



La otra historia

de los antimicrobianos

antimicrobianos

antimicrobianos

Coordinador:
José Ángel García Rodríguez

Autores:
José Barberán López
José González Núñez
Ana Orero González
José Prieto Prieto

 **Ars Medica**



Reservados todos los derechos.

Queda rigurosamente prohibida, sin la autorización escrita de los titulares del copyright, bajo las sanciones establecidas por las leyes, la reproducción parcial o total de esta obra por cualquier medio o procedimiento, comprendidos la reprografía y el tratamiento informático, y la distribución de ejemplares mediante alquiler o préstamo públicos.

© 2006 De los autores

© 2006 Grupo Ars XXI de Comunicación, S.L.

Passeig de Gràcia 84, 1.ª planta - 08008 Barcelona

www.ArsXXI.com

ISBN: 84-9751-210-3

Depósito Legal: M-15258-2006

Impreso en España

PRESENTACIÓN

Tanto las enfermedades infecciosas como su tratamiento han sido siempre fenómenos inseparables de la vida del hombre. El hombre ha tratado de luchar en todas las épocas contra el dolor y la enfermedad ocasionados por los microorganismos patógenos para preservar la vida y la salud. Históricamente se pueden distinguir cuatro medios fundamentales de lucha contra la infección: el espontáneo, el empírico, el mágico-religioso y el científico. La preponderancia de cada uno de ellos se corresponde con etapas determinadas en la historia del hombre.

La etapa científica en el tratamiento de la enfermedad infecciosa comenzó en la segunda mitad del siglo XIX y en su desarrollo influyeron decisivamente dos acontecimientos: el establecimiento de la teoría microbiana de la enfermedad y el rápido progreso de la farmacología como ciencia. Las consecuencias de ambos fenómenos y la interrelación entre ellos culminó en la moderna terapéutica antimicrobiana, que tuvo como base la Quimioterapia sintética, es decir, la producción en el laboratorio de sustancias químicas, algunas similares a los principios activos de los productos naturales y otras no existentes de forma espontánea en la Naturaleza. El descubrimiento del salvarsán y del neosalvarsán, las famosas "balas mágicas" hechas realidad por Paul Ehrlich, fueron la culminación de este proceso y, además, trazaron el camino principal para el posterior descubrimiento de la penicilina por parte de Alexander Fleming y el desarrollo de las distintas familias de antibióticos de las que se ha podido beneficiar la Humanidad en los últimos sesenta años.

Los antibióticos han contribuido decisivamente tanto al aumento de la esperanza de vida de la población como a la mejora de la calidad de vida de las sociedades occidentales y sus repercusiones han sido considerables tanto en el ámbito social y económico como en el político y cultural. Los antibióticos han sido, como probablemente ningún otro grupo de medicamentos, fuente de riqueza y bienestar, pero, por esa casi inevitable ley jánica del progreso, el uso y abuso de los mismos ha traído consigo importantes problemas sanitarios y medioambientales, a la cabeza de los cuales hay que situar la aparición y desarrollo de las resistencias bacterianas.

El problema de las resistencias bacterianas no es nuevo. El propio Fleming poco después del descubrimiento de la penicilina ya advertía que su mal uso podía llevar a la selección y propagación de mutantes resistentes al antibiótico. Sin embargo, ha sido en las últimas décadas cuando el fenómeno de las resistencias ha adquirido tintes verdaderamente dramáticos hasta el punto de llevar a la propia Organización Mundial de la Salud a dar la voz de alarma sobre los peligros de una crisis a nivel mundial y los riesgos de volver en los casos de determinadas enfermedades infecciosas a una situación similar a la de la era antibiótica.

Ante el "genio" humano que ha permitido identificar a los microorganismos patógenos, diseñar "balas mágicas" y descifrar el genoma de muchos de ellos, el "genio" de las bacterias ha desarrollado mecanismos no menos "inteligentes" para sobrevivir y perpetuarse, unas veces elaborando imaginativos sistemas de autoprotección y otras aprendiendo a hacerse resistentes. Y no sólo a un determinado antibiótico o familia, sino a varios. Hoy el problema de la resistencia, primeramente observado con los estafilococos, se ha extendido tanto a patógenos Gram positivos como Gram negativos, tanto a cocos como a bacilos, alcanza tanto al hospital como a la comunidad y no se limita a un único mecanismo sino que presenta diferentes alternativas. Además, los microorganismos multirresistentes han dejado de ser una anécdota y se han convertido en una realidad cotidiana de nuestros centros sanitarios.

La respuesta del hombre al problema de las resistencias bacterianas procede por una parte de nuevos proyectos imaginativos de I+D+i, que están posibilitando nuevas alternativas terapéuticas eficaces de las que es un buen ejemplo la tigeciclina, por otra de nuevas estrategias terapéuticas en la manera de utilizar los antibióticos y, sobre todo, la concienciación no sólo de los profesionales sanitarios sino también de la población general de la imperiosa necesidad de utilizar los antimicrobianos de forma racional, razonada y razonable.

En los capítulos de este libro encontrará el lector un ameno recorrido por el transcurrir de esa larga "partida de ajedrez" que mantienen el "genio" del hombre y el "genio" del germen bajo la atenta mirada del dios Jano.

José Ángel García Rodríguez
Presidente de la Sociedad Española de Quimioterapia

ÍNDICE

Del método a la razón, del empirismo a la ciencia	1
<i>José González Núñez y Ana Orero González</i>	
El caldo de cultivo de la antibioterapia científica	4
<i>José González Núñez y Ana Orero González</i>	
Paul Ehrlich y su famosa "bala mágica"	7
<i>José González Núñez y Ana Orero González</i>	
Fleming: de la lisozima a la penicilina	9
<i>José González Núñez y Ana Orero González</i>	
De las sulfamidias a la introducción clínica de la penicilina	14
<i>José González Núñez y Ana Orero González</i>	
La cuestión del genio y el germen	20
<i>José Prieto Prieto y José González Núñez</i>	
Los estafilococos comienzan a complicar la vida del médico y del enfermo	24
<i>José Prieto Prieto</i>	
Problemas de resistencia a la penicilina y a la meticilina	27
<i>José Prieto Prieto</i>	
Otros microorganismos comienzan a imitar a los estafilococos	30
<i>José Prieto Prieto</i>	
La resistencia invade el hospital	33
<i>José Prieto Prieto</i>	
Ciclo indefinido I+D+R+i	36
<i>José Prieto Prieto</i>	
España, un país de resistencias	40
<i>José Barberán López</i>	
La multiresistencia, de la anécdota a la rutina	43
<i>José Barberán López</i>	
La multiresistencia sale del hospital	46
<i>José Barberán López</i>	
Algunos auténticos problemas de salud pública	48
<i>José Prieto Prieto</i>	
Las infecciones polimicrobianas y la necesidad de soluciones imaginativas	51
<i>Jose Prieto Prieto</i>	
Utilidad del tratamiento empírico en las infecciones por patógenos multiresistentes	53
<i>José Barberán López</i>	
Más allá de las limitaciones actuales: las aportaciones de la tigeciclina	56
<i>José Barberán López</i>	
Bibliografía	58

DEL MÉTODO A LA RAZÓN, DEL EMPIRISMO A LA CIENCIA

Aunque la identificación, el conocimiento y la determinación del papel de los microorganismos como responsables de las enfermedades infecciosas son hechos recientes, el interés por conocer las causas de la infección y el modo de combatirla comenzó, sin embargo, mucho antes: es tan viejo como el hombre. La paleopatología aporta cada día más datos que confirman que las enfermedades infecciosas y su tratamiento han sido siempre fenómenos inseparables de la vida del hombre, destruyendo el viejo mito de los "tiempos paradisiacos" libres de las mismas.

Desde el amanecer de la Humanidad, el hombre ha luchado en todas las épocas contra el dolor y la enfermedad para preservar la vida y la salud e incrementar su bienestar. Cada civilización ha tenido que asumir sus males y ha tratado de combatirlos aplicando remedios terapéuticos según sus creencias y los conocimientos adquiridos por la experiencia. Históricamente ha habido cuatro medios de lucha contra la enfermedad: el espontáneo, el empírico, el mágico-religioso y el científico.

La primera actitud del hombre primitivo ante la enfermedad debió ser puramente espontánea. De manera semejante a los animales, el instinto fue quien primero guió al hombre para buscar remedios con los que aliviar sus males lamitando o limpiando sus heridas, desparasitándose, previniendo ciertos procesos infecciosos y atenuando algunas de sus manifestaciones sintomatológicas, como la fiebre o el dolor, mediante la ingestión de plantas. Según planteaba ya A. C. Celso en su famoso tratado *Los ocho libros de la Medicina*, inigualable resumen de cuanto se había dicho y hecho en Medicina hasta la primera mitad del siglo I a. C.:

"No es verdad que en su origen la Medicina haya sido la consecuencia de cuestiones previamente planteadas, puesto que ha nacido de la observación de los hechos (...). Por tanto, la Medicina no nació del razonamiento, sino que éste vino después de la Medicina".

Incluso en las primeras actuaciones meramente instintivas del hombre, como lamer las heridas –reproduciendo las conductas seguidas por los animales–, puede observarse ya un principio de "terapia antibiótica": se ha podido demostrar que lamer una herida reduce la contaminación bacteriana y estimula su curación porque la saliva contiene sustancias antimicrobianas que incluyen, entre otras, tiocinato, nitrato y lisozima.

Más tardía es la experiencia empírica, que nació, tal y como subraya L. Girod, de comprobaciones ocasionales repetidas y del recuerdo y de la conservación en la memoria colectiva de ciertos resultados afortunados obtenidos fortuitamente. Ante la repetida observación de un hecho frecuente, como la contaminación de heridas o la presencia de parásitos, al que habitualmente sigue un cuadro anormal de alteraciones distintas, el hombre primitivo reaccionó sin reflexionar por qué se producía aquel hecho; se limitó a constatar lo que su experiencia le mostraba evidente y actuó de acuerdo con prácticas curativas que en ocasiones semejantes habían resultado eficaces. Por algunos vestigios vegetales hallados en lugares de asentamiento de diversos pueblos primitivos, se ha podido demostrar el cultivo de diferentes plantas medicinales y el intercambio que de ellas hacían las comunidades primitivas, lo que pone de manifiesto que el hombre aprendió poco a poco a utilizar las plantas como medio terapéutico, aunque evidentemente se aplicaban sin fundamento y la mayor parte de las veces sin comprensión de los efectos.

Mediante el método de "ensayo-error", el hombre prehistórico fue encontrando plantas y sustancias minerales que resultaban eficaces frente a las infecciones y construyó poco a poco una auténtica farmacopea para el tratamiento de los procesos infecciosos basada en conocimientos –rudimentarios si se quiere– acerca de la desinfección. Así sucede, por ejemplo, con los aborígenes australianos, de los cuales es bien conocido el uso que han hecho desde los tiempos más remotos de las hojas de té para tratar heridas, mordeduras y todo tipo de infecciones cutáneas. Curiosamente, en el primer tercio del siglo XX, antes de los descubrimientos de las sulfamidas y los antibióticos, el aceite del árbol del té se empleó muy profusamente en la mayoría de los países orientales al descubrirse que tenía un poder antiséptico mucho más elevado que el fenol.

Al principio estos remedios terapéuticos se utilizaban tal y como los ofrecía la Naturaleza; más tarde se comenzó a reducir su tamaño para facilitar su administración y aplicación y a mezclar sustancias medicinales con alimentos como la leche, la miel, la grasa o los frutos, que sirven de vehículos. Cuando dispuso del fuego, el hombre ya pudo hacer preparaciones medicamentosas para uso externo o interno, dando lugar así a las primeras formas farmacéuticas.

Con el paso del tiempo, el hombre pasó de nómada a sedentario y comenzó a pensar en el pasado y en el futuro tratando de explicarse los hechos y el porqué de las enfermedades; entonces surgió el concepto de castigo divino como causa de ellas y la magia primero y la religión después se unieron al empirismo en el tratamiento de las enfermedades. Así, el hombre neolítico formuló explicaciones sobre la vida humana y puso en marcha procedimientos rituales para curar las enfermedades. La concepción mágico-religiosa tampoco se fundamentaba en el conocimiento de la acción del remedio terapéutico utilizado, sino en la fe del enfermo en la virtud mágica del mismo y en la intervención de los dioses a través del sanador.

No obstante, en las culturas arcaicas se aprecia ya una clara diferenciación entre las enfermedades infecciosas (sobre todo las epidémicas) que podían tener un origen sobrenatural –enviadas por los dioses como castigo por los pecados del hombre, por los dioses eran curadas– y aquellas otras que podían deberse a causas naturales y, por tanto, ser tratadas con remedios naturales. Además, en la mayoría puede apreciarse ya una terapéutica "objetiva". Como ejemplos, baste citar los siguientes: una tablilla sumeria del año 2150 a. C. muestra cómo los médicos mesopotámicos lavaban las heridas con cerveza, que, como es sabido hoy, contiene principios activos contra los estafilococos dorados, mientras que la población parece que utilizaba un preparado similar al jabón; los papiros egipcios muestran el uso que hacían los antiguos pobladores del valle del Nilo de diversos "antibióticos naturales", como el ajo, la cebolla, el aloe vera, etc., así como de la levadura de cerveza para el tratamiento de las heridas y de ciertos preparados minerales: cobre –empleado en el tracoma–, antimonio –utilizado en la lepra– e incienso, cuya combustión produce ácido fénico, sustancia con la que se inició la moderna era de la antisepsia; por otra

parte, es bien conocido que los médicos de la antigua China conocían ya la práctica de la antibiosis en el tercer milenio a. C. y aplicaban la cáscara enmohecida de la soja en el tratamiento de diversas infecciones dermatológicas, intuían el contagio de la tuberculosis, a la que trataban con distintos remedios, y aplicaban el aceite de chaulmoogra en el tratamiento de la lepra; en el Israel bíblico era corriente el uso del hisopo, planta en la que, a principios del siglo XX, se descubrió el *Penicillium notatum*, posterior fuente de compuestos penicilínicos; por último, de los pueblos precolombinos proceden la zarzaparrilla, el guayaco o palo santo, la quina, el mastuerzo y otras muchas plantas utilizadas durante mucho tiempo para combatir diferentes enfermedades infecciosas.

Aunque tiene sus antecedentes en la actitud racional de los griegos ante la enfermedad (qué es el enfermo, qué es el remedio y por qué se hace lo que se hace) y en el "empirismo racionalizado" de los siglos XVI-XVIII, el verdadero conocimiento científico de la enfermedad comienza en la segunda mitad del siglo XIX, sobre todo a partir del establecimiento por parte de L. Pasteur y R. Koch del origen microbiano de las infecciones y del enorme despliegue de la farmacología, que trajo consigo una nueva forma de curar basada en una terapéutica científica.

Antes, a lo largo de la Edad Media y del Mundo Moderno, la medicina hipocraticogalénica tuvo, en relación a la terapéutica, a Dioscórides como el gran referente. En su famosa y varias veces reeditada *Materia medica* describe un buen número de plantas para el tratamiento de las enfermedades infecciosas, en algunas de las cuales se han podido caracterizar sustancias con propiedades antimicrobianas; es el caso de la "barba de capuchino" o musgo de los árboles (*Usnea barbata*), que contiene ácido úsnico, secante y antiséptico que ha demostrado poseer propiedades antibióticas y cuyo empleo fue recomendado también por los médicos árabes durante la Edad Media; o del aloe vera, uno de los clásicos ejemplos entre las plantas medicinales cuya eficacia terapéutica se conoció mucho antes de que los investigadores modernos dieran respuesta a sus cualidades antimicrobianas y estimulantes del sistema inmunitario. Según Dioscórides, el vino de arrayán (mirto) cura las viruelas, las úlceras pútridas y los "oidos que manan materia"; el ajo es eficaz en los

problemas intestinales, mientras que las preparaciones de *Quercus* sanan las llagas malignas y son útiles contra la ble-norragia y el terebinto sirve para sanar la sarna y otras infecciones de la piel. Al "Dioscórides", continuamente renovado, se unieron, como acontecimientos fundamentales en la evolución de la terapéutica antimicrobiana, las aportaciones de Fracastoro y Paracelso.

La mentalidad etiopatológica, basada fundamentalmente en la teoría del germen de L. Pasteur, en las famosas reglas que R. Koch estableció para poder afirmar que "tal microbio" es el verdadero causante de "tal enfermedad" y en el aserto de E. Klebs de que la enfermedad es siempre infección –dependiendo el cuadro clínico correspondiente del germen infectante–, provocó un cambio fundamental en la manera de concebir la enfermedad y su tratamiento en el último tercio del siglo XIX. A partir de ella, el gran investigador alemán P. Ehrlich pudo abrir un nuevo camino para el desarrollo de la farmacología con el inicio de la terapéutica experimental. Patogenia y terapéutica quedaban así indisolublemente unidas en la historia de la Medicina.

En el prólogo a una de las primeras obras acerca de los antimicrobianos editados en España tras el descubrimiento de la penicilina, realizado por F. Bustinza, el profesor Gregorio Marañón hace una glosa de los cien años que condujeron a la introducción clínica de la penicilina:

"No lo olvidemos. En estos cien años hemos visto nacer la antisepsia, con Lister, el gran precursor inglés; y el inmenso edificio de la Bacteriología, con Pasteur; y con él y con Koch, Behring, Roux y Calmette, los vastos recursos de naturaleza vaccinal y suerológica contra las infecciones; (...) hemos asistido a la aurora de la Quimioterapia, en la primera decena de siglo, en el pequeño laboratorio de Ehrlich, rodeado de frondas, junto al Maine, con su 'salvarsán', que inicia el comienzo de la desaparición de la sífilis; cuando la guerra actual iba a estallar y se movilizaban las masas de hombres armados y las ruidosas máquinas de destrucción, en los mismos días surgían a la otra orilla, en la de la paz y el bien, las sulfamidias, que en unos cuantos años ha-



El verdadero conocimiento científico de la enfermedad comenzó en la segunda mitad del siglo XIX con el establecimiento por parte de L. Pasteur y R. Koch del origen microbiano de las infecciones.
Retrato de L. Pasteur.

bían salvado muchas más vidas que todas las que inútilmente han destruido los medios bélicos; y, por fin, ahora mismo, en plena destrucción de Europa, Florey amplía las investigaciones realizadas en los años 1928-1932 por Fleming –el gran bacteriólogo descubridor de la penicilina– y pone de relieve las virtudes terapéuticas de este nuevo medicamento que en nuestras horas luctuosas redime al hombre del pecado de su crueldad; porque entre los cañones y los lanzallamas se insinúa, como un milagro de misericordia, su benéfica, callada y salvadora acción (...). Y todo esto ha sido presenciado por una sola generación, como la mía".

EL CALDO DE CULTIVO DE LA ANTIBIOTERAPIA CIENTÍFICA

A lo largo del siglo XIX se produjeron dos hechos de importancia capital en el desarrollo científico de la terapéutica antimicrobiana. En primer lugar, la constitución de la Microbiología médica como disciplina científica, que permitió la construcción de una etiología de base experimental y, como consecuencia, la consolidación de la mentalidad etiopatológica, cuyo máximo exponente es la teoría microbiana de la enfermedad. En segundo lugar, el nacimiento y la rápida evolución de la farmacología científica a partir de los trabajos experimentales de R. Buchheim y O. Schmiedeberg que permitieron reducir la asombrosa complejidad del organismo biológico a sus componentes elementales de carácter fisicoquímico y conocer con rigurosidad la relación existente entre la composición química de un fármaco y su acción en el organismo.

La culminación lógica de los resultados de la terapéutica moderna fue la Quimioterapia sintética, es decir, la producción en el laboratorio no sólo de los principios activos de los productos naturales, sino también de sustancias químicas no existentes de forma espontánea en la Naturaleza. Las investigaciones de P. Ehrlich tendentes a la búsqueda y consecución de sus famosas "balas mágicas" (*magische kugeln*) marcan la cumbre de este proceso, pero el punto de partida podemos situarlo en J. Henle, quien en 1840 defendió desde un punto de vista científico el origen microbiano de las enfermedades contagiosas y la especificidad de los gérmenes.

Algo después, J. Davaine describe el bacilo causante del carbunco (1855) y produce experimentalmente la enfermedad (1860). Por esas mismas fechas, L. Pasteur mostró la interacción entre un *Penicillium* y algunas bacterias y señaló que las bacterias (*infusoria*) no se desarrollaban en un caldo de cultivo cuando estaba presente el *Penicillium*. Sería también L. Pasteur quien descubriera la vida anaerobia, desmintiera mediante pruebas experimentales la teoría de la generación espontánea, demostrara la teoría microbiana de la infección y formulara la ley fundamental de la acción antibiótica.

Sin embargo, las reticencias a aceptar el papel de los gérmenes patógenos en las infecciones y su transmisión eran todavía muy fuertes y numerosas. Buena prueba de ello fue

lo ocurrido con los trabajos independientes de I. Ph. Semmelweis (1847) y O. W. Holmes (1843) acerca de la demostración del carácter infectocontagioso de la fiebre puerperal. El simple lavado con un desinfectante de las manos de los médicos y las comadronas que atendían a las parturientas –el primero en emplearse fue el hipoclorito cálcico– consiguió reducir extraordinariamente (del 10 al 1%) la tasa de mortalidad en las maternidades.

No obstante, las críticas y oposiciones a los trabajos de ambos investigadores fueron tantas, que Semmelweis sufrió graves trastornos psiquiátricos y murió prematuramente, mientras que Holmes, que vivió lo suficiente para comprobar que su teoría era acertada, tan sólo tuvo el recurso de denunciar la "cerrazón" de sus eminentes colegas: "parece que la lógica médica ni se enseña ni se practica en nuestras escuelas".

En 1874 el médico y darwinista inglés W. Roberts describió las propiedades antibióticas de ciertos cultivos de hongos (*Penicillium glaucum*) contra las bacterias, introduciendo así en microbiología el concepto de "antagonismo". Poco antes, J. Burdon (1870), J. Lister (1871) y J. G. Polichnov (1872), y poco después, J. Tyndall y T. Huxley (1875), publicaron observaciones similares y la idea del antagonismo, no sólo como fenómeno biológico sino también como aplicación a la terapéutica, fue creciendo en la bibliografía científica. Sobre el trabajo de Lister escribiría A. Fleming una vez descubierta la penicilina:

"Lister tuvo idea de la penicilina, pero cultivó un moho inadecuado o bacterias inadecuadas o las dos cosas. Si la suerte se hubiera mostrado amable con él, la historia de la Medicina hubiera sido otra y Lister habría visto en vida lo que siempre había buscado, un antiséptico no tóxico."

En 1877 se produjo un hecho de gran trascendencia para el desarrollo posterior de la terapéutica antimicrobiana por las implicaciones prácticas que el fenómeno podía tener. L. Pasteur y J. Joubert notaron que los bacilos del ántrax crecían rápidamente cuando se inoculaban en orina esterilizada, pero no se multiplicaban y morían pronto si una de las bacterias comunes del aire se introducía al mismo tiempo en la orina. Este experimento produjo resultados similares en animales, y en su trabajo *Charbon et septicémie* ambos autores explicaban el antagonismo observado comentando que "la vida

destruye a la vida" y declarando que esta observación podría significar una gran promesa para la terapéutica:

"La orina neutra o ligeramente alcalina es un medio excelente para el bacilo (...), pero si uno de los microorganismos aerobios corrientes se siembra al mismo tiempo, el bacilo del carbunco se desarrolla sólo pobremente y muere más pronto o más tarde. Es un hecho notable que se llegue a observar este mismo fenómeno en el cuerpo, aun en aquellos animales más susceptibles al carbunco, lo que conduce al asombroso resultado de que se pueden introducir con profusión en un animal los bacilos del carbunco sin que se desarrolle la enfermedad (...). Estos hechos tal vez justifican las más amplias esperanzas para la terapéutica".

En los años siguientes a la publicación de Pasteur y Joubert aparecieron gran número de artículos que indicaban la capacidad de las "bacterias superiores, los mohos y los hongos" para destruir ciertas bacterias, con lo que algunos autores pasaron al terreno de la práctica: Cantani (1885) empleó un cultivo de *Bacterium thermo* para tratar un caso de tuberculosis pulmonar; R. Emmerich y O. Low (1889) utilizaron con fines terapéuticos la piocianasa, sustancia antibiótica obtenida de *Pseudomonas aeruginosa* que inhibía cocos y bacilos patógenos (difteria, cólera, peste, etc.), que despertó gran interés y que fue ampliamente utilizada en las dos décadas siguientes; R. Koch (1890) introdujo la tuberculina no como prueba de sensibilidad tal y como se la conoce hoy, sino como tratamiento antituberculoso específico, consistente en un extracto glicerinado obtenido de cultivos puros del bacilo tuberculoso ("linfa de Koch"); y, finalmente, Pasteur introdujo la vacunación una vez descubierto el fenómeno de la atenuación microbiana (1879).

Mientras tanto, en el año 1889 M. Vuillemin, en un trabajo titulado *Antiboise et simboise*, creó el término "antibiosis" para describir la lucha entre los seres vivos para lograr la supervivencia. Diez años más tarde, M. Ward adaptó esta palabra para describir el antagonismo microbiano. En 1891, E. Klein planteó cuatro formas principales que podían utilizarse en la lucha contra las bacterias: antagonismo químico ofrecido por los tejidos sanos, acción germicida de la sangre y jugos tisulares de animales no susceptibles a la multiplicación de

bacterias patógenas, antagonismo entre las bacterias y sus propios productos químicos y antagonismo de una especie y sus productos químicos frente a otras especies.

En 1895, V. Tiberio observó la acción antibiótica de diferentes extractos de mohos (*Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*) frente a diversos microbios *in vitro* (bacteridia, bacilo tífico, colibacilo, vibrion colérico y estafilococos) e *in vivo* (ensayos con conejos inoculados con bacilos tíficos coléricos); y en 1896 E. A. Duchesne atribuyó esta acción a la producción de determinadas sustancias tóxicas. Ese mismo año, B. Gossio utilizó por primera vez el hongo *P. glaucum* en un intento fallido de producir una sustancia antibacteriana, y el propio Duchesne hizo notar que algunos gérmenes patógenos, como el bacilo de Eberth, podían ser inhibidos incluso *in vivo* por *Penicillium*.

Paralelamente a las investigaciones sobre el antagonismo y la antibiosis, se produjeron una serie de hechos relevantes en el abordaje de las infecciones quirúrgicas y en el desarrollo de la terapéutica –quimioterápica o no– etiológica.

Hasta finales del siglo XVIII la cirugía había sido una aventura (P. Lain) en la que, a pesar de algunas voces discrepantes que abogaban por la cirugía limpia, como las de A. Paré o B. Hidalgo Agüero, se seguía manteniendo la teoría miasmática de la infección y la práctica de intervención basada en el "pus loable". La revolución quirúrgica del siglo XIX, que derribó las barreras del dolor y la hemorragia, no pudo vencer la de la infección hasta que no se dispuso de una explicación científica de la misma, lo que fue obra del gran cirujano británico J. Lister, iniciador de la era de la antisepsia.

Después de varios años de investigación, J. Lister rechazó de plano la teoría del "pus loable", según la cual la supuración se consideraba una parte inevitable de la cicatrización de las heridas. Partidario de la teoría de los "gérmenes ambientales" como causa de la infección y de las "brillantes investigaciones" de L. Pasteur acerca de la doctrina microbiana, el planteamiento de Lister era muy simple: puesto que Pasteur había demostrado que las sustancias putrescibles podían preservarse de la putrefacción evitando la llegada de gérmenes a ellas, se podía impedir la putrefacción de los tejidos heridos o escindidos quirúrgicamente destruyendo los microbios y evitando que entrasen en las heridas.

Lister escogió el ácido fénico –tras experimentar otras sustancias– como antiséptico. Después de un par de ensayos fallidos, realizó su primera operación con éxito en agosto de 1865. Un año después aplicó su principio antiséptico al saneamiento de abscesos y tumores malignos. Los resultados alcanzados con la pulverización de ácido fénico en la sala de operaciones y la aplicación de pomada fenicada en las heridas fueron publicadas en *The Lancet* en 1867, creando así en sus colegas una mezcla de admiración y desconfianza, aunque algunos años después el procedimiento se había popularizado, añadiéndose al ácido fénico otros nuevos compuestos. Mientras Lister agradecía profundamente a Pasteur haberle mostrado “la verdad de la teoría de la putrefacción bacteriana” y haberle proporcionado “el sencillo principio que ha convertido en un éxito el sistema antiséptico”, G. H. Stromeyer le alababa a él dedicándole estas hermosas palabras: “Ahora la humanidad te contempla agradecida por lo que has logrado en la cirugía al hacer la muerte más rara y lejana, al oler el glorioso antiséptico”.

En 1878, R. Koch demostraba taxativamente el origen microbiano de las infecciones de las heridas accidentales o quirúrgicas, lo que condujo a los cirujanos a pensar en evitar la entrada de los gérmenes y no esperar a la desinfección una vez contaminada la herida.

Uno de los más firmes seguidores de Lister, E. von Bergman, creó pocos años después la asepsia quirúrgica, método basado en un planteamiento preventivo que evita la aparición de gérmenes durante la intervención quirúrgica al operar en un ambiente estéril.

El éxito de Lister llevó a algunos autores al desarrollo de nuevos antisépticos (iodoformo, cloroformo y solución de Dakin) y a la búsqueda de desinfectantes para uso interno y externo; así, el aceite de mentol fue utilizado en inhalación para el tratamiento de la tuberculosis, el empleo de inyecciones hipodérmicas de compuestos fenólicos (creosota y guayacol) fue haciéndose cada vez más frecuente, el aceite de chaulmogra siguió utilizándose contra la lepra, se realizaron ensayos con el cloruro mercuríco –uno de los productos, junto con el sulfato de quinina y el yoduro potásico, que entró a formar parte de un mayor número de recetas–, se introdujo en la terapéutica el rojo escarlata y P. G. Unna planteó el empleo de ictiol y resorcina en los procesos dermatológicos.

Otras interesantes experiencias de la “terapéutica anticausal” –aunque con cierta carga empírica todavía– que precedieron a las investigaciones de Ehrlich fueron: el uso del pebrazo, hongo en el que se descubrieron ciertos principios antibióticos eficaces para combatir la blenorragia y cuyo uso se extendió hasta poco antes de la II Guerra Mundial; del propoli, obtenido de los panales de abeja y con diversas propiedades antimicrobianas; y de distintas sustancias antiinfecciosas contenidas en el nogal.

Así pues, durante las últimas décadas del siglo XIX y primeros años del siglo XX se demostró la existencia de diversas sustancias antimicrobianas en cultivos bacterianos, algunas de las cuales llegaron a probarse clínicamente, aunque se descartaron a causa de su toxicidad. Era la representación en el laboratorio del fenómeno natural que cada día se escenifica en los suelos, las aguas y otros hábitats naturales.

A pesar de los pasos en falso y de la mordaz crítica de G. B. Shaw –“este final de siglo apesta a ácido fénico”–, el descubrimiento de la mayoría de los agentes productores de las enfermedades infecciosas y la buena orientación de las líneas terapéuticas provocaron un elevado optimismo y cristalizaron con un fundamento cartesiano –conocida la causa, se podrían eliminar o regular sus efectos– en la Quimioterapia antimicrobiana que, algunas décadas después, desembocaría en uno de los logros farmacológicos de mayor trascendencia histórica: los antibióticos.

La ingente labor de los microbiólogos del siglo XIX puede resumirse en las palabras de J. Tyndall:

“Por primera vez en la historia de las ciencias tenemos el derecho de alimentar la esperanza segura y cierta de que, relativa a las enfermedades epidémicas, la Medicina será bien pronto librada del empirismo y colocada sobre bases científicas y reales”.

Mientras, la ruptura con el pasado y la nueva mentalidad científica quedan bien reflejadas en las palabras del insigne J. Ferrán:

“En la lucha contra los microbios, como en la lucha contra los pueblos, todo es cuestión de táctica y armamento. La que yo aconsejo es moderna, y el armamento, de precisión y de grandes y probados alcances”.

PAUL EHRLICH Y SU FAMOSA “BALA MÁGICA”

Ehrlich fue un auténtico “mago” que, al igual que el “cazador furtivo”, trataba de encontrar un “dardo mágico” que poseyera una acción selectiva sobre los parásitos, pero fuera inofensivo para las células del huésped que los alberga; un verdadero agente curativo y no una mera sustancia paliativa. Ehrlich representa al sabio de los albores del siglo XX, el prototipo del creador. Su obra, atrevida, valiente y vanguardista, así como su fuerte e impetuosa personalidad, irrumpieron con gran dinamismo en la comunidad científica abriendo todos los caminos hacia el mundo actual. Su contribución en el campo de las tinciones habría sido suficiente para concederle todo el reconocimiento, pero su obra fue mucho más allá al aportar numerosos descubrimientos en áreas científicas diversas como resultado de una ingente labor investigadora. Sus aportaciones se pueden sintetizar en los siguientes aspectos:

- Diferenciación de la inmunidad activa y pasiva.
- Estudio de los mecanismos de transmisión de protección de inmunidad de la madre al feto.
- Diferenciación de los linfocitos por estudios morfológicos.
- Estudio de la estructura de la toxina diftérica, a partir de cuya investigación elaboró la teoría de las cadenas laterales para explicar la reacción antígeno-anticuerpo.
- Desarrollo de la terapéutica experimental, con la finalidad de dar respuesta al principal objetivo de la Medicina: la verdadera curación del enfermo.
- Búsqueda de la “bala mágica” a partir de un planteamiento similar a la reacción antígeno-anticuerpo: si el “fármaco” se fija de forma estable y específica, hay que buscar un elemento químico capaz de fijarse sobre el germen patógeno y no sobre la célula del huésped.

Paul Ehrlich nació en 1854 y desde su juventud fue estimulado por un primo de su madre llamado C. Weigert, famoso patólogo alemán que introdujo las técnicas de tinción microscópicas con anilina en el estudio de las relaciones entre los compuestos químicos y las células humanas. En 1878, sus primeros hallazgos permitieron conocer que el azul de

metileno tenía especial apetencia por las células ganglionares del conejo, lo cual le llevó a pensar que, si existía un colorante que se fijaba de forma selectiva en los tejidos animales, del mismo modo podía haber alguno que lo hiciera selectivamente en los microorganismos patógenos tiéndolos y matándolos sin afectar a los tejidos humanos. Esto era lo que él consideraba la “bala mágica” y comenzó su búsqueda en una serie de colorantes con los que tratar a los parásitos productores de la malaria, que habían sido descubiertos por A. Laveran.

En 1889, sus innovadoras técnicas de tinción ayudaron a visualizar con mayor facilidad las micobacterias tuberculosas. Con estos conocimientos, en los que se fusionaban la Química y la Biología, se establecieron algunos de los fundamentos iniciales de la inmunidad y la Quimioterapia. Pronto le vinieron el éxito, la fama y el prestigio y en 1896 fue invitado a dirigir el Real Instituto para la investigación y el ensayo de sueros, en las proximidades de Berlín.

Enérgico, dotado de un gran entusiasmo –a veces con actitudes juveniles–, siempre atrevido, poseedor de un elevado sentido del humor y con un proceder científico que oscilaba entre el método y la anarquía, P. Ehrlich era la imagen del genio. Las claves del éxito las cifraba en las cuatro G: *Geduld* (paciencia), *Geskhick* (habilidad), *Geld* (dinero) y *Glück* (suerte). La mayor suerte le alcanzó cuando en 1906 fue nombrado director del Instituto Speyer de Quimioterapia, un centro muy bien financiado y equipado.

Ya en 1891 D. L. Romanovski había comprobado que se podían teñir selectivamente las formas eritrocíticas de los *Plasmodium vivax*. Eran tiempos en los que se trabajaba en el espinoso campo de la parasitología sin contar con métodos de cultivo *in vitro*. En 1902 se dio un paso de gigante con la técnica de A. Laveran y F. Mesnil, que permitía transmitir a ratas las enfermedades tripanosómicas manteniendo *in vivo* a los microorganismos. La enfermedad del sueño era un terrible problema para el desarrollo del continente africano.

En 1904 Ehrlich realizó un trabajo, en colaboración con K. Shiga, utilizando tripanosomas, sobre los que probaron unos colorantes benzopurpurínicos que permitieron demostrar la utilidad y escasa toxicidad del “rojo tripán”. Posterior-



Paul Ehrlich en su laboratorio.

mente, surgirían el "azul tripán" y el "violeta afridol", cuya eficacia en ratas y ganado afectados de tripanosomiasis fue comprobada por F. Mesnil y Ch. Nicolle (1907).

Ehrlich prosiguió con el "verde malaquita" y "el tripán-flavina" –más conocido como "acriflavina"–, definió las resistencias y expuso una teoría quimiorreptora en la acción de los fármacos fundamentada en la presencia en los compuestos quimioterápicos de dos grupos químicos, uno "fijador" o "haptóforo" y otro "parasitocida" o "toxóforo".

Más tarde Ehrlich se decidió por los compuestos orgánicos arsenicales y descubrió el "atoxil" (sal sódica del ácido arsenical), considerado entonces una anilina del ácido arsenical. De él obtuvo gran cantidad de sustancias derivadas, que culminaron en 1909, en colaboración con S. Hata, con el ensayo que hacía el número 606. Hata había desarrollado un método de inoculación de treponemas en conejos y en ellos se experimentó con un marcado éxito el nuevo preparado, que respondía al nombre científico de "clorhidrato de para-dioximetadiaminoazobenzol".

Ehrlich anunció el descubrimiento de su "bala mágica" en 1910: "Resulta con toda evidencia de estos experimentos que se puede destruir a las espiroquetas absoluta e inmediatamente con una sola inyección." Después de describir distintos casos de curaciones de personas a las que la sífilis había convertido en "auténticas piltrafas humanas" y estaban "a dos pasos de la muerte", Ehrlich denominó al preparado recién descubierto "salvarsán" ("el arsénico que salva") y postuló su teoría: "El compuesto 606 se combina químicamente con las espiroquetas y las mata; en cambio, no reacciona con el cuerpo humano, siendo ésta la causa de su inocuidad". En 1914 incorporó el derivado 914, al que llamó "neosalvarsán", de similar eficacia y menor toxicidad y que equivalía a la condensación del salvarsán con el aldehído bisulfito sódico.

Si recordamos, por una parte, el alto porcentaje de la población europea que a principios de siglo padecía directa o indirectamente la sífilis o sus secuelas y, por otra parte, la mentalidad etiopatológica dominante en Medicina desde la formulación de la "teoría del germen", se comprende el impacto de los estudios de Ehrlich en los investigadores y en la prensa especializada de la época, hasta el punto de aparecer como el sabio que "ha sabido convertir el rejalar en el 606, el veneno en remedio, la enfermedad en salud, la muerte en vida". Sorprende además que este personaje, con un reducido equipo, fuera capaz de hacer tantas cosas en tan poco tiempo. Es un hecho que excepcionalmente se repite en la Ciencia, pero para él sólo se trataba de "un instante de buena suerte" frente a "siete años de desgracias".

Con Paul Ehrlich se inició no sólo la edad de oro en el tratamiento de las enfermedades infecciosas, sino también una nueva y fructífera etapa en el desarrollo de la farmacología: el de la terapéutica experimental, que resolvía la insuficiencia de la farmacología experimental de Buccheim y Schmieberg. Frente a la experimentación con animales sanos, Ehrlich planteó la experimentación con animales que padecían la misma enfermedad que se trataba de curar en el hombre. Tras compartir el premio Nobel de Medicina con Metchnikoff en 1908, su vida finalizó en 1915, con poco más de 60 años pero habiendo legado una incommensurable obra y, lo que es más importante, habiendo trazado el principal camino para la terapéutica antimicrobiana.

FLEMING: DE LA LISOZIMA A LA PENICILINA

Una vez traspasado el zaguán de la Inmunología y la Quimioterapia con los trabajos de P. Ehrlich y su famosa bala mágica, Alexander Fleming (1881-1955) fue el científico que abriría de par en par las puertas de la terapéutica antimicrobiana, al tiempo que se convertiría en un hombre –y en un nombre– de leyenda.

A los 20 años, A. Fleming consiguió una beca para la Escuela de Medicina del Hospital Santa María de Londres y cinco años después entró a formar parte del equipo del bacteriólogo A. Wright en el Departamento de Inoculaciones. En 1908 se licenció, obteniendo la medalla de oro de la Universidad de Londres. Nombrado profesor de Bacteriología, en 1928 pasó a ser catedrático de esta disciplina, puesto que desempeñaría durante otros 20 años.

La carrera profesional de Fleming está plagada de numerosos e importantísimos hallazgos. Incansable investigador, probó con éxito la administración de salvarsán para tratar la sífilis, cuya publicación en *The Lancet* (1911) hizo crecer considerablemente su celebridad. Pero Fleming no se dedicaba exclusivamente a una cosa, sino que diversificaba sus ocupaciones médicas atendiendo a las más variadas enfermedades, como, por ejemplo, la tuberculosis.

Cuando en 1914 comenzó la I Guerra Mundial, el Estado Mayor inglés decidió crear en Boulogne (Francia), a donde se habían trasladado las tropas inglesas, un hospital donde se investigasen nuevas técnicas de ayuda a los heridos. Allí fue la plana mayor del Departamento de Inoculaciones para estudiar sobre el terreno las heridas sépticas de la guerra y desarrollar posibles terapias. Su participación en este conflicto fue decisiva en su carrera profesional, pues le permitió desarrollar las investigaciones sobre las heridas infectadas, en las que centró sus esfuerzos. Perturbado por los altos índices de soldados muertos y de heridas infectadas, Fleming comenzó a cuestionarse la efectividad del tratamiento de ciertas dolencias con los antisépticos que estaban empleándose por entonces. Tras una serie de estudios brillantes, demostró

que algunos antisépticos perjudicaban más que sanaban, ya que mataban células del sistema inmune, facilitando de esta forma un aumento de la infección. Manifestó la necesidad de limpiar las heridas abiertas con suero salino con el fin de provocar la exudación de los tejidos circundantes de la herida al empujar las bacterias hacia afuera, así como la de aflojar cada cierto tiempo los torniquetes interruptores de hemorragia que se solían aplicar sobre la herida para evitar la falta de oxigenación, que reducía la capacidad defensiva del propio organismo frente a los patógenos.

Otro importante estudio de Fleming fue el desarrollado para tratar de determinar el agente patógeno causal de la terrible epidemia de gripe que afectó a Europa y América a partir de agosto de 1918, meses antes del fin de la I Guerra Mundial. Junto con Clemenger, concluyó que el agente etiológico de la gripe no era el bacilo de Pfeiffer (posteriormente denominado *Haemophilus influenzae*), tal como estaba aceptado por la comunidad científica en ese momento; sin embargo, sus investigaciones no pudieron pasar de simples observaciones, ya que pronto fue enviado de regreso a Inglaterra. En 1919, dos bacteriólogos japoneses estudiaron cultivos del bacilo y demostraron la inviabilidad de reproducir la gripe con su inoculación; meses después se averiguó que la epidemia estaba causada por un virus y que la presencia secundaria de agentes bacterianos en los enfermos se debía a la facilidad que la gripe les ofrecía para penetrar en el organismo debilitado.

Fleming terminó por acreditarse como uno de los bacteriólogos más experimentados del momento al publicar numerosos artículos en los que expuso las investigaciones desarrolladas en época de guerra, incluido el estudio que realizó sobre el problema de las transfusiones, un método entonces incipiente.

El primero de los dos grandes descubrimientos de Fleming, la lisozima, tuvo lugar en 1922, cuando puso de manifiesto que la secreción nasal y las lágrimas poseían la facultad de disolver determinados tipos de bacterias. Probó después que dicha facultad dependía de una enzima activa presente en muchos de los tejidos corporales, aunque de actividad restringida a los organismos patógenos causantes de las enfermedades. Pese a esta limitación, el hallazgo se reveló altamente interesante, puesto que demostraba la posibilidad de que existieran sustancias que, siendo inofensivas para las

células del organismo, resultasen letales para las bacterias (recuérdese la famosa "bala mágica" de Ehrlich).

La lisozima es el precedente más importante del descubrimiento de la penicilina por cuanto constituye el mejor entrenamiento y deja el camino especialmente preparado.

Se cita la casualidad de un día en el que Fleming descubre el aclaramiento de cultivos bacterianos por la acción de una gota de fluido nasal (1922). La interpretación inicial de que estaba ante un fenómeno descrito previamente por Twort y D'Herelle de aclaramiento por bacteriófagos le despidió inicialmente, pero, lanzado a un estudio exhaustivo del fenómeno, estableció unas etapas con las que adquirió una amplísima experiencia.

Fleming inició una febril actividad investigadora que pasó por el estudio del moco de numerosas personas y animales de las más variadas especies, por la investigación –anecdótica en muchos casos– de las lágrimas de voluntarios "llorones" y por el análisis de otros muchos materiales. De todos estos experimentos llegó a la conclusión de que la materia más rica en lisozima es la clara de huevo y, tras revisar las teorías de Metchnikoff acerca de la fagocitosis, comprobó que la lisozima era una de las "armas" que utilizaban los leucocitos para luchar contra los microbios y destruirlos. El interés científico de los estudios de la lisozima fue enorme y permitió, entre otras cosas:

- Verificar la actividad antibacteriana de la lisozima sobre numerosas especies, estableciendo el espectro de acción (utiliza una especie de "replicador" con el que se adelanta a los actuales).
- Caracterizar el agente como una enzima, denominada por Wright –con el malestar de Fleming– como "lisozima" (activa sobre el microorganismo lisado *Coccus AF* con el que trabajaba Fleming y que Wright llamó *Micrococcus lysodeikticus*, término de su invención que en griego significa "indica lisis").
- Conocer las características farmacocinéticas tras su administración por vía general.

Aunque la lisozima se elimina muy rápidamente y da problemas alérgicos, Fleming tomó conciencia de que estaba ante el "antiséptico" natural que, administrado por vía

general, no daña los tejidos y sí las bacterias. Era un paso de gigante hacia la nueva "bala mágica". Sin embargo, él mismo describe la rápida pérdida de actividad o "acostumbramiento", premonitorio de lo que ocurrirá después a otra escala: el problema de las resistencias bacterianas.

Con la lisozima queda expedito el paso a posteriores estudios de otras sustancias. El *screening* de muestras, la definición de espectro, la caracterización de las propiedades farmacocinéticas, incluso la resistencia, son prueba de ello. Fleming fue consciente de la importancia de la lisozima, pero la divulgación de su trabajo resaltando los problemas y las dudas sobre sus indicaciones y su futuro llevó al escepticismo a los científicos de la época. Una situación idéntica le ocurrirá con la penicilina.

Los episodios más importantes relacionados con Fleming y la lisozima fueron:

- 1921: Fleming observa la capacidad bacteriolítica del moco.
- 1922: junto con Allison, envía un artículo a la Royal Society, que es rechazado.
- 1924: publica en *Procedures of Royal Society* un artículo acerca de la presencia de lisozima en leucocitos y da cuenta de su escasa toxicidad, muy inferior a la de los antisépticos. Publica en *The Lancet* la actividad antibacteriana de la clara de huevo.
- 1926: publica en *British Journal of Experimental Pathology* su experiencia acerca de las diferentes condiciones de administración y el poder bactericida de la sangre. Fichaje de F. Ridley, que fracasaría en el intento de purificación de la lisozima.
- 1927: publica en *British Journal of Experimental Pathology* sus observaciones y reflexiones sobre las resistencias a la lisozima.

En 1927, Fleming recibió el encargo de preparar un capítulo, entero acerca de los estafilococos para un libro de Bacteriología. Como le solía ocurrir a menudo, ante un compromiso de este tipo volcó toda su actividad en trabajar con dichos microorganismos en el laboratorio para obtener experiencia, fotos, esquemas, etc. antes de irse de vacaciones. En julio de 1928 apartó una torre de placas de estafilococo-

cos para seguir trabajando después del verano y a su vuelta, en los primeros días de septiembre, revisando las placas que había apartado, observó sus características como hacía siempre y encontró el famoso hongo contaminante inhibidor de los estafilococos.

No se trataba de una simple casualidad ya que, con su experiencia en fenómenos de inhibición, se dio cuenta de la importancia del hallazgo y tomó las siguientes decisiones:

- Tocó con un asa el moho y lo envió a su colega La Touche para que identificara el hongo (el informe con el que equivocadamente se identificó con *Penicillium rubrum* no le llegó hasta febrero del año siguiente).
- Hizo pases del hongo para cultivarlo y conservarlo.
- Sacó fotos y enseñó la placa a todos sus compañeros y visitantes del laboratorio, aunque con tan poco entusiasmo que nadie le dio gran importancia.
- Fijó esa misma placa en formol (la muestra se conserva en el Museo Británico).
- Elaboró una descripción en su diario (con fecha 30 de octubre de 1928 y bajo el título de: "hongo inhibidor de estafilococos"), por la que se conocen todos los puntos anteriores y de donde se deduce que debió de tratarse de dos meses de actividad frenética.

¿Qué sustancia contendría el zumo o jugo de aquel moho que era capaz de disolver o inhibir las colonias de estafilococos? ¿De qué hongo se trataba? Fleming no se limitó a observar lo que veía, sino que actuó inmediatamente y comenzó a realizar pruebas con el moho; así, pudo comprobar cómo no todas las bacterias se afectaban de igual manera que los estafilococos. Remitió el hongo a La Touche, quien lo identificó erróneamente como *P. rubrum*; posteriormente se demostró que se trataba del hongo *P. notatum*. Fleming siguió trabajando con el hongo productor de aquella sustancia antibacteriana, que decidió bautizar con el nombre de "penicilina".

Con la finalidad de disponer de suficiente cantidad de penicilina para sus propósitos en el campo de las vacunas, encargó a dos de sus colaboradores, F. Riddley y S. Craddock, la producción y purificación del "jugo". Estos investigadores establecieron un programa modélico en diferentes etapas para la producción en grandes frascos en el medio idóneo y con la temperatura óptima, así como para la posterior filtración, con-

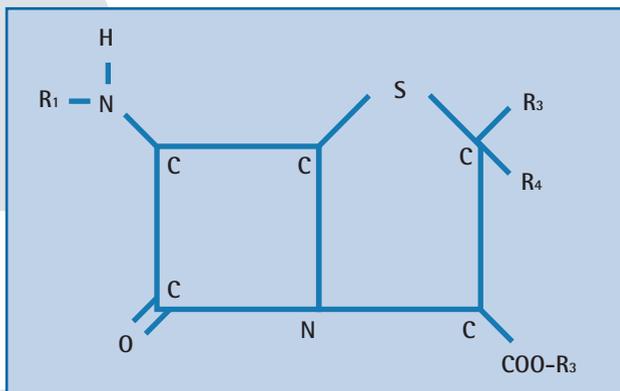
centración, identificación y los estudios de estabilidad. A pesar de las dificultades y la falta de medios y otros incentivos, consiguieron finalizar el proyecto y realizar la caracterización aproximada de la sustancia, pero abandonaron la línea de investigación sin lograr estabilizar el jugo. No obstante, en aquel cuarto de litro del caldo que contenía cada botella de las que se utilizaban para la preparación de vacunas estaba la "sustancia prodigiosa". Según Craddock: "Allí estaba por fin el anti-séptico de sus sueños, una sustancia que, incluso diluida, seguía siendo bactericida, bacteriostática y bacteriolítica".

Es el propio Fleming quien proporciona los detalles tanto del nombre –después de cierta controversia con A. Wright, que proponía el nombre de "penicilina" por su comportamiento enzimático– como del acontecimiento:

"Se me ha preguntado muchas veces por qué di el nombre de 'penicilina' a tal sustancia. La razón es muy sencilla: un moho del género *Penicillium* (una antigua designación botánica) daba origen a una sustancia activa. Bastó, pues, seguir una práctica ortodoxa



Alexander Fleming fue el científico que "abrió las puertas" de la terapéutica antimicrobiana.



Estructura básica de la penicilina.

para dar el nombre de 'penicilina' a dicha sustancia. En la Farmacología existen multitud de precedentes: digitalina, de la digital; aloína, del aloe; etc. (...).

En 1928, estaba estudiando las variaciones del estafilococo, y para ello era necesario retirar la tapa de algunas placas de cultivo con ciertos intervalos para proceder a su examen microscópico. Esto, como es natural, crea el riesgo de que el cultivo se contamine por el aire, y a buen seguro uno de ellos fue contaminado por una espora de *Penicillium* que germinó, dando lugar a una colonia. Esta contaminación en una placa de cultivo con moho no es infrecuente. Ha ocurrido muchas veces, pero particularmente en esta placa el hongo provocó un cambio muy notable: todas las colonias de estafilococos que se hallaban alrededor del hongo parecía que fuesen desapareciendo como si se disolvieran. Esto, para mí, era algo sin precedentes, y parecía reclamar una investigación. Lo primero que había que hacer era obtener un cultivo puro del hongo, lo que no ofrecía dificultad, apelando a los métodos bacteriológicos ordinarios. Algunas esporas fueron implantadas en un punto cercano a la periferia de una placa de cultivo en agar corriente. Se les dejó crecer a la temperatura del ambiente durante cuatro o cinco días, en los cuales la colonia llegó a alcanzar un tamaño entre 1 y 2 cm. Entonces se hicieron siembras en estrías de diferentes microbios a través de la placa, desde su borde hasta la colonia del hongo, y se colocaron en la estufa, a 37 °C durante la

noche. Al siguiente día se vio que, mientras algunos de los microbios crecieron directamente hacia el moho, otros fueron inhibidos en su crecimiento a una distancia de dos o más centímetros.

Luego, el hongo fue cultivado en medio líquido (caldo ordinario), creciendo una masa como afieltrada en la superficie y quedando por debajo el líquido enteramente claro. Se hizo un examen del líquido en intervalos distintos y se encontró que al cabo de una semana de estar a la temperatura de la habitación tenía fuertes propiedades antisépticas. El método más sencillo de hacer la comprobación era el que yo había empleado anteriormente para la lisozima. Se recortó un trozo de agar en una placa de cultivo y el hueco así producido fue rellenado por el líquido de cultivo del hongo. La superficie fue sembrada con un germen sensible (estafilococos) y, después de la incubación, se vio que había una completa inhibición del crecimiento del estafilococo en 1 cm o más alrededor del punto que contenía líquido de cultivo.

Existe, sin embargo, una diferencia que desde el punto de vista práctico constituye una distinción importante: mientras con la lisozima los gérmenes más fuertemente inhibidos no eran patógenos para el hombre, los que resultaron más sensibles a la penicilina fueron los que nos infectan con mayor frecuencia.

Hasta este momento había descubierto que la contaminación por el hongo producía una sustancia bacteriostática difusible en el agar que resultaba muy selectiva en su acción y que afectaba a muchos microbios patógenos.

Esto sugirió enseguida la primera aplicación práctica de la penicilina, cual es facilitar el aislamiento de determinadas bacterias en el laboratorio. Al incorporar penicilina al medio de cultivo, los gérmenes penicilinosensibles resultan completamente inhibidos, en tanto que los insensibles crecen libremente. De este modo resultaba fácil aislar un microbio no sensible a la penicilina entre millares de gérmenes sensibles. Los sensibles dejan simplemente de aparecer en el cultivo. Como es natural, no fue necesario preparar medios especiales de cultivo que contuvieran penicilina. También empleé la penicilina para demostrar otros antagonismos bacterianos en forma espectacular".

En febrero de 1929 Fleming presentó una comunicación en el Medical Research Club y en junio publicó una memoria de sus investigaciones con la penicilina en la *Revista Británica de Patología Experimental*, donde en el apartado ocho se decía:

"se sugiere que puede ser un antiséptico eficaz para aplicaciones o inyecciones en zonas infectadas por microbios sensibles a la penicilina".

La presión de su propio grupo llevó a Fleming a valorar el uso de la penicilina en cuatro enfermos. En el primero, con gastroenteritis, intentó el tratamiento administrando una suspensión de hongos en leche tres veces al día; aunque fracasó, lo más interesante fue la ausencia de toxicidad. El segundo caso correspondió al tratamiento de una sinusitis rebelde de su colaborador Craddock, quien en enero de 1929 experimentó en propia carne el uso tópico con extractos del hongo obteniendo resultados optimistas, al menos para Fleming. El tercer tratamiento consistió en la aplicación de un apósito del producto en el muñón séptico de una enferma a la que se le había amputado una pierna, comprobándose el fracaso terapéutico. El cuarto paciente –otro alumno de Fleming llamado K. Rogers– fue tratado por una conjuntivitis neumocócica, que curó tras el lavado con penicilina. Este último caso sirvió para que los oftalmólogos del hospital siguieran utilizando la penicilina en otros pacientes logrando resultados interesantes.

En ese mismo año de 1929, 12 niños morían en Australia tras ser vacunados contra la difteria como consecuencia de la contaminación de las vacunas. Esta tragedia, junto a los trabajos de Zukerman y Minkwitsch, que habían demostrado en 1925 que el caldo de cultivo de *Bacillus mesentericus vulgaris* preservaba a los cobayas de la enfermedad, hizo que el bioquímico H. Raistrick se interesase por la extracción de la penicilina, pero tampoco lo logró. En los años posteriores, y en todas sus compareencias en los medios científicos, Fleming siguió insistiendo en la necesidad de obtener la penicilina pura y poder crear unas condiciones de empleo adecuadas, aunque no llegó a conseguirlo. Así describió el propio Fleming este período:

"La penicilina ha sido la primera sustancia que he podido encontrar dotada de una acción más intensa

sobre las bacterias que sobre los leucocitos, y fue esta circunstancia, más que ninguna otra, la que llegó a sugerirme que pudiese ser un tratamiento eficaz en las infecciones sensibles a la misma. Pero la penicilina en bruto era una sustancia muy inestable. Activa hoy, al cabo de una semana su actividad puede haber desaparecido. Antes de poder convertirse en un método terapéutico práctico, había, pues, de ser concentrada y estabilizada. No pude conseguirlo entonces, porque yo era simplemente un microbiólogo que trabajaba en un laboratorio de Bacteriología de un hospital y carecía de ayuda química experimentada. Así fue como en 1929 publiqué los resultados obtenidos hasta aquel momento. Poco después, Raistrick, con mi cultivo del hongo, demostró que producía penicilina en un sencillo medio sintético que contenía sólo unas cuantas sales minerales y algo de azúcar. No existía, sin embargo, ningún reactivo químico para la penicilina y la actividad de los extractos había de ser evaluada por medios bacteriológicos. El bacteriólogo que trabajaba con él consiguió un cargo mejor, y Raistrick ya no pudo disponer de ayuda bacteriológica, de modo que publicó también sus resultados y pasó a ocuparse de otros problemas. Yo no pude concentrar la penicilina por falta de un químico. Raistrick fracasó por falta de ayuda bacteriológica. Por esta causa medió un lapso de tiempo de diez años entre el descubrimiento de la penicilina y el desempolvamiento de su estudio por el equipo de investigadores de Oxford, capitaneado por Sir Howard Florey. En este tiempo, la totalidad del ambiente médico referente a la Quimioterapia de las infecciones microbianas había cambiado. En 1929 sólo existía el salvarsán, con sus aplicaciones muy limitadas. Luego habían aparecido las sulfonamidas, y Dubos había demostrado que, partiendo de un cultivo bacilar, podía obtenerse una sustancia antibacteriana muy poderosa".

A pesar de las objeciones que puedan plantearse, Fleming consiguió "mostrar al mundo cómo la inteligencia, la observación e incluso la modestia ante los hechos que son observados por un hombre de ciencia pueden lograr lo que algunas veces no se consigue con grandes recursos técnicos" (P. Lain).

DE LAS SULFAMIDAS A LA INTRODUCCIÓN CLÍNICA DE LA PENICILINA

Los problemas de inestabilidad, las dificultades económicas y las noticias procedentes de Alemania sobre los avances del tratamiento de la sífilis con el prontosil –Fleming era reconocido como experto en la terapia de la sífilis y en los derivados de las anilinas– no justifican por sí solos el olvido de la penicilina durante una larga década, pero pueden ayudar a comprender el desánimo de Fleming y de su grupo en la continuación de las investigaciones con la penicilina.

Pero, ¿fue total el olvido de la penicilina? No exactamente, pues los trabajos de Raistrick se publicaron en 1932 y dos años más tarde el laboratorio del Hospital St. Mary's contrató a otro bioquímico, L. Holt, para que ayudara a Wright y a Fleming en sus investigaciones, que, aunque no estaban centradas en la penicilina sino en el desarrollo de vacunas, permitieron a este investigador intentar obtener el extracto seco, purificado y estable de la penicilina, cosa que no pudo conseguir. Por otra parte, a pesar del escepticismo de Fleming sobre su penicilina, paradójicamente en varias ocasiones salió en su defensa. Así, en 1935 respondió a Mc Leod, el investigador del neumococo, que defendía el prontosil: "Oiga, yo poseo algo mejor que prontosil, pero nadie quiere escucharme, y no he podido encontrar ni un médico que se interese por él ni un químico que me lo purifique".

En el año 1936 Fleming participó en el II Congreso Internacional de Microbiología en Londres y en su ponencia describió su descubrimiento y sus aportaciones acerca de la sustancia activa del *Penicillium* y no perdió ocasión de seguir hablando de su penicilina en el viaje que realizó a Estados Unidos en 1939.

En cualquier caso, no hay que olvidar que la década de los treinta fue indudablemente la del descubrimiento de las sulfamidas. En 1932 Domagk administró prontosil por vía parenteral a ratones infectados con estreptococos logrando una rápida curación. En 1935 comunicó a la Royal Society

los resultados y logró el premio Nobel de Medicina en 1939. Pero hagamos un poco de historia hasta llegar al descubrimiento de las sulfamidas.

Se suele citar como primera gran aportación de los colorantes –introducidos por A. W. Perkin y F. Hoffman a mediados del siglo XIX– a la ciencia médica el primer caso de tratamiento del paludismo con azul de metileno, realizado por Ehrlich, quien casualmente diagnosticó y curó con el citado colorante a un marino alemán enfermo. El paludismo podía ser el paradigma del empleo de los tintes artificiales. Por esa misma época se pueden encontrar textos con recomendaciones del uso del rojo Congo para el tratamiento del reumatismo poliarticular agudo y de la difteria, así como del violeta de genciana, utilizado –incluso todavía hoy– como antibacteriano y antifúngico en micosis de piel y mucosas, especialmente muguet. La imagen de un niño con la boca espectacularmente teñida de violeta es inolvidable para muchas generaciones.

Asimismo, desde principios del siglo XX se utilizó el rojo es-carlata en úlceras, heridas y quemaduras por su actividad cicatrizante y antiinfecciosa. Posteriormente se sustituyó, en un buen número de casos, por el amarillo de acridina y, especialmente, por el rojo anaranjado fluorescente o mercurocromo, derivado mercurial de amplio uso como desinfectante de heridas. Fue el comienzo de los tintes desinfectantes –sobre todo los derivados del mercurio y del yodo–, que se siguen empleando en la actualidad.

Pero el colorante que más impacto tuvo fue el rojo anaranjado o rojo prontosil. En el I. G. Farben Industrie de Wuppertal-Elberfeld se llevó a cabo una larga investigación, que se inició en 1913 con la crisoidina. A G. Domagk, director de este Instituto, se le ocurrió modificar la crisoidina con diferentes radicales, entre otros la paraaminobencenosulfonamida. Con este producto puso en marcha en 1932 un estudio en ratas infectadas con un estreptococo hemolítico. Este fármaco fue ensayado por dos químicos del centro (F. Mietsche y J. Klarer) y se patentó con el nombre de "prontosil". Por aquellas fechas la hija de Domagk enfermó gravemente con una infección estreptocócica. Ante la desesperación por la inutilidad de otros tratamientos, Domagk empleó el prontosil, consiguiendo una rápida recuperación. Un año más tarde se publicó el primer trabajo (Foerster, 1933) sobre la

eficacia clínica de este fármaco en un niño de 10 meses con una septicemia estafilocócica grave. En 1935 Domagk presentó su famoso artículo *Ein Beitrag zur Chemotherapie der Bakterice Infektionen*. De este modo, el prontosil se convertía en la primera sulfonamida introducida en clínica humana.

Pronto se obtuvo una gran cantidad de derivados, muchos aparecidos ante la necesidad de salvar vidas durante la II Guerra Mundial. La sulfadiazina, introducida en 1941, fue ampliamente utilizada por su escasa toxicidad y tuvo un importante papel en el desenlace de la gran guerra al salvar a W. Churchill de una neumonía que amenazaba su vida en un momento crítico del conflicto bélico; la sulfaguandina se empleó en las disenterías bacilares durante las campañas del Oriente Medio y Lejano; etc.

Así pues, en los años anteriores a la generalización del uso de la penicilina, las sulfamidas fueron los agentes fundamentales de la Quimioterapia antibacteriana, cambiaron drásticamente la orientación del tratamiento de las enfermedades infecciosas y evitaron millones de muertes. En 1949 se disponía de más de 50 formas orales y de uso tópico y, aunque el advenimiento de los antibióticos redujo considerablemente su campo de aplicación, las sulfamidas han seguido ocupando un lugar destacado en el arsenal terapéutico del médico para el tratamiento de algunas infecciones específicas. A mediados del siglo XX el sueño de P. Ehrlich prácticamente se había conseguido.

A los encantos del prontosil no se resistió ni Fleming, quien, salvo en algunos casos, se manifestó entusiasta usuario del mismo, especialmente a raíz de un hecho fortuito: en 1936 un bacteriólogo del equipo, Hare, se lesionó la mano con un cristal contaminado con *Streptococcus* y padeció una infección grave, que fue atajada rápidamente con el prontosil que Fleming había obtenido de sus amigos alemanes. Este éxito entusiasmó tanto a Fleming, que empezó a trabajar siguiendo las etapas de valoración, estudio de espectro, etc. que había experimentado con la penicilina. Fleming utilizó el prontosil en algunos enfermos graves y en 1939 publicó un interesante trabajo en el que demostraba la eficacia de esta sulfamida, junto a una vacuna, en ratones infectados con neumococos, experiencia que presentó en Nueva York en el III Congreso de Bacteriología. De esta

manera, puede observarse cómo mantiene su lealtad a la idea sobre las vacunas de Wright, compatibilizándola con su creencia en la Quimioterapia.

¿Cómo llegó a producirse la penicilina en masa?

En 1938, después de terminar Chain el trabajo sobre el polisacárido que destruye la lisozima, comenzó a buscar nuevos temas de estudio, pero faltaba el dinero, como suele ocurrir casi siempre. Comentando su preocupación con Florey, ambos decidieron solicitar una subvención a la Fundación Rockefeller, para lo cual Chain redactó un memorando donde sugería tres clases de estudios. La Fundación les contestó positivamente y les concedió una subvención de 5.000 dólares, que utilizaron posteriormente para poner a punto el laboratorio y poder así empezar a trabajar. Tras analizar conjuntamente con Florey qué trabajos podían realizar, decidieron estudiar varios tipos de sustancias: una enzima, la piocianina, sustancias antibacterianas producidas por los actinomicetos y la penicilina, descubierta por Fleming, que sería finalmente la elegida.

Sobre la penicilina había numerosas comunicaciones y de ella se conocían muchos detalles, como su no toxicidad y la posibilidad de producirla con relativa facilidad; sin embargo, no se había podido extraer ni purificar. La afirmación por parte de Fleming y otros investigadores sobre la conservación de la penicilina como sustancia activa en el medio original durante varias semanas estimuló al equipo de Oxford a trabajar con ella, iniciándose así una serie de trabajos para purificar y producir penicilina en cantidades suficientes con las que poder realizar ensayos experimentales válidos sobre su utilidad terapéutica. Chain se encargaría de aislarla y de determinar su estructura y Florey de llevar a cabo las pruebas biológicas.

Chain se puso a trabajar a comienzos del año 1939. Para ello obtuvo una cepa del primitivo moho de Fleming, que le prestó una colega suya, ayudante de Dreyer. Tuvo que formarse, conocer los mohos con los que nunca había trabajado y comprender los resultados que obtenía, que no siempre eran constantes (unas veces resultaba ser penicilina y otras no debido a las numerosas mutaciones que había experimentado la cepa de *Penicillium notatum* cedida por Fleming). Se dio cuenta de que la sustancia era muy inestable, "de mírame y no me toques", confirmando los resultados de

sus antecesores. Decidió buscar a qué se debía la fragilidad de esta enzima, contando para ello con nuevos métodos, como la liofilización, que no tuvieron sus predecesores, Riddle y Raistrick.

Al liofilizar el líquido de un cultivo de *Penicillium*, se obtiene un polvo seco formado por unas sustancias, entre las cuales se halla la penicilina, pero otras sustancias son impurezas que la acompañan e impiden que se pueda inyectar. Como Chain creía que era una enzima, pensó que le pasaría lo mismo que a los otros investigadores y que no podría extraerla al disolverla en alcohol absoluto, aunque no por ello dejó de probarlo y lo intentó con metanol. Consiguió eliminar parte de las impurezas, pero volvió a obtener una penicilina inestable. No le importó demasiado porque sabía que volviéndola a diluir en agua y liofilizándola lograría de nuevo la penicilina. De este modo obtuvo una penicilina parcialmente purificada.

Su prisa por comenzar a ensayar con ella le impidió esperar a Florey, por lo que consultó con José Trueta, cirujano español que trabajaba en el Instituto de Oxford, y efectuó la primera prueba con penicilina con la ayuda de Barnes, discípulo de Trueta, quien inyectó 30 mg de la sustancia concentrada en la vena de un ratón y observó con asombro que no era tóxica.

Posteriormente Florey repitió dos veces más la misma operación y demostró una vez más que no era tóxica, confirmando así que ni la penicilina no purificada de Fleming ni la concentrada de Chain producían reacciones tóxicas en el ratón. No obstante, a diferencia de la de Fleming, la penicilina obtenida por el equipo de Oxford poseía un gran poder antibacteriano.

Más tarde, ayudados por Hatley, Florey y Chain pusieron a punto un método práctico de extracción y de purificación de la penicilina, que fue utilizado por la industria farmacéutica hasta 1946. Al mismo tiempo, Hatley se encargó de medir el poder antibacteriano de la penicilina y demostró que el producto parcialmente purificado era mil veces más activo que la penicilina en bruto.

Florey y sus discípulos continuaron con los experimentos en ratones administrando el fármaco intramuscularmente.

Repetieron sin ningún problema los experimentos de Fleming sobre los leucocitos y justificaron su empleo como agente terapéutico. En mayo de 1940 probaron a infectar a los ratones con diferentes microorganismos, como *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Clostridium septicum* y observaron con gran alegría cómo los animales tratados resistían, mientras que los controles morían, siendo su conclusión sobre los resultados definitiva: "milagrosos o, al menos, prometedores". A finales del mes de junio de ese mismo año, en plena Guerra Mundial, disponían de suficiente penicilina para llevar a cabo un estudio decisivo, que realizaron al mes siguiente: infectaron con una dosis mortal de estreptococos virulentos a 50 ratones blancos y comprobaron que los que recibieron la penicilina, excepto uno, resultaron curados, mientras que los otros murieron. Los experimentos se repitieron y Gardner añadió nuevos microorganismos a la lista de aquellos sobre los que actuaba la penicilina, particularmente *Clostridium perfringens*, productor de la gangrena gaseosa, de gran importancia en los tiempos que corrían debido a las frecuentes heridas sufridas por los soldados en la guerra.

En 1940 el equipo formado por E. B. Chain y H. W. Florey lograba producir la penicilina pura en polvo. Este equipo y sus colaboradores habían conseguido producir la penicilina pura en polvo, concentrada, estable y, en parte, purificada. El 24 de agosto de 1940 en la revista *The Lancet* publicaron sus resultados y conclusiones sobre los métodos de purificación de un nuevo agente terapéutico con posibilidades de extracción a partir de los sobrenadantes de cultivos, que se revelaba muy eficaz en los estudios experimentales por sus propiedades bacteriostáticas *in vitro*, así como por su acción quimioterápica en animales debido a su enorme potencia.

Fleming, sorprendido por la publicación, viajó a Oxford y pidió explicaciones a Florey y Chain. Sin hacer apenas comentarios, Fleming recibió de Florey una detallada información, algunos de cuyos aspectos anotó en su diario, probablemente en el viaje de vuelta. Poco después Fleming satisfizo la petición de una compañía farmacéutica, que colaboraba estrechamente con el Departamento de Inoculaciones del St. Mary's Hospital, de obtener el hongo y los datos del equipo de Oxford. Sin embargo, el intento de producir penicilina a cierta escala fracasó, seguramente debido a algún error en el proceso de purificación de la sustancia.

Quedaba ensayar la penicilina en enfermos humanos, para lo cual se necesitaban grandes cantidades de penicilina lo más pura posible. Hatley, Chain y Abraham se pusieron manos a la obra sin perder ni un minuto; sus conocimientos, intuición y el estímulo constante entre ellos les llevó a conseguir un polvo amarillo, una sal de bario que contenía 500 unidades Oxford de penicilina por miligramo. No resultaba suficiente para realizar un ensayo en humanos, por lo que pidieron ayuda a la industria farmacéutica para poder fabricar penicilina. A pesar de los buenos deseos, las condiciones no eran las más adecuadas; Europa estaba en guerra y la posible ayuda quedó difuminada, por lo que decidieron continuar obteniéndola con sus propios medios. Florey terminó convirtiendo el departamento en una lechería, mientras que Hatley incorporó la cromatografía y se mejoró el método de purificación y concentración de la penicilina, al tiempo que el equipo buscaba a un clínico, C. Fletcher, para iniciar los estudios en humanos, que comenzaron con personas voluntarias.

La señora Akers, con cáncer terminal, fue la primera persona que accedió a someterse a un tratamiento con penicilina. La administración intravenosa del antibiótico provocó escalofríos en la paciente, lo que hizo pensar en la presencia de pirógenos en la solución, por lo que se eliminó por cromatografía selectiva. Asimismo, se pudo observar una eliminación máxima y rápida del producto, lo que no resultaba óbice para su indicación y uso en el tratamiento de procesos graves por patógenos susceptibles.

El 12 de febrero de 1941 llevaron a cabo el primer ensayo clínico en humanos. El paciente era un policía de Oxford, Albert Alexander, que se estaba muriendo por una infección por *Staphylococcus aureus*. La respuesta a la penicilina que se le administró fue buena –la sepsis superficial respondió bien–, pero la escasez de la sustancia, aun recogiendo la que el paciente eliminaba por la orina, fue insuficiente para poder terminar el tratamiento. Como consecuencia de su interrupción, el paciente falleció el 15 de marzo.

A pesar de no conseguir la curación del enfermo, como hubiera sido deseable, el caso mostró que la penicilina podía administrarse durante un período de cinco días sin ningún efecto tóxico, lo que animó al equipo de Oxford a continuar con su empeño de seguir obteniendo penicilina y realizando



Frascos de penicilina usados por el ejército de Estados Unidos durante la II Guerra Mundial.

nuevos ensayos, si bien sobre un número muy limitado de enfermos, dada la escasez de antibiótico, con lo que demostraron la acción eficaz y curadora de la penicilina.

A partir de ese momento el fármaco comenzó a aplicarse en seres humanos, pero su uso no se generalizó hasta la II Guerra Mundial, cuando la necesidad de curar las heridas de los soldados hizo que se aplicara en diferentes soluciones.

En el verano de 1941 Florey y los suyos decidieron pedir ayuda en Estados Unidos; para ello Florey y Hatley viajaron hasta allí y contactaron con Charles Thom, jefe de la Sección de Micología en el Northern Regional Research Laboratory, en Peoria, donde los micólogos, además de aumentar la producción de penicilina, buscaron también mohos capaces de producirla. Los investigadores utilizaban todos los mohos que caían en sus manos en busca de la sustancia. Una empleada del laboratorio, Mary Hunt, conocida más familiarmente a partir de ese momento como “Mouldy Mary”, les llevó un día un melón podrido, del que extrajeron *Penicillium chrysogenum*, un estupendo productor de penicilina. Mientras tanto, la casuística con la penicilina iba en aumento y en una nueva publicación en *The Lancet* se referían ya a varios casos de pacientes graves, adultos y niños, curados con penicilina, lo que empezó a tener una gran repercusión.

La cooperación del Departamento de Agricultura, de varias compañías farmacéuticas y de universidades dio sus frutos rápidamente e hizo posible, a partir de 1942, la producción

a gran escala de penicilina. A finales de dicho año estaban ya disponibles para su uso más de 120 millones de unidades y se realizaron los primeros ensayos terapéuticos en la Universidad de Yale y en la Clínica Mayo. La producción aumentó muy rápidamente y en 1943 empezó la comercialización en Estados Unidos. A principios de 1944 ya había suficiente cantidad de penicilina para tratar a todos los heridos de los ejércitos aliados en la invasión de Europa.

Por su parte, Fleming se vio obligado a pedir a Florey, en el verano de 1942, penicilina para tratar el caso dramático de un amigo que sufría una meningitis estreptocócica. Tras la administración de la penicilina primero por inyección intramuscular y luego mediante punción lumbar, el enfermo curó "de manera prodigiosa", lo que causó una profunda impresión en Fleming: "he ahí, pues, un hombre que parecía agonizante y que algunos días después de ser tratado con penicilina estaba fuera de peligro". La noticia trascendió a la prensa y apareció en el *Times* un editorial titulado "*Penicillium*", en el que se pedía a las autoridades que se tomaran medidas para su obtención en grandes cantidades, pero no citaba las contribuciones de Fleming y Florey, por lo que motivó una carta de queja de A. Wright, convertido ya en claro defensor de las bondades del nuevo antibiótico, en la que comentaba que el descubridor de la penicilina era Fleming. Este hecho motivó que Fleming saltara nuevamente al primer plano de la actualidad, logrando así que las autoridades sanitarias y la industria farmacéutica británica apoyaran también la producción industrial de penicilina.

Pero veamos cómo relata la historia el mismísimo Fleming:

"Florey y Chain revisaron la bibliografía y decidieron que la penicilina era un tema a propósito para trabajar en él. Obtuvieron mi cultivo y emplearon el medio de Raistrick consiguiendo concentrar la penicilina unas mil veces y, mediante la desecación del concentrado, lograron hacerlo relativamente estable. Repitieron nuestros trabajos de laboratorio y ampliaron ligeramente nuestra lista de microorganismos sensibles y no sensibles. Yo había demostrado que el material no purificado era manifiestamente no tóxico para los animales y los leucocitos. Ellos, a su vez, demostraron que el concentrado era igualmente atóxico. En tanto que yo había dicho que era bactericida

al mismo tiempo que bacteriostático, ellos al principio sostuvieron que era meramente bacteriostático. Sin embargo, sus propiedades bactericidas han sido después ampliamente demostradas. Mi primitiva observación sobre la penicilina puso también de manifiesto que podía producir bacteriolisis.

Gardner demostró que ejercía un efecto extraordinario sobre la morfología de la célula bacteriana. Pareció que interfería con la división celular, ya que las bacterias sensibles, cultivadas en concentraciones débiles de penicilina, presentaban formas inusitadas. Luego el equipo de Oxford demostró sus notables propiedades curativas en el ratón. Fueron infectados ratones con estafilococos, estreptococos o con vibrión séptico, infecciones que eran invariablemente fatales. Algunos de estos ratones fueron tratados con unos pocos miligramos de penicilina concentrada y otros quedaron sin tratamiento. Los no tratados murieron en su totalidad dentro de las 17 horas primeras y los que fueron tratados curaron todos. He aquí un resultado notable. Entonces lo ensayaron en enfermos con infecciones sépticas y los resultados que obtuvieron pusieron de manifiesto que la penicilina era, sencillamente, el medicamento quimioterápico más poderoso conocido.

Sentado esto, se trataba ya de un problema de producción. Florey se trasladó a América y transmitió sus informaciones a las autoridades de aquel país. Allí los productores farmacéuticos, estimulados por el Gobierno, emprendieron la fabricación en gran escala, consiguiendo de este modo adelantos en varios aspectos. En Gran Bretaña los productores farmacéuticos tomaron parte en la campaña, y hubo un franco intercambio de informaciones entre los elaboradores de ambos lados del Atlántico.

Al principio la producción en gran escala se adaptó exactamente a la misma forma que se había puesto en práctica en el laboratorio de la Universidad de Oxford, pero bien pronto se introdujeron modificaciones en varios sentidos: en la composición del líquido donde era cultivado el hongo, en el método de cultivo y en el hongo mismo".

Pronto se crearon falsas expectativas y se llegó a considerar la penicilina como una droga milagrosa, capaz de ayudar a

curar cualquier enfermedad. Esto hizo que se usara de forma inapropiada (incluso en situaciones en las que los antibióticos carecen de efectividad) y que se diera un uso abusivo del antibiótico. Hoy sabemos que dicho empleo inapropiado de los antibióticos selecciona bacterias mutantes resistentes y origina fatales consecuencias en la población. En este sentido, A. Fleming se adelantó a los acontecimientos al predecir o advertir en una entrevista publicada en el *New York Times* en 1945 que “el mal uso de la penicilina podría llevar a la selección y propagación de mutantes resistentes al antibiótico”. En términos parecidos se expresó en su visita a España en la primavera del año 1948 al advertir:

“Si la dosis es demasiado pequeña, los gérmenes no sucumbirán, y existe el peligro de que resulten habituados a resistir a la penicilina. Una vez que un germen determinado ha resultado adiestrado en esta forma para resistir la acción de la droga, no pierde fácilmente esta propiedad. Puede, pues, ocurrir que haya alguien que se trate inadecuadamente una simple angina con penicilina y con ello adiestre a los gérmenes a resistir la acción terapéutica del medicamento. Estos gérmenes, que han aprendido a ser resistentes, pueden ser luego transmitidos por el primer paciente a su mejor amigo, quien puede con ello contraer una neumonía, y por tratarse en esta ocasión de un germen resistente, la penicilina carecerá de efecto. De este modo, el primer paciente, gracias al uso irreflexivo de la penicilina, sería moralmente responsable de la muerte del amigo más querido”.

El eminente G. Marañón se sumaría a principios de la década de los cuarenta a las alabanzas a la penicilina calificándola como nuevo y maravilloso remedio y afirmando que significaba “el comienzo de una era que, llena de esperanzas, se abre ante nosotros”. La historia de esta nueva era es bien conocida. No obstante, la penicilina de que se disponía en aquellos momentos tenía sus limitaciones: en particular, había bacterias resistentes a la misma. Veamos cómo plantea este problema uno de los integrantes del equipo de Oxford, E. Abraham:

“Ya en 1940, trabajando con Chain, descubrimos un enzima de *Escherichia coli* que destruía la penicilina

de Oxford. Sugerimos entonces que la enzima, a la que habíamos bautizado ‘penicilinas’, intervenía en la resistencia de las bacterias que la producían.

Incluso antes de descubrirse las características estructurales del anillo típico de la penicilina, se sabía que la molécula producida en Oxford difería de la obtenida en los laboratorios de los Estados Unidos. Las dos penicilinas, que se denominaron, respectivamente, “penicilina F” y “penicilina G”, tenían el mismo núcleo molecular, pero diferían en las cadenas laterales. La penicilina G, conocida también como “bencilpenicilina”, fue la primera que alcanzó un uso generalizado en Medicina, y aún mantiene su valor terapéutico. Se obtuvo en los Estados Unidos al adicionar un extracto de cereal que contenía ácido fenilacético ($C_6H_5CH_2COOH$) al medio de fermentación. La cadena lateral deriva del citado ácido.

Andando el tiempo, se obtuvieron distintas penicilinas con cadenas laterales químicamente relacionadas a partir de fermentaciones de *Penicillium chrysogenum* a las que se agregaban los precursores adecuados. Ninguna de estas penicilinas resultó marcadamente superior a la bencilpenicilina en su rango de actividad. En 1954, sin embargo, se descubrió que la fenoximetilpenicilina era estable en el medio ácido gástrico, por lo que podía utilizarse por vía oral. Por aquel entonces no había datos que permitieran la posible obtención de compuestos de la familia de la penicilina exentos de las limitaciones de la bencilpenicilina. De hecho, existían indicios de que el valor terapéutico de la penicilina disminuiría ante la progresiva presencia, en los hospitales, de estafilococos resistentes a la bencilpenicilina. Tal resistencia la confería su capacidad de sintetizar una penicilinas. Afortunadamente, varios hechos imprevisibles condujeron a la obtención de nuevas penicilinas, de cefalosporinas y de otras sustancias con el anillo β -lactámico, que retenían la mayoría de las propiedades terapéuticas de la bencilpenicilina y, además, eran eficaces frente a muchas bacterias resistentes a la bencilpenicilina. Tales compuestos, junto a las primeras penicilinas, constituyen el grupo actual de antibióticos β -lactámicos. Al mismo tiempo, las investigaciones permitieron descifrar el modo de acción de los antibióticos β -lactámicos, las razones de su diferente actividad y los factores que crean la resistencia bacteriana y permiten la propagación de los microorganismos”.

LA CUESTIÓN DEL GENIO Y EL GERMEN

De las diversas acepciones de "genio" la más conocida se refiere a la "capacidad mental extraordinaria para crear o inventar cosas nuevas y admirables".

Va más allá de la inteligencia, que se puede definir como la "capacidad para resolver problemas".

Son dos aspectos, genio e inteligencia, propios de la especie humana, pero debemos preguntarnos si esto es único o en general aplicable a todos los seres vivos así porque con ello definimos aspectos, conductas y hechos propios del individuo. Estos conceptos, en la genialidad del lenguaje –otra característica de los seres superiores–, nos permiten coincidir con cualquier interlocutor en lo que queremos expresar.

¿Podemos extrapolar estas características a los microorganismos? Salvando las distancias, que naturalmente son enormes, hoy día sabemos que la polarización-despolarización de estructuras (membrana, canales iónicos, configuración proteica, etc.), el sistema de *quorum sensing* y la segregación de sustancias químicas al medio son algunas de las señales del "lenguaje" con las que se comunican unos microorganismos con otros de su misma o de otras especies. Todos los seres vivos tienen sus códigos de señales para comunicarse con su entorno. Estoy seguro de que muchos microbiólogos entienden mejor el "lenguaje" de los microorganismos que el de un ciudadano de otro país y a veces el de personas del mismo entorno aunque hablen el mismo idioma.

Me pregunto quién presenta un genio más sublime: ¿los microorganismos, al disponer de un "lenguaje" particular que ha ido haciéndose más complejo con la complejidad evolutiva, o el investigador, quien, buceando en el mundo microscópico con tecnologías inimaginables hace años, ha sido capaz de encontrar estos códigos abriendo unas posibilidades prácticas de indudable interés?

Los microorganismos han sido capaces de resolver gravísimos problemas. Aunque no encajan en nuestro concepto de

inteligencia, es indudable que el principal problema biológico que tiene todo ser vivo es sobrevivir y garantizar la supervivencia de la especie, y en esto los microorganismos son unos extraordinarios expertos. Pero todos los demás problemas que se les pueden presentar, como utilización de nutrientes, competencia, intercambio y procesamiento de información (transferencia y recombinación genética), los resuelven con una "inteligencia" que raya la genialidad.

Respecto al título de este capítulo, que se refiere al genio, algunas de las acepciones vienen como anillo al dedo para entender ciertas características de los microorganismos, especialmente los patógenos.

Con frecuencia nos referimos al genio como agresivo, irascible (mal genio) y, entre los patógenos, el genio epidémico se corresponde con la virulencia característica de las enfermedades infecciosas. Numerosos ejemplos y situaciones son bien conocidos por los lectores, pero conviene resaltar que el mayor grado de virulencia se da cuando convergen microorganismos dotados de potentes determinantes patogénicos (toxinas, mutaciones, islas de patogenicidad, etc.) con un fracaso del genio humano traducido en guerras, hacinaamientos, contaminación y otros factores similares.

Las diferentes culturas, a falta de técnicas y conocimientos científicos, siempre intuyeron la existencia de elementos que podían cambiar sus vidas, generalmente para mal. La caja de Pandora, la lámpara de Aladino, prodigios y miasmas son algunas metáforas que permitían, a través de "genios", explicar situaciones que hoy día se achacarían a microorganismos.

Pero volvamos a la definición con la que iniciamos el presente capítulo: ¿qué cosas nuevas y admirables han creado o inventado los microorganismos? Sin lugar a dudas, tantas o más que el hombre, aunque en otro sentido. Basta con reflexionar sobre algunas.

Hoy se acepta que los seres vivos más sencillos son las bacterias, a la vez los primeros pobladores de la tierra. Fueron capaces de crear unas condiciones sorprendentes. Para algunos científicos las mayores revoluciones en la historia de la Tierra han consistido en la fotosíntesis y la neutralización del mayor veneno de la época inicial, el oxígeno. Las bacterias

tienen la capacidad de adaptación y para este fin se han constituido en verdaderas fábricas sintetizadoras de lo necesario para cada caso.

Si hacemos caso de la teoría endosimbiótica de L. Margulis, algunas bacterias se han adaptado tan bien a las células superiores, que serían como fábricas dentro de estas células. Se identificarían con las mitocondrias. ¿Cabe mayor genialidad y generosidad simbiótica?

Otro ejemplo, uno más, del genio de los microorganismos pero que a los médicos nos parece importantísimo es la capacidad de producir antibióticos. Estas sustancias segregadas en la Naturaleza constituyen una de tantas del código de señales para comunicarse y mantener los equilibrios ecológicos de las complejas poblaciones microbianas. Pero, ¿cómo no se envenena el microorganismo que las produce? En la naturaleza nada es inútil. Tiene sistemas de autoprotección (dianas ausentes modificadas o protegidas) que otras poblaciones del entorno, si no se extinguen, terminan por "aprender", se hacen resistentes.

Quizás no haya en la Naturaleza una relación tan peculiar como la del hombre con los microorganismos. Los microbios, a los que se atribuye el origen de la vida en la Tierra, mantienen el equilibrio vital sobre el planeta, proporcionan medicamentos y otras sustancias valiosas para la salud y el bienestar del hombre, constituyen una de las mejores herramientas de investigación genética y son imprescindibles para el progreso científico.

Pero los microbios son también causantes, como productores de enfermedades infecciosas, de sufrimiento humano. Para algunas bacterias, algunos virus y demás microorganismos, la enfermedad infecciosa es la vida misma, mientras que para el hombre supone –especialmente en su forma epidémica– uno de los ejemplos más dramáticos del dolor humano.

Las relaciones negativas de los microorganismos con el hombre son accidentales, muy raras, aunque a nosotros nos parece lo contrario, porque es la enfermedad la evidencia más llamativa para nosotros de la existencia de los microorganismos.

Pues bien, incluso en esta situación excepcional, el microorganismo tiene que cumplir sus objetivos biológicos:

sobrevivir y perpetuarse, y que los cumple de una manera muy "inteligente".

En sus relaciones con el huésped, ambos ponen en marcha la estrategia más adecuada ajustándola en cada momento, lo que sería la envidia de los más geniales estrategas militares. Por ejemplo, el organismo humano opone a la infección una serie de barreras mecanicoquímicas (piel, sudoración, acidez o descamación, entre otras). Algunos patógenos a favor de oportunidades, como heridas, o determinantes de patogenicidad, como adhesinas o toxinas, pueden desbordar estas barreras. En tal caso el huésped pone en marcha mecanismos como la inflamación y otros sistemas inespecíficos (leucocitos, etc.), que pueden ser neutralizados por enzimas microbianas del tipo de leucocidinas, hialuronidasas, fibrinolisinias y otros. Todavía el huésped puede reaccionar de forma contundente y específica mediante el sistema inmunológico humoral y/o celular.

Pues también los microorganismos presentan batallas, en este caso con recursos "inteligentes". Los cambios antigénicos, el uso de refugios, como los macrófagos, o la acción a distancia desde la puerta de entrada por medio de sus toxinas a modo de misiles, son algunos ejemplos. En conjunto, las consecuencias dependen de las tácticas de cada adversario; así, podemos encontrarnos con infecciones abortivas, agudas, crónicas, persistentes, recidivas, etc., excepto la muerte del huésped, que, como se ha citado, supone un fracaso, ya que supondría el fin de los recursos para el patógeno.

Otra genialidad más: la fiebre y otros cambios orgánicos son signos de hostilidad hacia el invasor, pero éste, en previsión de que las cosas se pongan mal, emigra hacia otro organismo para asegurarse la supervivencia. ¿Cómo lo logra? Como todo lo genial, muy sencillamente: irrita la mucosa, provoca la tos o la diarrea, por ejemplo, y es el propio huésped el que le facilita las cosas.

En una situación límite el genio humano echa mano de su arma "secreta", que debe exterminar al enemigo: los antibióticos. Pues bien, era difícil sospechar que incluso esta situación estuviera prevista por el "servicio de inteligencia" microbiano, que tenía en reserva los sistemas inactivantes adecuados para resistir a los antibióticos.

El genio microbiano ha sido un elemento transformador de la historia. El germen ha estado unido a grandes cambios históricos, entre otros, la revolución neolítica, el derrumbamiento de grandes civilizaciones de la Antigüedad, el nacimiento del nuevo orden social, económico y político surgido a finales del Medioevo tras la famosa peste negra, la situación social y sociocultural de América después de su descubrimiento, la modificación del mapa europeo entre los siglos XVII y XIX como consecuencia de las numerosas guerras, en las que muchas veces los gérmenes fueron el factor decisivo de triunfo o de derrota, la difusión del Romanticismo –imposible de interpretar en lo social y en lo cultural aislado de la tuberculosis– y el cambio profundo en las relaciones sociales de este ajetreado fin de milenio que ha traído consigo el SIDA.

Frente al "genio", a la "inteligencia" y a las "genialidades" de los microorganismos, el hombre ha sabido utilizar las mismas propiedades sin entrecomillar. Es más: como en el judo, ha aprovechado el genio del, en este caso, adversario para aumentar el rendimiento.

Destacaremos algunos ejemplos:

- A finales del siglo XVIII apareció en Holanda un genio, el tendero A. V. Leeuwenhoek, quien, con su afición a las lentes y a los rudimentarios artilugios que utilizaba, descubrió la llave (el microscopio), y con ella un nuevo mundo que cambió el sentido de la Ciencia. A partir de aquí la generación espontánea, la causa de las enfermedades, su diagnóstico y tratamiento, etc., seguirán un curso inimaginable hasta entonces.
- Se necesitan, sin embargo, muchos más genios científicos que vayan descubriendo las posibilidades del mundo microscópico descubierto, pero no faltarán. Entre ellos cabe destacar la aportación de dos personajes clásicos, Pasteur y Koch, químico francés y médico alemán, respectivamente, quienes, junto con sus equipos, discípulos y seguidores, dieron un salto gigantesco en el conocimiento de este nuevo mundo. De su genio pueden dar testimonio algunos hechos trascendentales para la Humanidad:
 - A finales del siglo XIX, en menos de 20 años descubrieron el agente etiológico de la mayoría de las infecciones que azotaban el mundo. Cólera, peste, carbunco, fiebre tifoidea y tuberculosis son algunos

ejemplos. Hoy día consideraríamos revolucionario uno solo de ellos.

- Los principios científicos de la vacunación, la incorporación del cultivo sólido, las técnicas de tinción y los postulados para definir la enfermedad infecciosa fueron algunas aportaciones puntuales propias de genios que, en conjunto, habían de tener una importancia mayor. Estos descubrimientos, junto con los del menorquín Orfila, permitieron establecer la teoría etiopatogénica de la enfermedad, que supone el indiscutible esqueleto metodológico actual, base del avance de todas las Ciencias médicas.

Pero en este contexto destaca, si ello es posible, el genial Paul Ehrlich. ¿Es el 606 el genio que brota de su lámpara de Aladino? Ni mucho menos. Sus aportaciones no resultan casuales. El profundo conocimiento que posee sobre Química, en concreto sobre colorantes, y su sentido práctico de la especificidad de las reacciones, incluyendo las de antígeno-anticuerpo, le llevaron a la búsqueda de la "pócima" mágica. Su constancia es el mejor condimento para entender cómo no decayó su ánimo estudiando hasta 605 compuestos antes de llegar al 606 o salvarsán, que supuso el primer fármaco administrado por vía general para tratar una infección, la sífilis en este caso. Llegar a actuar sobre células bacterianas que estaban en el esperar de los tejidos sin dañar las células de éstos era su meta, y la alcanzó, iniciándose así la era de la Quimioterapia, que produciría cambios importantísimos.

En esta genialidad de Ehrlich está el fundamento no sólo del tratamiento de las infecciones, sino también de la terapia oncológica, que persigue destruir las células malignas sin dañar las sanas.

También aparecen cambios en la percepción que la gente tiene de los medicamentos, se instala una cultura en Occidente que da alas a un desarrollo industrial nunca sospechado en el ámbito médico y además se erige como motor de muchos avances científicos.

Con todo lo citado, se establecen los cimientos sobre los que antes o después debían basar sus descubrimientos personajes como Domak, Fleming, Florey, Chain, Waksman etc. Su capacidad y forma de resolver los problemas de la época

mezclan preparación, inteligencia y genio en su obra. Las dificultades y exigencias posteriores llevan a sustituir la genialidad de algunos personajes por la eficiencia de los equipos. Sólo la sinergia de los investigadores es la única forma de dar respuesta a los complejos problemas de hoy día.

Cualquiera puede pensar que esta revisión de genios en el campo de la Microbiología y la Infectología es fruto de la pasión de quien esto escribe, pero reto al lector a dos ejercicios de revisión. Eche un vistazo a cualquier enciclopedia o historia de la Ciencia y observará los miles de científicos que han destacado en el campo que nos ocupa. Es justo entonces reconocer a algunos, posiblemente los más populares, aunque otros resulten tan importantes como verdaderos genios. Deténgase también a escudriñar el trato que otros genios, como son los artistas, le han concedido a los protagonistas de este capítulo y verá las innumerables películas y obras literarias en las que se utiliza su vida y obra en la trama, el anecdotario y la disculpa para mayor lucimiento.

Otro ejercicio más fácil para el lector: observe la relación de Premios Nobel en Medicina que abarca el siglo xx y verificará que, de las numerosas especialidades médicas, en un apabullante porcentaje este galardón se concedió a científicos de los campos citados y/o relacionados directamente con el ámbito de la Quimioterapia. Si en el sentir popular el Premio Nobel es lo más próximo al concepto de genio, su concesión constituye el mejor reconocimiento. Precisamente el Nobel de 2005 se concedió a Marshall y Warren por descubrir la etiología bacteriana de la úlcera gastroduodenal, que produjo un giro de 180° en el tratamiento. Los antimicrobianos de golpe dejaron obsoleta la conducta médicoquirúrgica clásica de uno de los cuadros más importantes en la sanidad de Occidente.

Con relativa frecuencia la sociedad considera a los genios personas atípicas y extravagantes, cuando no locas. No me extraña, salvo algún caso excepcional, como el de Semmelweis, quien, con su difícil carácter, tras sus reconocidas aportaciones sobre la fiebre puerperal, acabó sus días en un manicomio; las extravagancias suelen referirse a la dedicación, laboriosidad y distancia de los fastos sociales. Los genios son catalogados frecuentemente como "gente rara". He pretendido revisar el genio de los microorganismos por

un lado y el de los científicos por otro. El lector fácilmente puede deducir que ambos están en la misma "guerra", pero en bandos diferentes, y que las batallas que se están librando son interminables.

El cuerpo humano contiene más microorganismos que células en su interior y a lo largo de la historia ha aprendido a convivir con ellos en circunstancias normales y a combatirlos –con desigual fortuna según los casos– en condiciones de enfermedad. Sin embargo, en el último medio siglo la relación hombre-germen se ha visto alterada por dos hechos trascendentales. Por una parte, el descubrimiento y desarrollo de los antimicrobianos (uno de los hitos trascendentales del genio investigador del hombre), que ha permitido reducir extraordinariamente la que ha sido la principal causa global de mortalidad desde la aparición de los primeros grupos humanos hasta la introducción cínica de la penicilina. Por otra parte, la creación de resistencias a los antimicrobianos por los microorganismos, fenómeno que ha puesto de manifiesto la inusitada capacidad de invención de unos seres tan minúsculos como "inteligentes".

¿Alguien pensó que las bacterias sólo reconocerían los antibióticos naturales, frente a los que desarrollaría mecanismos de resistencia? Lógicamente, compuestos sintéticos como sulfamidas o quinolonas podrían aniquilar a las bacterias sin que éstas "supieran" resistirse. Falsa hipótesis: el genio bacteriano supo poner en marcha los mecanismos adecuados de defensa-resistencia.

¿Alguien creyó que la ciencia sería derrotada por los microorganismos, que al mutar producen nuevas enfermedades o nuevas formas de enfermar, así como resistencias a los antibióticos? Poca confianza tenían entonces en el genio del hombre, que ha demostrado la capacidad necesaria para hacer frente a los retos que le presentan los patógenos.

Es cierto que en las numerosas batallas irán venciendo los microorganismos o los científicos alternativamente, pero en la guerra final, la de la supervivencia, no puede haber vencedores. ¡Mal asunto en caso contrario, pues los microorganismos no se pueden erradicar totalmente al ser esto incompatible con la vida sobre la Tierra! Lo contrario dejaría sin sentido este capítulo.

LOS ESTAFILOCOCOS COMIENZAN A COMPLICAR LA VIDA DEL MÉDICO Y DEL ENFERMO

Los estafilococos son un grupo de bacterias que causan numerosos y graves procesos infecciosos. Se podría decir que han llegado a condicionar la historia de las infecciones hospitalarias, así como a tener gran influencia en el campo de la cirugía.

Se describieron por primera vez a principios de la década de 1880, figurando entre las primeras bacterias que se reconocieron como patógenas. El cirujano escocés Sir Alexander Ogston fue quien escogió el término "*Staphylococcus*"; la expresión griega "*staphyle*" significa "racimo de uvas" y la eligió para designar a este grupo de microorganismos debido a su característica agrupación en racimos que se observa al microscopio.

Estos microorganismos eran responsables de la mayoría de las infecciones ocurridas hasta la época del gran hallazgo del bacteriólogo escocés Alexander Fleming en 1928, el descubrimiento del primer antibiótico. Fleming consiguió aislar un moho denominado "*Penicillium notatum*", que tenía el poder de inhibir el desarrollo de los estafilococos. Este descubrimiento dio lugar al origen a la penicilina, y desde ese momento se inició el mundo de la antibioterapia. Los antibióticos han transformado completamente la perspectiva de la humanidad respecto a las enfermedades infecciosas.

La penicilina resolvió la situación del momento; parecía tener determinadas ventajas en las infecciones producidas por bacterias que generaban infecciones purulentas agudas, como el ántrax y otros procesos malignos de esa época, como la difteria. No obstante, los estafilococos se adaptan y parecen estar al acecho de cualquier oportunidad que se les presente para producir enfermedad. La especie más patógena de este género es el *Staphylococcus aureus*, microorganismo ubicuo muy resistente a las condiciones ambientales pese a no ser esporulado (forma de resistencia) y que puede

causar gran variedad de cuadros clínicos; es el agente etiológico de un amplio espectro de infecciones, tanto comunitarias como hospitalarias.

Pocos años más tarde de comercializarse la penicilina G (benzilpenicilina), se descubrió una enzima capaz de inactivar los antibióticos β -lactámicos al romper su anillo, una β -lactamasa (penicilinasa). Esta enzima inicialmente se aisló en cepas de *Escherichia coli*, pero más adelante, en 1945, Spink fue el primero que comunicó su aislamiento en *S. aureus*. Desde este primer caso de *Staphylococcus* resistente, la resistencia a los antimicrobianos ha avanzado rápidamente. Así, a finales de la década de los cincuenta, la mayoría de los aislados nosocomiales de este patógeno eran productores de β -lactamasas, hasta el punto de que en la actualidad aproximadamente el 80-90% de los aislados en *S. aureus* son resistentes a la penicilina.

No obstante, la penicilina G, debido a sus propiedades biológicas y a su facilidad de obtención, fue seleccionada para el tratamiento de las infecciones. Sin embargo, esta penicilina presentaba una serie de limitaciones y para mejorarla se estudiaron y desarrollaron nuevas sustancias, obteniéndose así las primeras penicilinas semisintéticas.

El aislamiento del ácido penicilánico por Batchelor en 1959, núcleo de la penicilina, fue el punto de partida para la preparación de estos nuevos antimicrobianos. Las distintas modificaciones de este ácido por la adición de cadenas laterales obtenidas por síntesis química dio origen a numerosas penicilinas semisintéticas resistentes a las penicilinasas, como la meticilina, oxacilina, cloxacilina y nafcilina; la meticilina fue el primer compuesto sintetizado, en 1960.

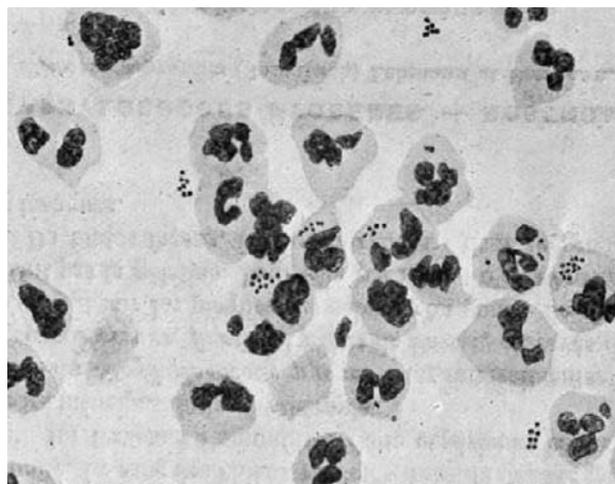
Con estas penicilinas se esperaba acabar con el problema de la resistencia de los estafilococos; sin embargo, no había pasado apenas un año desde la introducción de la meticilina en la práctica clínica, cuando se detectaron por primera vez aislados de *S. aureus* resistentes a la meticilina en un hospital británico, denominándose estos microorganismos "estafilococos SARM" (*S. aureus* resistentes a meticilina). Su aparición coincidió con la utilización cada vez más generalizada de antibióticos de amplio espectro y el uso cada vez mayor de técnicas médicas invasivas. Estos

aislados resistentes se extendieron rápidamente por Europa y Estados Unidos, con lo que llegaron a originar graves problemas en el tratamiento de estas infecciones producidas por los estafilococos, causando importantes epidemias de infección nosocomial.

Después de más de 40 años, se ha producido un incremento importante en la prevalencia de *S. aureus* resistente a la meticilina. También hay que decir que estos aislados, además de ser resistentes a este antimicrobiano, generalmente lo son a la mayoría de los antibióticos que han sido desarrollados en los últimos años, como eritromicina, tetraciclinas, gentamicina y cloranfenicol, a excepción de algunos pocos antimicrobianos, como la vancomicina y el ácido fusídico, que todavía continúan siendo eficaces y que se utilizan en casos concretos, como última alternativa en las infecciones hospitalarias producidas por estos microorganismos SARM. No obstante, la aparición reciente de algunos de estos aislados con sensibilidad disminuida a la vancomicina en algunos países (como en Japón) es un motivo de gran preocupación, sobre todo porque todavía no se conoce bien el mecanismo por el cual el *S. aureus* disminuye su sensibilidad a la vancomicina.

Estos aislados *S. aureus* resistentes a la meticilina presentan también esta resistencia intrínseca a otras penicilinas resistentes a la penicilinasas, como la oxaciclina. Asimismo, aislados del género *Staphylococcus* que ofrecían resistencia a la meticilina poseen patrones de resistencia que abarcan a otros antibióticos. Por este motivo esa resistencia a la meticilina se toma como índice de referencia o marcador de la resistencia a otros agentes antimicrobianos.

S. aureus es la especie más patógena de esta familia de microorganismos debido principalmente a que tiene una amplia variedad de determinantes de patogenicidad, que incluyen componentes de pared celular y una gran variedad de exoproteínas (hemolisinas, leucocidinas, enterotoxinas, exfoliatinas, exotoxinas pirógenas y enzimas estafilocócicas), que contribuyen a colonizar los tejidos y causar enfermedad. Las infecciones que con mayor frecuencia relacionan *S. aureus* con las infecciones de la piel son la foliculitis, el impétigo, el ántrax, y con las de tejidos blandos son los abscesos y forúnculos, así como también osteomielitis, artritis,



Tinción de Gram: estafilococos en interior y exterior de leucocitos.

neumonía, bacteriemias con o sin foco e infecciones en las que están involucradas sus toxinas, como enterocolitis, intoxicaciones alimentarias, síndrome del shock tóxico y síndrome de la piel escaldada.

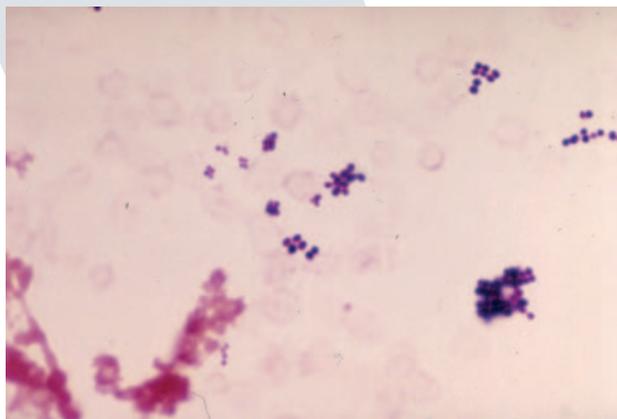
En muchas ocasiones se ha llegado a confundir el ántrax producido por *S. aureus* con la patología que produce *Bacillus anthracis*, el carbunco, debido a que ambas infecciones tienen denominaciones parecidas en inglés, aunque signifiquen lo contrario. La traducción de ántrax en inglés es "carbuncle", pero carbunco en inglés se traduce como "ántrax". Por esta razón los términos "carbunco" y "ántrax" se han ido traduciendo de forma incorrecta y han ido adquiriendo el rango de sinónimos, lo que ha dado lugar a muchos equívocos.

El ántrax es una infección cutánea y benigna que se produce como resultado de la infección por estafilococos y la posterior inflamación de los folículos pilosos de la piel, mientras que el carbunco es una enfermedad fundamentalmente de los animales que puede propagarse por contacto directo al hombre produciendo pápulas que se ulceran y escaran formando pústulas malignas características.

Existen otras especies del mismo género, como *Staphylococcus saprophyticus* y *S. epidermidis*, que también

presentan una reconocida capacidad patógena, sobre todo como microorganismos oportunistas. Este grupo de microorganismos recibe el nombre de "estafilococos coagulasa-negativos" y, como el término indica, no poseen la enzima coagulasa, lo que permite diferenciarlos del *S. aureus*.

Estos patógenos se caracterizan por ser microorganismos de menor virulencia que forman parte de la microbiota normal de la piel y de las mucosas y habitualmente no son patógenos para el hombre sano, pero pueden llegar a producir infecciones en personas que tengan disminuidas sus defensas, como los pacientes inmunodeprimidos. De ser considerados microorganismos no patógenos, han pasado a ser bacterias frecuentemente relacionadas con procesos de infecciones hospitalarias. Son importantes sobre todo por su elevada prevalencia en la infección hospitalaria. Más del 35% de los aislados son resistentes a la meticilina, asociándose esta resistencia a otros antimicrobianos. También se han llegado a describir aislados *S. epidermidis* resistentes a la vancomicina.



En la actualidad, aproximadamente el 80-90% de los aislados nosocomiales de *Staphylococcus aureus* son resistentes a la penicilina.

En la actualidad tanto *S. aureus* como los estafilococos coagulasa-negativos, sobre todo *S. epidermidis* (más del 50%), figuran dentro de los patógenos emergentes responsables de las bacteriemias hospitalarias asociadas con dispositivos invasivos. La mayoría de estas infecciones se producen como consecuencia de procedimientos médicos diagnósticos y terapéuticos y por el uso generalizado de catéteres y prótesis (válvulas cardíacas, prótesis articulares, etc.).

La incidencia de infecciones causadas por estos microorganismos ha aumentado considerablemente desde más o menos 1980. Muchos de los agentes implicados en estas infecciones son los *S. aureus*, de los que más del 95% de los aislados hospitalarios son resistentes a la penicilina, comportándose como cepas multirresistentes. De igual manera se comporta el estafilococo coagulasa-negativo, del que se encuentran cada vez más resistencias. Esta resistencia progresiva de los estafilococos en los hospitales está influenciada principalmente por la presión selectiva de la excesiva utilización de los antibióticos desde hace varios años.

Otra de las grandes preocupaciones de hoy en día es el flujo de resistencias hospitalarias hacia la comunidad, como los aislados *S. aureus* resistentes a la meticilina, que hasta hace poco sólo producían infecciones hospitalarias pero ahora están apareciendo en la comunidad. La diseminación de estos patógenos está condicionada por el alta hospitalaria de enfermos como aquellos que padecen fibrosis quística.

Todo esto hace que estas bacterias protagonicen un fenómeno importante dentro de la historia de los antimicrobianos que constituye la gran emergencia desde hace varias décadas de las infecciones hospitalarias. Esto nos lleva a concluir que se debe potenciar y continuar en la investigación de nuevos antibióticos que hagan más difícil la adquisición de resistencia hospitalaria y comunitaria, tanto de los estafilococos como de otras bacterias.

PROBLEMAS DE RESISTENCIA A LA PENICILINA Y A LA METICILINA

Dimensión del problema

La penicilina fue introducida en la década de los cuarenta y tiene un peso fundamental en el tratamiento de las enfermedades infecciosas al presentar únicamente resistencias esporádicas. No obstante, las bacterias desarrollaron rápidamente mecanismos de resistencia frente a este grupo de antibióticos elaborando enzimas, β -lactamasas, que hidrolizaban el fármaco inactivándolo, proceso que rápidamente se fue propagando. En 1946 alrededor del 14% de *Staphylococcus aureus*, nosocomiales, ya producían β -lactamasas ascendieron al 60% en la década de los cincuenta y se han incrementado al 95% en los últimos 15 años. Como resultado de todo esto, actualmente sólo el 5% de *S. aureus* en España son sensibles a la penicilina.

A la hora de evaluar este problema es necesario conocer su dimensión, para lo cual resulta fundamental saber la prevalencia local de resistencias presentes en las principales bacterias implicadas en patología humana, tanto hospitalaria como extrahospitalariamente, además de otros datos, como espectro antibacteriano, perfil farmacocinético y propiedades farmacodinámicas del antibiótico que está en estudio.

En relación a *S. aureus* sensible a la meticilina, más del 95% son resistentes a las penicilinas, pero sensibles a cloxacilina, cefalosporinas e inhibidores de β -lactamasas. En cambio, las cepas resistentes a la meticilina implican la resistencia a todos los antimicrobianos β -lactámicos. Son bacterias emergentes en la comunidad; están presentes en el ámbito hospitalario y en las residencias en el 10-40%. Hospitales de países como Francia y España alcanzan elevados índices frente a otros países, como los escandinavos.

Otros microorganismos, como el *Staphylococcus epidermidis*, presentan resistencias a la meticilina de alrededor del 75%; *Streptococcus pneumoniae*, próximas al 40%, incre-

mentándose las resistencias de alto nivel a la penicilina en el 15-20% y a la amoxicilina al 5%; *Enterococcus faecalis* presenta resistencias a la penicilina menores del 5%; y *Neisseria gonorrhoeae* alcanza cifras próximas al 50% de resistencias a la penicilina. En relación a *Neisseria meningitidis*, se observa un ligero aumento de resistencia a bajo nivel a la penicilina, que está actualmente en el 30-40%. En el caso de *Haemophilus influenzae* el nivel de resistencias a la amoxicilina se aproxima al 30%; de estas cepas, menos del 5% son resistentes a los inhibidores de β -lactamasas.

Mecanismos de resistencia

Las penicilinas son agentes bactericidas que inhiben la síntesis de la pared bacteriana impidiendo la formación del peptidoglicano, induciendo su autólisis.

El mecanismo de acción se fundamenta en la unión a enzimas denominadas "PBP" (proteínas fijadoras de penicilina), imprescindibles para la formación e integridad de la pared.

En relación a la presencia de resistencia a la penicilina, existen tres mecanismos básicos: degradación enzimática del antimicrobiano, imposibilidad de éste para penetrar a través de la membrana celular y alteraciones en el lugar de la bacteria donde actúa el antimicrobiano (PBP), siendo este último el más frecuentemente implicado en la resistencia a la penicilina y a la meticilina. Dichas PBP poseen estructura proteica y se localizan en la zona más externa de la membrana citoplásmica bacteriana; existen de varios tipos y varían de una especie a otra. La penicilina actúa, uniéndose a estas proteínas diana, inhibiendo la síntesis de pared y alterando el crecimiento. En cambio, los β -lactámicos actúan sobre estas proteínas ligadoras de penicilina que forman complejos estables alterando el crecimiento y la división bacteriana, originando así defectos en la pared, que evolucionan hacia la destrucción del microorganismo.

La industria farmacéutica respondía a este reto desarrollando nuevos fármacos para salvar este problema, como penicilinas resistentes a β -lactamasas estafilocócicas (meticilina y cloxacilina) y la combinación de β -lactámicos con inhibidores de β -lactamasas, como ácido clavulánico o tazobactam, entre otros, originando así nuevos mecanismos moleculares de resistencia por parte de los microorganismos. Uno de ellos

es la resistencia a la meticilina por parte de los estafilococos; se fundamenta en la capacidad del microorganismo de sintetizar una proteína de pared adicional (PBP 2a), que asume las funciones del resto de las PBP cuando éstas son bloqueadas por los β -lactámicos permitiendo con ello la supervivencia del germen en presencia de cualquiera de estas moléculas. La resistencia a la meticilina obliga a orientar el tratamiento antimicrobiano a otros fármacos no β -lactámicos como macrólidos, fluorquinolonas, glicopéptidos o clindamicina, teniendo siempre presente que la resistencia a la meticilina puede estar asociada a estos fármacos, aunque no de una manera obligada, por lo que se necesita un estudio de sensibilidades que permita aplicar un tratamiento más seguro.

Implicaciones

Este incremento de resistencias observado tanto respecto a la penicilina como a la meticilina lleva asociado importantes implicaciones de diversa cuantía y nivel, tanto hospitalarias y extrahospitalarias como socioculturales y hasta agriveterinarias.

Extrahospitalariamente las modificaciones en las sensibilidades en marcadores clásicos como *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. aureus* o *N. gonorrhoeae*, entre otros, implicados en el 90% de las infecciones de la comunidad, obligan a cambiar tratamientos empíricos habituales en procesos como faringitis, otitis, heridas cutáneas, gonorrea, etc. por otros más específicos, resultantes de la realización de cultivos y del estudio de sensibilidades al presentar no únicamente resistencias a la penicilina o a los β -lactámicos en general, sino a otras moléculas por resistencias cruzadas, asociadas al exagerado o mal uso de los diferentes antimicrobianos. Se conoce la relación existente entre el incremento en el uso de macrólidos y el aumento de resistencias a la penicilina al seleccionar la propia resistencia a la eritromicina, y también a la penicilina o viceversa.

En la comunidad la proporción de aislamientos de *S. aureus* resistentes a la meticilina ha sufrido un incremento continuo a lo largo del tiempo, elevándose hasta el 44% en algunos estudios y asociándose a resistencias a otros fármacos, como ciprofloxacino, eritromicina y gentamicina. Concretamente, en un estudio con más de 3.000 cepas de

S. aureus se aislaron 25% SARM, 25% resistentes al ciprofloxacino, 25% a la eritromicina y 12 % a la gentamicina.

Las infecciones por *S. aureus* resistentes a la oxacilina constituyen un problema de salud pública al incrementarse su presencia en la comunidad. Aunque en ocasiones el origen de estas cepas es principalmente hospitalario, toman cada vez más un aspecto bidireccional hospital-comunidad, y no se conoce con certeza a menudo el origen de muchas.

Las implicaciones asociadas a la presencia de resistencias a la penicilina y a la meticilina en el ámbito hospitalario vinculadas a patógenos como *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp., neumococos, estafilococos coagulasa-negativos y enterococos, entre otros, dan lugar a graves consecuencias, tanto médicas como epidemiológicas, y hasta económicas, en el propio hospital y son responsable de: infecciones de evolución larga y tórpida, que en ocasiones llevan al fallecimiento del paciente; incorrecta aplicación de terapia empírica, al ser los gérmenes resistentes al tratamiento inicialmente aplicado y aumento de los costes, al requerir estancias hospitalarias más largas y costosas. Estos pacientes incluso pueden evolucionar a portadores, que trasladarán sus resistencias tanto a la comunidad como a diversos centros hospitalarios obligando a la creación de programas de vigilancia para reducir la tasa de resistencias, controlar el uso de antimicrobianos y buscar focos hospitalarios de estas cepas multirresistentes. Estudios del Center for Disease Control (CDC) recuerdan que: dos millones de pacientes estadounidenses se infectan en hospitales, de los que mueren unos 90.000 por infecciones; más del 70% de las bacterias que originan infección en los hospitales son resistentes por lo menos a uno de los antibióticos más utilizados; y estos pacientes requieren estancias hospitalarias más largas y necesitan otros tratamientos con otras moléculas, en ocasiones menos efectivas, más tóxicas y más caras.

Ante todo esto surge una pregunta: ¿qué se puede hacer para frenar este proceso? No existe una respuesta exacta al problema, pero sí un conjunto de principios básicos que se han de seguir:

- El médico ha de estar seguro de que realmente el tratamiento antibiótico es necesario, pues gran parte de las infecciones de los pacientes vistos en Atención Primaria

están originadas por virus, con lo que los antibióticos no resultan de ninguna utilidad.

- Hay que elegir adecuadamente el antibiótico dependiendo de su espectro de acción, dosificación, días de tratamiento, etc. que aseguren el cumplimiento de dicho tratamiento.
- Siempre que sea posible, debe realizarse cultivo y antibiograma antes de iniciar el tratamiento; resulta especialmente útil en los casos de fallo en el tratamiento empírico.
- Hay que ejercer un control exhaustivo ante paciente portador de cepas resistentes.

Implicaciones socioeconómicas de las resistencias

En este apartado factores como el elevado consumo y el cumplimiento inadecuado por parte del paciente son elementos destacados que merecen ser citados.

Por datos aportados por el Sistema Nacional de Salud, conocemos que existe un consumo en nuestro país de 48 millones de envases, asociado a un elevado coste, que podría ser tres veces mayor por las prescripciones no oficiales. De los antibióticos más utilizados, el primer lugar, con diferencia, es el que ocupan las aminopenicilinas y su asociación con inhibidores de β -lactamasas. Si la elevada prescripción oficial, realizada por el médico (con frecuencia resultante de sus malas condiciones de trabajo al no disponer de medios ni de tiempo para realizar un correcto diagnóstico, de su falta de formación o de la práctica de una medicina defensiva, cada más frecuente), constituye un factor importante de resistencias, existen otros que dependen del paciente, como el cumplimiento inadecuado y la automedicación.

En nuestro país el incorrecto cumplimiento del tratamiento antimicrobiano prescrito por el médico se aproxima al 42%, siendo la principal causa el abandono por la mejoría de los síntomas que observa el propio paciente, seguido del olvido en la administración del fármaco y de otras causas, como duración del tratamiento, número de dosis, confianza del

paciente en el fármaco y presencia de efectos secundarios, entre otras.

También existe un efecto de clase, ya que la necesidad de dejar de utilizar antibióticos clásicos repercute en la conducta global incidiendo en diversos factores socioeconómicos, como el incremento de costes en actos médicos o farmacológicos.

Por último, a la hora de considerar las resistencias a los antimicrobianos, no podemos dejar de citar otras implicaciones, como las vinculadas al uso de antimicrobianos en veterinaria y en agricultura. En Estados Unidos se estima que el consumo animal de antibióticos puede ser 30 veces superior al humano, lo que ha originado resistencias en dichos animales, que son transmitidas posteriormente a los humanos. Por ello es de gran importancia la eliminación, en patología animal, de las familias de antibióticos que creen resistencias trasmisibles al humano, como quinolonas, tetraciclinas, glicopéptidos y estreptograminas, aunque no será tarea sencilla.

También es necesario conocer la biodegradación de los antibióticos en el medio ambiente, pues generan resistencias en bacterias ambientales y hay una posterior transmisión a otras.

En resumen, por diversos mecanismos, algunos no conocidos y por tanto difíciles de controlar, estamos expuestos a especies bacterianas habituales entre nosotros cuya resistencia a diversos antimicrobianos incide negativamente en la salud pública. Por ello son varias las actitudes que debemos tomar, entre ellas usar correctamente los antibióticos evitando su utilización siempre que sea posible, seguir un adecuado cumplimiento de las prescripciones médicas en dosis y tiempo, así como conocer las cantidades usadas y sus indicaciones concretas. Esto requiere el estudio previo de la prevalencia por áreas de las distintas infecciones, de los hábitos de prescripción y de las características de los enfermos de la zona. Tampoco hay que olvidar la necesidad de utilizar y recomendar el uso habitual de las guías de consenso.

OTROS MICROORGANISMOS COMIENZAN A IMITAR A LOS ESTAFILOCOCOS

Después de los mayores logros que proporcionó el descubrimiento de los antibióticos en el mundo de las enfermedades infecciosas, parece que han ido perdiendo progresivamente parte de su eficacia. Con el optimismo de los éxitos obtenidos en las décadas de los cuarenta y cincuenta por la introducción de las sulfamidas y penicilinas, se tenía la falsa esperanza de que las enfermedades producidas por microorganismos iban a desaparecer con los años, pero en poco tiempo se puso de manifiesto que las bacterias han sido capaces de desarrollar mecanismos de resistencia frente a los distintos agentes antibacterianos.

Precisamente los estafilococos, que en un principio eran sensibles a todos los antibióticos, en la década de los cincuenta empezaron a presentar resistencias frente a la penicilina poco tiempo después de su comercialización; hoy en día son resistentes en un elevado porcentaje de casos frente a una gran variedad de antimicrobianos, no sólo a la penicilina. Después de unos seis años de la comercialización de la penicilina G, la frecuencia de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes en los hospitales aumentó de menos del 10 al 60% de resistencia, y no sólo eso, sino que en la actualidad se han llegado a alcanzar porcentajes superiores al 90% de estos aislados resistentes, y no dejan de estar de actualidad en la Microbiología clínica.

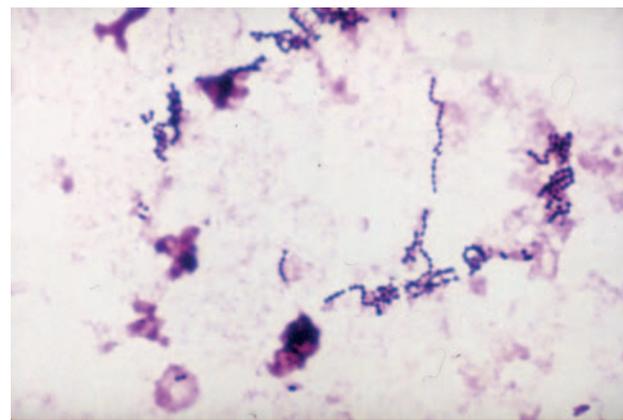
Asimismo, antes de la aparición de las sulfamidas las septicemias estafilocócicas mostraban una mortalidad del 80%, pero más adelante con la utilización de la penicilina disminuyeron hasta el 28%. En esta época la penicilina adquirió un gran peso clínico y dio conciencia de la aparición del fenómeno de la "resistencia".

No sólo apareció resistencia a la penicilina, sino que según se iban desarrollando antimicrobianos nuevos más potentes, igualmente iban apareciendo resistencias a los mismos. En la década de los sesenta se aislaron estafilococos resistentes

a la metilina en un hospital británico tan sólo un año después del desarrollo de la misma. No obstante, esta resistencia no sólo se originaba en los estafilococos, sino también en otras especies bacterianas, como los neumococos y los enterococos, entre otros.

Ante la actuación de todos estos patógenos cabría sospechar que todos los microorganismos tienen el mismo comportamiento que los estafilococos: copiar el mecanismo universal de selección de resistencias. Se produce una adaptación continua de los microorganismos a la actuación de los distintos agentes antimicrobianos, lo que no significa que los estafilococos transfieran su material genético a otras especies bacterianas, porque no es el caso, y rara vez se produce, sino que se dan circunstancias similares ante la presión selectiva del mayor uso de los antimicrobianos.

Sin embargo, *Streptococcus pneumoniae* se consideró un microorganismo con un patrón de sensibilidad uniforme a la mayoría de los antibióticos, aunque en 1943 apareció el primer aislado neumococo resistente a las sulfamidas. No obstante, años más tarde, en 1967, aparecieron los primeros aislados *S. pneumoniae* resistentes a la penicilina en Australia (Sydney), 10 años después surgieron en Sudáfrica (Johannesburgo), se extendieron a Europa y Asia en la década de los ochenta y en la de los noventa a América. Esta resistencia también ha tenido



La resistencia de *Streptococcus pneumoniae* a los diferentes antimicrobianos constituye hoy un grave problema de salud pública a nivel mundial.

un aumento progresivo, como en el caso de los estafilococos, y se ha llegado a diseminar en todo el mundo, constituyendo actualmente por ello un problema a nivel mundial.

Este fenómeno se ha asociado a múltiples factores, que dependen principalmente de la edad del paciente; así, en enfermos mayores de 65 años influyen si presentan previamente una enfermedad de base (infección por el VIH, alcoholismo, etc.), mientras que en niños intervienen factores como la utilización previa de antibióticos y la asistencia a guarderías infantiles. Parece que la resistencia asociada al neumococo suele ser más frecuente en cepas que ocasionan enfermedades en los niños.

Este microorganismo es el principal agente causante de la neumonía adquirida en la comunidad, aunque también produce otras infecciones respiratorias importantes, como otitis media, sinusitis y exacerbación aguda de la bronquitis crónica, así como otras enfermedades (meningitis bacteriana aguda e incluso bacteriemias).

Hoy en día son alarmantes las cifras de aislados *S. pneumoniae* resistentes a la penicilina en España, con un incremento desde el 6% en 1979 hasta cerca del 40% en la actualidad. El incremento de las resistencias de *S. pneumoniae* se va empeorando por la aparición conjunta de multiresistencia, es decir: este fenómeno no sólo afecta a la penicilina, sino que también presenta patrones de resistencia múltiple, pues se acompaña de resistencia a cefalosporinas, macrólidos, clindamicina, cloranfenicol, tetraciclinas y cotrimoxazol. Parece que por el momento los glucopéptidos presentan buena actividad frente a este patógeno.

Para *S. pneumoniae* se puede observar una distribución geográfica variable de esta resistencia. España es uno de los países con mayor incidencia de aislados resistentes a la penicilina al presentar porcentajes cercanos al 60-65% de resistencia intermedia y alta; pero no sólo eso, sino que también muestra una gran variabilidad en las resistencias entre las distintas regiones españolas (del 39% en Madrid al 63% en Bilbao).

Esta resistencia múltiple y variable de *S. pneumoniae* dificulta a los facultativos la elección del tratamiento adecuado para las infecciones producidas por este microorganismo.

Por ello se deben tener en cuenta el grado de resistencia a la penicilina, la resistencia frente a otros agentes antimicrobianos, el lugar y la gravedad de la infección, así como la presencia de enfermedades subyacentes cuando se prescriba un tratamiento.

Ya en la década de los noventa empezaron a aparecer aislados de enterococos resistentes a la ampicilina y algunas cepas *Mycobacterium tuberculosis* multiresistentes que comenzaban a presentar variedades resistentes a algunos tuberculostáticos.

Los enterococos presentan un papel clínico importante como agentes causantes de infecciones nosocomiales y comunitarias. Las especies bacterianas que se aíslan con mayor frecuencia y son responsables de la mayoría de las afectaciones producidas por este género de microorganismos son *Enterococcus faecalis* (80-90%) y *E. faecium* (5-10%). Estos microorganismos colonizan la piel y las mucosas del tracto respiratorio superior, genital y digestivo; en esta última localización se encuentran en grandes cantidades, aislándose en más del 90% de los individuos sanos. Son responsables de infecciones intraabdominales, heridas, bacteriemia y otras enfermedades de significación clínica, como las infecciones del tracto urinario y endocarditis. A pesar de presentar escasa virulencia, estos microorganismos son de los principales agentes de infección nosocomial. Se caracterizan por presentar resistencia intrínseca a la mayoría de los antibióticos, como β -lactámicos, aminoglucósidos, lincosaminas y trimetoprima-sulfametoxazol. No obstante, en el tratamiento de infecciones graves (endocarditis o meningitis) producidas por estos agentes bacterianos se administran en combinación sinérgica con un aminoglucósido, que permite adquirir la actividad bactericida con la asociación antibiótica.

Con la aparición de aislados *S. aureus* resistentes a la metilicina en la década de los ochenta y el incremento de pacientes con infecciones por microorganismos Gram positivos, se favoreció la utilización de la vancomicina, fármaco eficaz en infecciones por Gram positivos, a pesar de haberse introducido en la década de los cincuenta en el arsenal terapéutico. No obstante, en 1986 se aislaron en Francia y Reino Unido los primeros *E. faecium* resistentes a la vancomicina.



Los enterococos son los responsables de un gran número de infecciones nosocomiales y comunitarias y además presentan una resistencia intrínseca a la mayoría de los antibióticos.

Hoy en día en Europa menos del 5% de enterococos son resistentes a la vancomicina. Esta resistencia por parte de estos microorganismos no se ha limitado a la comunidad, donde es mayoritaria, sino que recientemente el número de infecciones nosocomiales se ha incrementado por dichos microorganismos; se cree en la posibilidad de la aparición de brotes por transmisión intrahospitalaria que causan la aparición de resistencias en estas áreas.

En los últimos años diferentes autores hacen referencia a la hipótesis de que la aparición de estas cepas resistentes de interés en Medicina puede tener relación con el consumo de antibióticos por animales de granjas. Se ha llegado a relacionar con la utilización del glucopéptido avoparcina como promotor del crecimiento en la industria alimentaria. Por

esta razón hay que tener en cuenta la importancia de la presión selectiva de los antibióticos en cuanto a los empleados en veterinaria, ya que hacen desaparecer los aislados sensibles a los antimicrobianos.

Esta resistencia a la vancomicina en *Enterococcus*, género de microorganismos con resistencia intrínseca a una gran variedad de antimicrobianos y gran capacidad para adquirir nuevas resistencias, limita una importante alternativa terapéutica a la hora del tratamiento. De todas formas en España esta resistencia es baja (1,8% para la vancomicina) de momento, pero hay que tener cuidado porque ocupan el tercer lugar como agentes responsables de las infecciones intrahospitalarias, después de *S. aureus* y *Escherichia coli*.

El problema de la resistencia y su constante incremento están continuamente en controversia. España presenta una alta prevalencia de resistencia, sobre todo de cepas de *S. pneumoniae* resistentes a la penicilina en el ámbito comunitario y aislados de *S. aureus* resistentes a la meticilina y enterococos resistentes a la vancomicina en el ámbito hospitalario; también ofrece un alto nivel de consumo de antibióticos por parte de la población.

La gran variedad de los factores de riesgo y la diversidad de poblaciones bacterianas garantiza la supervivencia de las bacterias resistentes y dificulta su erradicación. Además, tras el desarrollo de nuevos antibióticos en clínica, cabe la posibilidad de que existan aislados bacterianos resistentes a la acción de estos agentes antimicrobianos o incluso que en poco tiempo desarrollen mecanismos de resistencia a los mismos, por lo que es imprescindible una buena educación y utilización respecto a los mismos.

LA RESISTENCIA INVADE EL HOSPITAL

La resistencia de los microorganismos a los agentes terapéuticos viene de antiguo. En el año 1887 Kossiakoff reveló como fenómeno de adaptación al medio la resistencia que oponía *Bacillus subtilis* al cloruro de mercurio y al ácido bórico. Tras el descubrimiento de la penicilina en 1929, se pensó que la lucha frente a los microorganismos había sido ganada, pero no fue así; las resistencias a los antibióticos por los microorganismos comenzaron a surgir. En 1939 aparecieron las primeras resistencias a las sulfamidas y las penicilinas, en 1950, al ser más rápida la aparición de resistencias que la fabricación de nuevos antimicrobianos por parte de la industria, se pasó a una época de desesperanza en la lucha frente al microorganismo, lo que no impidió la búsqueda de nuevos antimicrobianos, y hoy en día se continúa con ella, lo que obliga a los gobiernos y a las empresas farmacéuticas a invertir grandes cantidades de dinero debido al grave problema que representa la continua aparición de cepas resistentes o multiresistentes a los antimicrobianos nuevos que van apareciendo en el mercado.

El origen del desarrollo y la extensión de las resistencias a los antimicrobianos de las bacterias se debe a la rapidez con la que se multiplican y a su capacidad de mutar y transferirse material genético, lo que se ve favorecido por el continuo contacto con fármacos de bacterias en los hospitales y la presión selectiva que ejercen los antibióticos. Las bacterias multiresistentes constituyen un problema creciente en los hospitales y su salida fuera del hospital genera una amenaza para la salud pública. El aumento de la resistencia a los antibióticos lleva a situaciones difíciles para los pacientes y para la propia sociedad. La resistencia a los antibióticos es una pandemia que se extiende de forma constante en todos los países del mundo.

En el hospital, las bacterias siguen siendo una causa muy importante de infección y las resistencias de las mismas a los antimicrobianos un problema que se ha de evitar mediante el incremento de la vigilancia, el control y la prevención. La presencia de las infecciones nosocomiales se ve favore-

cida por múltiples factores, como la hospitalización, la instrumentalización (catéteres, sondas, ventilación mecánica, etc.) a la que están sometidos los pacientes, la cirugía, la presencia de bacteriemias, brotes epidémicos, las enfermedades subyacentes, la edad de los pacientes, el uso previo de antibióticos, la aparición de microorganismos resistentes a los antibióticos y el tratamiento inadecuado en las primeras horas de la infección por bacterias multiresistentes.

Podemos observar el aumento de las infecciones y la resistencia a los antimicrobianos de diferentes microorganismos Gram positivos, como *Staphylococcus aureus* a la meticilina (SARM) en un 31% y a los aminoglicósidos; *Staphylococcus coagulasa-negativos* resistentes a la cloxacilina; neumococos resistentes a la eritromicina que, a su vez, presentan resistencia cruzada con el resto de macrólidos y lincosamidas; neumococos con un grado de resistencia a la penicilina en nuestro medio de alrededor del 30%, que además presentan, aunque puede haber variaciones dependiendo del antibiótico, resistencia cruzada con el resto de β -lactámicos o con las cefalosporinas; neumococos resistentes a las quinolonas; y enterococos resistentes a penicilina, ampicilina, vancomicina (VRE) y aminoglicósidos. Entre los Gram negativos hay un aumento de infecciones por *Haemophilus influenzae* resistente a la ampicilina en un 30%, enterobacterias resistentes a las quinolonas y otras (*Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*) productoras de β -lactamasas de espectro extendido o extendido (BLEE) resistentes prácticamente a todos los β -lactámicos, a las cefalosporinas de tercera generación y a combinaciones de penicilinas más inhibidores de β -lactamasas. Las enterobacterias productoras de BLEE se aislaron por primera vez en Alemania en 1983 y entre los años 1988 y 1990 en España. Ha aumentado la incidencia por *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a β -lactámicos y en mayor proporción a aminoglicósidos y carbapenemas y *Acinetobacter baumannii* resistente a aminoglicósidos, quinolonas y β -lactámicos.

En la lucha contra las infecciones nosocomiales intervienen diferentes profesionales que realizan programas de vigilancia, prevención y control elaborados por los Servicios de Medicina Preventiva y Salud Pública, con participación del Servicio de Microbiología, en la mayoría de los hospitales. En algunos centros estas actividades las realizan otros Servicios, como el de Medicina Interna o el de Enfermedades

des Infecciosas. El objetivo de estos programas es influir en la forma de actuar del personal hospitalario, sea o no sanitario.

La vigilancia epidemiológica en los hospitales se introdujo en 1960 como actividad dedicada a la recogida metódica, la tabulación, el análisis y la distribución de la información sobre las infecciones nosocomiales. Debe estar adecuadamente instituida y bien dotada en el ámbito del hospital por llevar a cabo un trabajo esencial en la prevención de las infecciones y tener prioridad sobre los programas asistenciales. La información que proporciona indica la situación en un tiempo dado al personal del hospital, lo que permite ajustar y guiar las actividades de control, conocer el patrón de la infección, los microorganismos dominantes y los posibles factores de riesgo, además de comparar su situación en relación con otros centros, al ser un extraordinario indicador de la calidad asistencial.

Los estudios de vigilancia epidemiológica de las infecciones pueden ser de incidencia o de prevalencia; los primeros necesitan mucho personal y tiempo para realizarse, pero tienen también muchas ventajas. El prototipo es el National Nosocomial Infections Surveillance System (NNIS), desarrollado en Estados Unidos y promovido por los Centers for Disease Control (CDC). En España La Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene (SEMPSPH) presenta el Programa Específico para la Vigilancia de las Infecciones Nosocomiales en España (PREVINE). La SEMIUC ha elaborado el Estudio Nacional de Vigilancia de Infección Nosocomial en Servicios de Medicina Intensiva (ENVIN), que permite conocer la incidencia de infección en el área donde se ha realizado Unidad de Cuidados Intensivos (UCI). La Sociedad Española de Medicina Preventiva e Higiene Hospitalaria promueve el programa VICONOS, sistema prospectivo de vigilancia epidemiológica de la infección hospitalaria dirigido fundamentalmente a Servicios de Cirugía y UCI.

Los estudios de prevalencia pueden efectuarse en cualquier hospital de forma rápida al requerir menor asignación de personal y pocos recursos. La SEMPSPH ha elaborado el Estudio de Prevalencia de Infecciones Nosocomiales en España (EPINE) y lo aporta al sistema sanitario español desde el año 1990. Consiste en la realización de una encuesta trans-

versal amplia en los hospitales de enfermos agudos siguiendo un protocolo común para determinar la prevalencia de infecciones nosocomiales en cada centro y permite comparar los resultados y la evolución de la prevalencia de infección nosocomial entre centros dentro de la comunidad autónoma, entre otras comunidades o con el conjunto de España.

Entre estos programas de vigilancia, prevención y control de las infecciones nosocomiales están las medidas encaminadas a disminuir las resistencias bacterianas que ocasionan los microorganismos en el ámbito de los centros hospitalarios y de instituciones cerradas. Una es limitar la extensión de la resistencia mediante la detección precoz del paciente enfermo o portador de microorganismos multirresistentes y la puesta en marcha de medidas adecuadas de aislamiento y educación del personal sanitario en el lavado de manos y en el cuidado de la manipulación del paciente. Y deberían considerarse otras medidas orientadas a la reducción de dichos microorganismos resistentes que no se acompañen de efectos colaterales (incremento de resistencias) aunque no estén incluidas en los protocolos.

Otra medida considerada esencial en el control y la lucha contra las resistencias consiste en una buena política de antibióticos, es decir, la utilización adecuada de los antimicrobianos y su empleo racional en los hospitales y en la comunidad, evitando así su uso innecesario, la sobreutilización y la infrautilización, con lo que disminuye la prevalencia de cepas resistentes. De ahí la importancia de los sistemas de vigilancia de resistencias bacterianas mediante el estudio de los patrones de sensibilidad a los antimicrobianos, que debe constituir una información periódica y actualizada en los hospitales y en las instituciones, como el estudio VIRA 2004, donde se nos muestran las principales bacterias multirresistentes en 40 hospitales españoles. La evolución de las resistencias está controlada por el Servicio de Microbiología y la Comisión de Infecciones, que proporciona la información epidemiológica sobre los microorganismos más probables y su posible patrón de resistencia antibiótica a los médicos clínicos; éstos, por tanto, tienen una gran responsabilidad al seleccionar el antibiótico más adecuado para el paciente en el tratamiento de la infección actual y evitar la posible aparición de resistencias en el futuro.

El Servicio de Microbiología, por la alta frecuencia de cepas resistentes, debe realizar a todos los aislados procedentes de muestras con significación clínica las pruebas de sensibilidad a los antibióticos. La determinación de parámetros de actividad antibacteriana en el laboratorio, como la concentración mínima inhibitoria (CMI), indica la actividad del antibiótico y su capacidad para mantenerse activo frente a los microorganismos durante un período de tiempo; cuando las concentraciones plasmáticas son semejantes a las CMI, se llega al punto crítico en el que puede iniciarse el desarrollo de resistencias. Otro parámetro complementario y nuevo es la concentración preventiva de mutación (CPM) o concentración de antibiótico capaz de prevenir la aparición de una mutación de primer paso. Los antibióticos con baja CPM previenen la selección y diseminación de bacterias resistentes, pero se trata de una medida discutida, pues en antimicrobianos como β -lactámicos, macrólidos y aminoglucósidos no sería buen indicador al no corresponderse los mecanismos de resistencia valorados *in vitro* con los *in vivo*. Sí serviría para adecuar regímenes terapéuticos en tratamientos con fluorquinolonas y tuberculostáticos.

Los estudios para detectar resistencias a los antibióticos han sido editados por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Se utilizan distintos métodos dependiendo de los antimicrobianos y microorganismos. Por ejemplo, para los antibióticos β -lactámicos son fiables los métodos cuantitativos de microdilución o de difusión con tiras de E-test, con los que puede determinarse el valor exacto de la CMI, mientras que el método de difusión con disco resulta fiable para la detección de la resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas. En la detección de enterobacterias productoras de BLEE es útil la técnica de sinergia de doble difusión con doble disco, método rápido, económico y sensible, aunque pueden utilizarse otros, como los métodos cuantitativos de microdilución o de difusión con tiras de E-test. Estos microorganismos serían resistentes a cefalosporinas y monobactams, aun cuando sus CMI estén comprendidas dentro del intervalo de sensibilidad. En España el brote nosocomial más importante se describió en el Hospital de Bellvitge entre 1993 y 1995.

En cada institución existen protocolos, programas o guías basados en evidencias científicas publicadas en revistas



En la lucha contra las infecciones nosocomiales intervienen diferentes profesionales del ámbito sociosanitario que realizan programas de vigilancia, control y prevención de las mismas.

médicas y revisadas en forma juiciosa y ordenada, con un enfoque multidisciplinario, moderno y evaluable en sus resultados, destinados al uso racional de los antibióticos, creados por la Comisión de Infecciones junto a la Comisión de Farmacia y Terapéutica, colaborando a veces con ellas grupos de trabajo mixtos. Todos los profesionales que participan en la creación de estos programas (clínicos, epidemiólogos, especialistas en Medicina Preventiva y Salud Pública, farmacéuticos, farmacólogos, microbiólogos y administradores) deben declarar cualquier conflicto de intereses por anticipado debido a la importancia económica que comportan sus recomendaciones como consecuencia de la presión a la que a veces se ven sometidos por la industria farmacéutica. El propósito esencial del programa para el manejo adecuado de los antibióticos es recomendar aquel tratamiento que se asocie a los mejores resultados con el menor coste posible.

CICLO INDEFINIDO I+D+R+i

Introducción

En todo ciclo de investigación tan importante o más que las propias conclusiones, son los interrogantes que se plantean y que dan lugar a nuevos campos de investigación. Por otro lado toda conclusión teórica retroalimenta la investigación básica. En este capítulo abordamos el ciclo que figura en el epígrafe de "investigación, desarrollo e innovación" en lo que hace referencia al campo de las resistencias bacterianas.

Investigación y desarrollo

Intentar explicar las realidades cotidianas de la luz, el movimiento, el tiempo etc. con las leyes del átomo o la mecánica cuántica no da resultado. De la misma forma intentar conocer la traslación de la tierra estudiando los movimientos de los vehículos es complicado, aún cuando obedezca a principios generales. En una situación similar estamos si pretendemos conocer un fracaso terapéutico a través del estudio de enzimas inactivantes por ejemplo. Pero debemos considerar que la investigación básica a nivel de reacciones moleculares, nos pueden develar la función de genes en la resistencia. Este estrato del conocimiento, a su vez, nos permitirá conocer la conducta de los microorganismos resistentes que, en otro plano, nos explicará los fracasos terapéuticos, la dimensión social del problema así como las posibles medidas de aplicación. Bien entendido que los diferentes estratos no son compartimentos estanco, por lo que la investigación básica, según que situaciones, puede interpretarse como aplicada. En cualquier caso, la investigación biosanitaria debe perseguir la traslacional hacia soluciones prácticas.

Curiosamente, la investigación de las resistencias en el laboratorio precede en varios años a los fracasos terapéuticos y a su vez se tarda otros pocos años en encontrar el posible sustituto.

Es lo que ocurrió con la penicilinas descubierta por Abraham en los años 40 antes incluso de comercializarse y generalizarse el uso de la penicilina. Habían de pasar 12 ó 14 años hasta que de forma esporádica se aislaran *Staphylococcus aureus* resistentes a la penicilina de procesos clínicos, lo que traducía su fracaso terapéutico. La propagación de las cepas resistentes a la penicilina fue de tal calibre, que en la actualidad solo son sensibles en España menos del 5%.

Afortunadamente los planes de desarrollo e innovación de la industria farmacéutica aportaron antibióticos antiestafilococos estables a la acción de la penicilinas. En 1959 se introdujeron en el mercado la metilina, cloxacilina y otros. Escasamente pasaron dos años y ya se encontraron las primeras cepas metilinas resistentes. De forma esporádica, lenta pero progresiva se empiezan a detectar problemas hospitalarios y hacia el año 2000 ya había series con porcentajes de resistencias del 25%. El gran desarrollo de la Bioquímica permitió desentrañar rápidamente la causa: las proteínas de unión a la penicilina (*penicillin binding protein*, PBP) fundamentales para la síntesis de la pared han sido modificadas en los *Staphylococcus* meti-R y sustituidos por otras (PBP2a) en los que la penicilina se fija mal o no lo hace y la bacteria sigue formando pared; ¡se ha hecho resistente! Esta investigación bioquímica aporta una lección práctica: deben evitarse los betalactámicos para el tratamiento de infecciones por estas cepas. Además demanda una innovación: búsqueda de fármacos con mecanismo de acción diferente como era el caso de los glicopéptidos. Antibióticos como vancomicina o teicoplanina han venido a garantizar el éxito terapéutico, pero no cantemos victoria. En 1996 se aisló en Japón la primera cepa de *S. aureus* con sensibilidad intermedia o moderada a vancomicina (VISA). Con la experiencia acumulada sabemos que es cuestión de tiempo la aparición de resistencias y fracasos terapéuticos en tratamiento con vancomicina. Dicho de otra forma, es fundamental diseñar nuevos programas de I+D+i.

Otros microorganismos Gram positivos presentan historias similares. Entre los años 80 y 90 se empiezan a aislar cepas de *Streptococcus pyogenes* resistentes a macrólidos por modificación de la diana. El porcentaje de resistencias es tan alto en países como Francia y España, que se cuestiona mantener estos antibióticos como alternativa de la penicilina en procesos como la faringitis o celulitis. Por el contrario esta resistencia se ha convertido en un magnífico indicador epidemiológico del impacto que tiene el consumo de macrólidos.

También es una magnífica herramienta de investigación el estudio de estreptococos "grupo viridans" y enterococos que frecuentemente se hacen resistentes y se seleccionan en el curso de tratamientos con determinadas familias de antimicrobianos. Aun cuando su potencial patogénico es reducido son verdaderos intermediarios de resistencias. La capacidad para trans-

ferir estructuras codificadoras de resistencias a otras bacterias de su propia especie o de otras especies, las convierte en cepas de referencia, indicadoras y predictoras de numerosos problemas. En el caso de los enterococos sus relaciones con patología veterinaria y selección de cepas resistentes en granjas aporta una nueva dimensión al campo de las resistencias.

Pocas especies tienen la importancia de *Streptococcus pneumoniae*. En Atención Primaria resulta espectacular que su limitada incidencia en patología respiratoria (virus, *Haemophilus*, *Streptococcus pyogenes* son los más habituales) y en resistencia a algunos antibióticos haya modificado tan intensamente la conducta sobre terapia empírica.

En 1943 se identificó el primer aislado de neumococo sulfamidorresistente. Los posteriores fracasos terapéuticos marcarían la caída de las sulfamidas y su progresiva sustitución por las penicilinas. También a la penicilina le llegaría su crisis. Curiosamente la primera cepa penicilínresistente se aísla en 1967 y paulatinamente se van incrementando el número pero no se investigan a fondo los mecanismos de resistencia, la diseminación y las consecuencias clínicas hasta los años 80 en los que situamos a España en el "meritorio" primer lugar del mundo de los neumococos penicilínresistentes. Miles de publicaciones indican el interés de las resistencias neumocócicas para los científicos. La investigación de su incidencia en Atención Primaria, la diseminación de clones, el impacto de factores como el uso previo de algunas familias, las asociaciones de resistencias a penicilina-macrólidos, el comportamiento frente a tetraciclinas etc. ha acabado por constituir modelos de investigación seguidos de la búsqueda de soluciones innovadoras.

Visto lo citado, otro tanto podríamos señalar con microorganismos Gram negativos como gonococos o *Haemophilus* pero sobre todo han sido motivo de especial interés los bacilos gram negativos hospitalarios. En el medio hospitalario se dan una serie de circunstancias especiales la presión antibiótica es miles de veces mayor por m² que en Atención Primaria, si se pudiera medir así. Pero es evidente que las características de los enfermos y el uso masivo de antibióticos facilita la continua selección de cepas resistentes. Como los laboratorios de mejor nivel investigador suelen localizarse en el medio hospitalario, se explica los continuos descubrimientos respecto a las resistencias. Decenas de enzimas inactivantes

diferentes se han identificado como inhibidores de betalactámicos, aminoglicósidos, cloranfenicol, etc. a ellos hay que sumar la expresión de otros mecanismos como los modificaciones de diversas dianas, numerosos mecanismos de expulsión, porinas, etc. Las enterobacterias, y los bacilos no fermentadores (*Pseudomonas*, *Acinetobacter* y otros) son verdaderos especialistas en resistir a los antibióticos por múltiples mecanismos y, lógicamente, es un filón inagotable para los investigadores. Por supuesto ello implica también D+I como única forma de aliviar el pronóstico de muchos enfermos.

¿Cómo se dirigen y coordinan los mecanismos citados? Pocas aventuras científicas han sido tan apasionantes como las que han girado en torno a la genómica. Las resistencias bacterianas han sido, además del indudable problema sanitario, un potente motor de la genética, reabriendo nuevos conceptos sobre el darwinismo y el lamarquismo.

"Hardware" de las resistencias como (genes, trasposones, episomas, plásmidos). Diferenciamos una forma debida a características específicas de la bacteria, como es su estructura, por ejemplo: el carecer de blanco de acción para el antibiótico y es una resistencia intrínseca, natural, propia o innata. Y otra forma, la que se produce mediante cambios en su material genético, y que transmitirá a futuras generaciones, hablamos entonces de resistencia adquirida. Está es la realmente importante desde un punto de vista clínico. Hay dos mecanismos por los que la bacteria cambia su material genético: el vertical cuando muta un gen y se transmite a la descendencia y el mecanismo horizontal cuando el intercambio genético se realiza con otras poblaciones bacterianas del entorno.

La circulación de las diferentes estructuras genéticas es impresionante entre plásmidos y ácido desoxirribonucleico (ADN) cromosómico de la misma bacteria, entre bacterias de la misma especie y de otras especies. Da la impresión que las células bacterianas son utilizadas por los genes solamente como soporte para garantizarse el primordial objetivo biológico: la supervivencia de los genes como estructuras (hardware) y su programa (software).

Las bacterias productoras de antibióticos presentan genes que les defienden frente a esos antibióticos que producen; y que pueden ser el origen de los primeros genes de resistencia transferidos a otras bacterias sensibles.

La resistencia mediada por mutaciones a nivel cromosómico, importante para algunas familias, representa un problema clínico y epidemiológico menor que la llevada a cabo por mecanismos de transferencia genética, mediante plásmidos y transposones, ya que este tipo de resistencia es mas frecuente.

El flujo de material genético entre bacterias es habitual tanto *in vitro* como en el medio ambiente que rodea a la bacteria, por ejemplo a nivel del tracto digestivo del ser humano y del animal que recibe antibióticos. La transferencia de material genético extracromosómico de bacterias resistentes, por vía plasmídica o por transposones a bacterias sensibles es habitual. Por ejemplo la resistencia a penicilina y tetraciclina se ha diseminado ampliamente por plásmidos que contienen transposones.

Los plásmidos son pequeños fragmentos circulares de ADN de doble cadena, habitualmente presentes en las células bacterianas que pueden replicarse autónomamente. Contienen de 2 a 30 genes. El episoma es un plásmido incorporado al cromosoma bacteriano que puede replicarse unido al cromosoma del huésped o libre en su citoplasma.

Los transposones son fragmentos de ADN incorporados en el ADN cromosómico. Poseen un enzima que cataliza su inserción a un nuevo sitio, esto les diferencia de los episomas. Dentro del transposon se encuentran los integrones que se definen como elementos genéticos dinámicos formados por genes estructurales organizados como un operón, la mayoría de estos genes son genes de resistencia a los antibióticos. La existencia de integrones en la bacteria, supone una evolución de los microorganismos como enterobacterias y *Pseudomonas* para adaptarse a medios con varios antibióticos. En fin, los microorganismos portan todo un manual de genética.

¿Cómo se transmite el material genético? Su investigación a partir de los años 50 sorprendió a todos. Las leyes de la herencia sobre transmisión vertical del cromosoma codificando los caracteres de las células hijas, quedaron pulverizadas cuando se demostraron los fenómenos de recombinación genética de transformación (obtención del ADN de células muertas), conjugación (pero de plásmidos de unas células a otras a través de puentes de unión o pili) y transducción (inoculación o arrastre de genes a favor de infección fágica). Como los genes que se transmiten por estos mecanismos

son, los mas frecuentes o los que mejor se expresan los de resistencia, estos fenómenos de recombinación se han convertido en fuente de investigación de primer orden en genética, en el desarrollo de numerosas técnicas diagnósticas, epidemiológicas y terapéuticas y en la innovación sobre preparación de proteínas de antígenos y vacunas por ejemplo. Se ha logrado convertir células como *E. coli* en verdaderas fábricas biológicas de un precioso material sanitario.

¿Cómo podemos correlacionar los dos apartados citados? Muy sencillo, los genes de resistencias transmitidos a bacterias sensibles, codifican la producción de enzimas inactivantes, cambios de dianas, nuevas porinas, canales de expulsión, etc., es decir la expresión de los mecanismos de resistencia. Ahora bien, con frecuencia, los genes de resistencia no se expresan o tienen un bajo nivel de acción. Los investigadores saben por experiencia que en cualquier momento pueden "despertar" produciendo serios problemas terapéuticos.

La investigación y desarrollo de estos campos han abierto unas perspectivas sorprendentes. Se dispone de métodos moleculares capaces de detectar genes de resistencia bacteriana a los antibióticos y confirmar la presencia de nuevos genes. Entre estas técnicas tenemos el análisis de digestión de endonucleasas de restricción de los genomas microbianos y las sondas de ácido nucleico para genes R que utilizan la reacción en cadena de la polimerasa para la amplificación de los ácidos nucleicos.

El uso de estas técnicas incrementa la vigilancia y monitorización epidemiológica de la resistencia a los antimicrobianos. Están indicadas: 1) En microorganismos de crecimiento lento como *M. tuberculosis* la utilización de los *microarrays* de ADN para la detección de resistencia a rifampicina e isoniazida; 2) Para analizar la expresión de sistemas de expulsión activa en cepas de *E. coli* resistentes a quinolonas mediante *microarrays* de ARN (ácido ribonucleico) que contienen los genes que componen el genoma de *E. coli*; 3) Para establecer patrones de referencia con respecto a otros métodos y 4) Para aclarar el significado de valores de CMI cercanos o coincidentes con el punto de corte de resistencia. En suma, hemos entrado en la era de la biotecnología que incluye también la creación y desarrollo de empresas comerciales.

No menos importancia tiene el desarrollo de la farmacología en la que se estudia la influencia y control de factores facilitadores de la aparición, persistencia y diseminación de resistencias. Consumo de antibióticos, fármacos no antibióticos con efecto antimicrobiano, efectos de clase, resistencias cruzadas y diseminación de clones son algunas de las áreas prioritarias. La farmacoeconomía, tratamiento social en los medios de comunicación, legislación, agricultura y ganadería son otras áreas de investigación relacionadas con resistencias a los antibióticos.

La innovación con frecuencia va implícita en I+D pero podemos concretar algunos ejemplos: estudios *in vitro* y modelos animales de estrategias para superar las resistencias (farmacodinamia experimental) utilizando anticuerpos específicos y antibióticos: el efecto de la combinación de la inmunidad del huésped inespecífica (complemento más leucocitos polimorfonucleares) más el antibiótico se ha demostrado en estudios *in vitro* e *in vivo* con amoxicilina ácido clavulánico frente a diferentes serotipos de *S. pneumoniae* como positivo con un resultado de la disminución del inóculo inicial en un 99%. Actualmente nos encontramos en la fase I de ensayo clínico en humanos.

Enzimas fágicas + antibióticos. El empleo de enzimas fágicas, productos sintentizados por bacteriofagos, actúan destruyendo la pared de la bacteria y reciben el nombre de enzibióticos. Diferentes autores entre otros Fischetti et al. han realizado estudios experimentales *in vivo* en animales con estas enzimas cuyos resultados parecen ser prometedores.

El sinergismo con otros antibióticos es una vieja estrategia que sin embargo, debidamente indicada, se pone de actualidad con nuevos antimicrobianos. Otras moléculas sin actividad antibiótica, estabilizadores de enzimas inhibidores como (ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam), unidos a los antibióticos betalactámicos facilitan el tratamiento de infecciones por este tipo de bacterias resistentes.

Otros fines se refieren al estudio del cambio de la situación epidemiológica de las resistencias por la relación multifactorial de introducción de nuevos fármacos, restricción de antiguos fármacos y estrategias vacunales (farmacodinamia poblacional). La utilización de vacunas frente a patógenos

respiratorios como *H. influenzae* serotipo b y la vacuna hep-tavalente (contiene 7 serotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F) frente *S. pneumoniae* disminuyen el número de infecciones en un determinado huésped y secundariamente parecen disminuir la incidencia de mutantes resistentes al reducir el número de bacterias bajo presión selectiva, y disminuir los huéspedes selectivos con diferente respuesta inmunitaria.

Hemos llegado al siglo XXI. En poco más de 60 años de la era de los antimicrobianos la I+D+i ha propiciado avances insospechados encontrándonos en la encrucijada de varias áreas de vanguardia. La Bioquímica, la Biotecnología, la Genética, la Epidemiología y la Química combinatoria aseguran que el desarrollo de cualquier nuevo fármaco aporta algo importante al arsenal terapéutico con altas probabilidades de éxito a pesar de los estrictos requisitos. Tenemos numerosos ejemplos en varias familias entre los antirretrovirales, antifúngicos y antibacterianos. Recordemos entre estos últimos las nuevas familias de péptidos procedentes de plantas, animales y bacterias (lantibióticos, buforinas, magaininas etc.) sin aplicación práctica todavía. De las familias convencionales citaremos el cefditoren, los nuevos carbapenemas, la telitromicina, las nuevas fluorquinolonas o las gliciliclinas con especial referencia a la tigeciclina.

Las gliciliclinas, conocidas hace tiempo aportan unas ventajas evidentes. Las infecciones graves requieren un tratamiento de cobertura inmediato. No cabe esperar su diagnóstico etiológico y antibiograma, por lo que procede iniciar el tratamiento empíricamente hasta disponer de resultados de laboratorio. Hemos señalado al principio que los problemas más importantes con los que se enfrenta el médico hospitalario es el de infecciones a *S. aureus* meticilínresistentes y las infecciones por bacilos Gram negativos (enterobacterias y bacilos no fermentadores). En estas circunstancias, el desarrollo de la tigeciclina y su incorporación a la farmacia hospitalaria resulta de gran interés. A su amplio espectro (Gram positivas, Gram negativas, aerobios y anaerobios) se une una excelente actividad frente a cepas cada vez más problemáticas como los *S. aureus* meti-R bacilos productores de BLEES, *Acinetobacter baumannii* multiresistente, etc. Es decir, es un antibiótico que da cobertura terapéutica a las infecciones hospitalarias más frecuentes y problemáticas. Como hemos revisado se ajusta modélicamente a un caso de I+D(+R)+i como titulábamos el presente capítulo.

ESPAÑA, UN PAÍS DE RESISTENCIAS

Que España es un país de resistencias bacterianas en la actualidad es un hecho evidente, pero no aislado del resto de su entorno. Desafortunadamente, las resistencias bacterianas constituyen un fenómeno universal que afecta de manera bastante uniforme a los países desarrollados. En nuestro país, las resistencias se han incrementado progresivamente en las últimas décadas, destacando en algunos microorganismos, como *Streptococcus pneumoniae* resistente a la penicilina y a los macrólidos, donde ocupamos un lugar destacado, pero también son frecuentes en otros microorganismos, como *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, *Enterococcus* spp. y los bacilos Gram negativos.

Streptococcus pneumoniae

España es uno de los países con tasas más altas de *S. pneumoniae* resistentes a la penicilina. Así lo vienen demostrando los diferentes estudios de vigilancia realizados en los últimos 10 años, en los que más del 30% de los aislados en el territorio nacional son resistentes a la penicilina y a los macrólidos, y con frecuencia esta resistencia es cruzada.

La situación parece haber mejorado respecto a la penicilina. En el último trabajo multicéntrico llevado a cabo con más de 2.700 aislados (noviembre de 2001-octubre de 2002), la tasa de resistencia a la penicilina se ha reducido al 20%. No sucede lo mismo con la resistencia a los macrólidos, que se mantiene en un 34,5% (mayor del 40% en niños). Además, alrededor del 55% de estas cepas se encontraban entre las resistentes a la penicilina. Casi el 90% eran del fenotipo MLS_B, codificadas por el gen *erm*, es decir, resistencias de alto nivel, lo que desecha el incremento de la dosis de los macrólidos para el tratamiento. La tasa a las cefalosporinas de segunda generación continúa siendo elevada (mayor del 25%). Respecto a las quinolonas y la amoxicilina-ácido clavulánico, la pérdida de sensibilidad no superó el 5%, y aún fue mejor el comportamiento de la cefotaxima, con tan sólo un 0,4% de resistencias.

Los serotipos de *S. pneumoniae* resistentes a la penicilina más prevalentes son el 19, el 6, el 23, el 14 y el 3. La trans-

misión es mayor en niños y jóvenes y en Unidades de Cuidados Intensivos (UCI).

Staphylococcus aureus

La resistencia de *S. aureus* a la penicilina oscila; en nuestro país permanece estable, en el 70-90% de los aislados. La resistencia a la meticilina de *S. aureus* (SARM) fue descrita por primera vez en España en un recién nacido en 1981 y desde entonces no ha cesado de aumentar en los hospitales, situándose en la actualidad en un 31,2%. Una buena idea del creciente problema en España nos la proporciona el estudio EPI-NE (1990-1999), donde SARM ha pasado del 5 al 40%. Estas cifras son muy similares a las del resto de los países europeos del sur, Reino Unido e Irlanda, pero mucho más altas que las de los países del norte de Europa, donde es menor del 3%. Dentro del territorio nacional existen importantes variaciones regionales, entre distintas unidades de hospitalización e incluso temporales con descripción de brotes.

La resistencia a la meticilina conlleva la pérdida de sensibilidad de *S. aureus* a otros muchos antibióticos de forma variable, además de a los β -lactámicos. Esto ha permitido establecer diferentes patrones de resistencia en SARM. Durante el período 1989-1993 más del 90% de los aislados correspondían al patrón con resistencia a eritromicina, clindamicina, tetraciclina, gentamicina, tobramicina, ciprofloxacino y rifampicina, pero a partir de 1993 la tendencia ha cambiado con incremento de otros. En estos años se ha observado que a medida que aumenta la resistencia a la meticilina, también lo hace a eritromicina, clindamicina, gentamicina y ciprofloxacino. En el último estudio de corte transversal realizado en España en el año 2002 el patrón más frecuente de resistencia (73%) incluía eritromicina, clindamicina, tobramicina y ciprofloxacino, seguido de otro (20%) que mostraba resistencia a eritromicina, clindamicina, tobramicina, gentamicina y ciprofloxacino. Los SARM de ambos patrones eran sensibles a rifampicina, cotrimoxazol, vancomicina, teicoplanina y linezolid. En otro estudio multicéntrico reciente en 64 hospitales españoles se encontraron 36 patrones diferentes, aunque sólo en cuatro estaban incluidos el 66% de los aislados.

Un nuevo hecho es la aparición de SARM en la comunidad, que suele producir infecciones de piel y partes blandas en niños. Estas cepas se caracterizan por poseer elementos ge-

néticos móviles de pequeño tamaño, de tipo SCC mec IV o V, que contienen el gen *mecA*, pero generalmente no otros que expresarían resistencia a los demás antibióticos. Además, la resistencia que expresan a la meticilina es heterogénea. El impacto de este nuevo fenómeno es desconocido por el momento en nuestro país.

Finalmente, los denominados VISA (*vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus*), descubiertos por primera vez en 1996 en Japón, también han aparecido en España, pero no así los SARM con resistencia de alto nivel a la vancomicina.

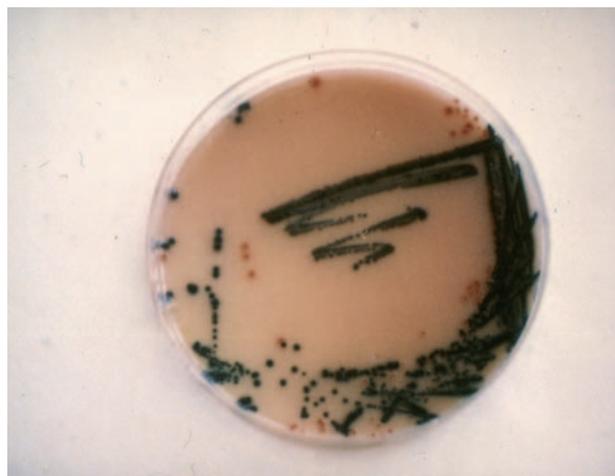
Enterococcus spp.

La resistencia intrínseca a los antimicrobianos (β -lactámicos y aminoglucósidos) es una de las características del género *Enterococcus*. A ésta se suman las adquiridas a otros antimicrobianos, teniendo particular interés las surgidas a los glucopéptidos por ser el último eslabón en la cadena de tratamiento. Aunque aislados por primera vez en Europa, es en Estados Unidos donde constituyen un verdadero problema, con tasas que superan el 50%. Afortunadamente, la situación en Europa es muy distinta, ya que en la mayoría de estos países es inferior al 5% y en España sólo del 1,8%. No obstante, la tendencia es al alza, pues en algunos países, como Italia, Portugal, Grecia e Irlanda, ya están por encima del 15%.

Bacilos Gram negativos

La producción de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) por los bacilos Gram negativos ha pasado de ser un hallazgo de laboratorio a principios de la década de los ochenta, a tener una significativa prevalencia que no deja de aumentar, alcanzando cifras preocupantes durante la última década, hasta el punto de que en el año 2001 se describieron más de 150 tipos. Las BLEE hacen resistentes a estas bacterias a los β -lactámicos, con excepción de las cefamicinas y los carbapenémicos, pero con frecuencia también lo son a otras clases de antibióticos, como aminoglicósidos, tetracilinas, cotrimoxazol e incluso quinolonas, debido fundamentalmente a que los plásmidos que las codifican llevan otros genes de resistencia.

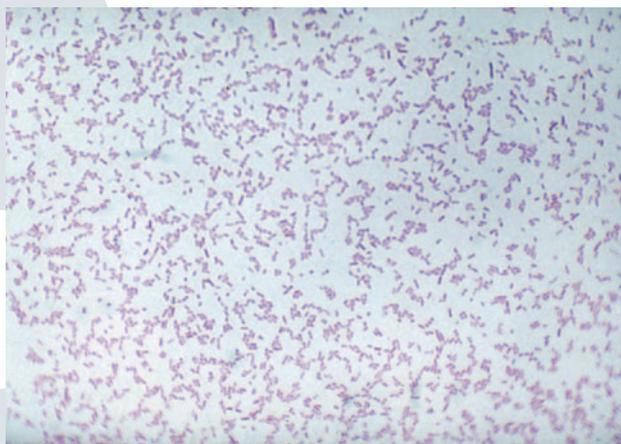
Las enterobacterias más afectadas son *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. La prevalencia en nuestro país se ha puesto de manifiesto en dos trabajos. El Grupo de Estudio de



La resistencia intrínseca a los antimicrobianos (β -lactámicos y aminoglucósidos) es una de las características del género *Enterococcus*. Cultivo de *Salmonella* (colonias rojas) y otras enterobacterias.

la Infección Hospitalaria (GEIH) de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC), en una reciente publicación ha recalado la relevancia de bacilos Gram negativos con BLEE en nuestra geografía. Hasta el 16,7% de las cepas de *K. pneumoniae* y el 2,4% de las de *E. coli* (el 51% de los casos procedentes de la comunidad) producían estas enzimas. Además, en el 90% de los hospitales que participaron en el estudio se identificaron bacilos Gram negativos con BLEE. El otro es un trabajo español realizado en el ámbito nacional en el seno del programa *European Antimicrobial Resistance Surveillance System* (EARSS), que demuestra las elevadas tasas de resistencia de aislados invasores de *E. coli* en nuestro país: ampicilina 59,9%, cotrimoxazol 32,6%, ciprofloxacino 19,3%, gentamicina 6,8% y tobramicina 5,3%. La producción de BLEE pasó del 1,6% en el año 2001 al 4,1% en el 2003 ($p < 0,0001$). La multirresistencia en este mismo período se incrementó del 13,8% (2001) al 20,6% (2003) ($p < 0,0001$). La resistencia al ciprofloxacino aumentó significativamente en la comunidad.

La resistencia de las enterobacterias a las fluorquinolonas también se ha incrementado en estos últimos años. En un estudio de vigilancia internacional (SENTRY) las resistencias



Tinción por el método de Gram de colonias de *Escherichia coli*.

de *E. coli* al ciprofloxacino en el período 1997-2001 casi eran del 20%. Estos valores han sido refrendados e incluso superados en otros trabajos realizados en nuestro país.

Pseudomonas aeruginosa es uno de los principales patógenos nosocomiales, con especial incidencia en las UCI, y cada vez con más protagonismo en las infecciones urinarias y respiratorias de la comunidad. *P. aeruginosa* constituye el prototipo de microorganismos multirresistente, en parte por mecanismos naturales y en el resto adquiridos con posterioridad. En nuestro país las tasas de sensibilidad a los principales fármacos antipseudomónicos son aceptables,

con la excepción del ciprofloxacino. No obstante, ninguno de los antibióticos fue activo frente a todos los aislados. La mayoría de las cepas multirresistentes aisladas en UCI son sensibles a polimixinas, cuya eficacia se duda en neumonías.

Acinetobacter baumannii es uno de los microorganismos nosocomiales que con mayor facilidad se hace resistente a los antibióticos, lo que dificulta enormemente su tratamiento en la actualidad. La pérdida de sensibilidad a los antibióticos y en particular a los carbapenémicos restringe en muchas ocasiones las opciones a fármacos de segundo orden en la terapia convencional, como el sulbactam o la polimixina B. El papel de *A. baumannii* como causante de un número creciente de infecciones en nuestro país ha sido demostrado en un estudio del GEIH de la SEIMC realizado en 28 hospitales. Este microorganismo estaba presente en el 89% de los centros, con una incidencia general de 0,39 casos por 1.000 pacientes/día, y era más alto en las UCI. Todas las cepas fueron sensibles a la polimixina B, el 52,5% al imipenem, el 46,7% al sulbactam, el 49,3% a la rifampicina y el 34,7% a la amikacina.

Los datos españoles sobre otros mecanismos de resistencias en enterobacterias (β -lactamasas cromosómicas, β -lactamasas plasmídicas de tipo AmpC, carbapenemasas y expresión de proteínas Qnr que generan resistencia a las quinolonas) y otros bacilos Gram negativos no fermentadores, como *Stenotrophomonas maltophilia*, son mucho peor conocidos, pero no cabe duda de que se trata de un problema emergente.

LA MULTIRRESISTENCIA, DE LA ANÉCDOTA A LA RUTINA

Efectivamente, como dice el título de este capítulo, los microorganismos multirresistentes (MM) han dejado de ser una anécdota para convertirse en una realidad de la Medicina actual y suponen un verdadero problema sanitario de difícil solución.

Los MM se pueden definir como aquellos que han perdido sensibilidad a una o más familias de antibióticos normalmente usados para su tratamiento, con repercusión clínica y epidemiológica. Tienen implicaciones en distintos ámbitos: para el paciente, al relacionarse con mayor morbimortalidad y trastornos psicológicos en caso de necesitar aislamiento; para el médico, que se ve obligado al uso de antimicrobianos nuevos y más caros o de segunda línea menos eficaces y más tóxicos y a aplicar medidas de aislamiento; para el entorno, ya que se pueden diseminar y agrandar así el problema; para la ecología, al poder transferir a otros microorganismos por distintos medios los mecanismos de resistencia que portan; para la economía, al generar más gastos en antibióticos, en medidas de control sanitario para impedir su transmisión, en el tratamiento de las complicaciones que se derivan y por el aumento de las estancias medias hospitalarias; y para la sociedad, por el miedo y la alarma que generan a la población, acostumbrada al bienestar y que no comprende cómo en el siglo XXI una bacteria no pueda ser controlada perfectamente.

De acuerdo con la teoría darwiniana, la aparición de resistencias es inevitable. La resistencia bacteriana es un fenómeno biológico evolutivo natural. Las bacterias se defienden del medio ambiente hostil por la capacidad de multiplicación rápida y la transferencia horizontal o vertical de genes de resistencia a otras bacterias.

Una revisión histórica de la Microbiología demuestra esta teoría con claridad. Las resistencias bacterianas se han globalizado en el Primer Mundo, aunque existen notables diferencias geográficas e incluso temporales.

En la década de los cuarenta, al poco tiempo del uso de la penicilina, *Staphylococcus aureus* era capaz de hidrolizarla por

la producción de una penicilinas, que en las décadas siguientes se diseminó de forma globalizada, por lo que está presente actualmente en casi el 90% de las cepas. Con los *S. aureus* resistentes a la meticilina (SARM), descritos por primera vez en hospitales del Reino Unido en 1961, sucedió lo mismo, aunque su prevalencia es más elevada en Estados Unidos (50%) que en Europa (15-30%). Pero este problema resulta de mayor envergadura, ya que supone la pérdida de sensibilidad a todos los β -lactámicos y a otros muchos antibióticos (aminoglucósidos, quinolonas, macrólidos, tetraciclinas, etc.), incluidos la vancomicina y últimamente el linezolid.



Representación artística de *Streptococcus pneumoniae* p. resistente (SEQ: *El Germen y el Genio*).

El género *Enterococcus*, con resistencia intrínseca a β -lactámicos y aminoglucósidos, ha adquirido nuevas resistencias a estos mismos por mecanismos distintos, y a otros agentes, como los glucopéptidos, que llegan a suponer el 50% de los aislados en algunos países, como Estados Unidos. En Europa las tasas son sensiblemente inferiores y muy bajas en nuestro país (< 5%).

Streptococcus pneumoniae ha dejado de ser el microorganismo sensible a la penicilina de la década de los sesenta para engrosar el número de los MM en la actualidad. Un porcentaje elevado es resistente a la penicilina, a las cefalosporinas de primera y segunda generación, a los macrólidos, al cotrimoxazol, a las tetracilinas, a la clindamicina, etc., y además en muchas ocasiones las resistencias son cruzadas entre ellos. En nuestro país este microorganismo presenta una de las tasas más altas, por encima del 30%, a la penicilina y a los macrólidos.

La multirresistencia es aún más habitual en los bacilos Gram negativos. Las enterobacterias inactivan los β -lactámicos por varios mecanismos. El más frecuente es la producción de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), que, desde su descubrimiento en Alemania, ha pasado de ser un hallazgo de laboratorio a principios de la década de los ochenta a

tener una significativa prevalencia que no deja de aumentar, al alcanzar cifras preocupantes durante la última década, hasta el punto de que en el año 2001 se describieron más de 150 tipos. Las BLEE hacen resistente a estas bacterias a los β -lactámicos, con excepción de las cefamicinas y los carbapenémicos, pero con frecuencia también lo son a otras clases de antibióticos, como aminoglicósidos, tetracilinas, cotrimoxazol e incluso quinolonas, debido fundamentalmente a que los plásmidos que las codifican llevan otros genes de resistencia. Las BLEE son sintetizadas especialmente por *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* y en menor medida por *Enterobacter* spp., *Proteus mirabilis*, *Salmonella enterica*, etc. En España un estudio multicéntrico ha demostrado que hasta el 16,7% de las cepas de *K. pneumoniae* y el 2,4% de las de *E. coli* (el 51% de los casos procedentes de la comunidad) producían estas enzimas. Además, en el 90% de los hospitales que participaron en el estudio se identificaron bacilos Gram negativos con BLEE. Otro trabajo español realizado en el ámbito nacional en el seno del programa *European Antimicrobial Resistance Surveillance System* (EARSS) demostró que la producción de BLEE por los aislados invasores de *E. coli* pasó del 1,6% en el año 2001 al 4,1% en el 2003 ($p < 0,0001$). La multirresistencia en este mismo periodo se incrementó del 13,8% en 2001 al 20,6% en 2003 ($p < 0,0001$).

Otros mecanismos menos frecuentes pero emergentes de resistencia en enterobacterias son: la hiperproducción de AmpC cromosómica, que se observa en especial en *Enterobacter* spp. y *Citrobacter freundii*; β -lactamasas resistentes a inhibidores de β -lactamasas; β -lactamasas plasmídicas de tipo AmpC, sobre todo en *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *P. mirabilis*, *E. coli* y *S. enterica*; y carbapenemasas.

Las enterobacterias también se han hecho resistentes a las quinolonas de forma paulatina. El principal mecanismo radica en la alteración de las topoisomerasas, que afecta sobre todo a *E. coli* en pacientes con infecciones del tracto urinario y en neutropénicos que han recibido profilaxis con estas moléculas. Las tasas de resistencias son preocupantes en nuestro país al superar el 20% en algunos estudios. Otra forma de resistencia menos frecuente a las quinolonas consiste en la expresión de proteínas Qnr mediadas por plásmidos, que protegen a las topoisomerasas de la acción letal



Los patógenos multirresistentes son una realidad de nuestros hospitales que comienza a extenderse a la comunidad.

de las quinolonas. Se han descrito en *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae* y *C. freundii*.

El paradigma de la multiresistencia lo constituyen ciertos bacilos Gram negativos no fermentadores, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y *Stenotrophomonas maltophilia*.

P. aeruginosa, uno de los principales patógenos nosocomiales (infecciones adquiridas en unidades de cuidados intensivos o UCI e infecciones urinarias) y emergente en las infecciones respiratorias de la comunidad, presenta resistencias naturales a la mayoría de las penicilinas, las cefalosporinas e incluso a muchas de tercera generación, tetraciclinas, cloranfenicol, etc. Pero además desarrolla resistencias adquiridas con gran facilidad. La multiresistencia se debe al cúmulo sucesivo de mutaciones en sus genes, que conduce a la aparición de todos y cada uno de los mecanismos de resistencia conocidos, entre los que destacan las β -lactamasas, sobre todo cromosómicas inducibles, la disminución de la permeabilidad de la membrana externa, las bombas de flujo, las acetiltransferasas y la reducción de la sensibilidad de la topoisomerasa. En España ningún antipseudomónico es uniformemente activo sobre este patógeno, pero las tasas de resistencias son aceptables, excepto respecto al ciprofloxacino. En ocasiones sólo es útil el empleo de polimixinas, fármacos no exentos de la aparición de resistencias.

A. baumannii, otro MM nosocomial, tiene esta singularidad por la gran facilidad con la que se hace resistente a los antibióticos. El patrón más habitual de resistencias incluye antibióticos como la doxiciclina, el ciprofloxacino, la amikacina, la gentamicina, la ceftazidima, el imipenem y el sulbactam. La pérdida de sensibilidad a los antibióticos, en particular a los carbapenémicos, restringe en muchas ocasiones las opciones a fármacos de segundo orden en la terapia conven-

cional, como sulbactam o polimixina B. En un estudio realizado en nuestro país todas las cepas fueron sensibles a la polimixina B, el 52,5% al imipenem, el 46,7% al sulbactam, el 49,3% a la rifampicina y el 34,7% a la amikacina. Los mecanismos de resistencias son muy variados: β -lactamasas (AmpC, oxacilinasas y carbapenemasas), alteraciones en la producción de porinas y bombas de flujo. Los brotes de *A. baumannii* multiresistentes se hacen endémicos a veces y persisten durante mucho tiempo, como sucede en algunas UCI.

Las causas y la epidemiología de las resistencias bacterianas no se conocen en profundidad. Independientemente de la facilidad que cada microorganismo tiene para disminuir su sensibilidad a los antibióticos, se han descrito numerosos factores influyentes (empleo de antibióticos, aumento de la población inmunodeprimida, hospitalización prolongada, aplicación de procedimientos invasores e ineficacia de las medidas tomadas en el control y aislamiento).

La evidencia científica indica que el consumo de antibióticos histórico y actual es el principal factor de riesgo para que los microorganismos desarrollen resistencias, de tal forma que el uso del cualquier antibiótico nuevo generará resistencias a sí mismo, aunque el impacto de cada familia de antimicrobianos no parece ser el mismo.

En conclusión, los patógenos multiresistentes son una realidad de nuestros hospitales que comienza a extenderse a la comunidad. Además, suponen una amenaza para los sistemas de salud modernos que condiciona la actividad clínica diaria e incrementa la morbimortalidad y el gasto sanitario. Como todo problema complejo, la solución es difícil y pasa por medidas multi e interdisciplinarias bien coordinadas e integradas que incluyen sistemas de vigilancia, uso racional de antibióticos y medidas efectivas para evitar la diseminación.

LA MULTIRRESISTENCIA SALE DEL HOSPITAL

La multirresistencia bacteriana no hace falta que salga del hospital para estar presente en la comunidad. Son numerosos los casos de bacterias prevalentes en la comunidad con esta falta de sensibilidad (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Salmonella* spp. y *Mycobacterium tuberculosis*).

S. pneumoniae ha desarrollado resistencia a varios antibióticos en distinto grado en las últimas décadas. Según el último estudio realizado en nuestro país, el 20% de las cepas son resistentes a la penicilina y el 35% a los macrólidos, la cefuroxima axetilo y el cefaclor. La resistencia a la penicilina se efectúa por pérdida de la afinidad de las proteínas fijadoras de penicilina (*protein binding penicillin*, PBP) por la misma, que se supera incrementando las dosis del antibiótico, excepto si la concentración media inhibitoria (CMI) \geq 4 mg/l. El mecanismo de resistencia más prevalente a los macrólidos en España se debe a la acción de una metilasa ribosomal, que modifica el ARN de la subunidad 23S del ribosoma (gen *erm*). Este tipo de mecanismo confiere una resistencia de alto nivel (CMI $>$ 64 μ g/ml) que no se solventa con el aumento de la dosificación, como sucede con la penicilina. La resistencia puede ser constitutiva o inducida por concentraciones subinhibitorias de macrólidos, y además de a los macrólidos afecta a lincosamidas y estreptograminas (fenotipo MLS). En menos ocasiones, aproximadamente un 10%, la resistencia de *S. pneumoniae* es de bajo nivel debido a bombas de flujo codificadas por el gen *mef*, que sólo afecta a los macrólidos de 14 y 15 átomos de carbono.

H. influenzae ha perdido sensibilidad a la ampicilina y a la amoxicilina desde la década de los setenta por la producción de β -lactamasas (TEM-1, TEM-2 y ROB-1), que hidrolizan su anillo β -lactámico. Este mecanismo de resistencia ha ido incrementándose y extendiéndose a lo largo de los años, y aunque existen variaciones geográficas, la tasa promedio es del 20-35%. En los tres últimos estudios multicéntricos realizados en nuestro país la producción de β -lactamasas por *H. influenzae* osciló entre el 20 y el 30%. La resistencia a la ampicilina sin producción de β -lactamasas por modificación

de las PBP (*H. influenzae* BNRA) es un mecanismo de resistencia mucho menos prevalente y no supera en nuestro entorno el 1,2-12%. Pero *H. influenzae* no sólo es resistente a la ampicilina, sino también a otros muchos antibióticos orales utilizados en el tratamiento de las infecciones respiratorias de la comunidad, como cefalosporinas de primera generación, cotrimoxazol y macrólidos.

La resistencia a los antibióticos de *Salmonella* spp. ha aumentado globalmente en el mundo desde la década de los noventa, aunque hay variaciones notables entre serotipos y de orden geográfico. *S. enterica* serotipo *enteritidis* es más sensible que *S. enterica* serotipo *typhimurium*. Se han detectado multirresistentes a distintos antibióticos (ampicilina, cloranfenicol, estreptomina, sulfamida y tetraciclina) y también a los antimicrobianos convencionales, como cefalosporinas de amplio espectro y fluorquinolonas. Un estudio en nueve países europeos ha puesto de manifiesto que más del 20% de las cepas de *S. enteritidis* serotipo *typhi* eran multirresistentes (más de cuatro antibióticos), con descenso de la sensibilidad al ciprofloxacino en el 11% de los casos. Para *S. enterica* serotipo *paratyphi* la multirresistencia creció del 9% en el año 1999 al 25% en el 2001, con descenso de la sensibilidad al ciprofloxacino del 6 al 17%. En otro trabajo similar en el mismo entorno sobre más de 27.000 cepas de aislados clínicos de *Salmonella* spp., el 40% fueron resistentes al menos a un antibiótico y el 18% tenían multirresistencia. En un trabajo español el 73% de las cepas de *Salmonella* aisladas en humanos eran resistentes a uno o más antibióticos y el 39% multirresistentes (cuatro o más antibióticos).

M. tuberculosis multirresistente es raro en nuestro entorno, aunque hay una clara tendencia al alza. Sí es preocupante en algunos países del noreste europeo, como Estonia, Dinamarca y algunas zonas de Rusia, y otras de China e Irán.

Pero en el ámbito comunitario a estos microorganismos antes señalados se están uniendo otros propiamente hospitalarios cada vez con mayor frecuencia, situación antes poco habitual, con la excepción de los enfermos con fibrosis quística colonizados por *Pseudomonas aeruginosa* o *Burkholderia cepacia*.

Los enfermos hospitalizados pueden padecer una infección o ser colonizados por microorganismos multirresistentes y



En la comunidad se está produciendo un aumento de los patógenos multirresistentes que condicionan el tratamiento antimicrobiano.

transmitirlos al alta a las personas que les rodean. Este fenómeno se produce sobre todo en ancianos o pacientes con enfermedades crónicas que tienen ingresos frecuentes y cuando salen cambian el hospital por otra institución cerrada (centros sociosanitarios o asilos). Ante esta situación, muy frecuente en nuestra sociedad, algunos autores prefieren hablar de infecciones adquiridas en relación con la "asistencia sanitaria" en vez de exclusivamente hospitalaria. Buenos ejemplos de esta nueva situación son *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) y enterobacterias productoras de β -lactamasas de amplio espectro (BLEE).

Respecto a SARM, en un estudio multicéntrico realizado en nuestro país más del 27% de los aislados se detectaron en pacientes no hospitalizados, pero que habían tenido contacto reciente de alguna forma con la atención sanitaria. En otro estudio americano el 8-20% de todos los aislados de SARM fueron en la comunidad, con una incidencia anual de 18-25,7 casos por cada 100.000 habitantes, predominando en las edades extremas de la vida. Sólo el 6% produjeron infecciones invasoras, de las que el 77% fueron de piel y partes blandas. Además el 23% de los pacientes necesitaron hospitalización.

Varios estudios, también nacionales, han demostrado la prevalencia de *Escherichia coli* productor de BLEE en la comunidad. En el trabajo del Grupo de Estudio de la Infección Hospitalaria (GEIH) de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC), hasta el 16,7% de las cepas de *Klebsiella pneumoniae* y el 2,4% de las de *E. coli* (el 51% de los casos procedentes de la comu-

nidad) producían estas enzimas. En otro realizado en pacientes no hospitalizados las cepas de *E. coli* productoras de BLEE eran fundamentalmente del tipo CTX-M y los factores de riesgo para la aparición fueron: diabetes mellitus, uso previo de fluorquinolonas, infección urinaria recurrente, hospitalización previa y ser mujer de edad avanzada.

En cuanto a *P. aeruginosa*, la resistencia en la comunidad también está creciendo. En un estudio realizado en España el 30% de las cepas resistentes eran de pacientes no hospitalizados, en los que primaban las infecciones urinarias y la resistencia a las fluorquinolonas. Afortunadamente esta extensión de resistencias del hospital a la comunidad no se está produciendo con otros bacilos Gram negativos no fermentadores multirresistentes (*Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, etc.).

Sin embargo, está surgiendo una nueva situación: la aparición de microorganismos multirresistentes en la comunidad frecuentes en el hospital, pero que parece no corresponder a una exteriorización de cepas nosocomiales. Un ejemplo son algunas cepas de SARM que albergan el elemento SCCmec (*staphylococcal cassette chromosome*) de tipo IV y V, que sólo confiere resistencia a los β -lactámicos. El tamaño más pequeño del SCCmec tipo IV favorece la transferencia horizontal y por tanto su expansión. Además, tiene un menor coste biológico por la ausencia de genes estructurales y reguladores del gen de resistencia a la meticilina y los genes de la recombinasa, que son imprescindibles para la movilización de este SCCmec. Estos SARM comunitarios suelen afectar a niños produciendo infecciones de piel y partes blandas y neumonía, en ocasiones necrosantes por la síntesis de la toxina *Panton-Valentine Leukocidin*.

Algunos *E. coli* BLEE-positivos de la comunidad parecen haber surgido allí y no proceder del hospital. Así parecen demostrarlo los elementos genéticos que codifican el mecanismo de resistencia.

Sea por un camino u otro (aparición de multirresistencia en la comunidad o extensión desde el hospital), la realidad es que en la comunidad se está produciendo un incremento de microorganismos multirresistentes hasta ahora reservados al hospital que condicionan el tratamiento antimicrobiano de estas infecciones.

ALGUNOS AUTÉNTICOS PROBLEMAS DE SALUD PÚBLICA

Con la aparición de los antimicrobianos en la década de los cuarenta se redujo considerablemente la mortalidad de las enfermedades infecciosas. No obstante, estos agentes han perdido progresivamente parte de su eficacia a lo largo de los años dando lugar a un grave problema que nos atañe a todos: la aparición de las "resistencias".

Hoy en día la resistencia plantea una verdadera amenaza, cada vez mayor, que ocasiona una preocupación permanente a las autoridades sanitarias de salud pública. La utilización de los agentes antimicrobianos involucra cada día más que determinadas especies bacterianas se vuelvan resistentes a las terapias convencionales y aparezcan nuevos mecanismos de resistencia. Todo esto conduce a una situación que parece hacer peligrar los avances conseguidos en la última mitad del siglo pasado con el descubrimiento de los antibióticos. Como consecuencia de este aumento progresivo de la resistencia, se produce una disminución de la actividad de los antimicrobianos disponibles hoy en día, lo que conlleva la continua búsqueda de nuevas opciones terapéuticas.

Entre los microorganismos multirresistentes clínicamente importantes que están desarrollando resistencia rápidamente en la actualidad se encuentran bacterias como *Staphylococcus aureus*, que ha empezado a mostrar una alta resistencia a la meticilina (SARM), *Streptococcus pneumoniae*, que lo está haciendo a la penicilina, los enterococos a la vancomicina y numerosos Gram negativos, como *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*, que lo hacen al imipenem, y cuyas infecciones son difíciles de tratar. Pero no sólo se encuentran estos agentes patógenos, sino que existen otros muchos microorganismos que también están desarrollando resistencias, como *Mycobacterium tuberculosis*, candidas, virus de la inmunodeficiencia humana, etc.

La resistencia en bacterias hospitalarias constituye uno de los problemas infecciosos emergentes de mayor importancia.

En las últimas décadas la infección nosocomial ha adquirido gran importancia no sólo por el incremento de morbilidad y mortalidad de los pacientes, sino también por el aumento de los costes económicos que ha ocasionado. Estas infecciones continúan siendo una preocupación relevante en los hospitales, a pesar de la constante concienciación del personal sanitario y de los buenos niveles de control conseguidos hasta ahora, por lo que suponen un importante problema de salud no solamente para el paciente hospitalizado, sino también para su familia y la comunidad.

La "alarma social" que se plantea ante un brote multirresistente dentro del hospital trae consigo una serie de implicaciones médicas, microbiológicas e incluso sociales de gran preocupación en la actualidad. Existen diversos factores de riesgo que tienden a agravar este problema, entre los que destacan los siguientes:

1. El mayor porcentaje de pacientes con alta disponibilidad a las infecciones, que principalmente son los de edades extremas de la vida (niñez y vejez) debido sobre todo a que su sistema defensivo no se encuentra totalmente desarrollado o está en declive.
2. La presencia de enfermedades de base graves por el deterioro de los mecanismos defensivos generales en los pacientes, como ocurre en los inmunodeprimidos.
3. El impacto de nuevas tecnologías y la mayor frecuencia de manipulaciones y procedimientos agresivos e invasivos, empleados para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades.
4. El gran consumo de fármacos potentes y de amplio espectro antimicrobiano.
5. La constante aparición de microorganismos resistentes a los distintos agentes antimicrobianos y de nuevas y antiguas enfermedades infecciosas, que da como resultado que las tasas de infección intrahospitalaria tiendan a aumentar en lugar de disminuir.

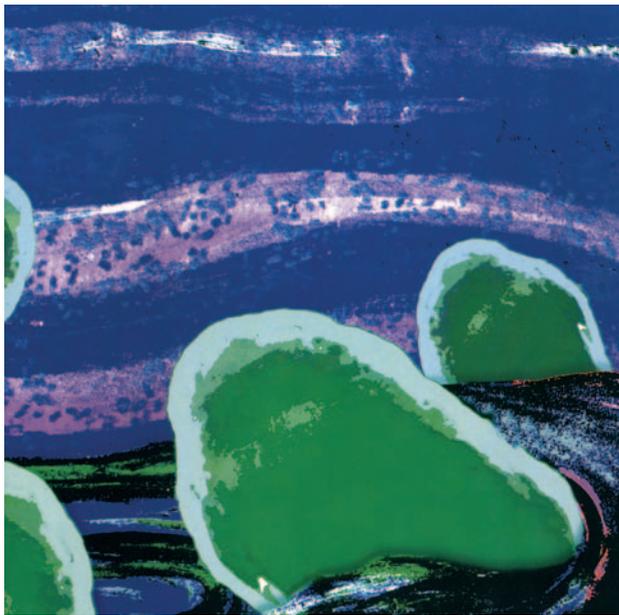
Hay que tener en cuenta que algunos de estos factores pueden operar conjuntamente en el desarrollo de la infección.

Todo esto trae consigo una serie de consecuencias clínicas y económicas principalmente. Dentro de las primeras aparecen fallos en el tratamiento antimicrobiano, aumento de

la toxicidad y reacciones adversas en el paciente e incluso reinfecciones y complicaciones del cuadro infeccioso debido a la utilización de fármacos más potentes y más tóxicos o al empleo de asociaciones de agentes antimicrobianos.

Del mismo modo, se pueden producir consecuencias económicas por el incremento de los costes directos como consecuencia del uso de fármacos alternativos más caros y potentes, la investigación de nuevas tecnologías y nuevos fármacos, las reintervenciones quirúrgicas, el aislamiento de pacientes y el alargamiento de su estancia hospitalaria, que encarece el tratamiento hospitalario. Los costes también pueden ser indirectos al implicar la pérdida de salarios, de producción e incluso de escolaridad en el caso de pacientes de poca edad, cambios de hábitos, etc.

En ocasiones estas infecciones hospitalarias se presentan en forma de brotes epidémicos, cuyo origen se relaciona con la manipulación de los pacientes. En este caso su origen puede



La *Klebsiella pneumoniae* es una de las enterobacterias más comunes en el ámbito hospitalario y que causa graves infecciones sobre todo en pacientes inmunodeprimidos. Representación artística de *Klebsiella pneumoniae* (SEQ: *El Germen y el Genio*).

deberse al contacto con portadores crónicos, como los enfermos o incluso trabajadores colonizados, o con reservorios inanimados (ventiladores mecánicos, sistemas de monitorización, etc.).

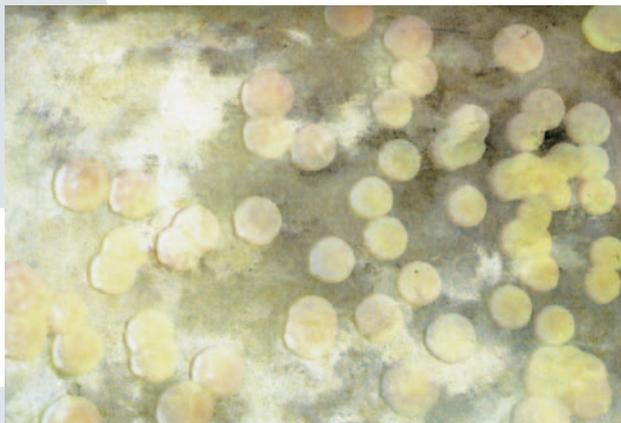
Los microorganismos hospitalarios (entidades etiológicas) más habituales son los siguientes: *S. aureus* resistentes a la metililina, enterococos, de los que se duda sobre su patogenicidad, pero que provocan problemas hospitalarios, bacilos Gram negativos no fermentadores y enterobacterias BLEE (β -lactamasas de espectro extendido), como *Klebsiella* o *Escherichia coli*. Muchos de estos patógenos se consideran microorganismos oportunistas, que pueden causar infecciones en pacientes inmunodeprimidos o cuando son introducidos en el organismo durante el curso de procedimientos invasivos.

Todos estos problemas se localizan principalmente en los Servicios o en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) y en los Servicios de Hematología, Hemodiálisis, etc., pues son más sensibles, se encuentran más afectados y se relacionan con la utilización de distintos dispositivos externos, como catéteres, vías, sondas, etc., que alteran las barreras defensivas naturales del paciente, con lo que se facilita la transmisión de los distintos microorganismos.

En los últimos años las infecciones causadas por enterococos han adquirido gran importancia debido al incremento de la tasa de resistencia a la vancomicina en algunos hospitales, que ha dejado de ser un fenómeno exclusivo en las UCI y en pacientes más debilitados y se extiende actualmente a todas las áreas hospitalarias.

Generalmente, la resistencia a los antimicrobianos no sólo aparece asociada con la infección nosocomial, sino que hay que incluir las resistencias producidas por las infecciones extrahospitalarias, que pueden incluso haberse desarrollado como consecuencia de la salida de diferentes microorganismos resistentes hospitalarios.

La resistencia en la comunidad principalmente desencadena dos tipos de problemas. Por un lado, aparecen unas resistencias que emergen en la comunidad derivadas de la resistencia de los neumococos a β -lactámicos y macrólidos, *Haemophilus influenzae* a los β -lactámicos y *E. coli* a los



Representación artística de *Stenotrophomonas* spp.
(SEQ: Impresionismo y Microbiología).

anteriores, trimetoprima y sulfamidas. La aparición de estas resistencias obliga a que se produzca un cambio de conducta por parte del médico, a la aparición de nuevos remedios terapéuticos e incluso a una desconfianza empírica. Todo ello encarece el tratamiento de las infecciones y produce un aumento del fracaso terapéutico.

Por otra parte, surge una preocupación sobre la salida de enfermos del complejo hospitalario, pues conlleva un flujo de resistencias hospitalarias hacia el exterior, como los aislados *S. aureus* meticilín-resistentes, que constituían hasta hace poco un problema exclusivamente hospitalario y ahora están apareciendo en la comunidad, y cuyo tratamiento son antimicrobianos del tipo de la vancomicina o teicoplanina, de difícil manejo extrahospitalario; o incluso *P. aeruginosa* y bacilos Gram negativos no fermentadores (*Acinetobacter* spp., *Stenotrophomonas* spp., etc.), que pueden salir del hospital en enfermos que padecen fibrosis quística o con infección de repetición con microorganismos resistentes a los antibióticos.

Además, en Atención Primaria se plantean también problemas médicos de diagnóstico-pronóstico en el caso de pacientes con tuberculosis con resistencia a tuberculostáticos y en enfermos de SIDA. Generalmente en todos estos casos se utilizan tratamientos empíricos dirigidos, que llevan a fracasos terapéuticos y a un aumento de bajas laborales, de escolaridad, de riesgos de transmisión interfamiliar, etc.

Existen otros problemas que no hay que olvidar, como el uso inapropiado de los antimicrobianos, especialmente por parte de la población adulta, debido al incumplimiento terapéutico y el almacenamiento de los antimicrobianos. Los principales problemas respecto a este mal uso de los fármacos son la elevada automedicación, el incumplimiento terapéutico, el almacenamiento de los antibióticos y a una prescripción inadecuada.

En la elevada automedicación contribuye principalmente la demanda de la población debido principalmente a la mala educación sanitaria. El incumplimiento puede deberse a una gran cantidad de causas, como las molestias o los efectos secundarios que provoca el medicamento en el paciente, su elevado coste, creencias religiosas o culturales sobre las ventajas y los inconvenientes del tratamiento propuesto e incluso la falta de información respecto a su importancia y la relativa complejidad de algunos tratamientos.

El almacenamiento de antibióticos en los hogares resulta consecuencia del incumplimiento terapéutico y de las conductas automedicadoras, mientras en que la prescripción inadecuada, principalmente en infecciones respiratorias de presumible origen vírico, influyen el desconocimiento o la incertidumbre del agente causal del desarrollo de la patología infecciosa y la actitud complaciente y defensiva por parte del médico y del paciente.

Si bien todos estos problemas son consecuencia de la acción de la resistencia de los antibióticos tanto en el hospital como en la comunidad, la solución más eficaz puede ser el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos más efectivos, como los nuevos ketólidos, los macrólidos, el sinerid (dirigido a Gram positivos resistentes a la penicilina) e incluso la tigeciclina, que se utiliza en microorganismos Gram positivos y Gram negativos.

No hay que descartar que una buena vigilancia epidemiológica demuestra ser eficaz a la hora de prevenir las infecciones, además de resultar rentable económicamente, así como una continua educación sanitaria de las normas en los procedimientos más comunes (cateterizaciones, apoyo ventilatorio, etc.) y en la buena utilización de los agentes antimicrobianos.

LAS INFECCIONES POLIMICROBIANAS Y LA NECESIDAD DE SOLUCIONES IMAGINATIVAS

El mayor avance de la Medicina posiblemente se sitúa a finales del siglo XIX al aceptarse el concepto etiopatogénico de la enfermedad. La contribución de Koch con sus postulados basados en "un microbio, una infección" fue definitiva. Con la aparición de los antibióticos (sulfamidas y penicilinas) los postulados de Koch adquirieron una relevancia especial porque se pudo completar el principio de "un microbio, una infección, un antibiótico". Salvo en el caso de los abscesos, la especificidad de los postulados de Koch se derrumbó en la década de los setenta al emerger las infecciones por anaerobios, oportunistas y polimicrobianas, en el ámbito quirúrgico sobre todo. En esta época las infecciones oportunistas no se consideraban todavía tan importantes como hoy día, pero ya existían antimicrobianos de amplio espectro (tetraciclinas y cloramfenicol) con los que se pretendían cubrir las posibles asociaciones microbianas. Todavía el aislamiento de más de una especie en muestras como hemocultivos y urocultivos se interpretaba sistemáticamente como contaminado o incorrecto.

En la década de los ochenta el SIDA, el uso de catéteres, los procedimientos invasivos, etc., cambiaron notablemente el concepto aceptándose como habitual la infección polimicrobiana o causada por múltiples microorganismos, que cambiará y dependerá de diversos factores epidemiológicos, entre otros, las exploraciones agresivas, la solución de continuidad en piel y mucosas, etc., que facilitan la entrada de varias poblaciones microbianas que pueden coexistir, aunque alguna se extinga. La formación de biopelículas sobre catéteres, sondas, prótesis, placa dental, etc. comúnmente resulta inespecífica al depositarse sobre la matriz (limo) cualquier microorganismo. Tiene carácter polimicrobiano, aunque por dominio poblacional se suele expresar preferentemente una sola especie. No son raras las infecciones mixtas virus-bacterias y hongos o parásitos. Son infecciones polimicrobianas que es preferible denominar "co-infecciones" para diferenciarlas de las superinfecciones, en las que otros microorganismos complican la infección inicial. En estos casos el médico debe arbitrar ya medidas de asociación de antimicrobianos específicos (antibióticos, antifúngicos, etc.),

simultánea o secuencialmente (neutropénicos, SIDA, etc.). También han de tenerse en cuenta las infecciones por bacterias resistentes y las crónicas en las que la heterogeneidad es frecuente, es decir, las mutantes resistentes de una misma especie o diferentes variaciones antigénicas de una misma cepa. ¿Se pueden considerar coinfecciones? Esta situación tiene una gran importancia en la interpretación, en las implicaciones epidemiológicas (persistencia) y clínicas (pronóstico), etc. Algunos de los casos más habituales son estafilococias por metilresistentes (heterogeneidad) o infecciones por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

Todos estos tipos de infecciones, muy comunes, plantean problemas conceptuales, diagnósticos y terapéuticos, como podemos ver más adelante con algunos casos. Son ejemplos las gastroenteritis (virus y bacterias); las infecciones genitales (EPI, vaginosis, etc.); la hepatitis (coinfección por virus B, C y D, especialmente); la otitis media (en las víricas más del 50% son coinfecciones bacterianas); la infección periodontal (varias especies bacterianas ± virus y hongos); la infección intraabdominal, sobre todo postoperatoria (en algunos casos se pueden aislar más de 10 especies bacterianas que actúan sinérgicamente); y hasta un 30% de las neumonías nosocomiales (intervienen varios gérmenes, diferentes dependiendo del paciente y del Servicio donde se encuentra ingresado). El 10% de los enfermos con enfermedad de Lyme padecen también babesiosis. Entre un 5 y un 10% de los hemocultivos y en mayor proporción los urocultivos, son polimicrobianos.

Etiológicamente con frecuencia se asocian anaerobios, enterobacterias, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* y otros; VHS y *S. epidermidis* y *Fusarium*; VIH y *Mycobacterium tuberculosis*, *Candida albicans*, *Histoplasma*, etc. Otras asociaciones habituales son virus gripal y *Staphylococcus aureus*; virus de la varicela-zóster y *Streptococcus pyogenes*, virus de Epstein-Barr y retrovirus; VIH-1 y VIH-2, VIH y hepatitis B o C; *C. albicans* y *Streptococcus viridans* o *S. aureus*, etc. Es evidente que, como ya se ha señalado, ante una infección polimicrobiana el médico debe saber que sólo puede curar la infección atajando la enfermedad de base, generalmente con fármacos o cirugía, más antimicrobianos específicos para cada microorganismo sospechoso y/o aislado. ¡Estamos ante una polifarmacia obligada!

Varias son las posibles causas de las asociaciones microbianas, algunas demostradas y otras teóricas. Podemos considerar las siguientes:

1. Alteraciones mucosas causadas por un patógeno que facilita la invasión de otros no patógenos *per se*;
2. Factores como estrés, anestesia, cirugía, etc., que contribuyen a la penetración indiscriminada de microorganismos oportunistas a inóculos tan altos que el huésped se ve incapaz de neutralizar;
3. Reacciones metabólicas, como la liberación de intermediarios inflamatorios, que pueden reactivar infecciones latentes o favorecer la colonización de otros microorganismos;
4. Neutralizaciones del sistema defensivo por patógenos, que facilitan la acción patógena de otros;
5. Presión antibiótica e inmune y factores selectivos de mutaciones, que explican la coexistencia de varios tipos de un mismo patógeno.

Con frecuencia hay varias circunstancias y/o mecanismos, por lo que parece lógico que también se asocien las medidas terapéuticas. Los problemas que plantean las infecciones polimicrobianas son graves y numerosos. Estas infecciones no siguen un modelo establecido. El comportamiento *in vitro* de las asociaciones es muy diferente de la realidad. Con frecuencia intervienen patógenos intracelulares y extracelulares, para lo cual no hay modelos descritos. En unos casos coexisten microorganismos en diferentes compartimentos (sangre o tejidos de diferentes órganos); en otros son intracelulares o extracelulares. O se disparan antibióticos con propiedades farmacocinéticas para llegar a ambos o se asocian antibióticos complementarios. En otros casos siguen un ciclo (*Plasmodium*, *Rickettsias*, virus, etc.) que es necesario conocer para ampliar el antimicrobiano adecuado en el momento justo. Sólo nos podemos aproximar en aspectos tan parciales como coagregaciones, biofilms, dinámica de poblaciones, etc. En modelos animales las asociaciones se han ensayado con relativo éxito en cuadros como neumonías, peritonitis, placa dental o abscesos, pero casi siempre estudiando procesos agudos y solamente con componentes bacterianos. Por todo lo citado, a pesar de los avances científicos, el tratamiento de muchas infecciones sigue teniendo un componente empírico muy importante y no es desdeñable cierto "arte médico". Hay que tener en cuenta que el patrón de sensibilidad del antimicrobiano frente al microorganismo varía ampliamente en las diferentes áreas geográficas; también se deben considerar los microorganismos responsables más frecuentes según la localización de la enfermedad infecciosa del enfermo; y el tratamiento debe individualizarse y adaptarse a las características personales del paciente y a los conocimientos que

tenemos sobre las propiedades y la disponibilidad de los diferentes antibióticos que podemos manejar. Es probable que las dificultades para avanzar en la etiología de asma, esclerosis múltiple, ateromas, artritis, etc. se deban a la frecuencia de hallazgos polimicrobianos de confusa interpretación.

Desde el punto de vista clínico, la dificultad es notable en muchos casos. No en vano los cuadros típicos apenas se ven, pues dependen en intensidad, localización, evolución y pronóstico de numerosos factores, como características de la especie dominante, sinergismo y/o modulación de la o las especies asociadas y densidad poblacional, amén de los factores por parte del enfermo. El diagnóstico etiológico resulta muy complicado. En el trabajo rutinario las bacterias más exigentes y lentas con frecuencia pasan desapercibidas y el hallazgo de varios tipos de microorganismos en hemocultivo, líquido articular, orina, catéteres, etc. suele dejar perplejo al microbiólogo, porque cuando se aísla más de un microorganismo no hay criterios claros para asignar a cada aislado la responsabilidad que le corresponde. Los datos serológicos aportan muy poco a lo citado; y si el otro componente etiológico es un virus, hongo o protozoo, la dificultad puede aumentar.

Por tanto, no es de extrañar que el médico a menudo deposite más esperanzas en un antimicrobiano que le "tape" su incapacidad diagnóstica y, lógicamente, tienda a utilizar el de mejor espectro, el más potente, el más moderno.

El enfermo con frecuencia se beneficia al corregir algún factor del huésped o algún componente etiológico en infecciones polimicrobianas, pero hay situaciones, como el SIDA, en las que la eficacia depende del abordaje de todos los potenciales responsables de la infección.

Estamos por tanto ante un tipo de infecciones que requieren un nuevo planteamiento conceptual, diagnóstico y terapéutico y exigen intensificar la investigación en unos puntos, como definir las posibles situaciones, mejorar el diagnóstico de los patógenos conocidos, investigar nuevos agentes etiológicos, delimitar los factores predisponentes y las interacciones de las asociaciones microbianas y, por último, establecer protocolos de actuación profiláctica y terapéutica, es decir, documentos de consenso, realizados por microbiólogos e infectólogos, cirujanos, intensivistas y médicos de Servicios de Urgencias, cuyas recomendaciones se basen en la experiencia obtenida en ensayos clínicos prospectivos.

UTILIDAD DEL TRATAMIENTO EMPÍRICO EN LAS INFECCIONES POR PATÓGENOS MULTIRRESISTENTES

La antibioterapia empírica es la forma más habitual de iniciar el tratamiento de una infección, ya que la necesidad de empezar la administración del antimicrobiano cuanto antes y el desconocimiento inicial del microorganismo causal obliga a actuar de esta forma. La elección de la pauta antibiótica se basa en la información acumulada sobre qué microorganismos producen con más frecuencia determinada infección y los patrones actuales de sensibilidad de los microorganismos en esa zona geográfica. Además, según las tendencias más modernas, se deben tener en cuenta los factores de riesgo de multiresistencia bacteriana (hospitalización prolongada, comorbilidad, antibioterapia previa, etc.) y procurar que las características farmacocinéticas, farmacodinámicas y ecológicas del fármaco elegido sean las idóneas.

La antibioterapia empírica inicial adecuada tiene una gran influencia en la curación de la infección y en la mortalidad, como ha quedado bien demostrado en varios trabajos llevados a cabo en el tratamiento de la neumonía asociada a la ventilación mecánica. Luna, *et al.* observaron una mortalidad del 37,5% en los pacientes que recibieron un tratamiento correcto frente al 91,2% cuando no fue así ($p < 0,0001$). De igual forma, Álvarez Lerma (también) encontró diferencias significativas en la mortalidad atribuida a la neumonía (16,2 frente al 24,7%; $p < 0,039$) y lo mismo ocurrió en los estudios de Rello, *et al.* (15,6 frente al 37%; $p < 0,05$) y en los de Kollef y Ward (7,8 frente al 23,5%; $p = 0,018$).

Pero la situación se complica aún más si los agentes productores se hacen resistentes a los antibióticos convencionales; en este sentido dos metaanálisis han evaluado la resistencia a la oxacilina y su relación con la mortalidad. En ambos se ha observado que los pacientes con infecciones por microorganismos resistentes a este antibiótico tuvieron significativamente mayor mortalidad que los infectados con microorganismos sensibles ($p < 0,001$). Asimismo, en un estudio llevado a cabo

por Paterson, *et al.* se relacionó la concentración mínima inhibitoria (CMI) de las cefalosporinas de tercera generación para *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* con la evolución de los pacientes y se vio que con una CMI de 1 $\mu\text{g/ml}$ la tasa de fallo terapéutico era de un 27%, con una mortalidad del 18%; mientras que cuando la CMI era de 8 $\mu\text{g/ml}$, las tasas anteriores se elevaron al 100 y al 33%, respectivamente.

Como se ha descrito en los capítulos anteriores, los patógenos multirresistentes son una realidad tanto en el hospital (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina o SARM, *Enterococcus* spp., enterobacterias y bacilos Gram negativos no fermentadores) como en la comunidad (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Salmonella* spp., *E. coli* y *S. aureus* resistente a la meticilina). Sin embargo, el problema es todavía más acuciante cuando las resistencias se acumulan en un mismo microorganismo (enterobacterias productoras de β -lactamasas de amplio espectro y resistentes a las quinolonas, *S. pneumoniae* resistentes a la penicilina y a los macrólidos, etc.); son las mismas que presentan otros (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, etc., y enterobacterias; *H. influenzae* y *S. pneumoniae*); o una misma infección está originada por varias bacterias multirresistentes (neumonía comunitaria por *S. pneumoniae* y *H. influenzae*; neumonía nosocomial por *S. aureus* resistente a la meticilina y *Pseudomonas aeruginosa*; infección urinaria por enterobacterias productoras de β -lactamasas de amplio espectro y *P. aeruginosa*; etc.).

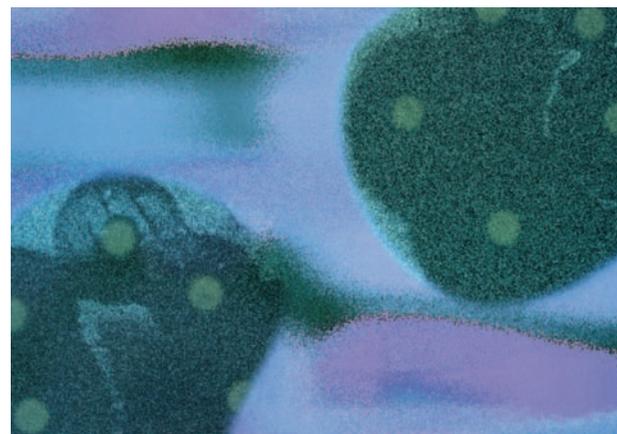


El *Haemophilus influenzae* es uno de los patógenos multirresistentes más extendido en el ámbito comunitario. Representación artística de *Haemophilus influenzae* (SEQ: Impresionismo y Microbiología).

Esta situación lleva en ocasiones al empleo de forma empírica de antibióticos capaces de superar las resistencias, que pueden ser de más amplio espectro (utilizando incluso combinaciones) y generalmente más caros, lo que depende fundamentalmente de la prevalencia de los microorganismos multirresistentes en cada hospital, Unidad del mismo o comunidad. Es importante señalar que, en el menor plazo posible, la antibioterapia empírica debe ser sustituida por la específica o dirigida (desescalonamiento) una vez conocido el agente causal, aunque desafortunadamente no siempre se consigue.

En las infecciones respiratorias de la comunidad el diagnóstico etiológico no se alcanza en la mayoría de las ocasiones, ya que en Atención Primaria no se realizan pruebas encaminadas a buscarlo. Pero además, la rentabilidad de algunos procedimientos, como los hemocultivos en la neumonía, sólo es de alrededor del 30%, aunque actualmente las cosas han mejorado algo con la antigenuria para neumococo y *Legionella pneumophila*. Por tanto, el tratamiento antimicrobiano de estas infecciones resulta generalmente empírico; teniendo en cuenta que en aquellas donde *S. pneumoniae* y *H. influenzae*, microorganismos considerados multirresistentes, son muy prevalentes (otitis media, sinusitis, neumonía y exacerbación de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica [EPOC]), la elección del antibiótico debe huir de los macrólidos y de las cefalosporinas de primera y segunda generación en beneficio de fluorquinolonas, ketólidos y cefalosporinas de tercera generación.

Igualmente, en la neumonía nosocomial de comienzo precoz puede aplicarse el criterio de las infecciones respiratorias de la comunidad, ya que los agentes causales son prácticamente los mismos. Muy diferente, sin embargo, es la situación en la neumonía nosocomial de comienzo tardío y con factores de riesgo para microorganismos multirresistentes (comorbilidad, uso previo de antibióticos, etc.), pues en este supuesto el espectro antimicrobiano del tratamiento empírico debe incluir *P. aeruginosa* y *S. aureus*. El uso de agentes activos frente a SARM como glucopéptidos, linezolid y otros nuevos disponibles en un futuro próximo, como tigeciclina, dependerá de la prevalencia de este microorganismo en cada Unidad. Las polimixinas a veces pueden formar parte del tratamiento empírico de esta entidad clí-



El antibiograma es un método fundamental para el microbiólogo y el clínico para prescribir el tratamiento antimicrobiano correcto (SEQ: *Impresionismo y Microbiología*).

nica cuando de forma habitual se aislen *P. aeruginosa* resistentes a β -lactámicos, fluorquinolonas y aminoglicósidos y *Acinetobacter baumannii* con sensibilidad disminuida a carbapenémicos y sulbactam.

En las infecciones urinarias de áreas geográficas, hospitales o Unidades donde haya una gran prevalencia de *E. coli* productoras de BLEE y resistentes a las quinolonas o bien el paciente reúna un perfil de riesgo para alguno de estos tipos de resistencia (edad avanzada, diabetes mellitus, uso previo de fluorquinolonas y hospitalización previa), el tratamiento empírico debería incluir un carbapenémico, obviando el uso de quinolonas, penicilinas y cefalosporinas.

Así, se podría continuar analizando todos y cada uno de los tipos de infección, pero respecto al tratamiento empírico también conviene comentar otros aspectos, como su efecto en la aparición de resistencias. La política o forma de uso de los antibióticos constituye uno de los factores más influyentes y sobre ella se han hecho numerosas intervenciones en el hospital y en la comunidad (concienciar al médico de la relación antibiótico-resistencia, controlar la elección de los antibióticos mediante la diversificación o rotación, fomentar la educación sanitaria de los pacientes para que no demanden la prescripción de estos fármacos, etc.), aunque su impacto en el tiempo no es bien conocido.

En la actualidad se duda de que la restricción de antibióticos disminuya las resistencias bacterianas y propicie alcanzar y mantener un grado aceptable de las mismas. No obstante, la reducción en la administración de cefalosporinas de tercera generación parece haber disminuido en algunos estudios la prevalencia de enterococos resistentes a la vancomicina, aunque no siempre ha sido así. Algo más evidente es el efecto sobre los bacilos Gram negativos productores de BLEE, aunque los estudios que lo documentan corresponden a brotes locales y monoclonales, con poco poder estadístico y bajo control de la infección. Rahal JJ, *et al.* descendieron significativamente la colonización e infección de *Klebsiella* spp. resistente a ceftazidima (44% en el conjunto del hospital, $p < 0,01$ y 70,9% en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI), $p < 0,001$) con la restricción de cefalosporinas. De igual forma, en el estudio de Patterson, *et al.* el descenso en la utilización de ceftazidima se asoció con una bajada significativa de sus resistencias en *K. pneumoniae* del 22 al 15% ($p < 0,05$). Esta relación también ha sido puesta de manifiesto en nuestro país. Así, Peña, *et al.* lograron controlar un brote de *K. pneumoniae* productora de BLEE en un hospital de Barcelona, particularmente en las UCI, con la reducción progresiva del empleo de cefalosporinas. La relación entre el consumo de antibióticos y las resistencias bacterianas también se ha evidenciado en la comunidad. La resistencia de *S. pneumoniae* a la penicilina y a los macrólidos se ha asociado sobre todo con el

empleo de cefalosporinas y macrólidos; la producción de β -lactamasas de *H. influenzae* con el de β -lactámicos; y la de *E. coli* a las quinolonas con su propio uso.

Ante este panorama, la llegada de nuevos antibióticos, como linezolid, daptomicina y tigeciclina, siempre es bienvenida, pues supone una alternativa terapéutica más, a veces única, y permite diversificar el empleo de los antimicrobianos, pero no es la única solución a la multirresistencia. La selección de cepas resistentes será mínima si los antimicrobianos presentan una gran actividad *in vivo* en comparación con los fármacos antes disponibles y una farmacocinética apropiada, lo que permitirá alcanzar unos parámetros farmacodinámicos que predigan la erradicación bacteriana de los microorganismos problemáticos en la actualidad.

En conclusión, en esta era de multirresistencia bacteriana (co-resistencia en la misma bacteria y coselección de resistencias en distintos microorganismos), la antibioterapia empírica adecuada es un arma fundamental en la lucha contra las infecciones, ya que permite un inicio precoz del tratamiento que mejora el pronóstico. La elección del antibiótico debe obedecer a criterios microbiológicos, de sensibilidad, farmacocinéticos, farmacodinámicos y ecológicos. Pero además, resulta fundamental la diversificación de antibióticos para evitar la presión selectiva de un determinado agente, que conduce inexorablemente a la aparición de resistencias.

MÁS ALLÁ DE LAS LIMITACIONES ACTUALES: LAS APORTACIONES DE LA TIGECICLINA

El aumento de las resistencias microbianas y su generalización han puesto en jaque el tratamiento de algunas enfermedades infecciosas en pleno siglo XXI. En ocasiones es necesario recurrir a antibióticos de segunda línea, menos eficaces y seguros, que incrementan las tasas de morbilidad y mortalidad.

Las cepas de estafilococos resistentes a la meticilina sólo se pueden tratar en la mayoría de las ocasiones con glucopéptidos, linezolid o dalfopristina-quinupristina. Para los enterococos multiresistentes (penicilina, aminoglucósidos y glucopéptidos) no había tratamiento específico bien definido hasta la llegada del linezolid.

La situación no es muy diferente en los bacilos Gram negativos. Algunos no fermentadores de los géneros *Acinetobacter* y *Pseudomonas* son resistentes con relativa frecuencia a los fármacos de primera elección y es necesario acudir a alternativas, como las polimixinas, mucho menos eficaces y seguras. En las enterobacterias productoras de β -lactamas espectro extendido (BLEE) y resistentes a las fluorquinolonas y a los aminoglucósidos, los carbapenémicos son la única opción terapéutica. Pero la situación podría llegar ser dramática si la producción de carbapenemasas se extendiese por el uso indiscriminado de este tipo de antibióticos.

Por tanto, la llegada de nuevos antibióticos activos frente a estos microorganismos multiresistentes es una necesidad y supone una válvula de escape en la situación actual. Lamentablemente, la "era de oro" de los antibióticos parece pasada, ya que la investigación en antimicrobianos no es en estos momentos una de las prioridades de la industria farmacéutica. Las novedades en la terapia antibacteriana han sido muy escasas en los últimos años, aunque parece que la situación se está animando.

Una de estas deseadas novedades es la tigeciclina, primer representante de una nueva clase de antibióticos denomi-

nados "gliciliclinas" (análogos de las tetraciclinas), cuyo uso ya ha sido recientemente aprobado por la Food and Drug Administration (FDA).

La tigeciclina es un derivado semisintético de la minociclina obtenido mediante la adición de un radical butilglicilamido en el carbono 1 del anillo D. Su mecanismo de acción es, por tanto, similar al de las tetraciclinas, es decir, inhibe la síntesis proteica a través de su unión a la fracción 30S del ribosoma. Sin embargo, esta especial estructura molecular ha permitido recuperar la actividad antibacteriana perdida por las tetraciclinas al superar los dos principales mecanismos de resistencia que le afectan: bombas de flujo, frecuentes en enterobacterias, *Acinetobacter* y estafilococos, y la protección ribosomal, comunes en cocos Gram positivos. Además, hace que la afinidad de la tigeciclina por el ribosoma resulte cinco veces mayor que la minociclina y la tetraciclina.

La tigeciclina es un antibiótico de amplio espectro que incluye cocos Gram positivos, bacilos Gram negativos y anaerobios, entre los que se encuentran la mayoría de los microorganismos multiresistentes más problemáticos en la actualidad. Los géneros *Streptococcus* (sensible y resistente a la penicilina), *Staphylococcus* (sensible y resistente a la meticilina) y *Enterococcus* (sensible y resistente a la vancomicina) son inhibidos en su mayoría con una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 0,06 a 0,25 mg/l. El rango de CMI para *Escherichia coli* es de 0,12 a 0,25 mg/l y de 0,5-1 mg/l para *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Citrobacter*, de las que menos del 2% tienen una CMI > 2 mg/l. La mayor parte de las cepas de *Acinetobacter* spp., *Stenotrophomonas maltophilia* y *Bacteroides* spp. son inhibidas con CMI de 0,5-2 mg/l, 0,25-8 mg/l y 1-8 mg/l, respectivamente. Sin embargo, la tigeciclina permanece vulnerable a la acción de las bombas de flujo de *Proteus* spp. y *Pseudomonas aeruginosa*. Los puntos de corte establecidos por la FDA son: $\leq 0,25$ mg/l para *Streptococcus* spp., $\leq 0,5$ mg/l para *Staphylococcus*, ≤ 2 mg/l para enterobacterias y ≤ 4 mg/l para anaerobios.

La tigeciclina se comporta *in vitro* como bacteriostático frente a la mayoría de los microorganismos, aunque sobre *S. pneumoniae* tiene un efecto bactericida. *In vivo* es posible que actúe como bactericida por las altas concentraciones que alcanza en los tejidos, el tiempo que su concentración se encuentra por encima de la CMI de los patógenos sobre los que

es activa y el prolongado efecto postantibiótico que posee (casi 9 h para *S. pneumoniae* y unas 5 h para *E. coli*).

La tigeciclina sólo se puede administrar por vía intravenosa (i.v.) recomendándose una dosis de carga de 100 mg, seguida de 50 mg/12 h. Su vida media es de 36 h y pasa rápidamente y en gran medida de la sangre a los tejidos ($V_d > 10$ l/kg), de tal forma que su $C_{m\acute{a}x}$ sérica es de 0,91 mg/l después de la administración durante 1 h de 100 mg/l y de 0,69 mg/l después de administrar 50 mg/12 h durante 10 días, lo que puede condicionar el tratamiento de bacteriemias y ser un efecto beneficioso para el tratamiento de infecciones de otras localizaciones. Su unión a proteínas plasmáticas es del 68% y la eliminación se realiza fundamentalmente por vía biliar de forma activa (59%) y en menor medida por la orina (33%), por lo que su administración no precisa ser ajustada en caso de insuficiencia renal.

Hasta ahora la experiencia clínica publicada con la tigeciclina se circunscribe a la infección intraabdominal complicada y a la infección de piel y tejidos blandos complicada, aunque están en marcha ensayos clínicos en otras infecciones (neumonía adquirida en la comunidad, neumonía nosocomial, etc.). En un estudio multicéntrico, aleatorizado y no comparativo en fase II en infecciones de piel y tejidos blandos, la eficacia clínica mostrada por la tigeciclina fue del 74%. En dos estudios en fase III, doble ciego en infecciones de piel y partes blandas complicadas con más de 500 pacientes, la tigeciclina (50 mg/12 h, i.v.) en monoterapia se ha mostrado tan eficaz y bien tolerada como la asociación de vancomicina (1 g/12 h, i.v.) y aztreonam (2 g/12 h, i.v.). Algo parecido sucede en la infección intraabdominal complicada. En un ensayo en fase III, comparativo y doble ciego con más de 800 pacientes, más del 50% con apendicitis complicadas, la eficacia de la tigeciclina (50 mg/12 h, i.v.) fue similar a la del imipenem citostático (500 mg/6 h, i.v.). Los efectos adversos más frecuentemente observados en estos estudios clínicos han sido las náuseas y los vómitos, que oscilan entre el 24 y el 34%. No obstante, su intensidad fue leve ya que sólo fue necesario interrumpir el tratamiento en menos del 1,5% de los casos.

De esta experiencia clínica se deduce que la tigeciclina es un fármaco de gran utilidad para el tratamiento de las infec-

ciones complicadas de piel y tejidos blandos, así como para las infecciones complicadas intraabdominales. En las primeras, en las que es habitual la participación de cocos Gram positivos, bacilos Gram negativos y anaerobios, la tigeciclina estaría especialmente indicada de forma empírica cuando la prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a la metililina (SARM) y enterobacterias productoras de BLEE fuera significativa, como puede suceder en la infección de la herida quirúrgica. Otras patologías podrían ser las infecciones mixtas, como las de los pies de los diabéticos y las fascitis necrotizantes.

En las infecciones intraabdominales no suele ser frecuente SARM, pero sí las enterobacterias y los anaerobios. Constituiría una alternativa a los carbapenémicos para rebajar su presión selectiva y reducir el riesgo de resistencias. También supone otra posibilidad para el tratamiento de los enterococos resistentes a la vancomicina.

La peritonitis por SARM en pacientes sometidos a diálisis peritoneal podría ser una futura indicación para la tigeciclina, y por supuesto infecciones por microorganismos sensibles a la tigeciclina en pacientes con alergia o intolerancia a β -lactámicos y fluorquinolonas.

Otras indicaciones potenciales de la tigeciclina sería la neumonía tanto comunitaria, al cubrir patógenos intracelulares, como nosocomiales donde los patógenos multirresistentes son un serio problema, por ejemplo la producida por *Acinetobacter baumannii* multirresistente, donde la colistina constituye a veces la única opción terapéutica.

Aunque falta mucho camino por recorrer con este antibiótico (otras infecciones: neumonía, endocarditis, osteomielitis, etc.; comportamiento en pacientes neutropénicos; seguridad en niños y en embarazadas; etc.), la tigeciclina, por su amplísimo espectro, que incluye casi todos los microorganismos multirresistentes problemáticos en estos momentos, potencialmente constituye el único antibiótico de uso empírico seguro para el tratamiento de infecciones mixtas o polimicrobianas con riesgo de que aquéllos puedan estar presentes, con la excepción de *P. aeruginosa* y *Proteus* spp.

Bibliografía

- A Blanco Quirós. Neumonías neumocócicas en el niño. *An Pediatr (Barc)* 2003; Monog.1(2):1-2.<http://db.doyma.es/cgi-bin/wdbcgi.exe?doyma/mrevista.fulltext?pidet=13054929> - 53k -
- Ahmad M, Urban C, Mariano N, Bradford PA, Calcagni E, Projan SJ, et al. Clinical characteristics and molecular epidemiology associated with imipenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Clin Infect Dis*. 1999; 29: 352-5.
- Alós JI, Carnicero M. Consumo de antibióticos y resistencias bacterianas a los antibióticos: "algo que te concierne". *Med Clin*. 1997; 109: 264-70.
- Álvarez M, Tran JH, Chow N, Jacoby GA. Epidemiology of conjugative plasmid-mediated AmpC beta-lactamases in the United States. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004; 48: 533-7.
- Álvarez-Lerma F. Modification of empiric antibiotic treatment in patients with pneumonia acquired in the intensive care unit: ICU-Acquired Pneumonia Study Group. *Intensive Care Med*. 1996; 22: 387-94.
- Andreu A, Alós JI, Gobernado M, Marco F, De la Rosa M, García-Rodríguez JA, et al. Etiología y sensibilidad a los antimicrobianos de los uropatógenos causantes de la infección urinaria baja adquirida en la comunidad. Estudio nacional multicéntrico. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2005; 23: 4-9.
- ankey GA, Sabath LD. Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal mechanisms of action in the treatment of Gram-positive bacterial infections. *Clin Infect Dis*. 2004; 38: 864-70.
- Appleton A. Bacterial Resistance. A worldwide problem. *Clin Lab Intern*. 2001; 25 (4): 22-3.
- Aracil B, Gómez Garcés JL, Alós JI, Grupo de Estudio de Infección en Atención Primaria de la SEIMC. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003; 21: 131-6.
- Ardanuy Tisaire C. B-lactamasas plasmídicas de espectro ampliado. Servicio de Microbiología. Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge. Control de Calidad de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología clínica (SEIMC).
- Ariza J, Pujol M, Cabo J, Peña C, Fernández N, Linares J, et al. Vancomycin in surgical infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with heterogeneous resistance to vancomycin. *Lancet*. 1999; 353: 1587-8.
- Baquero F, García-Rodríguez JA, García de Lomas J, Aguilar L, and the Spanish surveillance group for respiratory pathogens. Antimicrobial resistance of 1.113 *Streptococcus pneumoniae* isolates from patients with respiratory tract infections in Spain: results of a 1-year (1996-1997) multicenter surveillance study. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999; 43 (2): 357-9.
- Baquero F. Pneumococcal resistance to b-lactam antibiotics: A global geographic overview. *Microb Drug Resist*. 1995; 1: 115-20.
- Bergeron J, Ammirati M, Danley D, et al. Glycylcyclines bind to the high-affinity tetracycline ribosomal binding site and evade Tet(M)- and Tet(O)-mediated ribosomal protection. *Antimicrob Agents Chemother*. 1996; 40: 2226-8.
- Bergogne-Bérézin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogen: Microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev*. 1996; 9: 148-65.
- Bermejo B, García de Jalón J, Insausti J. Vigilancia y control de las infecciones nosocomiales: EPINE, VICONOS, PRE-VINE, ENVIN-UCI ANALES. *Sis San Navarra*. 2000; 23 (Supl. 2): 37-47.
- Betriu C, Rodríguez-Avial I, Sánchez BA, Gómez M, Álvarez J, Picazo JJ, Spanish Group of Tigecycline. In Vitro Activities of Tigecycline (GAR-936) against Recently Isolated Clinical Bacteria in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002; 46: 892-95.
- Bouza E, García-Garrote F, Cercenado E, et al. *Pseudomonas aeruginosa*: a survey of resistance in 136 hospitals in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999; 43: 981-2.
- Bouza E, García-Garrote F, Cercenado E, et al. *Pseudomonas aeruginosa*: a survey of resistance in 136 hospitals in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999; 43: 981-2.
- Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev*. 2001; 14: 933-51.
- Bradley SJ, Wilson AL, Allen MC, Sher HA, Goldstone AH, Scott GM. The control of hyperendemic glycopeptide-resistant *Enterococcus* spp. on a haematology unit by changing antibiotic usage. *J Antimicrob Chemother*. 1999; 43: 261-6.
- Breedt J, Teras J, Gardovskis J, et al. Safety and efficacy of tigecycline in treatment of skin and skin structure infections: results of a double-blind phase 3 comparison study with vancomycin-aztreonam. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49: 4658-66.
- Campos J, Baquero F. Resistencia a antibióticos: ¿qué hacer ahora? *Med Clin (Barc)*. 2002; 119: 656-8.
- Cantón R, Loza E, Morosini MI, Baquero. Antimicrobial resistance among isolates of *Streptococcus pyogenes* and *S. aureus* in the PROTEK antimicrobial surveillance programme during 1999-2000. *J Antimicrob Chemother*. 2002; 50 (Suppl S1): 9-24.
- Cantón R. Puntos de corte microbiológicos y farmacodinámicos en el diseño de regímenes terapéuticos. *Rev Esp Quimioterap*. 2005; 18 (1): 72-3.
- CDC campaign to prevent antimicrobial resistance in health care settings. <http://www.cdc.gov/drugresistance/healthcare/default.htm>.
- Cercenado E, Sánchez Carrillo C, Alcalá L, Bouza E. Situación actual de la resistencia de *Staphylococcus* en España. Cuarto estudio nacional. *Rev Clin Esp*. 1997; 197 (Supl. 2): 12-8.
- Chopra I. Genetic and biochemical basis of tetracycline resistance. *J Antimicrob Chemother*. 1986; 18 (Suppl. C): 51-6.
- Cisterna R, Ibarra K, Morla A, Basaras M, Cisterna C, Herrerías A, et al. Estudio multicéntrico de resistencias en enterococos. Papel de la teicoplanina. *Rev Esp Quimioter*. 1999; 12: 3.
- Cisterna R. Cáncer. Resistencia bacteriana. Cap 3 Antimicrobianos en medicina.
- Consenso sobre tratamiento antibiótico empírico inicial de la neumonía adquirida en la comunidad en el paciente adulto inmunocompetente. *Rev Esp Quimioterap*. 2003; 16: 457-66.
- Cosgrove SE, Carmeli Y. The impact of antimicrobial resistance on health and economic outcomes. *Clin Infect Dis*. 2003; 36: 1433-7.
- Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. Comparison of Mortality Associated with Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Bacteremia: A Meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2003; 36: 53-9.
- Cruchaga S, Echeita E, Aladueña A, García Peña J, Frías N, Usera MA. Antimicrobial resistance in *Salmonella* from humans, food and animals in Spain in 1998. *J Antimicrob Chemother*. 2001; 47: 315-21.
- Cuevas O, Cercenado E, Vindel A, Guinea J, Sánchez-Conde M, Sánchez-Somolinos M, et al. Evolution of the Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus* spp. In Spain: Five Nationwide Prevalence Studies, 1986 to 2002. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004; 48: 240-5.
- David M. Livermore Tigecycline: what is it, and where should it be used? *J Antimicrob Chemother*. 2005; 56: 611-4.
- De la Cal MA, Cerda E, Van Saene HK, García-Hierro P, Negro E, Parra ML, et al. Effectiveness and safety of enteral vancomycin to control endemicity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a medical/surgical intensive care unit. *J Hosp Infect*. 2004; 56: 175-83.
- Dean CR, Visalli MA, Projan SJ, et al. Efflux-mediated resistance to tigecycline (GAR-936) in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003; 47: 972-8.
- Deresinski S. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: An evolutionary epidemiologic, and therapeutic odyssey. *Clin Infect Dis*. 2005; 40: 562-73.
- Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, Smayevsky J, Bell J, Jones RN, et al. Survey of Infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific Region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin Infect Dis*. 2001; 32 (Suppl2): S114-32.
- Dirección General de Aseguramiento y Planificación Sanitaria. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias, Ministerio de Sanidad y Consumo. Informe sobre resistencia microbiana. ¿Qué hacer? *Med Clin (Barc)*. 1995; 106: 267-79.
- Domínguez M, Borraz C, González M, Rodríguez Baño J, Martín R, Almirante B, et al. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in a Spanish multicenter study. 45th (OJO, superindice) International Conference on Antimicrobial Agents Chemotherapy. Washington DC. 2005. Abstract C2-290C.
- Dunne EF, Fey PD, Kludt P, et al. Emergence of domestically acquired ceftriaxone-resistant *Salmonella* infections associated with AmpC beta-lactamase. *JAMA*. 2000; 284: 3151-6.
- E. Iáñez. cap 21. Resistencia Bacteriana a los Antibióticos. Curso de Microbiología General. http://fai.unne.edu.ar/biologia/microgeneral/micro-ianez/21_micro.htm
- E. Pérez-Trallero y L. Iglesias. Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003;21(9):520-9.
- Eña J, López-Perezagua MM, Martínez Peinado C, Cía Barrio MA, Ruiz López I. Emergence of ciprofloxacin resistance in *Escherichia coli* isolates after widespread use of fluoroquinolones. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1998; 30: 103-7.
- Espinal MA, Laszlo A, Simonsen L, Boulahbal F, Kim SJ, Reniero A, et al. Global trends in resistance to antituberculosis drugs. *N Engl J Med*. 2001; 344: 1294-303.
- Evans ME, Feola DJ, Rapp RP. Polymyxin B sulfate and colistin: old antibiotics for emerging multidrug-resistant Gram-negative bacteria. *Ann Pharmacother*. 1999; 33: 960-7.
- F. Soriano. Selección de bacterias resistentes a los antibióticos: factores microbiológicos y farmacológicos. *Med Clínica* 2001. Vol 117 - No 16 p. 632 - 636. <http://db.doyma.es/cgi-bin/wdbcgi.exe/doyma/mrevista.fulltext?pidet=13021465>
- Felmingham D, Gruneberg RN, the Alexander Project Group. A multicentre collaborative study of the antimicrobial susceptibility of the community-acquired, lower respiratory tract pathogens 1992-1993: The Alexander Project. *J Antimicrob Chemother*. 1996; 38 (Suppl. A): 11-57.
- Fernández Roblas R. Puntos de corte farmacodinámicos en el diseño de regímenes terapéuticos. *Rev Esp Quimioterap* Marzo 2005, vol 18(1):74-76. <http://www.seq.es/seq/0214-3429/18/1/74.pdf>
- Fernández-Cuenca F, Pascual A, Ribera A, Vila J, Bou G, Cisneros JM, et al. Diversidad clonal y sensibilidad a los antimicrobianos de *Acinetobacter baumannii* aislados en hospitales españoles. Estudio multicéntrico nacional: proyecto GEIH-Ab 2000. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004; 22: 267-71.
- Fey PD, Safranek TJ, Rupp ME, et al. Ceftriaxone-resistant *Salmonella* infection acquired by a child from cattle. *N Engl J Med*. 2000; 342: 1242-9.
- Fluit AC, Florijn A, Verhoef J, et al. Presence of tetracycline resistance determinants and susceptibility to tigecycline and minocycline. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49: 1636-8.
- Fluit AC, Jones ME, Schmitz FJ, Acar J, Gupta R, Verhoef J. Antimicrobial resistance among urinary tract infections (UTI) isolates in Europe: results from the SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997. *Antonie van Leeuwenhoek*. 2000; 77: 147-52.
- Fluit AC, Wielders CLC, Verhoef J, Schmitz FJ. Epidemiology and susceptibility of 3,051 *Staphylococcus aureus* isolates from 25 university hospitals participating in the Europe SENTRY study. *J Clin Microbiol*. 2001; 39: 3727-32.
- Fomin P, Beuran M, Gradauskas A, et al. Tigecycline is efficacious in the treatment of complicated intra-abdominal infections. *Int J Surg*. 2005; 3: 35-47.

- Fridkin SK, Hageman JC, Morrison M, Sanza LT, Como-Sabetti K, Jeringan JA, et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Disease in Three Communities. *N Engl J Med.* 2005; 352: 1436-44.
- Friedman ND, Kaye KS, Scout JE, McGarry SA, Trivette SL, Briggs JP, et al. Health care-associated bloodstream infections in adults: a reason to change the accepted definition of community-acquired infections. *Ann Intern Med.* 2002; 137: 791-7.
- Fritsche TR, Kirby JT, Jones RN. In vitro activity of tigecycline (GAR-936) tested against 11,859 recent clinical isolates associated with community-acquired respiratory tract and Gram-positive cutaneous infections. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004; 49: 201-9.
- García de Lomas, grupo español para vigilancia de patógenos respiratorios. Situación epidemiológica actual y resistencia de los patógenos respiratorios en España. *Med Clin (Barc).* 1998; 110 (Supl. 1): 44-51.
- García Sánchez JE, Fresnadillo MJ, García García MI, Muñoz Bellido JL. Resistencia a los antimicrobianos que no inhiben la síntesis de la pared celular. En: Tratamiento antimicrobiano. Madrid: Emisa; 1997. p. 35-50.
- García-Rodríguez JA, García Sánchez E. El resurgimiento de los grampositivos: razones, significado clínico y posibilidades de control. Monográfico; 1997: 197 2: 3-11.
- García-Rodríguez JA, Gomis M, González J, et al. (Grupo URANO). Cumplimiento e incumplimiento terapéutico en el tratamiento antibiótico. Barcelona: Doyma; 1997.
- Gaynes R. Health care-associated bloodstream infections: a change in thinking. *Ann Intern Med.* 2002; 137: 850-1.
- Gobernado M. Resistencia en *Staphylococcus aureus*. Ahora a la vancomicina. *Rev Esp Quimioterap.* 2002; 15 (3): 211-4.
- Gold HS. Vancomycin-Resistant Enterococci: Mechanisms and Clinical Observations. *Clin Infect Dis.* 2001; 33: 210-39.
- Gómez J, Ruiz Gómez J, Hernández Cardona JL, Núñez ML, Canteras M, Valdés M. Antibiotic resistance patterns of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis*: a prospective study in Murcia, Spain, 1983-1992. *Chemotherapy.* 1994; 40: 299-303.
- González J, Ripoll MA, Prieto J. Automedicación con antibióticos. *Med Clin (Barc).* 1998; 111: 182-6.
- Granizo JJ, Aguilar L, Casal J, García-Rey C, Dal-Ré R, Baquero F. *Streptococcus pneumoniae* resistance to erythromycin and penicillin in relation to macrolide and betalactam consumption in Spain. *J Antimicrob Chemother.* 2000; 46: 767-73.
- Guay DR. Oritavancin and tigecycline: investigational antimicrobials for multidrug-resistant bacteria. *Pharmacotherapy.* 2004; 24: 58-68.
- Guidelines for the Management of Adults with Hospital-acquired, Ventilator-associated, and Healthcare-associated Pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 171: 388-416.
- Gunn BA, Woodall JB, Jones JF, Thornsberry C. Ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*. *Lancet.* 1974; 2: 845.
- Heffelfinger JD, Dowell SF, Jorgensen JH, Klugman KP, Mabry LR, Musher DM, et al. Management of community-acquired pneumonia in the era of pneumococcal resistance: a report from the Drug-Resistant *Streptococcus pneumoniae* Therapeutic Working Group. *Arch Intern Med.* 2000; 160: 1399-408.
- Henwood CJ, Gatward T, Warner M, et al. Antibiotic resistance among clinical isolates of *Acinetobacter* in the United Kingdom and in-vitro evaluation of tigecycline (GAR-936). *J Antimicrob Chemother.* 2002; 49: 479-87.
- Hernández JR, Pascual A, Cantón R, Martínez-Martínez L, Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria (GEIH). *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, productores de betalactamasas de espectro extendido en hospitales españoles (Proyecto GEIH-BLEE 2000). *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2003; 21: 77-82.
- Hilev Larrondo Muguercia. Amoxicilina/sulbactam. Alternativa terapéutica en las infecciones respiratorias extrahospitalarias. *Acta Médica.* 2000; 9 (1-2): 96-100.
- Hiramatsu K, Hanaki H, Iino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother.* 1997; 40: 135-6.
- Holmberg SD, Solomon SL, Blake PA. Health and economic impacts of antimicrobial resistance. *Rev Infect Dis.* 1987; 9: 1065-78.
- http://www.bvs.sld.cu/revistas/act/vol8_1_98/act08198.pdf
- Hyde TB, Gay K, Stephens DS, et al. Macrolide resistance among invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates. *JAMA.* 2001; 286: 1857-62.
- ICAAC: resumen científico2000.40th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. <http://www.microbisome.com/resumenes/resumenes2000.htm#13>
- J. Barberán. Farmacodinamia como predictor de eficacia: la visión del clínico. *Rev Esp Quimioterap* Marzo 2005, vol 18(1)63-64. www.seq.es/seq/0214-3429/18/suppl1/59.pdf <http://www.seq.es/seq/pdf/actividades/ponenciaFarmacodinamica.pdf>
- J.A. García Rodríguez, R. Cantón, J.E. García Sánchez, M.L. Gómez-Lus, L. Martínez Martínez, C. Rodríguez-Avial, J. Vila 11. Métodos Básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos 2000 Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica <http://www.seimc.org/protocolos/microbiologia/cap11.htm>
- J.A. García Rodríguez, R. Cantón, J.E. García Sánchez, M.L. Gómez-Lus, L. Martínez Martínez, C. Rodríguez-Avial, J. Vila 12. Métodos Básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos 2001 Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica <http://www.seimc.org/protocolos/microbiologia/cap12.htm>
- J.M. Tellado, A. Sitges-Serra, F. Barcenilla, M. Palomar, J. Serrano, J. Barberán, et al. Pautas de tratamiento antibiótico empírico de las infecciones intraabdominales. *Rev Esp Quimioterap*, Junio 2005; Vol.18 (Nº 2): 179-186. 2005. www.seq.es/seq/0214-3429/18/2/179.pdf
- Jacobs MR. How can we predict bacterial eradication? *Int J Infect Dis.* 2003; 7: S13-20.
- Jacobus NV, McDermott LA, Ruthazer R, et al. In vitro activities of tigecycline against the *Bacteroides fragilis* group. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48: 1034-6.
- Jacoby GA, Muñoz-Price LS. The New β -Lactamases. *New Engl J Med.* 2005; 352: 380-91.
- Jiménez-Mejías ME, Pachón J, Becerril B, Palomino-Nicas J, Rodríguez-Cobacho A, Revuelta M. Treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* meningitis with ampicillin/sulbactam. *Clin Infect Dis.* 1997; 4: 932-5.
- Jones ME, Karlowsky JA, Blosser-Middleton R, et al. Apparent plateau in beta-lactamase production among clinical isolates of *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* in the United States: results from the LIBRA Surveillance initiative. *Int J Antimicrob Agents.* 2002; 19: 119-23.
- Kollef MH, Ward S. The influence of mini-BAL cultures on patient outcomes: implications for the antibiotic management of ventilator associated pneumonia. *Chest.* 1998; 113: 412-20.
- L. Aguilar, M.J. Giménez, J. Casal y J. Prieto. Farmacodinamia de los betalactámicos y su modificación por el sistema inmunitario. *Rev Esp Quimioterap* Marzo 2005, vol 18(1)80-82. www.seq.es/seq/0214-3429/18/1/80.pdf
- L. Cordiés Jackson, L.A. Machado Reyes Y M. L. Hamilton Cordiés. Quinolonas y terapia antimicrobiana. *Acta Médica* 1998;8(1):58-65.
- L. Torroba1, M. Rivero, I. Otermin, A. Gil, A. Iruin, E. Maravi-Poma, J.J. García Irure. Resistencia antimicrobiana y política de antibióticos: MRSA, GISA y VRE - <http://www.cfnavarras.es/salud/anales/textos/vol23/suple2/suple2a.html>
- Levin AS, Barone AA, Penco J, et al. Intravenous colistin as therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis.* 1999; 28: 1008-11.
- Levin BR. Minimizing potential resistance: a population dynamics view. *Clin Infect Dis.* 2001; 33 (Suppl. 3): 161-9.
- Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, et al. Involvement of Pantón-Valentine Leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis.* 1999; 29: 1128-32.
- Livermore DM. Minimising antibiotic resistance. *Lancet Infect Dis.* 2005; 5: 450-9.
- Livermore DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*, our worst nightmare? *Clin Infect Dis.* 2002; 34: 634-40.
- Livermore DM. Tigecycline: what is it, and where should it be used? *J Antimicrobial Chemotherapy.* 2005; 56: 611-4.
- López García R. Bacteriófagos: de la Biología Molecular a su uso terapéutico. Conferencia 3/11/2004. en la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España. http://www.racve.es/muestra_actividad.php?id=447
- Luna CM, Vujacich P, Niederman MS, et al. Impact of BAL data on the therapy and outcome of ventilator-associated pneumonia. *Chest.* 1997; 111: 676-85.
- M. Vilar, T. Carbonell y E. Pérez-Payá. Química combinatoria en biomedicina: una nueva estrategia en el desarrollo de antibióticos. *Rev Esp de Quimioterapia.* 1998; Vol. 11, No.4 http://www.seq.es/seq/html/revista_seq/0498/edit1.html
- M.J. Giménez y L. Aguilar. De la promesa *in vitro* al compromiso *in vivo*. Desarrollo de antibióticos para infecciones respiratorias en la comunidad. En MECA Mejora de la Calidad de los Antimicrobianos. Recomendaciones de la SEQ. *Ars Médica* 2006. ISBN: 84-9751-194-8.
- Mandell LA, Bartlett JG, Dowell SF, File TM Jr, Musher DM, Whitney C. Update of Practice Guidelines for the Management of Community-Acquired Pneumonia in Immunocompetent Adults. *Clin Infect Dis.* 2003; 37: 1405-33.
- Marco F, Bouza E, García de Lomas J, Aguilar L, and the Spanish surveillance group for respiratory pathogens. *Streptococcus pneumoniae* in community-acquired respiratory tract infections in Spain: the impact of serotype and geographical, seasonal and clinical factors on its susceptibility to the most commonly prescribed antibiotics. *J Antimicrob Chemother.* 2000; 46: 557-64.
- Marco F, García de Lomas J, García-Rey C, et al. Antimicrobial susceptibilities of 1,730 *Haemophilus influenzae* respiratory tract isolates in Spain in 1998-1999. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 45: 3226-8.
- Meyer KS, Urban C, Eagan JA, Berger BJ, Rahal JJ. Nosocomial outbreak of *Klebsiella* infections resistant to late-generation cephalosporins. *Ann Intern Med.* 1993; 119: 353-8.
- Milatovic D, Schmitz FJ, Verhoef J, et al. Activities of the glycolglycylone tigecycline (GAR-936) against 1,924 recent European clinical bacterial isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47: 400-4.
- Mølbak K, Baggesen DL, Aarestrup FM, et al. An outbreak of multidrug-resistant, quinolone-resistant *Salmonella enterica* serotype *typhimurium* DT104. *N Engl J Med.* 1999; 341: 1420-5.
- Morfin OR, Donis HJ, Arredondo JL, Soriano D, et al. Infecciones nosocomiales por bacterias grampositivas multirresistentes: La actividad de nuevos antimicrobianos. *Enferm Infecc Microbiol.* 2002; 22 (2): 55-61.
- Munckhof WJ, Kleinschmidt SL, Turnidge JD. Resistance development in community-acquired strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an in vitro study. *Int J Antimicrob Agents.* 2004; 24: 605-8.
- Muralidharan G, Micalizzi M, Speth J, et al. Pharmacokinetics of tigecycline after single and multiple doses in healthy subjects. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005; 49: 220-9.
- Murphy TM, Deitz JM, Petersen PJ, et al. Therapeutic efficacy of GAR-936, a novel glycolglycylone, in a rat model of experimental endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44: 3022-7.
- Murray J, Wilson S, Klein S, Yellin A, Loh E. The clinical response to tigecycline in the treatment of complicated intra-abdominal infections in hospitalized patients, a phase 2 clinical trial [abstract L-739]. In: Program and abstracts of the 43rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (Chicago). Washington, DC: American Society for Microbiology; 2003. p. 416.
- Mutnick AH, Biedenbach DJ, Jones RN. Geographic variations and trends in antimicrobial resistance among *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* in the SENTRY antimicrobial surveillance program (1997-2000). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2003; 46: 63-8.
- Nathwani D. Tigecycline: clinical evidence and formulary positioning. *Int J Antimicrob Agents.* 2005; 25: 185-92.
- National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control.* 2004; Special article: 470-85.
- Navarro F. Mecanismos de resistencia a glucopéptidos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 1996; 14: 317-23.

- Noskin GA. Tigecycline: A New Glycylcycline for Treatment of Serious Infections. *Clin Infect Dis*. 2005; 41: S313-4.
- Okeke IN, Laxminarayan R, Bhutta ZA, Duse AG, Jenkins P, O'Brien TF, et al. Antimicrobial resistance in developing countries. Part I: recent trends and current status. *Lancet Infect Dis*. 2005; 5: 481-93.
- Olivia ME, Rekha A, Yellin A, et al. A multicenter trial of the efficacy and safety of tigecycline versus imipenem/cilastatin in patients with complicated intra-abdominal infections [Study ID Numbers: 3074A1-301-VWV; ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00081744]. *BMC Infect Dis*. 2005; 5: 88.
- Oteo J, Edurne Lázaro E, De Abajo FJ, Baquero F, Campos J, Spanish Members of the European Antimicrobial Resistance Surveillance System. Trends in antimicrobial resistance in 1,968 invasive *Streptococcus pneumoniae* strains isolated in Spanish hospitals (2001 to 2003): decreasing penicillin resistance in children's isolates. *J Clin Microbiol*. 2004; 42: 5571-7.
- Oteo J, Lázaro E, De Abajo FJ, Baquero F, Campos J, Spanish members of EARSS. Antimicrobial-resistant invasive *Escherichia coli*, Spain. *Emerg Infect Dis*. 2005; 11: 546-53.
- Pachón-Ibáñez ME, Jiménez-Mejías ME, Pichardo C, et al. Activity of tigecycline (GAR-936) against *Acinetobacter baumannii* strains, including those resistant to imipenem. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004; 48: 4479-81.
- Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, Casellas JM, Mulazimoglu L, Klugman KP, et al. Outcome of Cephalosporin Treatment for Serious Infections Due to Apparently Susceptible Organisms Producing Extended-Spectrum β -Lactamases: Implications for the Clinical Microbiology Laboratory. *J Clin Microbiol*. 2001; 39: 2206-12.
- Paterson DL, Mulazimoglu L, Casellas JM, Ko WC, Goossens H, Von Gottberg A, et al. Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum β -lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bacteremia. *Clin Infect Dis*. 2000; 30: 473-8.
- Patterson JE, Hardin TC, Kelly CA, García RC, Jorgensen JH. Association of antibiotic utilization measures and control of multiple-drug resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2000; 21 (7): 455-8.
- Peña C, Pujol M, Ardanuy C, Ricard A, Pallarés R, Liñares J, et al. Epidemiology and successful control of a large outbreak due to *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 53-8.
- Perea EJ, García MC, Clavijo MJ, Piédrola G, Campos J, García-Rodríguez JA, et al. Resistencias en *Haemophilus influenzae* en España. Segundo estudio (1990). *Enf Infecc y Microbiol Clin*. 1993; 11: 19-28.
- Pérez B. Resistencias bacterianas asociadas al uso de antibióticos. - <http://www.consumaseguridad.com/web/es/investigacion/2003/07/02/7180.php>
- Pérez-Trallero E, García de la Fuente C, García Rey C, Baquero F, Aguilar L, Dal Ré R, et al. Geographical and Ecological Analysis of Resistance, Coresistance, and Coupled Resistance to Antimicrobials in Respiratory Pathogenic Bacteria in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49: 1965-72.
- Pérez-Trallero E, García-Arenzana J, Ansa Castañeda A, Paísán Grisolia L. Unusual multiresistant *Staphylococcus aureus* in a newborn nurse. *Am J Dis Child*. 1981; 135: 689-92.
- Petersen PJ, Jacobus NV, Weiss WJ, et al. In vitro and in vivo antibacterial activities of a novel glycylcycline, the 9-t-butylglycylamido derivative of minocycline (GAR-936). *Antimicrob Agents Chemother*. 1999; 43: 738-44.
- Philippou A, Arlet G, Lagrange PH. Origin and impact of plasmid-mediated extended-spectrum β -lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1994; 13 (Suppl. 1): S17-29.
- Picazo JJ, Bietri C, Rodríguez-Avial I, Azahares E, Sánchez BA, Grupo VIRA. Vigilancia de resistencias a los antimicrobianos: estudio VIRA. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2002; 20: 503-10.
- Picazo JJ. Estrategia terapéutica actual en Keywords. Actualización sobre las infecciones en la población geriátrica. Congreso de la Federación de Sociedades Europeas de Quimioterapia e Infección. Paris: Adalia Farma; 2005. DL: M-33328.
- Postier RG, Green SL, Klein SR, et al. Results of a multicenter, randomized, open-label efficacy and safety study of two doses of tigecycline for complicated skin and skin-structure infections in hospitalized patients. *Clin Ther*. 2004; 26: 704-14.
- Prats G, Mirelis B, Miró E, Navarro F, Llovet T, Johnson JR, et al. Cephalosporin-resistant *Escherichia coli* among summer camp attendees with salmonellosis. *Emerg Infect Dis*. 2003; 9: 1273-80.
- Rahal JJ, Urban C, Segal-Maurer S, Maurer J, et al. Class restriction of cephalosporin use to control total cephalosporin resistance in nosocomial *Klebsiella*. *JAMA*. 1998; 280: 1233-7.
- Rahal JJ, Urban C, Segal-Maurer S. Nosocomial antibiotic resistance in multiple gramnegative species: experience at one hospital with squeezing the resistance balloon at multiple sites. *Clin Infect Dis*. 2002; 34: 499-503.
- Rello J, Gallego M, Mariscal D, Soñora R, Valles J. The value of routine microbial investigation in ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997; 156: 196-200.
- Resistencia bacteriana de los gérmenes hospitalarios. www.encolombia.com/medicina/infectologia/suplepana5102-parametros1htm-17k.
- Reynolds R, Potz N, Colman M, et al. Antimicrobial susceptibility of the pathogens of bacteraemia in the UK and Ireland 2001-2002: the BSAC Bacteraemia Resistance Surveillance Programme. *J Antimicrob Chemother*. 2004; 53: 1018-32.
- Rice LB, Eckstein EC, DeVente J, Shlaes DM. Ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates recovered at the Cleveland Department of Veterans Affairs Medical Center. *Clin Infect Dis*. 1996; 23: 118-24.
- Ripoll MA, Orero A, Prieto J, en representación del Grupo URANO. Etiología y tratamiento de elección de las infecciones respiratorias en Atención Primaria. Opinión de los médicos. *Aten Primaria*. 1999; 23: 296-300.
- Rodríguez Martínez JM. Mechanisms of plasmid-mediated resistance to quinolones. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2005; 23: 25-31.
- Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, Martínez-Martínez L, Muniain MA, Perea EJ, et al. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in nonhospitalized patients. *J Clin Microbiol*. 2004; 42: 1089-94.
- Rodríguez-Baño J, Pascual A. Microorganismos multiresistentes, ¿adquisición nosocomial o comunitaria? *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004; 22: 505-6.
- Rodríguez-Baño J, Pascual A. Microorganismos multiresistentes, ¿adquisición nosocomial o comunitaria? *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004; 22: 505-6.
- Ruzin A, Keeney D, Bradford PA. AcrAB efflux pump plays a role in decreased susceptibility to tigecycline in *Morganella morganii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49: 791-3.
- Sacchidanand S, Penn RL, Embil JM, et al. Efficacy and safety of tigecycline monotherapy compared with vancomycin plus aztreonam in patients with complicated skin and skin structure infections: results from a Phase 3, randomized, double-blind trial. *Int J Infect Dis*. 2005; 9: 251-61.
- Schito GC, Felmingham D. Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* to penicillin, azithromycin and telithromycin (PROTEKT 1999-2003). *Intern J Antimicrob Agents*. 2005; 26: 479-85.
- Schmitz FJ, Jones ME. Antibiotics for treatment of infections caused by MRSA and elimination of MRSA carriage. What are the choices? *Int J Antimicrob Agents*. 1997; 9: 1-19.
- Sevillano D, Giménez MJ, Aguilar L, Prieto J. ¿Es la farmacodinámica una herramienta útil para la prevención de las resistencias? *Rev Esp Quimioterap*. 2005; 18 (1): 77-9.
- Su LH, Chiu CH, Chu C, Ou JT. Antimicrobial Resistance in Nontyphoid *Salmonella* Serotypes: A Global Challenge. *Clin Infect Dis*. 2004; 39: 546-51.
- Swartz MN. Use of antimicrobial agents and drug resistance. *N Engl J Med*. 1997; 337: 491-2.
- Tenover FC, Weigel LM, Appelbaum PC, McDougal LK, Chaitram J, McAllister S, et al. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate from a patient in Pennsylvania. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004; 48: 275-80.
- Thornsberry C, Sahn DF, Kelly JL, et al. Regional trends in antimicrobial resistance among clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis* in the United States: results from the TRUST Surveillance Program, 1999-2000. *Clin Infect Dis*. 2002; 34 (Suppl. 1): S4-16.
- Threlfall EJ, Fisher IS, Berghold C, et al. Antimicrobial drug resistance in isolates of *Salmonella enterica* from cases of salmonellosis in humans in Europe in 2000: results of international multi-centre surveillance. *Euro Surveill*. 2003; 8: 41-5.
- Threlfall EJ, Fisher IST, Berghold C, Gerner-Smidt P, Tschäpe H, Cormican M, et al. Trends in antimicrobial drug resistance in *Salmonella enterica* serotypes *typhi* and *paratyphi A* isolated in Europe, 1999-2001. *Int J Antimicrob Agents*. 2003; 22: 487-91.
- Tokars JI, Satake S, Rimland D, Carson L, Miller ER, Killum E, et al. The prevalence of colonization with vancomycin-resistant *Enterococcus* at a Veterans' Affairs institution. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1999; 20: 171-5.
- Tomasz A. Special report. Multiple-Antibiotic-resistance pathogenic bacteria. *N Engl J Med*, 1994; 330 (17): 1249.
- Torres C, Zarazaga M. Repercusiones en el hombre del consumo de antibióticos por animales. *Rev Esp Quimioter*. 1998; 11: 1.
- Turnak MR, Bandak SI, Bouchillon SK, et al. Antimicrobial susceptibilities of clinical isolates of *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* collected during 1999-2000 from 13 countries. *Clin Microbiol Infect*. 2001; 7: 671-7.
- Udo EE, Pearman JW, Grubb WB. Genetic analysis of community isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Western Australia. *J Hosp Infect*. 1993; 25: 97-108.
- Valverde A, Coque TM, Sánchez Moreno MP, Rollán A, Baquero F, Cantón R. Dramatic increase of fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae during non-outbreak situations in Spain. *J Clin Microbiol*. 2004; 42: 4769-75.
- Van Ogtrop ML, Andes D, Stamstad TJ, et al. In vivo pharmacodynamic activities of two glycylcyclines (GAR-936 and WAY 152,288) against various gram-positive and gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000; 44: 943-9.
- Vaqué Rafart J, Sánchez Payá J, García Arcal MD, Gestal Otero J, Martínez Mondéjar B, Herruzo Cabrera, et al. Vigilancia, Prevención y Control de las infecciones nosocomiales en los hospitales españoles. Situación actual y perspectivas. Informe de la Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene (SEMPSPH). http://www.mpsp.org/mpsp/Documentos/inf_nosoc/inf_hosp.htm.
- Velasco M, Horcajada JP, Mensa J, Moreno-Martínez A, Vila J, et al. Decreased Invasive Capacity of Quinolone-Resistant *Escherichia coli* in Patients with Urinary Tract Infections. *Clin Infect Dis*. 2001; 33: 1682-6.
- Whitby M, McLaws ML, Berry G. Risk of death from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia: a meta-analysis. *Med J Aust*. 2001 3; 175: 264-7.
- WHO global strategy for containment of antimicrobial resistance. Geneva. World Health Organization; 2001.
- Wiener J, Quinn JP, Bradford PA, Goering RV, Nathan C, Bush K, et al. Multiple antibiotic-resistant *Klebsiella* and *Escherichia coli* in nursing homes. *JAMA*. 1999; 281: 517-23.
- Yamasaki O, Kaneko J, Morizane S, Akiyama H, Arata J, Narita S, et al. The Association between *Staphylococcus aureus* Strains Carrying Pantone-Valentine Leukocidin Genes and the Development of Deep-Seated Follicular Infection. *Clin Infect Dis*. 2005; 40: 381-5.
- Zinder SH. Overview of Antibiotic Use and Resistance: Setting the Stage for Tigecycline. *Clin Infect Dis*. 2005; 41: S289-92.