

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CC. BIOLÓGICAS
Departamento de Microbiología I



**RESISTENCIAS A NUEVOS ANTIMICROBIANOS EN
PATRONES SÉPTICOS**

**MEMORIA PRESENTADA PARA OPTAR AL GRADO DE
DOCTOR POR M^a del Mar Mallén Ramírez**

Bajo la dirección del Doctor:
Francisco Hervás Maldonado

Madrid, 2001

ISBN: 84-669-1701-2

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**RESISTENCIAS A NUEVOS ANTIMICROBIANOS EN
PATRONES SÉPTICOS**

Tesis Doctoral

Dña. M^a-del Mar Mallén Ramírez

Madrid, 2001

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA I



**RESISTENCIAS A NUEVOS ANTIMICROBIANOS EN
PATRONES SÉPTICOS**

Tesis Doctoral

Dña. M^adel Mar Mallén Ramírez

Director de la Tesis

Prof. Dr. D. Francisco Hervás Maldonado

Tutor de la Tesis

Prof. Dra. Dña. Josefina Rodríguez de Lecea

Mi agradecimiento al Prof. Dr. D. Francisco Hervás Maldonado, Jefe del Servicio de Microbiología Clínica del Hospital Militar Universitario “Gómez Ulla”, a los Médicos Especialistas en Microbiología y Parasitología, Dña. M^a del Carmen de Ybarra de Villavicencio y D. Fernando Gutiérrez Sánchez, a la Técnico Especialista de Laboratorio, Dña. Elena Ocón González y al Servicio de Microbiología Clínica del Hospital Militar Universitario “Gómez Ulla”, sin cuya colaboración no habría podido ser realizada la presente Tesis Doctoral.

A mis padres y hermanos.

ÍNDICE

	Pág.
I.- INTRODUCCIÓN.....	1
1. Antecedentes.....	1
2. Mecanismo de acción de los antimicrobianos.....	3
- Inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos.....	5
- Interfieren en la síntesis de proteínas.....	6
- Antibióticos activos sobre la membrana externa y citoplasmática.....	9
- Antibióticos que inhiben la síntesis del peptidoglicano.....	9
- Inhibición de la síntesis de cofactores metabólicos.....	11
- Inhibidores de enzimas inactivadoras de antibióticos.....	12
- Otros mecanismos de acción.....	13
3. Resistencia bacteriana.....	14
- Evolución de la resistencia bacteriana.....	14
- Modo de aparición de la resistencia en las cepas bacterianas.....	17
- Mecanismo de resistencia bacteriana a los distintos agentes antimicrobianos.....	18
- Mecanismos de resistencia a los inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos y de la replicación.....	18
4. Las Quinolonas.....	21
- Mecanismo de acción.....	26
- Uso de las quinolonas.....	28
- Espectro antibacteriano.....	31
- Farmacocinética de las quinolonas.....	36
5. Moxifloxacino.....	39
6. Levofloxacino.....	44
II.- OBJETIVOS.....	46
III.- MATERIAL Y MÉTODO.....	47
1. Muestras estudiadas.....	47
2. Procesamiento de las muestras.....	49
3. Determinación de la actividad inhibitoria. Sistema automatizado CMI VITEK [®] ..	54

4. Determinación de la actividad inhibitoria. Método E-test.....	56
5. Valoración estadística.....	58
6. Estudio epidemiológico.....	62
IV.- RESULTADOS.....	63
1. Sensibilidades obtenidas según el Sistema automatizado CMI VITEK ^R	64
2. Lectura manual de Concentración Mínima Inhibitoria (C.M.I.) a Moxifloxacino y Levofloxacino por el Método E-test.....	85
3. Valoración estadística mediante SPSS y Statgraphic Plus. Cluster Análisis.....	132
4. Estudio epidemiológico.....	138
V.- DISCUSIÓN.....	147
VI.- CONCLUSIONES.....	167
VII.- BIBLIOGRAFÍA.....	168

1.- ANTECEDENTES.

La aparición y difusión de patógenos humanos resistentes a casi todos los antibióticos disponibles en la actualidad, plantea un serio problema terapéutico que constituye una amenaza importante a finales del siglo XX (1). Un informe distribuido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) recordaba que el 33% de los casi 52 millones de personas fallecidas en 1995 murieron a causa de enfermedades infecciosas (2).

Desde el año 1973 se han identificado más de 30 nuevos agentes patógenos emergentes; encontrándose entre ellos *Legionella pneumophila* (agente productor de la legionelosis), Salmonellas y Shigellas (que originan diarreas de gravedad), la estirpe O139 de *Vibrio cholerae* (una nueva cepa causante de recientes epidemias de cólera), el virus de la inmunodeficiencia humana, el virus del herpes humano 8, *Borrelia burgdorferi* (causante de la enfermedad de Lyme), *Escherichia coli* O:157, etc. Como característica común en la aparición de nuevas enfermedades infecciosas se hallan las fuertes presiones ecológicas que van surgiendo en un planeta superpoblado, así como los movimientos de poblaciones que convierten los nuevos brotes infecciosos en un problema global.

En este mismo período se ha producido la reemergencia, de bacterias causantes de neumonías, bacterias que origina infecciones respiratorias agudas y producen 4,4 millones de muertes, de la tuberculosis con más de 3 millones de defunciones, el cólera, las diarreas bacterianas, etc. En EEUU, los enterococos se han convertido en la tercera causa en cuanto patógenos nosocomiales productores de endocarditis. Asimismo, en el número de aislamientos de *Staphylococcus aureus* resistentes a metilicina en muestras hospitalarias se ha producido un incremento.

Por otro lado ciertos microorganismos reemergentes como *Neisseria meningitidis* y *S. pneumoniae* pueden añadir a los mecanismos de resistencia frente a los antibióticos, mediados por PBP (proteínas que fijan penicilina) alteradas por la formación de estructuras en mosaico, una nueva estrategia consistente en el intercambio de ciertos factores de virulencia presentes en los microorganismos entre diferentes serotipos y que permite eludir la protección inmunitaria adquirida por vacunación. Ejemplo de ello fueron los brotes muy virulentos de meningitis meningocócica que se detectaron en Oregón y Washington. La caracterización de genes implicados en la

formación de las cápsulas polisacáridicas que rodean a *N.meningitidis* permitió demostrar que la agudización del brote epidémico se debió a un cambio de serotipo b (frente al que existía cierto grado de inmunidad en la población) al serotipo c, como resultado de un intercambio de los genes que codifican la enzima polisialicótransferasa de los tipos b y c (4). Variaciones parecidas entre los tipos capsulares de *S. pneumoniae* se han descrito (5,6).

De todo esto deduciremos que, además del papel fundamental que desempeñan los factores ecológicos en la aparición de nuevos microorganismos, las características genéticas de los patógenos explican el resurgimiento de las enfermedades infecciosas. El empleo inicial de la penicilina encontró unas cepas de neumococo altamente sensibles a este antibiótico a mediados de la década de 1940, pero el primer mutante resistente se aisló ya en 1967, en Papua-Nueva Guinea. En algunos casos, la estabilización de los determinantes genéticos de la resistencia requiere tiempo, aunque ésta, una vez adquirida, se suele extender con gran rapidez (7).

Los factores de resistencia pueden ser muy variados y estar localizados en el cromosoma bacteriano (caso del neumococo), en plásmidos o trasposones (*S. aureus* p.e.) o resultar de una combinación de todos ellos.

Otros factores a tener en cuenta en la evolución de los microorganismos, son los cambios ecológicos como las alteraciones evolutivas en el huésped y en el parásito.

En 1877 Pasteur y Joubert observaron, al cultivar dos microorganismos en un caldo, que su crecimiento era inferior al de cada uno por separado y que al menos uno era inhibido por el otro (8). Con ello surgió el concepto de “ antibiosis”, que fue aplicado por primera vez en 1889 por el francés Paul Vuillemin, profesor de Historia Natural en la Facultad de Medicina de Nancy. Vuillemin denominó “influencias antibióticas” a determinadas interacciones entre animales y entre plantas (9). El primero en utilizar la palabra “antibiótico” tal y como la conocemos hoy fue Marshall Ward (10) en 1899, pero fue Salman Waksman, el descubridor de la estreptomycin, quién inmortalizó este vocablo en su uso actual (9, 11).

Los antibióticos son sustancias obtenidas de microorganismos que pueden, incluso muy diluidas, inhibir o matar a otros microorganismos (12). Los quimioterápicos poseen propiedades similares pero se obtienen por síntesis química.

Actualmente tal distinción no es fácil pues existen sustancias que se pueden obtener de forma más sencilla por síntesis química que a partir del microorganismo. Además, en este sentido, se han desarrollado gran cantidad de productos semisintéticos mediante la adición de radicales, por métodos químicos, a sustancias obtenidas a partir de microorganismos. En este sentido, el término “agente antimicrobiano” abarcaría a todos, siendo de todos modos impreciso pues incluiría otros compuestos como los desinfectantes. En la actualidad “antibiótico” se usa para todas las sustancias con actividad antimicrobiana excepto los desinfectantes (12).

Hoy en día disponemos de una gran variedad de moléculas con probada actividad antimicrobiana y a la vez nos enfrentamos a un grave problema de resistencias. Por tanto la resistencia bacteriana es un fenómeno ligado al uso de antibióticos, pero a la vez la capacidad de las bacterias para combatir el efecto que en ellas produce estas sustancias ha superado todas las previsiones. El que en la actualidad existiera una bacteria resistente a todos los antibióticos es muy probable. Este hecho nos indica que además de fomentar un uso racional de los antibióticos, las líneas de trabajo estén orientadas hacia la búsqueda de nuevos fármacos que o bien eludan los mecanismos de resistencia de los microorganismos o bien actúen sobre dianas biológicas hasta ahora inéditas.

2.- MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS ANTIMICROBIANOS.

La actividad de un agente antimicrobiano frente a una bacteria depende primeramente de su capacidad para atravesar la pared bacteriana, paso necesario para acceder a su punto de acción. Dicha capacidad está en relación con su naturaleza fisicoquímica y con la estructura de la barrera que ha de franquear.

La pared celular de las bacterias grampositivas y gramnegativas no es idéntica; la pared de las grampositivas es más permeable a los antibióticos que la de las gramnegativas. Ambas disponen de una membrana citoplasmática rica en fosfolípidos y proteínas que constituye una barrera osmótica sólo permeable al agua y a las moléculas orgánicas sin carga y de pequeño tamaño y, sobre ella, el sáculo de mureína, o capa de peptidoglicano, que constituye su exoesqueleto. La capa del peptidoglicano es más gruesa en las bacterias grampositivas que en las gramnegativas, siendo también distinta

la composición química. La capa del peptidoglicano no supone un obstáculo a la penetración de los antibióticos, dado que el tamaño de éstos es menor que su límite de exclusión (100 Kd). La diferencia esencial entre la pared de las bacterias grampositivas y las gramnegativas radica en la presencia en éstas últimas, de una membrana externa, membrana bilaminar clásica, aunque la composición química de la lámina interna es única entre las membranas eucariotas y procariotas; la lámina externa difiere puesto que en éstos contiene lipopolisacáridos cuyos ácidos grasos están saturados. Para el paso de nutrientes, la membrana externa dispone de canales hidrofílicos constituidos por polímeros de unas proteínas denominadas porinas. Los antibióticos de bajo peso molecular y de naturaleza hidrofílica utilizan estos canales para llegar al espacio periplásmico. La membrana externa constituye una barrera natural a la libre difusión de antibióticos al interior de la bacteria. Para terminar, las bacterias, grampositivas y gramnegativas, disponen, formando su extracto más superficial, de una matriz hidrofílica (gel) porosa que se conoce con el nombre de “biofilm”, capa de *slime* o glucocálix, y que es más ostensible *in vivo* que en los cultivos *in vitro*. La composición química de esta película biológica que tapiza las bacterias difiere en ambos tipos de bacterias, aunque en ambos casos es un polímero aniónico rico en polisacáridos y fosfolípidos que se comporta como una resina de intercambio iónico. En ocasiones esta capa se comporta como un serio obstáculo a la difusión de los antimicrobianos. La mayoría de los antibióticos penetran en las bacterias por difusión simple. La membrana citoplasmática apenas ofrece resistencia al paso de los antibióticos de menor peso molecular, con independencia de la hidrofobicidad de la molécula, sin embargo resulta particularmente más difícil el paso para las moléculas hidrofóbicas. Las moléculas hidrofílicas utilizan los canales de porinas, mientras que las hidrofóbicas lo hacen previa disolución en la membrana. Sólo unos pocos antibióticos utilizan un mecanismo de transporte activo o autodirigido para acceder al interior de las bacterias. De otro lado se sabe que la cantidad neta de antibiótico disponible para actuar contra la bacteria también depende de la facilidad con que éste sea expelido por mediación de las llamadas bombas de evacuación de protones capaces de eliminar complejos formados entre antibióticos con carga neta negativa y protones (14, 15).

Hechas estas consideraciones previas, pasamos a describir cuáles son los mecanismos de acción de los agentes antimicrobianos:

- **Inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos.**

Comprende los antibióticos que interfieren en la replicación del DNA bacteriano o en su transcripción y suelen comportarse como bactericidas.

El primer antimicrobiano de esta clase fue el ácido nalidíxico, cuya utilidad clínica fue limitada debido a que sus niveles terapéuticos sólo resultaban satisfactorios en la orina, y a que permitía el desarrollo rápido de resistencias mutacionales de alto nivel y de un solo paso. Las quinolonas poseen un núcleo de dos anillos unidos de seis miembros y pueden producirse de forma sintética. Se desarrolló una serie de quinolonas fluoradas que proporcionan excelentes niveles de actividad bactericida frente a un amplio espectro de microorganismos y presentan un bajo grado de unión a proteínas.

El átomo de flúor aumenta la actividad frente a los gramnegativos y amplía el espectro frente a los grampositivos.

Las fluoroquinolonas como el ácido nalidíxico actúa sobre la girasa del DNA bacteriano, que es la enzima responsable de enrollar al máximo, cortar y sellar el DNA bacteriano. Cuatro genes codifican cuatro subunidades de estas enzimas, siendo sólo una de ellas el objetivo del ácido nalidíxico.

Las fluoroquinolonas resultan altamente activas y bactericidas frente a un amplio grupo de aerobios y anaerobios facultativos. Sin embargo, los estreptococos, *Chlamydia* y *Mycoplasma* sólo son sensibles parcialmente, y los anaerobios en general son resistentes. El ciprofloxacino es particularmente útil en la infección por *P. aeruginosa*.

Tabla nº1: Mecanismo de acción de los inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos.

<i>AGENTES</i>	<i>MECANISMO DE ACCIÓN</i>
Nitroimidazoles y nitrofuranos	Reducción intracelular de su grupo NO ₂ , liberación de radicales nitrito, daño del DNA bacteriano (16) y, al tiempo, fijándose en la subunidad 30S del ribosoma no ocurre el reconocimiento codón-anticodón, inhibiéndose entonces la síntesis de proteínas (17).
Quinolonas (derivados del ácido nalidixico).	Inhiben la DNA- girasa y la replicación (18, 19).
Rifamicinas	Inhibe la RNA- polimerasa dependiente de DNA (transcripción). (20).

- **Interfieren en la síntesis de proteínas.**

Los antibióticos aminoglucósidos-aminociclotoles son un grupo de agentes bactericidas caracterizados por combinaciones de anillos aminociclotólicos de seis miembros, con cadenas laterales de carácter variable que determina su espectro y su grado de resistencia frente a enzimas inactivantes. Pertenecen a este grupo, entre otros, la Estreptomicina, Neomicina, Kanamicina, Gentamicina, Tobramicina, Amikacina.

En concentraciones suficientes, los aminoglucósidos se unen de forma irreversible a los ribosomas, bloquean los complejos de iniciación e inhiben la elongación de las cadenas polipeptídicas, provocando un efecto bactericida de carácter rápido. Concentraciones inferiores causan una dispersión del lugar del RNA, una mala lectura del mensaje y una falta producción de las proteínas correctas, lo que produce un efecto drástico sobre el crecimiento y la estructura bacterianas.

Los aminoglucósidos sufren un transporte activo hacia el interior de la célula bacteriana por un mecanismo que incluye la fosforilación oxidativa. Por consiguiente, ejercen una actividad muy reducida o inexistente sobre los microorganismos anaerobios estrictos o facultativos que sólo realizan un metabolismo de carácter fermentativo. Es muy probable que la actividad de los aminoglucósidos frente a los microorganismos facultativos se reduzca de forma similar *in vivo* cuando el potencial de oxidación-reducción sea de baja intensidad.

Los ribosomas eucarióticos son resistentes a los aminoglucósidos y los antimicrobianos no sufren un transporte activo hacia el interior de las células eucariotas. Estas propiedades son responsables de su toxicidad selectiva y explican también su ineficacia frente a las bacterias intracelulares, como *Rickettsia* y *Chlamydia*.

Aminoglucósidos como gentamicina, tobramicina, amikacina y netilmicina, presentan un amplio espectro de acción bactericida frente a numerosos bacilos aerobios y facultativos grampositivos y gramnegativos, incluida *P.aeruginosa*. Todos los anaerobios son resistentes a la acción de estos antimicrobianos y que presentan un bajo grado de actividad frente a los estreptococos, excepto que se aumente la penetrabilidad celular mediante la acción simultánea de un antibiótico β -lactámico.

Las tetraciclinas son un grupo de antimicrobianos cuyo prototipo, clortetraciclinas, deriva de una especie de *Streptomyces*. Desde un punto de vista

químico, las tetraciclinas son compuestos policíclicos que difieren entre sí en sus cadenas laterales.

Al igual que los aminoglucósidos, las tetraciclinas inhiben la síntesis proteica. Se incorporan al interior de la célula mediante un proceso dependiente de energía, se unen a la subunidad 30S del ribosoma, y bloquean la unión del RNA aminoaciltransferente (RNAt) al complejo RNAm-ribosoma. A diferencia de los aminoglucósidos, su efecto revierte en condiciones de dilución; por consiguiente, su acción es más bacteriostática que bactericida.

Las tetraciclinas son agentes de amplio espectro con un rango de actividad que abarca las especies patógenas más comunes, incluyendo bacilos y cocos grampositivos y gramnegativos, así como gérmenes aerobios y anaerobios. Son activas frente a los microorganismos con pared celular deficiente y frente a algunas bacterias intracelulares obligadas.

El cloranfenicol es un antimicrobiano de amplio espectro, derivado originariamente de un cultivo de *Streptomyces* y cuya estructura es bastante simple.

El cloranfenicol actúa sobre la subunidad ribosómica 50S inhibiendo la peptidiltransferasa y, por consiguiente, la síntesis proteica. Su acción se puede revertir mediante dilución, por lo que su acción es bacteriostática. Presenta un efecto muy limitado sobre los ribosomas eucarióticos, lo que explica su toxicidad selectiva. Presenta un amplio rango de actividad, tanto frente a las especies aerobias, como frente a las anaerobias. Presenta una alta permeabilidad al interior de las células y a través de la barrera hematoencefálica.

La eritromicina es un antimicrobiano perteneciente al grupo de los macrólidos. Las lincosaminas y clindamicinas, no están relacionadas químicamente con los macrólidos pero presentan unos mecanismos de acción similares y un espectro común. La eritromicina y la lincomicina derivan de diferentes especies de *Streptomyces*. Ambas actúan sobre la síntesis proteica ribosómica mediante la unión a la subunidad 50S y bloqueando la reacción de translocación. El efecto sobre las bacterias sensibles es predominantemente bacteriostático.

Tabla nº2: Mecanismo de acción de los inhibidores de la síntesis de proteínas.

<i>AGENTES</i>	<i>MECANISMO DE ACCIÓN</i>
Estreptomicina	Se une a la subunidad 30S causando una mala lectura (21) e inhibición de la síntesis proteica.
Otros aminoglucósidos	Similares a la Estreptomicina, pero otras estructuras diana en las subunidades 30S y 50S.
Mupirocina	Inhibe la actividad catalítica de la isoleucil-RNAt sintetasa, evitando la incorporación de isoleucina a los péptido bacterianos y por tanto la síntesis proteica (22).
Tetraciclinas	Se unen de forma reversible a la subunidad 30S, inhiben la unión del aminoacil RNAt (23).
Cloranfenicol	Se une de forma reversible a la subunidad 50S; inhibe la acción de la peptidil-transferasa y la formación de uniones peptídicas (24).
Macrólidos, azálidos, estólidos, lincosamidas y estreptograminas	Se unen a la subunidad 50S; inhiben la peptidil-transferasa y las reacciones de transpeptidación como las de traslocación (25, 26).
Ácido fusídico	Bloquea el factor de elongación G y por tanto inhibe la elongación del péptido en síntesis (27).
Oxazolidinonas	Interfieren en el inicio de la síntesis de proteínas enzimáticas inducibles pero no en la elongación del péptido naciente (28).

- **Antibióticos activos sobre las membranas externa y citoplasmática.**

Tabla nº3: Mecanismo de acción de los antibióticos activos sobre la membrana externa y citoplasmática.

<i>AGENTE</i>	<i>MECANISMO DE ACCIÓN</i>
Polimixinas y colistina	Los surfactantes catiónicos se unen y destruyen las membranas externa y citoplasmática.
Poliénicos(nistatina, amfotericina B)	Ejercen su acción tras fijarse en los esteroides de las membranas.
Lantibióticos	Generan poros en la membrana bacteriana(29) o inhiben la síntesis del peptidoglicano, la reacción de transglucosilación (13).
Péptido catiónicos	Permeabilizan la membrana bacteriana (30).

- **Antibióticos que inhiben la síntesis del peptidoglicano.**

Actuar sobre la síntesis de la pared celular, y más concretamente inhibiendo la síntesis del peptidoglicano, suele ser la diana de los agentes antimicrobianos que a continuación se describen.

Los antibióticos β -lactámicos comprenden las penicilinas, las cefalosporinas, los carbapenemes y los monobactámicos. Los β -lactámicos sintéticos, naturales o semisintéticos se caracterizan por poseer un anillo β -lactámico que resulta esencial para su actividad antibacteriana. Las diferencias en las cadenas laterales de las moléculas básicas influyen en las propiedades farmacológicas y en el espectro al determinar la permeabilidad a través de la pared de la célula bacteriana, la afinidad por las enzimas que participan en la síntesis de la pared celular y la sensibilidad o resistencia a la inactivación por las β -lactamasas.

Los antibióticos β -lactámicos interfieren sobretudo en las reacciones de transpeptidación que cierran las uniones cruzadas de péptido entre las cadenas de glicanos. Su actividad probablemente se debe a una similitud estereoquímica con la terminación D-analil-D-analina del pentapéptido. Por tanto, los β -lactámicos impiden que se complete el saco de mureína en las células en crecimiento.

Las enzimas dianas de β -lactámicos se hallan sobre la membrana citoplasmática. Son las denominadas proteínas fijadoras de la penicilina (PBP) debido a que se

describieron por primera vez unidas a penicilina. Existen numerosas PBP diferentes, siendo habitualmente específicas de especie y varían en cuanto a su capacidad de reaccionar con diferentes antimicrobianos β -lactámicos. También existen diferencias funcionales entre las PBP: algunas son responsables de establecer los enlaces de peptidoglicanos que proporcionan al microorganismo su forma; otras participan en la síntesis de los tabiques que separan las células nuevamente formadas; otras no son necesariamente enzimas, y su función es todavía desconocida.

Un β -lactámico que sea principalmente activo sobre una PBP determinante de la forma dará lugar a un redondeamiento e hinchamiento de un microorganismo sensible ante de que ocurra la lisis. Uno que actúe fundamentalmente sobre la separación y la división celular puede originar células alargadas con múltiples nucleoides.

Los antibióticos β -lactámicos suelen ser fuertemente bactericidas sobre las bacterias sensibles. Dicha acción bactericida se debe habitualmente a la lisis celular, proceso que se inicia con el debilitamiento del peptidoglicano en desarrollo, la liberación o activación de las enzimas autolíticas que más adelante romperán las áreas debilitadas de la pared y, finalmente, la lisis osmótica al permitir el paso de agua a través de la membrana citoplasmática hacia el interior hipertónico de la célula. Aquellos microorganismos que no poseen pared celular, las células que no están en desarrollo y los protoplastos osmóticamente estabilizados, permanecen viables en presencia del antimicrobiano. Las mutaciones que reducen o eliminan la actividad de las enzimas autolíticas causan una disminución de la lisis y la destrucción por parte de los antibióticos β -lactámicos pasando entonces éstos de ser bactericidas a ser bacteriostáticos. Esto es lo que se denomina tolerancia.

Tabla nº4: Mecanismo de acción de los antibióticos que inhiben la síntesis del peptidoglicano.

<i>AGENTES</i>	<i>MECANISMO DE ACCIÓN</i>
Fosfomicina	Inhibición de la síntesis de precursores.
Glucopéptidos(Vancomicina, Teicoplanina, Daptomicina, Ramoplanina)	Inhibe la polimerización (elongación) (32).
Betalactámicos(Penicilinas, Cefalosporinas, Cefamicinas, Monobactámicos y Carbapenémicos)	Inhibición de la transpeptidación.
Mureidomicinas	Bloquean la traslocación de los precursores (33, 34).

- **Inhibición de la síntesis de cofactores metabólicos.**

Inhibidores del ácido fólico.

Los inhibidores metabólicos utilizados como antimicrobianos emplean vías metabólicas presentes en los microorganismos. Uno de estos agentes son los que interfieren en la síntesis del ácido fólico por parte de las bacterias.

El ácido fólico deriva del ácido paraaminobenzoico (PABA), del glutamato y de la unidad pteridínica. En su forma reducida es una coenzima esencial para el transporte de los compuestos de un carbono en la síntesis de las purinas, de la timidina y de algunos aminoácidos y, por consiguiente e indirectamente, de la síntesis de los ácidos nucleicos y de las proteínas.

Los principales inhibidores de la vía del ácido fólico son las sulfamidas, el trimetoprim, el ácido paraaminosalicílico y las sulfonas.

Las sulfamidas son análogos estructurales del PABA y compiten con él por la enzima (dihidropteroato-sintetasa) que combina el PABA y la pteridina en el estadio inicial de la síntesis del ácido fólico.

El efecto de las sulfamidas es exclusivamente bacteriostático, y la adición del PABA a un medio que contenga este tipo de sustancias neutraliza el efecto inhibitorio y permite que se reanude el crecimiento bacteriano.

Las sulfamidas más activas presentan un espectro extraordinariamente amplio, que incluye estreptococos patógenos, neumococos, una serie de bacilos gramnegativos

entéricos, gonococo y meningococo, y *Chlamydia*. También presentan cierto grado de actividad frente a estafilococos patógenos y anaerobios. Se desarrolló resistencia a estos antimicrobianos, extendiéndose de forma rápida, de modo que su actividad es en la actualidad impredecible sin las pruebas de laboratorio para determinar sensibilidad.

El trimetoprim es un análogo estructural sintético de la porción pteridínica de la molécula de ácido fólico. Inhibe de forma competitiva la actividad de la dihidrofolato-reductasa bacteriana, enzima que cataliza la conversión del ácido fólico a su forma reducida de coenzima activa. El trimetoprim es principalmente bacteriostático. Al combinarlo con una sulfamida, el bloqueo secuencial de la vía metabólica que da origen a la producción de tetrahidrofolato a menudo proporciona un efecto bacteriostático y bactericida de carácter sinérgico.

El trimetoprim inhibe un amplio espectro de bacterias grampositivas y gramnegativas facultativas, incluyendo las que causan infecciones de los tractos entéricos y urinario. También resulta activo frente a algunos patógenos eucariotas, entre los parásitos del paludismo y *Pneumocystis carinii*.

Tabla nº5: Mecanismo de acción de los inhibidores de la síntesis de cofactores metabólicos.

AGENTES	MECANISMO DE ACCIÓN
Sulfonamidas	Inhibidor de la síntesis de ácido fólico
Trimetoprima	Inhibidor de la síntesis del ácido folínico

- **Inhibidores de enzimas inactivadoras de antibióticos.**

A este grupo pertenecen los inhibidores de las betalactamasas (ácido clavulánico, sulbactam, tazobactam), enzimas que inactivan a los antibióticos betalactámicos. Se fijan a las betalactamasas dejándose hidrolizar por ellas y permite así que éstas no interfieran en la acción de los betalactámicos con los que se combinan.

- **Otros mecanismos de acción serían:**
 - .Alterar los mecanismos de fijación y adherencia.
 - .Reducir la producción de toxinas y exotoxinas.

3.- Resistencia bacteriana.-

. Evolución de la resistencia bacteriana.-

A pesar de los éxitos obtenidos en la erradicación de muchas enfermedades mediante agentes antimicrobianos no se ha llegado a alcanzar todos los objetivos previstos, pues al tiempo que se iban destruyendo una gran cantidad de microorganismos iban surgiendo otros que eran resistentes y que venían a ocupar el lugar que aquéllos dejaron. Y es que los microorganismos ante la presencia de agentes nocivos, son capaces de poner en marcha mecanismos adaptativos para defenderse. Ejemplo de lo que venimos diciendo es el caso de la penicilina. Efectivamente, poco tiempo después de su desarrollo se aislaron estirpes de patógenos resistentes que hasta entonces eran sensibles (35, 36): la resistencia de *S. pneumoniae* a la penicilina, por mutación de los genes que codifican sus proteínas 1a, 2x, 2a y 2b representa un grave problema; las primeras cepas resistentes “in vitro” ya se detectaron en el año 1940, en tanto que en clínica aparecieron en 1965 en Estados Unidos, 1967 en Australia, en 1977 en Sudáfrica y en nuestro país en 1982, estando en la actualidad la cifra de cepas resistentes en torno a un 40%. Esta resistencia también se amplía a las ampicilinas más inhibidores de betalactamasas y cefalosporinas de segunda generación, pero con tasas más bajas, del 12% al 15%, a los macrólidos un 20%, a las tetraciclinas un 22%, al cotrimoxazol un 25%, e incluso a las cefalosporinas de tercera generación, como cefotaxima o ceftriaxona, un 2%. A veces la aparición de las cepas resistentes tiene lugar inmediatamente después de la introducción de un antibiótico, como fue el caso de *Staphylococcus aureus* que era totalmente sensible a la penicilina cuando ésta se introdujo en 1944 y que en 1950, sólo alrededor del 30% de las muestras hospitalarias continuaban siendo sensibles, mientras que la tasa actual apenas alcanza el 15%, y numerosas cepas son multirresistentes a antimicrobianos previamente activos. En otras ocasiones como en el caso de los gonococos, transcurrieron casi 30 años desde la introducción de la penicilina, para que aparecieran las primeras cepas significativamente resistentes.

De lo anteriormente expuesto se deduce, que el desarrollo de cepas bacterianas resistentes es obviamente un problema extremadamente importante. Es un riesgo añadido para los pacientes, ya sean hospitalizados o no. Se trata de un problema de salud pública asociado a muchos factores, tanto para su aparición como para su

mantenimiento (37, 38). Se han seleccionado en animales microorganismos resistentes y con posibilidad de llegar hasta los seres humanos, como consecuencia del uso de antibióticos como aditivos alimentarios. El empleo en actividades agropecuarias, plantea un riesgo, pues podrían seleccionarse bacterias resistentes que son capaces de infectar al hombre. A todo esto debemos añadir que cada vez que se administra un agente antimicrobiano su efecto no sólo repercute sobre el microorganismo patógeno, sino también sobre el microorganismo que forma parte del huésped de forma habitual y sobre los que se encuentran en el medio ambiente.

Resumiendo, las principales fuentes de cepas resistentes serían:

- La extensión de la infección en las poblaciones humanas y la capacidad de los plásmidos para penetrar en las especies e, incluso, atravesar las línea genéricas.
- El uso a gran escala de antimicrobianos en la terapia y la profilaxis humanas, reales o supuestas.
- El uso de antimicrobianos en alimentación animal, tanto desde un punto de vista profiláctico, como desde sus efectos estimulantes del crecimiento.

Por un principio de selección, las bacterias desarrollan distintas vías para sobrevivir en presencia de los agentes antimicrobianos, y por tanto ello hace que la resistencia sea un fenómeno extraordinariamente frecuente y en continua evolución.

Los hechos más relevantes en cuanto a resistencia quedan reflejados en el cuadro siguiente (39):

Tabla nº6: Principales acontecimientos en la resistencia bacteriana durante cinco décadas.

DECADA	PRINCIPALES ACONTECIMIENTOS
1940	-La estreptomocina y el ácido p-aminosalicílico(PAS) eran fármacos muy efectivos para el tratamiento de <i>M.tuberculosis</i> , pero los pacientes tratados con uno de ellos recaían rápidamente debido a la reemergencia de la resistencia lo que limitaba la eficacia de cada uno de los fármacos por separado, con lo que pacientes con grandes inóculos eran tratados con ambos fármacos simultáneamente, entendiéndose que en ese momento ningún microorganismo podría ser resistente a los dos a la vez.
1950	- <i>Staphylococcus aureus</i> , cuya sensibilidad a la penicilina era superior al 80% al principio, cambió al 80% de resistentes al final de la década por la producción de betalactamasas. -Los gramnegativos, especialmente las enterobacterias, se hacen resistentes a la estreptomocina.
1960	-Una amplia proporción de meningococos se hacen resistentes a las sulfamidas. -Los gramnegativos adquieren resistencia a la kanamicina. -Se describe por primera vez en Australia la aparición de neumococos resistentes a la penicilina.
1970	- <i>Haemophylus influenzae</i> desarrolla resistencia a la ampicilina, adquirida a partir de enterobacterias. -Se comunica colitis pseudomembranosa asociada a antibióticos y a la selección de <i>Clostridium difficile</i> . -Algunos gramnegativos se hacen resistentes a la gentamicina.
1980	- <i>S.aureus</i> resistentes a la metilina (MRSA) empiezan a ser problema en algunos hospitales. -Los neumococos resistentes a la penicilina comienzan a ser problemáticos en Sudáfrica y España. -Los estafilococos coagulasa negativos, de los que más de la mitad son intrínsecamente resistentes a los Betalactámicos, tienen un especial papel en las infecciones asociadas a

<p>1990</p>	<p>catéteres.</p> <p>-Los neumococos resistentes a la penicilina son habituales en un gran número de países. Aparecen cepas de neumococos productoras de meningitis resistentes a las cefalosporinas de tercera generación.</p> <p>-Se detectan enterococos con resistencia de alto grado a los aminoglucósidos y la vancomicina.</p> <p>-Las micobacterias multirresistentes, incluyendo <i>M.tuberculosis</i>, se hacen comunes en algunos grupos de población.</p> <p>-Aparecen estreptococos beta hemolíticos resistentes a los macrólidos, conservando su buena sensibilidad a la penicilina.</p> <p>-Aparecen estafilococos con resistencia moderada a la vancomicina.</p>
--------------------	--

. Modo de aparición de la resistencia en las cepas bacterianas.-

Una cepa bacteriana puede adquirir resistencia (resistencia adquirida) mediante cambios precisos en el propio cromosoma bacteriano (mutaciones cromosómicas) o bien mediante la transferencia de material genético procedente de bacterias ya resistentes, plásmidos o transposones.

Una mutación espontánea en el cromosoma bacteriano significa la aparición de la resistencia al agente antimicrobiano en al menos un miembro de la población bacteriana. Con un sólo agente antimicrobiano, todos los miembros de la población bacteriana inicial que no hubieran mutado serían destruidos, en tanto que la cepa mutada y por tanto resistente, crecería rápidamente.

La tasa de mutación para la mayoría de los genes bacterianos oscila aproximadamente entre 10^{-5} y 10^{-9} por célula y por generación.

De otro lado una bacteria resistente puede donar sus genes de resistencia a otras bacterias, que no tienen por qué pertenecer ni a la misma especie ni al mismo género. Estos genes capaces de codificar resistencia pueden ser vehiculizados por plásmidos y/o transposones mediante los mecanismos de intercambio de material genético que existe en las bacterias (transformación, conjugación y transducción).

En general la resistencia mediada por plásmidos se encuentra en la clínica más comúnmente que la resistencia mediada por cromosomas. Se les denomina *plásmidos R* o *factores R* (factores de resistencia), son elementos DNA extracromosómicos de las bacterias y los genes responsables de la resistencia codifican habitualmente enzimas que inactivan a los agentes antimicrobianos o reducen la permeabilidad de la célula para ellos. La resistencia que confiere la mutación cromosómica suele implicar, la modificación de la diana de los agentes antimicrobianos.

Los plásmidos de las bacterias gramnegativas pueden transmitirse más allá de los límites de la especie y, en menor grado, incluso entre géneros. Muchos de ellos codifican resistencia a varios agentes antimicrobianos (multirresistencia). Las bacterias no patógenas pueden servir como reservorio natural de los determinantes de resistencia incluidos en los plásmidos, y que pueden pasar a los patógenos.

Los plásmidos R evolucionan con rapidez y pueden adquirir fácilmente genes determinantes de resistencia adicionales mediante su fusión con otros plásmidos o la adquisición de transposones. Muchos poseen la capacidad de amplificar el número de copias de sus genes de resistencia, bien por una duplicación de los genes dentro de cada plásmido, bien por un aumento del número de plásmidos de cada célula.

. Mecanismos de resistencia bacteriana a los distintos agentes antimicrobianos.-

La resistencia bacteriana a los agentes antimicrobianos puede ser causada por:

- Incapacidad del agente antimicrobiano para atravesar la envuelta celular.
- Ausencia de un lugar diana específico para el agente antimicrobiano.
- Capacidad del microorganismo para superar una vía metabólica bloqueada.
- Producción por el patógeno de una enzima que inactiva el agente antimicrobiano.

. Mecanismos de resistencia a los inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos y de la replicación.

Los agentes antimicrobianos que actúan sobre la síntesis de los ácidos nucleicos o sobre su replicación lo hacen interfiriendo sobre su síntesis, como es el caso de las sulfamidas p.e., interactuando directamente con el DNA bacteriano, caso de la

rifampicina p.e., o afectando a las topoisomerasa, enzimas imprescindibles en la replicación y transducción de DNA bacteriano, como lo hacen las quinolonas.

En el primer caso suele tratarse de una resistencia mutacional y determinada por plásmidos. La resistencia codificada en los plásmidos R consiste habitualmente en una disminución de la permeabilidad a las sulfamidas, en una disminución de la afinidad por las sulfamidas del PABA de manejo enzimático, y en ocasiones, en un aumento de la producción de PABA. Resumiendo, los mecanismos de resistencia son los que a continuación se enumeran:

- Síntesis de enzimas modificadas.
- Hiperproducción enzimática.
- Desarrollo de vías metabólicas alternativas.
- Alteración de la permeabilidad
- Sistemas de eflujo.

Los agentes antimicrobianos que inhiben la transcripción del DNA lo hacen inhibiendo la RNA-polimerasa por formación de un complejo con su subunidad β , afectando a la incorporación de nucleótidos en la síntesis de mRNA. Sin embargo aunque la formación del complejo es previa al inicio de la transcripción, el efecto bactericida no es por inhibición del inicio, sino por afectación del proceso de elongación del mRNA. Las bacterias resisten ante este hecho mediante mutaciones que generalmente ocurren en un solo cambio de un aminoácido en la secuencia de la subunidad β de la RNA- polimerasa, cambio que sin embargo no afecta a la actividad de ésta. Otras bacterias han desarrollado mecanismos de resistencia consistentes en la modificación del agente antimicrobiano, modificación que afecta a la afinidad de éste por la RNA-polimerasa.

La actividad antimicrobiana de las quinolonas se produce, principalmente, por la inhibición de la DNA-girasa (topoisomerasa II), enzima que controla la configuración helicoidal del DNA. Los mecanismos de resistencia a las quinolonas se producen por:

- Alteraciones en la diana por mutaciones en la topoisomerasa II (girasa) o en la topoisomerasa IV.
- Disminución del acceso del agente antimicrobiano por mutaciones que afectan la expresión de las porinas.
- Por sistemas de eflujo.

Dicha resistencia está mediada por mutaciones cromosómicas o determinada por genes transferibles que son de origen plasmídico.

4.- Las Quinolonas.

Los antibióticos del grupo de las quinolonas surgieron en 1962, a partir de la investigación antimalárica (40, 41)

Las fluoroquinolonas fueron introducidas en la práctica clínica a finales de 1980 (42,43,44). Desde el descubrimiento del ácido nalidíxico por Lescher y cols.(45) hasta el desarrollo de la primera fluoroquinolona por Koga y cols.(46), han transcurrido 20 años. En la actualidad, existen al menos 12 fluoroquinolonas en uso clínico, siendo ciprofloxacino la de mayor éxito (47). De ellas, seis han sido introducidas durante los últimos seis años. Levofloxacino (Levaquin) y Esparfloxacino estaban disponibles en 1996, y Grepafloxacino (Rezar) y Trovafloxacino fueron introducidos en 1997. Gatifloxacino (Tequin) y Moxifloxacino (Avelox) estuvieron disponibles en el 2000. En diciembre de 1999, Grepafloxacino fue retirado debido a problemas derivados de su uso.



Figura nº 1: Cronología de la aparición de las Quinolonas.

Comparadas con ciprofloxacino (agente prototipo del origen de las fluoroquinolonas), las nuevas fluoroquinolonas tienen una aumentada actividad frente a bacterias gram positivas con sólo una mínima disminución de su actividad frente a bacterias gram negativas (48,49). Su amplia actividad frente a gram positivos es especialmente importante porque incluye microorganismos tales como *Streptococcus pneumoniae*. (50,51)

Levofloxacino tiene una aumentada actividad frente a *S.pneumoniae*, *S.aureus* y *Enterococcus spp*, como una buena actividad frente *Mycoplasma* y *Chlamydia spp* (52,53). Esparfloxacino tiene un amplio espectro de actividad que incluye incluso anaerobios. Esparfloxacino presenta incluso una elevada actividad frente a *Mycoplasma spp*.

Trovafloxacino es la fluoroquinolona con la más potente actividad frente a anaerobios, incluido *Bacteroides spp*.(48, 54)

En cuanto a la clasificación se han propuesto varias para esta familia: la química, la biológica y la de generaciones.

Las quinolonas pueden ser clasificadas en cuatro grupos de acuerdo con su estructura química, y ello teniendo en cuenta el núcleo básico del compuesto, en: monocíclica, bicíclica, tricíclica y tetracíclica. Estos cuatro grupos pueden ser subdivididos según los átomos de flúor que son fijados en posición seis, en monofluoradas, bifluoradas y trifluoradas (55).

La clasificación biológica reconoce cuatro grupos y ello considerando el espectro de acción y el diferente grado de metabolización. El primero y el segundo grupo con espectro limitado a enterobacterias y diferente grado de metabolización reuniría: ácidos nalidíxicos, piromidínico y oxolínico, y flumequina, ampliamente metabolizados, y ácido pipemídico y cinoxacino, menos metabolizados. El tercero y cuarto de espectro amplio, ambos también con mayor o menor metabolización (metabolizados: norfloxacino, enoxacino, pefloxacino, ciprofloxacino, grepafloxacino, temafloxacino, clinafloxacino; poco metabolizados: lomefloxacino, ofloxacino, levofloxacino y esparfloxacino)(55).

La tercera clasificación hace referencia a generaciones de quinolonas: la primera comprende desde el ácido nalidíxico hasta el ácido pipemídico y la segunda a partir del norfloxacino, aunque también se le podría considerar como la única quinolona

de segunda generación y a las restantes como pertenecientes a la tercera, no existiendo acuerdo a este respecto.

Recientemente se ha sugerido una clasificación desde el punto de vista de la actividad. Dicha clasificación las reúne en cuatro grupos, eliminando las de primera generación anterior (ácido nalidíxico, cinoxacino, ácido pipemídico, rosoxacino), con lo que realmente tendríamos cinco generaciones: la eliminada, la de las fluoroquinolonas orales con indicación esencial para infecciones urinarias (norfloxacino, perfloxacino), las de uso sistémico (enoxacino, fleroxacino, ofloxacino, ciprofloxacino), las activas sobre grampositivos y patógenos atípicos (levofloxacino, esparfloxacino, grepafloxacino), y las que además actúan sobre bacterias anaerobias (gatifloxacino, trovafloxacino, moxifloxacino y climafloxacino) (56,57).

Tabla nº7: Clasificación de las Quinolonas desde un punto de vista de la actividad.

<i>Clasificación de las Quinolonas</i>	
Clasificación	Agentes
Primera Generación	Ácido nalidíxico Cinoxacino
Segunda Generación	Norfloxacino Lomefloxacino Enoxacino Ofloxacino Ciprofloxacino
Tercera Generación	Levofloxacino Esfarfloxacino Gatifloxacino Moxifloxacino
Cuarta Generación	Trovafloxacino

Dana E. King. *New classification and Update on the Quinolones Antibiotics.* Am Fam Physician 2000 May 1; 61 (9): 2741-8.

Tabla nº8: Espectro antimicrobiano de las Quinolonas de Primera, Segunda, Tercera y Cuarta Generación.

<i>Espectro antimicrobiano</i>	
Clasificación	Espectro Antimicrobiano
Primera Generación	Gramnegativos (no <i>Pseudomonas</i> spp.)
Segunda Generación	Gramnegativos (incluidos <i>Pseudomonas</i> spp.). Algunos Grampositivos (incluido <i>Staphylococcus aureus</i> pero no <i>Streptococcus pneumoniae</i>). Patógenos atípicos.
Tercera Generación	Igual que los de la segunda generación, incluyendo <i>S. pneumoniae</i> sensibles a penicilina y resistentes a penicilina. Patógenos atípicos.
Cuarta Generación	Igual que los de tercera generación, actuando además sobre microorganismos anaerobios.

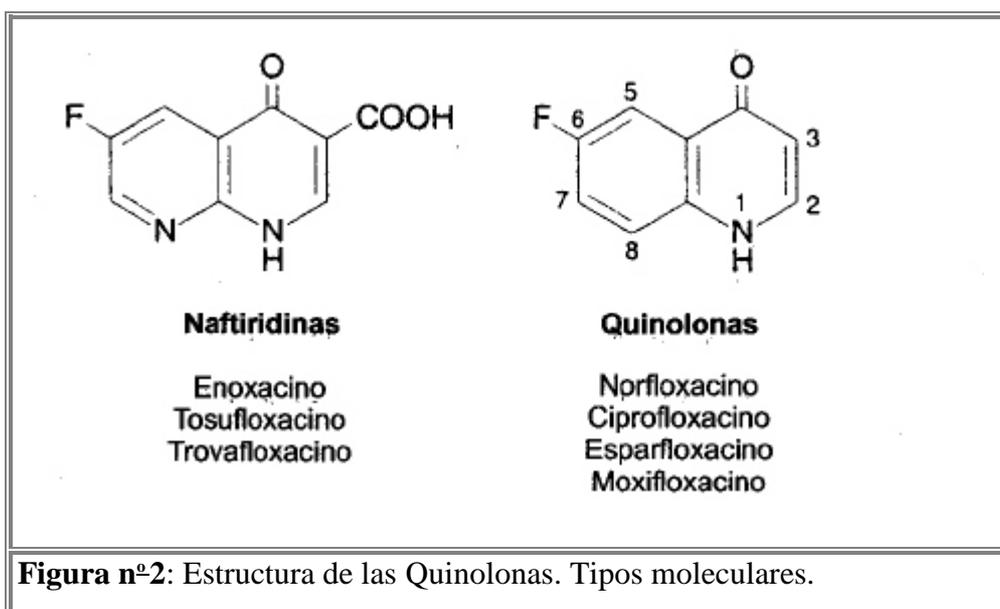
Dana E. King. *New classification and Update on the Quinolones Antibiotics*. Am Fam Physician 2000 May 1; 61 (9): 2741-8.

Tabla nº9: Indicaciones Clínicas de las Quinolonas de Primera, Segunda, Tercera y Cuarta Generación.

<i>Generales indicaciones clínicas</i>	
Clasificación	Indicación clínica
Primera Generación	Infecciones urinarias
Segunda Generación	Infecciones urinarias (no complicadas y complicadas) Pielonefritis Enfermedades de transmisión sexual Prostatitis Piel Infecciones de los tejidos blandos
Tercera Generación	Exarcebación aguda de la bronquitis crónica. Neumonía adquirida en la comunidad.
Cuarta Generación	Las mismas que las quinolonas de primera, segunda y tercera generación (excepto complicaciones del tracto urinario y pielonefritis) más infecciones intraabdominales, neumonía nosocomial, infecciones pélvicas.

Dana E. King. *New classification and Update on the Quinolones Antibiotics.* Am Fam Physician 2000 May 1; 61 (9): 2741-8.

Desde un punto de vista estructural existen dos tipos moleculares, uno con el núcleo quinolónico y otro con el naftiridínico, sobre los cuales tiene lugar distintas sustituciones químicas, siendo las más frecuentes las acaecidas en las posiciones 1, 7 y 8. Las sustituciones en las posiciones 3, 4 y 6 alteran radicalmente la unión de la molécula y su actividad antibacteriana (58). Moxifloxacino, quinolona de reciente comercialización, es una 8-metoxiquinolona.



. Mecanismo de acción.

El mecanismo de acción de las quinolonas es complejo, no estando aún completamente dilucidado. El punto de acción de estos antimicrobianos son las *topoisomerasas* o *girasas* del DNA, específicamente la subunidad α de la *topoisomerasa* II, y algunos también actúan sobre la *topoisomerasa* IV. La inhibición de estas enzimas conduce a la muerte bacteriana.

La subunidad α de la topoisomerasa II (girasa) actúa realizando incisiones a intervalos en sitios específicos del DNA de una sola banda y posteriormente los une, corrigiendo estos cortes; los inhibidores de la girasa impedirían la reparación de estas incisiones. La subunidad β de la *girasa* es la responsable de realizar el enrollamiento del DNA de doble banda. Sobre esta enzima actúa la novobiocina, antibiótico que puede actuar de forma sinérgica con este grupo de antimicrobianos.

La topoisomerasa IV facilita el enrollamiento del DNA en sentido negativo, al eliminar las vueltas en sentido positivo que presenta el DNA de doble banda. La bacteria necesita empaquetar el DNA por medio de este enrollamiento para que físicamente tenga cabida dentro de la célula. El enrollamiento se realiza por medio de la acción de la girasa en 50 lugares específicos e independientes del DNA. Sobre esta topoisomerasa IV actuarían también algunas quinolonas.

La acción de las quinolonas se ejerce primordialmente impidiendo la reparación de las incisiones que se producen en el DNA, lo que induce a perder la forma superenrollada, aumentando de volumen y creando una gran necesidad de espacio intracelular. Macroscópicamente, esta acción se manifiesta por una elongación anormal de las bacterias.

Las roturas del DNA mantenidas por la acción de las quinolonas, serán el punto de actuación de las exonucleasas inducibles, que destruirán el DNA. Esto requiere la síntesis de RNA y de estas exonucleasas (proteínas) para que se manifieste la acción de las quinolonas. Por consiguiente, la inhibición de la síntesis de RNA y proteínas reducirá la acción de las quinolonas.

Si añadimos rifampicina (que inhibe el RNA), se debe reducir el efecto bactericida de las quinolonas. Sin embargo, este efecto antagonista es menor sobre la acción de ciprofloxacino y ofloxacino. La posible explicación de este hecho se justifica si existen dos mecanismos de acción: uno común a todas las quinolonas (incluidas ciprofloxacino y ofloxacino) y otro que no puede ser inhibido por la rifampicina (exclusivo de algunas como ciprofloxacino y ofloxacino). Estos mecanismos pueden explicar por qué estos dos últimos compuestos producen una muerte más rápida de las bacterias que la que consiguen otros como norfloxacino y ácido nalidíxico. Al inhibir la replicación de DNA bloquean la replicación de los plásmidos R que puedan existir en la bacteria, eliminando la posibilidad de su difusión entre las poblaciones bacterianas.

Tienen una acción bactericida muy rápida que para ciprofloxacino y ofloxacino se cifra en 19 minutos, para cinoxacino, en 44 minutos, para norfloxacino, en 52 minutos y para las antiguas quinolonas, entre 52 y 92 minutos.

Si comparamos la actividad de los nuevos componentes de este grupo de antimicrobianos con las de otros bien conocidos, encontraremos que, sobre las enterobacterias, su actividad es al menos 1.024 veces superior a la de cefalotina y de la

mezlociclina, 256 veces superior a la de la combinación de ampicilina y ácido clavulánico. Sobre *P. aeruginosa* son 64 veces más activos que la gentamicina, 32 veces más que la azlocilina y moxalactam y 4 más que la ceftazidima. Aunque los niveles séricos no son comparables, los datos anteriores nos ponen de manifiesto la potente acción antibacteriana de las nuevas quinolonas.

Esta actividad *in vitro* tiene una buena correlación clínica, aunque su actividad se ve disminuida en orina de 4 a 128 veces, según el compuesto. Puede que el alto contenido en cationes metálicos divalentes de la orina sea el responsable de este antagonismo, acción que se observa también si suplementamos los medios de cultivo con iones magnesio.

Las mutaciones hacia la resistencia son frecuentes en los compuestos antiguos del grupo, presentando una alta tasa de mutación el ácido nalidíxico. Estas mutaciones afectan de alguna forma la sensibilidad de todo el grupo. Sin embargo, los nuevos inhibidores de la girasa, no se ven tan afectados por esta resistencia al ácido nalidíxico, dada la gran actividad que tienen, y aunque se eleven sus Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI), sus niveles séricos permiten el tratamiento de las infecciones. Los nuevos compuestos tienen una baja frecuencia de mutación de 10^{-7} a 10^{-8} .

.Uso de las quinolonas.

Desde un punto de vista clínico las quinolonas se han empleado para la mayoría de las infecciones del tracto urinario, la piel y los tejidos blandos, de hueso y articulaciones, y para el tratamiento de las infecciones del tracto respiratorio (ITR).

Ciprofloxacino se ha administrado a más de 200 millones de pacientes desde su aprobación en 1987 (59,60). Ofloxacino y levofloxacino también se han prescrito ampliamente. La mayoría de las infecciones del tracto urinario, la piel y los tejidos blandos, de hueso y articulaciones, han sido tratadas con estos tres agentes, además de otras quinolonas (59,60). Ciprofloxacino y ofloxacino no se han utilizado tanto en el tratamiento de las infecciones del tracto respiratorio (ITR), a excepción de las exacerbaciones agudas de la bronquitis crónica, debido a que estas moléculas más antiguas carecen de suficiente actividad frente a *Streptococcus pneumoniae*.

Las ITR comprende enfermedades que van desde una simple faringoamigdalitis hasta una neumonía nosocomial complicada, cada una de ellas con su particular

fisiopatología. Los microorganismos causantes de las ITR también varían ostensiblemente según la edad y el estado clínico del paciente. Junto a una flora microbiana tan variable, la sensibilidad de muchos de estos patógenos a los antimicrobianos es cambiante. (tabla nº 10)

Tabla nº 10: Cepas sensibles(%)^b

PAÍS	ANTIMICROBIANO ^A	STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE	HAEMOPHYLUS INFLUENZAE	MORAXELLA CATARRHALIS
Reino Unido	Pen/amp	89,2	17,7	10,7
	Claritromicina	91,3	95,4	100
	Quinolona	100	100	100
Alemania	Pen/amp	92,2	94,3	21
	Claritromicina	90,1	94,9	100
	Quinolona	99,3	100	100
Francia	Pen/amp	33,5	72,2	11,2
	Claritromicina	41,6	95,1	100
	Quinolona	100	100	100
Italia	Pen/amp	83,2	92,3	13,9
	Claritromicina	75,7	96,8	100
	Quinolona	100	100	100
Japón	Pen/amp	45,9	84,6	2,5
	Claritromicina	32,1	93,2	100
	Quinolona	99,1	100	100
China	Pen/amp	83,1	94,2	NP ^c
	Claritromicina	25,8	97,4	100
	Quinolona	99,2	100	100
España	Pen/amp	34,4	68	6,9
	Claritromicina	62,2	91,3	100
	Quinolona	100	100	100
Estados Unidos	Pen/amp	65	62,5	8,3
	Claritromicina	77,1	- ^d	100
	Quinolona	99,8	-	100

^a Utilizando puntos de corte en los países en los que están disponibles.

^b Pen/amp=penicilina frente a *Streptococcus pneumoniae*, ampicilina frente a *Haemophylus influenzae* y *Moraxella catarrhalis*; quinolona= rango de levofloxacino o grepafloxacino.

NP^c= no probado.

^dNo comunicado

El análisis de las infecciones tratadas con antimicrobianos muestra que las ITR justifican casi dos tercios de las prescripciones, siendo la proporción de vías altas y

bajas aproximadamente igual. Por ello, el incremento en los problemas de resistencia posiblemente tiene un impacto inicial mayor sobre algunos de los compuestos tradicionales, incluyendo los betalactámicos y macrólidos. Los nuevos agentes antimicrobianos, y entre ellos las quinolonas, han sido desarrollados teniendo en cuenta estos posibles problemas. Las quinolonas son sustancias sintetizadas, y las más modernas han sido creadas utilizando los últimos modelos de diseño asistido por ordenador, que relacionan la estructura con la actividad. Ello ha permitido predecir la actividad antibacteriana, las propiedades farmacocinéticas y el perfil de efectos secundarios de los nuevos fármacos diseñados. Sin embargo, las líneas de trabajo están orientadas hacia el desarrollo de la “quinolona perfecta”. Las antiguas quinolonas tenían una buena actividad frente a un amplio espectro de bacterias gramnegativas, las cuales, como tales patógenos, fueron una de las mayores amenazas clínicas a principio de la década de 1990. Sin embargo, el incremento rápido de las cepas de *S. pneumoniae* con sensibilidad disminuida a ciprofloxacino o levofloxacino (CMI de 1-2mg/l) fue ya entonces preocupante (61). Un motivo adicional de preocupación es las nuevas cepas de *Streptococcus pyogenes* resistentes a los macrólidos que están empezando a surgir en Europa (62). Al igual que con las resistencias de las bacterias grampositivas, están aumentando las resistencias entre otros patógenos del tracto respiratorio (por ejemplo *Haemophilus influenzae* y *Moraxella catarrhalis*). En la tabla adjunta se muestra la magnitud de estos problemas de sensibilidad.

Los avances en el diagnóstico de laboratorio nos han hecho conscientes del incremento de las resistencias, así como nos ha permitido reconocer la presencia de nuevos patógenos bacterianos asociados con enfermedades cada vez más familiares. La creciente importancia de *Chlamydia pneumoniae* en la neumonía adquirida en la comunidad ha sido repetidamente comunicada en los últimos años (63), al igual que se ha reconocido a *Haemophilus parainfluenzae* como importante patógeno del tracto respiratorio (64).

.Espectro antibacteriano.

El hecho que un agente antimicrobiano tenga la capacidad de matar a un microorganismo y una actividad de amplio espectro se considere una ventaja, ésta puede tener consecuencias importantes, como lo es una alteración de la flora normal, lo que se

traduce en un sobrecrecimiento de otros microorganismos, como levaduras, enterococos o clostridios, en el tracto intestinal o en el genital. Por el contrario, una inadecuada cobertura antimicrobiana en infecciones rápidas, graves y fulminantes, puede tener consecuencias fatales. Por ello debe instaurarse un tratamiento antibiótico empírico bien dirigido frente a los posibles patógenos. La correcta identificación de la enfermedad y la sospecha de su etiología pueden orientar mejor el tratamiento.

Ejemplos de la etiología de la neumonía adquirida en la comunidad, de la sinusitis aguda y de la bronquitis crónica, se muestran en la tabla adjunta. Y se ha demostrado que Moxifloxacino tiene un potencial de impacto mayor que otros fármacos.

Tabla nº 11: Ejemplos de la neumonía adquirida en la comunidad, de la sinusitis

aguda y de la bronquitis crónica.

<i>Patología</i>	<i>Etiología</i>
Neumonía adquirida en la comunidad	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	65
<i>Haemophilus influenzae</i>	12
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	7
<i>Legionella pneumoniae</i>	4
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	2
Total(%)	90
Sinusitis aguda	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	36
<i>Haemophilus influenzae</i>	26
<i>Staphylococcus aureus</i>	4
<i>Moraxella catarrhalis</i>	2
<i>Pseudomonas spp.</i>	2
Total(%)	70
Bronquitis crónica	
<i>Haemophilus influenzae</i>	38.3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	15.5
<i>Moraxella catarrhalis</i>	12.6
<i>Enterococcus spp.</i>	6.7
<i>Staphylococcus aureus</i>	5
<i>Pseudomonas spp.</i>	3
Total (%)	81.1

La evaluación de las actividades *in vitro* de varios de los antimicrobianos actuales o de los potencialmente disponibles para en tratamiento de las ITR adquiridas en la comunidad pone de manifiesto algunas discrepancias. Las emergencia de cepas de *S. pneumoniae* multirresistentes, de *H. influenzae* y de *M. catarrhalis* productoras de betalactamasas es un problema para varias clases de antimicrobianos, con la excepción por el momento de las quinolonas. Efectivamente, ninguna de las quinolonas, incluyendo desde los primeros compuestos como ciprofloxacino hasta los más nuevos

como moxifloxacino, se encuentran afectados por ninguno de estos mecanismos de resistencia. Sin embargo, los nuevos agentes, tales como moxifloxacino, grepafloxacino, gatifloxacino y trovafloxacino, tienen ventajas relativas con respecto a los primeros en términos de una actividad relativamente mejorada frente a patógenos grampositivos, manteniendo al mismo tiempo una buena actividad frente a bacterias gramnegativas (65,66).

La resistencia a los nuevos macrólidos, incluyendo azitromicina y claritromicina, en cepas de *Haemophilus spp.* y *S.pneumoniae*, es cada vez mayor, y además estos compuestos tienen de forma inherente una actividad reducida frente a las enterobacterias. La mayoría de los Betalactámicos, incluyendo algunas de las nuevas cefalosporinas, tiene una actividad reducida frente a las cepas de *S. pneumoniae* resistentes a la penicilina. Aquellos Betalactámicos con buena estabilidad frente a las betalactamasas conservan su actividad frente a *M. catarrhalis* y *H. influenzae*, pero al igual que todos los miembros de esta clase no son efectivos frente a microorganismos atípicos. Por el contrario, las nuevas quinolonas poseen una elevada actividad frente a las bacterias atípicas, incluyendo *Chlamydia*, *Mycoplasma* y *Legionella spp.*, así como frente a otras especies anteriormente mencionadas, siendo por tanto la alternativa a los macrólidos tradicionales.

Los microorganismos gramnegativos son menos comunes en las ITR adquiridas en la comunidad en comparación con las ITR nosocomiales, pero puede ser un problema en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica o con sinusitis crónica. La actividad frente a estos patógenos podría ser considerada como una ventaja en el tratamiento de las ITR adquiridas en la comunidad.

En la tabla adjunta se compara la actividad de los antimicrobianos habitualmente utilizados en el tratamiento de las ITR, y se desprende que las nuevas quinolonas tienen un espectro de actividad más amplio frente a estos patógenos. La actividad de moxifloxacino frente a las bacterias patógenas más frecuentes adquiridas en la comunidad es buena, con valores de CMI bajos (65,67).

Tabla nº 12: Comparación de actividad antimicrobiana (CMI) de varios antimicrobianos in vitro frente a patógenos comunes causantes de ITR.

Microorganismo	Amoxicilina	Cefuroxima	Claritromicina	Azitromicina	trimetoprima-sulfametoxazol	Levofloxacino	Moxifloxacino
<i>S. pneumoniae</i>							
Penicilina (S)	0.06	0.06-0.25	0.03-0.25	0.06-0.12	1		
Penicilina(I)	1-2	2-4	4-64	4-8	8-16		
Penicilina(R)	8	8-16	>64	>64	8-16	2	0.12
<i>H.influenzae</i>							
Betalactamasa+	2-128	2-4	8-16	1-2	0.05		
Betalactamasa -	1	2-8	8-24	1-2	0.05	0.015	0.03
<i>M. catarrhalis</i>							
Betalactamasa+	>16	2	0.06-0.4	0.06	0.25-0.5		
Betalactamasa -	0.25	2	0.06-0.4	0.06	0.25-0.5	0.06	0.03
<i>Micoplasma</i>	NA	-	0.008-0.03	0.002	-	NC	0.12
<i>Chlamydia</i>	-	-	0.03	0.25	-	0.5	0.06-0.12
<i>Legionella</i>	-	-	0.03-0.06	0.25	-	0.05	0.015
<i>S.aureus</i>	4->64	4->64	0.25->64	1->128	1->64	0.25-16	0-12-2
<i>Klebsiella</i>	>16-1024	8-16	NA	>64	>4	0.12-0.25	0.12-0.25

NA = NO APROPIADO; NC = NO COMUNICADO

Por tanto, de todo lo anteriormente expuesto concluiremos diciendo que, la actividad antimicrobiana in vitro del ácido nalidíxico, de los ácidos oxolínico y piromídico, del cinoxacino y de otras quinolonas de primera generación está limitada a unos pocos géneros de bacterias gramnegativas, sobre todo enterobacterias, siendo necesarias concentraciones ≥ 2 mg/l para inhibir el 90% de las cepas (CMI₉₀). El ácido pipemídico, con mejoras farmacológicas, apenas supera el espectro del ácido nalidíxico, salvo que cubre un 30% de *Pseudomonas aeruginosa*. Las fluoroquinolonas de segunda y tercera generación tienen un espectro y actividad intrínseca mayores, con CMI₉₀ que pueden llegar a ser mil veces inferiores para los géneros *Enterobacteriaceae*, *Haemophylus*, *Gardnerella*, *Branhamella*, *Neisseria*, *Vibrio* y *Aeromonas*, siendo también activas sobre *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Pseudomonas*,

Acinetobacter, *Yersinia*, *Legionella*, *Mycobacterium*, *Micoplasma*, *Ureaplasma*, *Chlamydia* y *Brucella*, entre otros. Su actividad frente a bacterias anaerobias es moderada, o nula en el caso concreto de *Bacteroides fragilis*, con excepción de las de última generación, como tosufloxacino, clinafloxacino, trovafloxacino, moxifloxacino y gatifloxacino, que inhiben con 2mg/l el 90% este tipo de patógenos, cifra próxima o superior, a la de los anaerobicidas clásicos como clindamicina, metronidazol, ornidazol, cefoxitina, imipenem y meropenem.

.Farmacocinética de las quinolonas.

Todas las quinolonas son absorbibles por vía oral, menos clinafloxacino, que está formulado para vía intravenosa. Las concentraciones plasmáticas máximas cuando se administran por vía oral son bajas, <2mg/l, para el norfloxacino, el grepafloxacino y el esparfloxacino; medias, <6mg/l, para el ciprofloxacino, el trovafloxacino, el moxifloxacino, el gatifloxacino, el lomefloxacino y el fleroxacino; y más altas para ofloxacino, el levofloxacino y el pefloxacino.

La absorción es rápida, entre una y dos horas para el ácido nalidíxico, el ácido pipemídico, el ofloxacino, el ofloxacino, el levofloxacino, el ciprofloxacino y el gatifloxacino; y más lenta e irregular para el grepafloxacino, el moxifloxacino, el esparfloxacino, el lomefloxacino, el fleroxacino y el pefloxacino; baja para el norfloxacino, <50%, y media para las otras quinolonas.

La absorción, cuando la fluoroquinolona es administrada por vía oral, disminuye significativamente cuando estos agentes son coadministrados con aluminio, magnesio, calcio, hierro o zinc, pues se forma un quelato insoluble entre la fluoroquinolona y el catión en el tracto gastrointestinal .(68,69)

La penetración es particularmente alta en riñón, pulmón, próstata, bronquios, nasal, vesícula biliar, vejiga y tejidos del aparato genital. (48,70) La concentración en orina de algunas fluoroquinolonas, como ciprofloxacino y ofloxacino (Floxin) puede ser incluso 25 veces más alta que la concentración en el suero. Consecuentemente este agente está especialmente indicado para el tratamiento de las infecciones del tracto urinario.(71)

La distribución de las fluoroquinolonas en los tejidos del tracto respiratorio y fluidos es especialmente interesante por la actividad que estos agentes presentan frente a

patógenos respiratorios. Trovafloxacino tiene la capacidad de penetrar en las meninges lo que hace que tenga un futuro papel en el tratamiento de la meningitis bacteriana.(70,72)

La eliminación plasmática es muy alta para el esparfloxacino (16 a 20 horas) y alta (>6 horas) para el lomefloxacino, el fleroxacino, el pefloxacino, el grepafloxacino, levofloxacino, el trovafloxacino y el moxifloxacino. La unión a proteínas plasmáticas es alta (>70%) para el ácido nalidíxico y el trovafloxacino, y moderada o baja (15% al 50%) para el resto. El ácido pipemídico, el ofloxacino, el levofloxacino, el gatifloxacino, el lomefloxacino y el fleroxacino tienen una eliminación renal alta, entre el 60% y el 98%, siendo baja la del grepafloxacino, el trovafloxacino, el moxifloxacino y el pefloxacino (<20%) y moderada la de los restantes. El ácido pipemídico, el grepafloxacino, el trovafloxacino y el esparfloxacino se excretan por heces hasta en un 50%.

El paso al espacio extravascular es alto, alrededor del 110% a 120% para casi todas las quinolonas, con buena difusión en los tejidos y una penetración intracelular superior a la concentración plasmática. El cociente entre la concentración en la mayoría de los tejidos y la concentración en el plasma suele ser entre 2 y 4, excepto en el hueso, que es de 1, y en el LCR, que es <1, lo que garantiza concentraciones suficientes para inhibir a gran parte de los patógenos humanos. De todas las quinolonas se pueden detectar metabolitos, pero en distinta cantidad: 90% en el caso del ácido nalidíxico, 50% al 60% para el pefloxacino y el ciprofloxacino y cantidades menores para el resto. Las principales formas de biotransformación son desmetilación, oxidación o rotura del anillo de la molécula, o conjugación del ácido carboxílico, dando lugar a oxoenoxacino, oxonorfloxacino, oxociprofloxacino, aminonorfloxacino, aminoetilnorfloxacino, desmetilpefloxacino, formilnorfloxacino, formilciprofloxacino y otros metabolitos. Algunos de estos metabolitos son activos desde el punto de vista antibacteriano, como el oxoenoxacino, el oxociprofloxacino y el desmetilpefloxacino.

Teniendo en cuenta la vía y el modo de eliminación, en los casos de insuficiencia hepática grave sólo habrá que modificar las dosis de pefloxacino, grepafloxacino y esparfloxacino. Si se trata de insuficiencia renal, el norfloxacino, el ofloxacino, el levofloxacino, el gatifloxacino, el clinafloxacino, el lomefloxacino y el

fleroxacino se acumularían, mientras que el ciprofloxacino, el pefloxacino y el grepafloxacino se modificarán poco.

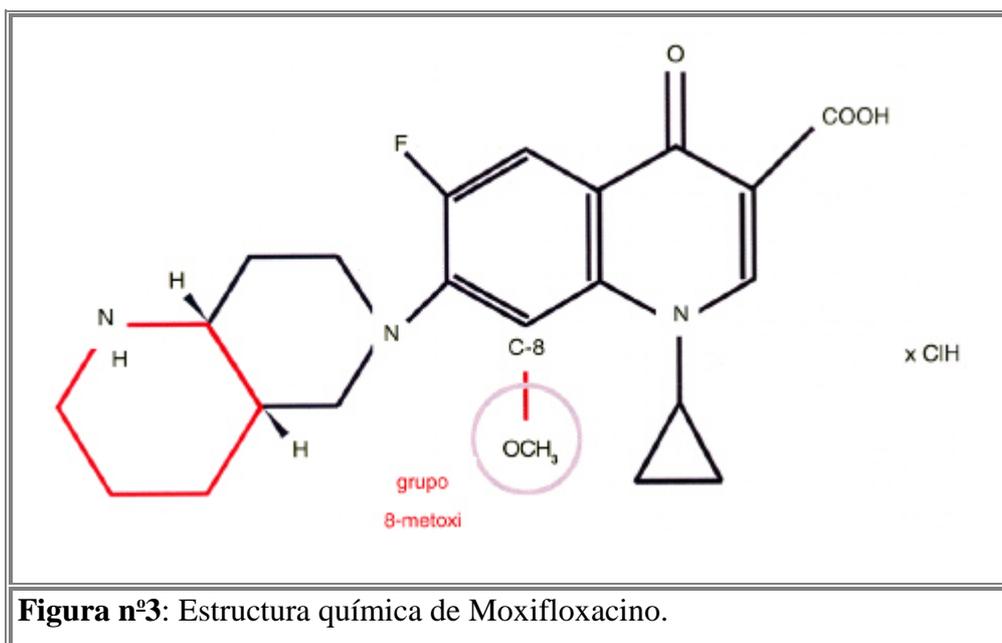
Las quinolonas penetran bien en los macrófagos y en los leucocitos polimorfonucleares de los animales y humanos, siendo capaces de destruir patógenos intracelulares habituales, como especies de los géneros *Legionella*, *Mycobacterium*, *Salmonella*, *Brucella* y *Chlamydia*, y ocasionales como *Pseudomonas*, *Haemophilus*, *Staphylococcus* y *Neisseria*.

Sólo ofloxacino y levofloxacino son exclusivamente eliminados por el riñón (48,71,73). Mecanismos renales o no renales de eliminación (gastrointestinal o hepático) son responsables de la eliminación del ácido nalidíxico, cinoxacino, norfloxacino, ciprofloxacino, enoxacino (Penetrex), lomefloxacino, gatifloxacino, moxifloxacino y esparfloxacino.

Trovafloxacino es eliminado primariamente por mecanismos hepáticos (74). Aproximadamente el 50% de trovafloxacino es conjugado en el hígado; 43% es excretado en heces (72)

5.- MOXIFLOXACINO.

El hidrocloreto de moxifloxacino, **4** (hidrocloreto del ácido 1-ciclopropil-7-([S, S]-2,8-diazabicyclo[4.3.0.]non-8-il)-6-fluoro-1,4-dihidro-8-metoxi-4-oxo-quinolina-3-carboxílico) se origina en un proceso de cicloaracilación (el método Grohe), desarrollado en Bayer por K. Grohe (75,76). Por tanto moxifloxacino es una 8-metoxiquinolona, de amplio espectro y rápida acción bactericida, con un grupo diazabicclico en posición 7 que aumenta la acción sobre los grampositivos, pero sustituyendo el radical Cl de la posición 8, fácilmente degradado por la luz, por un metoxi (CH₃OH), lo que evita problemas de fotosensibilidad, manteniendo el excelente espectro.



El principal mecanismo de acción es la unión a la DNA-girasa (girasa A y girasa B) y a la topoisomerasa IV de las bacterias (77,78,79). La topoisomerasa II(girasa) constituye la diana favorita en los microorganismos gramnegativos, mientras que en los microorganismos grampositivos, son ambas topoisomerasas (80). Debido a su doble

actividad, presenta una menor tasa de selección de resistencias que otras fluoroquinolonas que actúan principalmente sólo sobre una de estas enzimas (81,82). La aparición de resistencias suele ser un proceso secuencial en el cual, tras la primera mutación puntual, sobre la girasa o la topoisomerasa IV, según microorganismo, en la que aparece un moderado grado de resistencia, se produce una segunda mutación resultando un alto grado de resistencia adquirido. Debido a su doble actividad, estas bacterias parcialmente resistentes surgidas de una primera mutación siguen siendo sensibles a moxifloxacino, dificultando la aparición de resistencias (83).

Las topoisomerasas son enzimas que controlan el superenrollamiento y desenrollamiento del DNA bacteriano. El superenrollamiento permite a la larga molécula de DNA “empaquetarse” dentro de la célula bacteriana. Esta estructura fuertemente empaquetada debe ser desenrollada para permitir la replicación, transcripción y reparación del DNA. La inhibición de la actividad de estas enzimas impide a la célula bacteriana producir las proteínas necesarias para su reparación, crecimiento y reproducción. Una inhibición prolongada conducirá así a la muerte de la célula.

El espectro es muy amplio abarcando bacterias respiratorias como *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *K. pneumoniae*, *L. pneumophila*, *M. catarrhalis*, *M. pneumoniae* y *C. pneumoniae*, bacterias gramnegativas, y su acción no se ve afectada cuando *S. pneumoniae* y *H. Influenzae* son resistentes a los betalactámicos y los macrólidos; por otro lado, tiene buena actividad sobre bacterias anaerobias como *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, *Bacteroides fragilis*, *Prevotella* y *Fusobacterium* que a veces están implicadas en problemas respiratorios.

Los estudios farmacodinámicos han demostrado que 400mg de moxifloxacino, administrados por vía oral, se absorben rápidamente, con una biodisponibilidad del 86% al 91% aproximadamente, alcanzando unas concentraciones máximas de 3,1 a 4,5 mg/l a las 1-3 horas de su administración. La absorción y biodisponibilidad de moxifloxacino por vía oral no se ve afectada por alimentos o productos lácteos, por lo que puede tomarse con alimentos o en ayunas. Tampoco la administración de ranitidina (bloqueador H₂) provoca una modificación significativa de la farmacocinética de

moxifloxacino. El pH del estómago no parece tener influencia en la absorción de moxifloxacino en el tubo digestivo.

Los antiácidos, como por ejemplo Maalox^R, así como todas las preparaciones (inclusive preparaciones multivitamínicos) que contienen iones metálicos polivalentes, como por ejemplo magnesio, aluminio, zinc o hierro, pueden reducir considerablemente la absorción de las quinolonas, ya que se forman complejos de quelatos insolubles. Por esta razón, deben de tomarse dichos preparados como mínimo 4 horas antes o 2 horas después de la ingesta de moxifloxacino.

Moxifloxacino se distribuye rápidamente en el organismo y pasa en gran medida al espacio extravascular. Durante la fase de absorción, la concentración en saliva sobrepasa el nivel en plasma. El volumen de distribución en equilibrio estable de concentraciones (V_{ss}) es de aproximadamente 2 l/kg.

La unión de moxifloxacino a las proteínas plasmáticas, en especial a la albúmina sérica, es moderadamente pronunciada (30-48%), y además es reversible y casi independiente de la concentración y del sexo del paciente. En consecuencia en el plasma puede demostrarse una proporción de aproximadamente un 55% de sustancia libre. Dada esta unión a proteínas moderada, no cabe prever que una disminución del nivel de albúmina en pacientes mayores tenga una influencia relevante en el patrón de distribución.

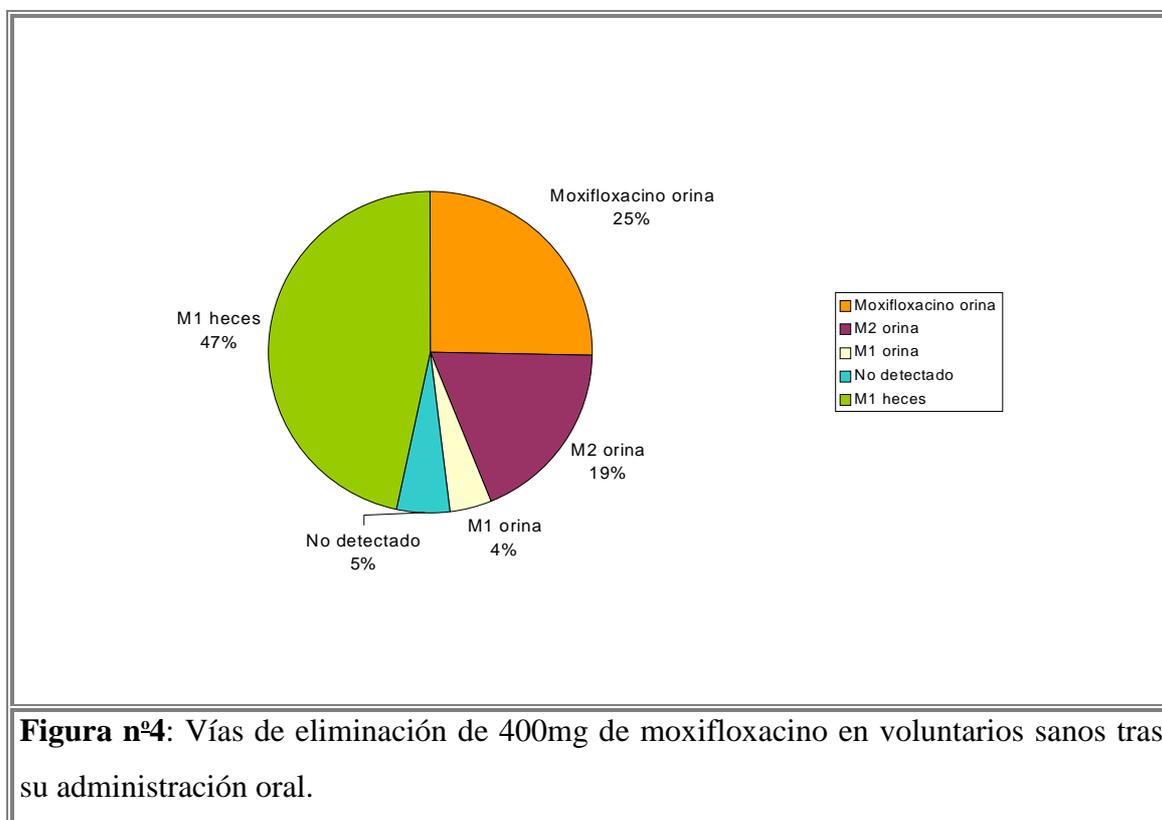
Se une sólo un 40% a las proteínas plasmáticas, su volumen de distribución es de 3-4 l/kg, con un área bajo la curva (AUC_{0-24h}) de 30,9mg/l/h y hemivida plasmática larga, de unas 12 horas. La concentración declina de manera bifásica, del 30% al 50% en las primeras 3 a 5 horas. La penetración en el líquido extravascular inflamatorio, de 2,6 mg/l o superior, representa más del 100% de la plasmática. En cuanto al sistema respiratorio, las concentraciones alcanzadas en los macrófagos alveolares, la mucosa bronquial y el líquido de revestimiento epitelial son 56,7 mg/l, 5,4 mg/l y 20,7 mg/l, respectivamente, y en los senos maxilares y etmoidales de 8,2 mg/l y 9,1 mg/l, cantidades muy por encima de las que se necesitan para la inhibición de las bacterias causantes de infecciones respiratorias. La concentración que se alcanza en la saliva es similar o superior a la plasmática. La penetración en los leucocitos PMN humanos es rápida, reversible y no saturable, con una concentración intracelular de 6,3 a 10 veces la extracelular.

En cuanto a la eliminación, moxifloxacino experimenta una biotransformación de fase II mediante metabolización por conjugación, sin que haya indicios de metabolismo oxidativo. Se producen dos metabolitos, uno en forma de sulfo-compuesto (M1) y otro de glucurónico (M2). M1 y M2 son los únicos metabolitos relevantes en el hombre y ambos son microbiológicamente inactivos.

En estudios clínicos de fase I y en estudios *in vitro* no se han observado interacciones farmacocinéticas metabólicas con otros fármacos sometidos a biotransformación con participación del citocromo P-450.

Moxifloxacino es eliminado del plasma con una hemivida terminal de aproximadamente 12 horas (84). La depuración corporal total media aparente tras una dosis de 400 mg oscila entre 179 y 246 ml/min.

Tras la administración de una dosis de 400 mg de moxifloxacino, la recuperación en orina (19% de fármaco inalterado, 2,5% de metabolito M1 y 14% de metabolito M2) y en heces (25% de fármaco inalterado, 36% de metabolito M1) alcanza aproximadamente el 96% (85).



Las vías de eliminación de moxifloxacino está equilibradas, no dependiendo exclusivamente de la función renal o de la hepática. Por ello, el riesgo de acumulación se reduce en el caso de insuficiencia renal o hepática (85).

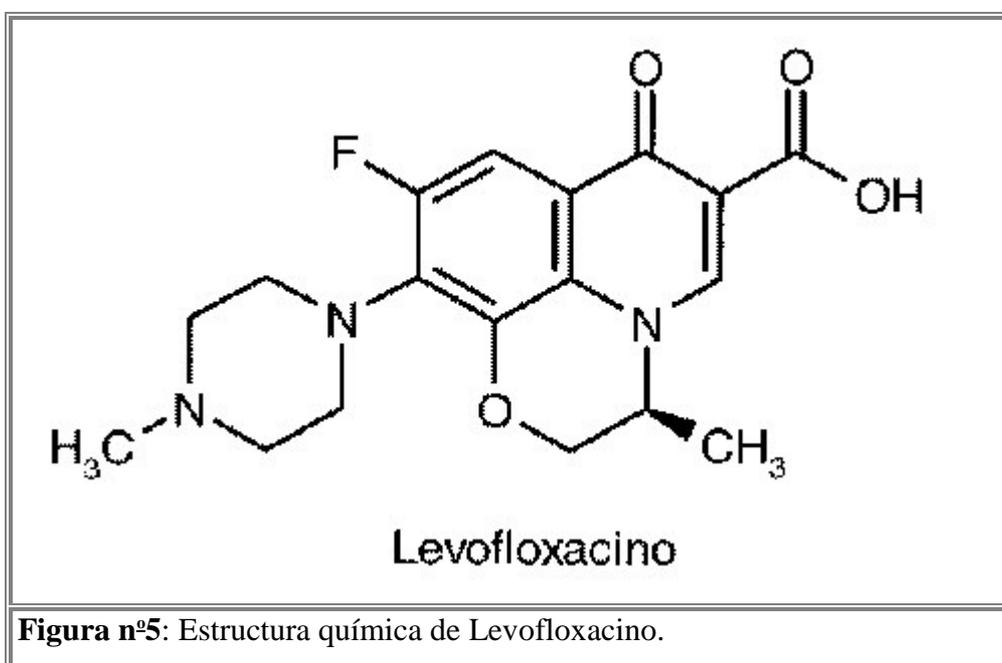
La propiedades farmacocinéticas de moxifloxacino no son significativamente diferentes en pacientes con alteración renal (incluyendo una depuración de creatinina $> 20 \text{ ml/min/1,73m}^2$). Aunque la depuración renal de moxifloxacino y de sus metabolitos disminuye proporcionalmente con la gravedad de la insuficiencia renal, ello no produce cambios significativos en las concentraciones plasmáticas de moxifloxacino. A medida que la función renal disminuye, las concentraciones de M2 (glucorónico) aumentan un factor de 2,5 (con una depuración de creatinina $< 30 \text{ ml/min/1,73m}^2$) (86,87). No se dispone de información sobre el uso de moxifloxacino en pacientes con una depuración de creatinina $< 30 \text{ ml/min/1,73m}^2$ ni en pacientes sometidos a diálisis renal.

Se ha investigado la farmacocinética y eliminación de moxifloxacino en pacientes con insuficiencia hepática (Child-Pugh A y B), no hallándose diferencias significativas con los voluntarios sanos (87). La alteración de la función hepática se asoció con una exposición superior a M1 en plasma, mientras que la exposición al fármaco original fue comparable a de los voluntarios sanos.

Los datos preclínicos indican que moxifloxacino pasa a la leche materna. Ante ello hay que recordar que al igual que las demás quinolonas, moxifloxacino puede causar lesiones en el cartílago de las articulaciones que soportan peso en animales inmaduros.

6.- LEVOFLOXACINO.

El levofloxacinó es el ácido (S)9-fluoro-2,3-dihidro-3-metil-10-(4-metil-1-piperazinil)-7-oxo-7H-pirido[1,2,3,de]-1,4,benzoxacina-6-carboxílico.



Antibacteriano con acción bactericida, perteneciente al grupo de las fluoroquinolonas, es el enantiómero S(-) del racémico ofloxacinó y fue aprobado para su uso en Estados Unidos en diciembre de 1996. Tiene una actividad de amplio espectro comparada con las primeras fluoroquinolonas (ciprofloxacino y ofloxacinó), con probada actividad frente a bacteria gram positivas y una excelente actividad frente a bacterias gram negativas y organismos atípicos. Aunque su actividad frente a organismos anaerobios ha sido mejorada respecto a las primeras fluoroquinolonas, el levofloxacinó no puede ser considerado como agente de primera línea frente a

anaerobios (88). Levofloxacino tiene una impresionante eficacia en estudios clínicos de neumonía adquirida en la comunidad (89,90), exacerbación bacteriana aguda de la bronquitis crónica, sinusitis aguda, infecciones en la piel, infecciones en el tracto urinario y en la pielonefritis (91).

Actúa inhibiendo el enzima bacteriano DNA-girasa (topoisomerasa II y IV), con lo que bloquea el proceso de replicación del DNA bacteriano.

Presenta un espectro antibacteriano extremadamente amplio, actuando sobre bacterias grampositivas y gramnegativas, tanto aerobias como anaerobias. Son susceptibles al levofloxacino, aerobios gram-positivos como *S.aureus* (cepas susceptibles a meticilina), *S.agalactiae*, *S.pneumoniae* (susceptibilidad intermedia y resistentes a penicilina). Aerobios gram-negativos como *E.coli*, *H.influenzae* (incluyendo cepas productoras de beta-lactamasas), *H.parainfluenzae*, *Kl.pneumoniae*, *M.catarhalis*, *Proteus mirabilis*, *P.vulgaris*, *Pseudomona aeruginosa*, *S.marcescens*. Anaerobios como: *B.fragilis*, *Clostridium perfringens*. Otros: *Chlamydia pneumoniae*, *Ch.psittaci*, *Legionella pneumophila*, *Micoplasma pneumoniae*. *St.aureus* meticilina-R es resistente.

Levofloxacino está disponible tanto como inyectable como para administración oral, y con una biodisponibilidad de casi el 100%.(88)

La hemivida en plasma es de aproximadamente de 6-8 horas en individuos con una función renal normal. Aproximadamente el 80% de levofloxacino es eliminado en la orina, por medio de la filtración glomerular y la excreción renal.(88)

La farmacocinética no está apreciablemente afectada por la edad, sexo, raza, en individuos sanos. (88)

Las interacciones con otras drogas es poco común como consecuencia de su baja degradación metabólica. Su administración conjunta con antiácidos u otros agentes que contienen cationes divalentes o trivalentes, disminuye su absorción. (88)

Estudios clínicos muestran que levofloxacino presenta en 24 horas, AUC/MIC de aproximadamente 100 y Cmax/MIC entorno a 10.

1º. Detectar resistencias evidenciadas “ in vitro” frente a distintos agentes antimicrobianos, procedentes de aislamientos bacterianos obtenidos en muestras de pacientes ingresados en el Hospital Militar Universitario “ Gómez Ulla”, analizando su comportamiento global.

2º. Evaluar “ in vitro”, la sensibilidad / resistencia de dichos agentes patógenos frente a dos recientes antimicrobianos, esto es, dos quinolonas de tercera generación, Levofloxacino y Moxifloxacino.

3º. Evaluar la tasa de resistencia actual en otra quinolona de segunda generación, presente en el mercado desde hace varios años

4º. Conocer la situación epidemiológica actual, en lo que a resistencias se refiere en muestras de pacientes hospitalizados, con respecto a la registrada en la base de datos del servicio.

MATERIAL Y MÉTODO.

El estudio se llevó a cabo con los pacientes hospitalizados del Hospital Militar Central Universitario “Gómez Ulla”.

Se utilizaron como muestras clínicas, hemocultivos, orinas, exudados de herida, exudados faríngeos, exudados nasales y abscesos, procedentes de dichos pacientes.

Las resistencias se valoraron en los aislamientos obtenidos a partir de dichas muestras.

La metodología de trabajo se efectuó de conformidad con:

Libro de Procedimientos Normalizado con arreglo a normativa ASM, registrado en el Libro 2º de Procedimientos del Servicio de Microbiología Clínica del Hospital Militar Central Universitario “Gómez Ulla”. La toma de muestras se efectuó de acuerdo con el Libro 1º de Procedimientos del citado Servicio (Recogida y Transporte de Muestras), acorde con el protocolo de la SEIMC (Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica). Control de Calidad documentado, acorde a documento de consenso sobre Calidad del Servicio, y adscrito al Programa de Control de Calidad de la SEIMC. La identificación de los microorganismos y su antibiograma se realizaron mediante el Sistema Automatizado CIM VITEK[®], de Biomèrieux. Lectura manual de CMI mediante E-test. Valoración estadística mediante SPSS y Statgraphics Plus, con licencia de usuario.

El Estudio epidemiológico mediante control de TSN (The Surveillance Network), a través de Internet. Consultoría Científica a través de Internet.

1. MUESTRAS ESTUDIADAS.

Se trabajó con 100 cepas, que incluye microorganismos gramnegativos y grampositivos, todos ellos causantes de bacteriemia y procedentes de muestras clínicas de pacientes hospitalizados que, o bien pertenecían al sistema sanitario del Instituto Social de las Fuerzas Armadas (ISFAS), militares o familiares de los mismos, o bien pertenecían al sistema sanitario del Patronato Militar de la Seguridad Social, personal civil al servicio del Ministerio de Defensa o familiares de los mismos.

La toma de muestras (Recogida y Transporte) se efectuó de acuerdo con el Libro 1º de Procedimientos del Servicio de Microbiología Clínica del Hospital Militar Central

Universitario “Gómez Ulla” y acorde con el protocolo de la SEIMC (Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica).

Las cepas así obtenidas, desde Junio de 2000 hasta Marzo de 2001, fueron almacenadas a -30 °C previa inoculación en condiciones de asepsia en CRYOBANK^R de Mast Diagnostics, a partir de un cultivo puro de dichas colonias.

Tabla nº13: Microorganismos y número de cepas de cada uno de ellos estudiados.

<i>Microorganismo</i>	<i>Nº de Cepas</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	2
<i>Citrobacter braakii</i>	1
<i>Citrobacter koseri</i>	1
<i>Escherichia coli</i>	23
<i>Enterobacter cloacae</i>	2
<i>Enterococcus faecalis</i>	11
<i>Enterococcus faecium</i>	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3
<i>Proteus mirabilis</i>	3
<i>Providencia rettgeri</i>	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8
<i>Serratia marcescens</i>	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	15
<i>Staphylococcus auricularis</i>	4
<i>Staphylococcus capitis</i>	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9
<i>Staphylococcus simulans</i>	1
<i>Staphylococcus warneri</i>	1
<i>Staphylococcus xilosus</i>	1
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1
<i>Streptococcus sanguis</i>	1
<i>Streptococcus viridans</i>	7

Las cepas fueron recuperadas simultáneamente en Agar Sangre y Caldo Común, donde fueron sembradas e incubadas a 35-37 °C durante 24 horas.

2. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS.

.HEMOCULTIVOS.

. *Material:*

- Frascos de hemocultivos:
 - ESP 80 A. Para aerobios.
 - ESP 80 N. Para anaerobios.
- Compresor de goma.
- Jeringas y agujas de punción intravenosa.
- Gasas estériles.
- Guantes de goma estériles.
- Alcohol etílico de 70° o isopropílico de 90%.
- Solución Yodada.

. *Obtención de la Muestra.-*

Se desinfectó los tapones de goma con alcohol, dejándolo secar al menos un minuto.

Se localizó por palpación la vena que se puncionó, utilizándose una vena distinta para cada extracción.

Se desinfectó con alcohol una zona de piel de unos 10 cm de diámetro y se procedió a la extracción de sangre evitando tocar el campo desinfectado.

Se introdujo la sangre en los frascos evitando que entre aire. Se movieron los frascos para que la sangre y el medio de cultivo se mezcle. Se introdujeron los frascos a 37° C.

El número de frascos que se emplearon en la mayoría de los casos fue de tres frascos dobles, tomados separadamente. El volumen de sangre tomado fue entre 10 y 30 ml.

. *Transporte.-*

Se recibieron en el laboratorio lo antes posible y se mantuvieron en estufa a 35-37° C hasta su procesamiento.

Sólo se realizó la extracción de sangre arterial en aquellos casos en los que no existían venas accesibles, y se admitieron muestras procedentes de catéteres en aquellos casos en los que se sospechaba infección del propio catéter.

.Procesamiento de los hemocultivos.

Los frascos de hemocultivo se incubaron a una temperatura de 35-37 ° C empleando el Sistema automatizado ESP Blood Culture System[®] de Difco.

Los subcultivos se efectuaron sistemáticamente en Agar Sangre al cabo de 18-24 horas de incubación.

En los caldos de cultivo positivos se efectuó la identificación y cálculo de sus CMIs empleando el Sistema automatizado CIM VITEK[®].

.UROCULTIVOS.

.Material:

- Gasas estériles.
- Jabón neutro.
- Recipiente de boca ancha con tapa de rosca hermético y estéril.
- Bolsas de plástico o colectores estériles para niños.

.Obtención de la Muestra.-

Se recogió la primera micción de la mañana y siguiendo la técnica de recogida que recomienda la SEIMC, según se trate de una mujer, hombre o niño. El volumen mínimo de orina que se admitió fue de 5-10ml.

En aquellos pacientes ingresados con imposibilidad de recoger la muestra por sí mismos, se realizó sondaje vesical observando las medidas asépticas oportunas.

.Transporte.-

Todas las muestras fueron analizadas en el laboratorio en las dos horas siguientes a su recogida, y en aquellos casos en los que no fue posible se mantuvieron refrigeradas a 4°C durante un tiempo máximo de 24 horas.

.Procesamiento.-

Se sembró un volumen de orina de 0,01 ml (10µl) mediante asa calibrada estéril desechable en el medio de cultivo general Agar CLED. Las placas sembradas se incubaron durante 18-24 horas en estufa de aerobiosis a una temperatura de 36°C ± 1.

Aquellas placas que no presentaron crecimiento durante las primeras 18-24 horas de incubación, fueron sometidas a un segundo ciclo.

Todas las placas con un recuento ≥ 10 colonias se procesaron de la siguiente manera:

- Se realizó Tinción de Gram de cada una de las diferentes colonias.
- Los Bacilos Gram (-) siguieron el procedimiento del Sistema automatizado CIM VITEK[®].
- Cocos y Bacilos Gram (+), se hizo pase a Agar Sangre, incubándose las placas en posición invertida durante 18-24 horas a una temperatura de 36°C ± 1.
- Para identificar las colonias de Cocos Gram (+) y Bacilos Gram (+) se realizaron las pruebas de Catalasa, Coagulasa y Oxidasa.

.EXUDADOS PURULENTOS, HERIDAS Y ABSCESOS.

.Material:

- Suero fisiológico estéril.
- Torundas con medio de transporte (Amies, Stuart).
- Jeringas y agujas estériles.

.Obtención de la Muestra.-

Se lavó cuidadosamente la superficie de la herida, se recogió el pus con jeringa y aguja. En aquellas ocasiones que se hizo la toma del producto en torunda se dispuso de medio de transporte.

.Transporte.-

Se recepcionó en el laboratorio en el transcurso de dos horas y en aquellos casos en los que no fue posible se conservaron a temperatura ambiente hasta su procesamiento.

.Procesamiento.-

Todas las muestras fueron sembradas en Agar Sangre y Agar Chocolate para aislar estafilococos y estreptococos, y en un tubo de Caldo de Tioglicolato como medio de enriquecimiento tanto para aerobios como para anaerobios. Las placas sembradas se incuban a 35°C en una jarra de CO₂ y el tubo de Caldo de Tioglicolato en estufa de aerobiosis a una temperatura de 36°C ± 1.

Aquellas placas en las que se observó la presencia de colonias, se efectuó un Gram a cada una de ellas y según si se tratase de Cocos o Bacilos, Gram (+) o Gram (-), siguieron el procedimiento del Sistema automatizado CIM VITEK[®].

MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR.

1. -EXUDADO FARÍNGEO-AMIGDALINO.

.Material:

- Depresor lingual.
- Torunda de algodón sin medio de transporte.

.Obtención de la Muestra.-

Bajo visión directa, con la ayuda de un depresor lingual, se tocó con la torunda en todas las partes con exudado, membranas o inflamación. Se frotó las criptas tonsilares y la faringe posterior. En todos los casos se evitó tocar la mucosa oral, lengua o úvula.

Sólo fue preciso una muestra.

.Transporte y Conservación.-

No se observaron medidas especiales de transporte y conservación.

2. -EXUDADO NASO-FARINGEO.-

.Material:

- Torundas flexibles de alginato cálcico.
- Para aspirados: Tubo aspirador de Teflón o jeringa y catéter

.Obtención de la Muestra.-

Se pasó la torunda a través de la nariz suavemente, hasta llegar a la nasofaringe y manteniendo la torunda cerca del septum y suelo de la fosa, se rotó la torunda y se extrajo.

Para aspirados, se pasó el tubo de teflón o un catéter conectado a una jeringa por vía pernasal, de igual forma que la torunda.

.Transporte y Conservación.-

No se observaron medidas especiales de transporte y conservación.

3. -SENOS-PARANASALES.-

.Material:

- Povidona yodada al 10%.
- Contenedor estéril.

- Medio de transporte para anaerobios.

.Obtención de la muestra.-

Se desinfectó el lugar de la punción con Povidona.

La muestra se obtiene por aspiración del seno (por vía endonasal o maxilar) o bien por procedimientos quirúrgicos. Se inyectó una parte de la muestra en un medio de transporte para anaerobios y se envió el resto en un contenedor estéril o en la propia jeringa.

.Transporte.-

Se recepcionó en el laboratorio lo más rápidamente posible.

.Procesamiento de las muestras del tracto respiratorio superior.-

1. - Exudado faríngeo. El exudado faríngeo se sembró únicamente en CNA (Agar columbia colistina-nalidíxico) y se incubó en ambiente de CO₂ a 37^o-C. Se observó a las 24 horas y si hubo crecimiento de Cocos Gram(+), con colonias hemolíticas, pequeñas, transparentes o translúcidas y catalasa (-) se realizó la prueba de sensibilidad a Bacitracina y aglutinación con antisueros específicos para estreptococos.

2. - Exudado nasal. Se sembró la muestra en Agar manitol-sal y se incubó a 37^o C. Se leyó a las 24 y 48 horas de incubación buscando colonias manitol (+) (amarillas) staphyslide (+). En este caso se realizó un pase a Agar MRSA (para identificación precoz de *S.aureus* resistente a meticilina) y a Agar Sangre.

3. - Muestras sinusales. Se sembró en Agar Sangre (AS), Agar Chocolate (ACH), Agar McConkey (MAC), Infusión cerebro corazón (BHI) y Medios para anaerobios.

En los tres tipos de muestra para la realización de pruebas de sensibilidad a antimicrobianos se siguieron el procedimiento del Sistema automatizado CIM VITEK[®].

3. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA. SISTEMA AUTOMATIZADO CIM VITEK^R.

El Sistema automatizado CIM VITEK^R procesa las muestras mediante el lector / incubador VITEK. Dicho sistema consta además de un Dispensador Brinkmann Dispensette^R para la dilución de las muestras, de un Colorímetro para la comprobación de las diluciones y de las Tarjetas VITEK.

El Dispensador del diluyente graduable se utiliza para suministrar la solución salina estéril con que se diluyen las muestras.

El Colorímetro de VITEK es un fotómetro de un solo haz con un filtro de 450nm y que se emplea como ayuda para la correcta inoculación de las tarjetas VITEK de Biomérieux. Las zonas de transmitancia del inóculo están marcadas mediante bandas de color en la escala. Estas bandas se han creado para inóculos que proporcionan el mejor funcionamiento de la Tarjeta. Para estandarizar los rangos del microorganismo se utilizan los patrones del colorímetro.

Las Tarjetas VITEK están diseñadas para ser utilizadas conjuntamente con el Sistema VITEK, para la identificación automatizada del microorganismo, al tiempo que para la determinación de la susceptibilidad “in vitro” a agentes antimicrobianos. Para ello las tarjetas VITEK de susceptibilidad contienen en sus pocillos, antimicrobianos a concentraciones equivalentes en eficacia a las utilizadas en métodos estándar, en mcg/ml, combinado con el medio de cultivo microbiológico. Las Tarjetas VITEK de identificación automatizada, contienen medios basados en las pruebas bioquímicas convencionales adaptadas para su uso en el Sistema VITEK.

Los principios de las Tarjetas VITEK de susceptibilidad, adaptados a una técnica automatizada están basados en la técnica de microdilución para concentración mínima inhibitoria (CMI) publicada por MacLowry y Marsh(92) y Gerlach(93). La tarjeta es básicamente una versión miniaturizada y abreviada de la técnica de doble dilución para determinar la CMI por el método de microdilución.(94)

La suspensión del microorganismo se prepara en un tubo de plástico o de vidrio y medimos %T. Se ajusta la suspensión añadiendo microorganismo o solución salina estéril al 0,45%-0,5%, hasta que se consiga una suspensión dentro del rango

establecido. Dicha suspensión se inocula en la tarjeta mediante el Tubo de transferencia y el Módulo de llenado. Por último se coloca la tarjeta en el Lector/ incubador.

Cuando se trata de una identificación, antes de estandarizar el inóculo, en algunas muestras realizamos un examen microscópico o pruebas complementarias (tinción gram, catalasa, coagulasa, citocromo oxidasa, etc.). En ocasiones fue necesaria la aplicación de pruebas adicionales para una identificación final.

El Lector / incubador es donde se efectúa el test; las tarjetas del test inoculadas con la muestra se colocan en un entorno de temperatura controlada donde son leídas continuamente con sensores fotométricos que detectan cambios en color y turbidez.. Los tiempos de incubación fueron distintos dependiendo de la velocidad de crecimiento del microorganismo. Dichos sensores miden la atenuación de la luz que pasa a través de los pocillos. La información se envía al ordenador, donde el programa informático VITEK determina si se ha producido crecimiento de acuerdo con la atenuación de la luz detectada por el sistema óptico.

El crecimiento microbiano se manifiesta pues, como turbidez o cambio de color en los pocillos. Si el crecimiento microbiano alcanza niveles iguales o mayores que el umbral predeterminado, los valores de CMI para cada agente antimicrobiano en la tarjeta se determina usando un método de regresión lineal, junto con la identificación del microorganismo.

4. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA. METODO E-TEST.

Múltiples estudios han puesto de manifiesto que para la mayoría de los microorganismos de interés clínico los valores de CMI obtenidos con este método son similares (en +/- 1 dilución) a los que se obtiene con los métodos convencionales de dilución.(95,96,97,98,99,100,101,102,103,104,105).

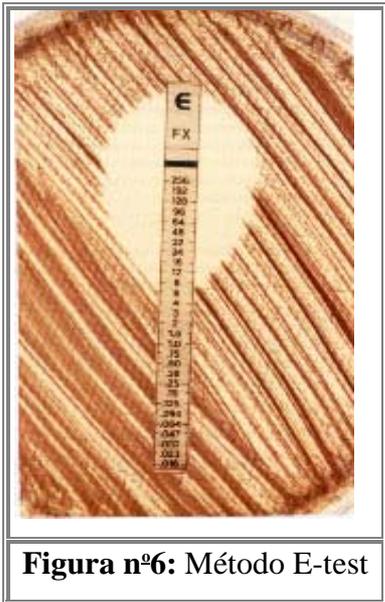


Figura nº6: Método E-test

Esta prueba se basa en el mismo método de la difusión con disco, pero en este caso se emplean tiras de plástico no poroso de 5cm de largo y 5mm de ancho. La tira contiene un gradiente de concentraciones de un antimicrobiano; una de las superficies de la tira tiene marcadas las distintas concentraciones del gradiente. Cuando la tira entra en contacto con el medio de cultivo, que previamente ha sido inoculado con la cepa en estudio, absorbe agua de éste e inmediatamente el antimicrobiano comienza a difundir. Tras 18 horas de incubación a 35-37 ° C, la intersección de la elipse de crecimiento del microorganismo con la tira permite una determinación directa de la CMI.

Este método permite obtener una información cuantitativa (CMI, no CMB).

.Material.

- Caldo apropiado o solución salina al 0.85% para la preparación del inóculo.
- Algodón estéril, tijeras, pinzas y McFarland estándar.
- Placas de Petri.
- Medio de cultivo. Mueller-Hinton. El agar Mueller-Hinton se preparó a partir de una base deshidratada y siguiendo las instrucciones del fabricante, Difco. El medio, previa esterilización en autoclave durante unos 40 minutos, se dejó enfriar hasta 45-50 ° C y se vertió en placas de Petri hasta una altura aproximada de 4mm, dejándolas reposar sobre una superficie nivelada. Cuando el agar se solidificó, se conservó en nevera hasta su uso.
- Escobillones.

- Asas de siembra.
- Tiras de E-test (AB BIODISK, Solna, Sweden) de Moxifloxacino y Levofloxacino.
- Cepas en estudio.

.Procedimiento.

El inóculo se preparó a partir de la placa de cultivo puro (placa de Agar Sangre, en el que se recuperó la cepa congelada), donde se tomó con el asa varias colonias del microorganismo en estudio. La muestra así obtenida, se transfirió a un tubo con solución salina al 0.85%. Se ajustó la densidad de la suspensión del microorganismo a la del patrón (0.5 en la escala de McFarland para aerobios y 1 en la escala de McFarland para anaerobios), agregando más bacterias o más solución salina estéril.

Para sembrar las placas, se introdujo un escobillón estéril en el inóculo y se eliminó el sobrante apretando el algodón contra la pared del tubo, mediante un movimiento rotatorio, por encima del nivel del líquido. Se pasó el escobillón por toda la superficie del medio, recorriendo finalmente todo el borde de la superficie del agar. Se taparon las placas, y se dejaron secar unos minutos a la temperatura ambiente.

En cada placa se colocaron las tiras E-test de los dos antibióticos con unas pinzas estériles.

Las placas se incubaron en la estufa de aerobiosis a 35-37° C.

Se midió la intersección de la elipse de crecimiento del microorganismo con la tira, obteniéndose así una determinación directa de la CMI, a las 18 horas, (18+24) horas y (18+48) horas de incubación.

5. VALORACIÓN ESTADÍSTICA.

La valoración estadística se efectuó mediante SPSS y Statgraphics Plus, y el tipo de estudio estadístico aplicado fue el Cluster Análisis o Análisis en Conglomerados.(106, 107, 108)

La gran ventaja del Cluster Análisis es su gran capacidad discriminativa, lo que le convierte en el estudio estadístico de elección para estudios rápidos en los que intervengan muchas variables cuantitativas (108).

Definimos Cluster Análisis como una Técnica Estadística que agrupa un conjunto de Objetos Similares, de acuerdo con una sistemática lógica de diseño. Podríamos afirmar que el Cluster Análisis es un estudio pormenorizado de tendencias, lo que le otorga un importante valor predictivo (108).

Los clusters son grupos de observaciones con similares características. Para formar los clusters, el procedimiento que se sigue es la búsqueda de observaciones en grupos separados, observaciones con similares características, para después agruparlos en un nuevo grupo. Este proceso se repite hasta que sólo queda un solo grupo.

Para poder aplicar un Cluster Análisis, han de cumplirse dos condiciones (108):

- Que los individuos del mismo grupo sean “similares”.
- Que los individuos de grupos diferentes sean “no similares”.

El Cluster Análisis comienza con la creación de una matriz de datos, donde en nuestro caso la evolución de moxifloxacino o evolución de levofloxacino, se disponen en las filas y las observaciones, los microorganismos, en las columnas.

El fundamento es medir una distancia como medida de similitud.

El concepto de Distancia no es físico, sino ideal: todo aquello que une o separa a los elementos de una muestra en mayor o menor grado. Por ejemplo: tiempo, peso, color, longitud, etc. , y en nuestro caso C.M.I. (Concentración Mínima Inhibitoria).

Hay dos tipos de métodos (108):

- Jerárquicos.
- No jerárquicos.

Nosotros hemos empleado el Cluster Análisis para variables cuantitativas si bien puede ser usado también para variables cualitativas.

Nos basamos en el álgebra euclidiana, que no es sino una métrica relativa multipolar.

Medimos distancias entre objetos o clusters en espacios definidos, bidimensionales o tridimensionales, aunque pueden ser multidimensionales proyectados sobre espacios reales, utilizando vectores definitorios.

$$d(\mathbf{01}, \mathbf{02}) = \left[\sum_{i=1}^n (x_i - y_i)^2 \right]^{-1} \quad (108)$$

01 y 02 son los vectores atribuidos de $x = (x_i)$ e $y = (y_i)$.

Clasificación de Cluster Análisis (108):

1. Métodos Jerárquicos.

1.1. Algoritmos Jerárquicos Aglomerativos.

1.1.1. Algoritmos de Contractura Espacial:

Método de Ligadura Simple.

1.1.2. Algoritmos de Dilatación Espacial.

Método de la Ligadura Completa.

1.1.3. Algoritmos de Conservación Espacial.

Método de la Ligadura Media.

Método de la Ligadura Media Ponderada.

Método del Centroide.

Método de la Mediana.

Método de Ward.

1.2. Algoritmos Jerárquicos divisorios.

2. Métodos Particionales.

2.1. Algoritmo convergente de k medias (Hartigan).

2.2. Otros algoritmos.

2.2.1. Análisis de la densidad y moda (Wishart).

2.2.2. Algoritmo líder.

Algoritmos Jerárquicos Aglomerativos. Método General.

1. Empezamos con n clusters de 1 objeto.
2. Computamos la distancia matricial D entre clusters u objetos.
3. Unimos en un solo cluster los 2 clusters u objetos con distancias más pequeñas entre sí.
4. Computamos una nueva distancia matriz entre los clusters que acabamos de definir.
5. Repetimos los pasos 3 y 4 hasta llegar a un solo cluster.

Supongamos un cluster k formado por la unión de los clusters p y q, de manera que:

$$c_k = c_p \cup c_q$$

La distancia de c_k a un nuevo cluster c_i vendrá dada por la expresión:

$$d_{ki} = \alpha_p \cdot d_{pi} + \alpha_q \cdot d_{qi} + \beta \cdot d_{pq} + \gamma \cdot (d_{pi} - d_{qi})$$

para que $i \neq p, q$ siendo d_{pi} y d_{qi} las distancias entre c_i y c_p o c_q , respectivamente.

α_p , α_q , β y γ son constantes que dependen del tamaño de los conglomerados c_p y c_q .

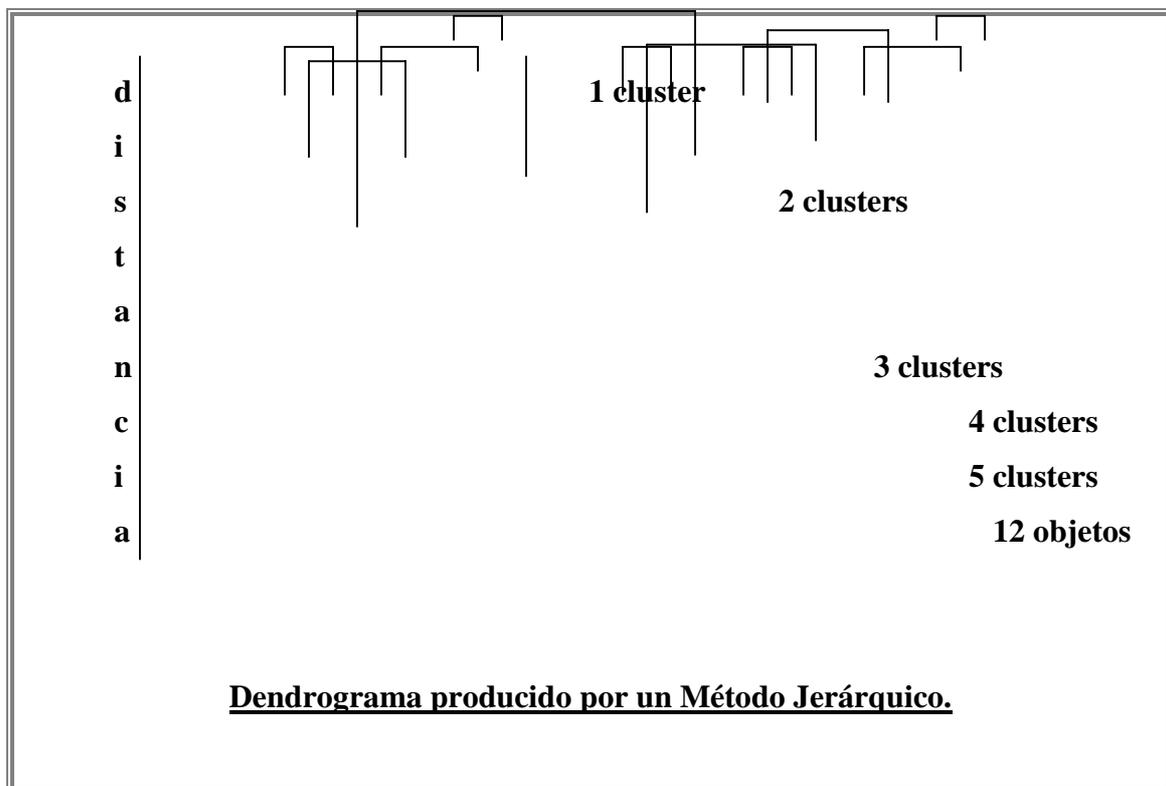
Nos centraremos en los métodos jerárquicos y dentro de los jerárquicos en los aglomerativos, que son los que utilizaremos.

Para nuestro estudio el método de cluster empleado fue el del “Vecino más próximo” (Método de la ligadura simple o “Simple Linkage”). Distancia métrica: cuadrado euclídeo. El tipo de gráfico elegido para ilustrar el estudio fue el dendrograma.

Un dendrograma es algo así como un “mapa de la ruta discriminante” de un algoritmo de cluster.

Las distancias reveladas por un dendrograma son euclidianas. Dichas distancias muestran lo que une o separa a los objetos de nuestro estudio y nunca es una distancia geométrica en el sentido que generalmente todos entenderíamos.

Para un mejor entendimiento de lo que hasta ahora venimos explicando y de cómo ha sido aplicado a nuestro estudio, a continuación se expone un ejemplo teórico de dendrograma:



Partimos de 12 objetos de los que obtenemos primero 5 clusters, luego 4, 3, 2, y finalmente 1, con lo que la discriminación queda resuelta a través de una ruta representada gráficamente por el dendrograma. Los objetos tendrán en común desde el todo hasta nada dependiendo del grado de discriminación requerido.

6. ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO.

Consultando la base de datos de Servicio de Microbiología Clínica del Hospital Militar Central “Gómez Ulla” de los últimos cuatro años (1997, 1998, 1999, 2000), se pretendió conocer cuál era la situación de nuestro hospital en lo que a sensibilidades y resistencias se refiere.

Para ello se seleccionaron aquellos microorganismos, que sistemáticamente se habían aislado en el transcurso de esos cuatro años, excluyéndose por tanto, aquéllos que no se habían aislado en todos los años. A continuación se vio cuál era el Porcentaje de Sensibilidad Total de cada uno de ellos, y en los distintos años, frente a cinco agentes antimicrobianos. Dichos agentes antimicrobianos fueron: Amoxicilina / Ácido Clavulánico, Cefotaxima, Ciprofloxacino, Gentamicina y Trimetoprim/ Sulfametoxazol.

El criterio de selección de dichos agentes antimicrobianos fue el de recoger familias de agentes antimicrobianos de uso terapéutico común y de ellas un agente antimicrobiano representativo, con especial interés en la familia de las Quinolonas y en este caso en el Ciprofloxacino.

Dicha información se recoge en la tabla nº81 expuesta en los resultados.

Los resultados obtenidos los dividiremos fundamentalmente, en los siguientes apartados:

1. Sensibilidades obtenidas según el Sistema Automatizado VITEK^R.
2. Lectura manual de la Concentración Mínima Inhibitoria (C.M.I.) a Moxifloxacino y Levofloxacino por el Método E-test.
3. Valoración estadística.
4. Estudio Epidemiológico.

1. SENSIBILIDADES OBTENIDAS SEGÚN EL SISTEMA AUTOMATIZADO VITEK^R.

La sensibilidad de los microorganismos frente a los antibióticos probados y que se determinó según los parámetros utilizados por el Sistema Automatizado VITEK^R y de acuerdo con la normativa establecida por la NCCLS (National Comitée for Clinical Laboratory Standards) (109), se detalla en las tablas que a continuación se exponen.

Tabla nº 14: *Citrobacter braakii*. Sensibilidades según Sistema Automatizado VITEK^R

	<i>Citrobacter braakii</i>
Antibióticos	Cepa 13
Amoxicilina/ac. clavulánico	≥32 R
Ampicilina	≥32 R
Aztreonam	≤8 S
Cefazolina	≤8 S
Cefotaxima	≤4 S
Ceftazidima	≤8 S
Cefuroxima-axetilo	≤4 S
Cefuroxima-sodio	≤4 S
Cefalotina	16 I
Ciprofloxacino	≤0,5 S
Fosfomicina	≤16 S
Gentamicina	≤0,5 S
Nitrofurantoína	≤32 S
Norfloxacino	≤4 S
Ac.pipemídico	≤4 S
Piperacilina	≤8 S
Tobramicina	≤0,5 S
Trimetoprim/sulfametoxazol	≤10 S

R = Resistente

I = Intermedio

S = Sensible

Tabla nº 15: *Citrobacter koseri*. Sensibilidades según Sistema Automatizado VITEK^R

	<i>Citrobacter koseri</i>
Antibióticos	Cepa 100
Amoxicilina/ac. clavulánico	≤8 S
Ampicilina	≥32 R
Aztreonam	≤8 S
Cefazolina	≤8 S
Cefotaxima	≤4 S
Ceftazidima	≤8 S
Cefuroxima-axetilo	≤4 S
Cefuroxima-sodio	≤4 S
Cefalotina	≤2 S
Ciprofloxacino	≤0,5 S
Fosfomicina	≤16 S
Gentamicina	≤0,5 S
Nitrofurantoína	≤32S
Norfloxacino	≤4 S
Ac.pipemídico	≤4 S
Piperacilina	≤8 S
Tobramicina	≤0,5 S
Trimetoprim/sulfametoxazol	≤10 S

R = Resistente

I = Intermedio

S = Sensible

Tabla nº 16: *Enterobacter cloacae*. Sensibilidades según Sistema Automatizado VITEK^R

Antibiótico	<i>Enterobacter cloacae</i>	
	Cepa 43	Cepa 72
Amikacina		≤2 S
Amoxicilina/ac. clavulánico	≥32 R	
Ampicilina/sulbactam		≥32 R
Ampicilina	≥32 R	
Aztreonam	≤8 S	≥32 R
Cefazolina	≥32 R	
Cefepima		≤4 S
Cefotaxima	≤4 S	32 I
Ceftazidima	≤8 S	16 I
Cefuroxima-axetilo	≥32 R	
Cefuroxima-sodio	≥32 R	
Cefalotina	16 I	
Ciprofloxacino	≤0,5 S	≤0,5 S
Fosfomicina	≤16 S	32 I
Gentamicina	≤0,5 S	≤0,5 S
Imipenem		≤4 S
Meropenem		≤2 S
Nitrofurantoína	≥32 R	
Norfloxacino	≤4 S	
Ácido pipemídico	≤4 S	
Piperacilina	≥32 R	64 I
Piperacilina/tazobactam		16 S
Ticarcilina		≤16 S
Tobramicina	≤0,5 S	≤0,5 S
Trimetoprim/sulfametoxazol	≤10 S	≤10 S

R = Resistente

I = Intermedio

S = Sensible

Tabla nº 17: *Enterococcus faecium*. Sensibilidades según Sistema Automatizado VITEK^R

	<i>Enterococcus faecium</i>
Antibióticos	Cepa 86
Ampicilina	≥16 R
Fosfomicina	≤16 S
Gentamicina 500	SYN-S
Imipenem	≤1 S
Penicilina-G	≥16 R
Estreptomicina 2000	SYN-R
Teicoplanina	≤4 S
Vancomicina	≤0,5 S

R = Resistente

I = Intermedio

S = Sensible

SYN-R: Resistente, no sinergismo con penicilina.

SYN-S: Sensible, posible sinergismo con penicilina.

Tabla nº 18: *Klebsiella pneumoniae*. Sensibilidades según Sistema Automatizado VITEK^R

	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
Antibióticos	Cepa 33	Cepa 98
Amoxicilina/ac. clavulánico	≤8 S	≤8 S
Ampicilina	≥32 R	≤0,25 S
Aztreonam	≤8 S	≤8 S
Cefazolina	≤8 S	≤8 S
Cefotaxima	≤4 S	≤4 S
Ceftazidima	≤8 S	≤8 S
Cefuroxima-axetilo	≤4 S	≤4 S
Cefuroxima-sodio	≤4 S	≤4 S
Cefalotina	≤2 S	≤2 S
Ciprofloxacino	≤0,5 S	≤0,5 S
Fosfomicina	≤16 S	≤16 S
Gentamicina	≤0,5 S	≤0,5 S
Nitrofurantoína	≤32 S	64 I
Norfloxacino	≤4 S	≤4 S
Ácido pipemídico	≤4 S	≤4 S
Piperacilina	≤8 S	≤8 S
Tobramicina	≤0,5 S	≤0,5 S
Trimetoprim/sulfametoxazol	≤10 S	≤10 S

R = Resistente

I = Intermedio

S = Sensible

Cepa 19, sensibilidad conocida, no se efectuó antibiograma.

Tabla nº 19: *Proteus mirabilis*. Sensibilidades según Sistema Automatizado VITEK^R

Antibióticos	<i>Proteus mirabilis</i>		
	Cepa 52	Cepa 54	Cepa 93
Amoxicilina/ac. clavulánico	≤8 S	≤8 S	≤8 S
Ampicilina	≤0,25 S	≤0,25 S	≥32 R
Aztreonam	≤8 S	≤8 S	≤8 S
Cefazolina	≤8 S	≤8 S	≤8 I
Cefotaxima	≤4 S	≤4 S	≤4 S
Ceftazidima	≤8 S	≤8 S	≤8 S
Cefuroxima-axetilo	≤4 S	≤4 S	≤4 S
Cefuroxima-sodio	≤4 S	≤4 S	≤4 S
Cefalotina	≤2 S	4 S	8 I
Ciprofloxacino	≥4 R	≥4 R	≥4 R
Fosfomicina	≤16 S	≤16 S	≤16 S
Gentamicina	≤0,5 S	≤0,5 S	≤0,5 S
Nitrofurantoína	≥128 R	≥128 R	64 I
Norfloxacino	≥16 R	≥16 R	≥16 R
Ac. pipemídico	≥32 R	≥32 R	≥32 R
Piperacilina	≤8 S	≤8 S	32 I
Tobramicina	≤0,5 S	≤0,5 S	1 S
Trimetoprim/sulfametoxazol	≥320 R	≥320 R	≥320 R

R = Resistente

I = Intermedio

S = Sensible

Tabla nº 20: *Providencia rettgeri*. Sensibilidades según Sistema Automatizado VITEK^R

	<i>Providencia rettgeri</i>
Antibióticos	Cepa 46
Amikacina	≤2 S
Ampicilina/sulbactam	16 I
Aztreonam	≤8 S
Cefepima	≤4 S
Cefotaxima	≤4 S
Ceftazidima	≤8 S
Ciprofloxacino	≤0,5 S
Fosfomicina	≤16 S
Gentamicina	≤0,5 S
Imipenem	≤4 S
Meropenem	≤2 S
Piperacilina	≤8 S
Piperacilina/tazobactam	≤8 S
Ticarcilina	≤16 S
Tobramicina	1 S
Trimetoprim/sulfametoxazol	≤10 S

R = Resistente

I = Intermedio

S = Sensible

Tabla nº 21: *Pseudomonas aeruginosa*. Sensibilidades según Sistema Automatizado VITEK^R

Antibiótico	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>					
	Cepa 21	Cepa 25	Cepa 78	Cepa 88	Cepa 89	Cepa 95
Amikacina			≤2 S	4 S	4 S	
Amoxicilina/ac. clavulánico		≥32 R				≥32 R
Ampicilina/sulbactam			≥32 R	≥32 R	≥32 R	
Ampicilina	R	≥32 R				≥32 R
Aztreonam		≤8 S				
Cefazolina		≥32 R				≥32 R
Cefepima			≤4 S	≤4 S	≤4 S	
Cefotaxima	R	32 I				
Ceftazidima	S	≤8 S	≤8 S	≤8 S	≤8 S	≤8 S
Cefuroxima-axetilo		≥32 R				≥32 R
Cefuroxima-sodio		≥32 R				≥32 R
Cefalotina	R	≥32 R				≥32 R
Ciprofloxacino	S	≤0,5 S	≤0,5 S	≤0,5 S	≤0,5 S	≤0,5 S
Fosfomicina		≥64 R	≥64 R	≤16 S	≤16 S	32 I
Gentamicina	S	4 S	1 S	2 S	4 S	4 S
Imipenem	S		≤4 S	≤4 S	≤4 S	
Meropenem			4 S	≤2 S	≤2 S	
Nitrofurantoína		≥128 R				≥128 R
Norfloxacino		≤4 S				≤4 S
Ácido pipemídico		16 R				≥32 R
Piperacilina		≤8 S				
Piperacilina/tazobactam			≤8 S	16 S	32 S	
Ticarcilina			≤16 S	64 S	32 S	
Tobramicina		1 S	≤0,5 S	2 S	≤0,5 S	≤0,5 S
Trimetoprim/sulbactam		≥320 R				

R = Resistente

I = Intermedio

S = Sensible

Cepa 20 y Cepa 22 de sensibilidad conocida, no se efectuó antibiograma.

Tabla nº 22: *Serratia marcescens*. Sensibilidades según Sistema Automatizado VITEK^R

Antibióticos	<i>Serratia marcescens</i>	
	Cepa 83	Cepa 90
Amoxicilina/ac. clavulánico	≥32 R	≥32 R
Ampicilina	≥32 R	≥32 R
Aztreonam	≤8 I	≤8 S
Cefazolina	≥32 R	≥32 R
Cefotaxima	≥64 R	≤4 S
Ceftazidima	≤8 I	≤8 S
Cefuroxima-axetilo	≥32 R	≥32 R
Cefuroxima-sodio	≥32 R	≥32 R
Cefalotina	≥32 R	≥32 R
Ciprofloxacino	≤0,5 S	≤0,5 S
Fosfomicina	≥64 R	32 I
Gentamicina	2 S	≤0,5 S
Nitrofurantoína	≥128 R	≥128 R
Norfloxacino	≤4 S	≤4 S
Ac. pipemídico	8 S	≥32 R
Piperacilina	≥256 R	≤8 S
Tobramicina	2 S	≤0,5 S
Trimetoprim/sulfametoxazol	≤18 S	80 R

R = Resistente

I = Intermedio

S = Sensible

Tabla nº 23: *Staphylococcus auricularis*. Sensibilidades según Sistema Automatizado VITEK^R

Antibióticos	<i>Staphylococcus auricularis</i>		
	Cepa 26	Cepa 70	Cepa 73
Amikacina	≤16 I	32 I	≤16 I
Amoxicilina/Ac. clavulánico	≥8 R	≥8 R	≥8 R
Beta lactamasa	+	+	+
Ciprofloxacino	≥4 R	≥4 R	≥4 R
Clindamicina	≥8 R	≥8 R	≥8 R
Eritromicina	≥8 R	≥8 R	≥8 R
Fosfomicina	≥64 R	≤16 S	≥64 R
Gentamicina	≥16 R	≤2 S	≥16 R
Nitrofurantoína	≤32 S	≤32 S	≤32 S
Oxacilina-MIC	≥8 R	≥8 R	≥8 R
Penicilina-G	≥16 R	≥16 R	≥16 R
Pristinamicina	≤2 S	≤2 S	≤2 S
Rifampicina	≤1 S	≤1 S	≤1 S
Teicoplanina	≤4 S	8 S	≤4 S
Tetraciclina	≥16 R	≤1 S	≤1 S
Trimetoprim/sulfametoxazol	≤10 S	80 R	≤10 S
Vancomicina	1 S	2 S	1 S

R = Resistente

I = Intermedio

S = Sensible

Tabla nº 24: *Staphylococcus capitis*. Sensibilidades según Sistema Automatizado VITEK^R

	<i>Staphylococcus capitis</i>
Antibióticos	Cepa 60
Amikacina	≤16 S
Amoxicilina/ac.clavulánico	≤ 2 S
Beta lactamasa	+
Ciprofloxacino	≤0,5 S
Clindamicina	≤0,5 S
Eritromicina	≤0,5 S
Fosfomicina	≥64 R
Gentamicina	≤2 S
Nitrofurantoína	≤32 S
Oxacilina MIC	≤2 S
Penicilina G	≥16 R
Pristinamicina	≤2 S
Rifampicina	≤1 S
Teicoplanina	≤4 S
Tetraciclina	≤1 S
Trimetoprim/sulfametoxazol	≤10 S
Vancomicina	≤0,5 S

R = Resistente

I = Intermedio

S = Sensible

Tabla nº 25: *Staphylococcus epidermidis*. Sensibilidades según Sistema Automatizado VITEK^R

	<i>Staphylococcus epidermidis</i>					
Antibióticos	Cepa 5	Cepa 6	Cepa 17	Cepa 56	Cepa 71	Cepa 97
Amikacina	≤16 S	≤16 I	≤16 S	≤16 I	≤16 I	≤16 I
Amoxicilina/ac. clavulánico	≥8 R	≥8 R	≥8 R	≥8 R	≥8 R	≥8 R
Beta lactamasa	+	+	-	+	+	+
Ciprofloxacino	≤0,5 S	≤0,5 S	≥4 R	≥4 R	≤0,5 S	≥4 R
Clindamicina	≥8 R	≤0,5 S	≥0,8R	≥8 R	≥8 R	≤0,5 S
Eritromicina	≥8 R	≤0,5 S	≥0,8 R	≥8 R	≥8 R	≤0,5 S
Fosfomicina	≤16 S	≤16 S	≤16 S	≤16 S	≤16 S	≥64 R
Gentamicina	≤2 S	≥16 R	≤2 S	≥16 R	≥16 R	≥16 R
Nitrofurantoína	≤32 S	≤32 S	≤32 S	≤32 S	≤32 S	≤32 S
Oxacilina MIC	≥8 R	≥8 R	4 R	≥8 R	≥8 R	4 R
Penicilina G	≥16 R	≥16 R	≥16 R	≥16 R	≥16 R	≥16 R
Pristinamicina	≤2 S	≤2 S	≤2 S	≤2 S	≤2 S	≤2 S
Rifampicina	≤1 S	≤1 S	≤1 S	≤1 S	≤1 S	≤1 S
Teicoplanina	≤4 S	≤4 S	≤4 S	≤4 S	≤4 S	≤4 S
Tetraciclina	2 S	2 S	≤1 S	2 S	≥16 R	2 S
Trimetoprim/sulfametoxazol	80 R	≤10 S	≤10 S	40 S	≤10 S	≤10 S
Vancomicina	1 S	1 S	1 S	1 S	1 S	1 S

R = Resistente

I = Intermedio

S = Sensible

Cepa 8, Cepa 10, Cepa 28, de sensibilidad conocida, no se realizó antibiograma.

Tabla nº 26: *Staphylococcus simulans*. Sensibilidades según Sistema Automatizado VITEK^R

	<i>Staphylococcus simulans</i>
Antibióticos	Cepa 1
Amikacina	≤16 S
Amoxicilina/ac. clavulánico	≥8 R
Beta lactamasa	+
Ciprofloxacino	≥4 R
Clindamicina	≥8 R
Eritromicina	≥8 R
Fosfomicina	≥64 R
Gentamicina	≤2 S
Nitrofurantoína	≤32 S
Oxacilina-MIC	≥8 R
Penicilina-G	≥16 R
Pristinamicina	≤2 S
Rifampicina	≤1 S
Teicoplanina	≤4 S
Tetraciclina	≤1 S
Trimetoprim/sulfametoxazol	160 R
Vancomicina	≤0,5 S

R = Resistente

I = Intermedio

S = Sensible

Tabla nº 27: *Staphylococcus warneri*. Sensibilidades según Sistema Automatizado VITEK^R

	<i>Staphylococcus warneri</i>
Antibióticos	Cepa 96
Amikacina	≤16 S
Amoxicilina/ac. clavulánico	≤2 S
Beta lactamasa	+
Ciprofloxacino	≤0,5 S
Clindamicina	≤0,5 S
Eritromicina	≤0,5 S
Fosfomicina	≤16 S
Gentamicina	≤2 S
Nitrofurantoína	≤32 S
Oxacilina-MIC	≤2 S
Penicilina-G	≥16 R
Pristinamicina	≤2 S
Rifampicina	≤1 S
Teicoplanina	≤4 S
Tetraciclina	≤1 S
Trimetoprim/sulfametoxazol	≤10 S
Vancomicina	≤0,5 S

R = Resistente

I = Intermedio

S = Sensible

Tabla nº 28: *Streptococcus sanguis*. Sensibilidades según Sistema Automatizado VITEK^R

	<i>Streptococcus sanguis</i>
Antibióticos	Cepa 87
Ampicilina	≤0,12 S
Cefotaxima	≤4 S
Cefuroxima-axetilo	≤4 S
Cefuroxima-sodio	≤4 S
Cefalotina	≤2 S
Clindamicina	≤0,5 S
Eritromicina	4 I
Fosfomicina	≥64 R
Imipenem	≤1 S
Ofloxacino	4 I
Penicilina-G	≤0,03 S
Teicoplanina	≤4 S
Vancomicina	≤0,5 S

R = Resistente

I = Intermedio

S = Sensible

Tabla nº 29: *Streptococcus viridans*. Sensibilidades según Sistema Automatizado VITEK^R

Antibiótico	<i>Streptococcus viridans</i>		
	Cepa 18	Cepa 57	Cepa 61
Amikacina	≤16 S	≤16 S	≤16 I
Amoxicilina/ac. clavulánico	≤2 S	≤2 S	≥8 R
Beta lactamasa	-	+	+
Ciprofloxacino	≤0,5 S	≥4 R	≥4 R
Clindamicina	≤0,5 S	≤0,5 S	≥8 R
Eritromicina	≤0,5 S	≥8 R	≥8 R
Fosfomicina	≤16 S	≤16 S	≤16 S
Gentamicina	≤2 S	≤2 S	≥16 R
Nitrofurantoína	≤32 S	≤32 S	≤32 S
Oxacilina-MIC	≤2 S	≤2 S	≥8 R
Penicilina-G	≤0,03 S	≥16 R	≥16 R
Pristinamicina	≤2 S	≤2 S	≤2 S
Rifampicina	≤1 S	≤1 S	≤1 S
Teicoplanina	≤4 S	≤4 S	≤4 S
Tetraciclina	2 S	≥16 R	2 S
Trimetoprim/sulfametoxazol	≤10 S	≤10 S	160 R
Vancomicina	1 S	1 S	1 S

R = Resistente

I = Intermedio

S = Sensible

Cepa 31, Cepa 58, Cepa 62, Cepa 91, sensibles a penicilina, no se efectuó antibiograma.

Cepa 51: *S. pneumoniae*

Cepa 63: *Streptococcus pyogenes*

Cepa 76 y Cepa 85: *Bacteroides fragilis*

Cepa 7: *Staphylococcus xilosus*.

Todas ellas sensibles a Penicilina, no se efectuó antibiograma.

2. LECTURA MANUAL DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (C.M.I.) A MOXIFLOXACINO Y LEVOFLOXACINO POR EL MÉTODO E-TEST.

Como ya exponía anteriormente la lectura manual de la Concentración Mínima Inhibitoria (C.M.I.) por el Método de E-test proporciona unos valores similares (en +/- 1 dilución) a los que se obtiene con los métodos convencionales de dilución. Además esta prueba permite una determinación cuantitativa directa de la Concentración Mínima Inhibitoria. Insistiremos aquí que dicha información cuantitativa es de Concentración Mínima Inhibitoria, no de Concentración Mínima Bactericida o C.M.B.

Es aplicable tanto en microorganismos aerobios gram-negativos como gram-positivos, como especies exigentes (*Neisseria* spp, *Haemophilus* spp) y en bacterias anaerobias estrictas.

Por otro lado por este método obtenemos resultados en unas 18h, lo cual puede ser interesante, ventajoso y muchas veces necesario para el clínico.

A todo esto añadiremos que quizás la única desventaja que apreciamos en el método es su coste elevado en comparación con los métodos convencionales, incluidos los automatizados. Este último hecho es importante cuando se trata de instituciones sanitarias con una cierta presión asistencial y donde existe unos presupuestos y por tanto un control del gasto sanitario.

A continuación se presentan las Concentraciones Mínimas Inhibitorias obtenidas por este método de la exposición de nuestras cepas a dos quinolonas de tercera generación y de reciente comercialización, nos referimos una vez más a Moxifloxacino y Levofloxacino. Dichos datos se muestran en las tablas y se ilustran en los gráficos que a continuación pasamos a exponer.

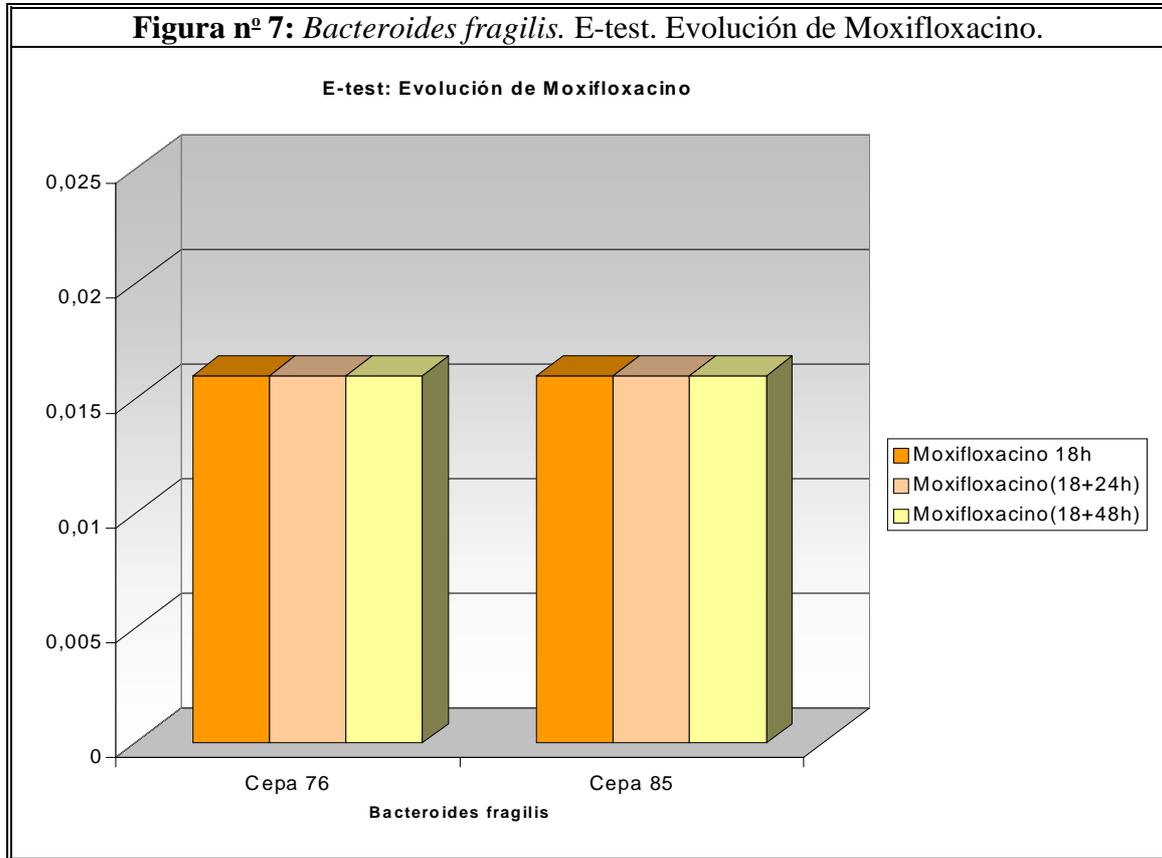


Tabla nº 33: *Bacteroides fragilis*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Bacteroides fragilis</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24h) C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48h) C.M.I.(µg/ml)
Cepa 76	0,016	0,016	0,016
Cepa 85	0,016	0,016	0,016

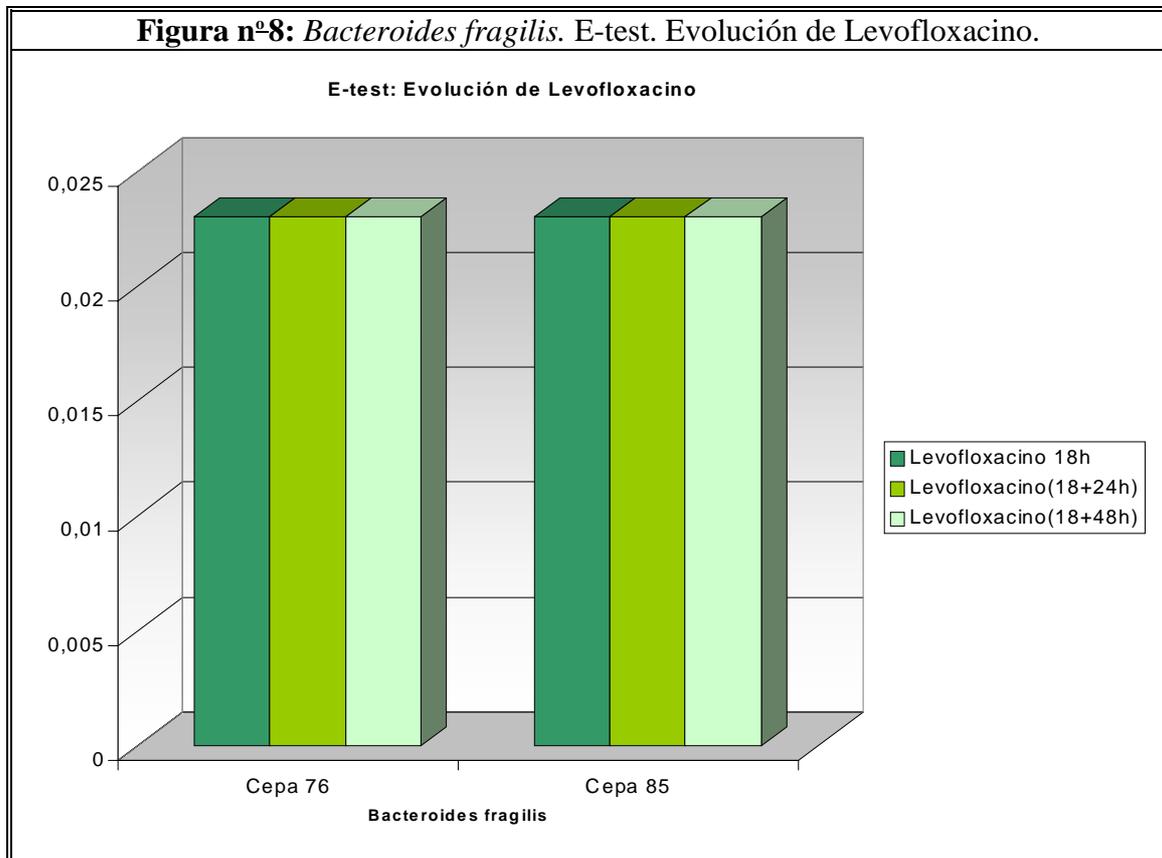


Tabla nº34: *Bacteroides fragilis*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Bacteroides fragilis</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 76	0,023	0,023	0,023
Cepa 85	0,023	0,023	0,023

Figura nº9: *Citrobacter braakii*. E-test. Evolución de Moxifloxacino.

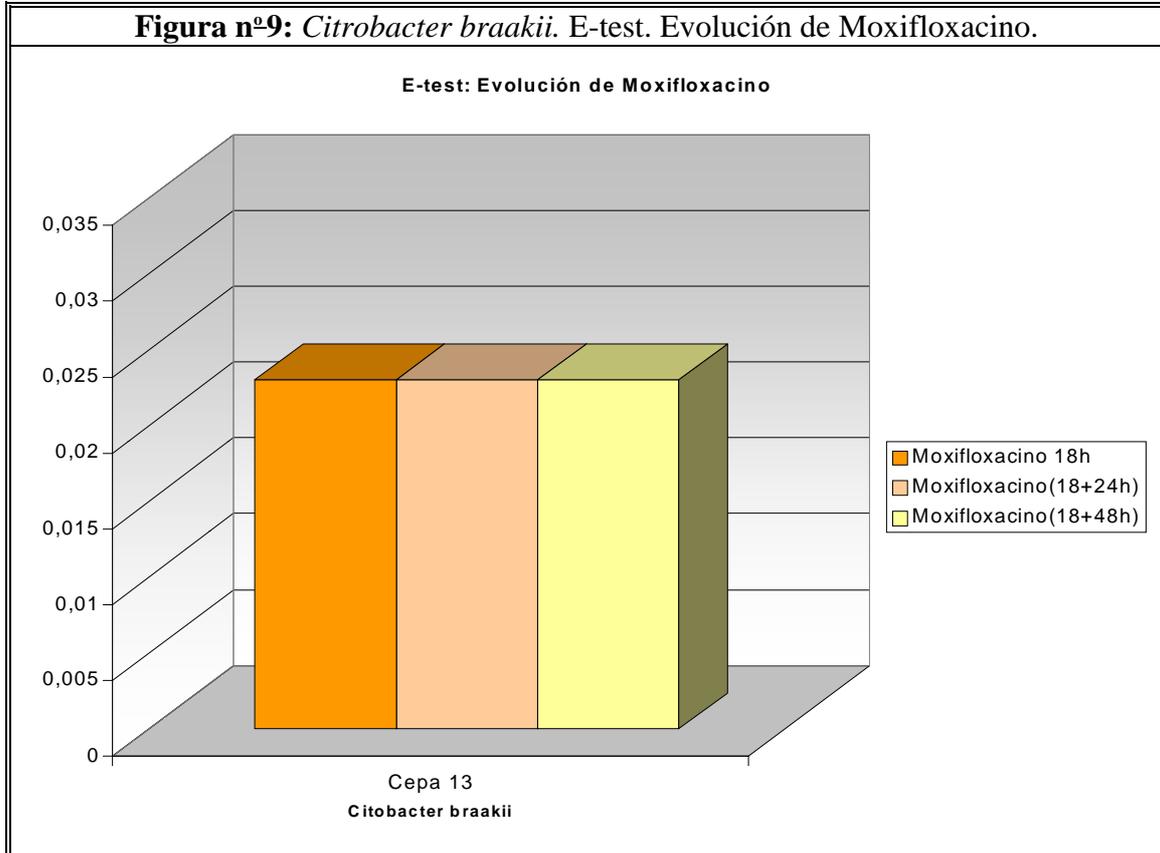


Tabla nº35: *Citrobacter braakii*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Citrobacter braakii</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 13	0,023	0,023	0,023

Figura nº10: *Citrobacter braakii*. E-test. Evolución de Levofloxacino.

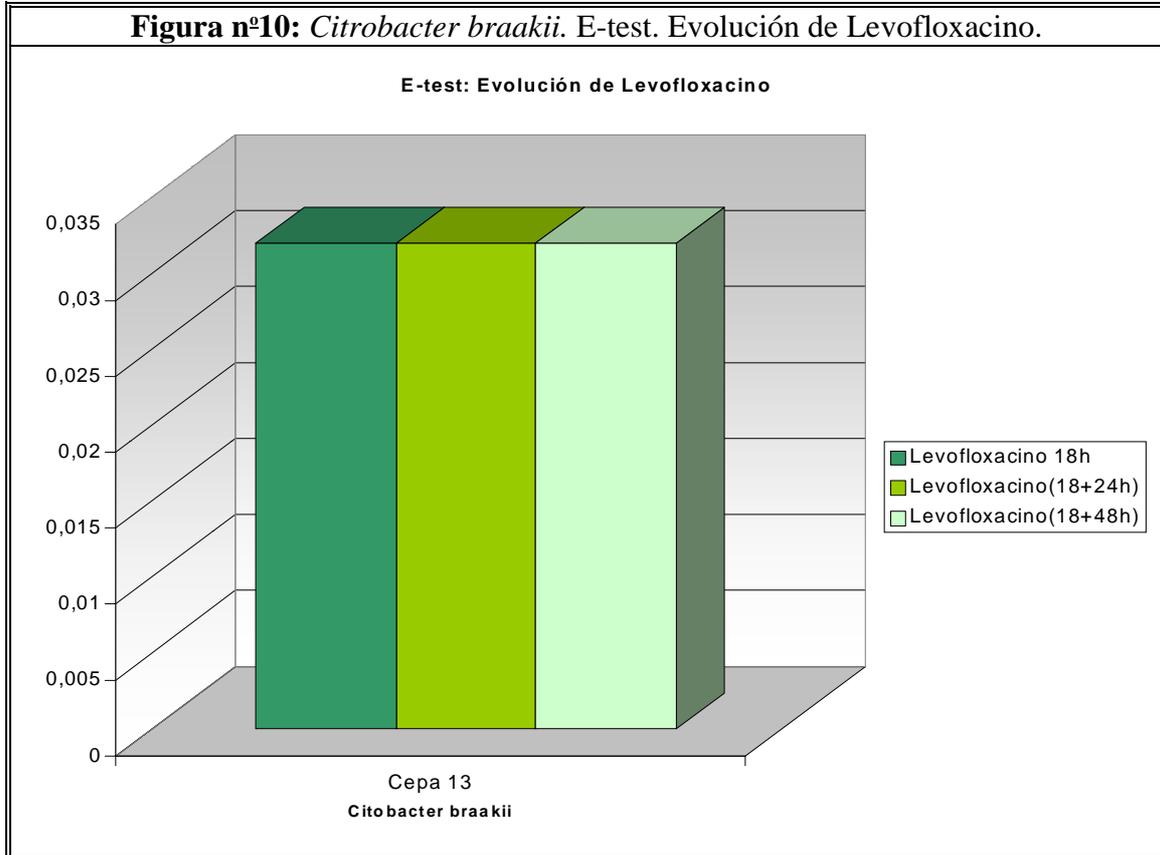


Tabla nº36: *Citrobacter braakii*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Citrobacter braakii</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 13	0,032	0,032	0,032

Figura nº11: *Citrobacter koseri*. E-test. Evolución de Moxifloxacino.

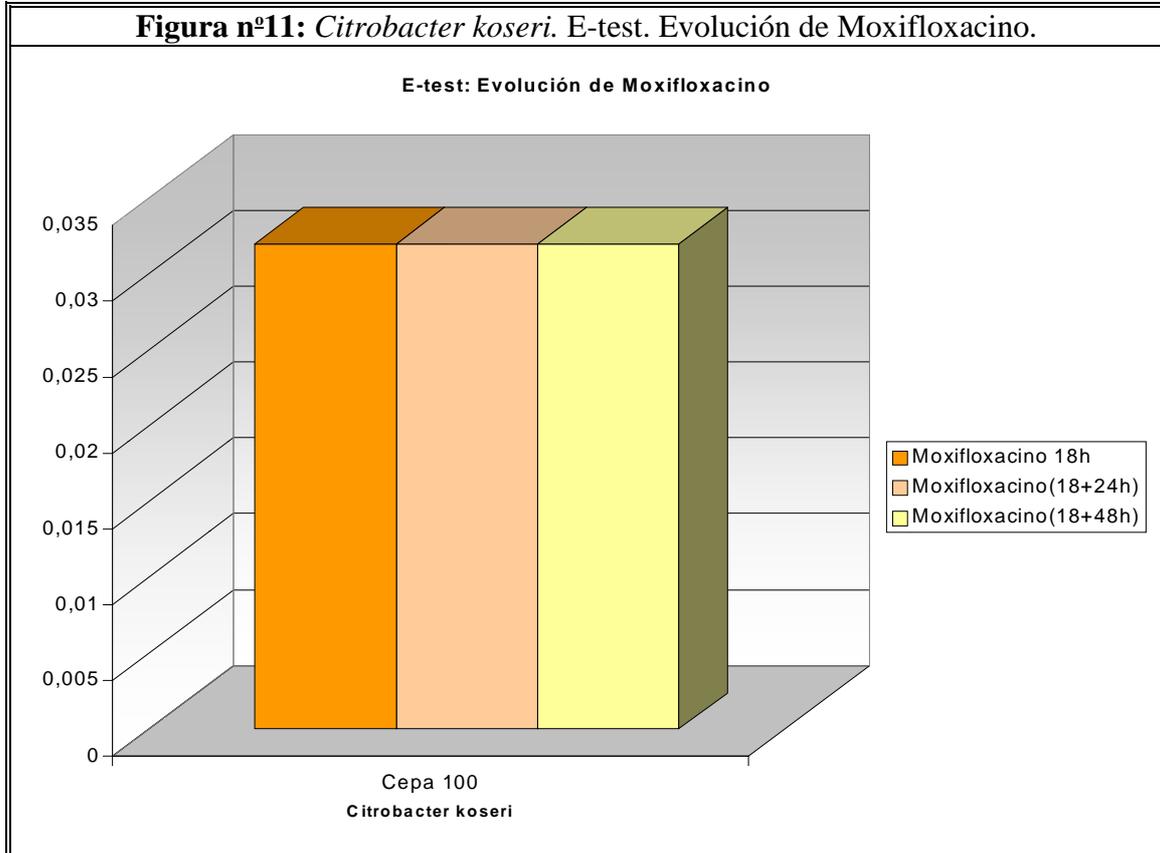


Tabla nº37: *Citrobacter koseri*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Citrobacter koseri</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Ceba 100	0,032	0,032	0,032

Figura nº12: *Citrobacter koseri*. E-test. Evolución de Levofloxacino.

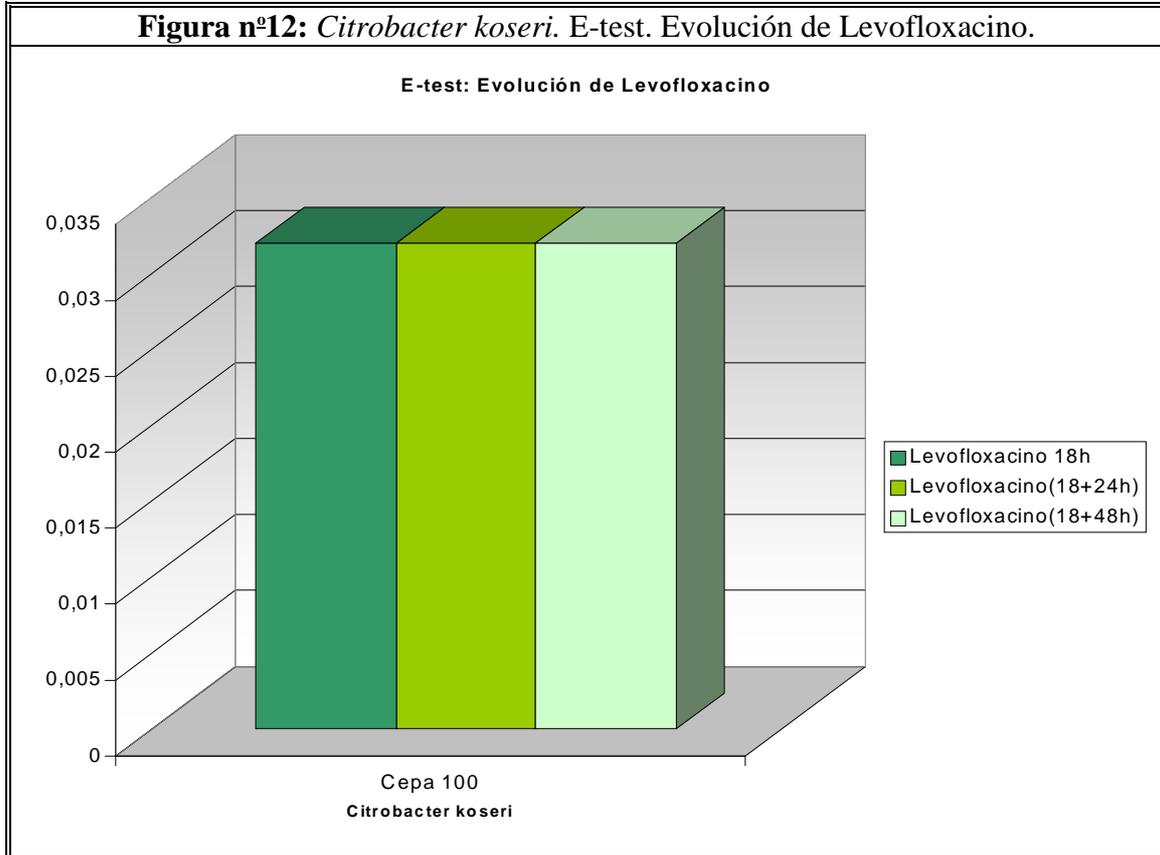


Tabla nº38: *Citrobacter koseri*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Citrobacter koseri</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Ceba 100	0,032	0,032	0,032

Figura nº13: *Escherichia coli*. E-test. Evolución de Moxifloxacino.

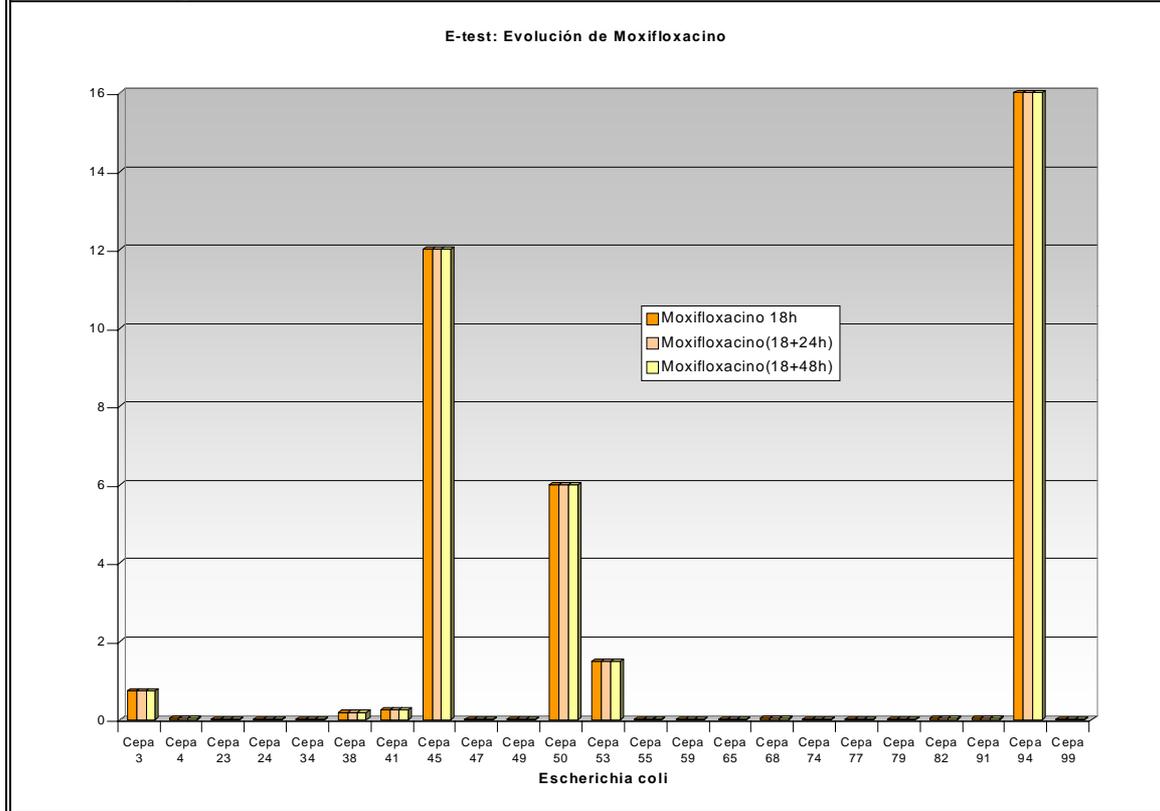


Tabla nº39: *Escherichia coli*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Escherichia coli</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 3	0,75	0,75	0,75
Cepa 4	0,047	0,047	0,047
Cepa 23	0,016	0,016	0,016
Cepa 24	0,016	0,016	0,016
Cepa 34	0,008	0,008	0,008
Cepa 38	0,19	0,19	0,19
Cepa 41	0,25	0,25	0,25
Cepa 45	12	12	12
Cepa 47	0,012	0,012	0,012
Cepa 49	0,023	0,023	0,023
Cepa 50	6	6	6
Cepa 53	1,5	1,5	1,5
Cepa 55	0,012	0,012	0,012
Cepa 59	0,023	0,023	0,023
Cepa 65	0,008	0,008	0,008
Cepa 68	0,032	0,032	0,032
Cepa 74	0,016	0,016	0,016
Cepa 77	0,016	0,016	0,016
Cepa 79	0,023	0,023	0,023
Cepa 82	0,032	0,032	0,032
Cepa 91	0,047	0,047	0,047
Cepa 94	16	16	16
Cepa 99	0,016	0,016	0,016

Figura nº14: *Escherichia coli*. E-test. Evolución de Levofloxacin.

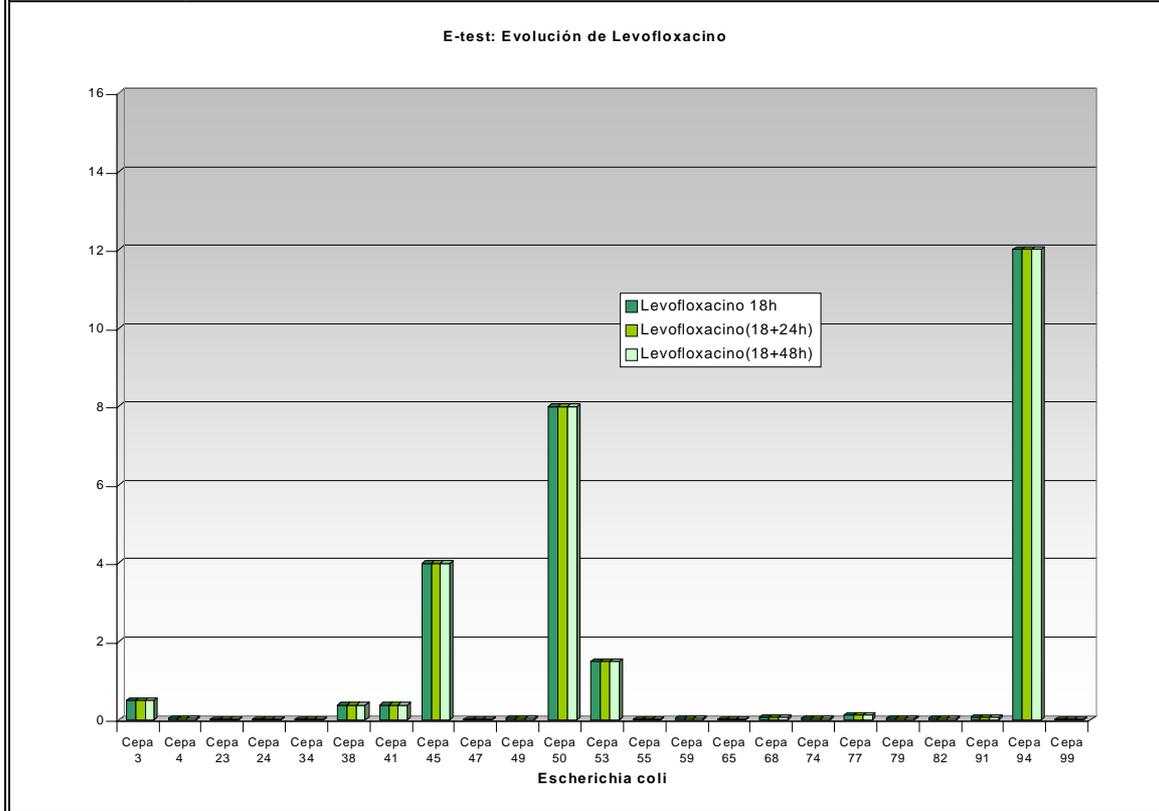


Tabla nº40: *Escherichia coli*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacin obtenidos por el método E-test.

<i>Escherichia coli</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacin 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacin (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacin (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 3	0,5	0,5	0,5
Cepa 4	0,047	0,047	0,047
Cepa 23	0,023	0,023	0,023
Cepa 24	0,023	0,023	0,023
Cepa 34	0,012	0,012	0,012
Cepa 38	0,38	0,38	0,38
Cepa 41	0,38	0,38	0,38
Cepa 45	4	4	4
Cepa 47	0,023	0,023	0,023
Cepa 49	0,032	0,032	0,032
Cepa 50	8	8	8
Cepa 53	1,5	1,5	1,5
Cepa 55	0,016	0,016	0,016
Cepa 59	0,047	0,047	0,047
Cepa 65	0,023	0,023	0,023
Cepa 68	0,064	0,064	0,064
Cepa 74	0,032	0,032	0,032
Cepa 77	0,12	0,12	0,12
Cepa 79	0,032	0,032	0,032
Cepa 82	0,047	0,047	0,047
Cepa 91	0,064	0,064	0,064
Cepa 94	12	12	12
Cepa 99	0,023	0,023	0,023

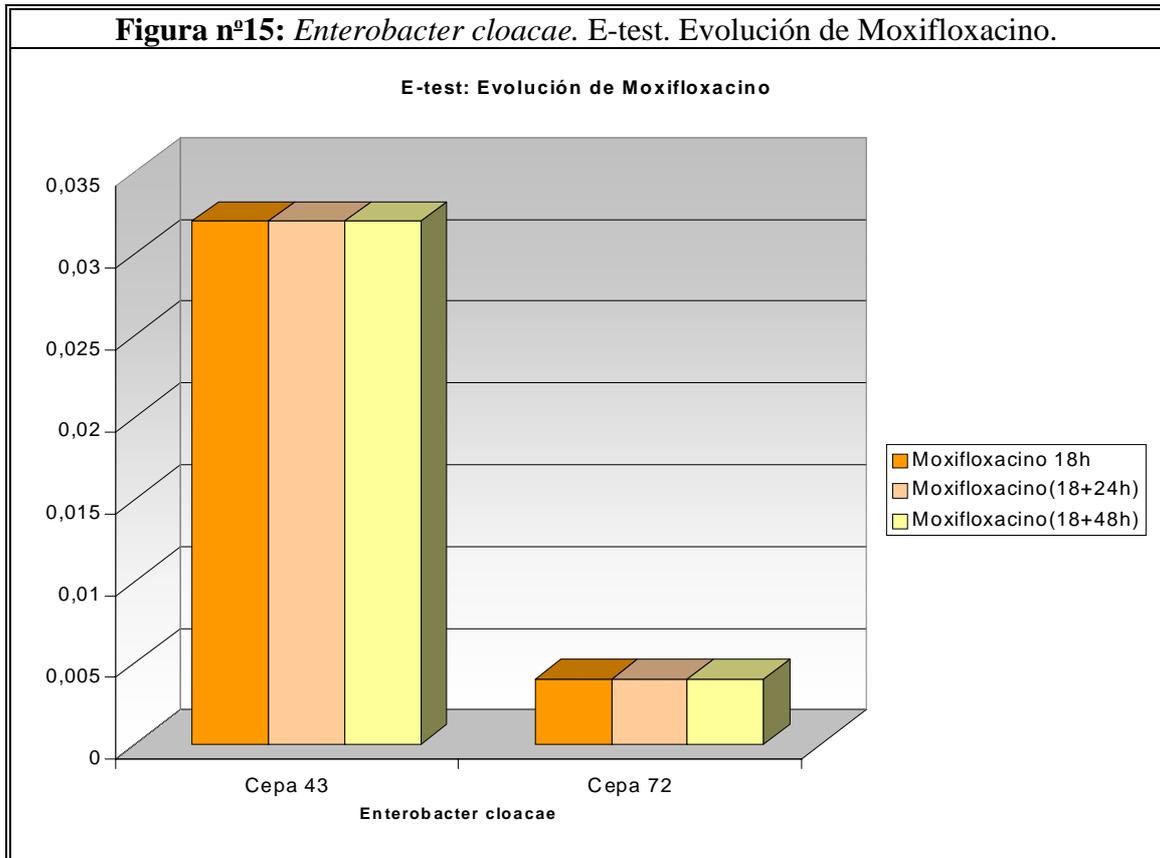


Tabla nº41: *Enterobacter cloacae*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Enterobacter cloacae</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 43	0,032	0,032	0,032
Cepa 72	0,004	0,004	0,004

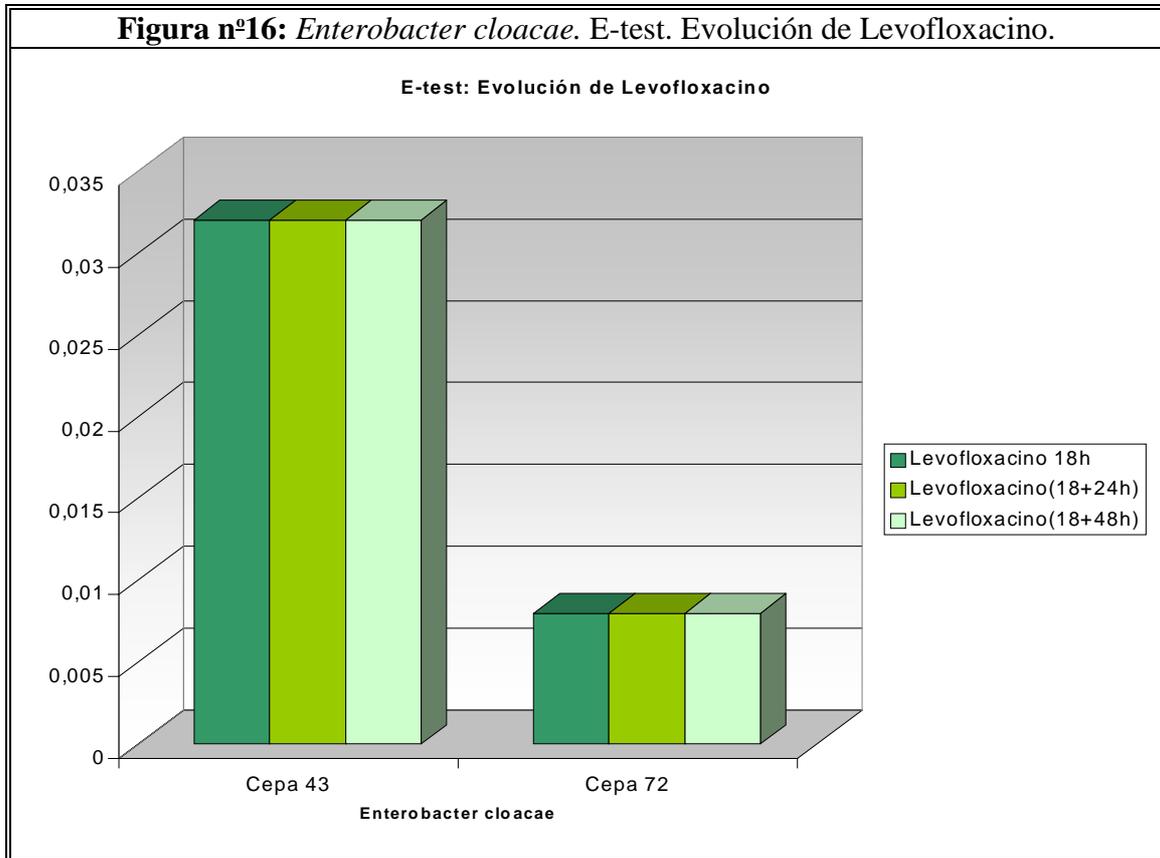


Tabla nº42: *Enterobacter cloacae*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacin obtenidos por el método E-test.

<i>Enterobacter cloacae</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacin 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacin (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacin (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 43	0,032	0,032	0,032
Cepa 72	0,008	0,008	0,008

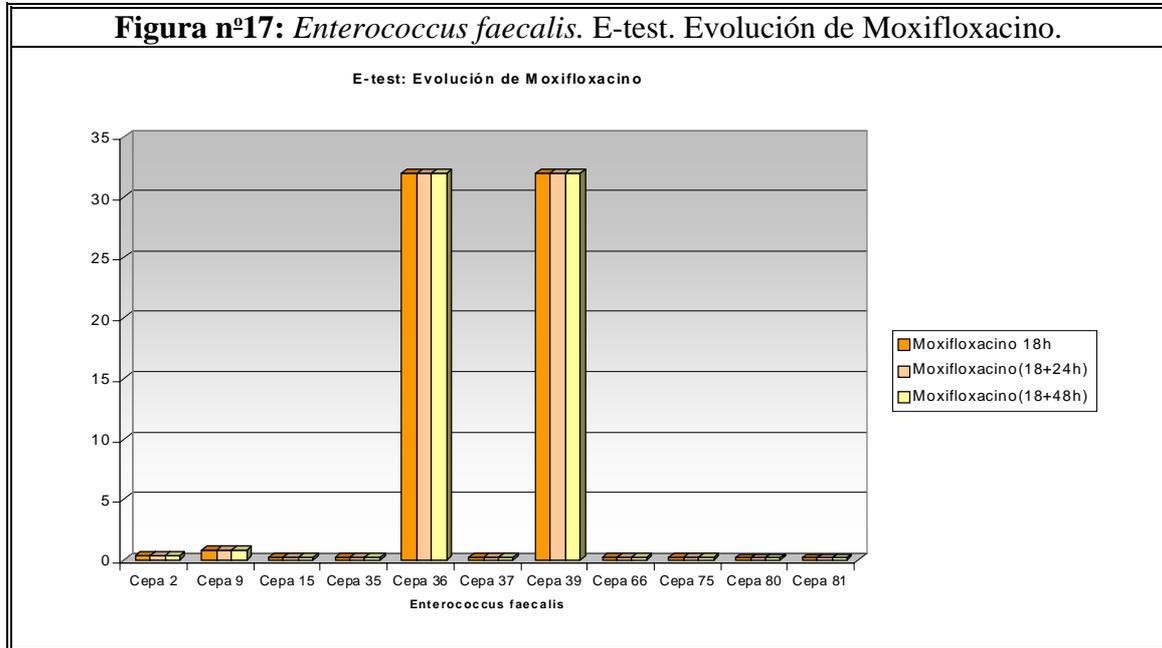


Tabla nº43: *Enterococcus faecalis*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Enterococcus faecalis</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 2	0,38	0,38	0,38
Cepa 9	0,75	0,75	0,75
Cepa 15	0,19	0,19	0,19
Cepa 35	0,25	0,25	0,25
Cepa 36	>32	>32	>32
Cepa 37	0,19	0,19	0,19
Cepa 39	>32	>32	>32
Cepa 66	0,25	0,25	0,25
Cepa 75	0,19	0,19	0,19
Cepa 80	0,125	0,125	0,125
Cepa 81	0,125	0,125	0,125

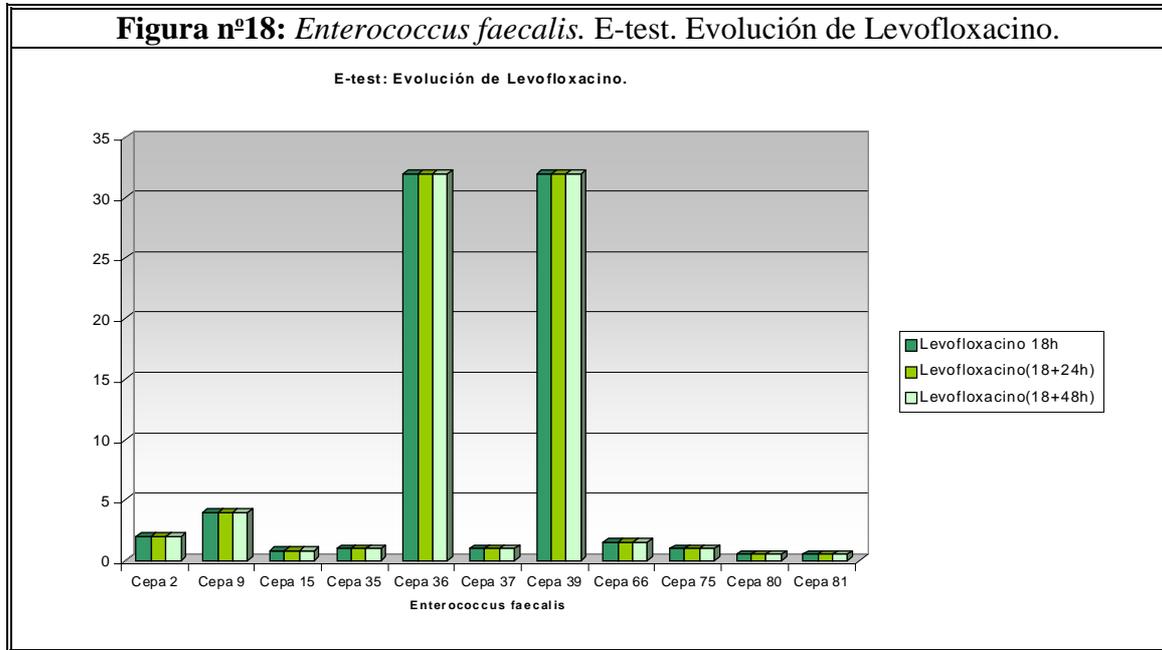


Tabla nº44: *Enterococcus faecalis*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Enterococcus faecalis</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 2	2	2	2
Cepa 9	4	4	4
Cepa 15	0,75	0,75	0,75
Cepa 35	1	1	1
Cepa 36	>32	>32	>32
Cepa 37	1	1	1
Cepa 39	>32	>32	>32
Cepa 66	1,5	1,5	1,5
Cepa 75	1	1	1
Cepa 80	0,5	0,5	0,5
Cepa 81	0,5	0,5	0,5

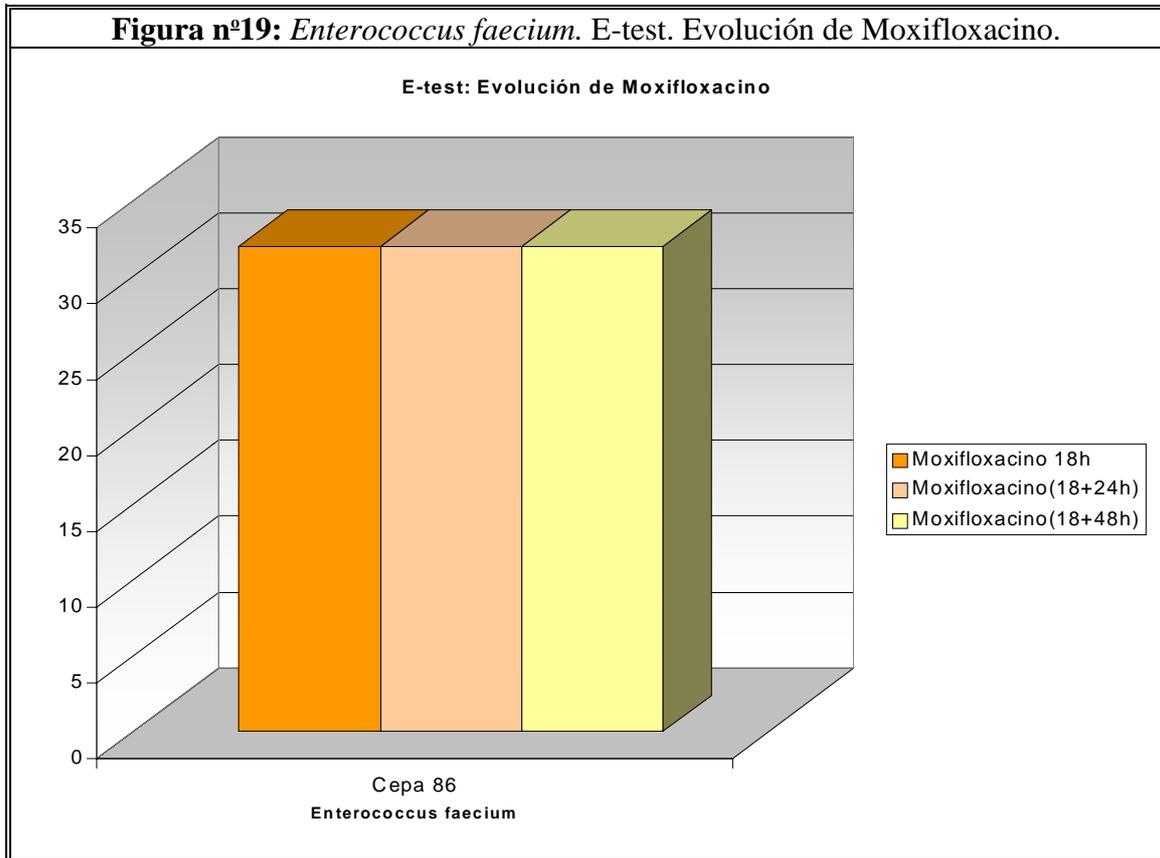


Tabla nº45: *Enterococcus faecium*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
<i>Enterococcus faecium</i>	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Ceba 86	>32	>32	>32

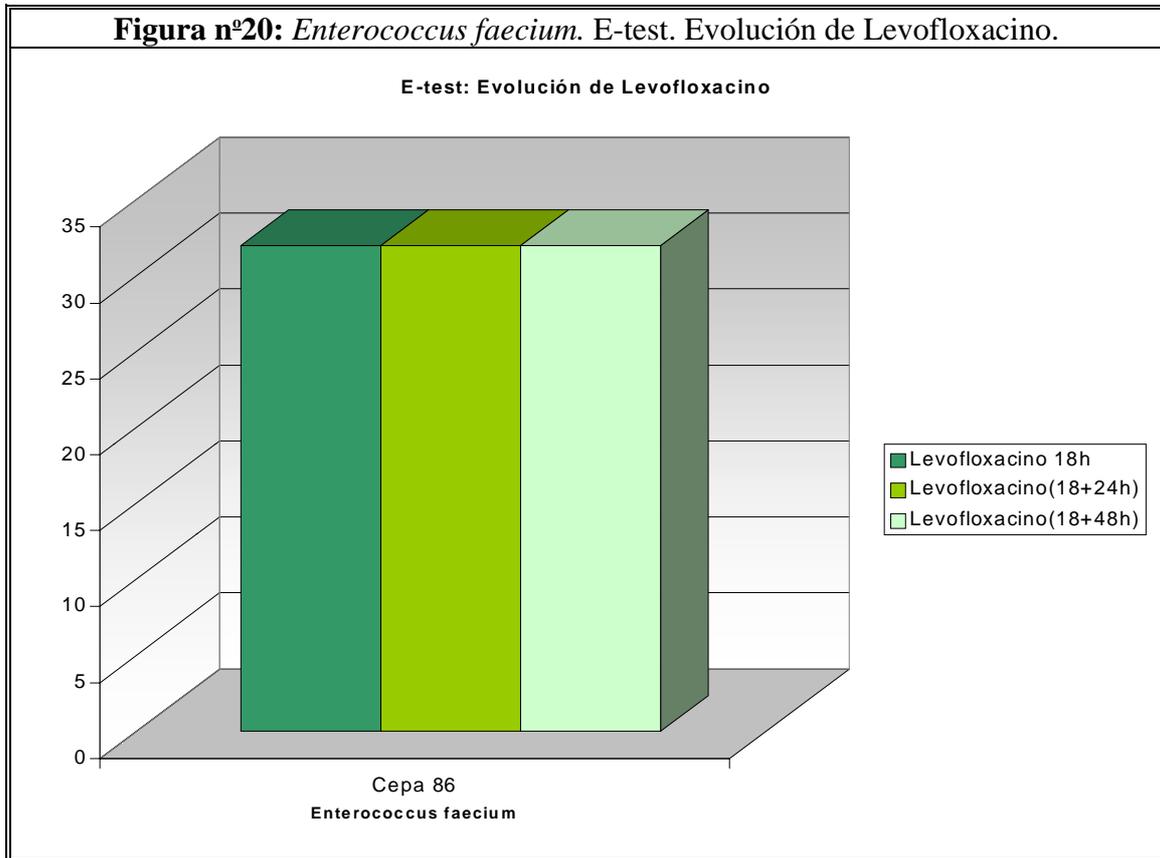


Tabla n°46: *Enterococcus faecium*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Enterococcus faecium</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Ceba 86	>32	>32	>32

Figura n°21: *Klebsiella pneumoniae*. E-test. Evolución de Moxifloxacino.

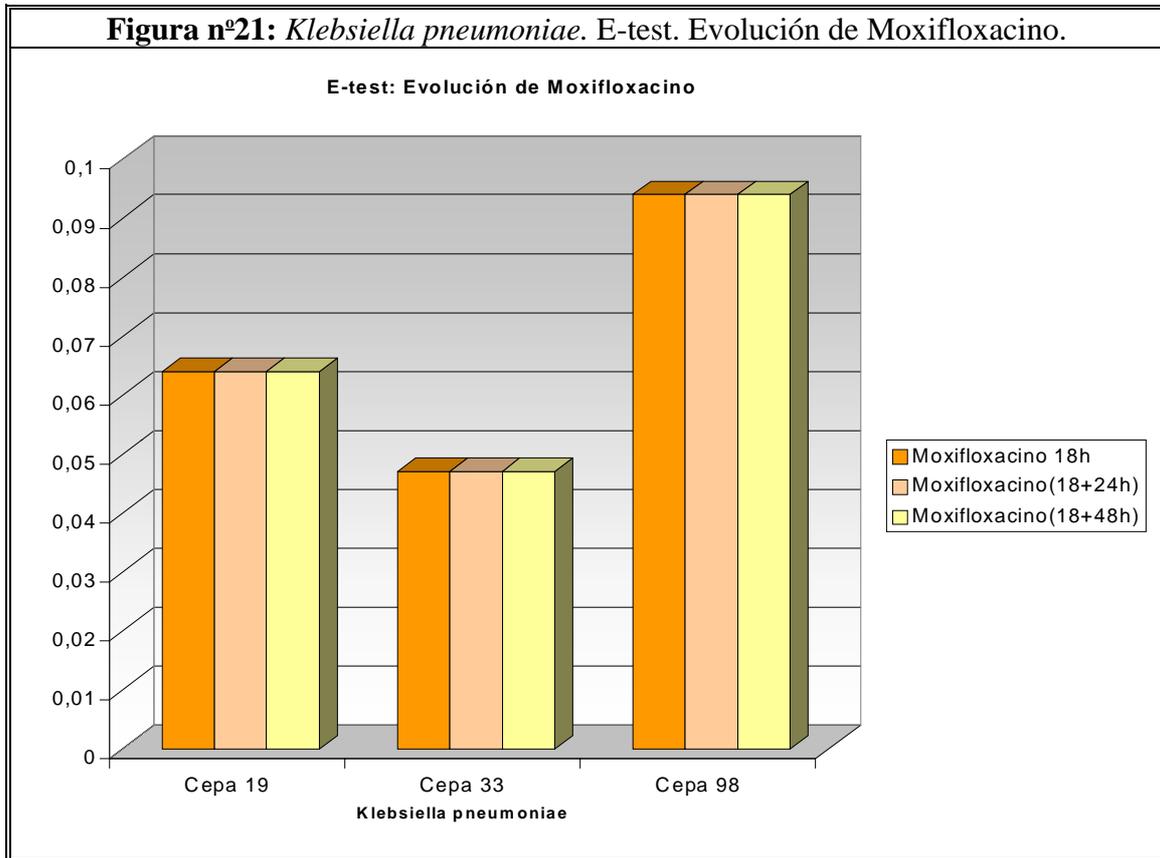
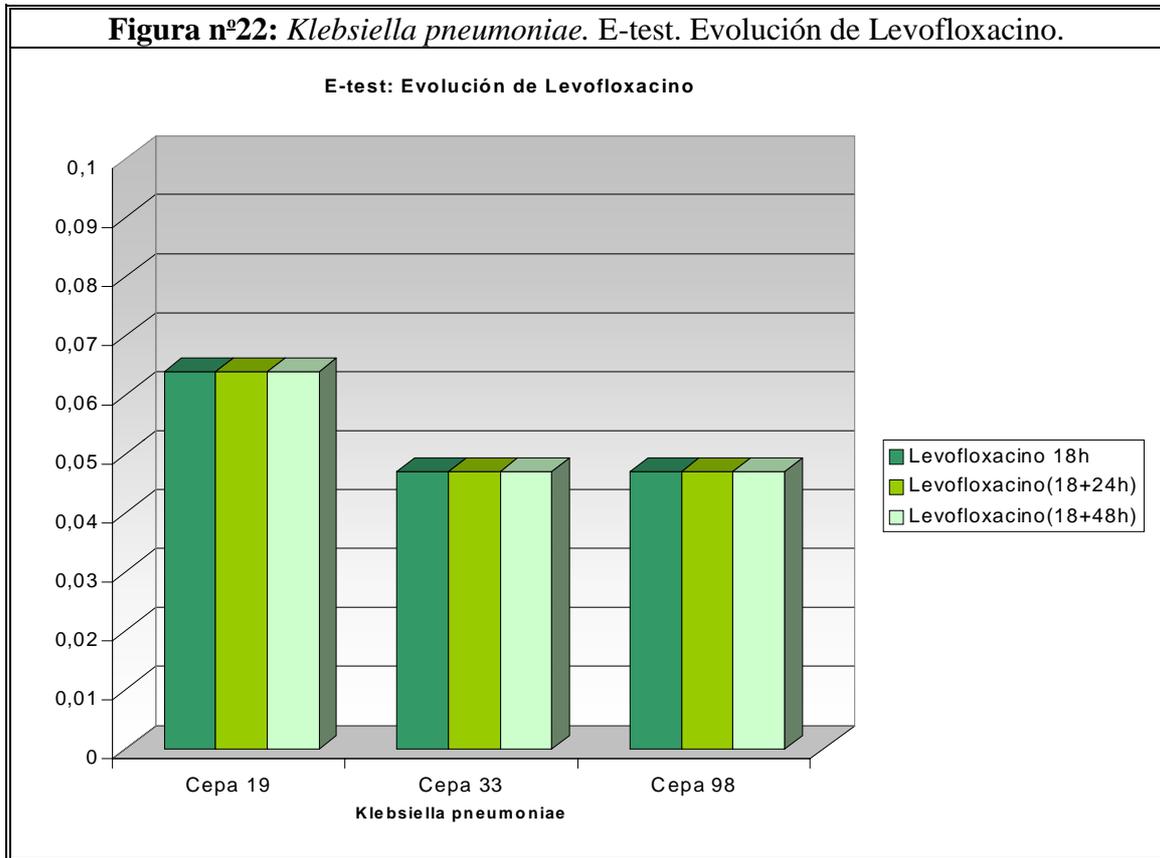


Tabla n°47: *Klebsiella pneumoniae*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 19	0,064	0,064	0,064
Cepa 33	0,047	0,047	0,047
Cepa 98	0,094	0,094	0,094

Figura n°22: *Klebsiella pneumoniae*. E-test. Evolución de Levofloxacino.**Tabla n°48:** *Klebsiella pneumoniae*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 19	0,064	0,064	0,064
Cepa 33	0,047	0,047	0,047
Cepa 98	0,047	0,047	0,047

Figura nº23: *Proteus mirabilis*. E-test. Evolución de Moxifloxacino.

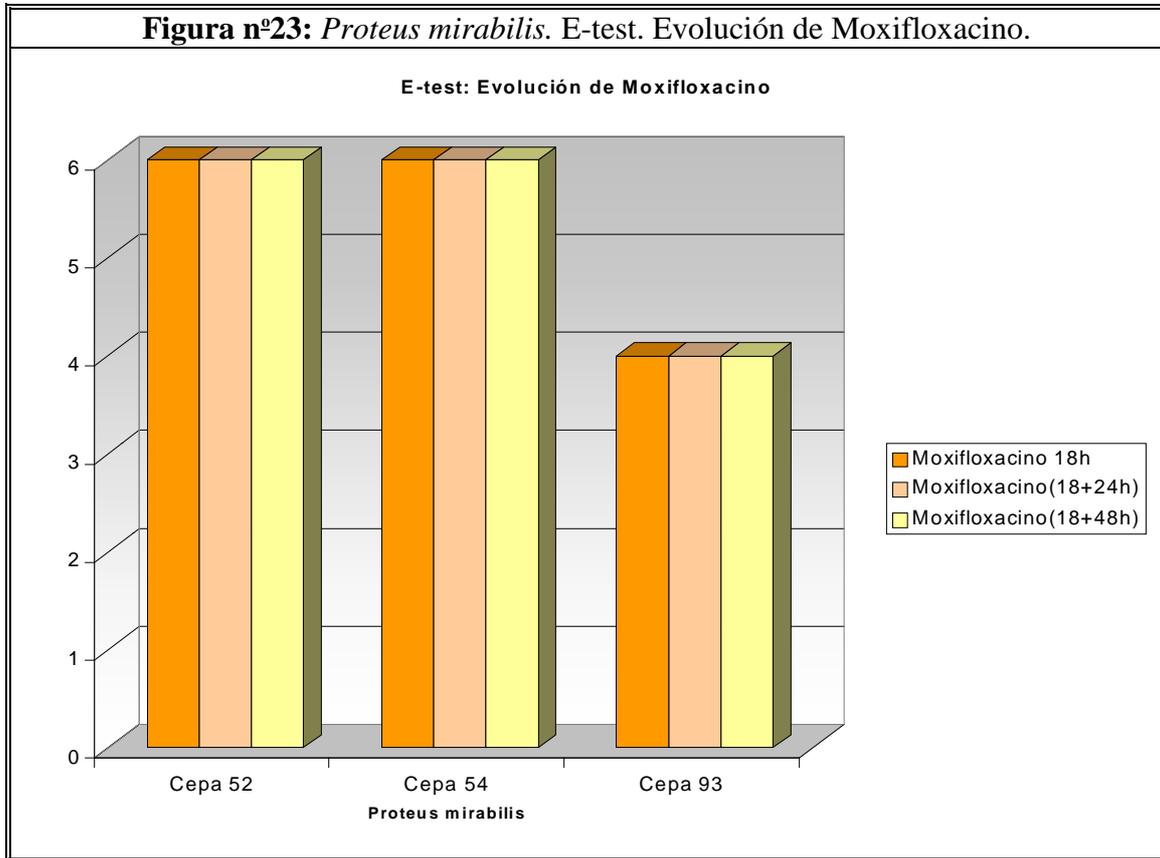


Tabla nº49: *Proteus mirabilis*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Proteus mirabilis</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 52	6	6	6
Cepa 54	6	6	6
Cepa 93	4	4	4

Figura n°24: *Proteus mirabilis*. E-test. Evolución de Levofloxacino.

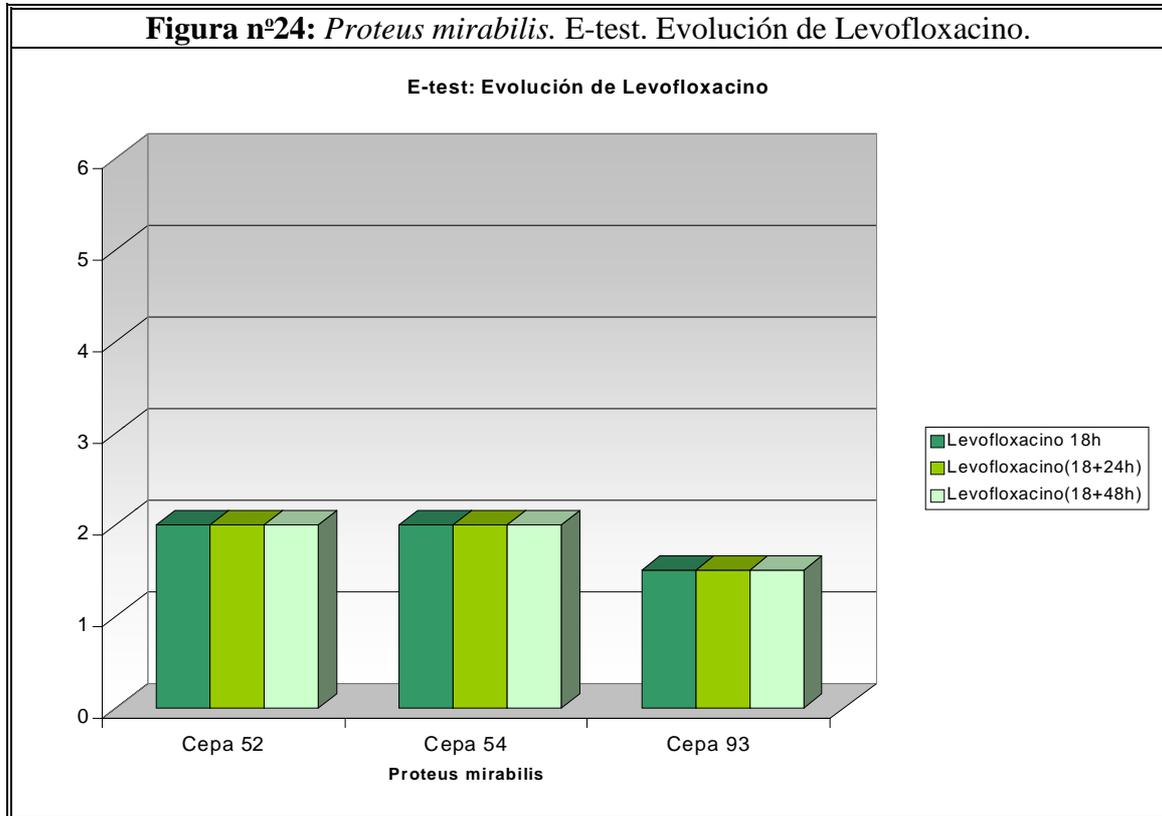


Tabla n°50: *Proteus mirabilis*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Proteus mirabilis</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 52	2	2	2
Cepa 54	2	2	2
Cepa 93	1,5	1,5	1,5

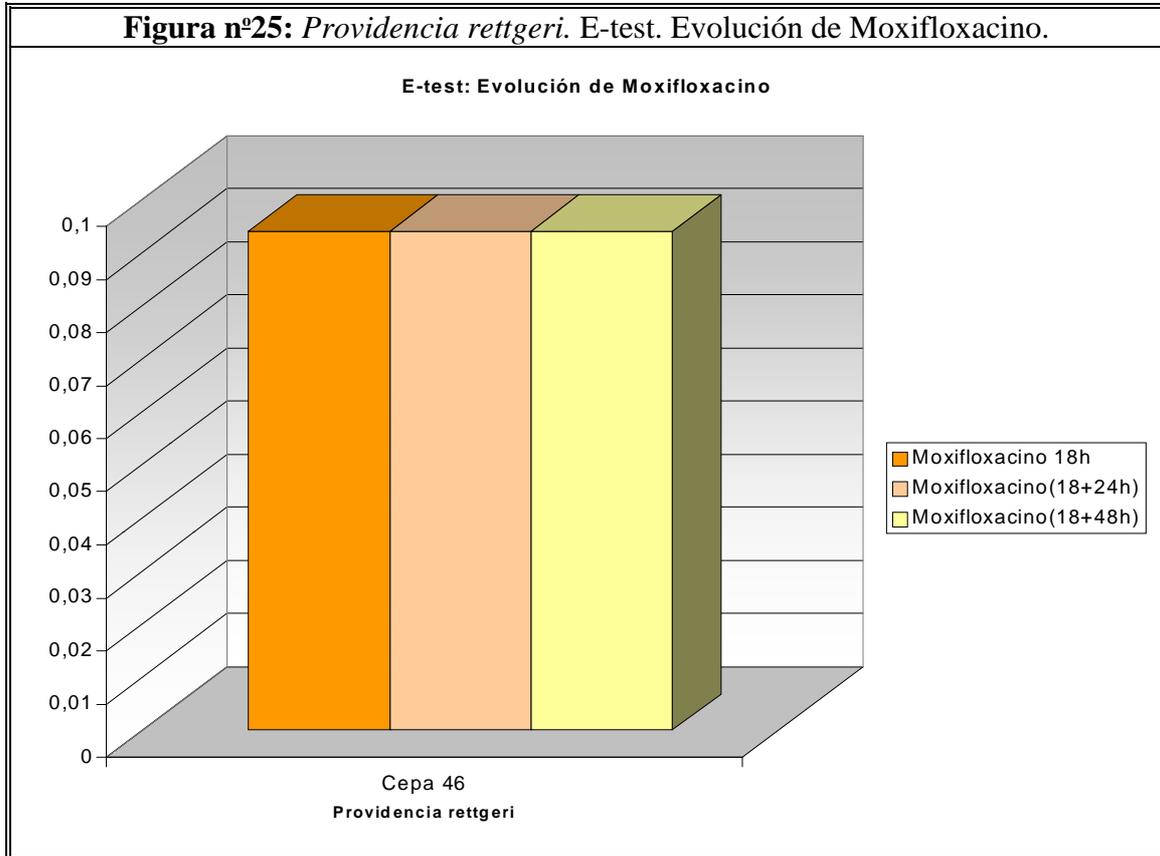


Tabla n°51: *Providencia rettgeri*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Providencia rettgeri</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 46	0,094	0,094	0,094

Figura n°26: *Providencia rettgeri*. E-test. Evolución de Levofloxacino.

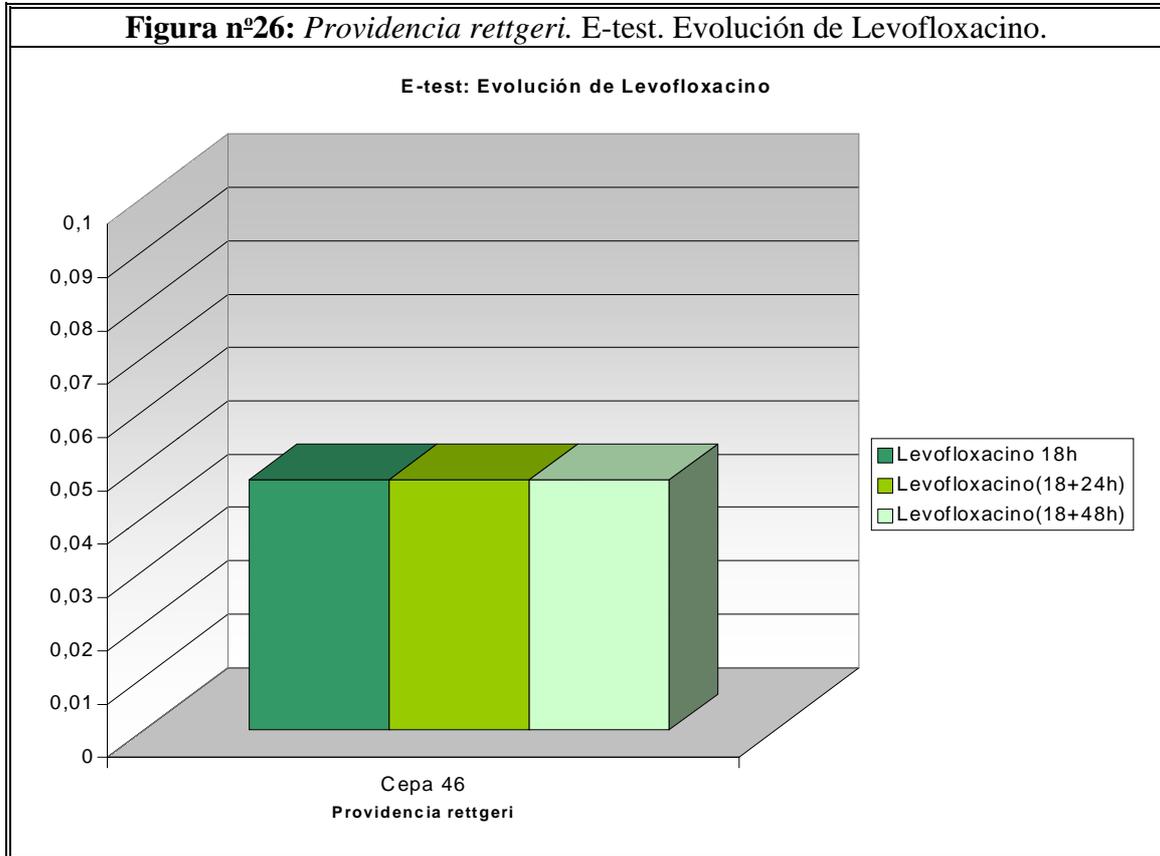


Tabla n°52: *Providencia rettgeri*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Providencia rettgeri</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Ceba 46	0,047	0,047	0,047

Figura nº27: *Pseudomonas aeruginosa*. E-test. Evolución de Moxifloxacino.

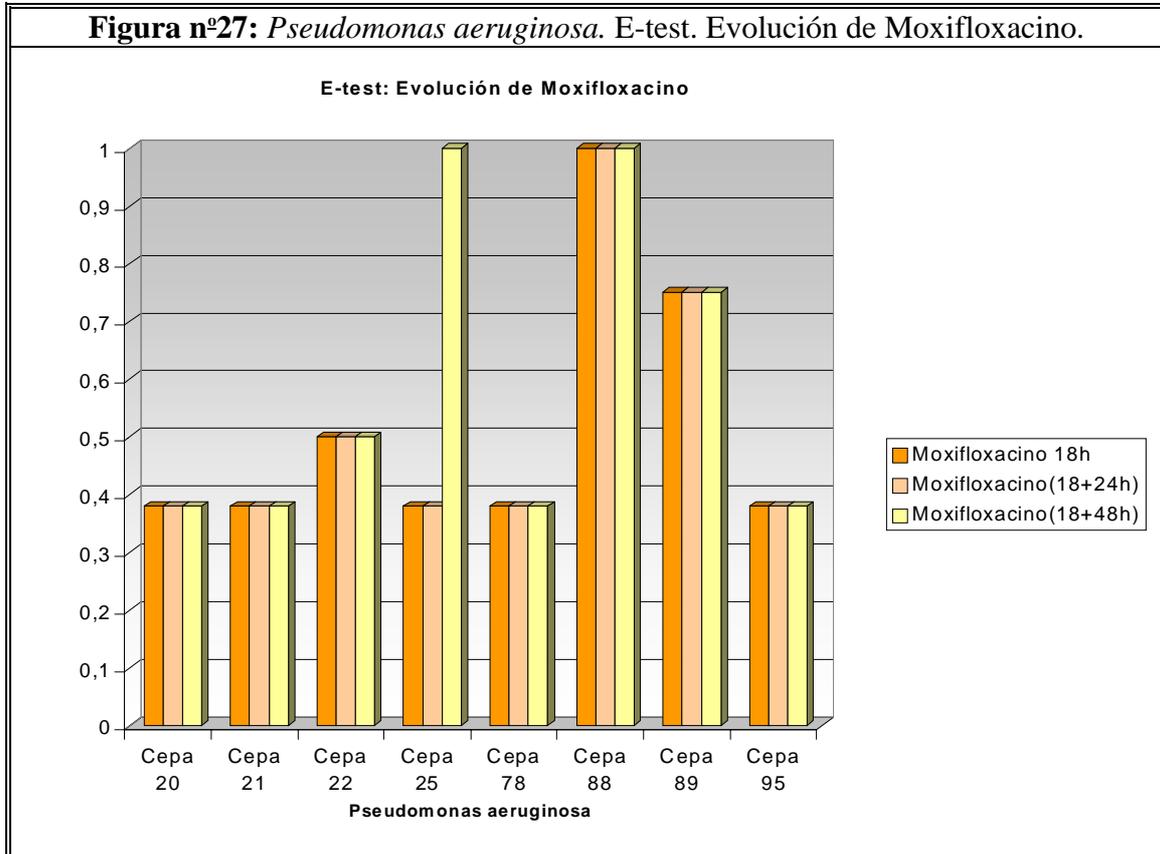


Tabla nº53: *Pseudomonas aeruginosa*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24h) C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48h) C.M.I.(µg/ml)
Cepa 20	0,38	0,38	0,38
Cepa 21	0,38	0,38	0,38
Cepa 22	0,5	0,5	0,5
Cepa 25	0,38	0,38	1
Cepa 78	0,38	0,38	0,38
Cepa 88	1	1	1
Cepa 89	0,75	0,75	0,75
Cepa 95	0,38	0,38	0,38

Figura nº28: *Pseudomonas aeruginosa*. E-test. Evolución de Levofloxacin.

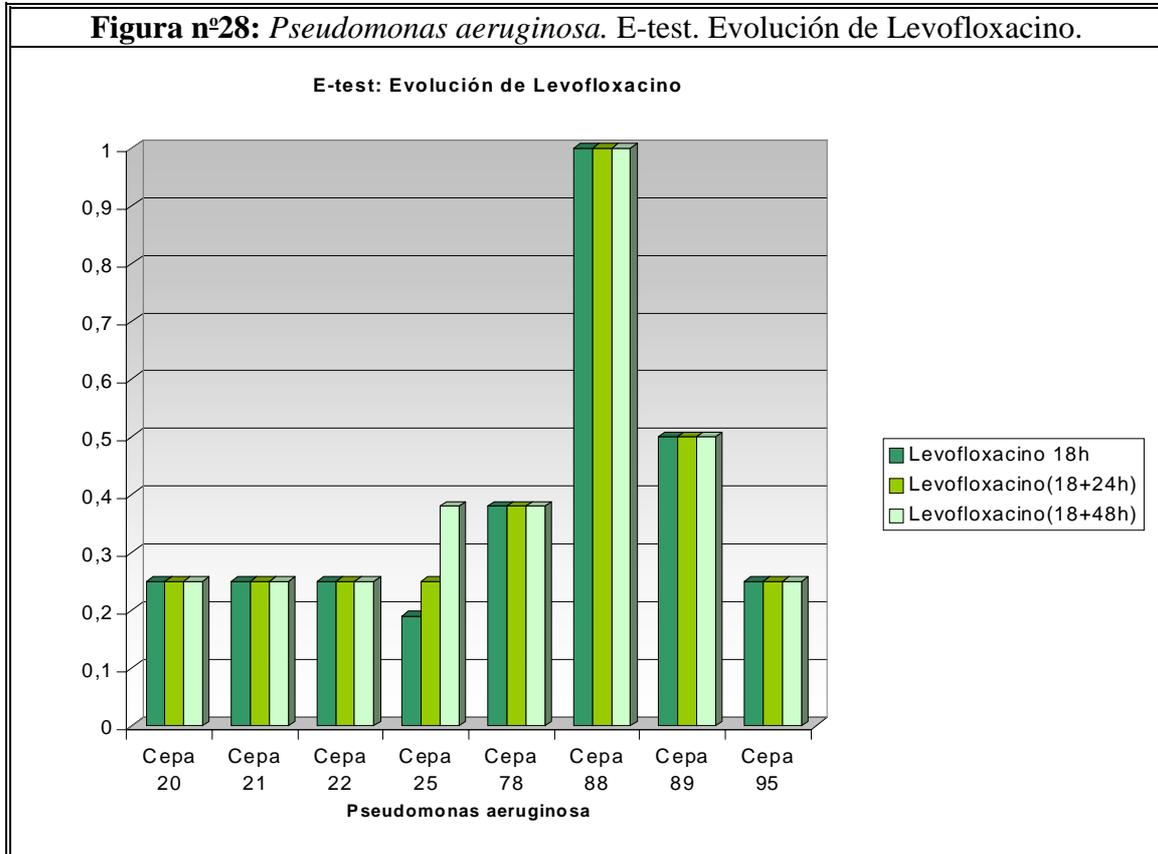


Tabla nº54: *Pseudomonas aeruginosa*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacin obtenidos por el método E-test.

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacin 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacin (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacin (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 20	0,25	0,25	0,25
Cepa 21	0,25	0,25	0,25
Cepa 22	0,25	0,25	0,25
Cepa 25	0,19	0,25	0,38
Cepa 78	0,38	0,38	0,38
Cepa 88	1	1	1
Cepa 89	0,5	0,5	0,5
Cepa 95	0,25	0,25	0,25

Figura nº29: *Serratia marcescens*. E-test. Evolución de Moxifloxacino.

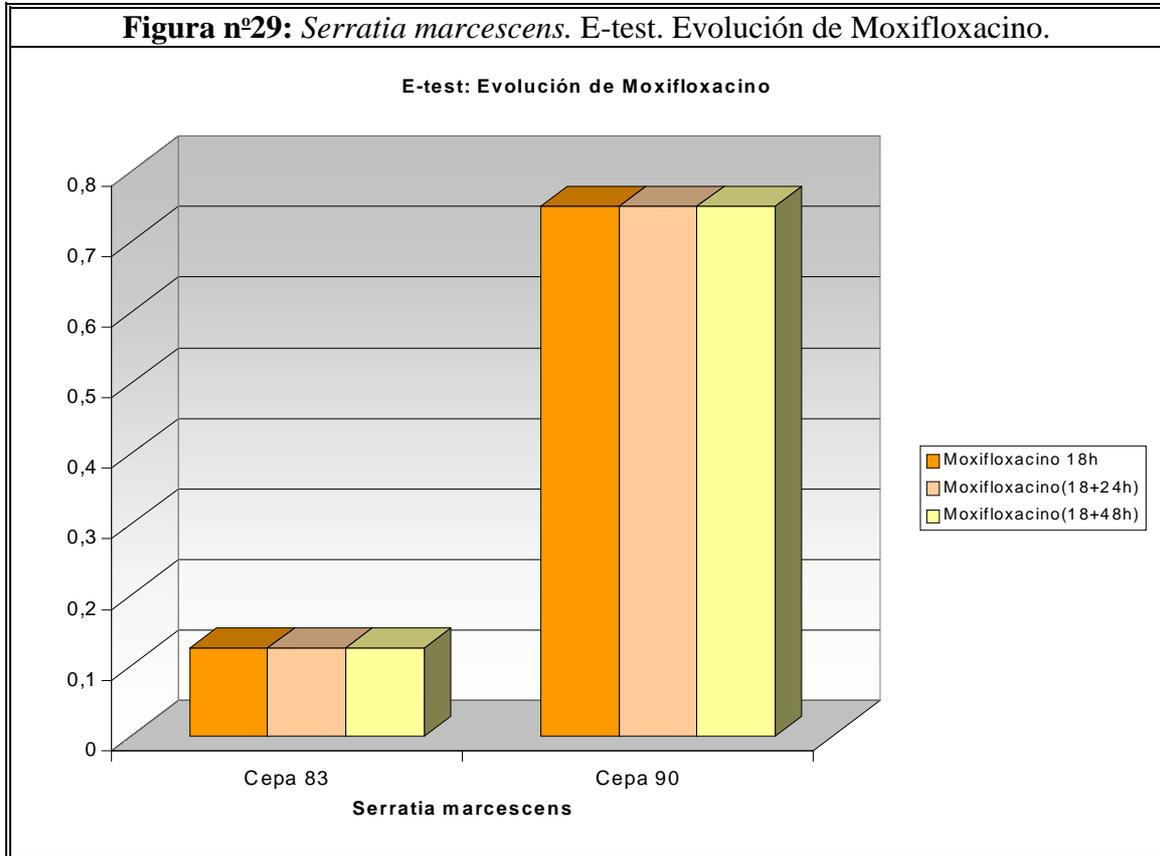


Tabla nº55: *Serratia marcescens*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Serratia marcescens</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 83	0,125	0,125	0,125
Cepa 90	0,75	0,75	0,75

Figura nº30: *Serratia marcescens*. E-test. Evolución de Levofloxacino.

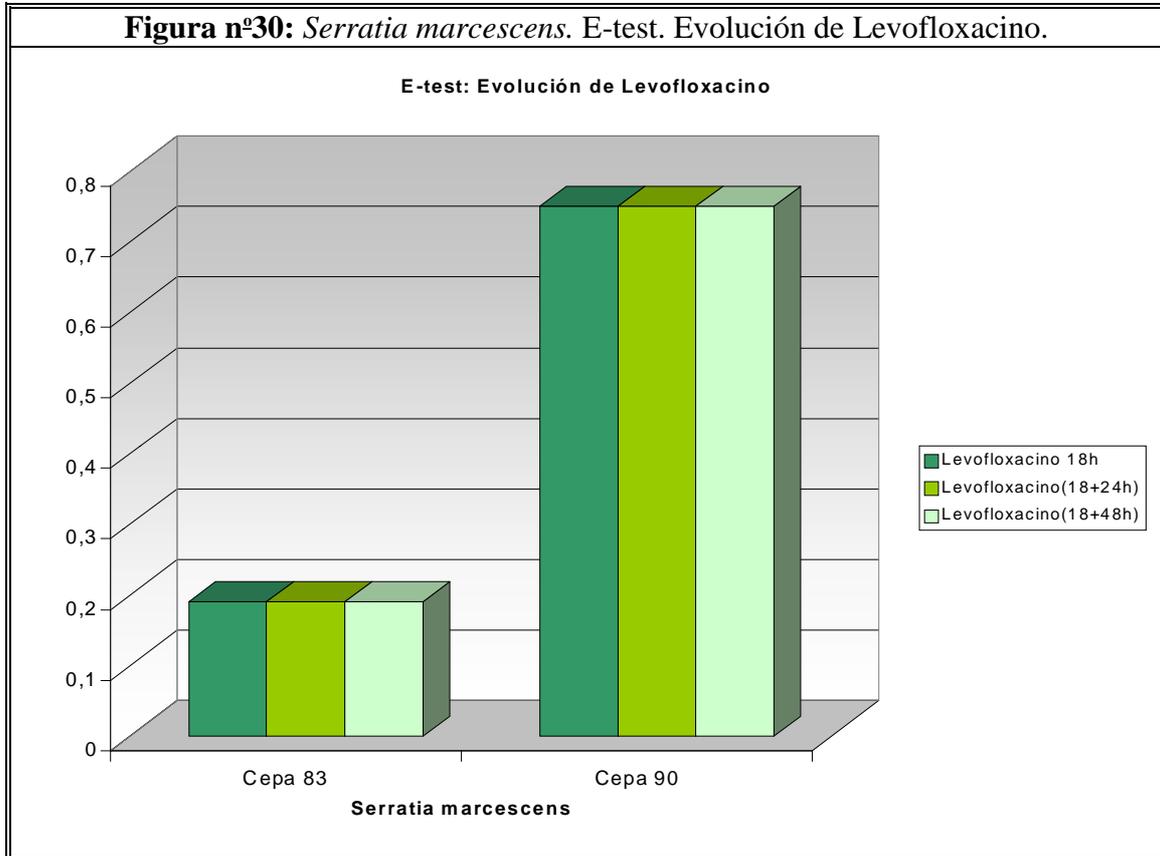


Tabla nº56: *Serratia marcescens*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Serratia marcescens</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 83	0,19	0,19	0,19
Cepa 90	0,75	0,75	0,75

Figura nº31: *Staphylococcus aureus*. E-test. Evolución de Moxifloxacino.

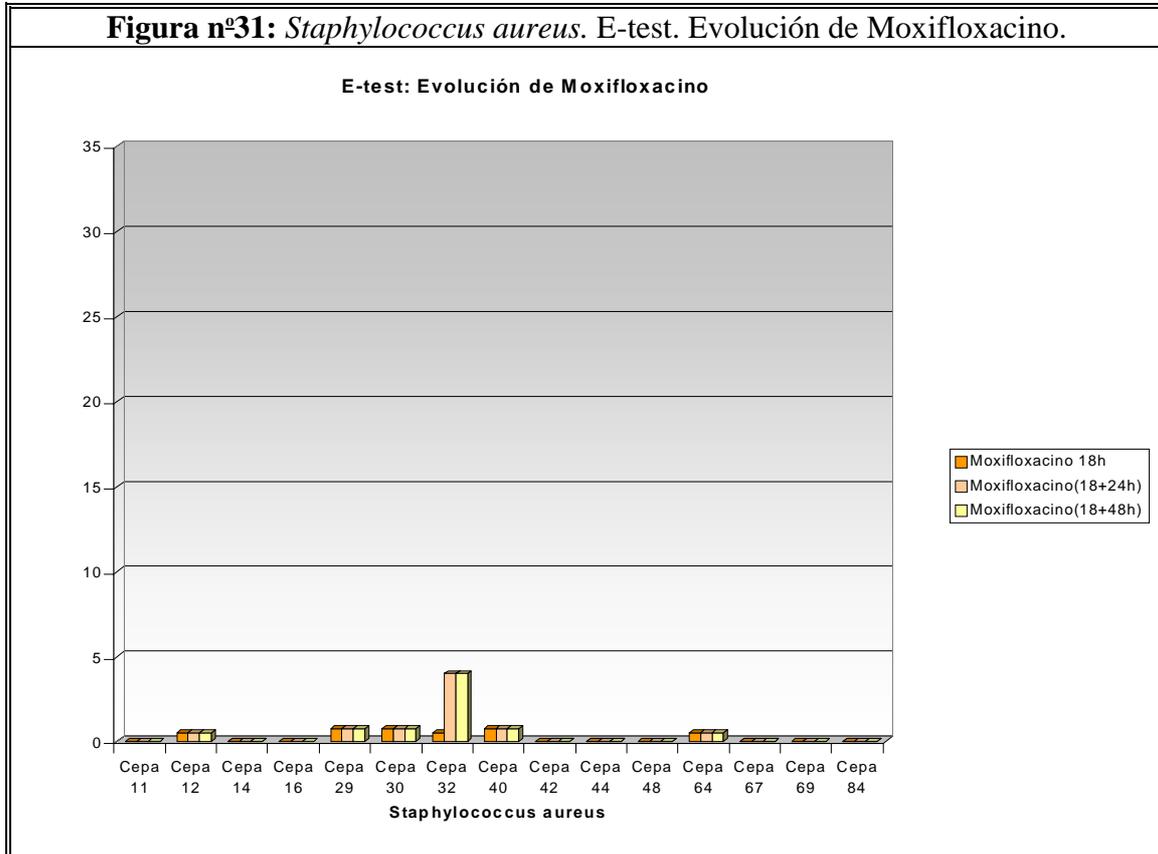


Tabla nº57: *Staphylococcus aureus*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Staphylococcus aureus</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino(18+24h) C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino(18+48h) C.M.I.(µg/ml)
Cepa 11	0,023	0,023	0,023
Cepa 12	0,5	0,5	0,5
Cepa 14	0,016	0,016	0,016
Cepa 16	0,008	0,008	0,008
Cepa 29	0,75	0,75	0,75
Cepa 30	0,75	0,75	0,75
Cepa 32	0,5	4	4
Cepa 40	0,75	0,75	0,75
Cepa 42	0,023	0,023	0,023
Cepa 44	0,012	0,012	0,012
Cepa 48	0,032	0,032	0,032
Cepa 64	0,5	0,5	0,5
Cepa 67	0,012	0,012	0,012
Cepa 69	0,032	0,032	0,032
Cepa 84	0,016	0,016	0,016

Figura n°32: *Staphylococcus aureus*. E-test. Evolución de Levofloxacino.

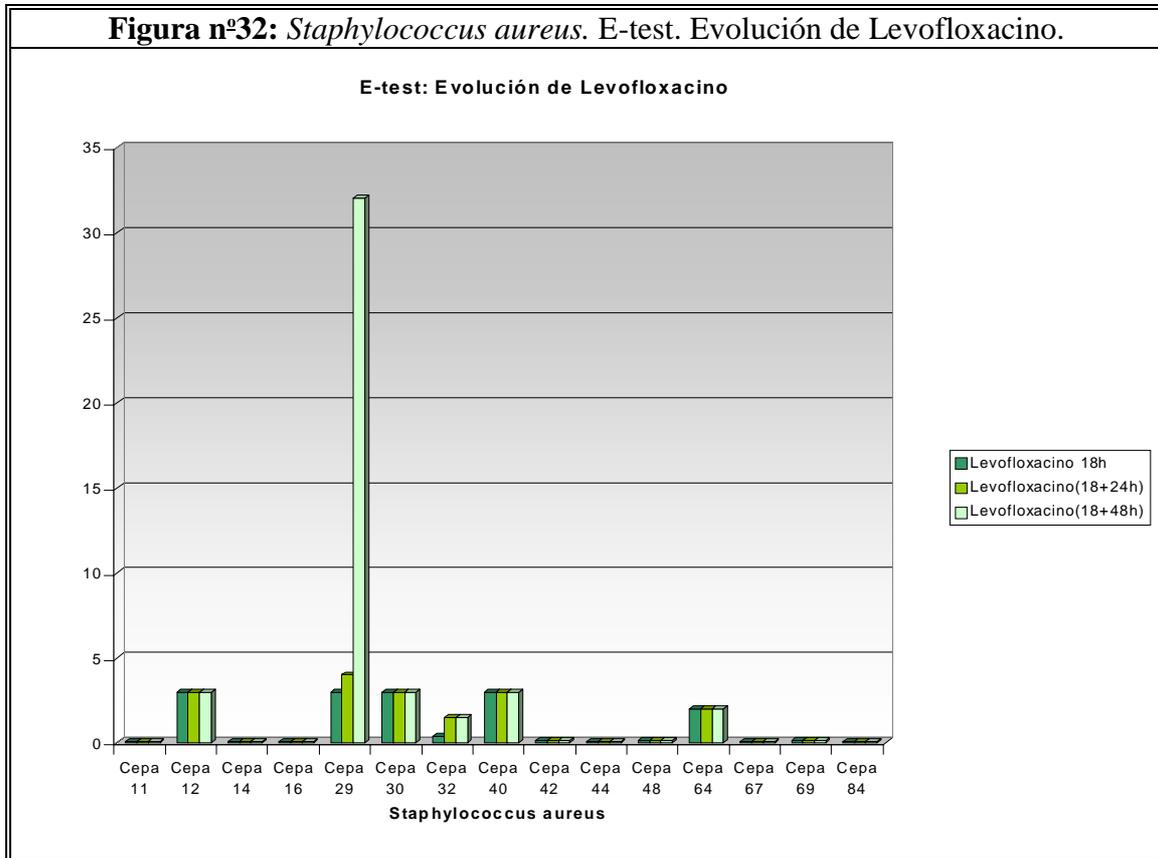


Tabla n°58: *Staphylococcus aureus*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Staphylococcus aureus</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino(18+24h) C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino(18+48h) C.M.I.(µg/ml)
Cepa 11	0,094	0,094	0,094
Cepa 12	3	3	3
Cepa 14	0,064	0,064	0,064
Cepa 16	0,064	0,064	0,064
Cepa 29	3	4	>32
Cepa 30	3	3	3
Cepa 32	0,38	1,5	1,5
Cepa 40	3	3	3
Cepa 42	0,094	0,094	0,094
Cepa 44	0,064	0,064	0,064
Cepa 48	0,125	0,125	0,125
Cepa 64	2	2	2
Cepa 67	0,094	0,094	0,094
Cepa 69	0,125	0,125	0,125
Cepa 84	0,094	0,094	0,094

Figura nº33: *Staphylococcus auricularis*. E-test. Evolución de Moxifloxacino.

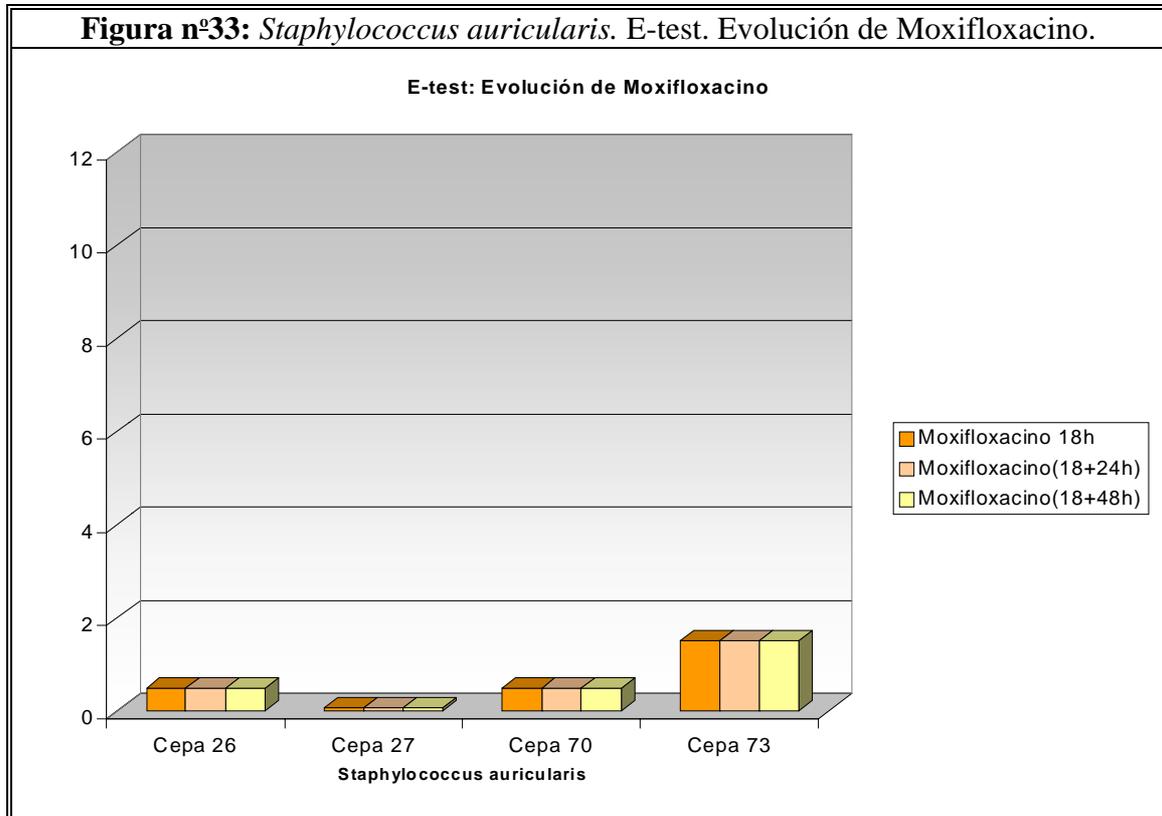


Tabla nº59: *Staphylococcus auricularis*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Staphylococcus auricularis</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 26	0,5	0,5	0,5
Cepa 27	0,064	0,064	0,064
Cepa 70	0,5	0,5	0,5
Cepa 73	1,5	1,5	1,5

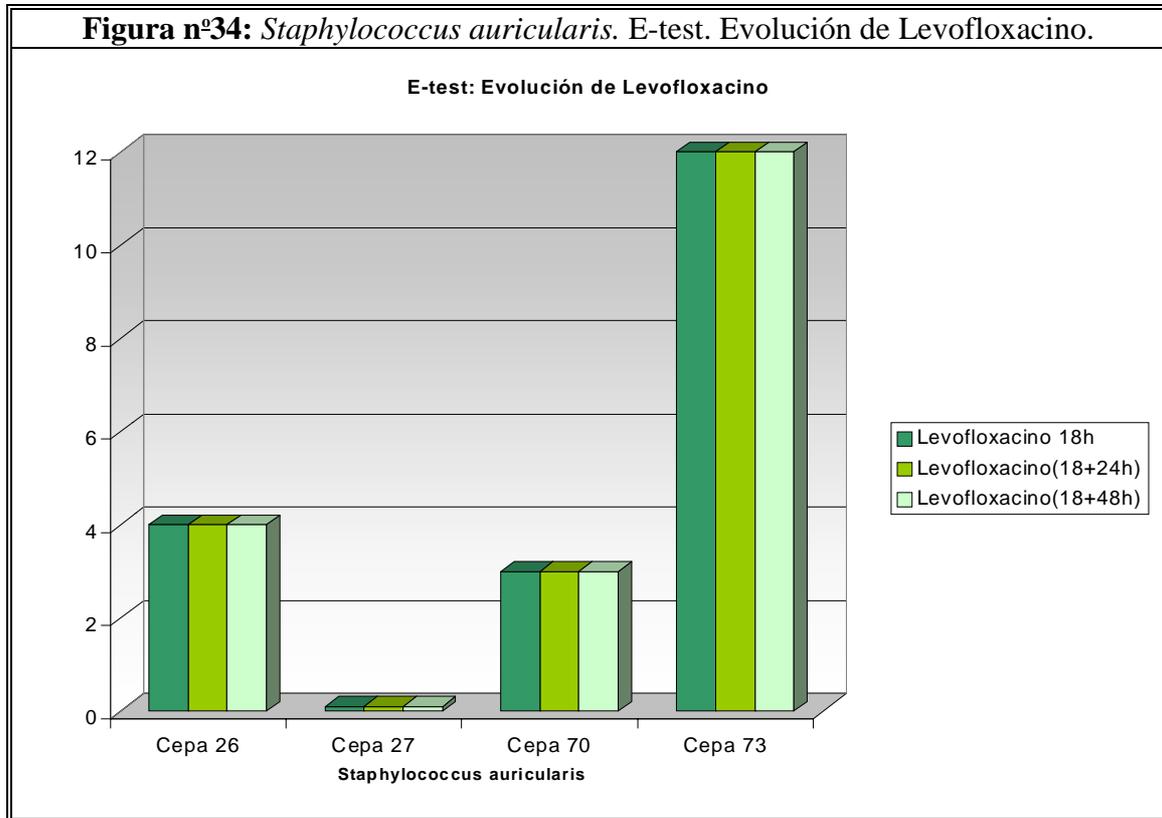


Tabla nº60: *Staphylococcus auricularis*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Staphylococcus auricularis</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 26	4	4	4
Cepa 27	0,094	0,094	0,094
Cepa 70	3	3	3
Cepa 73	12	12	12

Figura nº35: *Staphylococcus capitis*. E-test. Evolución de Moxifloxacino.

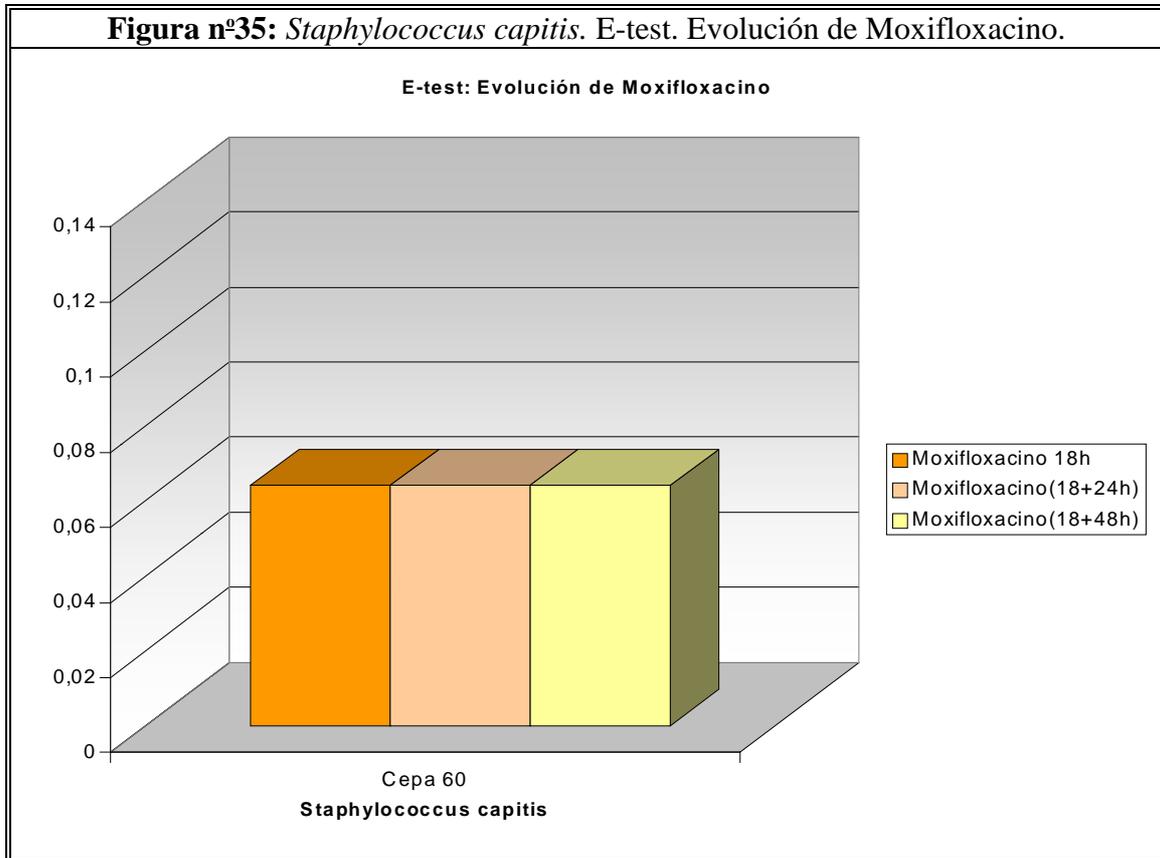


Tabla nº61: *Staphylococcus capitis*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Staphylococcus capitis</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 60	0,064	0,064	0,064

Figura n°36: *Staphylococcus capitis*. E-test. Evolución de Levofloxacino.

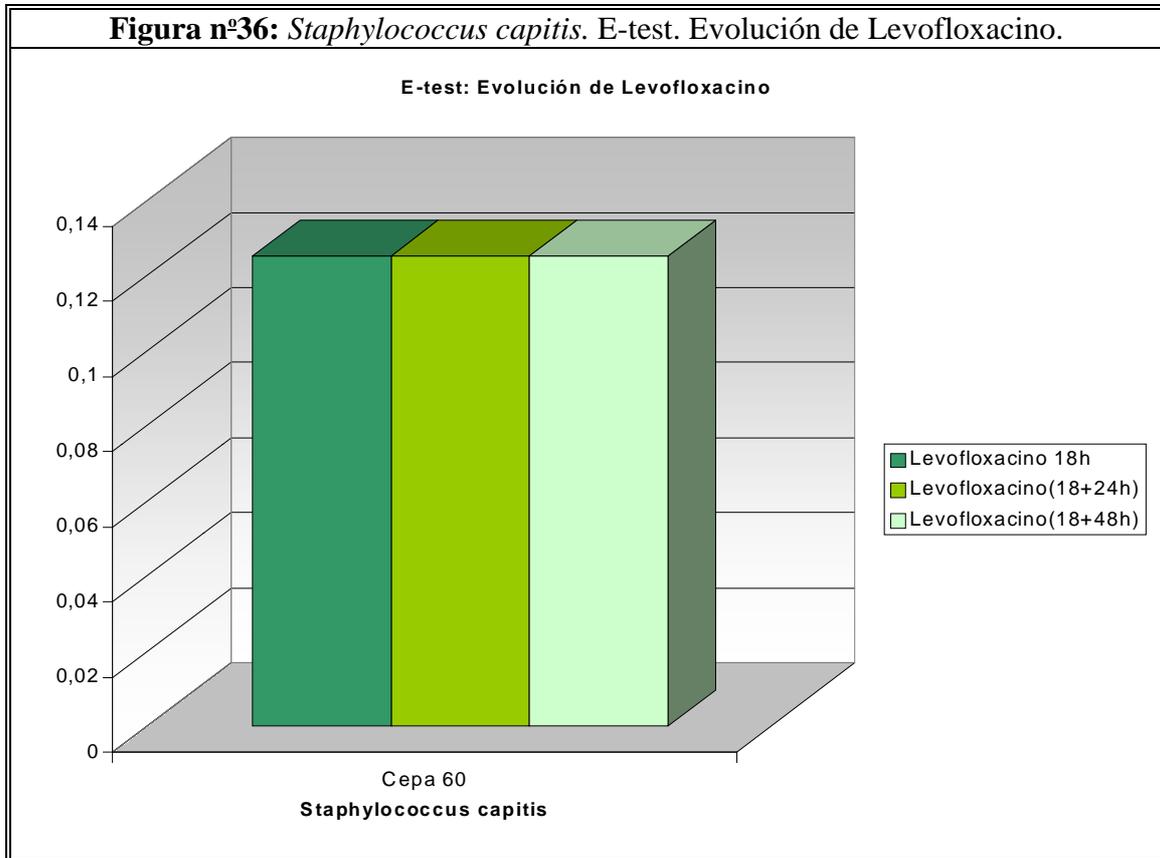


Tabla n°62: *Staphylococcus capitis*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Staphylococcus capitis</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+24h) C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+48h) C.M.I.(µg/ml)
Cepa 60	0,125	0,125	0,125

Figura n°37: *Staphylococcus epidermidis*. E-test. Evolución de Moxifloxacino.

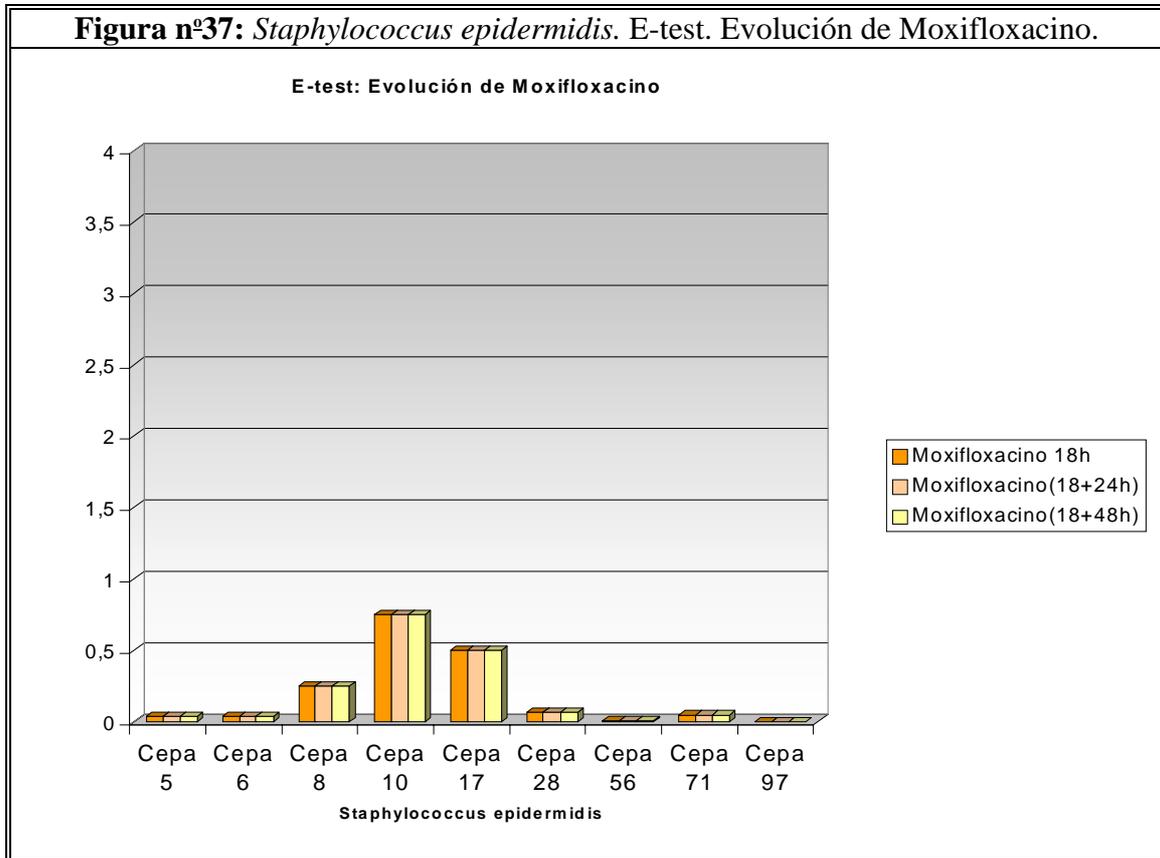


Tabla n°63: *Staphylococcus epidermidis*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Staphylococcus epidermidis</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24)h C. M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 5	0,032	0,032	0,032
Cepa 6	0,032	0,032	0,032
Cepa 8	0,25	0,25	0,25
Cepa 10	0,75	0,75	0,75
Cepa 17	0,5	0,5	0,5
Cepa 28	0,064	0,064	0,064
Cepa 56	0,008	0,008	0,008
Cepa 71	0,047	0,047	0,047
Cepa 97	<0,002	<0,002	<0,002

Figura n°38: *Staphylococcus epidermidis*. E-test. Evolución de Levofloxacin.

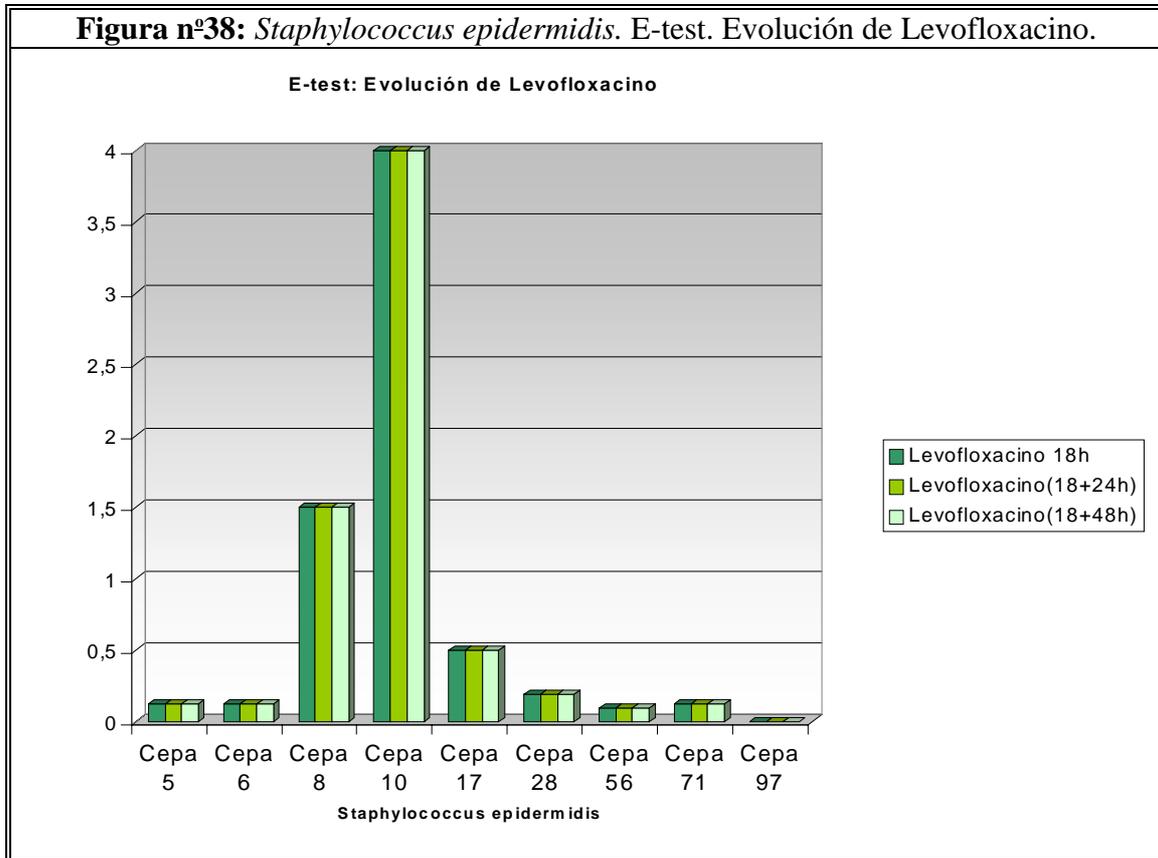


Tabla n°64: *Staphylococcus epidermidis*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacin obtenidos por el método E-test.

<i>Staphylococcus epidermidis</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacin 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacin (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacin (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 5	0,125	0,125	0,125
Cepa 6	0,125	0,125	0,125
Cepa 8	1,5	1,5	1,5
Cepa 10	4	4	4
Cepa 17	0,5	0,5	0,5
Cepa 28	0,19	0,19	0,19
Cepa 56	0,094	0,094	0,094
Cepa 71	0,125	0,125	0,125
Cepa 97	<0,002	<0,002	<0,002

Figura n°39: *Staphylococcus simulans*. E-test. Evolución de Moxifloxacino.

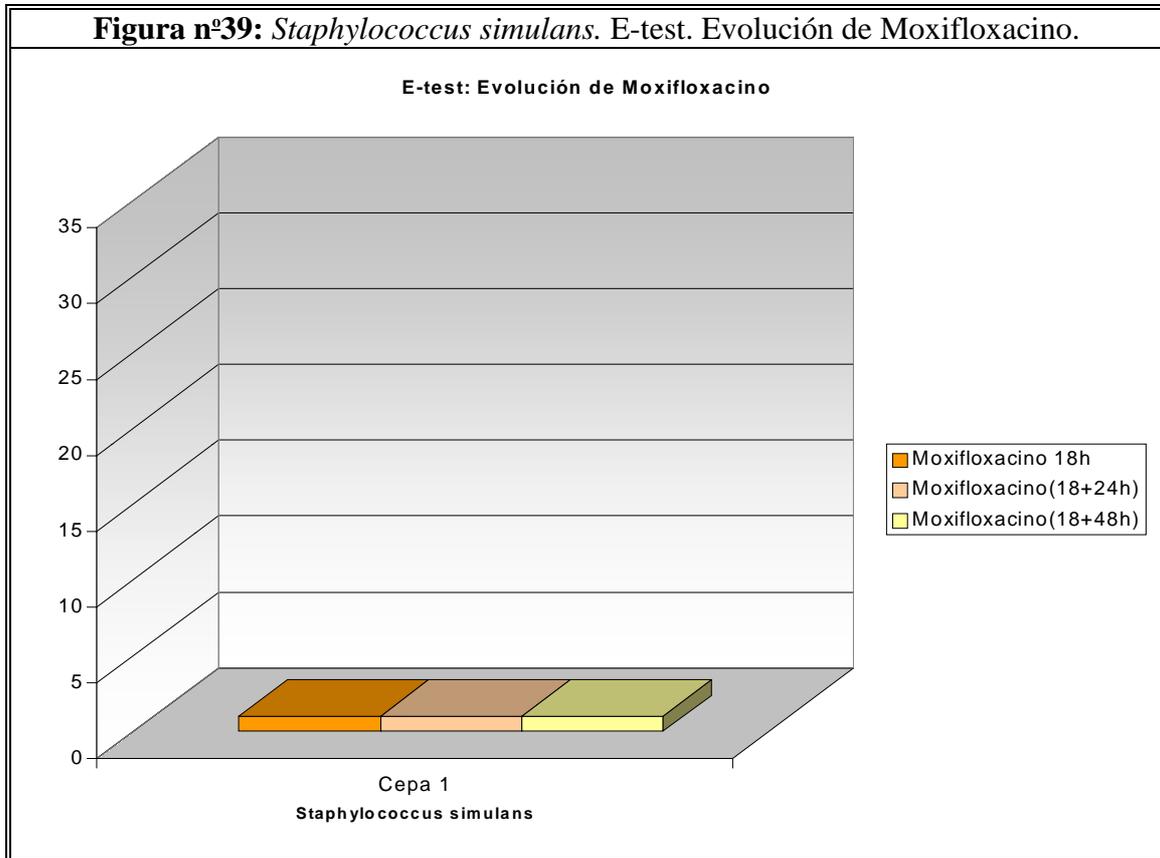


Tabla n°65: *Staphylococcus simulans*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Staphylococcus simulans</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24h) C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48h) C.M.I.(µg/ml)
Cepa 1	1	1	1

Figura nº40: *Staphylococcus simulans*. E-test. Evolución de Levofloxacino.

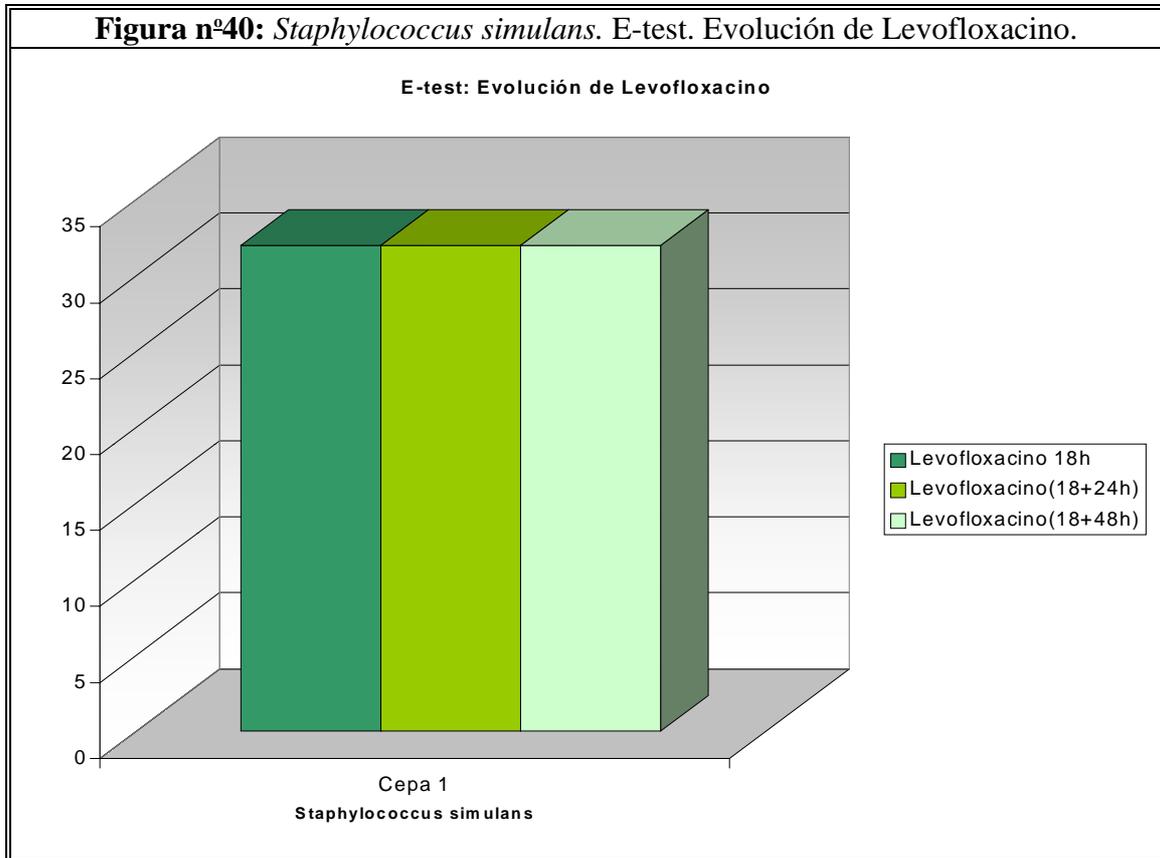


Tabla nº66: *Staphylococcus simulans*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Staphylococcus simulans</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 1	>32	>32	>32

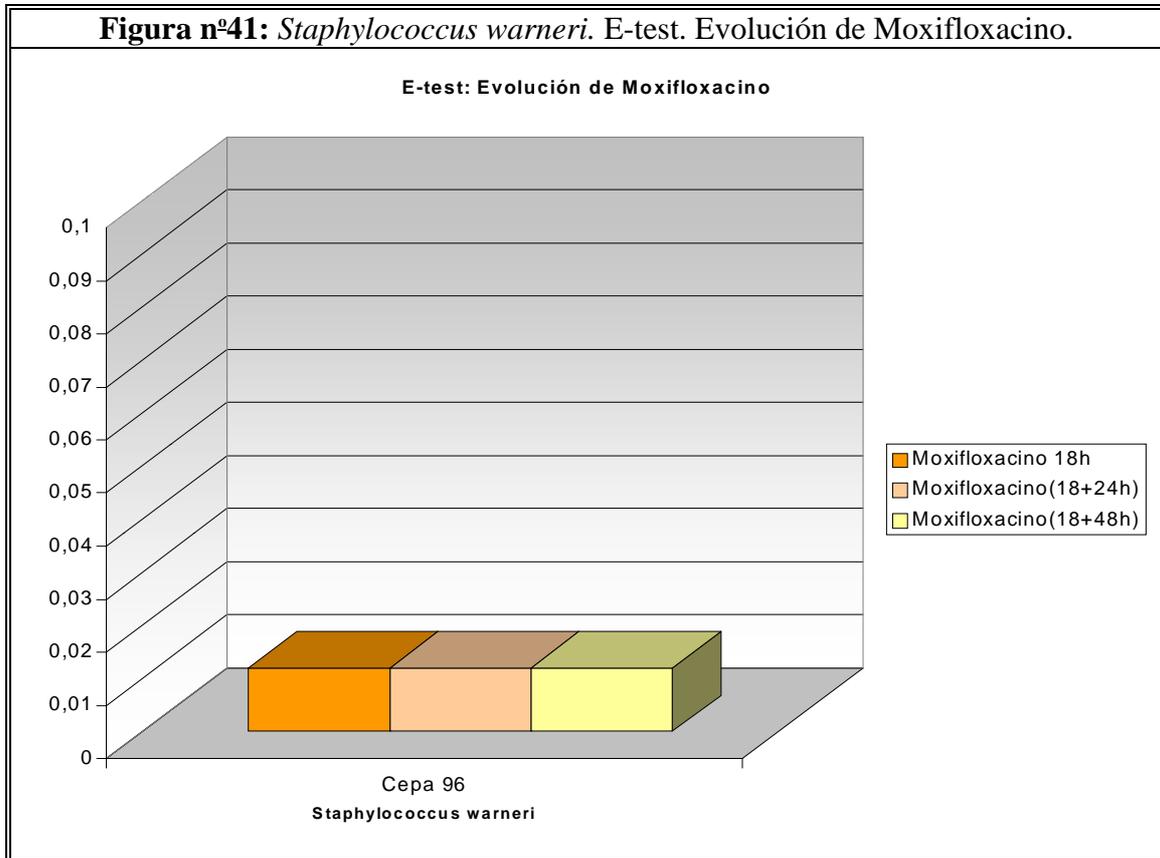


Tabla nº67: *Staphylococcus warneri*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Staphylococcus warneri</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 96	0,012	0,012	0,012

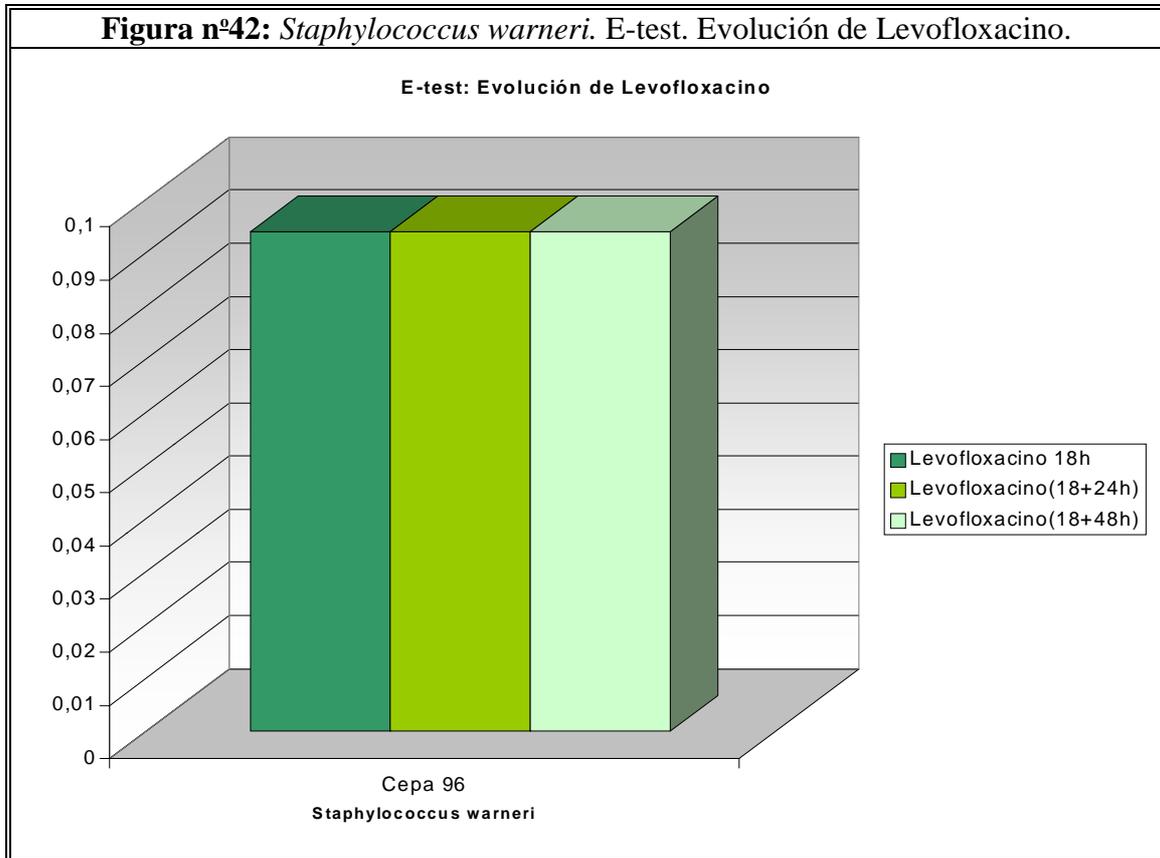


Tabla nº68: *Staphylococcus warneri*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Staphylococcus warneri</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 96	0,094	0,094	0,094

Figura n°43: *Staphylococcus xilosus*. E-test. Evolución de Moxifloxacino.

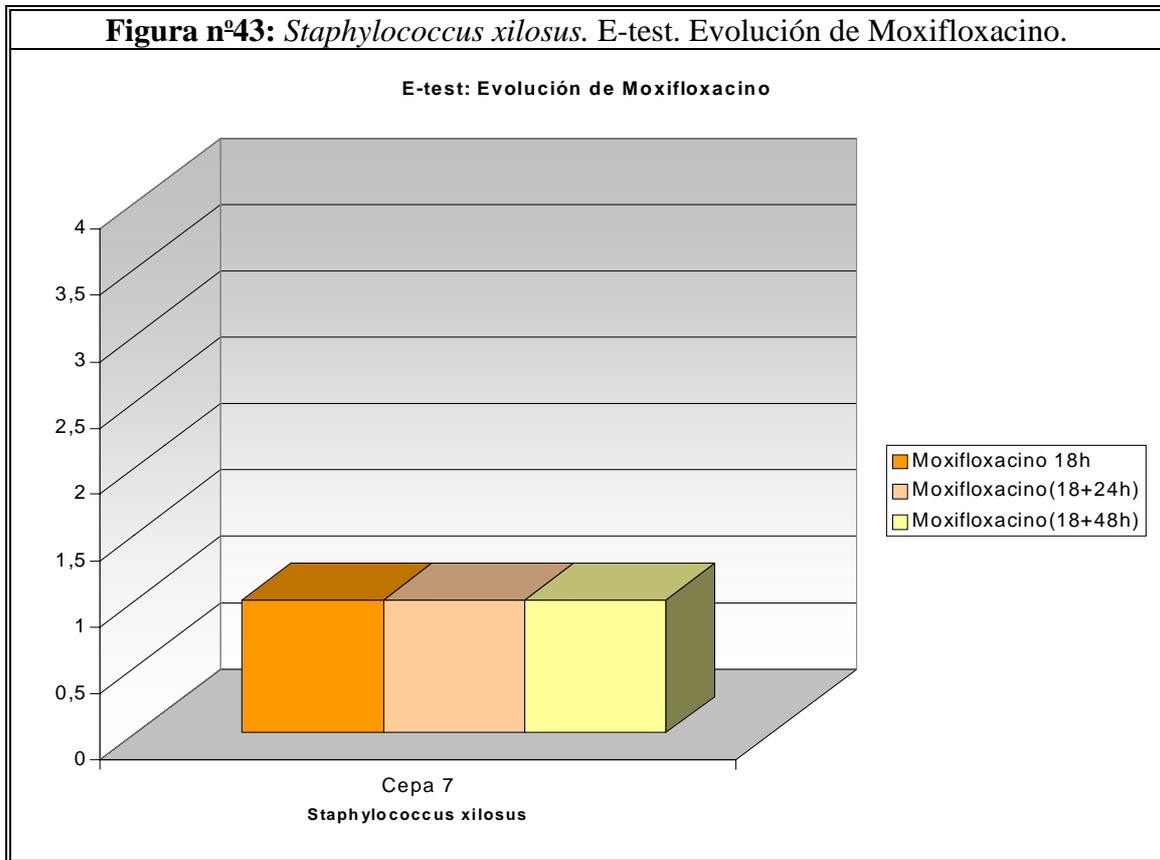


Tabla n°69: *Staphylococcus xilosus*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Staphylococcus xilosus</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 7	1	1	1

Figura nº44: *Staphylococcus xilosus*. E-test. Evolución de Levofloxacino.

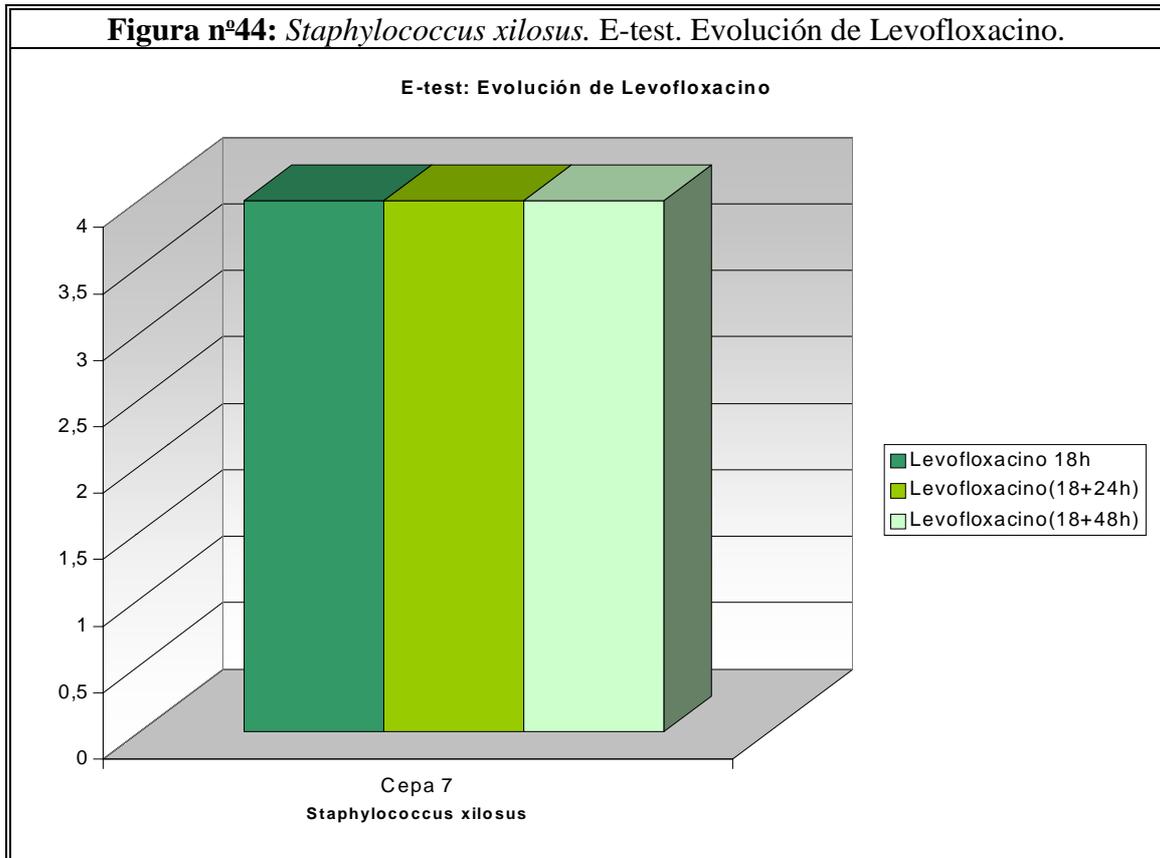


Tabla nº70: *Staphylococcus xilosus*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Staphylococcus xilosus</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 7	4	4	4

Figura nº45: *Streptococcus pneumoniae*. E-test. Evolución de Moxifloxacino.

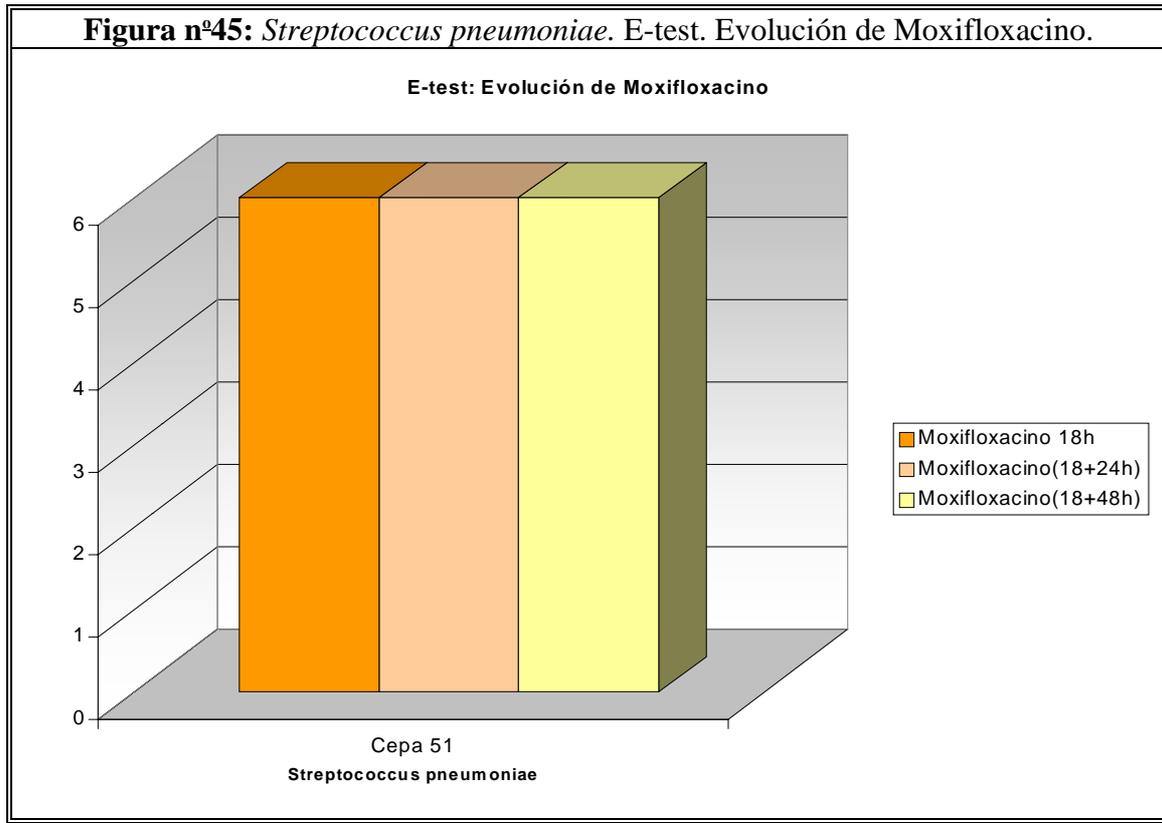


Tabla nº71: *Streptococcus pneumoniae*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Streptococcus pneumoniae</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 51	6	6	6

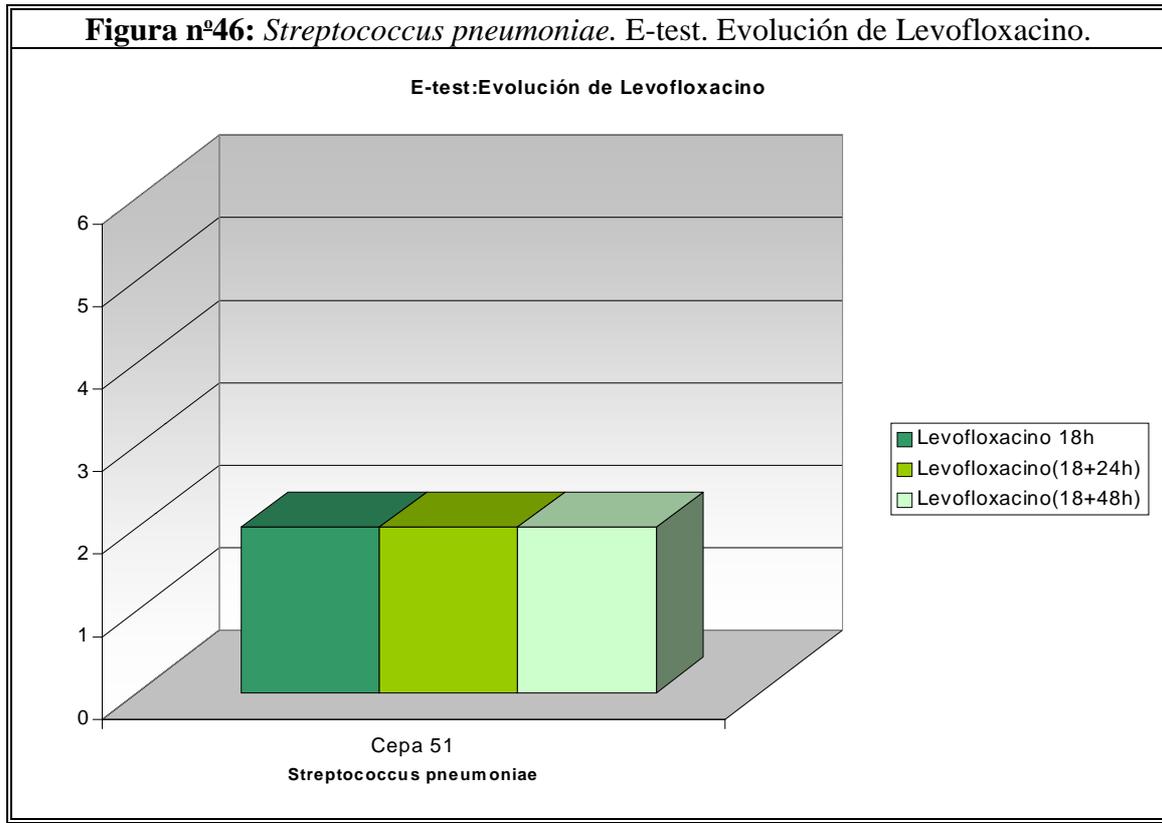


Tabla nº72: *Streptococcus pneumoniae*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Streptococcus pneumoniae</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 51	2	2	2

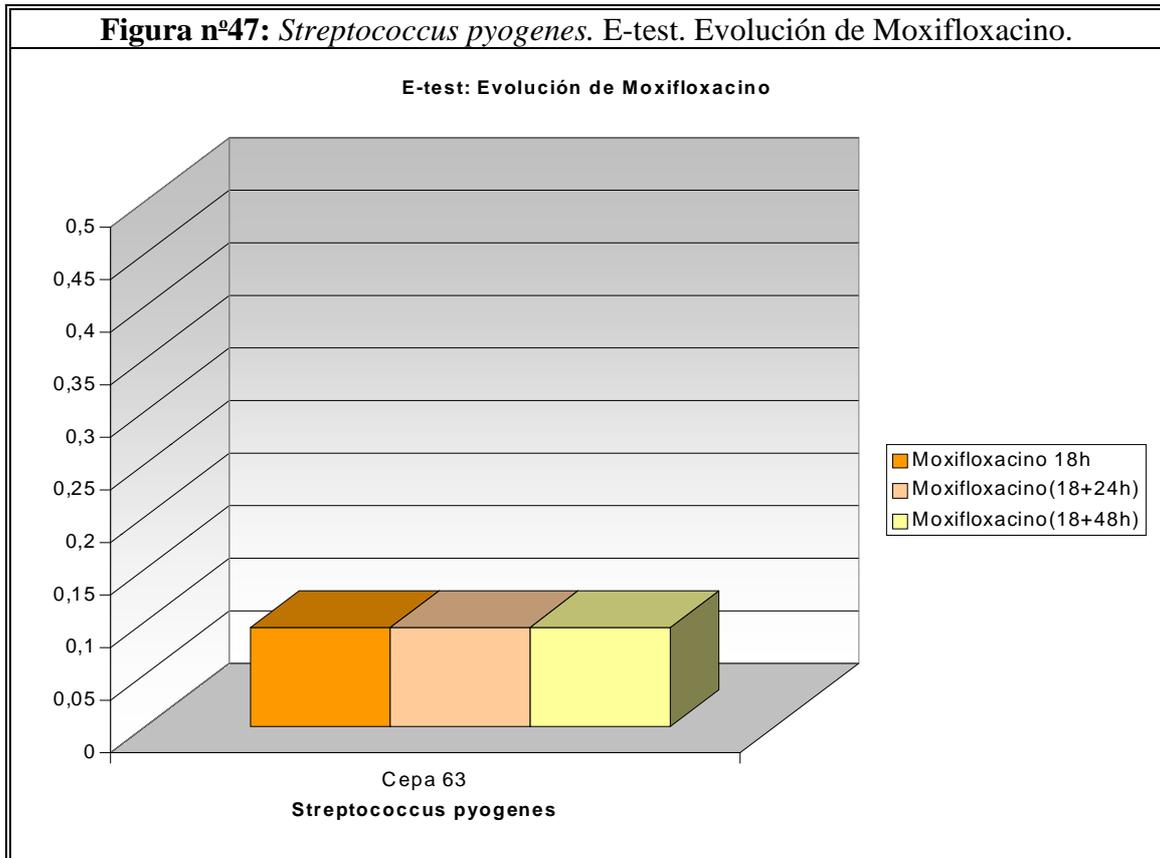


Tabla nº73: *Streptococcus pyogenes*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Streptococcus pyogenes</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 63	0,094	0,094	0,094

Figura nº48: *Streptococcus pyogenes*. E-test. Evolución de Levofloxacino.

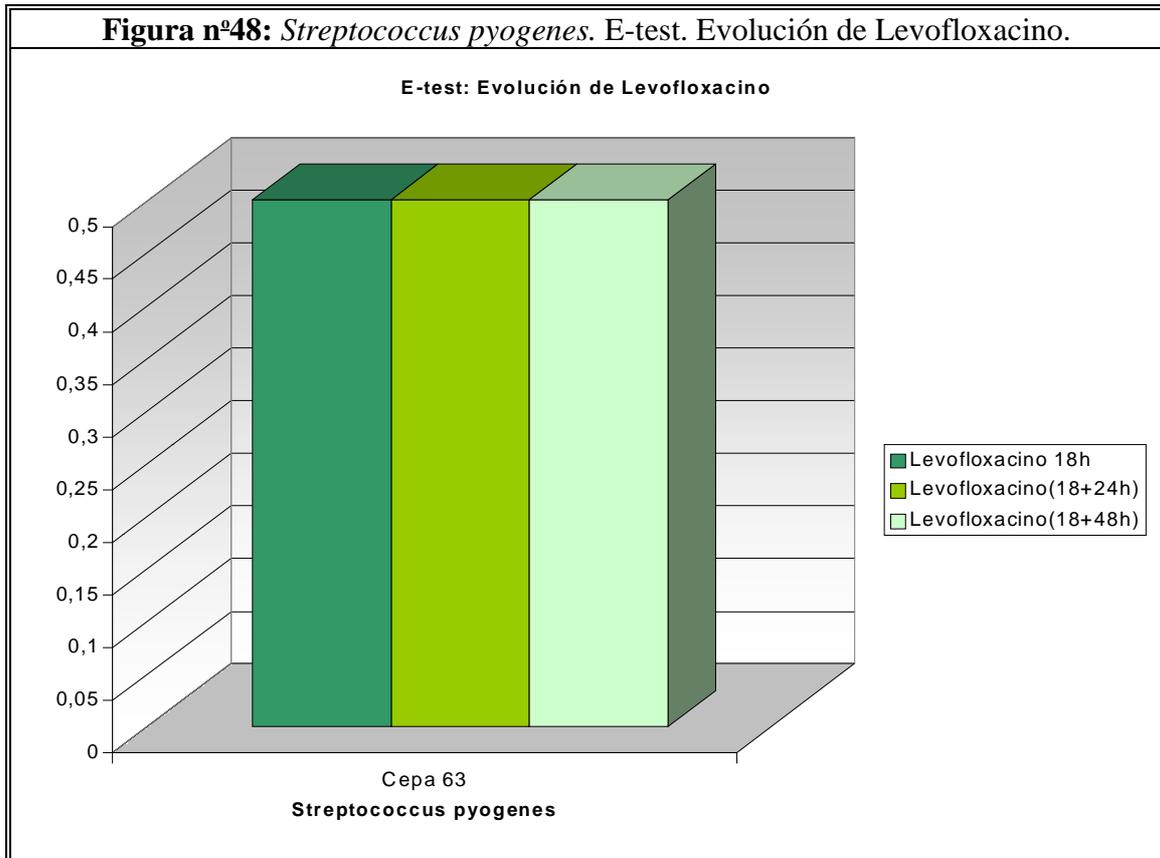


Tabla nº74: *Streptococcus pyogenes*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Streptococcus pyogenes</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 63	0,5	0,5	0,5

Figura n°49: *Streptococcus sanguis*. E-test. Evolución de Moxifloxacino.

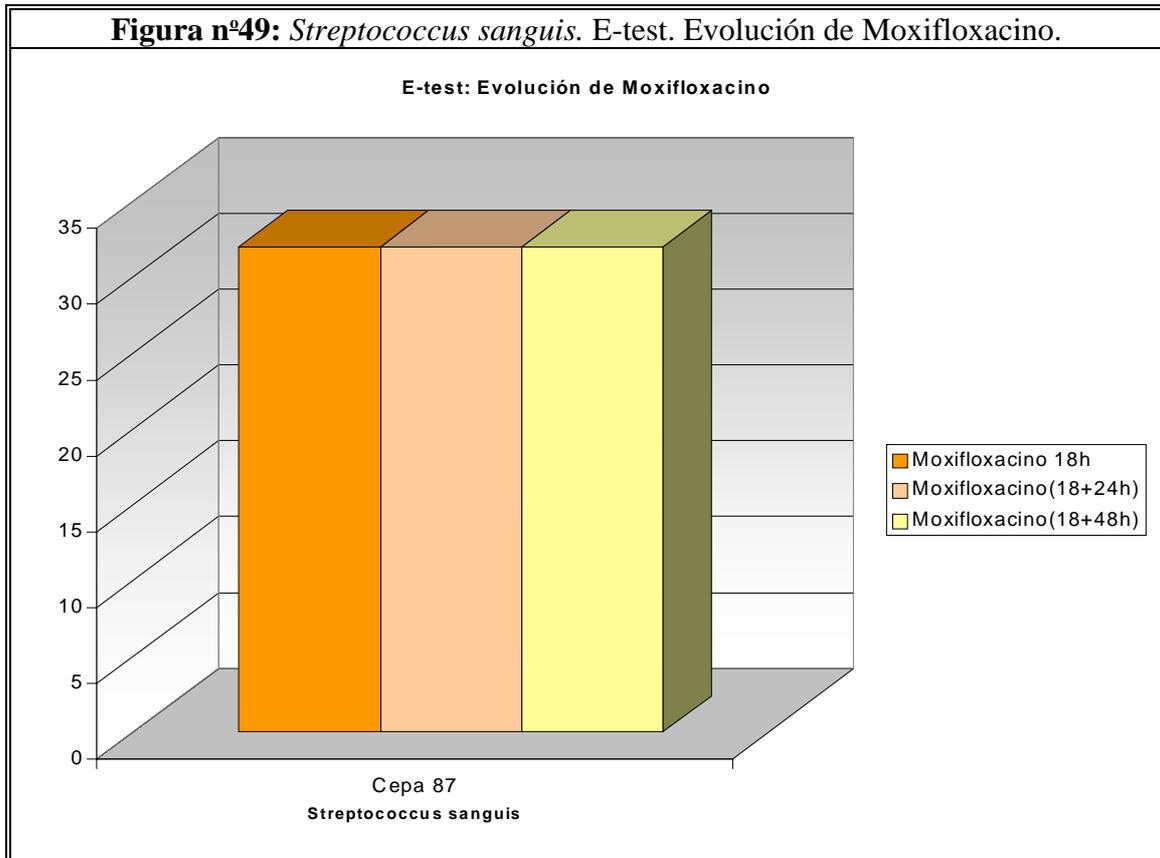


Tabla n°75: *Streptococcus sanguis*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Streptococcus sanguis</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 87	>32	>32	>32

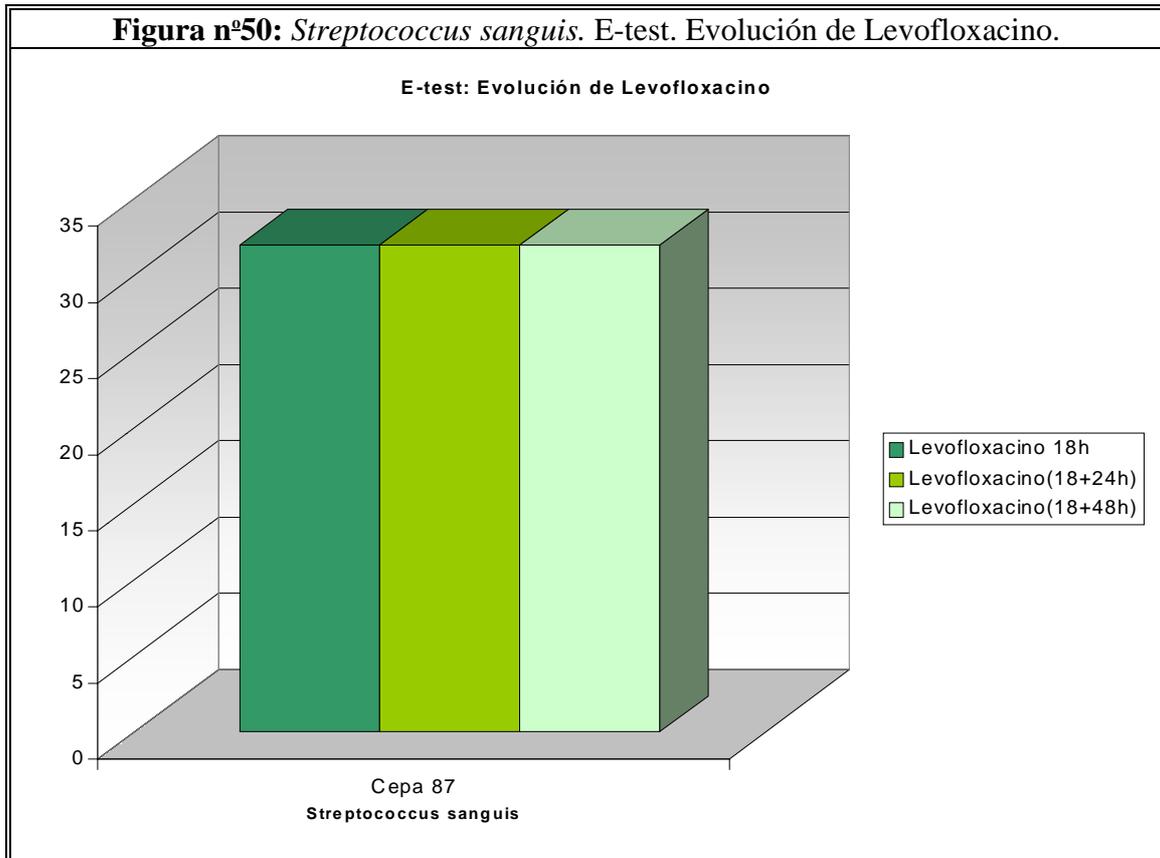


Tabla nº76: *Streptococcus sanguis*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Streptococcus sanguis</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+24)h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacino (18+48)h C.M.I.(µg/ml)
Cepa 87	>32	>32	>32

Figura nº51: *Streptococcus viridans*. E-test. Evolución de Moxifloxacino.

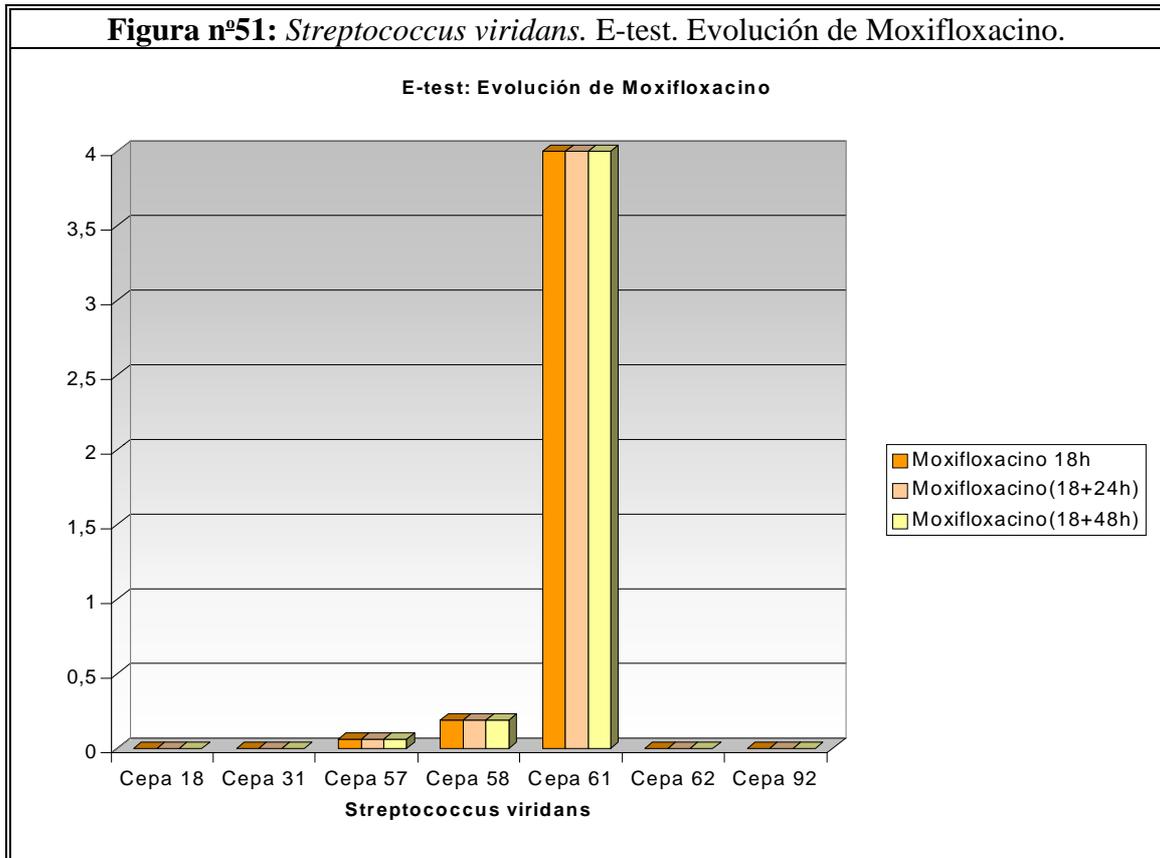


Tabla nº77: *Streptococcus viridans*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Moxifloxacino obtenidos por el método E-test.

<i>Streptococcus viridans</i>	EVOLUCIÓN DE MOXIFLOXACINO		
	Moxifloxacino 18h C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+24h) C.M.I.(µg/ml)	Moxifloxacino (18+48h) C.M.I.(µg/ml)
Cepa 18	<0,002	<0,002	<0,002
Cepa 31	<0,002	<0,002	<0,002
Cepa 57	0,064	0,064	0,064
Cepa 58	0,19	0,19	0,19
Cepa 61	4	4	4
Cepa 62	<0,002	<0,002	<0,002
Cepa 92	<0,002	<0,002	<0,002

Figura nº52: *Streptococcus viridans*. E-test. Evolución de Levofloxacin.

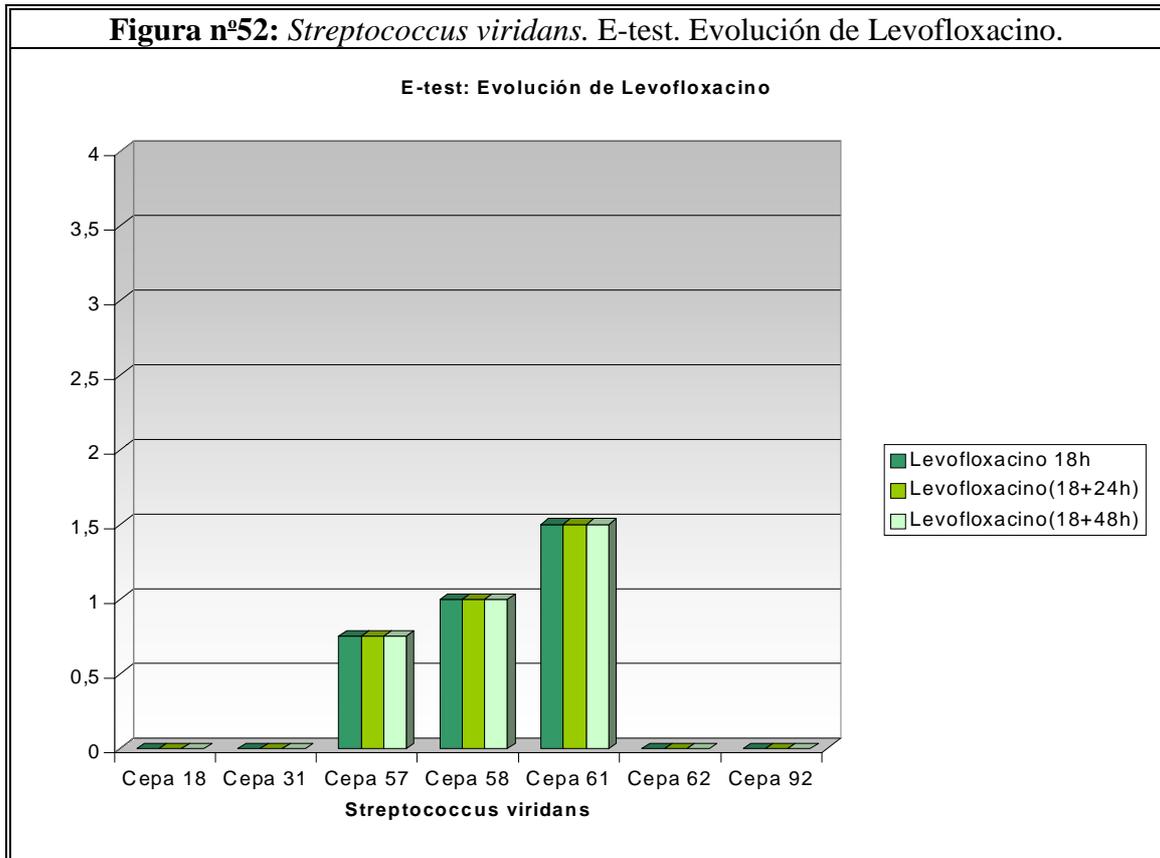


Tabla nº78: *Streptococcus viridans*. Valores de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la Evolución de Levofloxacin obtenidos por el método E-test.

<i>Streptococcus viridans</i>	EVOLUCIÓN DE LEVOFLOXACINO		
	Levofloxacin 18h C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacin (18+24h) C.M.I.(µg/ml)	Levofloxacin (18+48h) C.M.I.(µg/ml)
Cepa 18	<0,002	<0,002	<0,002
Cepa 31	<0,002	<0,002	<0,002
Cepa 57	0,75	0,75	0,75
Cepa 58	1	1	1
Cepa 61	1,5	1,5	1,5
Cepa 62	<0,002	<0,002	<0,002
Cepa 92	<0,002	<0,002	<0,002

**3. VALORACIÓN ESTADÍSTICA MEDIANTE SPSS Y STATGRAPHIC PLUS.
CLUSTER ANÁLISIS.**

Tabla nº79: Agglomeration Schedule: Moxifloxacino.

Clustering Method: Nearest Neighbor (Single Linkage).

Distance Metric: Squared Euclidean.

Stage	Clusters Combined		Stage First Appears			
	Cluster 1	Cluster 2	Coefficient	Cluster 1	Cluster 2	Next Stage
1	1	2	0,0	0	0	2
2	1	7	0,0	1	0	3
3	1	8	0,0	2	0	4
4	1	21	0,0	3	0	5
5	1	22	0,0	4	0	6
6	1	27	0,0	5	0	7
7	1	61	0,0	6	0	8
8	1	73	0,0	7	0	78
9	3	14	0,0	0	0	10
10	3	18	0,0	9	0	11
11	3	23	0,0	10	0	12
12	3	59	0,0	11	0	13
13	3	67	0,0	12	0	82
14	4	20	0,0	0	0	15
15	4	24	0,0	14	0	16
16	4	28	0,0	15	0	17
17	4	69	0,0	16	0	18
18	4	72	0,0	17	0	19
19	4	79	0,0	18	0	20
20	4	80	0,0	19	0	83
21	5	31	0,0	0	0	22
22	5	55	0,0	21	0	23
23	5	58	0,0	22	0	24
24	5	63	0,0	23	0	25
25	5	64	0,0	24	0	26
26	5	66	0,0	25	0	27
27	5	82	0,0	26	0	92
28	6	25	0,0	0	0	29
29	6	43	0,0	28	0	30
30	6	86	0,0	29	0	84
31	9	19	0,0	0	0	32
32	9	62	0,0	31	0	33
33	9	85	0,0	32	0	79
34	10	32	0,0	0	0	35
35	10	35	0,0	34	0	36
36	10	38	0,0	35	0	37
37	10	97	0,0	36	0	88
38	11	33	0,0	0	0	39
39	11	37	0,0	38	0	40
40	11	81	0,0	39	0	88
41	13	17	0,0	0	0	42
42	13	68	0,0	41	0	43
43	13	71	0,0	42	0	44
44	13	89	0,0	43	0	78
45	15	45	0,0	0	0	46
46	15	46	0,0	45	0	47

IV.- RESULTADOS.

47	15	91	0,0	46	0	95
48	16	77	0,0	0	0	94
49	30	49	0,0	0	0	50
50	30	50	0,0	49	0	51
51	30	52	0,0	50	0	52
52	30	53	0,0	51	0	53
53	30	56	0,0	52	0	90
54	34	36	0,0	0	0	55
55	34	41	0,0	54	0	56
56	34	87	0,0	55	0	57
57	34	93	0,0	56	0	58
58	34	94	0,0	57	0	59
59	34	95	0,0	58	0	60
60	34	99	0,0	59	0	61
61	34	100	0,0	60	0	80
62	39	40	0,0	0	0	63
63	39	57	0,0	62	0	87
64	42	75	0,0	0	0	65
65	42	78	0,0	64	0	66
66	42	84	0,0	65	0	67
67	42	96	0,0	66	0	85
68	44	48	0,0	0	0	69
69	44	92	0,0	68	0	86
70	47	98	0,0	0	0	95
71	51	60	0,0	0	0	72
72	51	70	0,0	71	0	73
73	51	74	0,0	72	0	74
74	51	76	0,0	73	0	75
75	51	83	0,0	74	0	90
76	54	88	0,0	0	0	77
77	54	90	0,0	76	0	92
78	1	13	0,00000894466	8	44	81
79	9	29	0,00000894466	33	0	80
80	9	34	0,00000894466	79	61	81
81	1	9	0,00000894466	78	80	82
82	1	3	0,000027393	81	13	83
83	1	4	0,0000452823	82	20	84
84	1	6	0,000125784	83	30	85
85	1	42	0,000161563	84	67	86
86	1	44	0,000503137	85	69	87
87	1	39	0,000537239	86	63	89
88	10	11	0,00201255	37	40	89
89	1	10	0,00236195	87	88	91
90	30	51	0,00805019	53	75	91
91	1	30	0,0094478	89	90	93
92	5	54	0,0349401	27	77	93
93	1	5	0,0349401	91	92	94
94	1	16	0,13976	93	48	97
95	15	47	2,23616	47	70	96
96	15	65	2,31135	95	0	97
97	1	15	2,50343	94	96	99
98	12	26	8,94466	0	0	99
99	1	12	20,1255	97	98	0

Cluster Number	Smallest Row
1	1

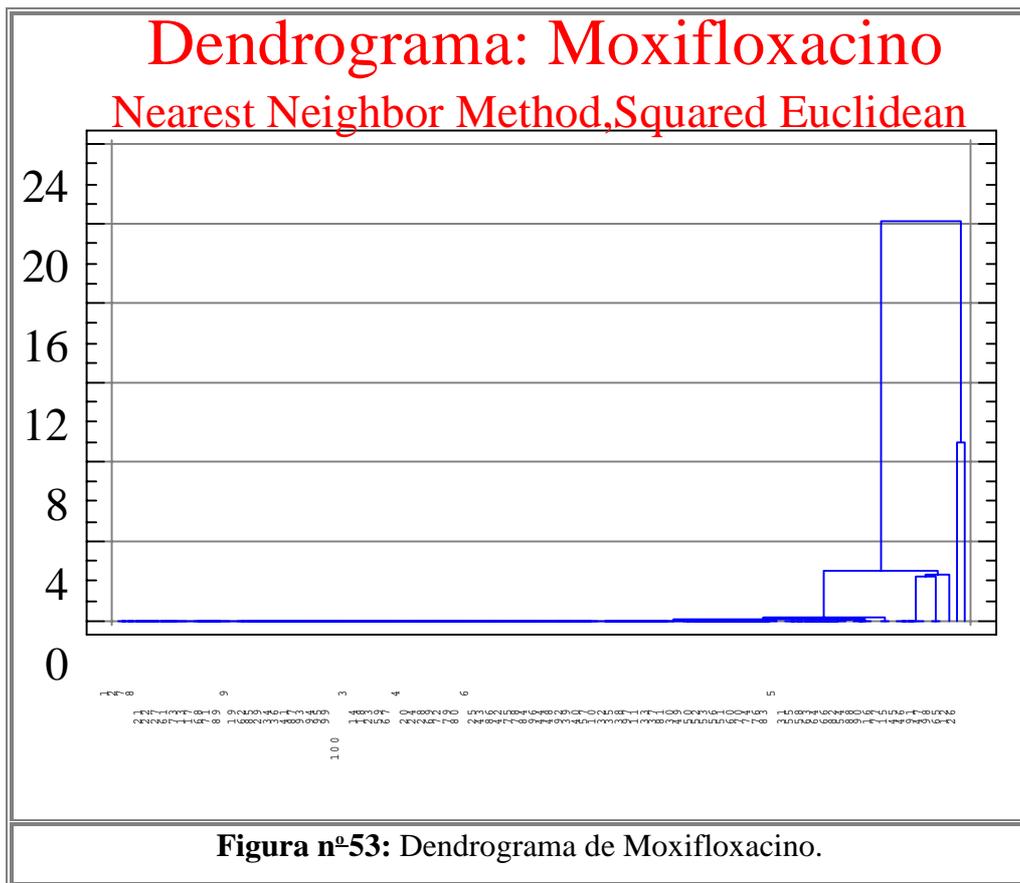
Tabla nº80: Agglomeration Schedule: Levofloxacin.
Clustering Method: Nearest Neighbor (Single Linkage).
Distance Metric: Squared Euclidean.

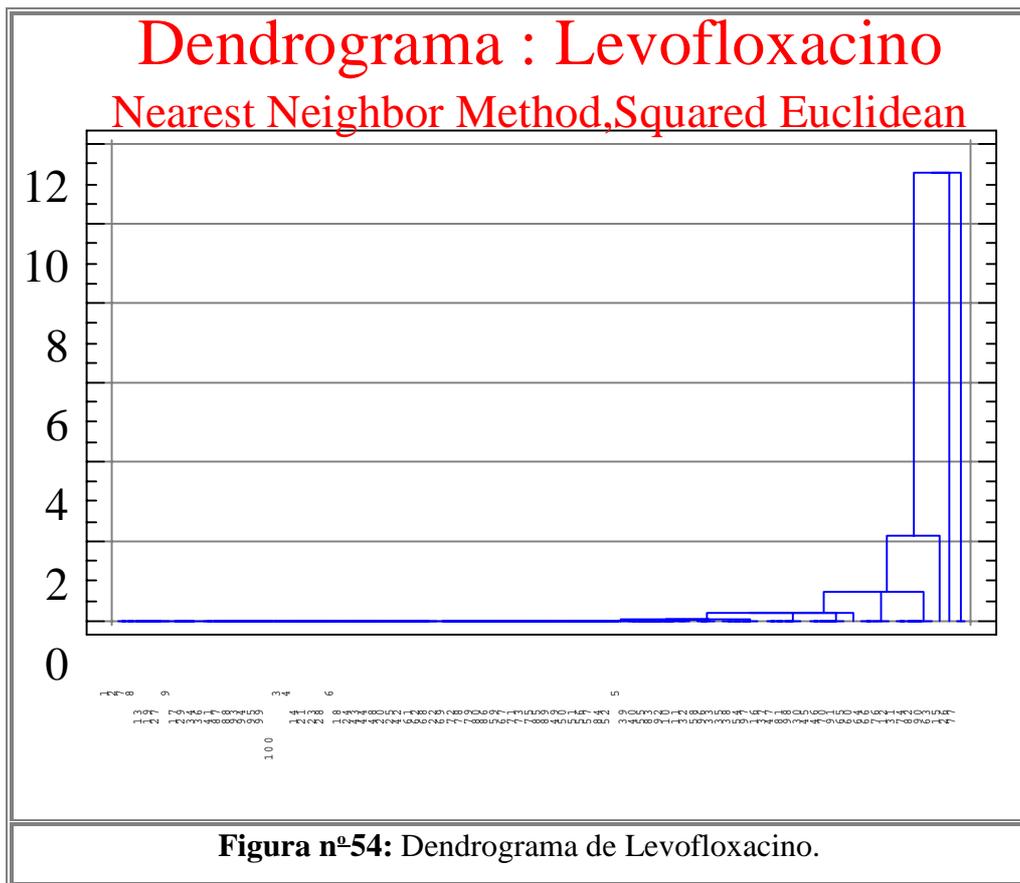
Stage	Clusters Combined		Stage First Appears			Next Stage
	Cluster 1	Cluster 2	Coefficient	Cluster 1	Cluster 2	
1	1	35	0,0	0	0	2
2	1	37	0,0	1	0	3
3	1	42	0,0	2	0	4
4	1	88	0,0	3	0	5
5	1	89	0,0	4	0	6
6	1	94	0,0	5	0	7
7	1	95	0,0	6	0	8
8	1	96	0,0	7	0	9
9	1	100	0,0	8	0	10
10	1	101	0,0	9	0	79
11	2	3	0,0	0	0	12
12	2	8	0,0	11	0	13
13	2	9	0,0	12	0	14
14	2	14	0,0	13	0	15
15	2	20	0,0	14	0	16
16	2	28	0,0	15	0	78
17	4	5	0,0	0	0	18
18	4	15	0,0	17	0	19
19	4	22	0,0	18	0	20
20	4	24	0,0	19	0	21
21	4	29	0,0	20	0	80
22	6	40	0,0	0	0	23
23	6	41	0,0	22	0	24
24	6	56	0,0	23	0	25
25	6	84	0,0	24	0	26
26	6	93	0,0	25	0	88
27	7	19	0,0	0	0	28
28	7	25	0,0	27	0	29
29	7	44	0,0	28	0	30
30	7	45	0,0	29	0	31
31	7	49	0,0	30	0	81
32	11	12	0,0	0	0	88
33	13	32	0,0	0	0	34
34	13	75	0,0	33	0	35
35	13	83	0,0	34	0	36
36	13	91	0,0	35	0	96
37	17	38	0,0	0	0	38
38	17	48	0,0	37	0	39
39	17	82	0,0	38	0	40
40	17	99	0,0	39	0	92
41	21	26	0,0	0	0	42
42	21	43	0,0	41	0	43
43	21	62	0,0	42	0	44
44	21	63	0,0	43	0	45
45	21	69	0,0	44	0	82
46	27	78	0,0	0	0	98
47	31	46	0,0	0	0	48
48	31	47	0,0	47	0	49
49	31	71	0,0	48	0	50
50	31	92	0,0	49	0	93

IV.- RESULTADOS.

51	33	59	0,0	0	0	52
52	33	97	0,0	51	0	90
53	34	36	0,0	0	0	54
54	34	39	0,0	53	0	55
55	34	55	0,0	54	0	56
56	34	98	0,0	55	0	91
57	50	51	0,0	0	0	58
58	50	52	0,0	57	0	59
59	50	57	0,0	58	0	85
60	58	85	0,0	0	0	85
61	60	68	0,0	0	0	62
62	60	72	0,0	61	0	63
63	60	74	0,0	62	0	64
64	60	76	0,0	63	0	65
65	60	86	0,0	64	0	66
66	60	90	0,0	65	0	83
67	61	65	0,0	0	0	68
68	61	67	0,0	67	0	69
69	61	77	0,0	68	0	95
70	70	73	0,0	0	0	71
71	70	79	0,0	70	0	72
72	70	80	0,0	71	0	73
73	70	81	0,0	72	0	74
74	70	87	0,0	73	0	77
75	10	30	0,0000113748	0	0	76
76	10	18	0,0000113748	75	0	78
77	23	70	0,0000177732	0	74	83
78	2	10	0,0000348354	16	76	79
79	1	2	0,0000454994	10	78	80
80	1	4	0,0000575851	79	21	81
81	1	7	0,000159959	80	31	82
82	1	21	0,000205458	81	45	84
83	23	60	0,000480587	77	66	84
84	1	23	0,000639835	82	83	86
85	50	58	0,00255934	59	60	86
86	1	50	0,00300367	84	85	87
87	1	53	0,00489594	86	0	89
88	6	11	0,01023774	26	32	89
89	1	6	0,0120147	87	88	90
90	1	33	0,044433	89	52	91
91	1	34	0,044433	90	56	92
92	1	17	0,177732	91	40	93
93	1	31	0,177732	92	50	94
94	1	66	0,209612	93	0	95
95	1	61	0,710927	94	69	96
96	1	13	0,710927	95	36	97
97	1	64	2,1321	96	0	99
98	16	27	11,3748	0	46	99
99	1	16	11,3748	97	98	0

Cluster Number	Smallest Row
1	1

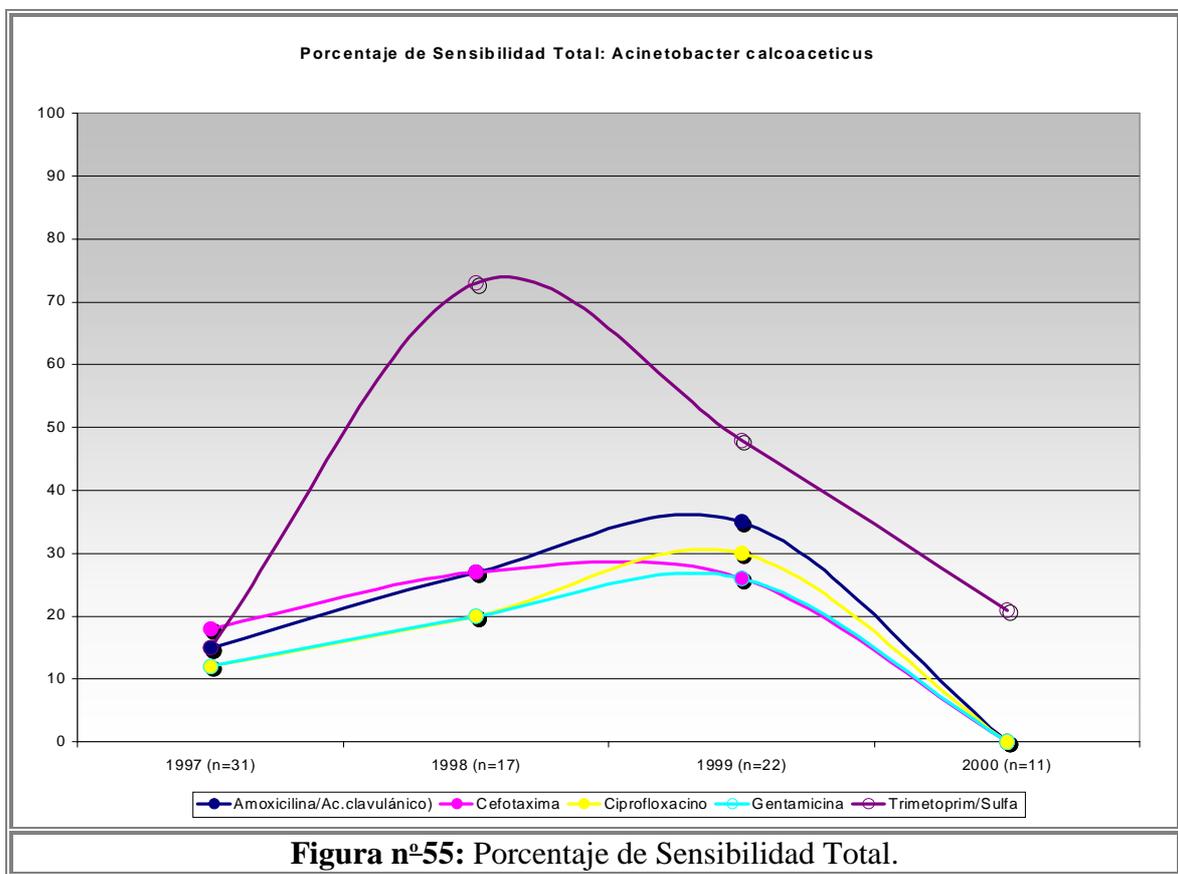


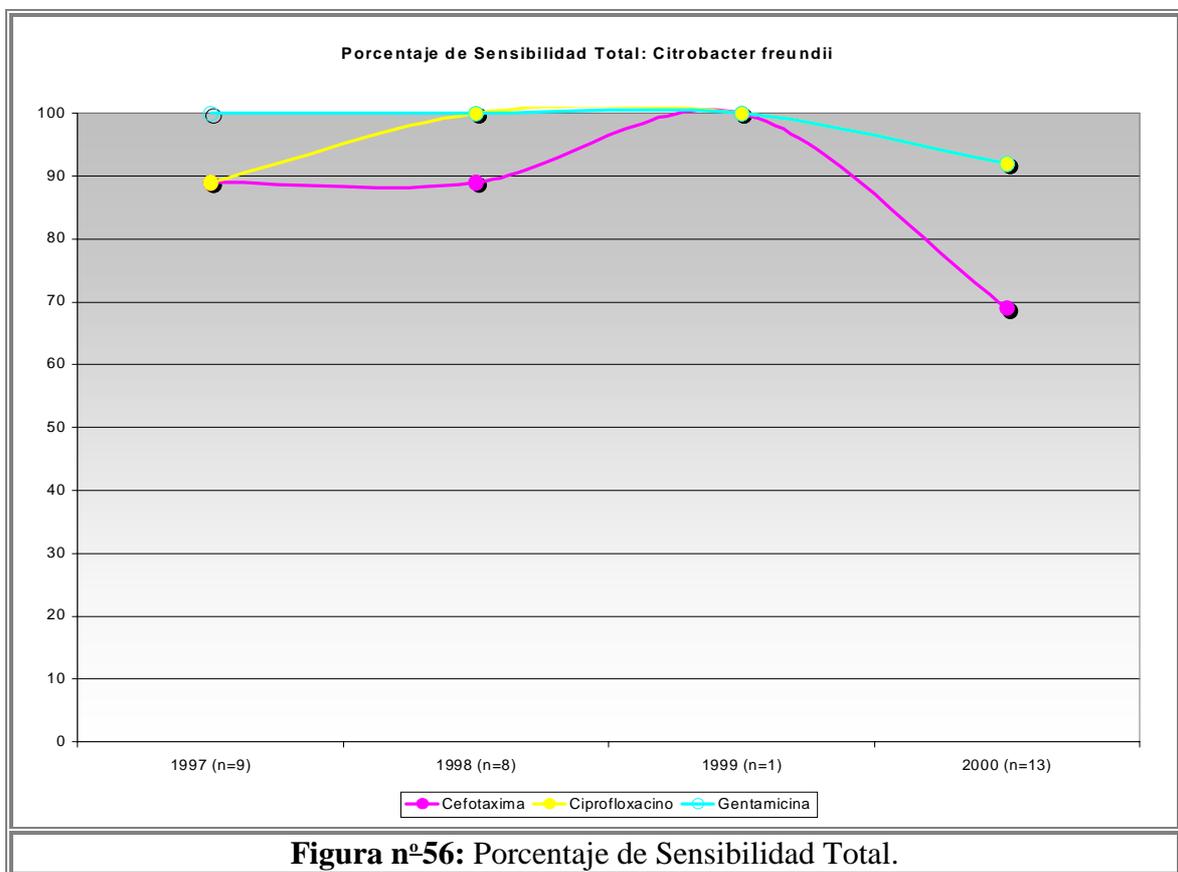


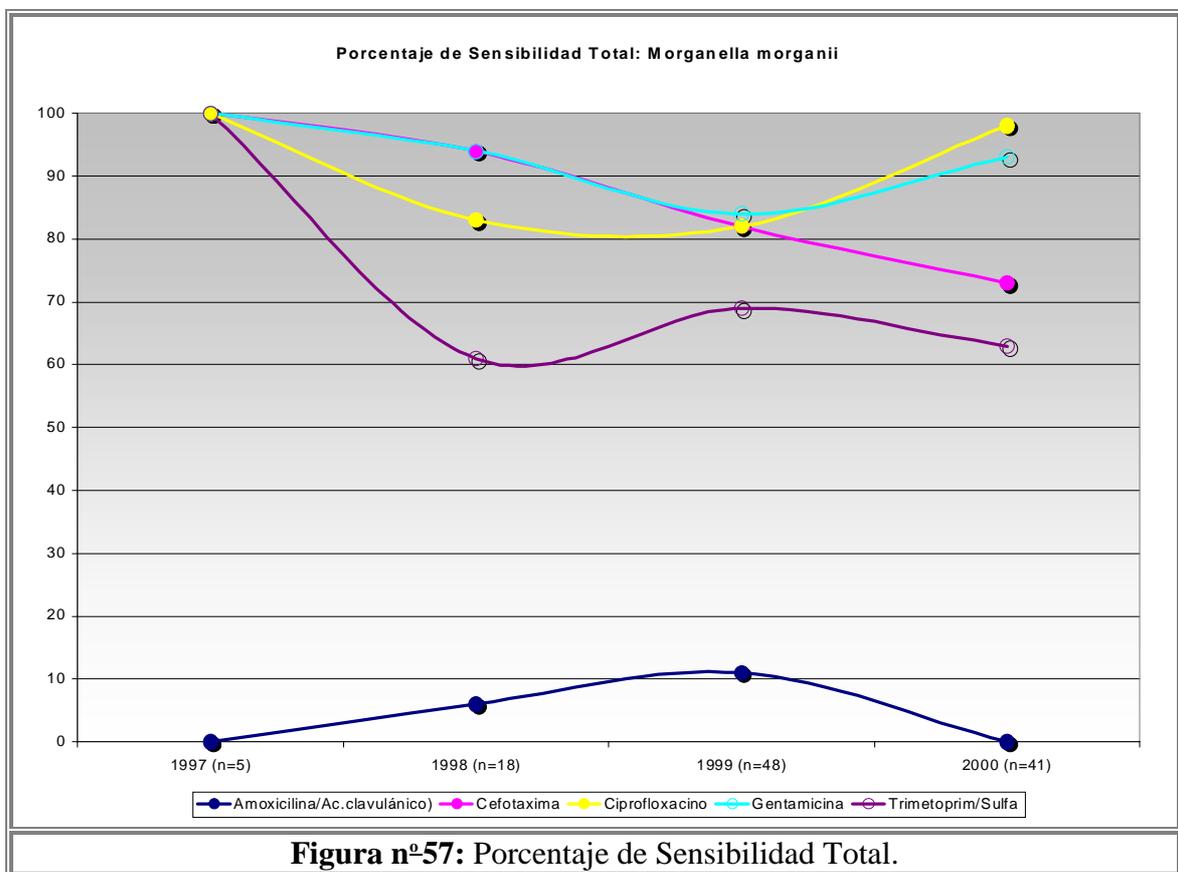
4. ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO.

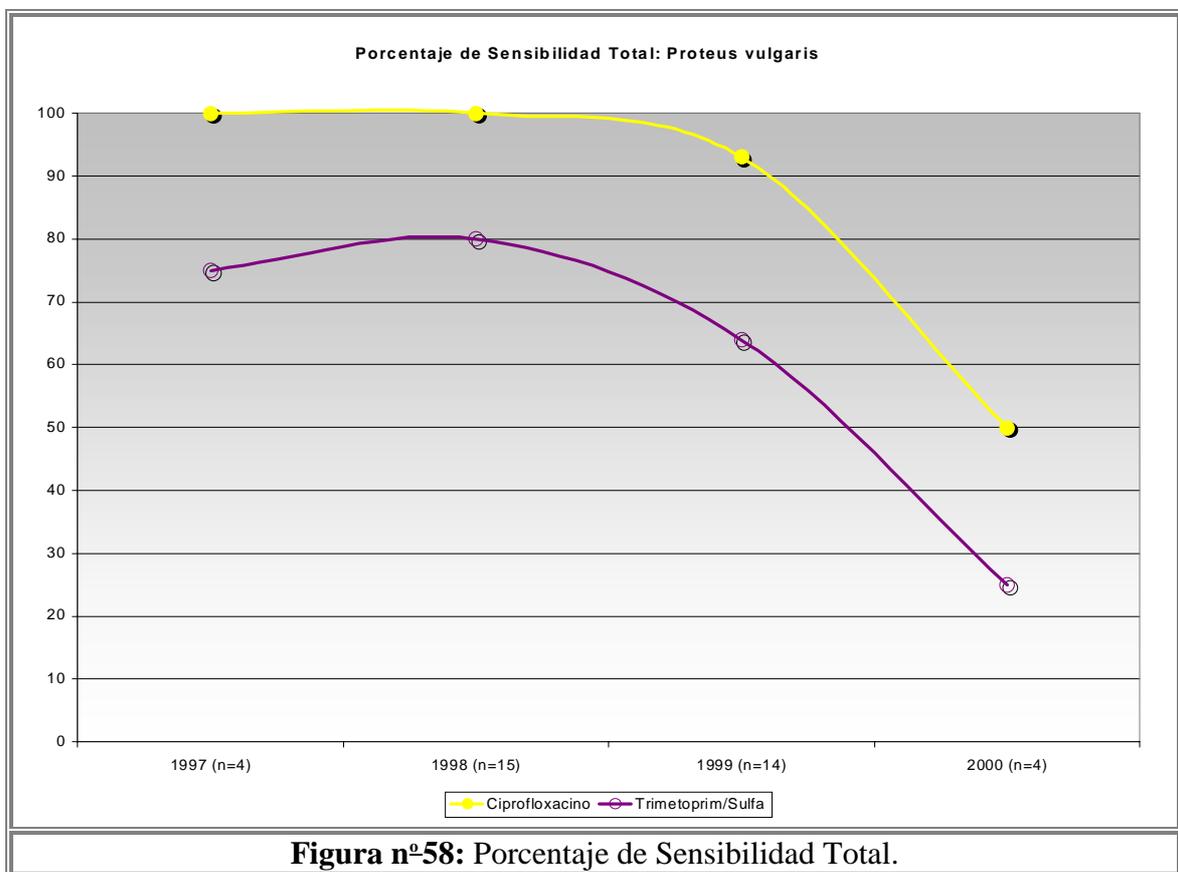
A continuación se expone el Porcentaje de Sensibilidad Total frente a Amoxicilina/Ácido clavulánico, Cefotaxima, Ciprofloxacino, Gentamicina y Trimetoprim/Sulfametoxazol de los microorganismos que se habían aislado en el Servicio de Microbiología Clínica del Hospital Militar Central “Gómez Ulla” durante los años 1997, 1998, 1999 y 2000 (tabla nº 81). Insistiremos aquí que excluimos a aquellos microorganismos que no habían sido aislados en todos los años objeto de nuestro estudio.

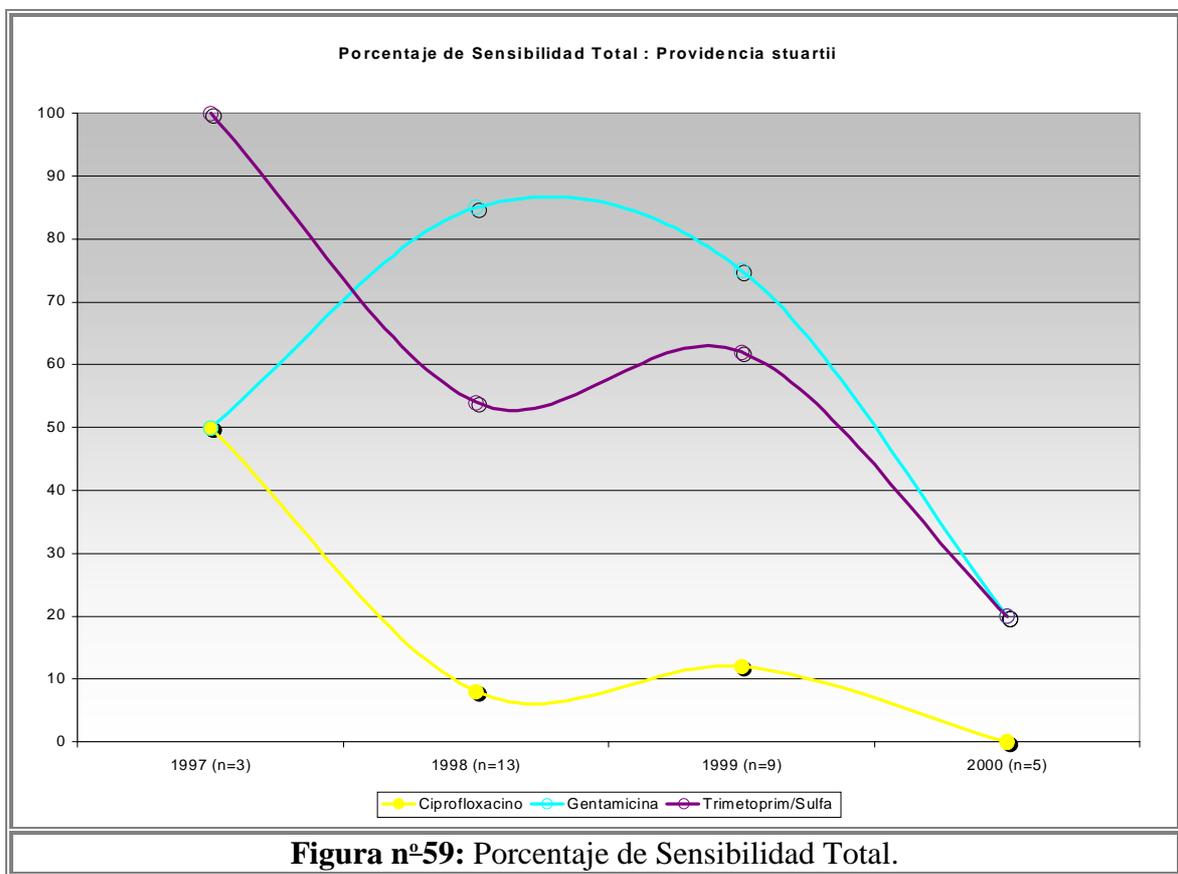
También se ilustran gráficamente aquellos hechos más relevantes que nos hemos encontrado.

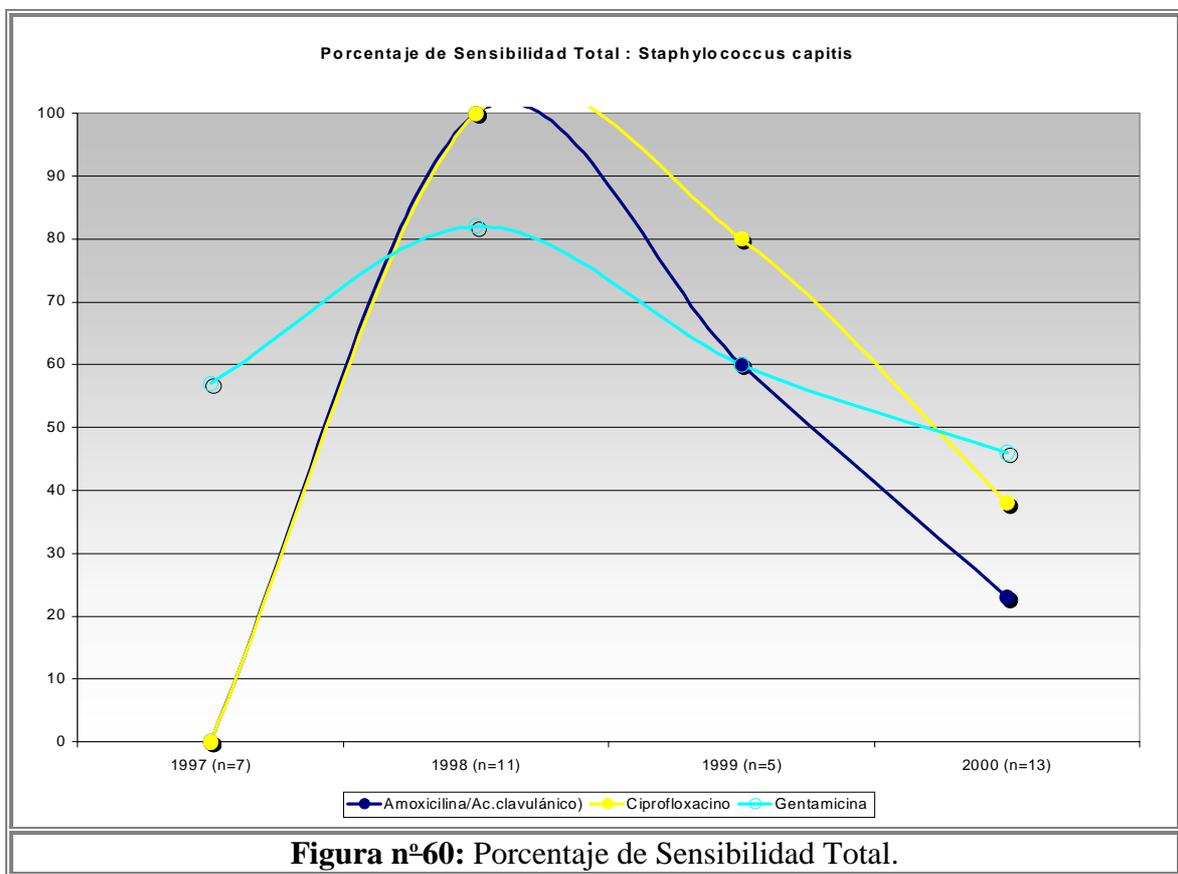


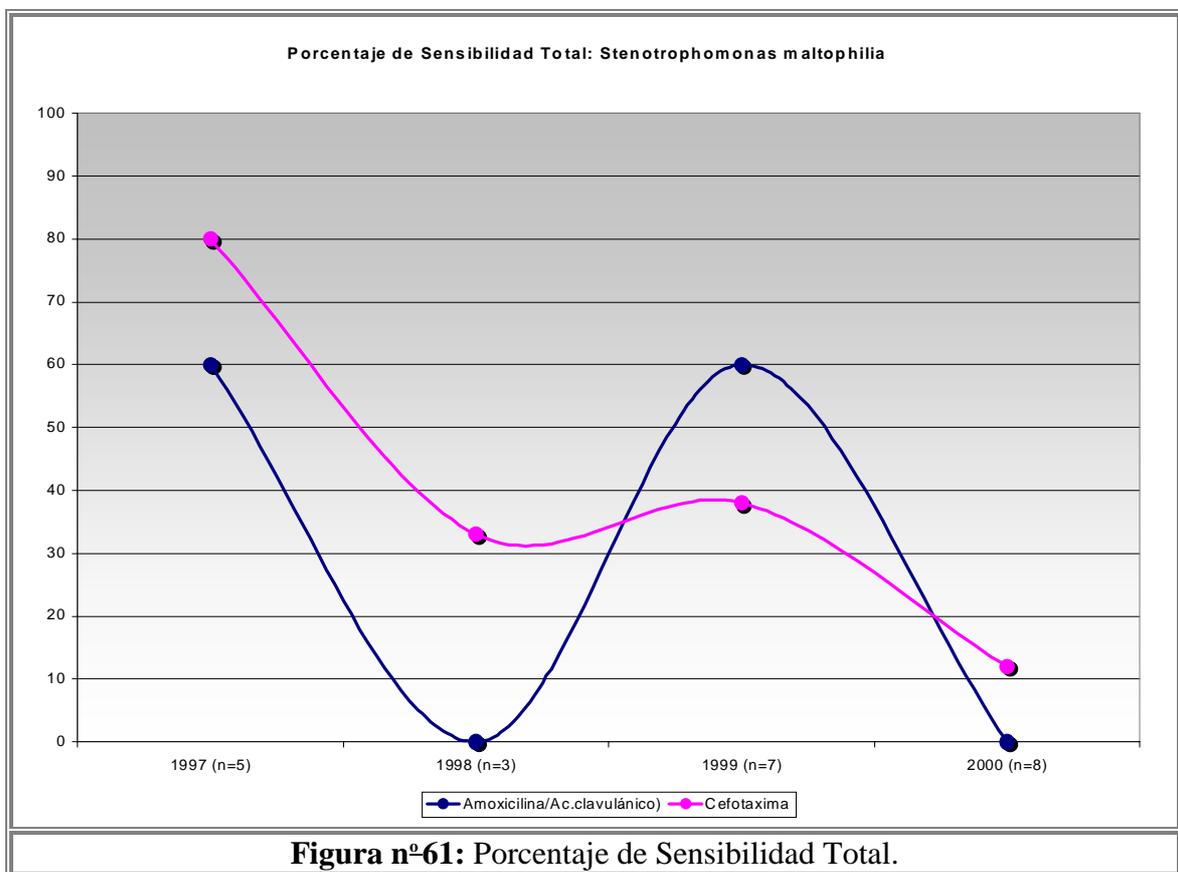












La discusión de los resultados se ha llevado a cabo siguiendo el orden con el que han sido expuestos los mismos en el apartado anterior.

Del análisis de las sensibilidades obtenidas por el Sistema Automatizado VITEK^R observamos los siguientes hechos que a continuación pasamos a exponer.

El género *Citrobacter* presenta una resistencia a las aminobencilpenicilinas.

Enterobacter cloacae, microorganismo que se caracteriza por una resistencia intrínseca a las cefalosporinas, en una de las cepas estudiadas presenta una sensibilidad intermedia.

La cepa de *Enterococcus faecium* presenta el antibiograma tipo de la especie con una manifiesta resistencia a las penicilinas y aminoglucósidos.

Klebsiella pneumoniae, microorganismo del que se han estudiado dos cepas, se observa que es bastante sensible a todos los antibióticos probados, expresándose la resistencia a la ampicilina en una de ellas.

Providencia rettgeri, muestra que es muy sensible a todos los antibióticos probados.

En *Proteus mirabilis* nos encontramos resistencia a las quinolonas y a la nitrofurantoína, esta última intrínseca al microorganismo.

Dentro de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* estudiadas, vemos que en las cepas 25 y 95 existe una resistencia manifiesta a aminopenicilinas e inhibidores de β -lactamasas, a cefalosporinas, a fosfomicina, y muy alta a nitrofurantoína y a diaminopirimidinas. Las cepas 78, 88 y 89, de antibiograma parecido, presentan igualmente resistencia a β -lactámicos e inhibidores de β -lactamasas, a fosfomicina, y muy elevada a diaminopirimidinas. Por último la cepa 21, dentro de los antibióticos probados presenta resistencia frente a cefalosporinas y antibióticos de la familia de los carbapenémicos.

Las dos cepas de *Serratia marcescens*, de antibiogramas prácticamente iguales son resistentes a los β -lactámicos e inhibidores de β -lactamasas, a todas las cefalosporinas probadas, a las penicilinas, a la fosfomicina y a la nitrofurantoína.

Las cepas de *Staphylococcus auricularis*, como cabría esperar manifiestan una resistencia intrínseca a las penicilinas, propia del género, pero además dicha resistencia en este caso está asociada a su vez a una resistencia a β -lactámicos e inhibidores de β -

lactamasas, quinolonas, lincosamidas, macrólidos, fosfomicina, aminoglucósidos, tetraciclinas y diaminopirimidinas.

Por otro lado *Staphylococcus capitis*, es bastante sensible a todos los antibióticos probados, llamando únicamente la atención la resistencia a la fosfomicina y a las penicilinas.

Las cepas de *Staphylococcus epidermidis* presentan asociadas resistencias a antibióticos pertenecientes a la familia de los β -lactámicos, con antibióticos pertenecientes a las familias de los macrólidos, lincosamidas y estreptograminas. Esta circunstancia se presenta rara vez tanto en los hospitales europeos como estadounidenses, con una frecuencia que se estima que es del 1%. Sin embargo, en consulta externa es más común con una frecuencia de 5%.

Staphylococcus simulans, además de presentar su resistencia intrínseca a las penicilinas, los es también a los macrólidos, lincosaminas, estreptograminas y quinolonas, circunstancia ésta última que es bastante rara tanto en hospitales europeos (1%), en cambio común en consulta externa (5%).

Staphylococcus warneri, presenta el patrón de sensibilidad esperado.

Dentro del género *Streptococcus*, la cepa de *Streptococcus sanguis* sólo era resistente a fosfomicina, en tanto que era sensible al resto de los antibióticos probados. En las cepas de *Streptococcus viridans* no encontramos que una era muy sensible (cepa 18), y las otras dos (cepa 57 y 61) eran resistentes a las quinolonas, a los macrólidos y a las penicilinas, circunstancia ésta última que raramente se presenta en este género.

Las cepas de *Escherichia coli* presentan en general una buena sensibilidad frente a los antibióticos probados, llamando únicamente la atención las cepas 59 y 91 que se muestran resistentes a monobactámicos, antibióticos de la familia de las cefalosporinas y a las penicilinas.

Por otro lado, en las cepas de *Enterococcus faecalis*, en general, en adición a su resistencia intrínseca a las penicilinas, hecho que queda de manifiesto en el antibiograma, presentan una resistencia adquirida a fluoroquinolonas, lincosamidas, fosfomicina y aminoglucósidos.

Dentro de los *Staphylococcus aureus* estudiados, aproximadamente el 50% de las cepas eran MRSA (*Staphylococcus aureus* meticilín resistentes). Además se observa en varias de ellas resistencia a antibióticos pertenecientes a la familia de los β -

lactámicos e inhibidores de β - lactamasas, quinolonas, macrólidos y lincosamidas. Este hecho es muy frecuente en los hospitales europeos (50%) y común en hospitales estadounidenses (5%).

De lo anteriormente expuesto podemos decir que, entre los microorganismos ensayados, resistencias a quinolonas se manifiesta en *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis* y algunas especies de los géneros *Staphylococcus* y *Streptococcus*.

Las 100 cepas fueron expuestas a dos nuevos agentes antimicrobianos, quinolonas y más concretamente, Moxifloxacino y Levofloxacino, calculándose sus Concentraciones Mínimas Inhibitorias (C.M.I.), que en este caso se cuantificó su valor por medio del método de E-test.

De los resultados obtenidos podemos ver que dentro de la Familia Enterobacteriaceae, donde trabajamos con 36 cepas, en el caso de Moxifloxacino nos encontrábamos dentro de valores de C.M.I. que comprendía de 0,004 $\mu\text{g/ml}$ a 16 $\mu\text{g/ml}$, en tanto que para Levofloxacino dicho intervalo era (0,008-12) $\mu\text{g/ml}$. Ambos intervalos se mantuvieron en las tres lecturas que se efectuaron. El 50% de las cepas presentaban una C.M.I. $\leq 0,032\mu\text{g/ml}$ frente a Moxifloxacino y sólo un 38,9% presentaban dicha C.M.I. frente a Levofloxacino.

En las dos únicas cepas de la Familia Bacteroidaceae vemos como la C.M.I. para Moxifloxacino era de 0,016 $\mu\text{g/ml}$ y para Levofloxacino de 0,023 $\mu\text{g/ml}$.

Dentro de la Familia Enterococcaceae trabajamos con 12 cepas. Las C.M.I. para Moxifloxacino comprendía de 0,038 $\mu\text{g/ml}$ a $\geq 32\mu\text{g/ml}$ y para Levofloxacino de 0,5 $\mu\text{g/ml}$ a $\geq 32\mu\text{g/ml}$. El 50% de las cepas presentaba C.M.I. $\leq 0,190\mu\text{g/ml}$ frente a Moxifloxacino y el mismo porcentaje de cepas presentaban una C.M.I. $\leq 1\mu\text{g/ml}$ frente a Levofloxacino. Dicha circunstancia se mantuvo en las tres lecturas.

En la Familia Micrococcaceae, de la que estudiamos 32 cepas, encontramos que el intervalo de C.M.I. en el que nos movíamos para Moxifloxacino era más estrecho que para Levofloxacino, siendo de ($\leq 0,002$ -1,5) $\mu\text{g/ml}$ y ($\leq 0,002$ - ≥ 32) $\mu\text{g/ml}$ respectivamente. Sin embargo, el 90,6% de las cepas tenían una C.M.I. $\leq 0,75\mu\text{g/ml}$ frente a Moxifloxacino, y un 53,1% de las mismas presentaban una C.M.I. $\leq 0,125\mu\text{g/ml}$. Este hecho se repitió en las tres lecturas efectuadas.

El intervalo de C.M.I. tanto para Moxifloxacino como para Levofloxacino dentro de la Familia Deinococcaceae, era el mismo, ($\leq 0,002$ - ≥ 32) $\mu\text{g/ml}$. Frente a ambas quinolonas probadas, todas las cepas presentaron un comportamiento parecido, el 40% de las mismas tenían una C.M.I. $\leq 0,002\mu\text{g/ml}$, circunstancia que se mantuvo en las tres lecturas realizadas.

Dentro de la Familia Pseudomonadaceae, trabajamos con 8 cepas, cepas que presentaban una C.M.I. que comprendía de $0,380\mu\text{g/ml}$ a $1\mu\text{g/ml}$ frente a Moxifloxacino, y de $0,190\mu\text{g/ml}$ a $1\mu\text{g/ml}$ frente a Levofloxacino. El 62,5% de las cepas tenían una C.M.I. $\leq 0,380\mu\text{g/ml}$ frente a Moxifloxacino y C.M.I. $\leq 0,250\mu\text{g/ml}$ frente a Levofloxacino, hecho que se repitió en las tres lecturas efectuadas.

De lo anteriormente expuesto podemos afirmar que las dos quinolonas son eficaces frente a los microorganismos ensayados, si bien fueron mejores los resultados obtenidos de Moxifloxacino, pues aproximadamente el 60% de las cepas probadas, presentaban una Concentración Mínima Inhibitoria menor frente a Moxifloxacino que frente a Levofloxacino.

Por otra parte, decíamos que el Cluster Análisis consistía en busca observaciones en grupos separados, con similares características, para después agruparlas en un nuevo grupo, midiendo a continuación la distancia entre los grupos. Medida la distancia entre las observaciones, el siguiente paso en el Cluster Análisis, es dividir las observaciones dentro de los grupos, basándose en la distancia, en nuestro caso la mínima distancia, “vecino más próximo” (“Nearest Neighbor”).

Insistiremos aquí que nuestras variables son cuantitativas y que aunque se conoce de antemano el número de observaciones, 100 observaciones en tres lecturas a distintos tiempos, (18)h, (18+24)h y (18+48)h, se aplicó el “Hierarchical clustering methods”: Aglomerativo. La técnica aglomerativa comienza con la búsqueda de observaciones describiendo un subgrupo, y entonces combina subgrupos dentro de los subgrupos, hasta que solamente queda un grupo. Por tanto se efectúa una separación, distinción o diferenciación entre los elementos (100 cepas) y sus variables (Concentración Mínima Inhibitoria) simultáneamente, de manera que de todas las variables se crea en cada elemento una nueva variable.

La representación gráfica que se eligió por considerar que es la que mejor ilustraría nuestro Cluster Análisis, fue el dendrograma.

A la hora de abordar la interpretación del dendrograma lo haremos de la siguiente manera: contaremos el número de clusters, veremos si son grandes o pequeñas las distancias y estudiaremos los índices / coeficientes de unos y otros.

Observando el dendrograma correspondiente a la exposición de nuestras cepas a Moxifloxacino, vemos claramente que partiendo de 100 elementos, nuestras 100 cepas, a continuación se forman 7 clusters, luego 6,5,4,3,2 y finalmente 1 cluster.

Aquí apreciamos tres grupos bien diferenciados, y que para una mejor exposición denominaremos como grupo 1, grupo 2 y grupo 3. El grupo 1 lo formarían las cepas 47 y 98 que se combinan con las cepas 15, 45, 46 y 91 para así formar un cluster, cluster con el que se combina la cepa 65 para así originar un nuevo cluster. El elemento más discriminativo es la cepa 65, quien sólo se combina con el cluster formado por todos los demás. Probablemente la cepa 65 sea la más sensible o menos sensible a Moxifloxacino, y que ello sea la causa de la discriminación, hecho que será comentado más adelante. Se trata de un *Escherichia coli*. La distancia euclidiana de este grupo es de 2,5 aproximadamente.

En el segundo grupo tenemos las cepas 16 y 77 que se combinan, para dar lugar a un cluster, con el cluster originado de la combinación de las cepas 54, 88, 90, por un lado, las cepas 5, 31, 55, 58, 63, 64, 66, 82, por otro, y el resto de las cepas, a excepción de las cepas 12 y 26, que trataremos a continuación.

Aquí los elementos más discriminativos sería las cepas 16 y 77 que son un *Staphylococcus aureus* y un *Escherichia coli* respectivamente.

La distancia euclidiana de este grupo es prácticamente cero.

Por último tenemos las cepas 12 y 26 que se asocian para formar un cluster y que finalmente se combinan con el cluster formado por el resto de las cepas, para quedar finalmente un solo cluster. La distancia euclidiana en este último caso es de aproximadamente 9. De esto último se desprende que, las cepas 12 y 26, son los elementos más discriminativos de nuestro análisis de sensibilidades frente a Moxifloxacino. Ambas tienen en común que pertenecen al género *Staphylococcus*, siendo un *Staphylococcus aureus* la cepa 12, y un *Staphylococcus auricularis*, la cepa

26. Respecto al resto de los microorganismos estudiados podrían ser o los más sensibles o los menos sensibles a Moxifloxacino, pues ambas cualidades los separarían, distinguirían o diferenciarían del resto. Este último aspecto será abordado a continuación.

En todos los casos los elementos más discriminativos se destacan por ser aquellas cepas que en la asociación para formar el cluster presentan las Concentraciones Mínimas Inhibitorias más inferiores y por tanto, son los más sensibles en este caso frente a Moxifloxacino. Dichos valores eran para la cepa 65, 0.008 µg/ml, para la cepa 16, 0.008 µg/ml, para la cepa 77, 0.016 µg/ml y por último para las cepas 12 y 26 de 0.5 µg/ml.

Llama la atención los coeficientes obtenidos, y que son un reflejo de las distancias intraclusters o interclusters, según el caso, en cada análisis, donde aparecen valores de algo más de 2, tres casos, de casi 9, uno y de 20, uno. Este hecho será comentado más adelante.

Cuando observamos el dendrograma que muestra la exposición de nuestras 100 cepas a Levofloxacino, vemos que partiendo de 100 elementos (100 cepas), primero se originan 9 clusters, a continuación 6, 4, 3, y finalmente 1 cluster.

En un análisis pormenorizado del dendrograma, vemos lo que a continuación paso a describir.

La cepa 65, se combina para dar lugar a un cluster (distancia euclidiana de aproximadamente 0,25), con una primera asociación formada por las cepas 30, 45, 46, 70, 91, con una segunda asociación, donde encontramos las cepas 16, 37, 47, 81, 98 y con el cluster originado (distancia euclidiana de aproximadamente cero), de un lado por las cepas 33, 35, 38, 54, 97, por las cepas 32, 58, 96 y con el resto del cepario y que no son las que a continuación paso a describir. La cepa 65 es quizás el elemento más discriminativo, nuevamente aquí. Recordemos que ya lo era también en el dendrograma de Moxifloxacino y que se trataba de un *Escherichia coli*.

Con el cluster anteriormente descrito se combina, por un lado las cepas 60, 64, 66, 76 y por otro, las cepas 12, 31, 74, 82, 90 para crear un nuevo cluster, distancia euclidiana de aproximadamente 0,75, con el que se combina la cepa 63, para dar lugar a

otro nuevo cluster, distancia euclidiana de 2 aproximadamente. En esta asociación el elemento más discriminativo es el 63 y que es un *Streptococcus pyogenes*.

Finalmente con esta última asociación se combinan los elementos 15 y 26, 77 para dar lugar a un cluster. La distancia euclidiana de esta última asociación es de 11,25. Aquí los elementos más discriminativos serían, el 15 el que más pues no se combina en un principio con nadie y que se trata de un *Enterococcus faecalis* y el 26 y 77 que son un *Staphylococcus auricularis* y un *Escherichia coli* respectivamente.

Llama la atención que nuevamente aquí, y como ya ocurría con Moxifloxacino, las cepas 26 y 77 son los elementos más discriminantes. Por qué, qué es lo que les separa del resto de las cepas en estudio. Como ya apuntábamos anteriormente, podría ser que son las más sensibles, pero igualmente podrían ser las menos sensibles.

Frente a Levofloxacino las causas de discriminación eran: en el caso de la cepa 65, una Concentración Mínima Inhibitoria que era la más inferior dentro de la asociación, 0.023 µg/ml; la cepa 63, mostraba un valor intermedio dentro de una asociación donde nos encontramos con bastantes cepas muy sensibles y con otras que lo son bastante menos; y por último, las cepas 15, 26 y 77, donde la 15 con 0.75 µg/ml presenta una sensibilidad intermedia, 26 con 4.0 µg/ml es bastante menos sensible a Levofloxacino y la cepa 77 con 0.12 µg/ml se comporta como la más sensible frente a este agente antimicrobiano.

Por otro lado del análisis aglomerativo obtenemos coeficientes en su mayoría de valor 0,0, algunos de poco más de 0,0, uno de valor 2,1321 y dos de 11,3748.

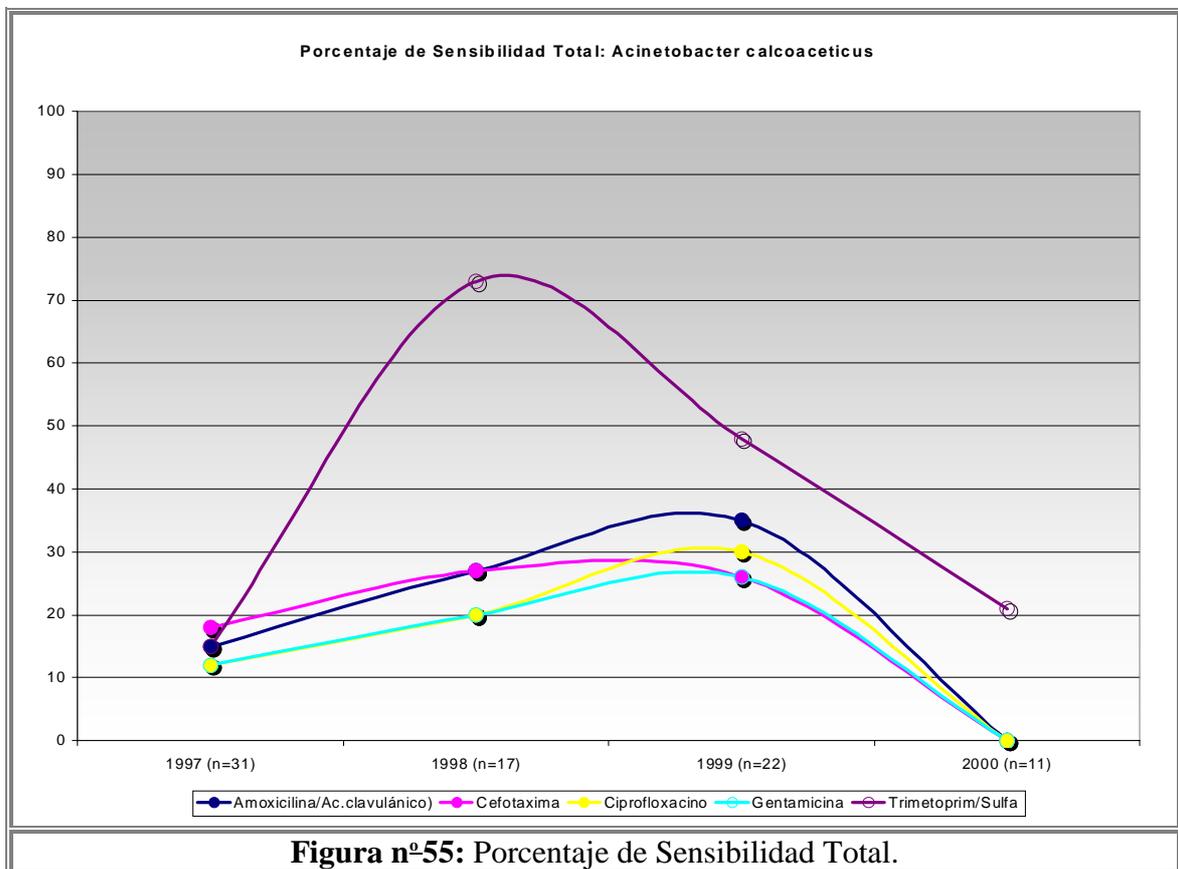
Del Cluster Análisis se desprende que nuestras cepas se comportan de manera muy parecida frente a ambas quinolonas, que las cepas que se desmarcan de las demás suelen ser del género *Staphylococcus*, del género *Escherichia*, y algún enterococo, siendo el elemento más discriminativo pues lo es en el análisis frente a Moxifloxacino y frente a Levofloxacino, la cepa 26, que se trata de un *Staphylococcus auricularis*. Los valores de los coeficientes, que recordemos indican las distancias intraclusters e interclusters, según el caso, muestran que nuestras cepas son más homogéneas en lo que a sensibilidad se refiere, y por tanto en sus Concentraciones Mínimas Inhibitorias, frente a Levofloxacino que frente a Moxifloxacino.

Todo lo anterior de alguna manera nos viene a decir, que dado que el comportamiento frente a ambas quinolonas es tan parecido, a lo mejor sería prudente distanciar el lanzamiento de nuevas quinolonas al mercado y de esta forma conservar estas moléculas para unas futuras necesidades terapéuticas evitándose así el agotamiento de esta familia de antibióticos. Recordemos que actualmente existen al menos 12 fluoroquinolonas en uso clínico y que de ellas seis han sido introducidas durante los últimos seis años. En nuestro caso Levofloxacino estaba disponible en 1996 y Moxifloxacino en el 2000.

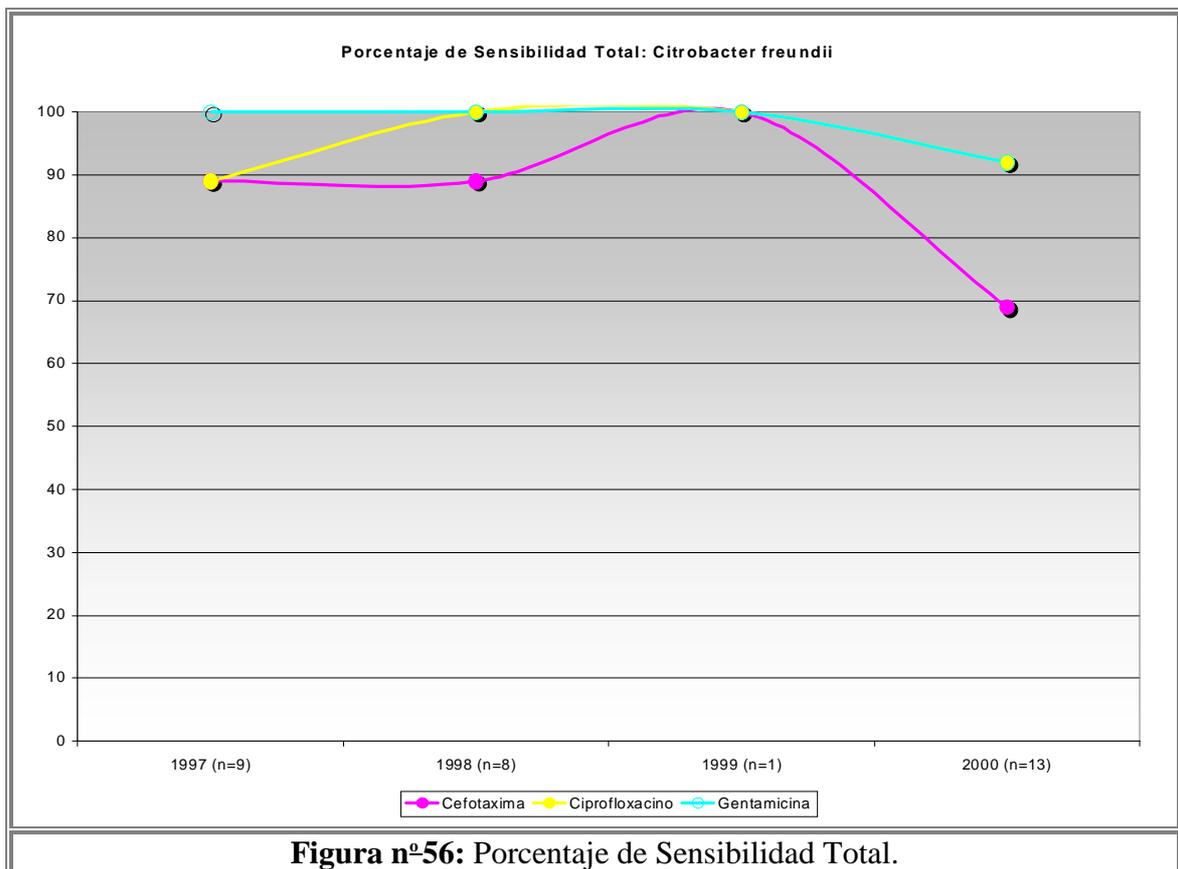
Por otra parte de la revisión de la base de datos del Servicio de Microbiología Clínica de nuestro hospital (tabla nº81) vemos que nuestra situación es bastante buena en lo que a sensibilidades/ resistencias se refiere de los microorganismos aislados en el transcurso de esos cuatro años. Tan sólo mencionaremos algunas aisladas excepciones y que a continuación se exponen.

Acinetobacter calcoaceticus en el año 1997 frente a Amoxicilina/Ac.Clavulánico presentaba un Porcentaje de Sensibilidad Total del 15%, porcentaje que fue mejorando hasta 1999 (35%), cayendo bruscamente hasta un 0% en el año 2000. Con la Cefotaxima ocurría que desde 1997 (18%) hasta 1999 (26%), experimentaba una mejoría la sensibilidad, para finalmente descender hasta un 0% en el año 2000. Con el Ciprofloxacino también desde 1997 (12%) hasta 1999 (30%) aumentaba el Porcentaje de Sensibilidad Total, disminuyendo nuevamente en el año 2000 (0%). Igualmente con la Gentamicina nos encontramos una progresión parecida: desde 1997 (12%) hasta 1999 (26%) mejora el porcentaje, para luego disminuir a 0% en el año 2000. Frente a Trimetoprim/Sulfametoxazol, *Acinetobacter calcoaceticus* mejoraba considerablemente su Porcentaje de Sensibilidad Total desde 15% (1997) a 73% (1998) para luego disminuir a un 48% en 1999, y a un 21% en el año 2000.

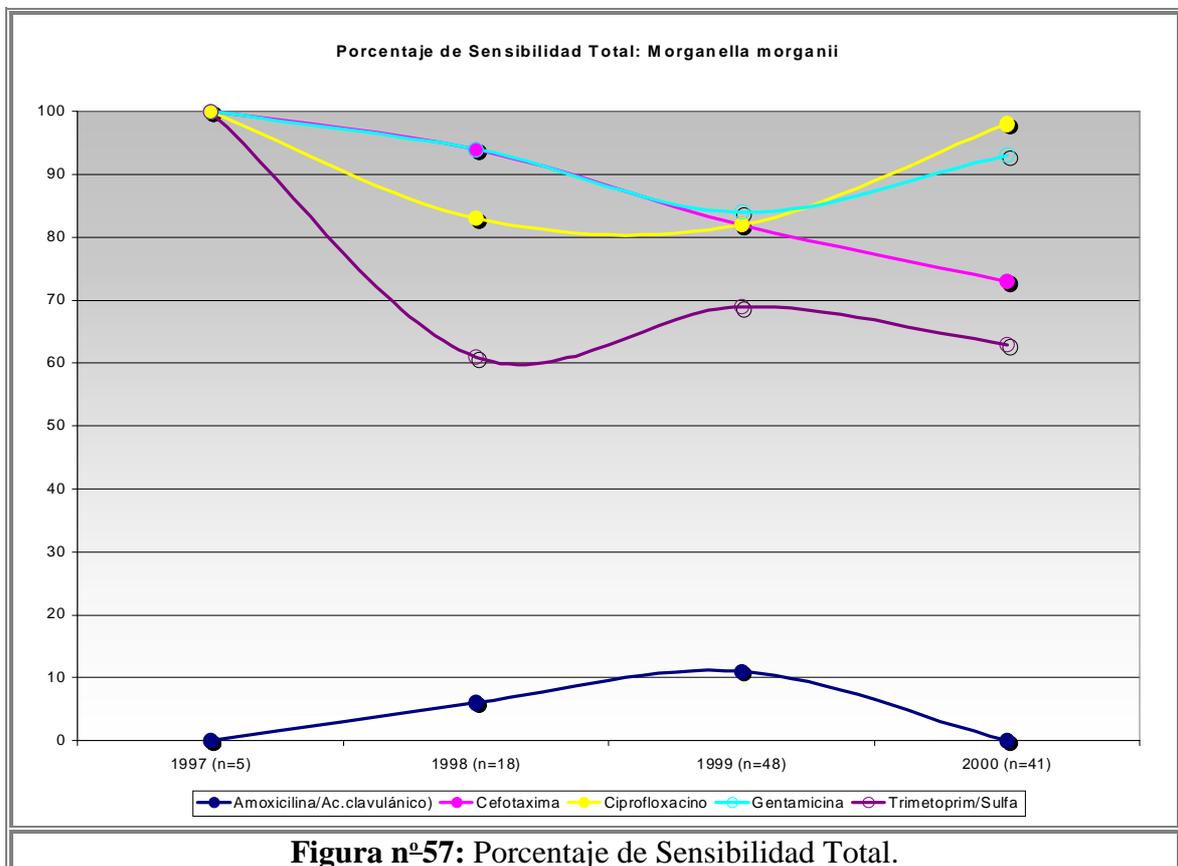
Por tanto la tendencia de *Acinetobacter calcoaceticus* es a una disminución de su sensibilidad.



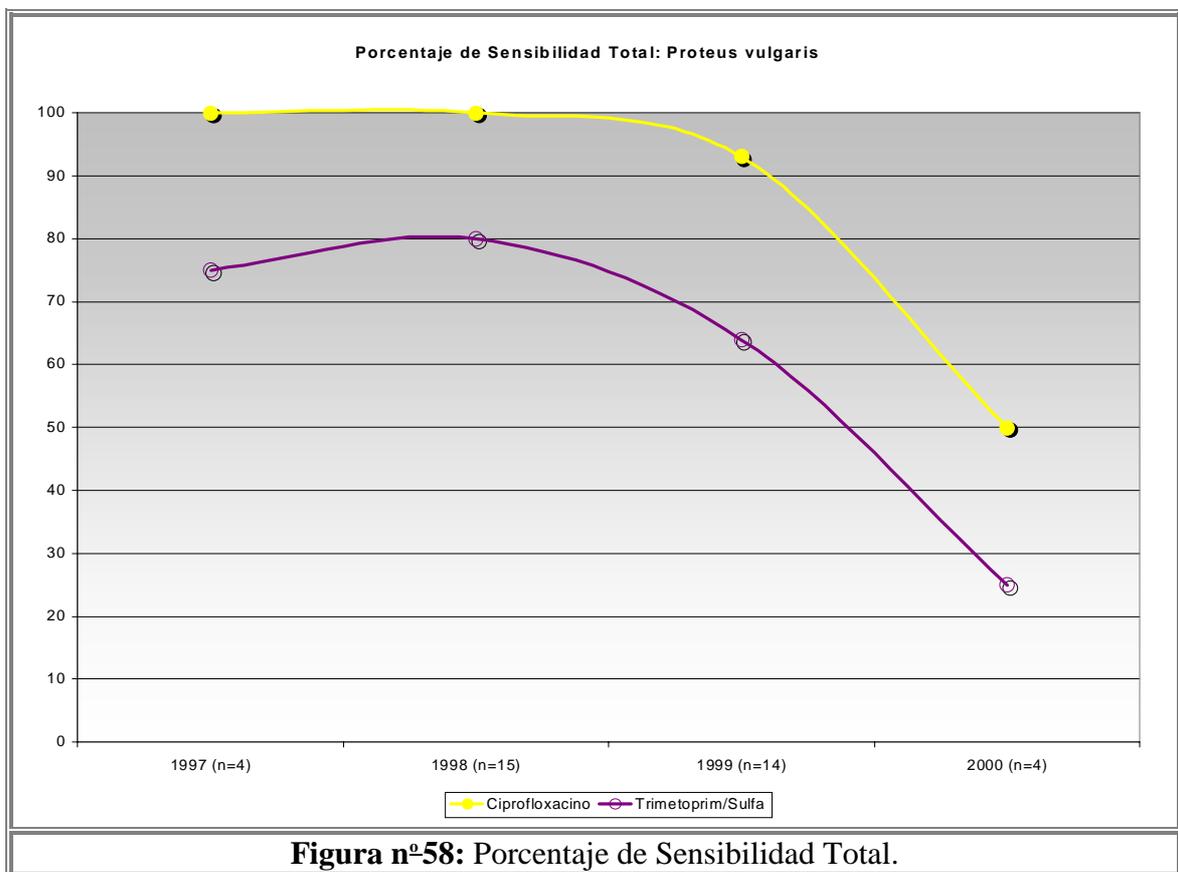
Citrobacter freundii frente a Cefotaxima presentaba un Porcentaje de Sensibilidad Total en 1997 de un 89% para incrementarse hasta un 100% en 1998, manteniéndose dicho porcentaje en 1999, para luego disminuir a un 69% en el año 2000. Los porcentajes frente a Ciprofloxacino fueron los mismos salvo que el descenso en el año 2000 es bastante menor (92%). Los Porcentajes de Sensibilidad Total que se obtuvieron frente a Gentamicina fueron muy buenos en 1997, 1998, 1999 (100%) y tan sólo disminuyó a un 92% en el año 2000. Por tanto, si bien la sensibilidad de este microorganismo es buena, parece que existe una ligera tendencia a la disminución de la misma.



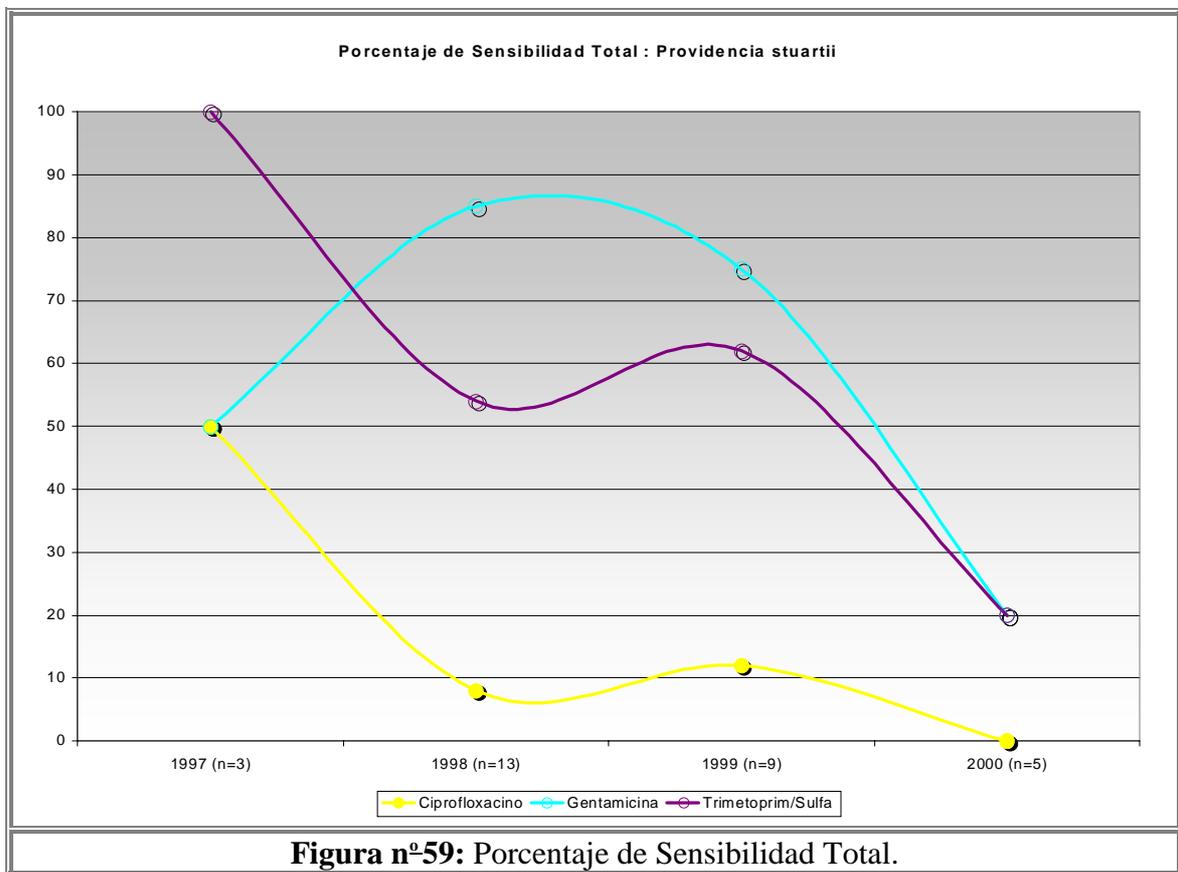
En *Morganella morganii* encontramos que frente a Amoxicilina/ Ac.Clavulánico que los Porcentaje de Sensibilidad Total son llamativamente muy bajos, 0% (1997), 6% (1998), 11% (1999), para luego nuevamente ser de un 0% en el 2000. Por tanto diremos que existe una clara tendencia a la resistencia de este microorganismo frente a este agente antimicrobiano. Con Cefotaxima, Ciprofloxacino, Gentamicina y Trimetoprim/ Sulfametoxazol nos encontrábamos que en 1997 el Porcentaje de Sensibilidad Total para los cuatro era del 100%. Luego en 1998 disminuía, siendo de 94%, 83%, 94% y 61%, respectivamente para cada uno de ellos. Dicha tendencia se mantuvo en 1999 salvo para Trimetoprim/Sulfametoxazol que se recuperó ligeramente (63%). En cambio en el año 2000 frente a Ciprofloxacino y Gentamicina aumenta el Porcentaje de Sensibilidad Total, 98% y 93% respectivamente, en tanto que frente a Cefotaxima y Trimetoprim/Sulfametoxazol, disminuye, 73% y 63% respectivamente. De estos hechos podríamos decir que *Morganella morganii* en nuestro caso presenta un patrón de sensibilidad muy cambiante.



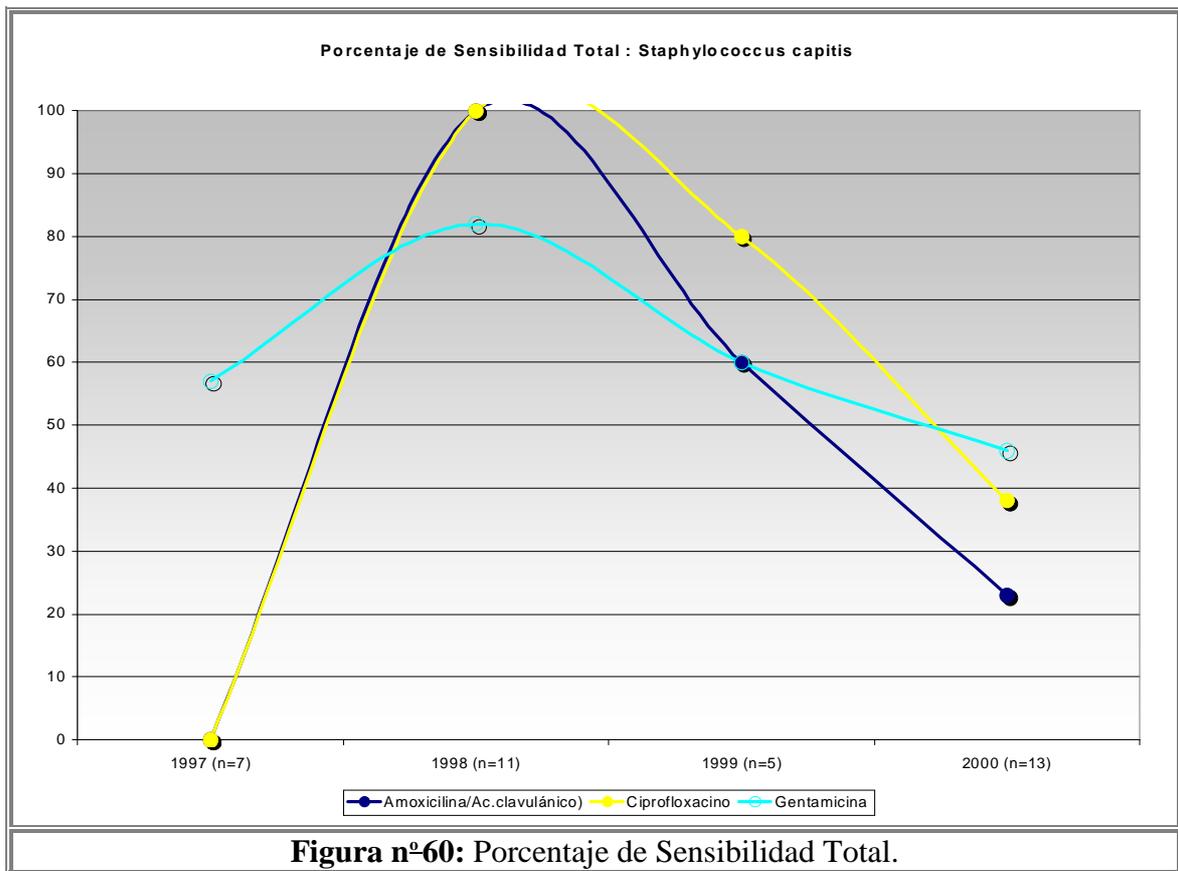
En *Proteus vulgaris* sólo resaltar que frente a Ciprofloxacino en 1997 y 1998 el Porcentaje de Sensibilidad Total era del 100% para disminuir a un 93% en 1999 y hasta un 50% en el año 2000. En el caso de Trimetoprim/Sulfametoxazol, pasamos de 75% en 1997 a 80% en 1998 para luego ir descendiendo hasta un 64% en 1999 y un 25% en el 2000. El número de aislamientos de estos microorganismos en estos años es muy escaso pero al menos sí es representativo de lo que puede estar ocurriendo.



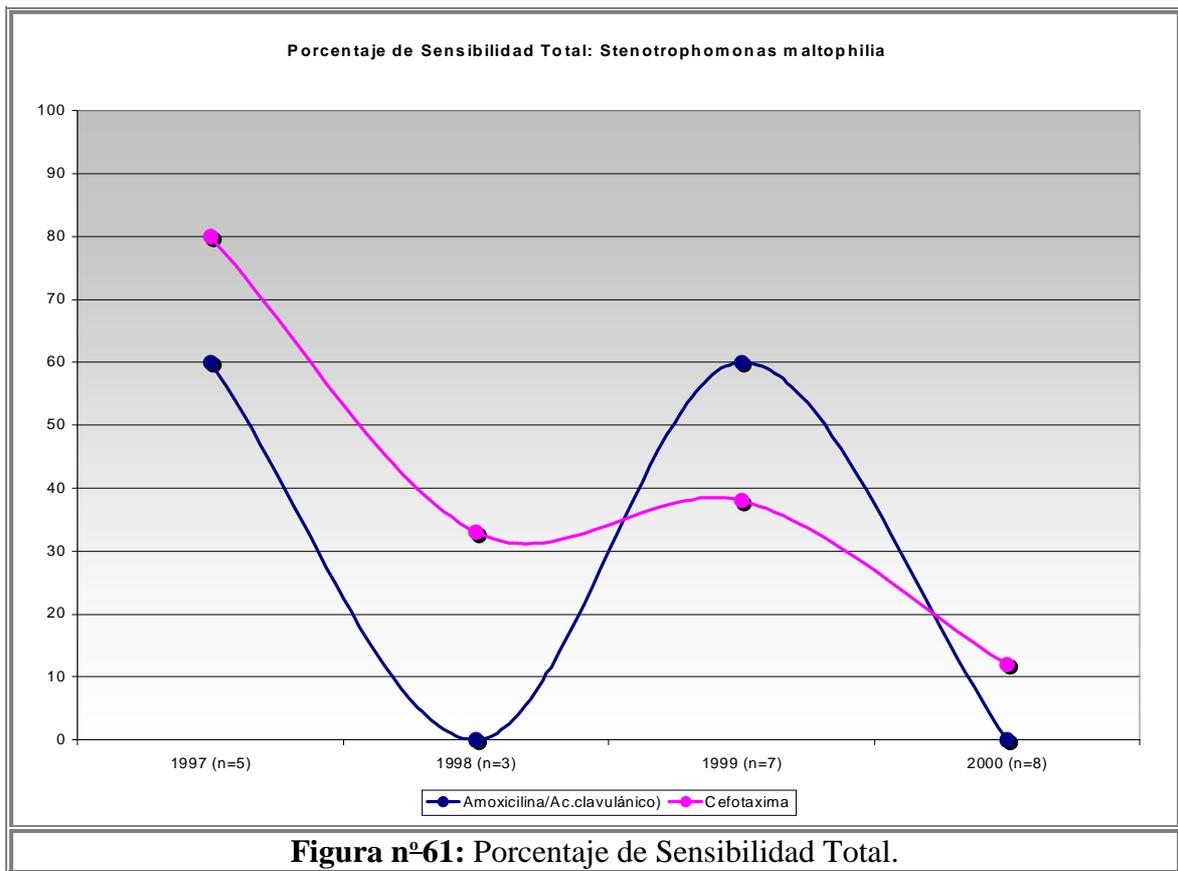
En *Providencia stuartii* vemos que frente a Ciprofloxacino el Porcentaje de Sensibilidad Total en 1997 era del 50%, en 1998, 8%, en 1999, 12% para finalmente en el año 2000 ser del 0%. Frente a Gentamicina si bien en 1998 existía un buen porcentaje (85%) ha disminuido hasta un 20% en el 2000. Y con Trimetoprim/Sulfametoxazol ocurría algo parecido, desde un 100% en 1997 hasta un 20% en el 2000. Aquí nuevamente diremos que efectivamente son pocos los microorganismos aislados ahora bien, sí representan lo que está ocurriendo en nuestro hospital.



Staphylococcus capitis presenta unas caídas muy bruscas en su Porcentaje de Sensibilidad Total. Mencionaremos que frente Amoxicilina/Ac.Clavulánico pasa de 100% (1998) a 23% en el 2000; frente a Ciprofloxacino de 100%(1998) a 38% (2000) y para Gentamicina partíamos de 57% en 1997, para observarse una mejoría en 1998 (82%) e ir disminuyendo en los años sucesivos, 60% (1999) y 46% (2000).



Con *Stenotrophomonas maltophilia* comentar dos hechos en lo que respecta a su Porcentaje de Sensibilidad Total se refiere frente Amoxicilina/Acico Clavulánico y Cefotaxima. Frente a ambos dicho porcentaje es muy bueno en 1997 (60% y 80% respectivamente) para caer en 1998 (0% y 33%), se recupera nuevamente en 1999(60% y 38%) poco en el caso de Cefotaxima y finalmente vuelve a disminuir en el 2000 (0% y 12%).



De lo anteriormente expuesto se deduce que parece ser que existe una tendencia natural a la disminución de la sensibilidad, y por tanto un aumento de la resistencia, hecho que en principio es poco preocupante en nuestro hospital pues como se ve son casos aislados, si bien no por ello se debe bajar la guardia.

En cualquier caso la disminución de la sensibilidad de los microorganismos frente a los agentes antimicrobianos, no sólo tiene un interés epidemiológico, sino que también puede afectar a la facilidad con que un paciente puede ser tratado, y esto a su vez puede determinar la evolución de la enfermedad.

Por otro lado el aumento del uso excesivo de antibióticos acarrea también consecuencias económicas. Posiblemente los pacientes hospitalizados reciben antibióticos que no necesitan, o no reciben el más efectivo y menos caro, o la dosis o la duración del tratamiento no es la mínima suficiente para ser efectivo.

Esto nos conduce a pensar que existen una serie de inconvenientes que habría que salvar y que son, las dudas en los diagnósticos, las diferencias en los juicios sobre la necesidad de administrar tratamiento o profilaxis, la elección del fármaco adecuado y un tiempo adecuado de administración del mismo.

Los antibióticos se utilizan excesivamente y, en una alta proporción, este uso en ocasiones no está justificado o es inadecuado. El problema afecta tanto a los antibióticos utilizados en terapéutica como en profilaxis, siendo en esta última mayor la incorrección. En este aspecto diversos autores coinciden al afirmar que en la profilaxis, las medidas de control son más efectivas a la hora de mejorar el uso y disminuir los gastos innecesarios y otros efectos atribuibles al uso de antibióticos.

En el ámbito internacional existe una preocupación creciente por este hecho lo que hace que se pongan en marcha mecanismos de búsqueda de soluciones para el control y prevención del desarrollo de resistencias.

Desde que se apreciaron los primeros problemas en relación con el uso de antibióticos surgió la necesidad de diseñar métodos destinados a su corrección. El conjunto de medidas que tienden a racionalizar la utilización de los antimicrobianos de manera que se consiga el máximo de eficacia con la mínima alteración de la flora microbiana, mínimos efectos indeseables sobre el paciente y mínimo coste económico, fueron definidas con el término de “Política de Antibióticos”.

Dichas medidas deben adaptarse a la realidad y a la circunstancia del medio hospitalario en el que nos encontremos, reconociéndose tres aspectos fundamentales:

- Organismo responsable.
- Métodos para definir el problema en el hospital y evaluar el uso apropiado de los antibióticos.
- Métodos para mejorar el uso de los antibióticos.

El organismo responsable de la vigilancia del uso racional y responsable de los antibióticos en el ámbito hospitalario suele ser la Comisión de Farmacia y Terapéutica, junto con la Comisión de Infección, Profilaxis y Política de Antibióticos.

Un método para definir el problema y evaluar el uso apropiado de los antibióticos sería la existencia de la mayor información posible del estado de la infección hospitalaria, así como del uso de los antibióticos.

Entre los métodos destinados a mejorar el empleo de los antibióticos estaría, por un lado mejorar la educación de los médicos en el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades infecciosas. Esto se conseguiría por medio de reuniones, charlas a cargo de especialistas del área, conferencias con autoridades de fuera del hospital y con informes elaborados por las comisiones antes citadas, y que contengan los patrones de uso de antibióticos en el hospital. Otro método sería la aplicación de medidas restrictivas destinadas a limitar la utilización de antimicrobianos mediante la aplicación de principios científicos y racionales. Con ello lo que se pretende es orientar al facultativo, de manera que consiga el máximo de eficacia con el mínimo de riesgo y coste. Entre estas medidas restrictivas y que están reflejadas en la literatura están: formulario de antibióticos del hospital; sistema de dispensación de antimicrobianos; resultados de laboratorio de microbiología; control del contacto entre los delegados comerciales de la industria farmacéutica y los médicos; y otros métodos dependiendo de las características de cada hospital.

1. Entre los microorganismos ensayados, las resistencias evidenciadas “in vitro” frente a distintos agentes antimicrobianos, son las esperadas en cada una de las familias, encontrándonos con unas frecuencias que se hayan muy por debajo de lo que ocurre en otros hospitales.
2. De la evaluación “ in vitro”, de la sensibilidad / resistencia de los agentes patógenos estudiados frente a las recientes quinolonas, concretamente Moxifloxacino y Levofloxacino, podemos afirmar que dicha sensibilidad es muy parecida en ambas, siendo las Concentraciones Mínimas Inhibitorias frente a Moxifloxacino inferiores a la del Levofloxacino en aproximadamente el 60% de las cepas ensayadas.
3. Resistencias evidenciadas “in vitro” frente a Ciprofloxacino perteneciente a la familia de las Quinolonas, se manifiestan en los patógenos, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, y algunas especies de los géneros *Staphylococcus* y *Streptococcus*.
4. Existe una tendencia natural a la disminución de la sensibilidad, y por tanto a un aumento de la resistencia, lo cual no sólo tiene un interés epidemiológico, sino efectos indeseables sobre los pacientes, así como consecuencias económicas, lo que hace necesario la puesta en marcha de mecanismos de búsqueda de nuevas soluciones para el control y prevención de las resistencias.

1. Tomasz, A. *Multiple-antibiotic-resistant pathogenic bacteria. A report on the Rockefeller University Workshop.* N.Engl.J. Med 1994; 330: 1247-1251.
2. World Health Organisation. The World Health Report 1996. Fighting disease, fostering development. WHO, Ginebra 1996.
3. Schrag, S.J., Wiener, P. *Emerging infectious diseases: What are the relative roles of ecology and evolution?* TREE 1995; 10: 319-324.
4. Swartley, J. S., Marfin, A.A., Edupuganti, S., Liu, L.J., Cieslak, P., Perkins, B. y cols. *Capsular switching of Neisseria meningitidis.* Proc Natl Acad Sci USA 1977; 271-276.
5. Barnes, D.K., Whittier, S., Gilligan, P.H., Soares, S., Tomasz, A., Henderson F.W. *Transmission of multidrug-resistant serotypes 23F Streptococcus pneumoniae in group day care: Evidence suggesting capsular transformation of the resistant strain in vivo.* J Infect Dis 1995; 171: 890-896.
6. Coffey, T.J., Berrón, S., Daniels, M., García-Leoni, m.f., Cercenado, E., Bouza, E. y cols. *Multiply antibiotic-resistant Streptococcus pneumoniae recovered from Spanish hospital (1988-1994): Novel major clones of serotypes 14, 19F and 15F.* Microbiology 1996; 142: 2747-2757.
7. Baquero, F. *Epidemiology and management of penicillin-resistant pneumococci.* Curr Opin Infect Dis 1996; 9: 372-379.
8. Reiner, R. *Antibiotics, chemotherapeutic agents, and development of chemotherapy.* En: Reiner, R. (Ed.). Antibiotics. An introduction. Roche, Basle, Switzerland 1982; 2-20.
9. Levy, S.B. (Ed.). *The antibiotic paradox. How miracle drugs are destroying the miracle.* Plenum Press, New York and London 1992.
10. Selwyn, S. *The discovery and evolution of the penicillins and cephalosporins.* En: Selwyn, S. (Ed.). The beta-lactam antibiotics: Penicillins and cephalosporins in perspective. 1980; 1-55.
11. Cowen, D.L., Segelman, A.B. (Eds.). *Antibiotics in historical perspective.* Merck Sharp & Dohme International 1981.
12. Williams, J.D. *Antibacterial substances used in the treatment of infections.* En: Wilson, G., Miles, A., Parker, M.T., (Eds.). Topley and Wilson principles of

- bacteriology, virology and immunity, 7th ed. Vol. 1. General microbiology and immunity. Edward Arnold, London 1983-1984; 97-144.
13. Stratton, C.W. *Mechanism of action for antimicrobial agents: General principles and mechanisms for selected classes of antibiotics*. En: Lorian, V. (Ed.). *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Williams & Wilkins, Lippincot 1996.
 14. Levy, S. *Active efflux mechanisms for antimicrobial resistance*. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 695-703.
 15. Alberts, B. y cols. *Biología molecular de la célula*. (Ed.). Omega. Barcelona 1986; 561-563.
 16. Ingham, H.R., Selkom, J.B., Hale, J.H. *The antibacterial activity of metronidazole*. *J. Antimicrob Chemother* 1975; 1: 355-361.
 17. McOster, C.C., Fitzpatrick, P.M. *Nitrofurantoin: Mechanism of action and implications for resistances development in common uropathogens*. *J Antimicrob Chemother* 1994; 33: 23-33.
 18. Reece, R.J., Maxwell, A. *DNA gyrase: Structure and function*. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1991; 26: 335-375.
 19. Hooper, D.C., Wolfson, J.S. *Mechanism of quinolona action and bacterial killing*. En: Hooper, D.C., Wolfson, J.S. (Eds.). *Quinolone antimicrobial agents*, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1993; 3-52.
 20. Wehrli, W. *Rifampin: Mechanism of action and resistance*. *Rev Infect Dis* 1983; 5 (Suppl. 3): S407-S411.
 21. Brian, L.E. *Mechanism of action of aminoglycoside antibiotics*. En: Root, R.K, Sande, M.A. (Eds.) *Contemporary issues in infectious diseases*. Vol. 1: New dimensions in antimicrobial therapy. Churchill Livingstone, New York 1984; 17-36.
 22. Hughes, J., Mellows, G. *Inhibition of isoleucyl transfer ribonucleic acid synthetase in Escherichia coli by pseudomonic acid*. *Biochem J* 1978; 176: 305-308.
 23. Craven, G.R., Gavin, R., Flanning, T. *The transfer RNA binding site of the 30S ribosome and site of tetracycline inhibition*. *Symp Quant Biol* 1969; 34: 129.

24. Pongs, O., Bald, R., Erdmann, V.A. *Identification of chloranphenicol-binding protein in Escherichia coli ribosomes by affinity labelling*. Proc Natl Acad Sci USA 1973; 70: 2229-2233.
25. Haight, T.H., Finland M. *Observations on the mode of action of erythromycin*. Proc Soc Exp Biol Med 1952; 81: 188-193.
26. Reusser, F. *Effect of lincomycin and clindamycin on peptide chain initiation*. Antimicrob Agents Chemother 1975; 7: 32-37.
27. Verbisi, L. *The antimicrobial activity of fusidic acid*. J Antimicrob Chemother 1990; 25 (Suppl. B): 1-15.
28. Ford, C.W., Hamel, J.C., Stapert, D., Moerman, J.K., Hutchinson, D.K., Barbachyn, M.R., Zurenko, G.E. *Oxazolidinones: New antibacterial agents*. Trends Microbiol 1997; 5: 196-200.
29. Moll, G.N., Roberts, G.C., Kenings, W.N., Driessen, A.J. *Mechanism of lantibiotic- induced pore-formation*. Antonie Van Leeuwenhoek 1996; 69: 185-191.
30. Nissen-Meyer, J., Nes, I.F. *Ribosomally synthesized antimicrobial peptides: Their function, structure, biogenesis, and mechanism of action*. Arch Microbiol 1997; 167: 67-77.
31. Kahan, F.M., Kahan, J.S., Cassidy, P.J., Kropp, H. *The mechanism of action of fosfomycin*. Ann NY Acad Sci 1974; 235: 364-385.
32. Nagarajan, R. *Antibacterial activities and modes of action of vancomycin and related glycopeptides*. Antimicrob agents Chemother 1991; 35: 601-609.
33. Inukai, M., Isono, F., Takatsuki, A. *Selective inhibition of bacterial translocase reaction in peptidoglycan synthesis by mureidomycins*. Antimicrob Agents Chemother 1993; 37: 980-983.
34. Isono, F., Inukai, M. *Mureidomycin A, a new inhibitor of bacterial peptidoglycan synthesis*. Antimicrob Agents Chemother 1991; 35: 234-236.
35. Franklin, T. J., and G. A. Snow. 1981. *Biochemistry of Antimicrobial Action*. 3rd ed. Chapman and Hall. London.
36. Levy, S. B. 1982. *Microbial resistance to antibiotics*. Lancet 2: 82-88.
37. Abbasi, K. *Report calls for action on antibiotic resistance*. Br Med J 1998; 316:1261.

38. Davies, J.E. *Origins, acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants*. En: Chadwick, D.J., Goode, J. (Eds.). *Antibiotic resistance: Origins, evolution, selection and spread*. Wiley, Chichester 1997.
39. Cisterna, R. *Resistencia bacteriana*. En: García Sánchez, J.E., López, R., Prieto, J. (Eds.). *Antimicrobianos en medicina*. Sociedad española de quimioterapia. Prous Science, España 1999.
40. Ball P, Fernald A, Tillotson G. *Therapeutic advances of new fluoroquinolonas*. *Exp Opin Invest Drugs* 1998; 7(5): 761-783.
41. Stein GE. *The 4-quinolone antibiotics: past, present, and future*. *Pharmacotherapy* 1988;8(6): 301-14.
42. Just PM. *Overview of the fluoroquinolone antibiotics*. *Pharmacotherapy* 1993 Mar-Apr; 13(2 Pt 2): 4S-17S.
43. Fiaccadori F. [*Fluoroquinolones: a new era in antibiotic therapy*]?. *Ann Ital Med Int* 1992 Jan-Mar; 7(1): 46-50.
44. Wolfson JS, Hooper DC. *Fluoroquinolone antimicrobial agents*. *Clin Microbiol Rev* 1989 Oct; 2(4): 378-424. Leshner, G.Y., Froelich, E.J., Gruet, M.D., Bailey, J.H., Brundage, R.P. *1,8-Naphthyridine derivatives. A new class of chemotherapeutic agents*. *J Med Pharm Chem* 1962; 5: 1063-1065.
45. Leshner, G.Y., Froelich, E.J., Gruet, M.D., Bailey, J.H., Brundage, R.P. *1,8-Naphthyridine derivatives. A new class of chemotherapeutic agents*. *J Med Pharm Chem* 1962; 5: 1063-1065.
46. Koga, H., Itoh, A., Murayama, S., Suzue, S., Irikura, T. *Structure-activity relationships of antibacterial 6,7-and 7,8-disubstituted 1-alkyl-1,4-dihydro-4-oxoquinolone-3-carboxylic acids*. *J Med Chem* 1980; 23: 1358-1363.
47. Wilson, A.P.R., Gruneberg, R.N. *Respiratory tract infection*. En: *Ciprofloxacin: 10 Years of clinical experience*. Maxim Medical, Oxford 1997; 105-125.
48. Stein GE. *Pharmacokinetics and pharmacodynamic of newer fluoroquinolones*. *Clin Infect Dis* 1996; 23 (suppl 1): S19-24.
49. Milkovich G, Reitan JF. *Community-acquired pneumonia: is there a preferred therapy?* *Med/Pharm Forum* 1998; May: 17-22.

50. Ambrose PG, Owens RC, Quintiliani R, Nightingale CH. *New generations of quinolones: with particular attention to levofloxacin*. *Conn Med* 1997; 61: 269-72.
51. Acar JF, Goldstein FW. *Trends in bacterial resistance to fluoroquinolones*. *Clin Infect Dis* 1997; 24(suppl 1): S67-73.
52. Ernst ME, Ernst EJ, Klepser ME. *Levofloxacin and trovafloxacin: the next generation of fluoroquinolones?* *Am J Health Syst Pharm* 1997; 54: 2569-84.
53. Appelbaum PC. *Quinolones activity against anaerobes: microbiological aspects*. *Drugs* 1995; 49(suppl 2): 76-80.
54. Hecht DW, Wexler HM. *In vitro susceptibility of anaerobes to quinolones in the United States*. *Clin Infect Dis* 1996; 23 (suppl 1) : S2-8.
55. Bryskier, A., Chantot, J.F. *Classification and structure activity relationships of fluorquinolones*. *Drugs* 1995; 49 (Suppl. 2): 16-28.
56. Naber, K.B., Adam, D. *Classification of fluorquinolones*. *Int J Antimicrob Agents* 1998; 10: 255-257. King D.E, Malone R, Lilley S.H. *New classification and update on the quinolone antibiotics*. *Am Fam Physician* 2000 May 1; 61(9): 2741-8.
57. King D.E, Malone R, Lilley S.H. *New classification and update on the quinolone antibiotics*. *Am Fam Physician* 2000 May 1; 61(9): 2741-8.
58. Zhang MQ, Haemers A. *Quinolone antimicrobial agents: structure-activity relationships*. *Pharmazie* 1991 Oct; 46(10): 687-700.
59. Wilson, A.P.R., Grüneberg, R.N. *Respiratory tract infection*. En: *Ciprofloxacin: 10 Years of Clinical Experience*. Maxim Medical, Oxford 1997; 105-125.
60. Intercontinental Medical Statistics, Inc. Plymouth Meeting, Philadelphia, USA, 1998.
61. Wise, R., Andrews, J.M. *A comparison of the activity of ciprofloxacin and levofloxacin with the other agents against respiratory tract pathogens*. *J. Chemother* 1998; 10: 276-279.
62. Esposito, S., Noviello, S., Ianello, F. *In vitro activity of moxifloxacin (BAY 12-8039) compared to the other fluoroquinolones against different erythromycin-resistant phenotypes of group A β -haemolytic streptococci (GABHS)*. 38th

- Interscience Conference Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Diego, CA, USA, 1998; Abstract E199.
63. Kauppinen, M., Saikku, P. *Pneumonia due to Chlamydia pneumoniae: Prevalence, clinical features, diagnosis and treatment.* Clin Infect Dis 1995; 21 (Suppl. 3): S244-S252.
 64. Hill, S.L., Pye, A., Munday, C.J., Tillotson, G.S. *Haemophilus parainfluenzae-A pathogen rediscovered?* 8th International Congress on Infectious Diseases, Boston, MA, USA, 1998; Abstract 85: 039.
 65. Bauernfeind, A. *Comparison of the antibacterial activities of the quinolones Bay 12-8039, gatifloxacin (AM 1155), trovafloxacin, clinafloxacin, levofloxacin and ciprofloxacin.* J. Antimicrob Chemother 1997; 40: 639-651.
 66. Brueggemann, A.B., Kugler, K. C., Doem, G.V. *In vitro activity of BAY 12-8039, a novel 8-methoxyquinolone, compared to the activities of six fluoroquinolones against Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, and Moraxella catarrhalis.* Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 1594-1597.
 67. Woodcock, J.M., Andrews, J.M., Boswell, F.J., Brenwald, N.P., Wise, R. *In vitro activity of BAY 12-8039, a new fluoroquinolone.* Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 101-106.
 68. Borcharding SM, Stevens R, Nicholas RA, Corley CR, Self T. *Quinolones: a practical review of clinical uses, dosing considerations, and drug interactions.* J Fam Pract 1996; 42: 69-78.
 69. Just JM. *Overview of the fluoroquinolone antibiotics.* Pharmacotherapy 1993; 13: 4S-17S.
 70. Garey KW, Amsden GW. *Trovafloxacin: an overview.* Pharmacotherapy 1999; 19:21-34.
 71. Fitton A. *The quinolones. An overview of their pharmacology.* Clin Pharmacokinet 1992; 22(suppl 1): 1-11.
 72. Brighty KE, Gootz TD. *The chemistry and biological profile of trovafloxacin.* J Antimicrob Chemother 1997; 39(suppl B): 1-14.
 73. Wolfson JS, Hooper DC. *Fluoroquinolone antimicrobial agents.* Clin Microbiol Rev 1989; 2: 378-424.
 74. Trovan (trovafloxacin)[Package insert]. New York, N.Y.: Pfizer Inc., 1998.

75. Grohe, K., Heitzer, H. *Synthese von 4- Chinolon-3-carbonsauren*. Liebigs Ann Chem 1987; 29-37.
76. Grohe, K. *The chemistry of the quinolonas: Methods of synthesizing the quinolone ring system*. En: Kuhlmann, J., Salhoff, A., Zeiler, H.J. (Eds.). Handbook of Experimental Pharmacology, vol. 127. Quinolone antibacterials. Springer-Verlag, Berlin 1998; 13-62.
77. Palumbo M, Gatto B, Zagotto G, Palu G. *On the mechanism of action of quinolone drugs*. Trends Microbiol 1993 Sep; 1(6): 232-5.
78. Mariani KJ, Hiasa H. *Mechanism of quinolone action. A drug-induced structural perturbation of the DNA precedes strand cleavage by topoisomerase IV*. J Biol Chem 1997 Apr 4; 272(14): 9401-9.
79. Hooper DC, Wolfson JS. *Mode of action of the quinolone antimicrobial agents: review of recent information*. Rev Infect Dis 1989 Jul-Aug; 11 Suppl 5:S902-11.
80. Lewin CS, Morrissey I, Smith JT. *The mode of action of quinolones: the paradox in activity of low and high concentrations and activity in the anaerobic environment*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1991 Apr; 10(4): 240-8.
81. Bryan LE, Bedard J, Wong S, Chamberland S. *Quinolone antimicrobial agents: mechanism of action and resistance development*. Clin Invest Med 1989 Feb; 12(1): 14-9.
82. Smith JT. *The mode of action of 4-quinolones and possible mechanisms of resistance*. J Antimicrob Chemother 1986 Nov; 18 Suppl D: 21-9.
83. Nightingale, Ch. H. *Moxifloxacin, un nuevo antibiótico para el tratamiento de las infecciones respiratorias de la comunidad. Características microbiológicas, farmacocinéticas y farmacodinámicas*. Pharmacotherapy 2000; 20(3): 245-256.
84. Stass, H. *Pharmacokinetics and elimination of moxifloxacin after oral and intravenous administration in man*. J. Antimicrob Chemother 1999; 43(Suppl. B): 83-90.
85. Stass, H. *Moxifloxacin. Review of clinical pharmacokinetics. Metabolism and excretion*. 6th New Quinolones Symposium, Denver 1998; poster.
86. Resumen de características de producto. Ficha técnica Actira^R 400mg comprimidos 1999.

87. Stass, H., Halabi, A., Delesen, H. *No dose adjustment is needed for patients with renal impairment receiving oral moxifloxacin*. 38th ICAAC, San Diego 1998; poster A14.
88. North DS, Fish DN, Redington JJ. *Levofloxacin, a second-generation fluoroquinolone*. *Pharmacotherapy* 1998 Sep-Oct; 18(5) : 915-35.
89. Norrby SR, Petermann W, Willcox PA, Vetter N, Salewski E. *A comparative study of levofloxacin and ceftriaxone in the treatment of hospitalised patients with pneumonia*. *Scand J Infect Dis* 1998; 30(4): 397-404.
90. Piddock LJV, Johnson M, Ricci V, Hill SL. *Activities of new fluoroquinolones against fluoroquinolone-resistant pathogens of the lower respiratory tract*. *Antimicrob Agent Chemother* 1998 Nov; 42(11):2956-60.
91. Langtry HD, Lamb HM. *Levofloxacin. Its use in infections of the respiratory tract, skin, soft tissues and urinary tract*. *Drugs* 1998 Sep; 56(3):487-515.
92. MacLowry, J.D. y Marsh H.H. *Semiautomatic Microtechnique for Serial Dilution Antibiotic Sensitivity Testing in the Clinical Laboratory*. *Journal of Laboratory Clinical Medicin*, 72: 685-687,1968.
93. Gerlach, E.H. *Microdilution 1:A Comparative Study.Current Techniques for Antibiotic Susceptibility Testing*. 63-76.A. Balows(ed.)Charles C.Tomas, Springfield Illinois, 1974.
94. Barry, A.L. *The Antimicrobial Susceptibility Test, Principles and Practices*, Lea and Febiger, Philadelphia, Pennsylvania, 1976.
95. Hill BC, Baker CN, Tenover FC. *A Simplified Method for Testing Bordetella pertussis for Resistance to Erythromycin and Other Antimicrobial Agents*. *J Clin Microbiol* 2000 Mar; 38(3): 1151-1155
96. Megraud F, Lehn N, Lind T, Bayerdorffer E, O'Morain C, Spiller R, Unge P, van Zanten SV, Wrangstadh M, Burman CF. *Antimicrobial susceptibility testing of Helicobacter pylori in a large multicenter trial: the MACH 2 study*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999 Nov; 43(11): 2747-52.
97. Shen D, Biedenbach DJ, Winokur PL, Pfaller MA, Jones RN. *Phenotypic and genotypic characterizations of Chinese strains of Escherichia coli producing extended-spectrum beta-lactamases*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999 Jul; 34(3): 159-64

98. Marshall SA, Jones RN, Erwin ME. *Antimicrobial activity of SCH27899 (Ziracin), a novel everninomicin derivative, tested against Streptococcus spp.: disk diffusion/etest method evaluations and quality control guidelines. The Quality Control Study Group.* Diagn Microbiol Infect Dis 1999 Jan; 33(1): 19-25
99. Thomas JG, Metheny RJ, Karakiozis JM, Wetzel JM, Crout RJ. *Long-term sub-antimicrobial doxycycline (Periostat) as adjunctive management in adult periodontitis: effects on subgingival bacterial population dynamics.* Adv Dent Res 1998 Nov; 12(2): 32-9
100. Biedenbach DJ, Beach ML, Jones RN. *Antimicrobial activity of gatifloxacin tested against Neisseria gonorrhoeae using three methods and a collection of fluoroquinolone-resistant strains.* Diagn Microbiol Infect Dis 1998 Dec; 32(4): 307-11
101. Fitzgerald MA, Parkinson AJ. *Measurement of antimicrobial susceptibility among invasive isolates of Streptococcus pneumoniae: comparison of the Etest with the standard agar dilution method.* Alaska Med 1997 Jan-Mar; 39(1): 3-7
102. Jones RN, Erwin ME, Biedenbach DJ, Johnson DM, Pfaller MA. *Development of in vitro susceptibility testing methods for gemifloxacin (formerly LB20304a or SB-265805), an investigational fluoronaphthyridone.* Diagn Microbiol Infect Dis 1999 Nov; 35(3): 227-34.
103. Lebrun L, Onody C, Vincent V, Nordmann P. *Evaluation of the Etest for rapid susceptibility testing of Mycobacterium avium to clarithromycin.* J Antimicrob Chemother 1996 May; 37(5): 999-1003.
104. Biehle JR, Cavalieri SJ, Saubolle MA, Getsinger LJ. *Evaluation of Etest for susceptibility testing of rapidly growing mycobacteria.* J Clin Microbiol 1995 Jul; 33(7): 1760-4.
105. Achieve BC, Massey VE, Flanagan R, Hussein Z. *Evaluation of susceptibility of anaerobic organisms by the Etest and the reference agar dilution method.* Clin Infect Dis 1995 Jun; 20 Suppl 2:S337-8.
106. Kleinbaum DG, Kupper LL, Morgenstern H; *Epidemiologic research; van nostrand reinhold, NY, 1982: 181-507.*

107. Martín A, Luna JD; *Bioestadística para las ciencias de la salud*; Norma, Madrid, 1990: 323-538.
108. Hervás F.; *En. Procedimientos de Inteligencia Artificial en el estudio de las Enfermedades Infecciosas*. Ed: Díaz de Santos. Madrid 1999: 55-70.
109. N.C.C.L.S.: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 8 informational supplement.