fernández-Paniagua, Carmen Hidalgo-Tenorio, Aristides de Alarcón, Miguel Ángel Goenaga-Sánchez, María Ángeles Rodríguez-Esteban, Elisa García Vázquez, Sara Grillo, Emilio Bouza, y Patricia Muñoz, en representación del resto de autores de GAMES.

- **Objetivo 5:** *Análisis bioquímico de hemocultivos en pacientes con infección endovascular ¿Existen marcadores que puedan ayudar a predecir la positividad de los hemocultivos o el pronóstico de la infección? Estudio HEMOPROT-1.*

Autores: David Alonso Menchén, María Mercedes García Gámiz, Almudena Burillo, Patricia Muñoz, Emilio Bouza.

- **Objetivo 6:** *Identificación de hemocultivos positivos utilizando modelos predictivos basados en Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight mass spectrometry y Machine Learning. Estudio HEMOPROT-1.*

Autores: David Alonso-Menchén, Iris Sánchez-del Pozo, Mario Blázquez-Sánchez, Almudena Burillo, Patricia Muñoz, David Rodríguez-Temporal, Belén Rodríguez-Sánchez.

8.1 Anexo 1. Publicación Artículo 1.

Official journal
of the Spanish Society
of Chemotherapy

ISSN: 0214-3429 / ©The Author 2022. Published by Sociedad Española de Quimioterapia. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International [CC BY-NC 4.0] (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

Review

Revista Española de Quimioterapia
doi:10.37201/req/066.2022

David Alonso-Menchén^{1,2}
Patricia Muñoz^{1,2,3,4}
Carlos Sánchez-Carrillo^{1,2}
Leire Pérez-Latorre^{1,2,5}
Emilio Bouza^{1,2,3,4}

Unresolved issues in the epidemiology and diagnosis of bacteremia: an opinion paper

¹Department of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Hospital General Universitario Gregorio Marañón,
²Gregorio Marañón Health Research Institute
³Medicine Department, School of Medicine, Universidad Complutense de Madrid,
⁴CIBER Enfermedades Respiratorias-CIBERES (CIBERES CB06/06/0058), Madrid, Spain
⁵CIBER Enfermedades Infecciosas-CIBERINFEC, Madrid, Spain

Article history

Received: 6 July 2022; Revision Requested: 14 July 2022; Revision Received: 15 July 2022; Accepted: 20 July 2022;
Published: 28 July 2022

ABSTRACT

Bacteremia is an important cause of morbidity and mortality worldwide and, despite the diagnostic and therapeutic advances of the last decades, the evidence supporting many diagnostic aspects of bacteremia is scarce. Information on the epidemiological evolution of this entity is limited and many methodological aspects of blood culture collection and analysis are under discussion. Furthermore, the recommendations of the main scientific societies on many of these aspects are variable and, in many cases, have not been updated recently.

In this scenario, we have arranged a series of questions on different aspects of bacteremia and reviewed the literature trying to find proper answers for them. We offer our opinion on the topics where the evidence was weak.

The topics covered include epidemiological aspects of bacteremia, indications for blood culture extraction, methods for obtaining and incubating samples, or ways of transmitting results from the microbiology laboratory.

We do not intend to summarize the current clinical practice guidelines, nor will we deal with the therapeutic management of this entity. The aim of this paper is to review the current perspective on the diagnosis of bacteremia with a critical approach, to point out the gaps in the literature, to offer the opinion of a team dedicated to infectious diseases and clinical microbiology, and to identify some areas of knowledge on which future studies should focus.

Keywords: Bacteremia; bloodstream infection; endovascular infection; blood cultures; microbiological reporting.

Correspondence:
David Alonso Menchén, MD.
Clinical Microbiology and Infectious Diseases Department, Hospital General Universitario Gregorio Marañón.
Calle Doctor Esquerdo 46, 28007 Madrid, Spain.
E-mail: david.alonso@salud.madrid.org

Cuestiones no resueltas en la epidemiología y el diagnóstico de la bacteriemia: un documento de opinión

RESUMEN

La bacteriemia es una causa importante de morbilidad y mortalidad en todo el mundo y, a pesar de los avances diagnósticos y terapéuticos de las últimas décadas, la evidencia que apoya muchos aspectos diagnósticos suele ser escasa. La información sobre la evolución epidemiológica de esta entidad es limitada y muchos aspectos metodológicos sobre la obtención y análisis de hemocultivos están en discusión. Además, las recomendaciones de las principales sociedades científicas sobre muchos de estos aspectos son variables y, en muchos casos, no se han actualizado recientemente.

En este escenario, hemos preparado una serie de preguntas sobre diferentes aspectos de la bacteriemia y hemos revisado la literatura tratando de encontrar respuestas adecuadas para ellas. Ofrecemos nuestra opinión sobre los temas en los que la evidencia era débil.

Los temas tratados incluyen los aspectos epidemiológicos de la bacteriemia, las indicaciones para la extracción de hemocultivos, los métodos de obtención e incubación de muestras o las formas de transmisión de los resultados desde el laboratorio de microbiología.

No pretendemos resumir las guías de práctica clínica actuales, ni trataremos el manejo terapéutico de esta entidad. El objetivo de este trabajo es revisar la perspectiva actual sobre el diagnóstico de la bacteriemia con un enfoque crítico, señalar las carencias en la literatura, ofrecer la opinión de un equipo dedicado a las enfermedades infecciosas y a la microbiología clínica, e identificar algunas áreas de conocimiento en las que deberían centrarse futuros estudios.

Palabras clave: Bacteriemia, Infección del torrente circulatorio, Infección endovascular, Hemocultivos, Transmisión de resultados de microbiología.

INTRODUCTION

Bloodstream infection (BSI) is an entity with a high morbi-mortality worldwide. A study in Finland during 2004–2018, using data from national registries, identified a total of 173,715 BSIs with an annual incidence that increased from 150 to 309 cases/100,000 population, and a 1-month all-cause mortality rate of patients with BSI that rose from 20 to 39 deaths/100,000 population [1]. In addition, the increase of some multi-drug resistant (MDR) microorganisms causing bacteremia in recent years has become a public health concern [2].

Despite the great advances in alternative diagnostic methods of BSI in recent decades [3], blood culture remains the fundamental piece in the diagnostic approach to this entity.

However, many epidemiological and diagnostic aspects of bacteremia remain controversial. The information on the evolution of its incidence and etiology over the years is highly heterogeneous, studies show conflictive results on some key issues, and clinical guidelines offer little or no advice in some aspects of blood culture analysis.

In this scenario, we have reviewed the available literature on the diagnosis of bacteremia from a critical point of view, formulating a series of 15 questions that often arise in the evaluation of these patients. First, we analyzed the evidence about the evolution of the incidence, mortality and etiology of bacteremia. Then, we reviewed methodological aspects of blood culture analysis, including blood culture indications and various laboratory techniques, and some aspects of catheter-related bacteremia. Finally, we reviewed the information on the different methods of reporting blood cultures results from the Microbiology laboratory.

The following pages summarize the discussion and opinion on each of these questions by a team dedicated to Clinical Microbiology and Infectious Diseases.

1. HAS THE INCIDENCE OF BACTEREMIA CHANGED IN RECENT YEARS? HAS THE COVID-19 PANDEMIC HAD ANY IMPACT ON IT?

The incidence of bacteremia has been progressively increasing over the last 50 years, but current data do not give a clear idea of its more recent evolution. Information on the epidemiology of bacteremia in the last decade is very heterogeneous in the few population-based studies available, even more so when analyzing data at the institutional level, with numbers ranging from 101 to 309 episodes per 100,000 inhabitants/year [1,4] and between 1.3 to 15.4 episodes per 1,000 hospital admissions [5,6] (Table 1). In Spain, data ranging from 14.7 to 31.2 episodes per 1,000 admissions have been published [7, 8], and in our own institution, the mean number of bacteremic episodes has barely changed, from an average of 30.17 to 31.45 episodes per 1,000 admissions between 2002-2011 and 2012-2021, respectively (unpublished data). These numbers have not changed substantially in the last 10 years [9] with respect to data published in the previous decade [7,8,10].

Table 1 collects some of the data we have discussed [1,4-6, 1-18]. Moreover, very few studies compare the evolution with respect to previous studies in the same region or hospital [13, 19]. Therefore, there is a lack of evidence to be able to delineate a clear temporal trend in the incidence of bacteremia over the last decade.

For all these reasons, there is a need to carry out population-based studies with more recent data, studying the same regions analyzed and including the years of the pandemic, as well as to continue with institutional surveillance systems.

Information on the impact of COVID-19 on the incidence of bacteremia comes from single or multicenter cohorts. In general, low rates of bacteremia are reported in these patients, although very heterogeneous numbers ranging from 3 to 68% have been described, depending on the selected cohort [20-29]. The rate of bacteremia appears to increase in patients who have more severe disease and require ICU admission [22,23,30]. COVID-19 had a particular impact on catheter-related BSI (CR-BSI), which, after steadily decreasing in the pre-pandemic years [31-33], suffered an alarming 24% (and up to 50% in ICU) increase in incidence during the pandemic [34,35]. In our institution we observed an increase in CR-BSI from 1.89 to 5.53 episodes per 1,000 hospitalizations between 2019 and 2020 [36].

Conclusion:

We cannot establish that there is a clear increase or change of trend in the incidence of bacteremia in the last ten years. The COVID-19 pandemic could have caused an increase in episodes of bacteremia, fundamentally those originating in intravascular catheters.

2. HAS THE MORTALITY OF BACTEREMIA CHANGED IN RECENT YEARS?

Most of the available information on mortality rates has been extrapolated from multicenter cohorts, and the available population-based studies provide very disparate results (Table 1). This variability depends on multiple factors, such as the design of the studies, the population selected, the incidence of bacteremia, the causative microorganism, or the different definitions used (sepsis vs. bacteremia).

It has been estimated that mortality of patients with bacteremia reaches 250,000 deaths annually in North America and Europe combined [37]. According to the results of population-based studies published since 2010 (Table 1), the current global mortality rate for bacteremic episodes is approximately 21-32 deaths per 100,000 population, although the data are very heterogeneous [1,6,11,13,16,19]. These numbers are not very different from previous estimates [38-41].

The data are highly variable depending on the site of acquisition, with numbers ranging from 10-19% for community-onset bacteremia, to 17-28% for nosocomial-acquired episodes [6,7,11,42,43]. It reaches up to 35-50% in patients with septic shock or admitted to intensive care units [44-46].

Table 1		Estimated incidence of bacteremia and site of acquisition, according to population-based studies published since 2010.						
Reference	Period	Country	Overall incidence		Community acquired	Health-care related acquisition	Nosocomial acquisition	Mortality
			x100,000 inhabitants	x1,000 admissions				
Søgaard [11]	1992-2006	Denmark	114-166	-	45.1-53.3%	8.4-19.6%	35-38.4%	20.6-22.7% ^b
Wilson [12]	2004-2008	England	189	-	-	-	-	-
Skogberg [13]	2004-2007	Finland	159 (149-168)	-	-	-	-	13% ^b 20.8 (19.2-21.6) ^c
Laupland [4]	1998-2005	Canada	101.2	-	-	-	-	13% ^a
Nielsen [14]	2000-2008	Denmark	215.7 (198-254)	-	99 (x100,000 person-years)	50 (x100,000 person-years)	66.7 (x100,000 person-years)	-
Holmbom [6]	2000-2013	Sweden	169-265	9.4-15.4	67%	-	33%	12.8% ^b 10.6% CA-BSI ^b 17.2% HA-BSI ^b 142-205 ^d
Laupland [15]	2010-2015	Canada	117.8	-	48.6 (x100,000)	69.2 (x100,000)	-	10.6% ^a 12.7% HCA-BSI ^a 7.6% CA-BSI ^a
Mehl [16]	2002-2013	Norway	215	-	102 (x100,000 person-years)	85 (x100,000 person-years)	30 (x100,000 person-years)	32 ^c
Buetti [17]	2008-2014	Switzerland	220 (211-240)	-	-	-	-	-
Rhodes [5]	2007-2014	Thailand	110	1.3	89%	-	9.9%	-
Kontula [1]	2004-2018	Finland	216 (150-309)	-	29%	71%	-	13% ^b 28 ^c
Verway [18]	2017	Canada	150	-	17.1%	1.1%	81.8%	17% ^b

CA: community associated bloodstream infection. HCA: healthcare associated bloodstream infection. HA: hospital-acquired bloodstream infection. ^aIn-hospital case fatality rate, ^b30-day case fatality rate, ^cmortality per 100,000 person-years, ^dmortality per 100,000 admissions.

In the case of the elderly population, a 30-day mortality rate of 22% and an annual mortality of 133 per 100,000 inhabitants have been described [47]. A 19.5% mortality rate has been estimated in nursing-home populations in a study from Spain [43].

Conclusion:

Bacteremia-associated mortality remains significantly high, but there is no convincing evidence of an increase in the last ten years.

3. HAS THE ETIOLOGY OF BACTEREMIA CHANGED IN RECENT DECADES?

E. coli and *S. aureus* are the most frequent microorganisms

causing bacteremia [48, 49], with the incidence of *E. coli* [9] probably being higher nowadays (Table 2). The etiology varies according to the site of acquisition, such that *S. aureus* and *P. aeruginosa* are associated with the healthcare setting, whereas *S. pneumoniae* and *E. coli* are usually associated with community onset [9,43,48].

Although, according to epidemiological surveillance programs, there seems to be an increase in bacteremias caused by Gram-negative bacilli (GNB) in general and *E. coli* in particular [48,50,51], the available information is, again, very heterogeneous [11,13,43,48,51-54]. At our institution, between 2019-2021, the incidence of Gram-positive bacteremia has been reported to range between 13.8-17.2 episodes per 1,000 admissions, compared to 18.4-19.1 episodes per 1,000 admissions for GNB (unpublished data).

Table 2		Most relevant microorganisms in bacteremia according to population-based studies published since 2010		
Reference	Period	Country	Most frequent etiology (in order of frequency)	Comment
Søgaard [11]	1992-2006	Denmark	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i> <i>S. pneumoniae</i>	- Significant increase in urinary and intra-abdominal infection. - Rise in <i>E. coli</i> episodes. - No change in the prevalence of Gram-positive infections.
Wilson [12]	2004-2008	England	<i>E. coli</i> (23%) CNS (16.9%) <i>S. aureus</i> (11.4%)	- <i>E. coli</i> increased by 33% during this period. - Increase in bacteremia due to GNB. - Decrease of <i>S. aureus</i> .
Skogberg [13]	2004-2007	Finland	<i>E. coli</i> (27%) <i>S. aureus</i> (13%) <i>S. pneumoniae</i> (9%)	- No significant changes in trends in Gram-positive and Gram-negative infections. - Important gender-associated differences.
Laupland [4]	1998-2005	Canada	<i>E. coli</i> (32x105 patient-years) <i>S. aureus</i> (15.5x105 patient-years) <i>S. pneumoniae</i> (10.2x105 patient-years)	- Only evaluates community acquired bacteremia.
Nielsen [14]	2000-2008	Denmark	<i>E. coli</i> (28.3%) <i>S. aureus</i> (12.3%) CNS (10%) <i>S. pneumoniae</i> (9.1%)	- Decrease in CNS bacteremia. - Decrease in <i>E. coli</i> bacteremia - Increase of enterococcal bacteremia.
Holmbom [6]	2000-2013	Sweden	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i> CNS	- Increase of <i>E. coli</i> and <i>S. aureus</i> by 126% and 77%, respectively.
Laupland [15]	2010-2015	Canada	<i>E. coli</i> (37%) <i>S. aureus</i> (16%) <i>S. pneumoniae</i> (6%)	- Increase in bacteremias due to <i>Enterococcus</i> , <i>Pseudomonas</i> and enterobacteria other than <i>E. coli</i> - Decrease in episodes due to <i>S. viridans</i> in nosocomial acquired bacteremias.
Mehl [16]	2002-2013	Norway	<i>E. coli</i> <i>S. pneumoniae</i> <i>S. aureus</i>	- Increase in bacteremias due to GNB and <i>E. coli</i> . - Decrease in Gram-positive bacteremia.
Buetti [17]	2008-2014	Switzerland	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i> GNB (other than <i>E. coli</i>)	- Rise of bacteremias due to <i>E. coli</i> , GNB and enterococci. - Stable incidence of <i>S. aureus</i> .
Rhodes [5]	2007-2014	Thailand	Community-acquired: <i>E. coli</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>Burkholderia pseudomallei</i> Hospital-acquired: <i>E. coli</i> <i>Acinetobacter</i> spp. <i>K. pneumoniae</i>	- Performed in rural areas - Frequent isolation of ESBLs in <i>E. coli</i> and <i>Acinetobacter</i> spp. - No clear trend in MRSA
Kontula [1]	2004-2018	Finland	<i>E. coli</i> (29%) <i>S. aureus</i> (13%) CNS (8%), <i>Streptococcus B-hemolyticus</i> (8%) <i>S. pneumoniae</i>	- Significant increase in the incidence of bacteremia due to <i>E. coli</i> - Low proportion of BMR bacteremia, but with an upward trend, especially due to an increase in ESBL <i>E. coli</i> .
Verway [18]	2017	Canada	<i>E. coli</i> (26.9%) <i>S. aureus</i> (15.9%) CNS (9.2%) <i>Klebsiella</i> spp. (8.2%)	- No data on antibiotic susceptibilities to differentiate the burden of susceptible from resistant pathogens.

CNS: Coagulase-negative streptococci; GNB: Gram-negative bacilli; MRSA: Methicillin-resistant *S. aureus*.

The reduction in the incidence of *S. aureus* and *S. pneumoniae* can be attributed to prevention campaigns in hospitals and to the application of pneumococcal vaccines, respectively [48].

The evidence is more robust in terms of the evolution of resistance phenotypes, highlighting a stabilization or decline in the proportion of episodes caused by resistant Gram-positive pathogens, mainly methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) [48, 52, 55-57], and an increase in those caused by multidrug-resistant GNB (MDR-GNB) [48]. The increase of bacteremias produced by MDR-GNB coincides with the global expansion of ESBLs [58] and carbapenemases [59], with *Klebsiella pneumoniae* being the most frequent carbapenem-resistant Gram-negative bacteria causing bacteremia [60,61], although there is considerable geographical heterogeneity in the prevalence of these enzymes.

Conclusion:

E. coli seems to be the main cause of bacteremia at present, but current data do not allow to define a clear generalized change in the trend of Gram-positive and Gram-negative episodes. There is evidence pointing to a decrease in MRSA cases and a progressive increase in MDR-GNB, with differences according to the geographical area.

4. WHAT ARE THE FUNDAMENTAL INDICATIONS AND THE IDEAL TIME TO OBTAIN BLOOD CULTURES?

Although the diagnosis of bacteremia depends directly on the results of blood cultures, the information offered by guidelines regarding the indications for their extraction is very limited, with imprecise information that has not been reviewed recently [62] or without specific recommendations in this regard [63] (Table 3). Moreover, clinical variables that usually guide the indication of blood cultures, such as fever or the presence of leukocytosis, do not correctly predict

the presence of bacteremia in immunocompetent patients [64,65].

Different models that attempt to predict the presence of bacteremia have been proposed [66,67] (although they are not implemented in clinical practice nor are there currently data to evaluate their safety or cost-effectiveness [68]), as well as algorithms that propose the extraction of blood cultures according to the pretest probability of bacteremia [64,69], in an effort to obtain the maximum cost-effectiveness of the test.

In our opinion, it is not advisable to make a very restrictive use of blood cultures, given the critical importance of the diagnosis of bacteremia. Blood culture is an inexpensive, very specific and practically harmless test, patient's treatment and prognosis depend on its result, and it has epidemiological importance. We believe that the greater probability of obtaining false positive results can be overcome with a good extraction methodology, and that the associated costs are offset by the importance of the information provided by a positive result. Thus, we agree with the broader recommendations to obtain blood cultures of some societies [62,70], which also include the presence of fever, chills, hypothermia or sudden decay in neonates and the elderly or a clinical deterioration that justifies a hospital admission not justified by other causes.

The time of blood culture collection does not seem to be a decisive factor in its cost-effectiveness, which does not depend on its coincidence with fever spikes, which can occur within 1-2 hours of bacteremia [71,72]. Therefore, their extraction should not be postponed, especially in situations of sepsis. Although it is common to draw blood cultures with an arbitrary time separation of 10-30 minutes, Li et al. [73] did not observe increased performance when drawing blood cultures simultaneously or at different intervals over a 24-hour period. Unless attempting to document ongoing bacteremia for suspected endovascular infection, cultures can be drawn simultaneously [74].

Table 3		Specific indications for blood culture extraction in clinical guidelines.			
Reference	Fever or hypothermia	Leukocytosis or leukopenia	Neutropenia	Clinical deterioration	Extreme ages
SEIMC [70]	Yes	Yes	No	Yes	Yes
ASM Cumitech [62]	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
CLSI [74]	Yes	Yes	Yes	No	No
IDSA, ASM [63]	No specific recommendations				

SEIMC: Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology; ASM Cumitech: American Society for Microbiology Cumitech 1C, Blood Cultures IV; IDSA, ASM: Infectious Diseases Society of America, American Society for Microbiology; CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Conclusion:

The indications for obtaining blood cultures should be re-discussed and clarified by the scientific societies most concerned. We are not in favor of a restrictive use of blood cultures, nor do we believe that they should be limited to febrile episodes. Current predictive models are still based on speculation and not in the complex reality of daily clinical practice.

5. HOW MANY BLOOD CULTURES SHOULD BE TAKEN ROUTINELY AND WHAT VOLUME OF BLOOD SHOULD BE OBTAINED?

Assuming that a blood culture set is usually composed of two bottles per venipuncture (one for aerobic microorganisms and one for anaerobes), it is generally recommended that two to four sets be drawn, with at least 40-80mL of blood in total (i.e. 20-30mL of blood per set, with 10mL per bottle, depending on the manufacturer). Unfortunately, current guidelines are often not specific as to the volume and number of bottles that should comprise each set (Table 4) [62,63,70,74]. There is less evidence on the ideal volume to extract in the pediatric age, which depends on the age and weight of the patient [74,75].

Drawing enough volume of blood is the most important factor in improving the performance of blood cultures [76,77]. Since episodes of bacteremia have been documented with low concentrations of microorganisms (from 1-10 colony-forming units per milliliter) [78,79], there is evidence that the larger the volume of blood cultured, the higher the yield of the test [80-86], whose sensitivity can increase on the order of 3% per milliliter of cultured blood [87].

Despite its importance, it has been published that, in daily practice, up to 48% of blood cultures may have insufficient blood volume inoculated [88,89]. To determine whether sufficient volume has been drawn, visual analysis or weighing of bottles (before and after inoculation) in the laboratory [85,90] have been used, but these are tedious procedures. Therefore, tools based on different technologies have been developed to estimate the volume of cultured blood while incubating (BACTEC™ FX system, BacT/ALERT®VIRTUO™) with apparent good results [91-93]. However, these tools are currently poorly

implemented and their validity and clinical impact should be studied in depth [94].

Regarding the specific number of blood cultures, the extraction of a single set should be avoided in all cases because of its low sensitivity and potential difficulties in the interpretation of results. In a study analyzing the value of drawing three sets, the omission of the third set would result in missing up to 7.5% of bloodstream infections [95]. Therefore, in our institution, the standard of care is the extraction of three sets of blood cultures routinely. Drawing more than three sets of blood cultures is not usually necessary.

Conclusion:

In adults whose hemodynamic situation allows it, three sets of blood cultures should be drawn, ensuring the collection of at least 60mL of blood.

6. IN PATIENTS IN WHOM BLOOD CULTURES ARE TAKEN, IS THERE ANY EVIDENCE ON THE DIAGNOSTIC VALUE AND THE ABILITY TO ADVANCE THE DIAGNOSIS OF BACTEREMIA OF OTHER SAMPLES OBTAINED SIMULTANEOUSLY WITH BLOOD CULTURES?

There is practically no evidence on the simultaneous extraction of samples in parallel to blood cultures to try to predict a positive result, but it is very common to receive blood cultures and other samples in parallel in the laboratory. Since it is necessary to wait for the growth of microorganisms in blood cultures to guide antibiotic treatment, it is worth considering whether the information provided by those other biological samples could be used.

In our institution, rapid urine testing has been useful in patients with simultaneous referral of blood and urine samples to the laboratory [96]. Our data show that the presence in urine of microorganisms visible with a Gram stain doubles the possibility of having positive blood cultures in the next hours and could provide guidance on the etiology. In addition, there is evidence that in patients with bacteremic urinary tract infections in whom the same pathogen is isolated in both samples, urine culture susceptibility results correctly predict

Table 4 Recommendations on the number of blood cultures and volume of blood to be drawn in blood cultures.

Reference	Year	Recommended volume	Recommended number of blood cultures
ASM Cumitech [62]	2005	20-30 mL per set	2-4 sets
CLSI [74]	2022	20-30 mL per set	2-3 sets
SEIMC [70]	2017	10-20 mL per set	2-4 sets
IDSA [63]	2018	20-30 mL per set	2-4 sets

ASM Cumitech: American Society for Microbiology Cumitech 1C, Blood Cultures IV; CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute; SEIMC: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica; IDSA: Infectious Diseases Society of America.

blood culture results [97], allowing fast targeted antibiotic treatment. We couldn't find any studies analyzing other types of samples, which could help to identify and treat bacteremic infections sooner.

Conclusion:

There is a need for studies evaluating the contribution of a rapid examination of samples simultaneously submitted with blood cultures to microbiology departments.

7. COMPARED TO CONVENTIONAL BLOOD CULTURE IDENTIFICATION, IS THERE A POSITIVE CLINICAL IMPACT ASSOCIATED WITH THE USE OF MALDI-TOF AND OTHER RAPID TECHNIQUES?

Since the introduction of molecular and proteomic bacterial diagnostic methods, there is increasing evidence of the usefulness of these techniques. Rapid techniques (RTs) include tests such as PCR (polymerase chain reaction), MALDI-TOF MS (matrix-assisted laser desorption/ionization-time off light mass spectrometry) or PNA-FISH (peptide nucleic acid fluorescent in

situ hybridization), which provide results in less than 2 hours. These techniques allow shortening the time needed to identify microorganisms from sample receipt compared to conventional blood culture analysis [98]. In a meta-analysis of their clinical impact [99], RTs are associated with significant decreases in mortality in the presence of an antimicrobial stewardship (AMS) team, but not in its absence. In our opinion, although they pose an important benefit, their actual clinical impact and cost-effectiveness has not yet been analyzed in depth.

MALDI-TOF systems are one of the most widespread tools in recent years. Most evidence on the clinical impact of this procedure comes from retrospective observational studies, and few studies have a prospective design or use a comparator (Table 5) [100-107]. The potential benefit of this technique, including lower mortality [101,103], is associated with the existence of an AMS team in most cases. For complex patients, such as critically ill or immunosuppressed, the evidence of efficacy for these techniques is lower [108].

The use of molecular tests, such as those based on PCR panels, have also been shown to be useful in achieving a shorter time to appropriate treatment and to guide de-escalation strategies [109,110].

Reference	Year	Design	Result	Comment
Vlek [100]	February-April 2010	Prospective comparative study.	- Reduction of species identification time by 28.8 hours. - Increase of 11.3% in the proportion of patients with appropriate treatment.	- Does not evaluate mortality or cost-effectiveness
Huang [101]	September- November 2012	Pre-post quasi-experimental study.	- Integration of MALDI-TOF with AMS team reduces microorganism identification time and time to effective treatment. - Mortality, length of stay and recurrent bacteremia were lower in the intervention group.	- Integration with AMS team.
Clerc [102]	2010	Prospective, observational	- MALDI-TOF had an impact on 35% of Gram-negative bacteremia cases.	- Single arm. - Does not evaluate hospital stay, clinical impact or mortality.
Perez. [103]	2012-2013	Quasi-experimental study.	- Reduced time to optimal and effective treatment, shorter hospitalization time, lower mortality and estimated lower associated costs.	- Integration with AMS team.
Verroken [104]	2013-2014	Prospective comparative study with two sequential intervention periods.	- Reduced time to identification and time to optimal treatment	- Integration with AMS team.
Lockwood [105]	2014	Prospective comparative study.	- Reduced time to identification and time to optimal treatment	- Integration with AMS team.
Osthoff [106]	2014-2015	Prospective, open-label, controlled clinical trial	- Reduced treatment of contaminated blood cultures - Shorter time to active treatment and admission to ICU in intervention group	- Integration with AMS team.
O'Donnell [107]	2015	Pragmatic, controlled clinical trial	- Shorter time to definitive treatment, shorter antibiotic therapy and shorter hospital stay	- Integration with AMS team.

AMS: antimicrobial stewardship

Conclusion:

There is insufficient evidence on the clinical impact of routine use of MALDI-TOF and other RTs in patients with bacteremia. The benefit lies in the combination of the technique results and rapid expert information to the clinicians by a specialized team.

8. ARE THERE ANY AUTOMATED INCUBATION SYSTEMS FOR BLOOD CULTURES CLEARLY SUPERIOR TO OTHERS?

The introduction of automated incubation systems and continuous monitoring of blood cultures led to a significant improvement in the efficiency of these processes compared to manual methods. Currently, the most widely used systems are BacT/Alert® VIRTUO™, BD BACTEC™ FX and, to a lesser extent in Europe, VersaTREK, with some differences among them.

The only study that directly compares these three systems is by Yarbrough et al. [111], using simulations of blood cultures under standardized conditions with the same inoculum for all three systems, also comparing time to positivity (TTP) in different volumes and culture media. In this study, VIRTUO detected the main causes of bacteremia earlier, although it also showed a higher TTP for *B. fragilis* and failures in the detection of *K. kingae*.

Although most studies seem to reflect lower TTP with VIRTUO for most microorganisms [112-114], they are performed under standardized conditions, using simulations, and the results are not uniform [115].

Conclusion:

The clinical impact of the different automatic growth detection systems in blood cultures has not been adequately studied and their advantages and disadvantages are usually deduced from laboratory tests.

9. SHOULD BLOOD CULTURE INCUBATION BE MAINTAINED FOR FIVE DAYS BEFORE BEING DISCARDED?

With the evolution of automated blood culture systems, a five-day incubation period is now recommended for most commercial systems [62,74] and incubation for seven or more days is not necessary [116]. However, certain microorganisms, such as mycobacteria and dimorphic fungi, may require prolonging this period [63].

Although infective endocarditis guidelines [117,118] do not recommend a specific incubation time and suggest that detection of fastidious microorganisms, such as the HACEK group (*Haemophilus*, *Aggregatibacter*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, and *Kingella*) may require prolonging this period, there is evidence that these could be detected with a five-day period with current systems [119,120]. The information on incubation time for *Brucella* spp. is more heterogeneous [121-123], but it is currently assumed that the standard five-day period is sufficient.

The evidence is not favorable to extending the incubation period generally, although some authors propose lengthening this period in specific circumstances, such as men carrying prosthetic material at risk of *C. acnes* infection [124-126].

On the other hand, optimizing blood culture incubation time may be an important factor in avoiding unnecessary antimicrobial treatments, reducing laboratory workload, and improving antibiotic policies. In the study by Ransom et al. [127], a four-day period was sufficient to detect the vast majority of microorganisms, and only 0.11% of blood cultures were positive after four days of incubation. There is already some evidence in favor of reducing this period below five days [26,127-130], although it comes from retrospective studies using different culture systems and media, as reflected in Table 6.

Conclusion:

A five-day incubation period is sufficient to detect the vast majority of microorganisms, and only in individual cases should its extension be considered. In our opinion, there is insufficient data to recommend a reduction of the incubation time below five days at present.

10. CAN TIME TO POSITIVITY OF BLOOD CULTURES BE A PREDICTOR OF ETIOLOGY OR PROGNOSIS OF BACTEREMIA?

Time to positivity (TTP) is defined as the time from start of incubation to the detection of growth by an automated system, and it provides indirect information on the bacterial inoculum: theoretically, the higher the bacterial load, the higher the growth rate and the lower the TTP. Its main use at present is in the diagnosis of catheter-related bacteremia, and other potential uses of this determination are being investigated, as a marker of severity and predictor of the etiology of bacteremia, or to guide de-escalation treatments; but the evidence is currently contradictory and heterogeneous (Table 7).

A recent meta-analysis concludes that a short TTP is a prognostic marker associated with mortality and septic shock, applicable for most analyzed species except *Candida* spp., but it has substantial limitations [131]. Although there is evidence in favor of TTP being associated with worse prognosis in bacteremia due to *S. aureus* [132,133], *E. coli* [134], *S. pneumoniae* [135], *P. aeruginosa* [136], or *K. pneumoniae* [137], not all cases have been able to demonstrate this association between TTP and mortality [138]. Furthermore, a linear relationship is not always found, with a worse prognosis being described with both short and long TTP for *S. aureus* [139], and with long TTP for *C. albicans* [138,140].

A possible association between TTP and etiology has been described for *S. pneumoniae*, beta-hemolytic streptococci, *E. coli*, *Klebsiella* spp. and *S. aureus* [141], as well as for *P. aeruginosa* [142]. TTP has also been associated with the presence of endocarditis in cases of bacteremia by *S. aureus* [143], *E. faecalis* [144] and *A. baumannii* [145], but not by non-beta-hemolytic streptococci [146].

Table 6 Summary of a sample of studies proposing a reduction of the 5-day incubation time						
Reference	Year	Country	Design	System	Number of samples	Results and comments
Ransom [127]	2018-2019	United States	Retrospective	- BacT/Alert Virtuo (FA Plus and FN plus bottles)	158,710	- No benefit is observed in prolonging incubation longer than 4 days, including simulation with HACEK group.
Sepulveda [26]	January-March 2020	United States	Retrospective	- Bactec FX - VersaTrek	88,201	- No benefit is observed in prolonging incubation for more than 4 days, detecting 98% of microorganisms. - Conducted with a large proportion of COVID-19 patients, with a possible low proportion of bacteremia.
Bourbeau [128]	N/A (30 months)	United States	Retrospective	- BacT/Alert (FA and FN bottles)	35,500	- 3 days may be sufficient for detection of bacteria and fungi. - Use a specific type of media only.
Bourbeau [129]	N/A (18 months)	United States	Retrospective	- BacT/Alert (FAN bottles)	17,887	- 3 days may be sufficient for detection of bacteria and fungi. - Use a specific type of media only.
Doern [130]	1994-1995	United States	Retrospective	- Difco ESP	7,362	- No decrease in the detection of microorganisms is observed when decreasing to 4 days, except for <i>K. pneumoniae</i> .

Table 7 Representation of the heterogeneity of results and methodology of a selection of recent studies on the usefulness of time to blood culture positivity as a predictor of severity.				
Reference	Country	Type of study	Result	Comment
Hsieh [131]	Multinational	Meta-analysis	A short TTP was associated with higher mortality and septic shock in some bacterial species, but not in <i>Candida</i> spp.	- Notable biases, presence of heterogeneity, mixing of pediatric and adult populations, important confounding factors not assessed, meta-regression analysis not significant.
Hamilton [138]	United Kingdom	Prospective multicenter cohort study.	TTP not associated with mortality except in <i>Candida</i> spp. (elevated TTP) and possibly in streptococci.	- More methodological soundness than most studies (includes time to incubation). - Limitations: does not assess time to effective treatment, small samples in some groups.
Siméon [143],	France	Prospective multicenter cohort study.	A short TTP is related to mortality and to the presence of endocarditis in <i>S. aureus</i> bacteremia.	- Some limitations: small sample, blood culture systems used, does not analyze blood culture volume.
Kim [139]	Canada	Retrospective study	Elevated TTP is associated with mortality in <i>S. aureus</i> bacteremia.	- Some limitations: retrospective, does not have detailed clinical information, does not analyze foci of infection, does not analyze antibiotic treatment.
Oldberg [144]	Sweden	Retrospective observational study	No association was observed between TTP with mortality or the presence of endocarditis in <i>E. faecalis</i> bacteremia.	- Some limitations: retrospective study, transesophageal echocardiogram not performed in all patients, does not include patients under treatment, does not analyze blood culture volume.

TTP: time to positivity

The use of TTP has important limitations (such as different definitions of what is considered a short or long TTP) and is related to multiple confounding factors (such as the volume of blood drawn or the time between collection and start of incubation) that have not been analyzed in most studies. In

addition, variability of TTP depending on blood culture incubation systems has also been described [111]. The heterogeneity of the literature, as well as the absence of evidence on its real clinical impact, limit the use of TTP in daily clinical practice, although it is likely that it may be useful in the future.

Conclusion:

Currently, the use of TTP to predict severity and etiology of bacteremia is controversial, and it requires a careful evaluation.

11. IN WHICH CASES ARE FOLLOW-UP BLOOD CULTURES INDICATED AFTER INITIATING APPROPRIATE TREATMENT?

Follow-up blood cultures (FUBC) are recommended in cases of infective endocarditis (IE) [117,118] or endovascular infection (such as pacemaker infection, catheter infection or septic thrombophlebitis) [147], as well as candidemia [148] or bacteremia due to *S. aureus* or *S. lugdunensis*. Their extraction is also reasonable in other clinical circumstances, such as patients at high risk of endovascular infection, suspected central nervous system infection or in areas difficult to access for antimicrobials, or in the event of poor evolution despite appropriate treatment, among others.

In the case of Gram-positive microorganisms, there is evidence that justifies the extraction of FUBC in the presence of *S. aureus* bacteremia [149] due to its high virulence and capacity to produce persistent bacteremia. The same recommendations are made for *S. lugdunensis* [150]. Evidence for the rest of Gram-positives is scarce. FUBCs have limited utility in streptococcal bacteremia, and their collection should be limited in patients at low risk for deep infections, persistent bacteremia or endovascular infection [151].

The usefulness of FUBC in Gram-negative bacilli bacteremia has been evaluated in multiple studies recently [152], with very heterogeneous results. There are several cases where FUBC would have little value due to the low probability of obtaining positive cultures, which was estimated to range between 5-10.9% [153-155]. However, these studies have important limitations, including small heterogeneous populations [153,154], or assessing only episodes produced by *K. pneumoniae* [156] or bacteremias with urinary tract focus [157]. In contrast, in other studies the cost-effectiveness of FUBC reached 38.5% [158] and their collection was associated with lower mortality [158,159]. Some tools have been proposed to identify those patients with GNB bacteremia at higher risk in whom FUBC should be performed [155,159,160].

In some cases such as *Pseudomonas* spp., FUBC are usually negative if adequate focus control is obtained, but these are small series [161], and there is little evidence about their usefulness in bacteremia due to other microorganisms such as *Stenotrophomonas* or *Acinetobacter* [69].

Conclusion:

Follow-up blood cultures are recommended in bacteremia due to *S. aureus*, *S. lugdunensis*, and candidemia, or in cases of uncontrolled infection. In all other cases, the evidence is controversial.

12. IN PATIENTS WITH AN ENDOVASCULAR CATHETER AND NO CLINICAL SUSPICION OF CATHETER-RELATED BLOODSTREAM INFECTION, CAN BLOOD CULTURES BE DRAWN FROM THE CATHETER?

When obtaining blood cultures, it is recommended that blood should be drawn by direct venipuncture and extraction from the catheter should be avoided [70,77,162], unless catheter-associated infection is suspected. However, in clinical practice it is common to draw blood from the catheter in certain clinical scenarios (such as patients with poor peripheral venous access or with multiple episodes of blood collection), or to draw one set of blood cultures from the catheter and another from venipuncture, because it is a less difficult and uncomfortable process for the patient.

The recommendation not to obtain blood cultures from the catheter is based on the results of studies that point to higher false positive rates in blood cultures obtained from the catheter. In a systematic review and meta-analysis [162], all nine studies analyzed offer lower contamination rates with extraction via venipuncture.

In a systematic review of six studies [163], blood cultures obtained from the catheter have higher sensitivity and negative predictive value than those obtained by venipuncture, but also have lower specificity and positive predictive value. According to this study, out of 1,000 patients whose blood cultures are obtained from a catheter, 8 more cases of bacteremia would be detected than if they were obtained by venipuncture (103 versus 96), but 59 cases would also be incorrectly diagnosed (84 versus 25). Its higher sensitivity makes some authors consider obtaining at least one set of blood cultures from the catheter [163,164].

Conclusion:

Blood cultures should not be drawn from an endovascular catheter unless catheter-associated infection is suspected. Their extraction from the catheter in certain circumstances requires a very careful interpretation of results.

13. WHAT IS THE DIAGNOSTIC APPROACH IN PATIENTS WITH ENDOVASCULAR CATHETERS AND SUSPECTED CATHETER-RELATED BLOODSTREAM INFECTIONS (CR-BSI)?

In case of suspected CR-BSI, the latest SEIMC guidelines recommend obtaining at least two sets of blood cultures, one from peripheral venipuncture and one from the catheter, drawing blood from all lumens in case of multi-lumen catheters [165], while other guidelines do not specify this recommendation [166]. There are several studies that support obtaining blood from all catheter lumens [167,168], being equally effective the extraction from several lumens for the same culture as the extraction of a culture from each lumen [169]. In one of these studies, performed at our insti-

tution [167], if two cultures for triple-lumen catheters were eliminated, up to 37.3% of CR-BSI episodes would have been missed.

Indirect markers, such as differential time to positivity (TTP), or quantitative methods can be used to diagnose CR-BSI. Differential TTP has been implemented as the main diagnostic tool, and positivity of blood cultures obtained from a catheter 120 minutes or more apart from a culture obtained from peripheral puncture is highly suggestive of CR-BSI. The use of this cutoff point has a sensitivity and specificity of 72-96% and 90-95%, respectively [170,171]. However, there is uncertainty about its usefulness in critically ill patients [172] and in the case of certain microorganisms, such as *S. aureus* [173,174] or *Candida* spp. [175]. Therefore, the status of the host and the microorganism causing the infection must be considered, and a negative result does not exclude the diagnosis.

The reference quantitative methods are based on lysis-centrifugation procedures, being suggestive of CR-BSI if a 3-fold higher colony count is observed in the sample obtained from the catheter. Although it offers good results, it is a relatively complex and laborious technique, and it requires the sample to be processed in 20-30 minutes from blood inoculation [165], so its use is infrequent.

Conclusion:

If CR-BSI is suspected, blood culture collection from all catheter lumens should be taken in parallel with blood from peripheral veins. A differential TTP ≥ 120 minutes in blood cultures taken through the catheter lumen and peripheral veins is highly suggestive of catheter-related infection of bacterial etiology.

14. SHOULD A BLOOD CULTURE REQUEST CONSTITUTE A SEPSIS ALERT?

Prompt recognition of sepsis and early use of appropriate antibiotic therapy have been shown to reduce mortality from sepsis [176]. Assuming that a request for blood cultures implies a suspicion of bacteremia and a potential septic episode, it is pertinent to ask whether the simple request for blood cultures should in itself constitute a sepsis alert in an institution.

It is noteworthy that the literature is practically non-existent regarding the potential implied value of a blood culture request in itself. Currently, both clinical guidelines and current recommendations on the implementation of the sepsis code only recommend early blood culture collection [176,177].

We are only aware of one study analyzing this aspect [178]. In this prospective study, conducted at our institution, a telephone interview from the Microbiology department after receipt of blood cultures was generally well received and was associated with better recognition of sepsis, optimization of antimicrobial treatment and lower associated costs. We observed that medical and nursing staff outside the intensive care unit tend to underestimate the presence of sepsis, even if blood cultures have been requested.

In our opinion, not only should attention be paid to a positive blood culture result, but its request alone should be considered an alert for sepsis. Further studies are needed on the appropriateness of implementing a sepsis alert from the Microbiology Department upon receipt of a simple blood culture request.

Conclusion:

A request for blood cultures should constitute a sepsis alert. A phone call from the Microbiology Department can contribute to the better recognition and clinical management of sepsis.

15. WHAT IS THE BEST METHOD OF TRANSMITTING INFORMATION FROM THE MICROBIOLOGIST TO THE PHYSICIAN IN CHARGE OF THE PATIENT IN THE EVENT OF A POSITIVE BLOOD CULTURE RESULT?

Obtaining a positive blood culture result can have a major clinical impact. There are studies on the usefulness of the preliminary information provided by the Gram stain [179]. However, it is surprising that the best way to deliver this information has not been analyzed in depth.

In a clinical trial [180], communication of results through written reports in the patient's medical record, and oral communication at the bedside along with clinical advice, were significantly associated with a higher proportion of appropriate treatment days and lower economic costs with respect to simply issuing a report, although no associated shorter hospital stay or mortality could be demonstrated.

Although controversial and scarce, there is evidence in favor of a presential assessment by the infectious diseases specialist over a telephone assessment [181,182]. In our opinion, the person and method of transmitting blood culture results is also relevant. Although the ideal method probably involves active presential communication by an infectious disease specialist providing clinical support, studies directly comparing the clinical impact and cost-effectiveness of different procedures of communicating this information are lacking.

Given that each day of delay until definitive blood culture information is available is associated with an increase in mortality of 1.2 times per day [180], analyzing the clinical impact of different methods of transmitting information to optimize this process would influence the management of patients with bacteremia and should be considered an issue in future research.

Conclusion:

The limited evidence available suggests that there is a clinical benefit associated with the active communication of results of a positive blood culture, either orally or in writing, compared to only issuing a conventional report.

FUNDING

This research was supported by grants PI20/00575 from Fondo de Investigación Sanitaria (FIS; Instituto de Salud Carlos III. Plan Nacional de I+D+I 2017 to 2020). The study was cofounded by the European Regional Development Fund (FEDER) "A way of making Europe". DA (CM21/00274) is recipient of a Rio Hortega contract supported by FIS.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

- Kontula KSK, Skogberg K, Ollgren J, Järvinen A, Lyytikäinen O. Population-Based Study of Bloodstream Infection Incidence and Mortality Rates, Finland, 2004–2018. *Emerg Infect Dis.* 2021;27(10):2560–9. DOI: 10.3201/eid2710.204826
- Organization; WH. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report 2021.; 2021.
- She RC, Bender JM. Advances in Rapid Molecular Blood Culture Diagnostics: Healthcare Impact, Laboratory Implications, and Multiplex Technologies. *J Appl Lab Med.* 2019;3(4):617–30. DOI: 10.1373/jalm.2018.027409
- Laupland KB, Kibsey PC, Gregson DB, Galbraith JC. Population-based laboratory assessment of the burden of community-onset bloodstream infection in Victoria, Canada. *Epidemiol Infect.* 2013;141(1):174–80. DOI: 10.1017/S0950268812000428
- Rhodes J, Jorakate P, Makprasert S, Sangwichian O, Kaewpan A, Akarachotpong T, et al. Population-based bloodstream infection surveillance in rural Thailand, 2007–2014. *BMC Public Health.* 2019;19(Suppl 3):S21. DOI: 10.1186/s12889-019-6775-4
- Holmbom M, Giske CG, Fredrikson M, Östholm Balkhed Å, Claesson C, Nilsson LE, et al. 14-Year Survey in a Swedish County Reveals a Pronounced Increase in Bloodstream Infections (BSI). Comorbidity – An Independent Risk Factor for Both BSI and Mortality. *PLoS One.* 2016;11(11):e0166527. DOI: 10.1371/journal.pone.0166527
- Rodríguez-Baño J, López-Prieto MD, Portillo MM, Retamar P, Natera C, Nuño E, et al. Epidemiology and clinical features of community-acquired, healthcare-associated and nosocomial bloodstream infections in tertiary-care and community hospitals. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16(9):1408–13. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.03089.x
- Rodríguez-Crèixems M, Alcalá L, Muñoz P, Cercenado E, Vicente T, Bouza E. Bloodstream infections: evolution and trends in the microbiology workload, incidence, and etiology, 1985–2006. *Medicine (Baltimore).* 2008;87(4):234–49. DOI: 10.1097/MD.0b013e318182119b
- Kern WV, Rieg S. Burden of bacterial bloodstream infection—a brief update on epidemiology and significance of multidrug-resistant pathogens. *Clin Microbiol Infect.* 2020;26(2):151–7. DOI: 10.1016/j.cmi.2019.10.031
- Uslan DZ, Crane SJ, Steckelberg JM, Cockerill FR, 3rd, St Sauver JL, Wilson WR, et al. Age- and sex-associated trends in bloodstream infection: a population-based study in Olmsted County, Minnesota. *Arch Intern Med.* 2007;167(8):834–9. DOI: 10.1001/archinte.167.8.834
- Søgaard M, Nørgaard M, Dethlefsen C, Schönheyder HC. Temporal changes in the incidence and 30-day mortality associated with bacteremia in hospitalized patients from 1992 through 2006: a population-based cohort study. *Clin Infect Dis.* 2011;52(1):61–9. DOI: 10.1093/cid/ciq069
- Wilson J, Elgohari S, Livermore DM, Cookson B, Johnson A, Lamagni T, et al. Trends among pathogens reported as causing bacteraemia in England, 2004–2008. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(3):451–8. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2010.03262.x
- Skogberg K, Lyytikäinen O, Ollgren J, Nuorti JP, Ruutu P. Population-based burden of bloodstream infections in Finland. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(6):E170–6. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2012.03845.x
- Nielsen SL, Pedersen C, Jensen TG, Gradel KO, Kolmos HJ, Lassen AT. Decreasing incidence rates of bacteremia: a 9-year population-based study. *J Infect.* 2014;69(1):51–9. DOI: 10.1016/j.jinf.2014.01.014
- Laupland KB, Pasquill K, Parfitt EC, Naidu P, Steele L. Burden of community-onset bloodstream infections, Western Interior, British Columbia, Canada. *Epidemiol Infect.* 2016;144(11):2440–6. DOI: 10.1017/S0950268816000613
- Mehl A, Åsvold BO, Lydersen S, Paulsen J, Solligård E, Damås JK, et al. Burden of bloodstream infection in an area of Mid-Norway 2002–2013: a prospective population-based observational study. *BMC Infect Dis.* 2017;17(1):205. DOI: 10.1186/s12879-017-2291-2
- Buetti N, Atkinson A, Marschall J, Kronenberg A. Incidence of bloodstream infections: a nationwide surveillance of acute care hospitals in Switzerland 2008–2014. *BMJ Open.* 2017;7(3):e013665. DOI: 10.1136/bmjopen-2016-013665
- Verway M, Brown KA, Marchand-Austin A, Diong C, Lee S, Langford B, et al. Prevalence and Mortality Associated with Bloodstream Organisms: a Population-Wide Retrospective Cohort Study. *J Clin Microbiol.* 2022:e0242921. DOI: 10.1128/jcm.02429-21
- Holmbom M, Möller V, Nilsson LE, Giske CG, Rashid MU, Fredrikson M, et al. Low incidence of antibiotic-resistant bacteria in south-east Sweden: An epidemiologic study on 9268 cases of bloodstream infection. *PLoS One.* 2020;15(3):e0230501. DOI: 10.1371/journal.pone.0230501
- Soriano MC, Vaquero C, Ortiz-Fernández A, Caballero A, Blandino-Ortiz A, de Pablo R. Low incidence of co-infection, but high incidence of ICU-acquired infections in critically ill patients with COVID-19. *J Infect.* 2021;82(2):e20–e1. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.09.010
- DeVoe C, Segal MR, Wang L, Stanley K, Madera S, Fan J, et al. Increased rates of secondary bacterial infections, including *Enterococcus* bacteremia, in patients hospitalized with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2021:1–8. DOI: 10.1017/ice.2021.391
- Bonazzetti C, Morena V, Giacomelli A, Oreni L, Casalini G, Gal-

- imberti LR, et al. Unexpectedly High Frequency of Enterococcal Bloodstream Infections in Coronavirus Disease 2019 Patients Admitted to an Italian ICU: An Observational Study. *Crit Care Med*. 2021;49(1):e31-e40. DOI: 10.1097/ccm.0000000000004748
23. Kokkoris S, Papachatzakis I, Gavrielatou E, Ntaidou T, Ischaki E, Malachias S, et al. ICU-acquired bloodstream infections in critically ill patients with COVID-19. *J Hosp Infect*. 2021;107:95-7. DOI: 10.1016/j.jhin.2020.11.009
 24. Garcia-Vidal C, Sanjuan G, Moreno-Garcia E, Puerta-Alcalde P, Garcia-Pouton N, Chumbita M, et al. Incidence of co-infections and superinfections in hospitalized patients with COVID-19: a retrospective cohort study. *Clin Microbiol Infect*. 2021;27(1):83-8. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.07.041
 25. Hughes S, Troise O, Donaldson H, Mughal N, Moore LSP. Bacterial and fungal coinfection among hospitalized patients with COVID-19: a retrospective cohort study in a UK secondary-care setting. *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(10):1395-9. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.06.025
 26. Sepulveda J, Westblade LF, Whittier S, Satlin MJ, Greendyke WG, Aaron JG, et al. Bacteremia and Blood Culture Utilization during COVID-19 Surge in New York City. *J Clin Microbiol*. 2020;58(8). DOI: 10.1128/jcm.00875-20
 27. Giacobbe DR, Battagliani D, Ball L, Brunetti I, Bruzzone B, Codda G, et al. Bloodstream infections in critically ill patients with COVID-19. *Eur J Clin Invest*. 2020;50(10):e13319. DOI: 10.1111/eci.13319
 28. Engsbro AL, Israelsen SB, Pedersen M, Tingsgaard S, Lisby G, Andersen C, et al. Predominance of hospital-acquired bloodstream infection in patients with Covid-19 pneumonia. *Infect Dis (Lond)*. 2020;52(12):919-22. DOI: 10.1080/23744235.2020.1802062
 29. Cataldo MA, Tetaj N, Selleri M, Marchioni L, Capone A, Caraffa E, et al. Incidence of bacterial and fungal bloodstream infections in COVID-19 patients in intensive care: An alarming "collateral effect". *J Glob Antimicrob Resist*. 2020;23:290-1. DOI: 10.1016/j.jgar.2020.10.004
 30. Goyal P, Choi JJ, Pinheiro LC, Schenck EJ, Chen R, Jabri A, et al. Clinical Characteristics of Covid-19 in New York City. *N Engl J Med*. 2020;382(24):2372-4. DOI: 10.1056/NEJMc2010419
 31. Rupp ME, Karnatak R. Intravascular Catheter-Related Bloodstream Infections. *Infect Dis Clin North Am*. 2018;32(4):765-87. DOI: 10.1016/j.idc.2018.06.002
 32. Centers for Disease Control and Prevention. 2019 National and State Healthcare-Associated Infections Progress Report. 2019. [cited 27 May 2022]. Available from: <https://www.cdc.gov/hai/data/archive/archive.html>
 33. European Centre for Disease Prevention and Control. Healthcare-associated infections acquired in intensive care units. ECDC Annual epidemiological report for 2017 Stockholm: ECDC; 2019. [cited 27 May 2022]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data>
 34. Centers for Disease Control and Prevention. 2020 National and State Healthcare-Associated Infections Progress Report. 2020. [cited 27 May 2022]. Available from: <https://www.cdc.gov/hai/data/archive/archive.html>
 35. ENVIN COVID. Estudio nacional de vigilancia de infección nosocomial en servicios de medicina intensiva. Oleada 2. Informe 2020. [cited 27 May 2022]. Available at: <https://semicyuc.org/envin/>
 36. Pérez-Granda MJ, Carrillo CS, Rabadán PM, Valerio M, Olmedo M, Muñoz P, et al. Increase in the frequency of catheter-related bloodstream infections during the COVID-19 pandemic: a plea for control. *J Hosp Infect*. 2022;119:149-54. DOI: 10.1016/j.jhin.2021.09.020
 37. Goto M, Al-Hasan MN. Overall burden of bloodstream infection and nosocomial bloodstream infection in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19(6):501-9. DOI: 10.1111/1469-0691.12195
 38. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med*. 2003;348(16):1546-54. DOI: 10.1056/NEJMoa022139
 39. Diekema DJ, Beekmann SE, Chapin KC, Morel KA, Munson E, Doern GV. Epidemiology and outcome of nosocomial and community-onset bloodstream infection. *J Clin Microbiol*. 2003;41(8):3655-60. DOI: 10.1128/jcm.41.8.3655-3660.2003
 40. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis*. 2004;39(3):309-17. DOI: 10.1086/421946
 41. Bearman GM, Wenzel RP. Bacteremias: a leading cause of death. *Arch Med Res*. 2005;36(6):646-59. DOI: 10.1016/j.arcmed.2005.02.005
 42. Lenz R, Leal JR, Church DL, Gregson DB, Ross T, Laupland KB. The distinct category of healthcare associated bloodstream infections. *BMC Infect Dis*. 2012;12:85. DOI: 10.1186/1471-2334-12-85
 43. Pérez-Crespo PMM, Lanz-García JF, Bravo-Ferrer J, Cantón-Bulnes ML, Sousa Dominguez A, Goikoetxea Aguirre J, et al. Revisiting the epidemiology of bloodstream infections and healthcare-associated episodes: results from a multicentre prospective cohort in Spain (PRO-BAC Study). *Int J Antimicrob Agents*. 2021;58(1):106352. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2021.106352
 44. Prowle JR, Echeverri JE, Ligabo EV, Sherry N, Taori GC, Crozier TM, et al. Acquired bloodstream infection in the intensive care unit: incidence and attributable mortality. *Crit Care*. 2011;15(2):R100. DOI: 10.1186/cc10114
 45. Timsit JF, Laupland KB. Update on bloodstream infections in ICUs. *Curr Opin Crit Care*. 2012;18(5):479-86. DOI: 10.1097/MCC.0b013e328356cfe6
 46. Wang YC, Shih SM, Chen YT, Hsiung CA, Kuo SC. Clinical and economic impact of intensive care unit-acquired bloodstream infections in Taiwan: a nationwide population-based retrospective cohort study. *BMJ Open*. 2020;10(11):e037484. DOI: 10.1136/bmjopen-2020-037484
 47. Laupland KB, Pasquill K, Steele L, Parfitt EC. Burden of bloodstream infection in older persons: a population-based study. *BMC Geriatr*. 2021;21(1):31. DOI: 10.1186/s12877-020-01984-z
 48. Diekema DJ, Hsueh PR, Mendes RE, Pfaller MA, Rolston KV, Sadler HS, et al. The Microbiology of Bloodstream Infection: 20-Year Trends from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Anti-*

- microb Agents Chemother. 2019;63(7). DOI: 10.1128/aac.00355-19
49. Laupland KB, Church DL. Population-based epidemiology and microbiology of community-onset bloodstream infections. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27(4):647-64. DOI: 10.1128/cmr.00002-14
 50. de Kraker ME, Jarlier V, Monen JC, Heuer OE, van de Sande N, Grundmann H. The changing epidemiology of bacteraemias in Europe: trends from the European Antimicrobial Resistance Surveillance System. *Clin Microbiol Infect.* 2013;19(9):860-8. DOI: 10.1111/1469-0691.12028
 51. Douglas NM, Hennessy JN, Currie BJ, Baird RW. Trends in Bacteremia Over 2 Decades in the Top End of the Northern Territory of Australia. *Open Forum Infect Dis.* 2020;7(11):ofaa472. DOI: 10.1093/ofid/ofaa472
 52. Gagliotti C, Högberg LD, Billström H, Eckmanns T, Giske CG, Heuer OE, et al. Staphylococcus aureus bloodstream infections: diverging trends of methicillin-resistant and methicillin-susceptible isolates, EU/EEA, 2005 to 2018. *Euro Surveill.* 2021;26(46). DOI: 10.2807/1560-7917.es.2021.26.46.2002094
 53. Asgeirsson H, Gudlaugsson O, Kristinsson KG, Heiddal S, Kristjansson M. Staphylococcus aureus bacteraemia in Iceland, 1995-2008: changing incidence and mortality. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(4):513-8. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2010.03265.x
 54. Thorlacius-Ussing L, Sandholdt H, Larsen AR, Petersen A, Benfield T. Age-Dependent Increase in Incidence of Staphylococcus aureus Bacteremia, Denmark, 2008-2015. *Emerg Infect Dis.* 2019;25(5):875-82. DOI: 10.3201/eid2505.181733
 55. Burton DC, Edwards JR, Horan TC, Jernigan JA, Fridkin SK. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus central line-associated bloodstream infections in US intensive care units, 1997-2007. *Jama.* 2009;301(7):727-36. DOI: 10.1001/jama.2009.153
 56. Anderson DJ, Moehring RW, Sloane R, Schmadler KE, Weber DJ, Fowler VG, Jr., et al. Bloodstream infections in community hospitals in the 21st century: a multicenter cohort study. *PLoS One.* 2014;9(3):e91713. DOI: 10.1371/journal.pone.0091713
 57. Jokinen E, Laine J, Huttunen R, Lyytikäinen O, Vuento R, Vuopio J, et al. Trends in incidence and resistance patterns of Staphylococcus aureus bacteremia(). *Infect Dis (Lond).* 2018;50(1):52-8. DOI: 10.1080/23744235.2017.1405276
 58. McDanel J, Schweizer M, Crabb V, Nelson R, Samore M, Khader K, et al. Incidence of Extended-Spectrum β -Lactamase (ESBL)-Producing Escherichia coli and Klebsiella Infections in the United States: A Systematic Literature Review. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2017;38(10):1209-15. DOI: 10.1017/ice.2017.156
 59. Tängdén T, Giske CG. Global dissemination of extensively drug-resistant carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: clinical perspectives on detection, treatment and infection control. *J Intern Med.* 2015;277(5):501-12. DOI: 10.1111/joim.12342
 60. De Angelis G, Fiori B, Menchinelli G, D'Inzeo T, Liotti FM, Morandotti GA, et al. Incidence and antimicrobial resistance trends in bloodstream infections caused by ESKAPE and Escherichia coli at a large teaching hospital in Rome, a 9-year analysis (2007-2015). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2018;37(9):1627-36. DOI: 10.1007/s10096-018-3292-9
 61. Satlin MJ, Chen L, Patel G, Gomez-Simmonds A, Weston G, Kim AC, et al. Multicenter Clinical and Molecular Epidemiological Analysis of Bacteremia Due to Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae (CRE) in the CRE Epicenter of the United States. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(4). DOI: 10.1128/aac.02349-16
 62. Baron EJ, Weinstein MP, Dunne MW, Yagupsky P, Welch DF, Wilson DM. *Cumitech 1C, Blood Cultures IV.* ASM Press, Washington, DC. 2005.
 63. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll KC, Chapin KC, Gilligan PH, et al. *A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology.* *Clin Infect Dis.* 2018;67(6):813-6. DOI: 10.1093/cid/ciy584
 64. Coburn B, Morris AM, Tomlinson G, Detsky AS. Does this adult patient with suspected bacteremia require blood cultures? *Jama.* 2012;308(5):502-11. DOI: 10.1001/jama.2012.8262
 65. Seigel TA, Cocchi MN, Saliccioli J, Shapiro NI, Howell M, Tang A, et al. Inadequacy of temperature and white blood cell count in predicting bacteremia in patients with suspected infection. *J Emerg Med.* 2012;42(3):254-9. DOI: 10.1016/j.jemermed.2010.05.038
 66. Eliakim-Raz N, Bates DW, Leibovici L. Predicting bacteraemia in validated models—a systematic review. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21(4):295-301. DOI: 10.1016/j.cmi.2015.01.023
 67. Julián-Jiménez A, Iqbal-Mirza SZ, de Rafael González E, Estévez-González R, Serrano-Romero de Ávila V, Heredero-Gálvez E, et al. Predicting bacteremia in patients attended for infections in an emergency department: the 5MPB-Toledo model. *Emergencias.* 2020;32(2):81-9.
 68. Gentil PR. Predicting bacteremia in the Emergency Room: Why and how. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2021.12.011>
 69. Fabre V, Sharara SL, Salinas AB, Carroll KC, Desai S, Cosgrove SE. Does This Patient Need Blood Cultures? A Scoping Review of Indications for Blood Cultures in Adult Nonneutropenic Inpatients. *Clin Infect Dis.* 2020;71(5):1339-47. DOI: 10.1093/cid/ciaa039
 70. Rodríguez Díaz JC, Guna Serrano M, Larrosa Escartin N, Marín Arriaza M. *Diagnóstico microbiológico de la bacteriemia y la fungemia: hemocultivos y métodos moleculares.* 2017. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2017.
 71. Riedel S, Bourbeau P, Swartz B, Brecher S, Carroll KC, Stamper PD, et al. Timing of specimen collection for blood cultures from febrile patients with bacteremia. *J Clin Microbiol.* 2008;46(4):1381-5. DOI: 10.1128/jcm.02033-07
 72. Bennett IL, Jr., Beeson PB. Bacteremia: a consideration of some experimental and clinical aspects. *Yale J Biol Med.* 1954;26(4):241-62. PMC2599470
 73. Li J, Plorde JJ, Carlson LG. Effects of volume and periodicity on blood cultures. *J Clin Microbiol.* 1994;32(11):2829-31. DOI: 10.1128/jcm.32.11.2829-2831.1994
 74. Institute CaLS. CLSI. *Principles and Procedures for Blood Cultures.* 2nd ed. CLSI guideline M47. 2022.
 75. Huber S, Hetzer B, Crazzolaro R, Orth-Höller D. The correct blood volume for paediatric blood cultures: a conundrum? *Clin Microbiol*

- Infect. 2020;26(2):168-73. DOI: 10.1016/j.cmi.2019.10.006
76. Riedel S, Carroll KC. Blood cultures: key elements for best practices and future directions. *J Infect Chemother*. 2010;16(5):301-16. DOI: 10.1007/s10156-010-0069-1
 77. Garcia RA, Spitzer ED, Beaudry J, Beck C, Diblasi R, Gilleeny-Blabac M, et al. Multidisciplinary team review of best practices for collection and handling of blood cultures to determine effective interventions for increasing the yield of true-positive bacteremias, reducing contamination, and eliminating false-positive central line-associated bloodstream infections. *Am J Infect Control*. 2015;43(11):1222-37. DOI: 10.1016/j.ajic.2015.06.030
 78. Kreger BE, Craven DE, Carling PC, McCabe WR. Gram-negative bacteremia. III. Reassessment of etiology, epidemiology and ecology in 612 patients. *Am J Med*. 1980;68(3):332-43. DOI: 10.1016/0002-9343(80)90101-1
 79. Henry NK, McLimans CA, Wright AJ, Thompson RL, Wilson WR, Washington JA, 2nd. Microbiological and clinical evaluation of the isolator lysis-centrifugation blood culture tube. *J Clin Microbiol*. 1983;17(5):864-9. DOI: 10.1128/jcm.17.5.864-869.1983
 80. Washington JA, 2nd. Blood cultures: principles and techniques. *Mayo Clin Proc*. 1975;50(2):91-8.
 81. Weinstein MP, Murphy JR, Reller LB, Lichtenstein KA. The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. II. Clinical observations, with special reference to factors influencing prognosis. *Rev Infect Dis*. 1983;5(1):54-70. DOI: 10.1093/clinids/5.1.54
 82. Jonsson B, Nyberg A, Henning C. Theoretical aspects of detection of bacteraemia as a function of the volume of blood cultured. *Apmis*. 1993;101(8):595-601. DOI: 10.1111/j.1699-0463.1993.tb00152.x
 83. Cockerill FR, 3rd, Wilson JW, Vetter EA, Goodman KM, Torgerson CA, Harmsen WS, et al. Optimal testing parameters for blood cultures. *Clin Infect Dis*. 2004;38(12):1724-30. DOI: 10.1086/421087
 84. Lee A, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP. Detection of bloodstream infections in adults: how many blood cultures are needed? *J Clin Microbiol*. 2007;45(11):3546-8. DOI: 10.1128/jcm.01555-07
 85. Bouza E, Sousa D, Rodríguez-Crèixems M, Lechuz JG, Muñoz P. Is the volume of blood cultured still a significant factor in the diagnosis of bloodstream infections? *J Clin Microbiol*. 2007;45(9):2765-9. DOI: 10.1128/jcm.00140-07
 86. Patel R, Vetter EA, Harmsen WS, Schleck CD, Fadel HJ, Cockerill FR, 3rd. Optimized pathogen detection with 30- compared to 20-milliliter blood culture draws. *J Clin Microbiol*. 2011;49(12):4047-51. DOI: 10.1128/jcm.01314-11
 87. Mermel LA, Maki DG. Detection of bacteremia in adults: consequences of culturing an inadequate volume of blood. *Ann Intern Med*. 1993;119(4):270-2. DOI: 10.7326/0003-4819-119-4-199308150-00003
 88. Coorevits L, Van den Abeele AM. Evaluation of the BD BACTEC FX blood volume monitoring system as a continuous quality improvement measure. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2015;34(7):1459-66. DOI: 10.1007/s10096-015-2373-2
 89. Henning C, Aygül N, Dinnézt P, Wallgren K, Özenci V. Detailed Analysis of the Characteristics of Sample Volume in Blood Culture Bottles. *J Clin Microbiol*. 2019;57(8). DOI: 10.1128/jcm.00268-19
 90. Neves L, Marra AR, Camargo TZ, dos Santos MC, Zulin F, da Silva PC, et al. Correlation between mass and volume of collected blood with positivity of blood cultures. *BMC Res Notes*. 2015;8:383. DOI: 10.1186/s13104-015-1365-8
 91. Cattoir L, Claessens J, Cartuyvels R, Van den Abeele AM. How to achieve accurate blood culture volumes: the BD BACTEC FX blood volume monitoring system as a measuring instrument and educational tool. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018;37(9):1621-6. DOI: 10.1007/s10096-018-3291-x
 92. Lee S, Kim S. Accuracy of BacT/Alert Virtuo for Measuring Blood Volume for Blood Culture. *Ann Lab Med*. 2019;39(6):590-2. DOI: 10.3343/alm.2019.39.6.590
 93. Khare R, Kothari T, Castagnaro J, Hemmings B, Tso M, Juretschko S. Active Monitoring and Feedback to Improve Blood Culture Fill Volumes and Positivity Across a Large Integrated Health System. *Clin Infect Dis*. 2020;70(2):262-8. DOI: 10.1093/cid/ciz198
 94. Hazen KC, Polage CR. Using Data to Optimize Blood Bottle Fill Volumes and Pathogen Detection: Making Blood Cultures Great Again. *Clin Infect Dis*. 2020;70(2):269-70. DOI: 10.1093/cid/ciz203
 95. Collazos-Blanco A, Pérez-García F, Sánchez-Carrillo C, de Egea V, Muñoz P, Bouza E. Estimation of missed bloodstream infections without the third blood culture set: a retrospective observational single-centre study. *Clin Microbiol Infect*. 2019;25(4):469-73. DOI: 10.1016/j.cmi.2018.06.024
 96. Burillo A, Bouza Santiago E. Solicitud simultánea de hemocultivos y urocultivos: ¿una alerta de sepsis de origen urinario para el Servicio de Microbiología? Póster presentado en el XXV Congreso de la Sociedad Española de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas (pendiente publicación). 2022.
 97. Lam PW, Wiggers JB, Lo J, MacFadden DR, Daneman N. Utility of Urine Cultures in Predicting Blood Culture Susceptibilities in Patients with Bacteremic Urinary Tract Infection. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019;63(1). DOI: 10.1128/aac.01606-18
 98. Dixon P, Davies P, Hollingworth W, Stoddart M, MacGowan A. A systematic review of matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry compared to routine microbiological methods for the time taken to identify microbial organisms from positive blood cultures. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2015;34(5):863-76. DOI: 10.1007/s10096-015-2322-0
 99. Timbrook TT, Morton JB, McConeghy KW, Caffrey AR, Mylonakis E, LaPlante KL. The Effect of Molecular Rapid Diagnostic Testing on Clinical Outcomes in Bloodstream Infections: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2017;64(1):15-23. DOI: 10.1093/cid/ciw649
 100. Vlek AL, Bonten MJ, Boel CH. Direct matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry improves appropriateness of antibiotic treatment of bacteremia. *PLoS One*. 2012;7(3):e32589. DOI: 10.1371/journal.pone.0032589
 101. Huang AM, Newton D, Kunapuli A, Gandhi TN, Washer LL, Isip J, et al. Impact of rapid organism identification via matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight combined with antimicrobial stewardship team intervention in adult patients with bacteremia

- and candidemia. *Clin Infect Dis*. 2013;57(9):1237-45. DOI: 10.1093/cid/cit498
102. Clerc O, Prod'homme G, Vogne C, Bizzini A, Calandra T, Greub G. Impact of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry on the clinical management of patients with Gram-negative bacteremia: a prospective observational study. *Clin Infect Dis*. 2013;56(8):1101-7. DOI: 10.1093/cid/cis1204
 103. Perez KK, Olsen RJ, Musick WL, Cernoch PL, Davis JR, Peterson LE, et al. Integrating rapid diagnostics and antimicrobial stewardship improves outcomes in patients with antibiotic-resistant Gram-negative bacteremia. *J Infect*. 2014;69(3):216-25. DOI: 10.1016/j.jinf.2014.05.005
 104. Verroken A, Defourny L, le Polain de Waroux O, Belkhir L, Laterre PF, Delmée M, et al. Clinical Impact of MALDI-TOF MS Identification and Rapid Susceptibility Testing on Adequate Antimicrobial Treatment in Sepsis with Positive Blood Cultures. *PLoS One*. 2016;11(5):e0156299. DOI: 10.1371/journal.pone.0156299
 105. Lockwood AM, Perez KK, Musick WL, Ikwuagwu JO, Attia E, Fasoranti OO, et al. Integrating Rapid Diagnostics and Antimicrobial Stewardship in Two Community Hospitals Improved Process Measures and Antibiotic Adjustment Time. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2016;37(4):425-32. DOI: 10.1017/ice.2015.313
 106. Osthoff M, Gürtler N, Bassetti S, Balestra G, Marsch S, Pargger H, et al. Impact of MALDI-TOF-MS-based identification directly from positive blood cultures on patient management: a controlled clinical trial. *Clin Microbiol Infect*. 2017;23(2):78-85. DOI: 10.1016/j.cmi.2016.08.009
 107. O'Donnell JN, Rhodes NJ, Miglis CM, Zembower TR, Qi C, Hoff BM, et al. Impact of early antimicrobial stewardship intervention in patients with positive blood cultures: results from a randomized comparative study. *Int J Antimicrob Agents*. 2022;59(2):106490. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2021.106490
 108. de la Pedrosa EG, Gimeno C, Soriano A, Cantón R. [Studies of the cost effectiveness of MALDI-TOF and clinical impact]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2016;34 Suppl 2:47-52. DOI: 10.1016/s0213-005x(16)30191-4
 109. Banerjee R, Teng CB, Cunningham SA, Ihde SM, Steckelberg JM, Moriarty JP, et al. Randomized Trial of Rapid Multiplex Polymerase Chain Reaction-Based Blood Culture Identification and Susceptibility Testing. *Clin Infect Dis*. 2015;61(7):1071-80. DOI: 10.1093/cid/civ447
 110. Rule R, Paruk F, Becker P, Neuhoff M, Chausse J, Said M. Clinical utility of the BioFire FilmArray Blood Culture Identification panel in the adjustment of empiric antimicrobial therapy in the critically ill septic patient. *PLoS One*. 2021;16(7):e0254389. DOI: 10.1371/journal.pone.0254389
 111. Yarbrough ML, Wallace MA, Burnham CD. Comparison of Microorganism Detection and Time to Positivity in Pediatric and Standard Media from Three Major Commercial Continuously Monitored Blood Culture Systems. *J Clin Microbiol*. 2021;59(7):e0042921. DOI: 10.1128/jcm.00429-21
 112. Somily AM, Habib HA, Torchyan AA, Sayyed SB, Absar M, Al-Aqeel R, et al. Time-to-detection of bacteria and yeast with the BACTEC FX versus BacT/Alert Virtuo blood culture systems. *Ann Saudi Med*. 2018;38(3):194-9. DOI: 10.5144/0256-4947.2018.194
 113. Menchinelli G, Liotti FM, Fiori B, De Angelis G, D'Inzeo T, Giordano L, et al. In vitro Evaluation of BACT/ALERT® VIRTUO®, BACT/ALERT 3D®, and BACTEC™ FX Automated Blood Culture Systems for Detection of Microbial Pathogens Using Simulated Human Blood Samples. *Front Microbiol*. 2019;10:221. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00221
 114. Li Z, Liu S, Chen H, Zhang X, Ling Y, Zhang N, et al. Comparative evaluation of BACTEC FX, BacT/ALERT 3D, and BacT/ALERT VIRTUO automated blood culture systems using simulated blood cultures. *Acta Clin Belg*. 2022;77(1):71-8. DOI: 10.1080/17843286.2020.1797343
 115. Park J, Han S, Shin S. Comparison of Growth Performance of the BacT/ALERT VIRTUO and BACTEC FX Blood Culture Systems Under Simulated Bloodstream Infection Conditions. *Clin Lab*. 2017;63(1):39-46. DOI: 10.7754/Clin.Lab.2016.160502
 116. Wilson ML, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP, Reimer LG. Recovery of clinically important microorganisms from the BacT/Alert blood culture system does not require testing for seven days. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1993;16(1):31-4. DOI: 10.1016/0732-8893(93)90127-s
 117. Habib G, Lancellotti P, Antunes MJ, Bongiorno MG, Casalta JP, Del Zotti F, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis: The Task Force for the Management of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by: European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), the European Association of Nuclear Medicine (EANM). *Eur Heart J*. 2015;36(44):3075-128. DOI: 10.1093/eurheartj/ehv319
 118. Baddour LM, Wilson WR, Bayer AS, Fowler VG, Jr., Tleyjeh IM, Rybak MJ, et al. Infective Endocarditis in Adults: Diagnosis, Antimicrobial Therapy, and Management of Complications: A Scientific Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association. *Circulation*. 2015;132(15):1435-86. DOI: 10.1161/cir.0000000000000296
 119. Baron EJ, Scott JD, Tompkins LS. Prolonged incubation and extensive subculturing do not increase recovery of clinically significant microorganisms from standard automated blood cultures. *Clin Infect Dis*. 2005;41(11):1677-80. DOI: 10.1086/497595
 120. Petti CA, Bhally HS, Weinstein MP, Joho K, Wakefield T, Reller LB, et al. Utility of extended blood culture incubation for isolation of *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, and *Kingella* organisms: a retrospective multicenter evaluation. *J Clin Microbiol*. 2006;44(1):257-9. DOI: 10.1128/jcm.44.1.257-259.2006
 121. Brouqui P, Raoult D. Endocarditis due to rare and fastidious bacteria. *Clin Microbiol Rev*. 2001;14(1):177-207. DOI: 10.1128/cmr.14.1.177-207.2001
 122. Sagi M, Neshet L, Yagupsky P. The Bactec FX Blood Culture System Detects *Brucella melitensis* Bacteremia in Adult Patients within the Routine 1-Week Incubation Period. *J Clin Microbiol*. 2017;55(3):942-6. DOI: 10.1128/jcm.02320-16
 123. Yagupsky P, Morata P, Colmenero JD. Laboratory Diagnosis of Human Brucellosis. *Clin Microbiol Rev*. 2019;33(1). DOI: 10.1128/cmr.00073-19
 124. Fida M, Dylla BL, Sohail MR, Pritt BS, Schuetz AN, Patel R. Role

- of prolonged blood culture incubation in infective endocarditis diagnosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019;38(1):197-8. DOI: 10.1007/s10096-018-3397-1
125. Fihman V, Faury H, Moussafer A, Huguet R, Galy A, Gallien S, et al. Blood Cultures for the Diagnosis of Infective Endocarditis: What Is the Benefit of Prolonged Incubation? *J Clin Med.* 2021;10(24). DOI: 10.3390/jcm10245824
 126. Lindell F, Söderquist B, Sundman K, Olaison L, Källman J. Prosthetic valve endocarditis caused by *Propionibacterium* species: a national registry-based study of 51 Swedish cases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2018;37(4):765-71. DOI: 10.1007/s10096-017-3172-8
 127. Ransom EM, Alipour Z, Wallace MA, Burnham CA. Evaluation of Optimal Blood Culture Incubation Time To Maximize Clinically Relevant Results from a Contemporary Blood Culture Instrument and Media System. *J Clin Microbiol.* 2021;59(3). DOI: 10.1128/jcm.02459-20
 128. Bourbeau PP, Foltzer M. Routine incubation of Bact/ALERT FA and FN blood culture bottles for more than 3 days may not be necessary. *J Clin Microbiol.* 2005;43(5):2506-9. DOI: 10.1128/jcm.43.5.2506-2509.2005
 129. Bourbeau PP, Pohlman JK. Three days of incubation may be sufficient for routine blood cultures with Bact/Alert FAN blood culture bottles. *J Clin Microbiol.* 2001;39(6):2079-82. DOI: 10.1128/jcm.39.6.2079-2082.2001
 130. Doern GV, Brueggemann AB, Dunne WM, Jenkins SG, Halstead DC, McLaughlin JC. Four-day incubation period for blood culture bottles processed with the Difco ESP blood culture system. *J Clin Microbiol.* 1997;35(5):1290-2. DOI: 10.1128/jcm.35.5.1290-1292.1997
 131. Hsieh YC, Chen HL, Lin SY, Chen TC, Lu PL. Short time to positivity of blood culture predicts mortality and septic shock in bacteremic patients: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis.* 2022;22(1):142. DOI: 10.1186/s12879-022-07098-8
 132. Marra AR, Edmond MB, Forbes BA, Wenzel RP, Bearman GM. Time to blood culture positivity as a predictor of clinical outcome of *Staphylococcus aureus* bloodstream infection. *J Clin Microbiol.* 2006;44(4):1342-6. DOI: 10.1128/jcm.44.4.1342-1346.2006
 133. Hsu MS, Huang YT, Hsu HS, Liao CH. Sequential time to positivity of blood cultures can be a predictor of prognosis of patients with persistent *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(9):892-8. DOI: 10.1111/1469-0691.12608
 134. Chen Y, Huang X, Wu A, Lin X, Zhou P, Liu Y, et al. Prognostic roles of time to positivity of blood cultures in patients with *Escherichia coli* bacteremia. *Epidemiol Infect.* 2020;148:e101. DOI: 10.1017/S0950268820000941
 135. Cillóniz C, Ceccato A, de la Calle C, Gabarrús A, García-Vidal C, Almela M, et al. Time to blood culture positivity as a predictor of clinical outcomes and severity in adults with bacteremic pneumococcal pneumonia. *PLoS One.* 2017;12(8):e0182436. DOI: 10.1371/journal.pone.0182436
 136. Willmann M, Kuebart I, Vogel W, Flesch I, Markert U, Marschal M, et al. Time to positivity as prognostic tool in patients with *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infection. *J Infect.* 2013;67(5):416-23. DOI: 10.1016/j.jinf.2013.06.012
 137. Liao CH, Lai CC, Hsu MS, Huang YT, Chu FY, Hsu HS, et al. Correlation between time to positivity of blood cultures with clinical presentation and outcomes in patients with *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia: prospective cohort study. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15(12):1119-25. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.02720.x
 138. Hamilton F, Evans R, Ghazal P, MacGowan A. Time to positivity in bloodstream infection is not a prognostic marker for mortality: analysis of a prospective multicentre randomized control trial. *Clin Microbiol Infect.* 2022;28(1):136.e7-e13. DOI: 10.1016/j.cmi.2021.05.043
 139. Kim J, Gregson DB, Ross T, Laupland KB. Time to blood culture positivity in *Staphylococcus aureus* bacteremia: association with 30-day mortality. *J Infect.* 2010;61(3):197-204. DOI: 10.1016/j.jinf.2010.06.001
 140. Nunes CZ, Marra AR, Edmond MB, da Silva Victor E, Pereira CA. Time to blood culture positivity as a predictor of clinical outcome in patients with *Candida albicans* bloodstream infection. *BMC Infect Dis.* 2013;13:486. DOI: 10.1186/1471-2334-13-486
 141. Martínez JA, Pozo L, Almela M, Marco F, Soriano A, López F, et al. Microbial and clinical determinants of time-to-positivity in patients with bacteraemia. *Clin Microbiol Infect.* 2007;13(7):709-16. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2007.01736.x
 142. Cobos-Triguero N, Zboromyrska Y, Morata L, Alejo I, De La Calle C, Vergara A, et al. Time-to-positivity, type of culture media and oxidase test performed on positive blood culture vials to predict *Pseudomonas aeruginosa* in patients with Gram-negative bacilli bacteraemia. *Rev Esp Quimioter.* 2017;30(1):9-13.
 143. Siméon S, Le Moing V, Tubiana S, Duval X, Fournier D, Lavigne JP, et al. Time to blood culture positivity: An independent predictor of infective endocarditis and mortality in patients with *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Clin Microbiol Infect.* 2019;25(4):481-8. DOI: 10.1016/j.cmi.2018.07.015
 144. Oldberg K, Thorén R, Nilson B, Gilje P, Inghammar M, Rasmussen M. Short time to blood culture positivity in *Enterococcus faecalis* infective endocarditis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2021;40(8):1657-64. DOI: 10.1007/s10096-021-04210-9
 145. Huang L, Sun L, Yan Y. Time to positivity of blood culture is predictive for nosocomial infection and infectious endocarditis instead of other clinical characteristics and prognosis in *Acinetobacter baumannii* bloodstream infection. *J Infect.* 2014;68(2):198-200. DOI: 10.1016/j.jinf.2013.10.004
 146. Krus D, Kahn F, Nilson B, Sunnerhagen T, Rasmussen M. Blood culture time to positivity in non- β -hemolytic streptococcal bacteremia as a predictor of infective endocarditis—a retrospective cohort study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2022;41(2):325-9. DOI: 10.1007/s10096-021-04339-7
 147. Baddour LM, Epstein AE, Erickson CC, Knight BP, Levison ME, Lockhart PB, et al. Update on cardiovascular implantable electronic device infections and their management: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2010;121(3):458-77. DOI: 10.1161/circulationaha.109.192665
 148. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Man-

- agement of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2016;62(4):e1-50. DOI: 10.1093/cid/civ933
149. Kuehl R, Morata L, Boeing C, Subirana I, Seifert H, Rieg S, et al. Defining persistent *Staphylococcus aureus* bacteraemia: secondary analysis of a prospective cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2020;20(12):1409-17. DOI: 10.1016/s1473-3099(20)30447-3
150. Zinkernagel AS, Zinkernagel MS, Elzi MV, Genoni M, Gubler J, Zbinden R, et al. Significance of *Staphylococcus lugdunensis* bacteremia: report of 28 cases and review of the literature. *Infection*. 2008;36(4):314-21. DOI: 10.1007/s15010-008-7287-9
151. Siegrist EA, Wungwattana M, Azis L, Stogsdill P, Craig WY, Rokas KE. Limited Clinical Utility of Follow-up Blood Cultures in Patients With Streptococcal Bacteremia: An Opportunity for Blood Culture Stewardship. *Open Forum Infect Dis*. 2020;7(12):ofaa541. DOI: 10.1093/ofid/ofaa541
152. Cogliati Dezza F, Curtolo A, Volpicelli L, Ceccarelli G, Oliva A, Venditti M. Are Follow-Up Blood Cultures Useful in the Antimicrobial Management of Gram Negative Bacteremia? A Reappraisal of Their Role Based on Current Knowledge. *Antibiotics (Basel)*. 2020;9(12). DOI: 10.3390/antibiotics9120895
153. Canzoneri CN, Akhavan BJ, Tosur Z, Andrade PEA, Aisenberg GM. Follow-up Blood Cultures in Gram-Negative Bacteremia: Are They Needed? *Clin Infect Dis*. 2017;65(11):1776-9. DOI: 10.1093/cid/cix648
154. Wiggers JB, Xiong W, Daneman N. Sending repeat cultures: is there a role in the management of bacteremic episodes? (SCRIBE study). *BMC Infect Dis*. 2016;16:286. DOI: 10.1186/s12879-016-1622-z
155. Jung J, Song KH, Jun KI, Kang CK, Kim NH, Choe PG, et al. Predictive scoring models for persistent gram-negative bacteremia that reduce the need for follow-up blood cultures: a retrospective observational cohort study. *BMC Infect Dis*. 2020;20(1):680. DOI: 10.1186/s12879-020-05395-8
156. Kang CK, Kim ES, Song KH, Kim HB, Kim TS, Kim NH, et al. Can a routine follow-up blood culture be justified in *Klebsiella pneumoniae* bacteremia? A retrospective case-control study. *BMC Infect Dis*. 2013;13:365. DOI: 10.1186/1471-2334-13-365
157. Shi H, Kang CI, Cho SY, Huh K, Chung DR, Peck KR. Follow-up blood cultures add little value in the management of bacteremic urinary tract infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019;38(4):695-702. DOI: 10.1007/s10096-019-03484-4
158. Giannella M, Pascale R, Pancaldi L, Monari C, Ianniruberto S, Malosso P, et al. Follow-up blood cultures are associated with improved outcome of patients with gram-negative bloodstream infections: retrospective observational cohort study. *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(7):897-903. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.01.023
159. Maskarinec SA, Park LP, Ruffin F, Turner NA, Patel N, Eichenberger EM, et al. Positive follow-up blood cultures identify high mortality risk among patients with Gram-negative bacteraemia. *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(7):904-10. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.01.025
160. Kim H, Seo H, Chung H, Park S, Sung H, Kim MN, et al. Bedside risk prediction for positive follow-up blood culture in Gram-negative bacilli bacteremia: for whom is follow-up blood culture useful? *Infection*. 2022. DOI: 10.1007/s15010-021-01742-2
161. Fabre V, Amoah J, Cosgrove SE, Tamma PD. Antibiotic Therapy for *Pseudomonas aeruginosa* Bloodstream Infections: How Long Is Long Enough? *Clin Infect Dis*. 2019;69(11):2011-4. DOI: 10.1093/cid/ciz223
162. Snyder SR, Favoretto AM, Baetz RA, Derzon JH, Madison BM, Mass D, et al. Effectiveness of practices to reduce blood culture contamination: a Laboratory Medicine Best Practices systematic review and meta-analysis. *Clin Biochem*. 2012;45(13-14):999-1011. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2012.06.007
163. Falagas ME, Kazantzi MS, Bliziotis IA. Comparison of utility of blood cultures from intravascular catheters and peripheral veins: a systematic review and decision analysis. *J Med Microbiol*. 2008;57(Pt 1):1-8. DOI: 10.1099/jmm.0.47432-0
164. DesJardin JA, Falagas ME, Ruthazer R, Griffith J, Wawrose D, Schenkein D, et al. Clinical utility of blood cultures drawn from indwelling central venous catheters in hospitalized patients with cancer. *Ann Intern Med*. 1999;131(9):641-7. DOI: 10.7326/0003-4819-131-9-199911020-00002
165. Chaves F, Garnacho-Montero J, Del Pozo JL, Bouza E, Capdevila JA, de Cueto M, et al. Diagnosis and treatment of catheter-related bloodstream infection: Clinical guidelines of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology and (SEIMC) and the Spanish Society of Spanish Society of Intensive and Critical Care Medicine and Coronary Units (SEMICYUC). *Med Intensiva (Engl Ed)*. 2018;42(1):5-36. DOI: 10.1016/j.medint.2017.09.012
166. Mermel LA, Allon M, Bouza E, Craven DE, Flynn P, O'Grady NP, et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2009;49(1):1-45. DOI: 10.1086/599376
167. Gumbre M, Rodríguez-Crèixems M, Sánchez-Carrillo C, Pérez-Parra A, Martín-Rabadán P, Bouza E. How many lumens should be cultured in the conservative diagnosis of catheter-related bloodstream infections? *Clin Infect Dis*. 2010;50(12):1575-9. DOI: 10.1086/652766
168. Cuellar-Rodríguez J, Connor D, Murray P, Gea-Banaeloche J. Discrepant results from sampling different lumens of multilumen catheters: the case for sampling all lumens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014;33(5):831-5. DOI: 10.1007/s10096-013-2021-7
169. Herrera-Guerra AS, Garza-González E, Martínez-Resendez MF, Llaca-Díaz JM, Camacho-Ortiz A. Individual versus pooled multiple-lumen blood cultures for the diagnosis of intravascular catheter-related infections. *Am J Infect Control*. 2015;43(7):715-8. DOI: 10.1016/j.ajic.2015.02.028
170. Catton JA, Dobbins BM, Kite P, Wood JM, Eastwood K, Sugden S, et al. In situ diagnosis of intravascular catheter-related bloodstream infection: a comparison of quantitative culture, differential time to positivity, and endoluminal brushing. *Crit Care Med*. 2005;33(4):787-91. DOI: 10.1097/01.ccm.0000157968.98476.f3
171. Bouza E, Alvarado N, Alcalá L, Pérez MJ, Rincón C, Muñoz P. A randomized and prospective study of 3 procedures for the diagnosis of catheter-related bloodstream infection without catheter with-

- drawal. *Clin Infect Dis*. 2007;44(6):820-6. DOI: 10.1086/511865
172. Rijnders BJ, Verwaest C, Peetermans WE, Wilmer A, Vandecasteele S, Van Eldere J, et al. Difference in time to positivity of hub-blood versus nonhub-blood cultures is not useful for the diagnosis of catheter-related bloodstream infection in critically ill patients. *Crit Care Med*. 2001;29(7):1399-403. DOI: 10.1097/00003246-200107000-00016
173. Bouzidi H, Emirian A, Marty A, Chachaty E, Laplanche A, Gachot B, et al. Differential time to positivity of central and peripheral blood cultures is inaccurate for the diagnosis of *Staphylococcus aureus* long-term catheter-related sepsis. *J Hosp Infect*. 2018;99(2):192-9. DOI: 10.1016/j.jhin.2018.01.010
174. Orihuela-Martín J, Rodríguez-Núñez O, Morata L, Cardozo C, Puerta-Alcalde P, Hernández-Meneses M, et al. Performance of differential time to positivity as a routine diagnostic test for catheter-related bloodstream infections: a single-centre experience. *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(3):383.e1-e7. DOI: 10.1016/j.cmi.2019.07.001
175. Bouza E, Alcalá L, Muñoz P, Martín-Rabadán P, Guembe M, Rodríguez-Crèixems M. Can microbiologists help to assess catheter involvement in candidaemic patients before removal? *Clin Microbiol Infect*. 2013;19(2):E129-35. DOI: 10.1111/1469-0691.12096
176. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, Antonelli M, Coopersmith CM, French C, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Med*. 2021;47(11):1181-247. DOI: 10.1007/s00134-021-06506-y
177. Palencia Herrejón E, González Del Castillo J, Ramasco Rueda F, Candel FJ, Sánchez Artola B, von Wernitz Teleki A, et al. [Consensus document for sepsis code implementation and development in the Community of Madrid]. *Rev Esp Quimioter*. 2019;32(4):400-9. PMC6719654
178. Bunsow E, Vecchio MG, Sanchez C, Muñoz P, Burillo A, Bouza E. Improved Sepsis Alert With a Telephone Call From the Clinical Microbiology Laboratory: A Clinical Trial. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(39):e1454. DOI: 10.1097/md.0000000000001454
179. Cunney RJ, McNamara EB, Alansari N, Loo B, Smyth EG. The impact of blood culture reporting and clinical liaison on the empiric treatment of bacteraemia. *J Clin Pathol*. 1997;50(12):1010-2. DOI: 10.1136/jcp.50.12.1010
180. Bouza E, Sousa D, Muñoz P, Rodríguez-Crèixems M, Fron C, Lechuz JG. Bloodstream infections: a trial of the impact of different methods of reporting positive blood culture results. *Clin Infect Dis*. 2004;39(8):1161-9. DOI: 10.1086/424520
181. Forsblom E, Ruotsalainen E, Ollgren J, Järvinen A. Telephone consultation cannot replace bedside infectious disease consultation in the management of *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Clin Infect Dis*. 2013;56(4):527-35. DOI: 10.1093/cid/cis889
182. Chu VH, Sexton DJ. Editorial commentary: telephone consultation for *Staphylococcus aureus* bacteremia: opening Pandora's box. *Clin Infect Dis*. 2013;56(4):536-8. DOI: 10.1093/cid/cis895

8.2 Anexo 2. Publicación Artículo 2.

INFECTIOUS DISEASES,
2024; VOL. 0,
NO. 0, 1–10

<https://doi.org/10.1080/23744235.2024.2320333>

RESEARCH ARTICLE



Bloodstream infections: trends and evolution of incidence and etiology in a 12-year period (2010–2021)

David Alonso-Menchén^{a,b}, Carlos Sánchez-Carrillo^{a,b,c†}, Luis Alcalá^{a,b,c}, Ana Soriano-Martín^{a,b}, Emilia Cercenado^{a,b,c,d}, Almudena Burillo^{a,b,d}, Julia Serrano-Lobo^{a,b}, Leire Pérez-Latorre^{a,b,e}, Patricia Muñoz^{a,b,c,d*} and Emilio Bouza^{a,b,c,d*}

^aDepartment of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain; ^bInstituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, Spain; ^cCIBER Enfermedades Respiratorias-CIBERES (CIBERES CB06/06/0058), Madrid, Spain; ^dMedicine Department, School of Medicine, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain; ^eCIBER Enfermedades Infecciosas-CIBERINFEC, Madrid, Spain

ABSTRACT

Introduction: The epidemiological evolution of bloodstream infections (BSIs) in the last decade is not clearly defined. Our aim was to analyze the changes in the workload in our institution and to describe the evolution of the incidence and etiology of BSIs in a 12-year period, including the COVID-19 pandemic.

Methods: All blood cultures received in the laboratory of a tertiary general hospital between 2010 and 2021 were analyzed. Bloodstream infection episodes refer to each episode of bacteremia or fungemia in each patient. Incidence rates per 1000 admissions and per 100,000 population were calculated.

Results: No significant changes in the incidence of BSI episodes/1000 admissions were observed (mean, 31.1), while estimated population-based incidences showed declining trends (mean, 182.8/100,000 inhabitants). There was a slight increase in BSI episodes per 1000 admissions caused by Gram-negatives (mean, 16.6/1000 admissions) and *E. coli* was the most frequent pathogen (mean, 8.5/1000 admissions). There was no significant rise in episodes caused by ESBL- and carbapenemase-producing *E. coli* or *K. pneumoniae*, with a decline in those caused by methicillin-resistant *S. aureus*. A spike in BSI episodes, fungal BSIs and catheter-related infections was detected in 2020, during the COVID-19 outbreak.

Conclusions: No clear increase in the incidence of BSI episodes was detected in our center over this period. Gram-negatives are the most frequent etiology, with no clear rise in antimicrobial resistance phenotypes. The COVID-19 pandemic accounted for a small increase in BSI episodes in 2020, probably related to the increase of catheter-related infections.

KEYWORDS

Bloodstream infection
bacteremia
incidence
catheter-related bacteremia
antimicrobial resistance

ARTICLE HISTORY

Received 26 October 2023
Revised 8 February 2024
Accepted 13 February 2024

CONTACT

David Alonso-Menchén
✉ damenchen90@gmail.com
✉ Department of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Calle Doctor Esquerdo 46, 28007 Madrid, Spain

[†]Deceased.

*These authors contributed equally to this work and share senior authorship.

Supplemental data for this article can be accessed online at <https://doi.org/10.1080/23744235.2024.2320333>.

© 2024 Society for Scandinavian Journal of Infectious Diseases

8.3 Anexo 3. Publicación Artículo 3

Open Forum Infectious Diseases

MAJOR ARTICLE



Non-nosocomial Healthcare-Associated Infective Endocarditis: A Distinct Entity? Data From the GAMES Series (2008–2021)

David Alonso-Menchén,^{1,9} Emilio Bouza,^{1,2,3} Maricela Valerio,^{1,2} Aristides de Alarcón,^{4,5} Encarnación Gutiérrez-Carretero,^{6,7} José M. Miró,^{5,8} Miguel Ángel Goenaga-Sánchez,⁹ Antonio Plata-Ciézar,¹⁰ Claudia González-Rico,^{5,11} Luis Eduardo López-Cortés,^{5,12} María Ángeles Rodríguez Esteban,¹³ Francisco Javier Martínez-Marcos,¹⁴ and Patricia Muñoz,^{1,2,3} for the Grupo de Apoyo al Manejo de la Endocarditis Infecciosa en España (GAMES) Investigators

¹Department of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón (IISGM), Madrid, Spain, ²Medicine Department, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain, ³CIBER (Centro de Investigación Biomédica en Red) de Enfermedades Respiratorias (CB06/D6/0058), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain, ⁴Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Parasitología, University Hospital Virgen del Rocío, Institute of Biomedicine of Seville, University of Seville/CSIC (Consejo Superior de Investigaciones Científicas), Seville, Spain, ⁵CIBER (Centro de Investigación Biomédica en Red) de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain, ⁶Cardiac Surgery Service, University Hospital Virgen del Rocío, Institute of Biomedicine of Seville, University of Seville/CSIC (Consejo Superior de Investigaciones Científicas), Seville, Spain, ⁷CIBER (Centro de Investigación Biomédica en Red) de Enfermedades Cardiovasculares, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain, ⁸Infectious Diseases Service, Hospital Clinic-IDIBAPS (Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi Sunyer), University of Barcelona, Barcelona, Spain, ⁹Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Donosti, San Sebastián, Spain, ¹⁰Servicio de Enfermedades Infecciosas Hospital Regional Universitario de Málaga, IBIMA (Instituto de Investigación Biomédica de Málaga), Málaga, Spain, ¹¹Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IDIVAL (Instituto de Investigación Marqués de Valdecilla), Santander, Spain, ¹²Infectious Diseases and Microbiology Clinical Unit, University Hospital Virgen Macarena, Institute of Biomedicine of Seville, University of Seville/CSIC (Consejo Superior de Investigaciones Científicas), Seville, Spain, ¹³Servicio de Unidad de Cuidados Intensivos de Cirugía Cardíaca, Hospital Central de Asturias, Oviedo, Spain, and ¹⁴Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Juan Ramón Jiménez, Huelva, Spain

Background. Patients who acquire infective endocarditis (IE) following contact with the healthcare system, but outside the hospital, are classified as having non-nosocomial healthcare-associated IE (HCIE). Our aim was to characterize HCIE and establish whether its etiology, diagnosis, and therapeutic approach suggest it should be considered a distinct entity.

Methods. This study retrospectively analyzes data from a nationwide, multicenter, prospective cohort including consecutive cases of IE at 45 hospitals across Spain from 2008 to 2021. HCIE was defined as IE detected in patients in close contact with the healthcare system (eg, patients receiving intravenous treatment, hemodialysis, or institutionalized). The prevalence and main characteristics of HCIE were examined and compared with those of community-acquired IE (CIE) and nosocomial IE (NIE) and with literature data.

Results. IE was diagnosed in 4520 cases, of which 2854 (63%) were classified as CIE, 1209 (27%) as NIE, and 457 (10%) as HCIE. Patients with HCIE showed a high burden of comorbidities, a high presence of intravascular catheters, and a predominant staphylococcal etiology, *Staphylococcus aureus* being identified as the most frequent causative agent (35%). They also experienced more persistent bacteremia, underwent fewer surgeries, and showed a higher mortality rate than those with CIE (32.4% vs 22.6%). However, mortality in this group was similar to that recorded for NIE (32.4% vs 34.9%, respectively, $P = .40$).

Conclusions. Our data do not support considering HCIE as a distinct entity. HCIE affects a substantial number of patients, is associated with a high mortality, and shares many characteristics with NIE.

Keywords. healthcare-related infections; infective endocarditis; nosocomial infections.

Received 28 March 2023; editorial decision 12 July 2023; published online 9 August 2023
Presented in part: XXV Spanish National Congress of Infectious Diseases, Granada, Spain, June 2022. Abstract 0066.

Correspondence: David Alonso-Menchén, MD, Clinical Microbiology and Infectious Diseases Department, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Calle Doctor Esquerdo 46, 28007 Madrid, Spain (david.alonso@salud.madrid.org); Emilio Bouza Santiago, MD, PhD, Clinical Microbiology and Infectious Diseases Department, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Calle Doctor Esquerdo 46, 28007 Madrid, Spain (emilio.bouza@gmail.com).

Open Forum Infectious Diseases®

© The Author(s) 2023. Published by Oxford University Press on behalf of Infectious Diseases Society of America. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs licence (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>), which permits non-commercial reproduction and distribution of the work, in any medium, provided the original work is not altered or transformed in any way, and that the work is properly cited. For commercial re-use, please contact journals.permissions@oup.com
<https://doi.org/10.1093/ofid/ofad393>

The clinical and epidemiological characteristics of infective endocarditis (IE) have changed over time [1, 2]. According to place of acquisition, a distinction was traditionally made between community-acquired and nosocomial IE, with different etiological agents and prognoses in each case. The concept of healthcare-associated IE was introduced to describe IE acquired at hospital or affecting patients in close contact with the healthcare system [3–6]. However, the increasing number of invasive procedures performed outside the hospital setting, and the growing number of patients from healthcare institutions, have determined an increase over the last few decades in non-nosocomial healthcare-associated IE (HCIE) [3, 7, 8].

While community-acquired IE (CIE) has been clearly differentiated from nosocomial IE (NIE), there is less information on HCIE. The limited evidence available has been derived from heterogeneous studies that, in most cases, are outdated and involve small sample sizes [9, 10], and consists of widely varying definitions, etiologies, and prognoses. In this scenario, it is worth considering the dimension of this problem, and whether this group of patients has etiological, therapeutic, or prognostic differences for HCIE to be considered a distinct entity.

From a public health perspective, the need to characterize this group of patients is warranted by an ever-increasing number of institutionalized patients and of invasive procedures performed outside the hospital, as well as a lack of clear indications regarding the need for prophylaxis before such procedures.

In this work, we set out to define the current reality of HCIE based on data from a large prospective cohort. Our objectives were (1) to describe the prevalence and most relevant characteristics of HCIE, (2) to analyze its differences with respect to CIE and NIE along with its value as a distinct entity, and (3) to review the available literature to compare these data with our findings.

METHODS

The GAMES (Grupo de Apoyo al Manejo de la Endocarditis Infecciosa en España [Spanish Collaboration on Endocarditis]) cohort is a nationwide, multicenter registry that from 2008 has prospectively included consecutive cases of definite IE according to modified Duke criteria [11] in 45 hospitals across Spain. The present study is an observational retrospective analysis of these prospectively obtained data. Over the period January 2008 to December 2021, 4520 definite cases of IE were diagnosed.

Data Collection

A standardized case report form was completed in each case to record the active IE episode and follow-up data, which included clinical information, including Charlson comorbidity index (CCI) [12], as well as microbiological and echocardiographic results. All patients provided informed consent to be included in the registry. All cases were assessed 1 year after inclusion in the registry to record resolution, death, or relapse.

Definitions

To simplify classification, and for the purpose of exploring its value as a distinct entity, in this work "HCIE" refers to nosohospital IE, and does not therefore include cases of nosocomial acquisition. HCIE was defined as an IE diagnosed at the time of admission or within 48 hours of admission, if a patient met any of the following criteria:

1. Received intravenous (IV) treatment at home; received wound care or skilled nursing care provided by a

healthcare provider, family, or friends; or received self-administered IV medical treatment in the 30 days prior to bacteremia.

2. Visited an outpatient hospital or hemodialysis clinic or received IV chemotherapy in the 30 days prior to bacteremia.
3. Was hospitalized in an acute care facility for 2 or more days in the 90 days prior to bacteremia.
4. Lived in a nursing home or long-term care facility.

All IE cases associated with hemodialysis were classified as HCIE. NIE was defined as IE in a patient who had been hospitalized for >48 hours before the onset of signs or symptoms consistent with IE. CIE was defined as IE diagnosed within the first 48 hours of admission or according to signs or symptoms consistent with IE starting before hospital admission in a patient who did not fulfill the criteria for HCIE. While an odontogenic source was considered within the definition of CIE, in 2 patients HCIE was attributed to dental interventions of greater complexity involving total replacement of dental pieces.

Statistical Analysis

The characteristics of HCIE, CIE, and NIE were compiled and compared. Categorical variables were summarized as frequencies and percentages, and continuous variables as medians and interquartile ranges (25th–75th percentile). Categorical variables were compared using the χ^2 test (or Fisher exact test where necessary). Variables with nonnormal distribution were compared using the Mann-Whitney *U* test. Significance was set at $P < .05$. For a better interpretation of the results, effect sizes were calculated for each comparison. For numerical variables, Cohen *d* (standardized mean difference) was used, while odds ratios (ORs) are provided for categorical variables.

To identify clinical variables that were differentially associated with the presence of HCIE, a multivariate logistic regression analysis was performed through a conditional backward procedure, entering only epidemiological variables present before the IE episode and hospital admission that varied significantly between HCIE and NIE in the univariate analysis or that were considered to be of clinical relevance. Our model included sex, age, age-adjusted CCI score, native valve IE, presence of intracardiac device, previous cardiac surgery, previous IE, and presence of IV catheters. The survival curve for hemodialysis-related HCIE was constructed using the Kaplan-Meier method. All statistical tests were performed using the package IBM SPSS Statistics for Windows, version 26.

For the literature review, a search was performed of PubMed using the commands (endocarditis [MeSH Terms]) AND (healthcare [Title]), health-care [Title] AND endocarditis [Title], non-nosocomial [Title] AND endocarditis [Title], healthcare-associated [Title] AND endocarditis [Title], (healthcare[MeSH Terms]) AND (endocarditis[MeSH Terms]) and (healthcare[MeSH Terms]) AND (endocarditis[Title]) with no time restriction. Manually

Table 1. Demographic Characteristics, Predisposing Factors, and Site of Healthcare-Associated Infective Endocarditis (IE) With Respect to Community-Acquired IE and Nosocomial IE

Characteristic	CIE (n = 2854)	P Value (HCIE vs CIE)	HCIE (n = 457)	P Value (HCIE vs NIE)	NIE (n = 1209)
Age, y, median (IQR)	67 (55–76)	.90	67 (56–76)	<.01	70 (61–77)
Male sex	1991 (70)	.14	303 (66.3)	.67	788 (65.1)
Comorbidities					
Age-adjusted CCI score, median (IQR)	4 (2–6)	<.01	6 (4–8)	<.01	5 (3–7)
Pulmonary disease	473 (16.5)	.40	83 (18.1)	.05	272 (22.5)
Hypertension	1494 (52.3)	<.01	322 (70.6)	<.01	726 (60.2)
Coronary heart disease	655 (22.9)	.03	126 (27.5)	.06	392 (32.4)
Heart failure	770 (26.9)	<.01	166 (36.3)	<.01	524 (43.3)
Diabetes	734 (25.7)	<.01	177 (38.7)	.03	399 (33.0)
HIV	70 (2.4)	.23	7 (1.5)	.20	10 (0.8)
PWID	110 (3.8)	<.01	6 (1.3)	<.01	3 (0.2)
Peripheral vascular disease	221 (7.7)	<.01	108 (23.6)	<.01	155 (12.8)
Cerebrovascular disease	336 (11.7)	.60	58 (12.7)	.47	170 (14.0)
Neoplasm	377 (13.2)	<.01	106 (23.2)	.19	245 (20.2)
CKD	541 (19.0)	<.01	289 (63.2)	<.01	326 (27.0)
Liver disease	290 (10.1)	.22	55 (12.0)	.03	104 (8.6)
Immunosuppressive therapy	91 (3.1)	<.01	60 (13.1)	.03	107 (9.0)
Cardiac history					
Native valve disease	1324 (46.4)	.02	184 (40.3)	<.01	594 (49.1)
Congenital heart disease	211 (7.4)	<.01	13 (2.8)	.10	56 (4.6)
Previous endocarditis	217 (7.6)	.86	34 (7.4)	.86	93 (7.6)
Previous cardiac surgery	899 (31.5)	<.01	106 (23.2)	<.01	567 (46.9)
Dental procedure					
Intravascular catheter present at symptom onset	264 (9)	<.01	2 (0.4)	.01	0 (0.0)
Peripheral	0 (0.0)		195 (42.6)	.01	411 (33.9)
Central short duration	0 (0.0)		36 (7.8)	<.01	269 (22.2)
Central long duration	0 (0.0)		24 (5.2)	.052	97 (8.0)
Intra-arterial Swan-Ganz catheter	0 (0.0)		125 (27.3)	<.01	36 (2.9)
	0 (0.0)		10 (2.1)	.01	9 (0.7)
Days from symptom onset to diagnosis, median (IQR)	15 (10–60)	<.01	10 (3–21)	.18	10 (2–21)
Days from symptom onset to admission, median (IQR)	16 (10–60)	<.01	10 (4–21)	.03	10 (2–21)
IE type					
Native IE	1976 (69.2)	.53	323 (70.7)	<.01	550 (45.5)
Prosthetic IE	775 (27.2)	<.01	87 (19.0)	<.01	523 (43.3)
Cardiac device	168 (5.9)	<.01	51 (11.2)	.18	165 (13.6)
IE site					
Aortic	1563 (54.8)	<.01	206 (45.1)	.02	620 (51.3)
Mitral	1339 (46.9)	.15	198 (43.3)	.04	458 (37.9)
Tricuspid	155 (5.4)	<.01	44 (9.6)	<.01	67 (5.5)
Pulmonary	41 (1.6)	.9	7 (1.5)	.80	21 (1.7)
No. of patients receiving empirical treatment	403 (14.1)	.28	56 (12.2)	.24	175 (14.4)
Adequate empirical treatment for <i>Staphylococcus aureus</i> ^a	62 (88.6)	.81	19 (90.5)	.72	42 (87.5)

Data are presented as No. (%) unless otherwise indicated. Standardized differences can be found in [Supplementary Table 1](#). Values in bold refer to results with statistically significant differences.

Abbreviations: CCI, Charlson comorbidity index; CIE, community-acquired infective endocarditis; CKD, chronic kidney disease; HCIE, healthcare-associated infective endocarditis; HIV, human immunodeficiency virus; IE, infective endocarditis; IQR, interquartile range; NIE, nosocomial infective endocarditis; PWID, people who inject drugs.

^aAdequate empirical treatment for *S aureus* was evaluated in 139 cases (CIE, 70; HCIE, 21; NIE, 48).

selected papers of interest were also included. To the best of our knowledge, only 5 studies have analyzed HCIE in a differentiated manner [3, 9, 10, 13, 14]. Studies assessing nosohusial and nosocomial IE combined were not included in our review [4–6].

Patient Consent Statement

The case report form used was approved by the ethics committee (Comité ético de Investigación Clínica Regional de la

Comunidad de Madrid CEIC-R; EC 18/07; date 11/01/2008). Written informed consent was obtained in all cases.

RESULTS

In total, 4520 episodes of definite IE were recorded in the cohort. Of these, 2854 episodes (63%) were classified as CIE, 1209 (27%) as NIE, and 457 (10%) as HCIE. The main characteristics of

these episodes of HCIE and their comparison with those of CIE and NIE are provided in Table 1 (an analysis of standardized differences can be found in Supplementary Table 1).

Characteristics of HCIE

Patients in the HCIE group were characterized by a significant number of comorbidities, a high proportion of them having hypertension, chronic kidney disease (CKD), diabetes, and heart failure. Most IE cases developed in native valves (71%). In 195 patients (43%), an intravascular catheter was present at the onset of symptoms (Table 1). The most frequent etiology was *Staphylococcus aureus* (161 episodes [35%]), 19% of which were methicillin-resistant *S aureus* (MRSA) (Table 2). Coagulase-negative staphylococci and *Enterococcus* caused 23% and 19.5% of cases, respectively. Hemodialysis was described as the source of infection in 49% of HCIE cases (Table 3).

When we considered clinical outcomes (Table 4), we found that a high proportion of patients developed heart failure, acute renal failure, and intracardiac complications (39%, 33%, and 32%, respectively). While 42% of the HCIE patients underwent cardiac surgery, 26% with an indication for surgery could not be operated on. In-hospital mortality among the HCIE patients was 32%. There were fewer deaths among those who underwent surgery compared to those who did not undergo surgery (11.1% vs 21.2%).

Analysis of Hemodialysis-Related HCIE

Of the 457 episodes of HCIE examined, almost half were recorded in patients on hemodialysis (n = 223 [49%]). These patients on hemodialysis had more comorbidities, experienced septic shock more frequently, more often could not have indicated surgery, and showed a higher mortality than patients not receiving hemodialysis (Table 5). The main etiologic agent was *S aureus* (46%). Interestingly, the percentage of those with CKD was also high in the no-hemodialysis group (28.6%). Patients who did not receive hemodialysis had a significantly lower mortality ($P < .01$) than those who did so, as may be observed in the Kaplan-Meier survival curve (Figure 1).

Comparison of HCIE With CIE and NIE

HCIE and CIE are clearly different clinical entities (Table 1). Patients with HCIE showed a higher age-adjusted CCI score, were admitted fewer days after symptom onset and diagnosis, and had a different disease etiology. In terms of the clinical course, patients with HCIE showed more persistent bacteremia, more instances of indicated surgery not performed, and a higher mortality than those with CIE, who underwent indicated surgery more frequently.

Differences were less evident between HCIE and NIE, especially in terms of etiology and prognosis (Tables 1, 2, and 4 and Supplementary Table 1). Native valves were affected more

Table 2. Main Etiologies of Healthcare-Associated Infective Endocarditis (IE) With Respect to Community-Acquired IE and Nosocomial IE

Etiology	CIE (n = 2854)	P Value	HCIE (n = 457)	P Value	NIE (n = 1209)
<i>Staphylococcus aureus</i>	574 (20.1)	.03	161 (35.2)	.03	360 (29.8)
MRSA	58 (2.0)	<.01	30 (6.5)	.46	92 (7.6)
CoNS	332 (11.6)	<.01	105 (23.0)	<.01	405 (33.5)
<i>Enterococcus</i> spp	402 (14.1)	<.01	89 (19.5)	.06	188 (15.6)
<i>Streptococcus</i> spp	1126 (39.5)	<.01	50 (10.9)	<.01	65 (5.4)
Gram-negative bacilli	117 (4.1)	.29	14 (3.1)	.20	53 (4.4)
Anaerobes	44 (1.5)	.06	2 (0.4)	.88	6 (0.5)
<i>Candida</i> spp	15 (0.5)	<.01	11 (2.4)	.14	47 (3.9)

Data are presented as No. (%) unless otherwise indicated.

Abbreviations: CIE, community-acquired infective endocarditis; CoNS, coagulase-negative staphylococci; HCIE, healthcare-associated infective endocarditis; MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; NIE, nosocomial infective endocarditis.

Table 3. Suspected Source of Healthcare-Associated Infective Endocarditis (n = 457)

Infection Source	No. (%)
Hemodialysis	223 (48.8)
Intravenous catheter	57 (12.5)
Colonoscopy	47 (10.3)
Urological procedure	32 (7.0)
Pacemaker implantation	32 (7.0)
Previous surgery	12 (2.6)
Dental manipulation	2 (0.4)
Other	52 (11.4)

frequently in the group of participants with HCIE. In both the HCIE and NIE groups, the main etiology was staphylococcal, and there was no difference in MRSA proportions. Patients with HCIE also underwent surgery on fewer occasions, but this did not give rise to a significant difference in mortality between these 2 groups (32.4% vs 34.9%, respectively, $P = .40$). Remarkably, there were no significant differences in the proportions of patients receiving adequate empirical treatment for *S aureus* (ie, antibiotic therapy started before culture results are available) in the HCIE, CIE, and NIE groups (Table 1).

When HCIE and NIE were compared, epidemiological variables identified as significantly associated with HCIE were native valve IE (OR, 1.81) and age-adjusted CCI score (OR, 1.14) (Supplementary Table 2).

Review of the Literature

Only 5 studies were found to have analyzed HCIE in a differential manner, excluding nosocomial acquisition [3, 9, 10, 13, 14]. Only 1 of these reports provided data for >200 patients [3]. The most frequent characteristics reported are detailed in Supplementary Table 3. Hemodialysis patients are routinely included in this group.

Table 4. Complications and Outcomes of Patients With Community-Acquired Infective Endocarditis (IE), Healthcare-Associated IE, and Nosocomial IE

Complication/Outcome	CIE (n = 2854)	P Value	HCIE (n = 457)	P Value	NIE (n = 1209)
Complications					
Intracardiac complications	1016 (35.6)	.15	147 (32.2)	.33	411 (34.0)
Vascular phenomena	287 (10.0)	.15	36 (7.8)	.13	71 (5.8)
Heart failure	1195 (41.8)	.20	177 (38.7)	.13	518 (42.8)
Persistent bacteremia	262 (9.1)	<.01	60 (13.1)	.05	206 (17.0)
CNS involvement	649 (22.7)	<.01	66 (14.4)	.04	228 (18.8)
Embolization	742 (25.9)	<.01	92 (20.1)	.92	241 (19.9)
New murmur	1064 (37.2)	.10	152 (33.2)	.07	347 (28.7)
Vegetation present	1957 (68.5)	.08	332 (72.2)	<.01	786 (65.0)
Acute renal failure	1000 (35.0)	.31	149 (32.6)	<.01	509 (42.1)
Septic shock	340 (11.9)	.04	70 (15.3)	.81	191 (15.8)
Sepsis	478 (16.7)	.04	94 (20.5)	.89	245 (20.2)
Indication for surgery	2022 (70.8)	.03	301 (65.9)	<.01	880 (72.8)
Cardiac surgery	1484 (52.0)	<.01	190 (41.6)	.02	579 (47.9)
Indicated surgery not performed	567 (19.9)	<.01	117 (25.6)	.93	312 (25.8)
Duration of treatment, days, median (IQR)	39 (28–45)	.53	38 (26–45)	.31	41 (23–48)
Hospital stay, days, median (IQR)	34 (21–50)	.11	36 (23–53)	<.01	41 (24–58)
Mortality					
In-hospital	645 (22.6)	<.01	148 (32.4)	.40	418 (34.9)
With surgery	274 (9.6)	.29	51 (11.1)	.60	146 (12.1)
Without surgery	371 (12.9)	<.01	97 (21.2)	.60	272 (22.5)
1-y mortality	779 (27.3)	<.01	191 (41.8)	.80	497 (41.2)
1-y recurrence ^a	35 (1.5)	.10	9 (2.9)	.04	9 (1.1)
Sequelae at discharge ^a	334 (15.1)	.80	45 (14.5)	.36	133 (16.8)

Data are presented as No. (%) unless otherwise indicated. Values in bold refer to results with statistically significant differences.

Abbreviations: CIE, community-acquired infective endocarditis; CNS, central nervous system; HCIE, healthcare-associated infective endocarditis; NIE, nosocomial infective endocarditis.

^aOne-year recurrence and sequelae at discharge rates were calculated using surviving patients as the denominator (CIE, 2209; HCIE, 309; NIE, 791).

Including the results of our cohort, 839 cases of HCIE have been reported to date. For these cases, the average age was 60 years and there was a high proportion of comorbidities, including hemodialysis, diabetes, and valvular heart disease. The predominance of a staphylococcal etiology coincides with most cases [3, 10, 13, 14]. Mortality figures vary widely and in some cases can be up to 50% [13, 14], with an overall mortality rate of 29.3% (246/839).

DISCUSSION

Based on current criteria, 10% of cases in our large multicenter cohort were classified as HCIE, representing one-third of all IE cases that are not community acquired. Previous studies have provided figures that vary widely [3, 9, 10, 13, 14].

We found no reason to consider HCIE as a distinct entity. In our opinion, defining a new major subclass of IE would only be justified in the case of differences in etiology, diagnosis, therapeutic approach, or prognosis. Below we provide our reasoning for this argument.

HCIE patients show a high burden of comorbidities and share many features with NIE. The few differences detected between HCIE and NIE only reflect the initial characteristics of the patients, not their clinical course.

Endovascular procedures appear to be the most common causative mechanism for both HCIE and NIE. Forty-nine percent of HCIE patients received hemodialysis and 21% had been fitted with some type of IV catheter, whose presence has been linked to the origin of HCIE in up to 40%–60% of cases [4, 13].

The presence of HCIE fails to identify a group of patients with a different etiology to NIE. In our cohort, *S aureus* was the most frequent etiological agent. In effect, staphylococci are the most frequent etiology in both HCIE and NIE. Other authors have reported similar findings (Supplementary Table 3) describing a population with a high prevalence of comorbidities, many patients on hemodialysis, and a predominantly staphylococcal etiology.

This classification should be useful to ensure the rapid and correct identification of HCIE patients. As these patients are community derived, they could easily be misclassified as CIE, with a worse prognosis and many similar characteristics to NIE. Remarkably, we observed no diagnostic delay in our HCIE series.

For IE associated with diagnostic and therapeutic procedures, empiric coverage of methicillin-resistant staphylococci, enterococci, and gram-negative pathogens is recommended [15]. According to our findings, the empirical treatment of HCIE should not differ from that of NIE. In effect, there were no significant differences in the proportions of correct empirical

Table 5. Patients With Healthcare-Associated Infective Endocarditis Receiving Versus Not Receiving Hemodialysis (n = 457)

Characteristic	No Hemodialysis (n = 234)	Hemodialysis (n = 223)	P Value
Age, y, median (IQR)	69 (59–78)	66 (54–74)	<.01
Male sex	161 (68.8)	142 (63.6)	.25
Comorbidities			
Pulmonary disease	44 (18.8)	39 (17.4)	.72
Hypertension	170 (72.6)	152 (68.1)	.29
Coronary heart disease	58 (24.7)	68 (30.5)	.17
Heart failure	74 (31.6)	92 (41.2)	.03
Diabetes	78 (33.3)	99 (44.4)	.02
Peripheral vascular disease	35 (14.9)	73 (32.7)	<.01
Neoplasm	72 (30.8)	34 (15.3)	<.01
CKD	67 (28.6)	223 (100.0)	<.01
Native valve disease	95 (40.6)	89 (39.9)	.88
Immunosuppressive therapy	30 (12.8)	30 (13.4)	.84
Etiology			
<i>Staphylococcus aureus</i>	58 (24.8)	103 (46.2)	<.01
MRSA	14 (5.9)	16 (7.1)	.8
CoNS	45 (19.2)	60 (26.9)	.05
<i>Enterococcus</i> spp	62 (26.5)	27 (12.1)	<.01
<i>Streptococcus</i> spp	40 (17.1)	10 (4.5)	<.01
<i>Candida</i> spp	5 (2.1)	6 (2.7)	.65
Gram-negative bacilli	10 (4.3)	4 (1.8)	.12
Complications			
Septic shock	24 (10.2)	46 (20.6)	<.01
Sepsis	33 (14.1)	61 (27.3)	<.01
Indication for surgery	159 (67.9)	142 (63.7)	.35
Cardiac surgery	116 (49.6)	74 (33.2)	<.01
Indicated surgery not performed	46 (19.7)	71 (31.8)	<.01
Duration of antibiotic treatment, days, median (IQR)	39 (28–44)	38 (21–46)	.61
Hospital stay, days, median (IQR)	37 (24–53)	32 (20–53)	.15
Mortality			
In-hospital death	54 (23.1)	94 (42.2)	<.01
1-y mortality	75 (32.0)	116 (52.0)	<.01
1-y recurrence ^a	7 (3.8)	2 (1.5)	.11
Sequelae at discharge ^a	33 (18.3)	12 (9.3)	<.01

Data are presented as No. (%). Values in bold refer to results with statistically significant differences.

Abbreviations: CKD, chronic kidney disease; CoNS, coagulase-negative staphylococci; IQR, interquartile range; MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

^aOne-year recurrence and sequelae at discharge rates were calculated using surviving patients as the denominator (no hemodialysis, 180; hemodialysis, 129).

treatment for *S aureus* between both groups in our cohort. To our knowledge, this issue has not been previously addressed.

Patients with HCIE were found to receive surgical treatment less frequently than those with NIE. However, this was not the consequence of diagnostic delay, but rather of the high burden of comorbidities and poor baseline status of this group of patients.

A key finding of our study was the similar mortality rate detected among patients with HCIE or NIE. Other reports have indicated widely varying mortality rates of up to 58% in some cases [10, 13]. Patients with IE receiving hemodialysis have been identified as a group showing high mortality [16, 17].

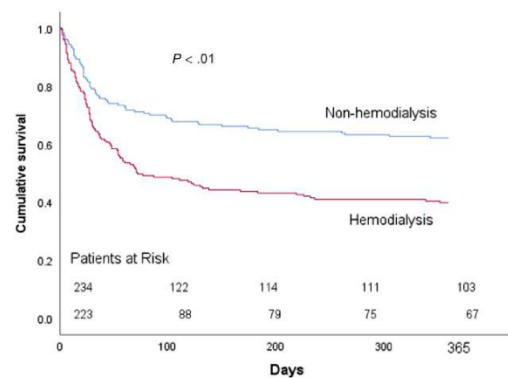


Figure 1. Survival curve of patients with healthcare-associated infective endocarditis according to hemodialysis treatment.

Our data also reveal the importance of ruling out HCIE in patients with IV catheters or under hemodialysis, in whom the absence of prosthetic valves should not preclude the need for an echocardiogram. Infection prevention measures and catheter care precautions are essential in these patients.

Our work has several limitations. Reports describing HCIE are scarce, heterogeneous, and based on small sample sizes. Although there is a notable lack of unification of classification criteria, our definition uses the criteria described in the International Collaboration on Endocarditis–Prospective Cohort Study [3]. A significant percentage of HCIE in our series affected hemodialysis patients. This could be related to the high prevalence of CKD, catheters, or episodes caused by *S aureus* in this group. Despite this, we consider that our study has several strengths as it provides data for the largest HCIE cohort to date and includes prosthetic valve IE.

The concept of healthcare-associated infection in the case of other diseases is also under debate [18]. This classification scheme is based merely on the geographical location of the patient (eg, community, hospital, nursing homes), yet ever-changing healthcare practices such as increasing proportions of out-of-hospital invasive procedures and home treatments have blurred these boundaries.

Within the framework of this controversial topic, our aim was to make a case for a discussion that we consider necessary. While we feel that the place of IE acquisition is important, we could not find relevant differences between acquiring IE at hospital or another healthcare setting, such that this classification does not serve to identify a group of patients showing a different pathogenic mechanism or etiology, nor does it help to make an early diagnosis, or have any therapeutic or prognostic consequences.

Our argument is that the place of IE acquisition might be less relevant than other factors such as the mechanism of

acquisition. For example, if a patient acquires a bloodstream infection as a result of phlebitis due to IV treatment, for disease classification purposes, it probably matters little whether treatment was received at home, in an outpatient clinic, or at hospital. A classification system that distinguishes between community-acquired or healthcare-acquired IE, including hospital admission and all medical actions with risk factors for endovascular infection, might be more appropriate. As the invasive procedure performed (eg, endovascular catheter placement, colonoscopy) may influence the presence of a certain type of pathogen, a more directed management approach and concise prognosis could be provided according to a model based on the pathogenic mechanism of IE acquisition. Given the prognosis of this group of patients, there is a need to correctly define its characteristics. This would help guide public health strategies, for example, those directed toward identifying a need or not for prophylaxis before extrahospital interventions such as dental or endoscopic procedures.

CONCLUSIONS

HCIE affected 10% of patients in our large contemporary series. These patients had significant comorbidities and a high mortality, and the predominant disease etiology was staphylococcal. The lack of differential characteristics and prognostic factors with respect to NIE does not support its consideration as a distinct entity, and makes us question the usefulness of the current classification of IE. A pathogenic approach that analyzes individual risk factors for the acquisition of IE could help to better manage this entity.

Supplementary Data

Supplementary materials are available at *Open Forum Infectious Diseases* online. Consisting of data provided by the authors to benefit the reader, the posted materials are not copyedited and are the sole responsibility of the authors, so questions or comments should be addressed to the corresponding author.

Notes

Author contributions. The manuscript was written by the authors, with D. A., E. B., and P. M. as the overall lead authors. All authors had full access to all the data in the study and had final responsibility for the decision to submit this report for publication. All authors have read and approved the final version of the manuscript.

Acknowledgments. GAMES-HGUGM (Grupo de Apoyo al Manejo de la Endocarditis Infecciosa en España - Hospital General Universitario Gregorio Marañón) study group: Iván Adán, David Alonso, Juan Carlos Alonso, Ana Álvarez-Uría, Javier Bermejo, Emilio Bouza, Gregorio Cuerpo Caballero, Antonia Delgado Montero, Agustín Estévez, Ramón Fortuny Ribas, Esther Gargallo, Ana González Mansilla, María Eugenia García Leoni, Francisco Javier González Moraga, Víctor González Ramallo, Martha Kestler Hernández, Amaia Mari Hualde, Marina Machado, Mercedes Marín, Manuel Martínez-Sellés, Rosa Melero, Patricia Muñoz, Diego Monzón, María Olmedo, Álvaro Pedraz, Blanca Pinilla, Ángel Pinto, Cristina Rincón, Hugo Rodríguez-Abella, Marta Rodríguez-Crêixems, Eduardo Sánchez-Pérez, Antonio Segado, Neera Toledo, Maricela Valerio, Pilar Vázquez, Eduardo Verde Moreno, Sofía de la Villa.

Financial support. This study has been funded by Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) through the project PI20/00575 (Co-funded by European Regional Development Fund/European Social Fund "A way to make Europe"/"Investing in your future"). DAM (CM21/00274) holds a Río Hortega contract funded by the ISCIII.

Potential conflicts of interest. D. A. received support from Angelini and Shionogi to attend meetings. M. V. reports honoraria for lectures and support to attend meetings from Pfizer, MSD, and ViiV/GSK. M. A. G. received payment for expert testimony for ViiV and support for travel from Angelini. P. M. reports consulting fees, honoraria for lectures, and payment for expert testimony from Gilead, Mundipharma, and Pfizer and support for attending meetings from Pfizer. All other authors report no potential conflicts.

References

- 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*:e1816.
- Habib G, Erba PA, Iung B, et al. Clinical presentation, aetiology and outcome of infective endocarditis. Results of the ESC-EORP EURO-ENDO (European infective endocarditis) registry: a prospective cohort study. *Eur Heart J* **2019**; *40*: 3222–32.
- 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*: 586–94.
- Fernández-Hidalgo N, Almirante B, Tornos P, et al. Contemporary epidemiology and prognosis of health care-associated infective endocarditis. *Clin Infect Dis* **2008**; *47*:1287–97.
- 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 [in Spanish]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* **2013**; *31*: 15–22.
- Kiriyama H, Daimon M, Nakanishi K, et al. Comparison between healthcare-associated and community-acquired infective endocarditis at tertiary care hospitals in Japan. *Circ J* **2020**; *84*:670–6.
- Ambrosioni J, Hernandez-Meneses M, Téllez A, et al. The changing epidemiology of infective endocarditis in the twenty-first century. *Curr Infect Dis Rep* **2017**; *19*:21.
- Murdoch DR, Corey GR, 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*:463–73.
- Siegmán-Igra Y, Koifman B, Porat R, Porat D, Giladi M. Healthcare associated infective endocarditis: a distinct entity. *Scand J Infect Dis* **2008**; *40*(6-7):474–80.
- Yang F, Zhang B, Yu J, et al. Epidemiology and the prognosis of healthcare-associated infective endocarditis in China: the significance of non-nosocomial acquisition. *Emerg Microbes Infect* **2015**; *4*:e38.
- Li JS, Sexton DJ, Mick N, et al. Proposed modifications to the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis. *Clin Infect Dis* **2000**; *30*:633–8.
- Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis* **1987**; *40*:373–83.
- Lomas JM, Martínez-Marcos FJ, Plata A, et al. Healthcare-associated infective endocarditis: an undesirable effect of healthcare universalization. *Clin Microbiol Infect* **2010**; *16*:1683–90.
- Wu KS, Lee SS, Tsai HC, et al. Non-nosocomial healthcare-associated infective endocarditis in Taiwan: an underrecognized disease with poor outcome. *BMC Infect Dis* **2011**; *11*:221.
- Habib G, Lancellotti P, Antunes MJ, et al. 2015 ESC guidelines for the management of infective endocarditis: the Task Force for the Management of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC). endorsed by: European Association of Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), the European Association of Nuclear Medicine (EANM). *Eur Heart J* **2015**; *36*:3075–128.
- Pericàs JM, Llopis J, Jiménez-Exposito MJ, et al. Infective endocarditis in patients on chronic hemodialysis. *J Am Coll Cardiol* **2021**; *77*:1629–40.
- Nucifora G, Badano LP, Viale P, et al. Infective endocarditis in chronic haemodialysis patients: an increasing clinical challenge. *Eur Heart J* **2007**; *28*:2307–12.
- Wunderink RG, Srinivasan A, Barie PS, et al. Antibiotic stewardship in the intensive care unit. An official American Thoracic Society workshop report in collaboration with the AACN, CHEST, CDC, and SCCM. *Ann Am Thorac Soc* **2020**; *17*: 531–40.

8.4 Anexo 4. Comunicaciones a congresos



ESCMID Executive Office
Gerbergasse 14
4001 Basel
Switzerland
info@escmid.org
www.escmid.org
Phone +41 61 508 01 56

Basel, 28th April 2023

ECCMID 2023 Paper Poster presentation certificate

To whom it may concern:

We hereby confirm that the below abstract was submitted, accepted, and presented during poster session at the 33rd ECCMID (European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases), which took place in Copenhagen, Denmark, from 15 – 18 April 2023.

Title: Bloodstream infections: evolution, trends and changes in incidence and etiology in the last decade (2010 – 2021) from a tertiary care hospital

Presenting author: Alonso Menchén David

Authors and Affiliation: David ALONSO-MENCHÉN [1, 2], Carlos SÁNCHEZ-CARRILLO [1, 2, 3], Luis ALCALÁ [1, 2, 3], Patricia MUÑOZ [1, 2, 4], Emilio BOUZA [1, 2, 4] - [1]Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Spain, [2]Gregorio Marañón Health Research Institute, Spain, [3]CIBER of Respiratory Diseases [CIBERES CB06/06/0058], Spain, [4]CIBER of Respiratory Diseases [CIBERES CB06/06/0058]; Medicine Department, Faculty of Medicine, Universidad Complutense de Madrid, Spain
[1] Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Spain, [2] Gregorio Marañón Health Research Institute, Spain, [3] CIBER of Respiratory Diseases [CIBERES CB06/06/0058], Spain, [4] CIBER of Respiratory Diseases [CIBERES CB06/06/0058]; Medicine Department, Faculty of Medicine, Universidad Complutense de Madrid, Spain

Session Title: 2b. Severe sepsis, bacteraemia & endocarditis (incl. epidemiology, diagnosis, host biomarkers, treatment and outcome prediction)

Abstract/ePoster Number: 2979/P1195

Sincerely yours,

Jacob Moran-Gilad
ECCMID Programme Director



ESCMID Executive Committee: A. Zinkernagel, President, Zurich, CH; M. Sanguinetti, Immediate Past-President, Rome, IT; Robert L. Skov, President-elect and Secretary General, Copenhagen, DK; A. Friedrich, Treasurer, Münster, Germany; E. Cambau, Education Officer, Paris, FR; Jon S. Friedland, Scientific Affairs Officer, London, UK; Anu Kenttele, Professional Affairs Officer, Helsinki, FI; José Ramón Paño-Pardo, Guidelines, Publication and Communications Officer, Zaragoza, ES; Ad hoc Members: Ch. Glöckle, EUEAST Chairperson, Stockholm, SE; E. Tacconelli, EUICC Chairperson, Verona, IT; L. Scudeller, ESCMID Guidelines Director, Bologna, IT; L. Leibovici, CM/Editor-in-Chief, Petah-Tiqva, IL; Jacob Moran-Gilad, ECCMID Programme Director, Beer Sheva, IL; M. Akova, ESCMID Membership Counsellor and Ethics Advisory Committee Chairperson, Ankara, TR.



CERTIFICADO DE PARTICIPACIÓN

La Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica – SEIMC

CERTIFICA QUE:

D. Alonso Menchén, E. Bouza, M. Valerio, J.M. Miró, M.M. Hernández Meneses, A. De Alarcón, M.C. Fariñas, M.Á. Goenaga, A. Plata, A. Ramos, F.J. Martínez Marcos, P. Muñoz

Han realizado la presentación ORAL de la comunicación con título:

**Endocarditis infecciosa relacionada con la asistencia sanitaria (EIRAS).
Datos de la cohorte GAMES (2008-2021).**

En el XXV Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica celebrado en Granada del 2 al 4 de junio del 2022.

Granada, a 4 de junio de 2022

DOCUMENTO FIRMADO DIGITALMENTE
<https://rnt.rnarenet.pacifico-mestfingis.com/Esp/erisof/aeas/comprob.ar/Certificadofirmado.x?mifocd=AY749-C163241-PCA659-PD3993-V1>

Dr. Antonio Rivero
Presidente de la SEIMC

Dra. Carmen Fariñas
Presidenta Comité Científico Congreso

0068



ESCMID Executive Office
Gerbergasse 14
4001 Basel
Switzerland
info@escmid.org
www.escmid.org
Phone +41 61 508 01 56

Basel, 28th April 2023

ECCMID 2023 Oral presentation certificate

To whom it may concern:

We hereby confirm that the below abstract was submitted, accepted, and presented at the 33rd ECCMID (European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases), which took place in Copenhagen, Denmark, & online from 15 – 18 April 2023.

Title: Cutibacterium species infective endocarditis in Spain: data from the GAMES cohort (2008-2022)

Presenting author: David Alonso Menchén

co-Authors and Affiliation: D. Alonso Menchén 1, 2, M. Marín 1, 2, 3, A. Ramos 4, E. Gómez 5, C. Hidalgo 6, A. De Alarcón 7, M.Á. Goenaga 8, M.Á. Rodríguez 9, E. García 10, P. Muñoz 1, 2, 11.

1Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Hospital General Universitario Gregorio Marañón - Madrid (Spain), 2Gregorio Marañón Health Research Institute - Madrid (Spain), 3CIBER of Respiratory Diseases [CIBERES CB06/06/0058] - Madrid (Spain), 4Puerta de Hierro University Hospital - Madrid (Spain), 5Doctor Negrín University Hospital - Las Palmas De Gran Canaria (Spain), 6Virgen de las Nieves University Hospital - Granada (Spain), 7Virgen del Rocío University Hospital - Seville (Spain), 8Donostia University Hospital - San Sebastian (Spain), 9Central de Asturias University Hospital - Oviedo (Spain), 10Virgen de la Arrixaca University Hospital - Murcia (Spain), 11CIBER of Respiratory Diseases [CIBERES CB06/06/0058]; Medicine Department, School of Medicine, Universidad Complutense de Madrid - Madrid (Spain)

Session Title: Endocarditis update 2023

Session Title: 2-Hour Oral Session

Abstract/Presentation Number: 2957/00795

Sincerely yours,

A handwritten signature in black ink, which appears to read 'jacob moran-gilad'.

Jacob Moran-Gilad
ECCMID Programme Director



ESCMID Executive Committee: A. Zinkernagel, President, Zurich, CH; M. Sanguinetti, Immediate Past-President, Rome, IT; Robert L. Skov, President-elect and Secretary General, Copenhagen, DK; A. Friedrich, Treasurer, Münster, Germany; E. Cambau, Education Officer, Paris, FR; Jon S. Friedland, Scientific Affairs Officer, London, UK; Anu Kantele, Professional Affairs Officer, Helsinki, FI; José Ramón Pardo-Pardo, Guidelines, Publication and Communications Officer, Zaragoza, ES; Ad hoc Members: Ch. Giske, EUCAST Chairperson, Stockholm, SE; E. Tacconelli, EUIC Chairperson, Verona, IT; L. Scudeller, ESCMID Guidelines Director, Bologna, IT; L. Leibovici, CM/Editor-in-Chief, Petah-Tiqva, IL; Jacob Moran-Gilad, ECCMID Programme Director, Beer Sheva, IL; M. Akova, ESCMID Membership Counsellor and Ethics Advisory Committee Chairperson, Ankara, TR.



Santiago de Compostela
1/3 de junio de 2023



CERTIFICADO DE PARTICIPACIÓN

La Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica – SEIMC

CERTIFICA QUE:

D. Alonso Menchén, M. Marín, M. Villamarín, N. Fernández, A. Ramos, E. Gómez, C. Hidalgo, A. De Alarcón, M.Á. Goenaga, M.Á. Rodríguez, E. García, P. Muñoz

Han realizado la presentación ORAL de la comunicación con título:

Endocarditis infecciosa por *Cutibacterium* spp. en la cohorte GAMES (2008-2022)

En el XXVI Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica celebrado en Santiago de Compostela del 1 al 3 de junio del 2023.

Santiago de Compostela, a 3 de junio de 2023

DOCUMENTO FIRMADO DIGITALMENTE
<https://trianet.pacifico-meetings.com/Esp/ensof/areas/comprobacion/CertificadoFirmado.xhtml?codf=A1830-C187440-PCA837-PDI1188-V1>

Dr. Antonio Rivero
Presidente de la SEIMC

Dr. Antonio Oliver
Presidente Comité Científico Congreso

0210

