

R.31.566

F/135

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
NEGOCIADO DE TESIS

Queda registrado este Título de Doctor al
folio 146 número 240 del libro
correspondiente. 28 MAR. 2000
Sevilla,

El Jefe del Negociado

Alema Raffetto



**ENDOCARDITIS NEUMOCÓCICA EXPERIMENTAL CAUSADA
POR CEPAS CON DIFERENTES SENSIBILIDADES A LA
PENICILINA.**

COMPARACIÓN DE ESTUDIOS *IN VITRO* E *IN VIVO*.

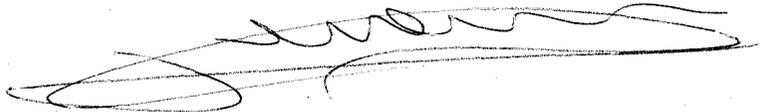
CRISTINA PICHARDO GUERRERO

D. JERÓNIMO PACHÓN DÍAZ, Profesor Asociado del Departamento de
MEDICINA de la Universidad de Sevilla

CERTIFICA:

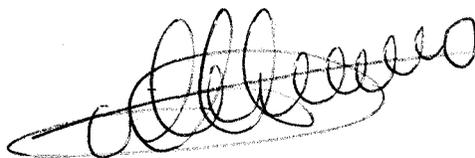
Que el trabajo de investigación que lleva por título "ENDOCARDITIS
NEUMOCÓCICA EXPERIMENTAL CAUSADA POR CEPAS CON
DIFERENTES SENSIBILIDADES A PENICILINA. COMPARACIÓN DE
ESTUDIOS *IN VITRO* E *IN VIVO*" ha sido realizado bajo mi dirección por la
Licenciada D^a CRISTINA PICHARDO GUERRERO, y reúne las condiciones
necesarias para ser leído y defendido como Tesis para optar al grado de Doctor
en Medicina y Cirugía .

Para que conste y a los efectos oportunos, expido la presente
certificación en Sevilla a 10 de Enero de 2000.



Fdo.: Dr. J. Pachón Díaz.

DIRECTOR



Fdo.: Cristina Pichardo Guerrero

DOCTORANDO

D. JOSÉ VILLAR ORTIZ, Profesor Titular del Departamento de
MEDICINA de la Universidad de Sevilla

CERTIFICA:

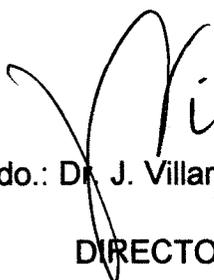
Que el trabajo de investigación que lleva por título
"ENDOCARDITIS NEUMOCÓCICA EXPERIMENTAL CAUSADA POR
CEPAS CON DIFERENTES SENSIBILIDADES A PENICILINA.
COMPARACIÓN DE ESTUDIOS *IN VITRO* E *IN VIVO*" ha sido realizado
bajo mi dirección por la Licenciada D^a CRISTINA PICHARDO
GUERRERO, y reúne las condiciones necesarias para ser leído y
defendido como Tesis para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía

Para que conste y a los efectos oportunos, expido la presente
certificación en Sevilla a 10 de Enero de 2000.



Fdo.: Cristina Pichardo Guerrero

DOCTORANDO



Fdo.: Dr. J. Villar Ortiz
DIRECTOR

DEDICATORIA

A la memoria de mi abuelo Juan del que tanto aprendí y a mis padres de los que aún sigo aprendiendo.

AGRADECIMIENTOS

A Jerónimo Pachón Díaz, por su estímulo y magisterio constantes en la realización de este estudio, así como por su paciencia y confianza con mi persona y con mi trabajo; sin él la realización de este estudio no hubiera sido posible.

A Andrés García Curiel por toda la microbiología que me ha enseñado y por su afecto personal.

A Fco Javier Caballero Granado por su apoyo en tantas ocasiones que difícilmente se podrían enumerar; pero sobre todo por estar siempre dispuesto a escucharme.

A Marta del Nozal, Berta Becerril y Lucila Cuberos, Microbiólogas que me ayudaron a resolver múltiples dudas, pero sobre todo mis amigas, con las que he compartido penas y alegrías y con las que a pesar de la distancia aún las comparto.

A Enrique Jimenez-Mejias, Ignacio Moreno Maqueda y M^a Jesús Rodríguez Hernandez que como todos los anteriores colaboraron en la realización de este estudio y estuvieron siempre dispuestos a ayudarme .

A Lola Prados y Pepa Gomez Vera por compartir conmigo tantas cosas.

A M^a Angeles, Charo, Magdalena, Marien y Marisa por ayudarme en tantas ocasiones.

A todos mis compañeros y compañeras del Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital Universitario *Virgen del Rocío*, porque de alguna manera quizá sin saberlo han contribuido a la culminación de este trabajo.

A todo el personal del Servicio de Microbiología así como del Quirófano Experimental y Animalario del Hospital Universitario *Virgen del Rocío*, por su colaboración.

A Rosa, David, M^a Carmen y M^a Rosa, por aguantarme con paciencia.

A Antonio Ordóñez Fernández por ser la primera persona que me mostró la satisfacción personal que se encuentra en realizar un trabajo de investigación.

A mi marido y a mi hija, por el tiempo que les he quitado, así como por soportarme durante la finalización de este trabajo.

A mi hermana, con la que siempre pude contar en mis momentos de angustia y necesidad; también a mi hermano por tener que hacer de canguro alguna vez.

Por último a mis padres, sin los que no sería lo que soy.

Abreviaturas

Abreviaturas

ADH	Hormona antidiurética.
ATCC	American Type Culture Collection.
AUC	Area bajo la curva.
CDC	Centers for Diseases Control and Prevention.
Cmax	Concentración Máxima.
CMI	Concentración Mínima Inhibitoria.
CMB	Concentración Mínima Bactericida.
CNMV	Centro Nacional de Microbiología y Virología.
CR	Concentración de referencia.
IM	Intramuscular.
IV	Intravenoso.
LCR	Líquido cefalorraquídeo.
Log	Logaritmo.
NARP	Neumococos resistentes a penicilina.
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards.
NRIP	Neumococos con resistencia intermedia a penicilina.
NSP	Neumococos sensibles a penicilina.
PBP	Proteínas fijadoras de penicilina.
RI	Resistencia intermedia a penicilina
R	Resistente a penicilina.

Abreviaturas

SNC	Sistema Nervioso Central.
S	Sensible a penicilina.
t _{1/2}	Semivida biológica.
$\Delta t/CMI$	Tiempo por encima de la concentración mínima inhibitoria.
THY	Todd-Hewit Yeast.
U	Unidades.
UFC	Unidades formadoras de colonias.
VIH	Virus de la Inmunodeficiencia Humana.

I.ÍNDICE.-

I. INDICE.....	1
II.INTRODUCCIÓN.....	9
II.A. Infección neumocócica.	10
II.A.1. <i>Streptococcus pneumoniae</i>	10
II.A.2. Importancia, frecuencia y morbimortalidad de la infección neumocócica.	13
II.A.2.a. Neumonías neumocócicas.	16
II.A.2.b. Meningitis neumocócica.	23
II.B. Resistencia de <i>S. pneumoniae</i> a los antimicrobianos.	28
II.B.1 Factores asociados a las resistencias.	36
II.B.2 Mecanismos de resistencia antibiótica de <i>S. pneumoniae</i>	40
II.C. Tratamiento de la enfermedad neumocócica.	42
II.C.1 Tratamiento de la Neumonía neumocócica.	42
II.C.2 Tratamiento de la Meningitis neumocócica.	44
II.D. Modelos Experimentales de infecciones.....	47
II.D.1. Introducción a los modelos.	47
II.D.2. Modelo de endocarditis.	51
II.D.3. Otros modelos experimentales de infección neumocócica.	55

II.D.4. Estudios <i>in-vitro</i> versus <i>in-vivo</i>	59
III. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.	62
III.A. Justificación.	63
III.B. Objetivos concretos.	65
IV. MATERIAL Y MÉTODOS.	69
IV.A. Cepas bacterianas.	70
IV.B. Estudios <i>in-vitro</i>	72
IV.B.1. Determinación de las Concentraciones	
Mínimas Inhibitorias y Bactericidas.	72
IV.B.1.a. Medio de Cultivo.	72
IV.B.1.b. Antibióticos.	72
IV.B.1.c. Concentración Mínima Inhibitoria.	74
IV.B.1.d. Concentración Mínima Bactericida.	75
IV.B.2. Curvas De tiempo-muerte.	76
IV.C. Estudio farmacocinético.	78
IV.C.1. Bioensayo.	79
IV.C.1.a. Preparación de las placas.	79
IV.C.1.b. Procedimiento general.	80

Indice

IV.D. Modelo de endocarditis infecciosa	
experimental.	84
IV.D.1. Sujetos del estudio.	84
IV.D.2. Grupos de Tratamiento.	84
IV.D.2.a. Grupo de animales infectados con la cepa sensible a penicilina (S).	84
IV.D.2.b. Grupo de animales infectados con la cepa Intermedia a penicilina (RI).	85
IV.D.2.c. Grupo de animales infectados con la cepa Resistente a penicilina (R).	85
IV.D.3. Producción de la endocarditis.	86
IV.D.3.a. Anestesia.	86
IV.D.3.b. Preparación del campo quirúrgico.	86
IV.D.3.c. Colocación del Catéter.	86
IV.D.4. Instauración de la infección.	89
IV.D.5. Tratamiento.	90
IV.D.6. Análisis del efecto del tratamiento.	91
IV.E. Variables de análisis.	93
IV.F. Métodos estadísticos.	94

V. RESULTADOS	95
V.A. Concentraciones mínimas inhibitorias y bactericidas de los seis antimicrobianos frente a las cepas de <i>S. pneumoniae</i> estudiadas.	96
V.B. Actividad bactericida de los seis antimicrobianos frente a las tres cepas de <i>S. pneumoniae</i> mediante curvas de tiempo-muerte.	97
V.B.1. Penicilina.	98
V.B.2. Cefuroxima.	98
V.B.3. Cefotaxima.	99
V.B.4. Ceftriaxona.	100
V.B.5. Eritromicina.	100
V.B.6. Vancomicina.	101
V.C. Farmacocinética.	102
V.C.1. Penicilina.	102
V.C.2. Cefuroxima.	103
V.C.3. Cefotaxima.	103
V.C.4. Ceftriaxona.	104
V.C.5. Eritromicina.	104
V.C.6. Vancomicina.	105

V.C.7. Resumen de resultados	
farmacocinéticos/farmacodinámicos.	106
V.C.8. Ajuste de dosis en el	
Modelo <i>in-vivo</i>	107
V.D. Tratamiento.	110
V.D.1. Grupo de animales infectados con	
la cepa S a penicilina.	110
V.D.2. Grupo de animales infectados con	
la cepa RI a penicilina.	114
V.D.3. Grupo de animales infectados con	
la cepa R a penicilina.	118
V.D.4. Cepa S, comparación entre los diferentes	
tratamientos sobre la endocarditis.	121
V.D.5. Cepa RI, comparación entre los diferentes	
tratamientos sobre la endocarditis.	122
V.D.6. Cepa R, comparación entre los diferentes	
tratamientos sobre la endocarditis.	123
V.E. Influencia de la sensibilidad o resistencia a la	
penicilina del neumococo en la gravedad	
de la endocarditis.	125

V.E.1. Comparación de los controles.	125
V.E.2. Comparación en los grupos de tratamiento de la endocarditis.	126
V.F. Estudio de la infección pulmonar que produce el modelo, a través del estudio de los grupos controles y análisis del tratamiento.....	128
V.G. Estudio de la aparición de cepas resistentes a la penicilina al finalizar el tratamiento, en los animales tratados con este antimicrobiano..	130
V.H. Correlación de los parámetros farmacocinéticos/farmacodinámicos con los estudios <i>in vivo</i>	131
VI. TABLAS Y FIGURAS.	141
VII. DISCUSIÓN.	205
VII.A Endocarditis experimental.	206
VII. B. Neumonía neumocócica experimental.	210
VII.C. Estudio de la bacteriemia.	214
VII. D. Influencia de la sensibilidad a penicilina en la gravedad de la endocarditis.	217

Índice

VII. E. Tratamiento de la infección neumocócica con penicilina. .	219
VII. F. Tratamiento de la infección neumocócica con β -lactámicos.	224
VII.G. Tratamiento de la infección neumocócica con otros antimicrobianos.	228
VII.G.1. Eritromicina y otros macrolidos.	228
VII. G. 2. Vancomicina y otros glicopéptidos.	229
VIII. CONCLUSIONES.....	233
IX. BIBLIOGRAFÍA.	237

II.INTRODUCCIÓN.-

II.A. INFECCIÓN NEUMOCÓCICA.

II.A.1. *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*.

Streptococcus pneumoniae es una bacteria perteneciente a la familia *Streptococcaceae*, con forma de coco grampositivo y que se agrupan por parejas cuando se ven con la tinción de Gram¹.

Es un importante patógeno para el ser humano y desde hace muchos años se reconoce como una de las causas más frecuentes de otitis media y bacteriemia en niños, de neumonía bacteriana adquirida en la comunidad, así como origen común de meningitis bacteriana². El neumococo es un microorganismo frecuentemente aislado en tracto respiratorio, especialmente en niños³.

S. pneumoniae fue identificado paralelamente por Gram, que aplicando su técnica de tinción, identificaba diplococos grampositivos en los pulmones de pacientes fallecidos por neumonía; por otro lado, dos autores alemanes, identificaban diplococos ligeramente elongados^{4,5}. Pero no fue hasta 1881 cuando se demostró la existencia de la bacteria como patógena en animales, lo que fue descrito por Pasteur en Francia^{6,7} y Sternberg en EE.UU.^{8,9}. Estos autores inocularon muestras de saliva en conejos y recuperaron diplococos de su sangre. La bacteria detectada fue

llamada *Microbe septicémique du salive* por Pasteur y *Micrococcus pasteurii* por Sternberg. Hasta 1974 no se le dio la denominación actual de *Streptococcus pneumoniae*, basándose en su crecimiento característico como cadenas de cocos¹⁰.

Klemperer y Klemperer demostraron que el suero de conejos inyectados con neumococos muertos por calor, contenía factores que conferían inmunidad frente a reinfecciones por la misma cepa, aunque no necesariamente frente a la reinfección con diferentes aislamientos clínicos^{11,12}. Más tarde se comprobó que este suero no era bactericida pero facilitaba la fagocitosis por las células del sistema inmunitario¹³. Posteriormente, y basándose en todo ello se sentaron las bases de lo que hoy conocemos como inmunidad humoral¹⁴. La inyección de neumococos en conejos, desarrollaba una capacidad inmunizante que estimulaba la producción de anticuerpos séricos que aglutinaban y causaban hinchazón capsular de la cepa inmunizante. Ello sirvió para desarrollar la clasificación del neumococo en cuatro grupos y 85 serotipos¹⁵. Estos 85 serotipos están basados en los antígenos capsulares polisacáridos.

Las vacunas neumocócicas contienen 12, 14 o 23 antígenos de los serotipos más comunes, lo que representa del 68 al 97% de las cepas causantes de enfermedad¹. El descubrimiento de la penicilina, hizo perder

interés por la vacuna, y no fue hasta la década de los setenta cuando se reconoció la necesidad de una vacuna antineumocócica eficaz^{16,17}: La vacuna actual contiene 23 serotipos.

En 1967, se describió por primera vez *in vitro* un neumococo altamente resistente a penicilina¹⁸ y más tarde en Sudáfrica se describió un gran brote de infecciones neumocócicas resistentes a este antimicrobiano^{19,20}. La aparición de estos brotes permitió el avance en los conocimientos sobre el mecanismo de resistencia a penicilina y llevó a relacionarlo con la alteración de las proteínas fijadoras de penicilina (PBP)^{21,22}.

Actualmente, la infección neumocócica sigue planteando problemas tanto en el campo clínico, por su elevada incidencia en pacientes con enfermedades subyacentes y en inmunodeprimidos, su elevada mortalidad en algunos cuadros clínicos y las dificultades terapéuticas derivadas de la aparición de resistencias a penicilina y otros antimicrobianos. Ello hace que no haya acabado la investigación en diversos campos en la patología referida a la infección neumocócica.

II.A.2. IMPORTANCIA, FRECUENCIA Y MORBIMORTALIDAD DE LA INFECCIÓN NEUMOCÓCICA.

S. pneumoniae es causa de infecciones diversas, como oído medio, senos paranasales, traquea, bronquios y pulmones por paso directo de microorganismos colonizantes de la nasofaringe. Por otro lado, infecciones del sistema nervioso central, endocarditis, infecciones de articulaciones y peritoneales, así como bacteriemia primaria².

La importancia clínica de la infección neumocócica depende de su frecuencia y de la elevada mortalidad de diferentes formas clínicas. El pronóstico de las infecciones neumocócicas depende en gran medida del desarrollo de bacteriemia, de modo que la mortalidad de la bacteriemia neumocócica es del 25%^{23,24}. La mayor mortalidad en pacientes con neumonía bacteriémica por neumococos resistentes a la penicilina comparada con la mortalidad en pacientes con cepas susceptibles a la penicilina, probablemente se deba al estado crítico inicial de los pacientes, mas que a la resistencia en si misma²⁵. Aunque el neumococo solo supone del 1% al 3% de las endocarditis²⁶, su frecuencia como causa de bacteriemia permanece estable y es la causa del 70% de las bacteriemias ocultas en niños²⁷. No obstante, la endocarditis neumocócica sigue condicionando una elevada mortalidad²⁸.

Algunos estudios coinciden en que en la otitis media aguda el agente etiológico más comúnmente aislado es *S. pneumoniae*, estando implicado en aproximadamente el 40-50% de los casos en los que se aísla microorganismo, o bien en el 30-40% de todos los casos². La capacidad de esta bacteria para colonizar y después producir infección está determinada por la gran adherencia que tiene por las células del epitelio de nasofaringe.

En sinusitis, también es la primera causa, seguido de *Haemophilus influenzae*. Es importante en la patogénesis de ésta la congestión previa de las mucosas por causas alérgicas o virales, lo que provoca obstrucción en las salidas de los senos impidiendo la normal aireación y paso de secreciones, lo que favorece la infección por microorganismos colonizantes.

S. pneumoniae está implicado también, aunque con menos frecuencia, en otras infecciones, como pueden ser la peritonitis bacteriana espontánea primaria, sin que concurren otros focos de infección^{29,30}. Por otro lado, también encontramos algunos casos de artritis séptica espontánea y osteomielitis vertebral³¹⁻³³.

Introducción

Revisaremos con mas detenimiento las dos entidades clínicas más importantes, en cuanto a frecuencia y mortalidad provocadas por *S. pneumoniae*.

II.A.2.a. NEUMONÍAS NEUMOCÓCICAS

Las neumonías continúan siendo un proceso clínico de aparición frecuente, causantes de morbilidad y mortalidad apreciables, suponiendo las neumonías adquiridas en la comunidad aproximadamente el 1,5% de todas las infecciones respiratorias³⁴. *S. pneumoniae* es una etiología importante entre las neumonías adquiridas en la comunidad (NAC)³⁵.

El predominio de la neumonía neumocócica ha sido demostrado universalmente, estimándose que ocurren 100 a 200 casos por 100.000 habitantes³⁶. La bacteriemia neumocócica es más frecuente en las edades extremas de la vida. Así, mientras que la incidencia global es de 18,7 casos por 100.000, en los menores de dos años o superiores a 65 años es de 162,3 y 52,8 casos por 100.000, estando asociadas a neumonía en el 31% y en el 75% de los casos, respectivamente³⁷.

Determinadas enfermedades subyacentes crónicas condicionan un alto riesgo de infección neumocócica. En dos series recientes de neumonía neumocócica, las enfermedades subyacentes crónicas más frecuentes fueron la infección por el VIH, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, el etilismo crónico, neoplasias y diabetes mellitus^{38,39}. Como se ha comentado, los ancianos, sobre todo en las 7ª y 8ª décadas,

tienen también un riesgo mayor de desarrollar neumonía neumocócica^{40,41}.

La neumonía neumocócica se produce como resultado de la microaspiración o inhalación de los microorganismos que han colonizado la nasofaringe, siendo posible, en epidemias en comunidades cerradas, la inhalación de bacterias suspendidas en el aire tras la evaporación de gotículas de secreción⁴². Los anticuerpos frente al polisacárido capsular del neumococo son considerados generalmente como el mecanismo inmunológico principal de resistencia a la infección por *S. pneumoniae*. No obstante, la relativamente baja prevalencia de anticuerpos IgG frente al neumococo (15% en establecimientos militares y 33% en varones adultos)⁴³ contrasta con el hecho de que la neumonía neumocócica no aparezca con mayor frecuencia. El motivo puede ser que la colonización nasofaríngea por neumococo se sigue de la aparición de anticuerpos frente al polisacárido capsular, probablemente en 1 o 2 semanas en la mayoría de las personas. Las personas que no tienen factores predisponentes desarrollarían inmunidad antes de que pueda aparecer la neumonía. En cambio, las personas que tienen alguna alteración de los mecanismos de defensa respiratorios, tales como algunas de las enfermedades subyacentes crónicas de las citadas anteriormente y enfermedades virales como la gripe, tienen mayor probabilidad de desarrollar neumonía, antes de la respuesta de anticuerpos⁴³ y, por

supuesto, las personas con pobre producción de anticuerpos permanecen susceptibles mientras estén colonizados.

Numerosos estudios constatan que el neumococo continúa siendo uno de los principales causantes de la neumonía adquirida en la comunidad (NAC). *S. pneumoniae* es la causa del 9,6%-48,8% de las NAC con diagnóstico etiológico^{44,45}, en series en las que se excluyen en general pacientes con inmunodeficiencias y neumonías graves, siendo el primer agente⁴⁵⁻⁴⁸ o el segundo en frecuencia^{44,49,50}. En las NAC con criterios de gravedad, el neumococo continúa como la etiología más frecuente, entre el 29,1% y el 43,6%^{51,52,53}. En personas ancianas es el agente más frecuente⁵⁴ o bien es la segunda etiología detrás de la neumonía gripal⁵⁵.

En las neumonías nosocomiales los neumococos son agentes etiológicos menos frecuentes, oscilando entre el 10,4% y el 25%^{52,56} de las neumonías hospitalarias con diagnóstico etiológico, que ocurren en distintas áreas del hospital. En las neumonías nosocomiales que ocurren en pacientes con ventilación mecánica, la incidencia de la etiología neumocócica es inferior a la de los bacilos gramnegativos aerobios y *Staphylococcus aureus*; sin embargo, cabe encontrar *S. pneumoniae* como causante entre el 6% y el 15%⁵⁷⁻⁵⁹. En esta situación, es más

frecuente entre aquellos pacientes que no han recibido previamente tratamiento antimicrobiano⁶⁰, no siendo un factor que incremente la mortalidad en este grupo de pacientes^{56,60}.

Por último, entre las neumonías en inmunodeprimidos, el neumococo se encuentra como agente frecuente. Entre neumonías graves, en pacientes con diversos tipos de inmunodepresión, *S. pneumoniae* fue la causa del 31,2% de las neumonías con diagnóstico etiológico⁵². *S. pneumoniae* es el agente etiológico más frecuente en las neumonías bacterianas que ocurren en los infectados por el VIH, con una frecuencia entre las etiologías demostradas del 33%-50%^{61,62}, con una tasa de ataque unas seis veces superior a la de la población general^{61,63}. La causa de este aumento de la enfermedad neumocócica en los infectados por el VIH parece estar en una respuesta de anticuerpos específicos deprimida y en una alteración de la inmunidad de la mucosa respiratoria⁶⁴. Además, la enfermedad neumocócica asociada a la infección por el VIH presenta tasas elevadas de enfermedad invasiva recurrente o de reinfección⁶⁴.

La clínica de la neumonía neumocócica ha sido considerada como el prototipo de la neumonía bacteriana "típica". El comienzo es abrupto, con escalofríos intensos y fiebre alta mantenida, en alrededor del 80% de

los pacientes⁶⁵, sobre todo en personas previamente sanas y en situaciones endémicas o epidémicas⁴². La tos es precoz, haciéndose productiva, con esputo purulento y ocasionalmente hemoptoico en el 75% de los casos^{42,65}. El dolor de costado, que aumenta con las excursiones respiratorias, traduce la afectación de la pleura visceral. Síntomas acompañantes son la debilidad importante, anorexia y cefaleas. Es posible una instauración en varios días, en los cuales se produce un deterioro de la enfermedad subyacente crónica o han habido síntomas de una enfermedad viral⁴² o bronquitis aguda previas³⁸. En las personas ancianas el cuadro puede ser atípico, manifestándose con deterioro del estado general, con tos y expectoración escasa, fiebre moderada y a veces ausente. En cambio, la presentación más aguda ocurre en pacientes esplenectomizados⁶⁶.

La exploración clínica muestra un paciente con signos evidentes de enfermedad, fiebre de alrededor de 39°C, taquicardia, taquipnea^{42,65}, y herpes labial en el 13%-20% de pacientes^{67,68}. En el aparato respiratorio puede revelar matidez en alrededor del 50% de los casos⁴², estertores húmedos crepitantes, soplo bronquial y, eventualmente, semiología de derrame pleural. El 8%-10,9% de pacientes presentan shock, en neumonías con una proporción elevada de bacteriemia^{38,39}. La leucocitosis neutrofílica es común⁴² y en casos graves hay hipoxemia. Puede haber

hiponatremia como expresión de secreción inadecuada de ADH⁶⁵.

La radiología suele mostrar condensación lobar homogénea³⁸, aunque la afectación completa de un lóbulo pulmonar puede ocurrir solo en el 3% de los casos⁶⁷. Pueden existir infiltrados en una o varias áreas segmentarias de tipo bronconeumático³⁸. Existe extensión a dos lóbulos en el 10%-25% y tres lóbulos en el 1%-5%^{38,48,65}, con bilateralidad en el 8%⁴⁸. En el 25%-30% de los casos existe derrame pleural, con características de exudado y de cuantía pequeña o moderada. El empiema ocurre en la actualidad en el 1% de los casos, acompañándose de fiebre y leucocitosis mantenidas⁶⁵. La pericarditis purulenta es una complicación poco frecuente. Puede existir cavitación hasta en el 11%⁴⁸ y se han descrito casos de absceso de pulmón^{69,70}.

La neumonía neumocócica es bacteriémica en el 25%-37% de los casos^{67,71}. La frecuencia de bacteriemia varía en relación con el serotipo, siendo del 62% en un brote de neumonía por *S. pneumoniae* serotipo 1³⁸. También es significativamente más frecuente entre aquellos con enfermedad subyacente (66%) que entre los que no la presentan (30%)⁶⁷. En los infectados por el VIH hay bacteriemia en la neumonía neumocócica en el 60%-76% de los casos^{63,64}.

Introducción

La neumonía neumocócica bacteriémica está gravada con una mortalidad significativa que oscila entre el 23% y el 45%⁷¹⁻⁷³. Sin embargo, la mortalidad en algunos países, como Suecia, es considerablemente inferior, sin que se conozcan todos los factores implicados. En un estudio retrospectivo comparativo entre neumonías neumocócicas bacteriémicas, la mortalidad fue del 5% en Estocolmo (Suecia), frente al 26% en Huntington (WVa, USA)⁷⁴. Diversas características de la población estudiada o clínicas se asocian con una mayor mortalidad, como la presencia de empiema inicial⁷¹, la afectación multilobular, el shock séptico y la inmunodeficiencia previa³⁹.

La presencia de coinfección por el VIH no empeora el pronóstico de la neumonía neumocócica, siendo la mortalidad en los casos bacteriémicos (6%) inferior que en la población control de la misma edad (18%)⁶⁴. En un estudio posterior, la mortalidad de la neumonía neumocócica bacteriémica en pacientes con SIDA (57%) fue superior que en la población sin infección por el VIH (25%), pero con curación de todos los episodios de neumonía en los infectados por el VIH sin SIDA, lo que puede atribuirse a que este último grupo tenía mejor respuesta humoral además de la edad joven⁷⁵.

II.A.2.b. MENINGITIS NEUMOCÓCICA

La meningitis causada por *S. pneumoniae* es una enfermedad grave que, a pesar de la instauración de un tratamiento antibiótico apropiado y medidas de soporte adecuadas, sigue asociándose a una elevada mortalidad y a elevadas secuelas neurológicas en los supervivientes⁷⁶.

La incidencia de meningitis neumocócica no se conoce con total exactitud, pero la mayoría de los trabajos muestran una incidencia aproximada de 0,5 a 2 casos por 100.000 habitantes y año, según los grupos de edad, raza y area geográfica estudiada⁷⁶.

En España, *S. pneumoniae* es la segunda causa de meningitis bacteriana después de *Neisseria meningitidis*⁷⁶⁻⁷⁸, en adultos, adolescentes y niños mayores, siendo el agente etiológico más frecuente en adultos con edad superior a 30 años^{77,78}, constituyendo aproximadamente de un 30% a un 50% de los casos de meningitis bacteriana del adulto⁷⁹. Con respecto a los niños, es la tercera causa más frecuente de meningitis, siguiendo a *N. meningitidis* y *Haemophilus spp.*⁸⁰.

En EE.UU., en un estudio publicado por los C.D.C. (Centers for

Introducción

Disease Control and Prevention) en 1990, *H. influenzae* es el agente causal más frecuente de meningitis bacteriana (45%), seguido de *S. pneumoniae* (18%) y *N. meningitidis* (14%)⁸¹.

La etiología neumocócica de los procesos meníngeos, se ve favorecida por traumatismos accidentales o quirúrgicos, defectos congénitos, lesiones anatómicas adquiridas, focos de infección parameníngeos y determinadas situaciones de inmunodepresión como agammaglobulinemia, leucemia, mieloma múltiple, linfoma y anesplenia. En una serie de 29 casos de meningitis neumocócica de 1990, un 75% de los adultos y un 90% de los niños presentaban enfermedad de base o factores predisponentes⁸⁰.

La patogénesis de la meningitis neumocócica esta directamente relacionada con la colonización de senos paranasales, oído medio, o resultado de la invasión de los plexos coroideos como consecuencia de una bacteriemia previa². En un trabajo en el que estudian 70 episodios de meningitis neumocócica, comprueban que la otitis media aguda fue el foco de origen en el 34% de los casos, en el 11% existía una fístula de líquido cefalorraquídeo y en el 9% una neumonía⁸².

Los mecanismos celulares implicados en la producción de la

meningitis neumocócica, son los mismos que para el resto de las infecciones por este germen. Además, en la meningitis se produce una reacción inflamatoria meníngea en la que pueden estar implicados el factor de necrosis tumoral, la interleucina-1 y la interleucina-6².

La característica más importante que distingue a la meningitis neumocócica del resto de las meningitis de la comunidad es su gravedad, debido a la gran reacción inflamatoria que se produce en el espacio subaracnoideo y a que aumenta durante las primeras horas del tratamiento antibiótico por efecto de la lisis bacteriana⁷⁸. La mortalidad de la meningitis neumocócica del adulto es de aproximadamente el 30%, lo cual no se ha modificado de forma significativa en los últimos años, a pesar de las nuevas medidas de soporte así como el uso de potentes antibióticos⁷⁸. Más de la mitad de los fallecimientos ocurren precozmente, dentro de las primeras 48 horas^{78,82}.

A veces el cuadro clínico que se presenta es el de una sepsis severa, con neumonía y eventualmente endocarditis y/o pericarditis; estos pacientes pertenecen a un subgrupo de riesgo de padecer infecciones neumocócicas graves, suelen presentar leucopenia y padecer enfermedades debilitantes como alcoholismo, cirrosis hepática, mieloma múltiple o esplenectomía^{78,81}. Pero la gran mayoría fallecen por la

progresión rápida de los signos neurológicos. El edema cerebral citotóxico, la hipertensión intracraneal, la reducción del flujo sanguíneo y las consiguientes alteraciones metabólicas provocan un daño cerebral precoz^{78,81,82}.

Por otro lado, los fallecimientos tardíos pueden deberse a la compresión cerebral resultante del edema intersticial y las complicaciones isquémicas secundarias a vasculitis de vasos meningeos o cerebrales⁷⁸.

Factores de mal pronóstico de la meningitis neumocócica son la edad avanzada, que el origen de la infección esté lejos del SNC, el shock, el estado de coma profundo al ingreso y el desarrollo de convulsiones tras el ingreso^{78,82}. La mortalidad es menor cuando la meningitis es secundaria a la existencia de una fístula de líquido cefalorraquídeo⁷⁸.

En un trabajo reciente en el que se estudian 70 casos de meningitis neumocócica, la mortalidad global fue del 23%, los factores asociados con una evolución desfavorable fueron la existencia de enfermedad de base asociada, la alteración marcada del nivel de conciencia al diagnóstico, la coexistencia de neumonía y la ausencia de tratamiento adyuvante⁷⁶. En los últimos años parece demostrarse que el tratamiento adyuvante de la

Introducción

meningitis neumocócica con dexametasona en los niños y con manitol, dexametasona y fenitoína en los adultos, no solo reduce la mortalidad de ésta sino que también disminuye las secuelas neurológicas^{82,83,84}.

II.B. RESISTENCIAS DE *S. PNEUMONIAE* A LOS ANTIMICROBIANOS.

La infección por *S. pneumoniae* constituye un problema de actualidad por las resistencias a antimicrobianos habitualmente empleados en su tratamiento, así como por la elevada mortalidad de las infecciones neumocócicas bacteriémicas^{23,24}. Aunque desde 1943 se conoce la existencia de neumococos resistentes a sulfamidas, es a partir de 1967, con la detección de neumococos con sensibilidad disminuida a penicilina^{19,20}, cuando comienza a surgir inquietud en el tratamiento de las infecciones por este microorganismo. Desde entonces, se han descrito en numerosos trabajos cepas de neumococos con sensibilidad disminuida a penicilina, la mayoría con resistencia intermedia (RI), con concentración mínima inhibitoria (CMI) de penicilina entre 0,1 y 1 mg/L, y menos frecuentemente resistentes a penicilina (R), con CMI de penicilina ≥ 2 mg/L. Estas cepas pueden mostrar resistencia a otros antimicrobianos (multirresistencia), lo que implica un problema terapéutico importante.

En España, y de acuerdo con diferentes autores, la resistencia de *S. pneumoniae* a penicilina ha evolucionado desde un 4.3%-6% en 1979 hasta un 18%-26.6% en 1992. En lo referente a cepas de elevado nivel de resistencia se ha pasado desde el 0% en 1979 al 8.3%-14.9% en

1992^{35,85}. En un estudio realizado en 1982 por el Centro Nacional de Microbiología y Virología (Instituto de Salud Carlos III) con 318 cepas de *S. pneumoniae* aisladas en sangre y LCR encuentran que un 8.7% de las cepas presentan RI a penicilina⁸⁶. En un estudio prospectivo de 10 años en el area de Barcelona, entre enero de 1984 hasta diciembre de 1993, en el que se estudiaron 504 pacientes con neumonía neumocócica, el 29% de las cepas eran resistentes a penicilina (CMI de penicilina G de 0.12 a 4 µg/mL)⁸⁷. En otro estudio sobre portadores sanos, realizado en 326 niños del area de Barcelona, se encontró un 35,9% de cepas de neumococos con sensibilidad disminuida a penicilina, en su mayor parte RI⁸⁸.

Si comparamos los resultados de la sensibilidad de 865 cepas de *S. pneumoniae* aisladas en infecciones invasivas en el Hospital de Bellvitge (Barcelona) durante el período de 1979 a 1990⁸⁹ con los de dos trabajos del CNMV de Majadahonda con cepas enviadas por distintos hospitales de toda España de 1979 a 1989 y de 1990 a 1994^{90,91}, observamos que los porcentajes de resistencia a penicilina (CNMV vs. Hospital de Bellvitge) fueron del 27.8%-49.8% vs. 21.9%, de los cuales eran RI 18.6% (en el periodo 1979-1989) vs. 13.9% y R 9.2% (en el periodo 1979-1989) vs. 7.9%.

Durante el período 1990-1993 se aislaron en nuestro hospital 91 cepas de *S. pneumoniae* (19 niños y 72 adultos) correspondientes a infecciones neumocócicas invasivas. En el período comprendido entre 1990-1991, la tasa global de resistencia a penicilina fue de 36.3% (31.8% de RI y 4.5% de R)^{3,23,92}. En el período comprendido entre 1992-1993, se observó una tasa de resistencia a penicilina del 36.1% (RI:17.0%, R:19.1%)⁹². Analizando comparativamente los dos períodos se aprecia que se mantienen estables las tasas de resistencia frente a penicilina, existiendo una leve tendencia ascendente de la alta resistencia a penicilina³.

En el estudio que se realizó en 1991 sobre niños sanos de dos colegios del área de Sevilla, el 48.3% de los neumococos aislados mostraban sensibilidad disminuida a penicilina, correspondiendo el 39,3% a RI y el 9% a R^{3,93}. El mismo trabajo anterior se repitió en 1993 en los mismos colegios, obteniéndose una tasa de resistencia a penicilina del 33.2% (RI: 24%, R: 9.2%)^{3,93}.

En cuanto a las evolución de las resistencias a cefalosporinas, en el estudio de Pallares et al entre enero de 1984 hasta diciembre de 1993⁸⁷, el 6% de las cepas eran resistentes a cefalosporinas (CMI de cefotaxima o ceftriaxona de 1 a 4 µg/mL). En el trabajo del CNMV de

Introducción

Majadahonda en el periodo 1990-1993⁹¹, los porcentajes de resistencia a cefotaxima fueron del 4.8% en 1990 al 1% en 1993.

En los trabajos de nuestro hospital entre 1990-1991, hubo una tasa muy elevada de resistencia a cefonicid (86.3%) y más moderada frente a cefuroxima (RI:4.5%, R:18.1%). Frente a cefotaxima solo hubo resistencia intermedia (2.2%). Se detectó una sola cepa resistente a ceftriaxona (2.2%) y un 15.9% con resistencia intermedia^{3,23}. En el período comprendido entre 1992-1993, siguió existiendo una tasa global elevada a cefonicid (63.8%) y similar al período anterior frente a cefuroxima (25.5%). En cuanto a cefotaxima la RI fue algo más elevada (8.5%). Con respecto a ceftriaxona, existió una ligera elevación de la resistencia intermedia(23.4%) y de la resistencia (4.2%)^{3,92}. Analizando comparativamente los dos períodos se aprecia que se mantienen estables las tasas de resistencia frente cefuroxima y cefonicid. Asimismo se apreció una tendencia creciente de las tasas de resistencia intermedia a cefotaxima y ceftriaxona^{3,23,92}.

En los estudios que se realizaron en 1991 y 1993 sobre niños sanos del area de Sevilla, hay que destacar en el primer periodo los porcentajes elevados de resistencia a cefuroxima (RI: 13.1%, R: 28.2%) y cefonicid (RI: 5%, R: 51.5%). Con respecto a cefotaxima hubo un 9%

Introducción

con resistencia intermedia y un 1% resistentes a este antibiótico^{3,93}. En el segundo periodo se obtuvo una tasa de resistencia a cefuroxima y cefonicid moderadamente elevadas. No hubo altas resistencias ni a cefotaxima ni a ceftriaxona^{3,93}.

En lo que respecta al análisis de las resistencias al resto de antimicrobianos, en el estudio de 1982 del CNMV (Instituto de Salud Carlos III) con 318 cepas de *S. pneumoniae* aisladas en sangre y LCR, el 67% eran resistentes a tetraciclina el 20% a cloranfenicol y 1.8% a eritromicina⁸⁶.

Si comparamos los resultados de la sensibilidad de cepas de *S. pneumoniae* aisladas en infecciones invasivas en el Hospital de Bellvitge (Barcelona) durante el período de 1979 a 1990⁸⁹ con los de un trabajo del CNMV de Majadahonda de 1979 a 1989⁹⁰, observamos que los porcentajes de resistencia (CNMV vs. Hospital de Bellvitge) fueron como sigue: eritromicina 5.1% vs 4.3%; tetraciclina 56.2% vs 45.6% y cloranfenicol 43.1% vs 36.6%.

Según el CNMV (Majadahonda, Madrid), Las tasas de resistencia a eritromicina a lo largo de 1990-1994 fueron de 14.3%, 17.2%, 18%, 20.7% y 16.7%, respectivamente^{91,94}. Liñares et al, analizando 1233 cepas

aisladas de infecciones sistémicas desde 1979 hasta 1994, han comprobado que la resistencia a tetraciclina y cloranfenicol ha descendido significativamente en esos 12 años. Observándose también un aumento de las cepas resistentes a eritromicina a partir de 1986, coincidiendo con un mayor consumo de macrólidos⁸⁹.

En nuestro hospital, se realizó un estudio de 1990-1993 con 91 cepas de *S. pneumoniae* correspondientes a infecciones neumocócicas invasivas. En el período comprendido entre 1990-1991, la resistencia a eritromicina fue escasa (9%) y no hubo cepas resistentes a vancomicina^{3,23}. En el período comprendido entre 1992-1993, se apreció un ligero ascenso de la resistencia a eritromicina (14.8%) y al igual que en el período anterior, no hubo ninguna cepa resistente a vancomicina^{3,92}. Analizando comparativamente los dos períodos se aprecia que se mantienen estables las tasas de resistencia frente a tetraciclina. Existió una leve tendencia ascendente de la resistencia a eritromicina y la resistencia a cloranfenicol tuvo un leve descenso^{3,23,92}.

En los estudios de 1991 y 1993 sobre niños sanos en Sevilla, en 1991 hay que destacar los porcentajes elevados de resistencia a tetraciclina (42.4%), así como un porcentaje de resistencia a eritromicina moderadamente elevado (RI: 8%, R: 15.1%)^{3,93}. En 1993 no hubo altas

resistencias a eritromicina, la resistencia a cloranfenicol fue del 16.6% y a tetraciclina del 29.9%, no existiendo cepas resistentes a vancomicina ni a teicoplanina^{3,93}.

En un trabajo de Appelbaum de 1992 se hace un resumen del estado de la sensibilidad de *S. pneumoniae* a penicilina en diversas partes del mundo⁹⁵, de los datos que se presentan en este trabajo destacaremos algunos que nos han parecido de más significación a la hora de conocer como se encuentra la situación en el resto del mundo. Se puede destacar que en Australia la resistencia a penicilina ha pasado del 0.4% en el período 1967-1970 al 1.1% en el período 1971-1976. En Francia de tener un 0.3% de cepas resistentes a penicilina en 1980-1986, el porcentaje ha pasado a ser del 12.5% en 1990. En Inglaterra el ascenso ha sido menor, pasando de ser 0.1% en 1977 a tan solo un 2.5% 12 años mas tarde. Hay que destacar que en Sudáfrica, lugar donde se detectaron las primeras cepas resistentes, se pasó de ser resistentes a penicilina el 62.2% de las cepas de *S.pneumoniae* en 1977 a tener en 1990 un 14.2%, no obstante este descenso no ha sido progresivo, sino que tras un descenso mas o menos mantenido hasta 1986, en este año se produce una nueva subida (24.2%) para posteriormente continuar bajando. En Japón existe también un importante problema, ya que en 1991 el porcentaje de cepas resistentes a penicilina fue del 27.8%,

cuando en el período 1984-1989 solo era del 5.9%. Importante es también el nivel de resistencias en Hungría, donde en 1988-1989 se encontraba en el 57.8%. En cuanto al nivel de resistencias a eritromicina, en Estados Unidos ha pasado del 6.3% en el período 1979-1981 al 0.3% en el período 1979-1986. En Francia por el contrario del 2.2% en 1970-1979 ha subido al 14.7% en 1980-1986; lo mismo ha ocurrido en Sudafrica que del 1.2% en 1977 ha pasado al 17.7% en 1986²⁵.

Como consecuencia de la aparición de cepas resistentes a cefalosporinas, y su repercusión sobre el tratamiento de la meningitis, dada la dificultad de penetración en el espacio subaracnoideo de los antimicrobianos, los NCCLS han modificado recientemente los criterios de susceptibilidad y resistencia de los neumococos a antimicrobianos ⁹⁶. Los criterios actuales de S, RI, R, respectivamente son: penicilina ≤ 0.06 , 0.12-1, ≥ 2 ; cefalosporinas ≤ 0.5 , 1, ≥ 2 ; eritromicina ≤ 0.25 , 0.5, ≥ 1 ; vancomicina ≤ 1 ; rifampicina ≤ 1 , 2, ≥ 4 mg/L, respectivamente.

II.B.1. FACTORES ASOCIADOS A LAS RESISTENCIAS.

Los tres países donde es más alta la incidencia de neumococos penicilin-resistentes son Sudáfrica, España y Hungría⁹⁵. Parece existir una asociación entre determinados serotipos y el grado de sensibilidad de *S.pneumoniae* a penicilina. En Sudáfrica, los serotipos aislados con mayor frecuencia son el 6, 14, 19 y 23. En España los serotipos más comúnmente aislados en cepas resistentes en hemocultivos son el 6, 9, 19 y 23; en muestras de LCR son el 6, 9 y el 23; en muestras pulmonares son más frecuentes el 6, 9, 14, 19 y 23. En Hungría los serotipos de las cepas resistentes son el 19A, 6B y el 23F. En Francia, el problema de los neumococos resistentes a penicilina ha sido importante durante años, los serotipos 6, 14, 19 y 23 fueron los más frecuentemente aislados. Estudios moleculares han puesto de manifiesto que el serotipo 23F es probablemente el más frecuente en España, Francia y Estados Unidos^{25,95}.

En un estudio realizado por el Centro Nacional de Microbiología (Majadahonda, Madrid), analizan 2197 cepas de *S.pneumoniae* aisladas en pacientes con neumonía, bacteriemia o meningitis. Los serotipos determinados fueron el 3(11%), 6(9%), 23(9%), 19(7%), 9(7%), 1(6%), 5(6%), 8(5.5%), 14(5%), 4(4%) y el 15(4%). Los serotipos 23 y 19 son los

Introducción

que se corresponden con mayor frecuencia a cepas resistentes a penicilina y los que se corresponden con la menor frecuencia son el 8 y el 12⁹⁰.

En un trabajo realizado en nuestro hospital³ se analizaron los serotipos más frecuentemente aislados, tanto en muestras clínicas como en portadores escolares. En los portadores los serotipos más frecuentemente aislados fueron el serotipo 3(20.9%), el 19(17%) y el 23(11.6%), le seguían en orden decreciente el 6, 11, 9, 14, 18, 22 y 8. En el grupo de enfermos con infección neumocócica invasiva, los más frecuentes fueron el 3 (14.9%), 14(12.6%) y el 23(8%), le seguían el 5, 6, 9, 19 y el 18. Los serotipos 14 y 23 fueron los más frecuentes en cepas resistentes a penicilina³.

Diversos trabajos demuestran que los serotipos más comunes entre las cepas resistentes a penicilina son el 6B, 14, 19F y 23².

En algunos estudios se pone de manifiesto la relación de diversos factores de riesgo con los aislamientos de cepas de neumococos resistentes a antimicrobianos^{25,85,97}, estos factores son la edad de los enfermos, la administración previa de antimicrobianos β -lactámicos y como se ha comentado anteriormente, determinados serotipos.

En un estudio de casos y controles de Pallarés et al, demuestran como la aparición de infecciones por cepas de neumococos resistentes a penicilina está significativamente relacionado con episodios previos de neumonía, hospitalización previa, uso previo de antibióticos betalactámicos, infección nosocomial ó estado inicial crítico⁹⁷.

En un trabajo realizado en Madrid, encuentran asociación entre la presencia de neumococos resistentes y enfermedades de base rápidamente fatales, con la inmunodepresión, la administración previa de antimicrobianos, la hospitalización previa, la primera década de la vida y los serotipos 14 y 23⁸⁵.

En la revisión de Klugman de 1990, se hace referencia a los diversos factores que se asocian a la aparición de infecciones por neumococos resistentes²⁵, además de los serotipos más frecuentes como ya se ha comentado anteriormente, aparecen factores como la edad. La aparición tanto de infecciones como de portadores por cepas resistentes está relacionado con mayor frecuencia con los niños, por otro lado la hospitalización previa en niños se asocia con una mayor frecuencia de infecciones por cepas de neumococo con alto nivel de resistencia a penicilina o con multiple resistencia, mientras que en adultos está mas relacionada con neumococos resistentes a tetraciclinas²⁵. Por otro lado

existen evidencias de que la previa exposición a los antimicrobianos predispone a una mayor incidencia de portadores de cepas de neumococos resistentes y consecuentemente el incremento de la diseminación de estas cepas²⁵.

En el trabajo realizado en nuestro hospital³, se analizan los factores de riesgo para la adquisición de neumococos resistentes a penicilina en enfermos con enfermedad neumocócica invasiva. Según estos datos no existen diferencias significativas entre los porcentajes de pacientes con infecciones causadas por cepas de *S. pneumoniae* sensibles o resistentes a penicilina por tener alguno de los siguientes factores: hospitalización previa, enfermedad subyacente crónica, infección por el virus de la inmunodeficiencia humana o uso previo de β -lactámicos. Se constataron diferencias significativas cuando la infección era nosocomial y cuando los serotipos eran el 14 y el 23, siendo en estos casos más frecuentes las infecciones causadas por cepas resistentes a penicilina.

II.B.2. MECANISMOS DE RESISTENCIA ANTIBIÓTICA DE *S. PNEUMONIAE*.

La resistencia a penicilina del neumococo se debe únicamente a alteraciones en las proteínas fijadoras de penicilina (PBP), que tienen una afinidad reducida por la penicilina y los demás antibióticos betalactámicos⁹⁸. *S. pneumoniae* sigue siendo uno de los pocos patógenos en los que nunca se ha detectado producción de betalactamasas. Los neumococos sensibles a penicilina tienen 5 PBP de alto peso molecular (1a, 1b, 2a, 2b y 2x) y una de bajo peso molecular (PBP3), que posiblemente no está implicada en los mecanismos bactericidas de los betalactámicos. La resistencia a la penicilina de los neumococos implica alteraciones en las PBP 1a, 2x y 2b⁹⁹.

Las PBP de alto peso molecular de los neumococos también tienen reducida su afinidad por el resto de betalactámicos. Como consecuencia de esto los neumococos resistentes a penicilina tienen resistencia cruzada con el resto de betalactámicos⁹⁹. Sin embargo existen diferencias, y mientras antibióticos como ceftriaxona, cefotaxima, cefpiroma, imipenem y meropenem presentan mayor actividad que la penicilina frente a cepas resistentes a ésta, otros como cefixima, ceftizoxima, cefaclor, ceftazidima, cefoxitina y cefonicid tienen escasa actividad *in vitro* frente a estas

mismas cepas, por lo que no deberían emplearse para tratar infecciones causadas por ellas⁹⁹.

La resistencia a penicilina es solo una parte del problema. La frecuencia de resistencia a otros antimicrobianos como eritromicina, trimetoprim-sulfametoxazol y tetraciclina es mucho mayor en cepas R a penicilina que en cepas S^{2,11}. Desde hace años se han venido describiendo en relación con la resistencia de neumococos a diversos antimicrobianos como las tetraciclinas, el cloranfenicol y la eritromicina, la existencia de genes responsables de estas resistencias²⁵. Todo esto fue el prelude de la identificación en 1986 de elementos conjugativos cromosomales que transfieren resistencia múltiple de las cepas de neumococo. El transposon Tn 1545 transfiere resistencia al cloranfenicol, eritromicina, kanamicina y tetraciclina, mediante diferentes genes²⁵; esto hace que la multiresistencia pueda ser adquirida por transferencia horizontal de material genético probablemente de otras especies bacterianas^{2,25}.

II.C. TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD NEUMOCOCICA

II.C.1. TRATAMIENTO DE LA NEUMONIA NEUMOCOCICA

El interés en el tratamiento de la neumonía neumocócica viene motivado por la elevada mortalidad y por la creciente proporción de neumococos con sensibilidad disminuida a la penicilina.

La penicilina es el antibiótico de elección para las neumonías neumocócicas causadas por cepas sensibles. La elección del tratamiento antimicrobiano está en discusión para las neumonías causadas por neumococos con resistencia intermedia a la penicilina. Se ha sugerido que las neumonías neumocócicas bacteriémicas o no, causadas por cepas con CMI de penicilina no superior a 2 µg/ml, pueden ser tratadas con penicilina intravenosa, a dosis entre 150.000 y 250.000 U por Kg de peso y día⁹⁷. Recientemente se ha evaluado la utilidad de la penicilina procaina (1,2 x 10⁶ U cada 12 horas) en la NAC presuntamente neumocócica, excluyendo los casos severos o con inmunodeficiencias, obteniéndose la curación en el 81% de los casos y sin ningún exitus, lo que sugiere que la penicilina procaina es útil en esta situación clínica¹⁰⁰. Los resultados de otro estudio retrospectivo sobre la evolución de NAC, incluyendo casos con resistencia intermedia y elevada a penicilina, muestran una evolución satisfactoria en el 87% de los pacientes que

recibieron penicilina, apoyando los comentarios anteriores¹⁰¹. La neumonía causada por cepas con CMI de penicilina superior a 2 µg/ml debe ser tratada con antimicrobianos alternativos, sobre todo en pacientes neutropénicos o con otras inmunodeficiencias²⁵. En estos casos la elección puede recaer en la eritromicina, aunque la elevada proporción de resistencia a eritromicina probablemente obligará a escoger entre los antibióticos β-lactámicos más activos frente a neumococo, como cefuroxima, cefotaxima o ceftriaxona⁹².

Sin embargo, no existen estudios clínicos comparativos que permitan contestar incuestionablemente cual es el mejor tratamiento de neumonías causadas por cepas con disminución de la sensibilidad a β-lactámicos.

II.C.2. TRATAMIENTO DE LA MENINGITIS NEUMOCOCICA

El primer objetivo del tratamiento de la meningitis neumocócica consiste en obtener una esterilización rápida del LCR, mediante un tratamiento antibiótico capaz de proporcionar una adecuada actividad bactericida en el mismo. Dicha actividad se obtiene cuando la concentración antibiótica en el LCR es alrededor de diez veces superior a la concentración bactericida mínima (CMB) de la cepa infectante⁷⁸. Siempre que la cepa causal sea sensible a penicilina, el tratamiento recomendado será de penicilina G sódica a dosis de 250.000 U/kg/día intravenosa o de ampicilina 200 mg/kg/día intravenosa también^{78,81}. Es más problemático el tratamiento de los casos producidos por cepas RI o R, puesto que no se alcanzan los niveles recomendados en LCR.

El mecanismo de resistencia del neumococo a la penicilina afecta al resto de antibióticos betalactámicos, aunque de distinta forma, por lo que algunas cefalosporinas de tercera generación como la cefotaxima y la ceftriaxona suelen mantener una buena actividad frente a cepas con resistencia intermedia a penicilina^{76,78,81}. Las principales ventajas de estas cefalosporinas de tercera generación son, que alcanzan altos niveles de antibiótico en LCR, que su CMI es entre dos y cuatro veces más baja que la de penicilina y que se pueden administrar dosis elevadas,

especialmente de cefotaxima, con pocos efectos tóxicos colaterales⁷⁶. Sin embargo aunque ambas cefalosporinas se ha venido utilizando con frecuencia, su papel actual está controvertido, ya que el porcentaje de cepas con sensibilidad disminuida a las cefalosporinas va en aumento y se han descrito algunos fracasos terapéuticos, sobre todo en niños^{76,78,81}. Por todo esto los criterios de sensibilidad de los NCCLS se modificaron, y hoy recomiendan que para los casos de meningitis por cepas de neumococo con CMI iguales o superiores a 0.5 µg/mL se consideren resistentes y por tanto, no sean tratados con cefalosporinas o se haga con estrecha vigilancia^{76,78,79,96}. En la literatura se han descrito casos de fracasos terapéuticos con cefalosporinas de tercera generación que se resolvieron favorablemente con vancomicina^{79,80}. Hasta el momento no se han encontrado cepas resistentes a glicopéptidos, y es bien conocida la sensibilidad a rifampicina, por lo que se ha sugerido la posibilidad de usar vancomicina, asociada o no a rifampicina, para el tratamiento de la meningitis neumocócica producida por cepas altamente resistentes a penicilina⁸¹. La experiencia clínica publicada usando vancomicina es escasa, y su principal problema es la variabilidad de los niveles plasmáticos obtenidos a las dosis recomendadas, por lo que los niveles en LCR son impredecibles⁷⁸. La asociación de vancomicina y rifampicina se halla en fase de evaluación, tanto en el modelo experimental como en el tratamiento de pacientes, con resultados satisfactorios⁷⁸. Por otro lado

en relación a la terapéutica empírica inicial, en áreas geográficas con tasas elevadas de resistencia a betalactámicos, se considera como una pauta adecuada la asociación de vancomicina con cefalosporinas de tercera generación, basado en la sinergia observada en el modelo experimental^{78,82,102}.

El tratamiento de la meningitis neumocócica debe ser abordado desde un segundo frente para disminuir la intensidad de la respuesta inflamatoria que se produce en el espacio subaracnoideo y combatir sus posibles consecuencias, lo cual constituye el tratamiento asociado o adyuvante^{78,82}. En modelos animales de meningitis neumocócica, se ha comprobado que la dexametasona disminuye la celularidad, amortigua el aumento de proteínas y ácido láctico en el LCR, y protege frente al edema cerebral^{78,82,103}. La mayoría de los autores coinciden en que el uso de dexametasona, a ser posible antes de la primera dosis de antibiótico y durante 48 horas, reduce las secuelas neurológicas, así como la mortalidad en la meningitis neumocócica tanto en niños como en adultos^{82,104}. Por otro lado la administración de manitol pretende tratar tempranamente la hipertensión intracraneal que un gran número de pacientes presenta en pocas horas⁷⁸. Por último, el tratamiento con fenitoina evita el desarrollo de convulsiones, que se asocia con una mayor mortalidad⁷⁸.

II.D. MODELOS EXPERIMENTALES DE INFECCIONES.

II.D.1. INTRODUCCIÓN A LOS MODELOS.

Desde hace décadas se han venido utilizando modelos de infección con animales en el estudio de la terapia antimicrobiana¹⁰⁵. El primer resultado, fue el descubrimiento de la efectividad del prontosil (sulphonamido- crysoidine) en la infección neumocócica en ratones, no teniendo esta sustancia actividad antibacteriana *in vitro*^{105,106}.

En 1960 se habían descrito más de 1000 modelos experimentales diferentes. Dependiendo del objetivo, naturaleza, y valor predictivo de éstos, fueron asignados a varias categorías¹⁰⁷. Existen los modelos básicos *in vivo*, más usados para la evaluación de nuevos antibióticos (test de *screening* de antibióticos). De ellos el más conocido es el modelo de septicemia en ratones, pero la relevancia de los resultados obtenidos con este modelo está limitada por algunos inconvenientes inherentes a él como pueden ser el curso rápidamente fatal de la infección en los ratones, que no es característico de la enfermedad humana, los regímenes terapéuticos usados, etc¹⁰⁷⁻¹¹¹. En estos modelos la evaluación final del efecto del antimicrobiano es simplemente la curación o la muerte del animal.

Los modelos *ex vivo* aparecen para simular infecciones humanas con más fidelidad que los test de *screening*. En esta categoría aparecen los modelos por colocación de cuerpos extraños y posterior infección de éstos¹⁰⁵. Los efectos de los antibióticos en estos test son evaluados *in vitro* (determinación de concentraciones de antibióticos, número de bacterias en los cuerpos extraños o en los diferentes fluidos, cambios en la morfología de la bacteria tras el tratamiento, etc)¹⁰⁵. Generalmente en estos modelos se evalúa un solo parámetro, por lo que se les denomina monoparamétricos.

Los modelos discriminativos, son aquellos que simulan infecciones humanas, afectando a órganos concretos. Estos modelos se caracterizan porque, el organismo causal, la puerta de entrada, la expresión de la infección en el organismo, así como los tejidos implicados son idénticos, o muy similares a la situación que se produce en humanos. Por otro lado, la severidad, curso y duración de la infección es predecible, reproducible y sensible al análisis. En estos modelos, también es medible y reproducible la sensibilidad a la quimioterapia utilizada¹⁰⁵.

Algunos ejemplos de estos modelos serían, endocarditis en conejos o ratas, neumonía en cobayas o perros inmunodeprimidos, osteomielitis en conejos o ratas, varios modelos de infección del tracto

urinario en ratas o cerdos, meningitis en conejos, infecciones oculares, candidiasis oral en ratas, infección criptocócica en cobayas o conejos, etc^{105,109,112-117}

Diversos estudios usando estos modelos discriminativos, han contribuido al conocimiento de la patogénesis de varias enfermedades, como por ejemplo la meningitis^{112,118}. En estos modelos se evalúan también agentes antimicrobianos específicos frente a infecciones determinadas. Por otro lado, con estos modelos se puede responder a varias preguntas¹¹³: ¿Que droga es bacteriostática y cual bactericida?, ¿Que efecto tiene la actividad bactericida del suero?, ¿Cual es el intervalo óptimo entre dosis?, ¿Cómo de importante es el efecto postantibiótico?. Todo esto va a ayudar a establecer principios o pautas para el uso de estos agentes antimicrobianos.

Diversos modelos experimentales de neumonía, meningitis y de infección diseminada han sido utilizados para estudiar la actividad de diversos antimicrobianos en el tratamiento de la infección neumocócica. No obstante, son escasos los estudios realizados con cepas con sensibilidad disminuida a penicilina.

La utilización de modelos experimentales ha contribuido

Introducción

individualmente al conocimiento de la patogénesis de los procesos infectivos, así como al análisis de los diferentes parámetros que condicionan la resolución de un proceso de infección por un determinado antimicrobiano y así evitar futuros fallos terapéuticos en humanos.

II.D.2. MODELO DE ENDOCARDITIS.

En los años 50 Hamburger y colaboradores diseñaron un modelo de endocarditis en perros para el estudio de terapia antimicrobiana. En este modelo se dañaba el tejido valvular mediante una escisión de 3 mm por punción con una aguja de biopsia, aguja que se insertaba a través de una incisión en aorta que era abordada mediante toracotomía. Aproximadamente 3 semanas después se inyectaba una concentración de 10^7 - 10^8 UFC/mL de *Staphylococcus aureus* intravenoso. Del 55 al 60% de los animales presentaban a los 4-12 días manifestaciones de bacteriemia, fiebre, letargia y bacteriemia de más de 500 UFC/mL¹¹⁴.

Por otro lado, Sapico y colaboradores usaron un modelo también en perros para estudiar la sinergia de penicilina con estreptomina en endocarditis enterocócica. Ellos provocaban con una aguja un traumatismo en la válvula aórtica a través de un catéter en carótida que se insertaba mediante toracotomía. El 83% de los animales inoculados por vía intravenosa con 10^7 ufc/mL de *Enterococcus faecalis* se infectaban. La muerte de estos animales ocurría aproximadamente al tercer día, y en los supervivientes persistía el hemocultivo positivo entre 5 y 14 semanas después. La eficacia se evaluó midiendo el nivel de bacteriemia tras una única dosis de antimicrobiano¹¹⁴.

Introducción

El modelo en conejos se describió en 1971 por Peerlman y Freedman¹¹⁵ y fué modificado por Durack et al en 1973¹¹⁶. En este modelo un catéter de polietileno es insertado a través de la arteria carótida hasta la válvula aórtica, donde quedará localizado. La localización del catéter es conocida porque éste es conectado a un monitor de presión. El número de bacterias que es necesario inyectar para producir infección depende del microorganismo, por ejemplo para *Staphylococcus aureus* es suficiente con 10^3 - 10^4 UFC/mL, para gramnegativos y *Staphylococcus epidermidis* se requiere alrededor de 10^8 UFC/mL. Después de 24 horas de la inoculación en las vegetaciones se obtiene la máxima densidad de colonias, del orden de 10^8 - 10^{10} UFC/g de vegetación.

La endocarditis infecciosa experimental, producida tras la introducción de un catéter de polietileno a través de la válvula aórtica y la subsecuente inyección del inóculo bacteriano, ha sido utilizada ampliamente entre otros objetivos para el estudio de la patogenia de la endocarditis infecciosa y de la eficacia de diversos medicamentos ante distintos agentes patógenos. El modelo permite el estudio de la concentración de microorganismos en la válvula aórtica, así como la comparación entre tejidos estériles, posibilitando la comparación entre diversas pautas terapéuticas, incluyendo diversos aspectos de sensibilidad de las cepas utilizadas y de la farmacocinética de los

medicamentos utilizados.

Fernández Guerrero et al¹¹⁷ han referido datos sobre el tratamiento de la endocarditis neumocócica experimental, en un modelo en conejos, utilizando cepas de neumococo con CMI de penicilina de 1 mg/L (NRIP) y 4 mg/L (NARP), comprobando como la penicilina procaina a altas dosis fue tan eficaz como la cefotaxima y la teicoplanina.

Los órganos en los que se produce el aclaramiento hemático del neumococo han sido estudiados tras una inyección intravenosa única de un inóculo de 10^6 - 10^7 UFC/ml marcado con ⁹⁹Tc, mostrando como el hígado capta el 60% del inóculo inyectado y el pulmón el 15%; en este estudio no se practicaron cultivos de los órganos tras el sacrificio de los animales, para conocer si las bacterias fueron destruidas tras la captación por los diferentes órganos ¹¹⁹. La constancia de la bacteriemia en la endocarditis y el aclaramiento del neumococo por distintos órganos, sugiere la posibilidad de que se produzca una infección neumocócica diseminada en este modelo, al igual que ocurre en la endocarditis por *Candida* spp. No obstante, Perry et al¹²⁰ no encuentran cultivos positivos en distintos órganos tras la infección neumocócica bacteriémica producida en conejos tras la inoculación intraperitoneal; no obstante, aunque no especifican el tiempo de extracción de los órganos tras el inóculo, el

Introducción

diseño de su estudio hace suponer que la duración de la bacteriemia fue escasa. En el caso de existir infección diseminada neumocócica en el modelo experimental de endocarditis, se podría estudiar paralelamente la actividad de distintos antimicrobianos sobre la endocarditis y sobre la infección pulmonar.

II.D.3. OTROS MODELOS EXPERIMENTALES DE INFECCION NEUMOCÓCICA

Dado el interés que plantea *S. pneumoniae*, se han venido utilizando diversos modelos experimentales para su estudio; desde modelos de infección sistémica, modelos de otitis media, de meningitis y de neumonía.

El modelo de otitis media neumocócica ha sido estudiado en chinchillas. La otitis media se produce inoculando unas 20 UFC de neumococos viables en oído medio, permaneciendo allí la bacteria durante tres días después de la inoculación; la diseminación hematógena se demuestra en aproximadamente el 50% de los animales inoculados con ciertos serotipos, y ocasionalmente hay diseminación a líquido cefalorraquídeo¹²¹. En un trabajo en el que analizan la influencia del momento en que se administre penicilina en un modelo de otitis media en chinchillas, se pudo ver como la precocidad en el inicio del tratamiento tenía influencia sobre todo en la reducción del número de células inflamatorias, así como en la concentración de lisozima en oído medio; en cuanto al número de UFC/mL de *S. pneumoniae*, es más precoz su eliminación cuanto más precoz sea el tratamiento¹²². Otros modelos de otitis media neumocócica están basados en la colonización nasal por este

Introducción

germen, por ello se realiza inoculando intranasalmente, a la vez que se somete el oído a condiciones de presión negativa¹²¹. Las teorías de que infecciones víricas del tracto respiratorio favorecen la colonización intranasal por *S. pneumoniae* así como la aparición de otitis media, hace que se hayan creado modelos de otitis media mediante colonización intranasal en los que a la inoculación neumocócica se acompaña de inoculación por virus influenza A¹²¹.

Otro modelo muy utilizado para el estudio de *S. pneumoniae* es el modelo de meningitis en conejos. Este modelo se realiza inyectando una concentración de 10^7 UFC/mL (en un mL de fisiológico) por vía intravenosa 2 minutos después de instilar intracisternalmente 0.5 mL de una suspensión de mucina al 0.125% ajustado a pH 7.34 en Ringer lactato¹¹².

En un trabajo en el que se provoca una meningitis experimental en conejos utilizando cepas de neumococo sensibles y resistentes a penicilina, se muestra que la vancomicina era superior a penicilina y cloranfenicol frente a las cepas de resistentes, siendo la actividad de los tres antimicrobianos igual frente a cepas sensibles a penicilina¹²³. En otro estudio de meningitis neumocócica, ceftriaxona fue superior a penicilina en cepas de neumococo intermedias a penicilina; en cambio, ambos

antibióticos fueron ineficaces frente a cepas resistentes, en cuyo caso se obtuvo disminución de la concentración de microorganismos con vancomicina e imipenem¹²⁴. En un trabajo más reciente, se evalúa en el modelo de meningitis en conejos la eficacia de varios betalactámicos, vancomicina, rifampicina y clinafloxacino, solos y en diversas combinaciones frente a dos cepas de neumococo con CMI a ceftriaxona de 4 y 1 µg/mL respectivamente; estos autores encuentran que clinafloxacino es el agente más activo de los usados en monoterapia frente a ambas cepas. Frente a la cepa más resistente ceftriaxona o meropenem solos son efectivos. Por último la combinación de vancomicina con ceftriaxona presenta un efecto sinérgico, por lo que ellos sugieren que esta combinación sería útil en el tratamiento empírico inicial de la meningitis neumocócica¹⁰².

El modelo de neumonía por *S. pneumoniae* se viene utilizando desde hace años, siendo el primer modelo de neumonía utilizado, consistiendo en la inoculación directa a través de la tráquea de los animales^{125,126}. Los primeros estudios con modelos de neumonía estaban diseñados para el estudio de la patogénesis de la neumonía, así como para probar la eficacia de antisueros neumocócicos¹²⁷. En esa época el mayor problema consistía en la dificultad de crear un modelo reproducible de neumonía, empleándose para ello diversos agentes que aumentarían

la virulencia del neumococo. Así en uno de los primeros trabajos sobre el tema¹²⁸ se señala como al inocular una suspensión de neumococo en un 5% de mucina gástrica aumentaba la virulencia bacteriana y así se podían obtener modelos reproducibles de neumonía en ratas. Posteriormente en 1941¹²⁷ se describía como el modelo anterior podía ser mejorado simplemente utilizando neumococos en fase exponencial de crecimiento. Así con este tipo de modelo se comprobó la eficacia de sulfamidas primero y de penicilina después. Actualmente, las neumonías neumocócicas han vuelto a cobrar una gran importancia debido al problema de las cepas resistentes a penicilina y eritromicina. Por ello, nuevamente se están empleando modelos de neumonía neumocócica que tratan de encontrar un tratamiento alternativo eficaz contra estas cepas resistentes.

La técnica que se utiliza actualmente para el modelo de neumonía neumocócica es la descrita por Espósito y Pennington^{125,126}, que consiste en suspender verticalmente el animal una vez anestesiado y canular la tráquea con una aguja roma curva adaptada a una jeringuilla que contiene la suspensión bacteriana a la concentración deseada. Posteriormente, otros autores han seguido esta técnica obteniendo resultados interesantes por ejemplo sobre la eficacia de las quinolonas en el tratamiento de las neumonías neumocócicas en el ratón^{129,130}.

II.D.4. ESTUDIOS *IN-VITRO* VERSUS *IN-VIVO*

El cálculo de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) son técnicas sujetas tanto a variables metodológicas (persistencia, efecto paradójico, tolerancia, y resistencia fenotípica) como a factores técnicos (fase de crecimiento del inóculo, concentración del inóculo, contacto insuficiente del microorganismo con el antimicrobiano, arrastre del antimicrobiano, así como el volumen transportado para el conteo de supervivientes)¹³¹. La medición de la actividad bactericida de los antimicrobianos mediante curvas de tiempo-muerte parece verse menos influida por estos factores¹³².

Se ha podido comprobar la existencia de discordancias entre el cálculo de la CMB y las curvas de tiempo-muerte. En un estudio de Liñares et al¹³³, se puede ver como, a pesar de existir variaciones de 6 diluciones en la CMB de penicilina entre las tres cepas, la reducción en el \log_{10} de UFC/mL mediante curvas de tiempo-muerte es similar para las tres, incluso siendo algo mayor para las cepas con CMB más alta. Igualmente, Knudsen et al¹³⁴, utilizando dos cepas de *S. pneumoniae*, encuentran que existe un mayor descenso en el número de UFC/mL para la cepa con CMB de penicilina más alta, utilizando para ambas cepas

concentraciones similares a la CMB.

Por otro lado, la actividad bactericida medida mediante curvas de tiempo-muerte muestra la mejor correlación con los resultados de estudios *in vivo*, tanto con antimicrobianos usados individualmente, como para estudios de sinergia. Chidiac et al¹³⁵ compararon en un modelo de neumonía la actividad de tres quinolonas frente a *Pseudomonas aeruginosa*, encontrando que con ciprofloxacino se consigue el 100% de supervivencia y el 100% de hemocultivos negativos, no siendo así para los otros dos antimicrobianos, lo cual se corresponde con que ciprofloxacino fue el único que alcanzó actividad bactericida mediante curvas de tiempo-muerte. En un estudio de Drake et al¹³⁶, las curvas de tiempo-muerte mostraron un efecto sinérgico de penicilina más estreptomicina ó gentamicina frente a *E. faecalis* y *Enterococcus faecium*, comprobando en un modelo de endocarditis experimental que fueron estas asociaciones de antimicrobianos las que obtuvieron una reducción mayor en el número de colonias presentes en las vegetaciones.

Todo esto implica que los estudios para determinar eficacia de los antimicrobianos frente a distintos gérmenes han de ser multidisciplinarios, y por tanto la realización de estudios *in vitro* ha de ser necesariamente completada por modelos experimentales para obtener una mayor

información.

III. JUSTIFICACION Y OBJETIVOS.-

III.A. JUSTIFICACION.

La frecuente aparición de cepas de neumococos con sensibilidad disminuida a la penicilina hace necesaria la realización de estudios *in vivo* que permitan conocer la eficacia de distintos antimicrobianos en las infecciones neumocócicas, comparándola con su actividad *in vitro*.

La elevada mortalidad de las infecciones bacteriémicas neumocócicas junto con la frecuencia de las infecciones por este microorganismo en la comunidad, subrayan la necesidad de estos estudios.

Diversos antimicrobianos, son recomendados como alternativa a la penicilina, en las infecciones neumocócicas causadas por cepas con sensibilidad disminuida a este antibiótico. No obstante, faltan datos concluyentes sobre si la penicilina es ineficaz en infecciones neumocócicas causadas por cepas con resistencia intermedia a la penicilina. Tampoco se conoce cual es la mejor alternativa terapéutica en las infecciones causadas por estas cepas y las que son altamente resistentes a penicilina.

Los resultados que se obtengan, con la necesaria reflexión que

Justificación y Objetivos

permita trasladar los resultados en el modelo experimental al ser humano, permitirán el aumento del conocimiento en la utilidad de los distintos antimicrobianos en las infecciones neumocócicas bacteriémicas y, por tanto, el diseño de estudios controlados en humanos, con el menor riesgo de fracaso terapéutico.

Son necesarios nuevos estudios con el modelo de endocarditis neumocócica experimental, en los que se incluyan comparaciones entre cepas sensibles y resistentes a penicilina; aunque es de esperar que las infecciones causadas por cepas sensibles a penicilina responderán adecuadamente a este antimicrobiano, es necesario tener estos resultados como patrón de referencia para el análisis de los estudios con cepas resistentes. Por otra parte, es necesario realizar el estudio empleando distintos antimicrobianos que se utilizan comúnmente como alternativa a la penicilina en las infecciones neumocócicas mas frecuentemente causantes de bacteriemia.

III.B. OBJETIVOS CONCRETOS.-

El objetivo general de este trabajo es estudiar la efectividad de diferentes antimicrobianos en el modelo experimental de endocarditis neumocócica, producido por neumococos sensibles a penicilina (S), con resistencia intermedia a penicilina (RI) y altamente resistentes a penicilina (R). Se ha elegido este modelo experimental como modelo de infección bacteriémica.

Los objetivos concretos son los siguientes:

OBJETIVO 1.

Comparación de la efectividad del tratamiento de la endocarditis neumocócica experimental entre diferentes antimicrobianos: penicilina, eritromicina, cefuroxima, cefotaxima, ceftriaxona y vancomicina, y frente a un grupo control sin tratamiento.

Cada uno de los grupos terapéuticos y controles se realizará infectando diferentes grupos de animales con cepas de neumococo S, RI y R, que se analizaran por separado.

OBJETIVO 2.

Estudiar la relación entre la actividad bactericida *in vitro* de los diferentes antimicrobianos (curvas de tiempo-muerte), con los resultados *in vivo*: analizando por separado los resultados con cada una de las cepas de neumococo en estudio.

OBJETIVO 3.

Estudiar la correlación entre los parámetros farmacocinéticos/farmacodinámicos: C_{max} , AUC, tiempo en que la concentración plasmática permanece por encima de la concentración mínima inhibitoria (CMI), AUC/CMI y C_{max}/CMI con los resultados del tratamiento de cada uno de los antimicrobianos, analizando separadamente los resultados de cada una de las cepas de neumococo en estudio.

OBJETIVO 4.

Estudiar la influencia de la sensibilidad o resistencia a la penicilina

Justificación y Objetivos

del neumococo en la gravedad de la endocarditis. Para ello se compararan los grupos controles (no tratamiento), a través del análisis de la mortalidad y la concentración de microorganismos en la válvula (\log_{10} unidades formadores de colonias (UFC)/g de tejido) y sangre (\log_{10} UFC/ml).

OBJETIVO 5.

Si no existen diferencias en las características de la endocarditis producida por cepas de NSP, NRIP y NARP en los animales controles, se compararan los resultados obtenidos con cada uno de los antimicrobianos del estudio sobre las diferentes cepas de neumococo utilizadas.

OBJETIVO 6.

Conocer si el modelo experimental utilizado produce infección pulmonar, a través del estudio de los grupos controles. Si se produce infección en el pulmón en el 100% de los controles, se realizará la comparación de estos con los diferentes grupos terapéuticos, analizando por separado los animales infectados con cada una de las cepas de

neumococo en estudio.

OBJETIVO 7.

Estudiar la aparición de cepas resistentes a la penicilina al finalizar el tratamiento, en los animales tratados con este antimicrobiano.

IV.MATERIAL Y MÉTODOS.-

IV.A. CEPAS BACTERIANAS

En el estudio se utilizaron tres cepas de *Streptococcus pneumoniae* con diferente sensibilidad a penicilina, aisladas en muestras clínicas. La concentración mínima inhibitoria (CMI) de las tres cepas fue: CMI de 0,015 µg/mL (sensible), CMI de 0,25 µg/mL (sensibilidad intermedia a penicilina) y CMI de 2 µg/mL (resistente a penicilina).

Para la elección de las tres cepas, que fueron definitivamente objeto de estudio, se consideró en primer lugar que procedieran de muestras clínicas aisladas en pacientes con enfermedad neumocócica invasiva. Se seleccionaron inicialmente 9 cepas procedentes de aislamientos clínicos de nuestro hospital, a las cuales se les determinó la Concentración Mínima Inhibitoria a los antimicrobianos objetos de estudio mediante la técnica de macrodilución en caldo. Con estas cepas se ensayó el modelo de endocarditis infecciosa experimental, eligiendo finalmente aquellas que se consideraron más adecuadas para la ejecución del modelo, teniendo en cuenta el grado de endocarditis que producían (número de unidades formadoras de colonias en vegetaciones aórticas, ufc/g), grado de bacteriemia (ufc/mL) y mortalidad a las 24 horas de la inoculación.

Material y Metodos

Las cepas seleccionadas, se identificaron por la morfología compatible con neumococo y alfa-hemólisis, una zona de inhibición de 14 mm de diámetro o mayor alrededor del disco de 5 µg de etilhidrocupreina hidrocliclorido (Optoquina, Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, MD) tras 24 horas en 5% de CO₂ a 37°C, y solubilidad en bilis (2% de desoxicolato sódico vs. salino). Siendo serotipificadas en el Instituto Carlos III (CNMVIS, Majadahonda, Madrid). La tipificación fue realizada mediante la detección de la tumefacción capsular (reacción de Quellung) usando 46 antisueros proporcionados por el Staten Seruminstut (Copenhage, Denmark)⁹⁰.

Con este método, las cepas finalmente utilizadas fueron: a) Cepa 110.0, sensible a penicilina (CMI:0,015 mg/L) aislada en sangre, serotipo 5; b) Cepa 3.0, con resistencia intermedia a penicilina (CMI: 0,25 mg/L) aislada en sangre, serotipo 23; y c) Cepa 61.0, altamente resistente a penicilina (CMI: 2 mg/L), aislada en líquido ascítico, serotipo 23.

IV.B. ESTUDIOS *IN VITRO*

IV.B.1. Determinación de las Concentraciones Mínimas Inhibitorias y Bactericidas.

El método utilizado fue el de macrodilución en caldo.

IV.B.1.a. Medio de Cultivo

Se utilizó para el estudio caldo Todd-Hewit suplementado con un 0,5% de extracto de levadura. Para ello tras pesar las cantidades necesarias tanto de Todd-Hewit (Todd-Hewit Broth, Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, MD) como de extracto de levadura (Yeast Extract, Oxoid Unipath LTD, Basingstoke, Hampshire, England) se disolvió el polvo en agua destilada siguiendo las instrucciones que indica el fabricante del producto. Posteriormente fue esterilizado en autoclave y alicuotado en condiciones de esterilidad.

IV.B.1.b. Antibióticos

Se estudiaron los siguientes antibióticos: penicilina G (Antibióticos Farma, S.A., Madrid, España), cefotaxima (Hoechst Farma S.A., Barcelona, España), cefuroxima (Glaxo, Verona, Italia), ceftriaxona

(Roche S.A., Madrid, España), eritromicina (Abbott Laboratorios, Madrid, España), y vancomicina (Lilly S.A., Madrid, España). Suministrados por los fabricantes en forma de sustancia valorada de potencia conocida.

Las diluciones de antibióticos se hicieron siguiendo las normas de los NCCLS⁹⁶. Se prepararon soluciones madre de la siguiente forma: para los cuatro antibióticos β lactámicos se prepararon soluciones madre a una concentración de 160 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Para penicilina, cefotaxima y ceftriaxona se utilizó tanto de diluyente como de solvente agua destilada estéril. Para cefuroxima se utilizó como solvente Buffer fosfato a pH 6,0 con una concentración 0,1 molar, y como diluyente agua destilada estéril. De los otros dos antimicrobianos se prepararon soluciones madre a concentraciones de 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Para vancomicina se usó agua destilada estéril como solvente y diluyente. Para eritromicina se usó como solvente etanol al 95% y como diluyente agua. Las soluciones madre fueron alicuotadas y congeladas a -70°C para ser utilizadas posteriormente.

IV.B.1.c. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Se determinó la CMI de todos los antimicrobianos utilizados en el estudio, para las tres cepas de neumococo. Fue utilizada la técnica de macrodilución en caldo (Tood-Hewitt suplementado con 0,5% de extracto de levadura) (THY) siguiendo las normas de los NCCLS⁹⁶.

Para la realización de la técnica se emplearon tubos de vidrio de 5 mL estériles. Para cada cepa y cada antimicrobiano se dispusieron en gradillas un total de 12 tubos para los antibióticos β -lactámicos y 10 tubos para eritromicina y vancomicina, conteniendo un volumen total de caldo de 2 mL con concentraciones de antimicrobiano que iban desde 16 $\mu\text{g/mL}$ para los β -lactámicos y 4 $\mu\text{g/mL}$ para el resto, a 0,007 $\mu\text{g/mL}$. Las soluciones fueron preparadas en caldo a partir de la solución madre mediante una dilución 1/10 y posteriormente diluciones 1/2 hasta obtener la concentración más baja. A los tubos preparados de esta forma se añadió posteriormente la cepa correspondiente.

Las cepas se prepararon mediante un cultivo de 4 horas (fase de crecimiento logarítmico) en caldo THY incubado a 37°C en atmósfera con un 10% de CO₂, obteniéndose un inóculo aproximado de 10⁸ ufc/mL. El inóculo se diluyó para que en cada uno de los tubos la concentración

fuera de aproximadamente 5×10^5 ufc/mL.

Además de los tubos problema, para cada serie se añadió un control de crecimiento con inóculo bacteriano y sin antimicrobiano y un control de esterilidad sin antibiótico y sin inóculo. Como cepas control se utilizaron *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

Los tubos una vez preparados se incubaron a 37°C en atmósfera con un 10% de CO₂ durante 18-24 horas. En este momento se realizó la lectura de los mismos, definiendo como CMI la concentración más baja a la cual el caldo no presentaba turbidez.

IV.B.1.d. Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Una vez obtenida la CMI, se procedió al cálculo de la CMB. Para ello fueron sembrados en placas de agar-sangre (Agar-Sangre Columbia, Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, MD) 100 µL del último tubo que presentó crecimiento visible, así como de todos los caldos que no presentaron ninguna turbidez, estas placas se incubaron durante 18-24 horas a 37°C. Se consideró como CMB la concentración más baja de antibiótico para la cual se reducía el inóculo inicial en un 99,9%.

IV.B.2. CURVAS DE TIEMPO-MUERTE.

Se utilizó un volumen de 20 mL de caldo THY con concentraciones equivalentes a 1xCMI, 2xCMI y 4xCMI de cada uno de los antimicrobianos utilizados, y un inóculo aproximado de 5×10^5 ufc/mL de cada una de las cepas de *S. pneumoniae* en fase de crecimiento logarítmico (4 horas de incubación a 37°C en atmósfera con un 10% de CO₂). Se utilizaron como control de crecimiento tubos con 20 mL de caldo THY, con inóculo bacteriano y sin antibiótico, y como control de esterilidad un tubo con 20 mL de caldo THY sin antibiótico y sin inóculo. Al igual que para el cálculo de la CMI la concentración de antibiótico en los tubos se comprobó realizando las CMI de las cepas control *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25922. Todas las pruebas, se realizaron por duplicado, para verificar su reproducibilidad. Tanto los antibióticos como las cepas bacterianas fueron preparadas de la misma forma descrita en los apartados anteriores.

La incubación tanto de los tubos problema como de los controles tuvo lugar a una temperatura de 37°C en una atmósfera aerobia con un 10% de CO₂.

Se determinó el número de ufc/mL viables en los tubos problema

Material y Metodos

y en los controles, en el momento inicial (0 horas) y a diferentes tiempos de incubación posteriores (2, 4, 6, 8 y 24 horas). Para ello se realizaron diluciones seriadas desde 10^{-1} hasta 10^{-7} en suero fisiológico, subcultivando 50 μ L de cada dilución en placas de agar-sangre de cordero, que se incubaron en las mismas condiciones ambientales anteriormente descritas. El recuento de ufc/mL se realizó a las 24 horas de incubación.

Se consideró que un antibiótico era bactericida frente a *S. pneumoniae* cuando se obtuvo una reducción igual o superior a 3 log en el número de ufc/mL durante las 8 primeras horas de incubación respecto del inóculo inicial. No se consideró la lectura a las 24 horas de incubación, ya que puede verse influida por la propia lisis de las cepas de *S. pneumoniae*.

IV.C. ESTUDIO FARMACOCINETICO

En grupos de cinco animales sanos se estudió la farmacocinética de cada uno de los antimicrobianos. Para ello, tras una dosis única del antimicrobiano (penicilina G procaina 50.000 U/kg y 200.000 U/kg, cefuroxima 30 mg/kg y 40 mg/kg, cefotaxima 50 mg/kg, ceftriaxona 40 mg/kg, eritromicina 15 mg/kg y 30 mg/kg y vancomicina 15 mg/kg y 25 mg/kg) se extrajeron secuencialmente muestras de sangre de la vena marginal de la oreja. Todos los antimicrobianos se administraron por vía intramuscular excepto eritromicina y vancomicina que fueron administrados en infusión intravenosa en 15 mL de suero fisiológico durante 3 minutos.

Una vez colocado el animal en un cepo adecuado, que permitía la inmovilización de éste dejando fuera únicamente la cabeza, se procedió al rasurado y desinfección de la oreja. Mediante una aguja de 23G, se realizaron extracciones sanguíneas secuencialmente a los 15', 30', 60', 120', 240' y 480', con una extracción adicional a los 720' en el caso de la vancomicina, penicilina y ceftriaxona.

La sangre de esta manera extraída se centrifugó durante 10' a 3.000 revoluciones por minuto. El suero obtenido se distribuyó en dos

alícuotas y fue congelado a -70°C para su posterior estudio.

La determinación de las concentraciones plasmáticas se realizó mediante bioensayo, con el método de difusión en placa, utilizando como microorganismo indicador *Micrococcus luteus* ATCC 9341.

IV.C.1. Bioensayo.

Esta técnica consiste en determinar concentraciones de antimicrobianos, estimándolas a partir del halo de inhibición que concentraciones conocidas producen en el crecimiento en placa de una cepa control.

IV.C.1.a. Preparación de las placas

Se preparó un cultivo en medio Trypticase soy broth (Trypticase soy broth, Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, MD) incubado a 30°C durante 18-24 horas de *Micrococcus luteus* ATCC 9341.

El medio utilizado en la preparación de las placas fue agar antibiótico nº5 (Antibiotic Medium 5, Difco Laboratories, Detroit MI, USA) suplementado con 10 g/L de cloruro cálcico (CaCl_2) equilibrado a pH 7.

Una vez esterilizado y fundido este medio, se equilibró su temperatura en un baño de agua a 50°C.

Sobre placas de petri esteriles (100x45mm), se vertieron 9 mL del medio anteriormente preparado, quedando de esta forma preparadas las bases de las placas. Posteriormente del cultivo de 18 a 24 horas de la cepa control se añadieron 2 mL en un recipiente que contenía el mismo agar usado para las bases mantenido a 50°C (el cultivo contenía aproximadamente 10^7 ufc/mL). Se vertieron 4 mL del agar mas la cepa control sobre las bases preparadas y se distribuyó rápidamente por toda la placa.

Las placas así preparadas se guardaron a 4°C para su posterior utilización hasta un máximo de 7 días.

IV.C.1.b. Procedimiento general.

Se estimó la concentración de cada antibiótico en la muestras que iban a ser estudiadas en base a la dosis y al intervalo de tiempo tras la administración. Se construyeron curvas estándar de concentraciones crecientes de cada antimicrobiano, con un valor central que pudiera servir de referencia para la muestra problema.

Material y Metodos

Las concentraciones utilizadas para las curvas estándar fueron las siguientes: Para eritromicina 3, 2, 1, 0,5, 0,25, 0,125 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente siendo 1 $\mu\text{g/mL}$ la concentración de referencia (CR). Para vancomicina 50, 45, 40, 35, 30, 25 $\mu\text{g/mL}$; CR 40 $\mu\text{g/mL}$. Para cefotaxima 5, 4, 3, 2, 1, 0,5 $\mu\text{g/mL}$; CR 40 $\mu\text{g/mL}$ (desde 15' a 120') y 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1; CR 0,3 $\mu\text{g/mL}$ (desde 240' a 480'). Para penicilina 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1; CR 0,3. Para cefuroxima y ceftriaxona 1, 0,8, 0,5, 0,3, 0,1, 0,05; CR 0,5. Todas las concentraciones de las curvas estándar se realizaron 10 veces mayores, diluyendo posteriormente al 1/10 en suero de conejo estéril para que las condiciones fueran similares en todas las muestras.

Se diluyeron las muestras problema hasta una concentración que estuviera en el rango de la curva estándar y lo mas cercana posible a la concentración de referencia, utilizando suero de conejo estéril.

Con una pinza o una aguja estéril los discos de papel blanco estériles de 6.35 mm se colocaron sobre una placa de petri estéril. Se impregnaron los discos con 20 microlitros de la dilución que fue probada, y posteriormente se colocaron en la superficie de la placa preparada.

Cada placa contenía 5 discos impregnados con las muestras

Material y Metodos

correspondientes a cada uno de los 5 animales estudiados y un disco que llevaba la concentración de referencia del antimicrobiano correspondiente. Se hicieron tantas placas como antimicrobianos y tiempos estudiados. Por otro lado se realizaron placas que contenían los discos impregnados con cada una de las concentraciones de antimicrobianos correspondientes a la curva estándar. Todas las placas se hicieron por triplicado.

Finalmente tras dejar las placas a 4°C durante unos 30', para que el antibiótico difunda, se incubaron a 30°C durante 18-24 horas.

A las 24 horas se midieron los diámetros de las zonas de inhibición para cada concentración: concentración de referencia, diluciones de la muestra y curva estándar. Como cada concentración fue estudiada por triplicado, se calculó la media de los tres valores. Con las medias de los valores de la curva estándar y las concentraciones correspondientes se calculó una curva de regresión lineal. Con esta curva se estimó el halo hipotético al que correspondería el valor de la concentración de referencia (media de referencia corregida). La media de referencia corregida menos la media de referencia de la muestra es un valor positivo o negativo al que llamamos "d" y que se sumó a cada una de las medias de los halos de cada muestra. Una vez corregidas todas las muestras se multiplicaron por el factor de dilución al que se sometieron las muestras previamente

Material y Metodos

y después se llevaron estos datos a la curva estándar para calcular los valores de concentración de las muestras.

Se determinó la concentración máxima (C_{max} : $\mu\text{g}/\text{mL}$), el area bajo la curva concentración-tiempo (AUC: $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$), la semivida biológica ($t_{1/2}$:h) y el tiempo en que la concentración plasmática permanece por encima de los valores de la CMI ($\Delta T/\text{CMI}$:h), que se estimó por extrapolación desde la línea de regresión de la eliminación sérica¹³⁷.

IV.D. MODELO DE ENDOCARDITIS INFECCIOSA EXPERIMENTAL

IV.D.1. Sujetos del estudio

Se utilizaron 340 conejos New Zealand blancos, entre 2 Kg y 3 Kg de peso, de los cuales 295 fueron distribuidos en los diferentes grupos que se especifican, y el resto fueron usados para caracterización del modelo, así como para la elección de las cepas del estudio.

IV.D.2. Grupos de Tratamiento

IV.D.2.a. Grupo de animales infectados con la cepa sensible a penicilina (S).

Se inocularon un total de 77 animales con la cepa S. Se excluyeron los animales que fallecieron en el acto operatorio ó antes de la inoculación, así como aquellos que murieron antes del inicio del tratamiento. Como consecuencia los grupos de análisis estuvieron constituidos por: grupo control sin tratamiento (N=14), penicilina G procaina (N=10), cefuroxima (N=10), cefotaxima (N=8), ceftriaxona (N=13), eritromicina (N=10) y vancomicina (N=10).

IV.D.2.b. Grupo de animales infectados con la cepa Intermedia a penicilina (RI).

Se inocularon un total de 120 animales con la cepa RI. Se excluyeron, al igual que antes, los animales que fallecieron en el acto operatorio ó antes de la inoculación, así como aquellos que murieron antes del inicio del tratamiento. Como consecuencia los grupos de análisis estuvieron constituidos por: grupo control sin tratamiento (N=17), penicilina G procaina (N=11), cefuroxima (N=14), cefotaxima (N=13), ceftriaxona (N=11), eritromicina (N=9) y vancomicina (N=10).

IV.D.2.c. Grupo de animales infectados con la cepa Resistente a penicilina (R).

Se inocularon un total de 98 animales con la cepa R. Se excluyeron, al igual que antes, los animales que fallecieron en el acto operatorio ó antes de la inoculación, así como aquellos que murieron antes del inicio del tratamiento. Como consecuencia los grupos de análisis estuvieron constituidos por: grupo control sin tratamiento (N=13), penicilina G procaina (N=12), cefuroxima (N=9), cefotaxima (N=12), ceftriaxona (N=12), eritromicina (N=16) y vancomicina (N=10).

IV.D.3. Producción de la endocarditis

En los animales del estudio se produjo una endocarditis aórtica experimental mediante el método de Perlman y Freedman (1971)¹¹⁵ modificado por Durack y Beeson (1972)¹¹⁶.

IV.D.3.a. Anestesia.

Se usó ketamina (30 mg/Kg) más xilazina (4 mg/Kg) intramuscular (IM). Se preparó una mezcla con 2,5 mL de xilazina al 2% en un frasco de 10 mL de ketamina (50 mg). De esta mezcla se le inyectaron a cada conejo 5 mL IM, en la musculatura de la pata posterior, a nivel del fémur.

IV.D.3.b. Preparación del campo quirúrgico.

Se rasuró la región anterior del cuello, esterilizándola con povidona yodada al 10% (Betadine).

IV.D.3.c. Colocación del Catéter.

En primer lugar se procedió a la disección de la arteria carótida

derecha. Mediante incisión media de la piel de la cara anterior del cuello, se realizó la disección y apertura de planos musculares y consiguiente liberación de la arteria carótida derecha entre los haces oblicuo y anterior del musculo similar al esternocleidomastoideo.

Tras clampar la arteria proximalmente y ligar con seda del número 3.0 el extremo distal del segmento diseccionado, se realizó un corte lo más oblicuo posible para así evitar cortarla completamente. A través del orificio realizado se introdujo un catéter de polietileno estéril (PE90, D.I. 0,86mm y D.E. 1,27mm; Intramedic; Clay Adams, Sparks, MD 21152 E.E.U.U.), el cual estaba conectado, mediante llave de tres pasos, por un lado a una jeringa con suero fisiológico estéril y por otro a un sistema de medición de presión. El catéter se llenó de suero salino estéril antes de introducirlo en la carótida.

Tras introducir el catéter se lavó con suero salino para comprobar que estaba permeable y dentro de la luz de la arteria. En este momento en el monitor de presión aparecía una onda de presión arterial.

Seguidamente se fue avanzando en la introducción del catéter hasta encontrarnos con un tope, lo cual indicaba que estábamos en la válvula auriculo-ventricular. Entonces se realizaba un movimiento de

émbolo del catéter suavemente con una oscilación de 1-2 cm, de modo que cuando atraviesa la válvula y entra en ventrículo hay un cambio en la amplitud de la onda que aparecía en el monitor de presión. A continuación se comprobó que el catéter estaba libre en la cavidad ventricular, sacándolo y metiéndolo varias veces a través de movimientos en bloque con la carótida, de modo que el catéter no salga del ventrículo; este paso es importante para no dejar tenso el catéter, teniendo en cuenta los movimientos de cuello que el conejo haría posteriormente.

Cuando estaba definitivamente colocado, se clampó la carótida proximalmente encima del catéter, para que este no se moviera. Posteriormente se ligó la carótida encima del catéter en dos puntos diferentes, uno cerca del punto de introducción y otro mas distalmente. Después se clampó la carótida junto con el catéter a la entrada de este, cortando posteriormente el catéter unos 4 a 6 cm por encima del punto de introducción y anudando el extremo que sobresale dos veces cerca del punto de introducción en la carótida.

Una vez desclampada la carótida se comprobó que no sangraba y el extremo distal del catéter se cubrió con los planos musculares. Por último, se suturó la herida cutánea con sutura mecánica y puntos de seda entre ellas.

IV.D.4 Instauración de la infección

A las 24 horas de la colocación del catéter, mediante inyección en la vena marginal de la oreja se inyecta 1 mL del inóculo bacteriano elegido en concentración de 10^7 - 10^8 ufc/mL (cepa S, cepa RI ó cepa R).

Para preparar el inóculo bacteriano el día anterior se sembraron en placas de agar-sangre varias colonias de la cepa elegida en cada ocasión, siendo incubadas a 37°C en atmósfera con un 10% de CO_2 durante 24 horas. El día de la inoculación se suspendían varias colonias del cultivo del día anterior en caldo de cultivo THY y este caldo así preparado se dejaba en estufa de CO_2 a 37°C durante 4 horas (fase de crecimiento logarítmico). Posteriormente se realizaba una dilución al décimo de este cultivo para conseguir la concentración deseada.

Para conocer exactamente el tamaño del inóculo empleado, del cultivo preparado se hicieron diluciones seriadas de 1/10 en 1/10 hasta 10^{-4} y de cada una de estas diluciones se sembraron 100 μL en placas de agar-sangre que se incubaron en atmósfera de CO_2 de 18 a 24 horas a 37°C para cálculo del tamaño del inóculo.

A las 24 horas de la inoculación se tomaron hemocultivos a través

de las venas marginales de las orejas para asegurarnos de la existencia de bacteriemia. Se realizaron diluciones seriadas de los hemocultivos hasta 10^{-3} y se sembraron 100 μ L de cada dilución en placas de agar-sangre para contaje.

IV.D.5. Tratamiento.

En cada uno de los tres grupos infectados con cada una de las cepas, se adscribieron secuencialmente como se describió al comienzo a uno de los siguientes 7 grupos de tratamiento: a) no tratamiento durante tres días, b) penicilina G procaina, 50000 U/Kg/12h/im tanto para el grupo infectado por la cepa S como para el grupo infectado con la cepa RI, y 200000 U/Kg/12h/im para el grupo infectado con la cepa R, c) cefuroxima, 30 mg/Kg/8h/im para el grupo infectado por la cepa S y 40 mg/Kg/8h/im para los grupos infectados por las cepas RI y R, d) cefotaxima 50 mg/Kg/8h/im, e) ceftriaxona, 40 mg/Kg/12h/im, f) eritromicina, 15mg/Kg/12h/iv para el grupo infectado por la cepa S y 30 mg/Kg/12h/iv para los grupos infectados por las cepas RI y R, g) vancomicina, 15 mg/Kg/12h/iv para el grupo infectado por la cepa S y 25 mg/Kg/12h/iv, para los grupos infectados por las cepas RI y R.

El tratamiento se comenzó a las 24 horas de la inyección del

inóculo. La duración del tratamiento fue de 3 días para todos los grupos terapéuticos.

IV.D.6. Análisis del efecto del tratamiento.

Tras un intervalo entre 12 horas y 18 horas de la última dosis del antimicrobiano, los animales fueron sacrificados mediante una inyección intravenosa de tiobarbital sódico. Inmediatamente se procedió a la extracción del corazón removiendo la válvula aórtica y las vegetaciones valvulares, así como una muestra del pulmón derecho. Los tejidos extraídos se pesaron y se colocaron en bolsas estériles para homogeneizar. En cada bolsa se ponía la muestra junto con 2 mL de suero fisiológico, las bolsas se colocaban en un homogeneizador de tejidos (Stomacher Lab-Blender 80, Tekmar Company, Cincinnati, Ohio, E.E.U.U.) durante 2 ó 3 minutos. Tras pesar y homogeneizar los tejidos extraídos, se realizaron diluciones decimales en suero salino estéril desde 10^{-1} a 10^{-8} , y se cultivaron 100 μ L de cada dilución en placas de agar-sangre, que se incubaron de la misma forma que se ha venido describiendo sucesivas veces. A las 24 horas se contó el número de colonias, que se refirieron como el log ufc/gramo* de vegetación o de tejido pulmonar. En los casos en que los cultivos fueron estériles se estudió todo el material valvular y si este cultivo fue estéril también se le

Material y Metodos

asignó el valor del log correspondiente al nivel de sensibilidad del método (1 ufc en el residuo)#.

N/vol. sembrado X 1/dilución contada X (vol. en bolsa+peso)

$$*ufc/g = \frac{\text{-----}}{\text{peso}}$$

N

$$\#ufc/g = \frac{\text{-----}}{\text{peso del tejido}}$$

Previamente al sacrificio se extrajeron hemocultivos a través de las venas marginales de las orejas. Se realizaron diluciones seriadas de los hemocultivos hasta 10^{-3} y se sembraron 100 μ L de cada dilución en placas de agar-sangre para contaje; refiriendose a log ufc/mL*.

*ufc/mL = N/vol. sembrado X 1/dilución contada

IV.E. VARIABLES DE ANÁLISIS.

Se estudiaron las siguientes variables:

Log ufc por gramo de vegetación y numero de válvulas estériles.

Log ufc por gramo de tejido pulmonar y numero de tejidos estériles.

Supervivencia de los diferentes grupos de animales durante el estudio.

Actividad bactericida de cada uno de los antimicrobianos frente a las cepas en estudio (CMB y curvas de letalidad).

C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$), AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$), $t_{1/2}$ (h), $\Delta T/\text{CMI}$ (h), C_{max}/CMI y AUC/CMI de cada uno de los antimicrobianos del estudio.

IV.F. MÉTODOS ESTADÍSTICOS.

Las medias entre los diferentes grupos de tratamiento se compararon mediante el análisis de la varianza (ANOVA) y las pruebas post-hoc de Dunnett y Tukey.

La frecuencia de tejidos estériles y la supervivencia se analizaron mediante el test exacto de Fisher.

La correlación de los datos farmacocinéticos/farmacodinámicos con los resultados del estudio in vivo se analizaron mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

Un valor de $p < 0,05$ fue considerado significativo.

Los paquetes estadísticos utilizados fueron: SPSS versión 8.0 para Windows y Epi-Info versión 6.04a.

V.RESULTADOS.-

V.A. CONCENTRACIONES MÍNIMAS INHIBITORIAS Y BACTERICIDAS DE LOS SEIS ANTIMICROBIANOS FRENTE A LAS CEPAS DE *S. PNEUMONIAE* ESTUDIADAS.

En la Tabla 1 se muestran las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) y bactericidas (CMB) de los diferentes antimicrobianos frente a las tres cepas del estudio.

Siguiendo los criterios de los NCCLS de 1997⁹⁶, la cepa sensible a penicilina (S, CMI:0,015µg/mL), lo fue también al resto de antimicrobianos, cefotaxima, cefuroxima, ceftriaxona, eritromicina y vancomicina.

La cepa con resistencia intermedia a penicilina (RI, CMI:0,25µg/mL) fue resistente a cefuroxima, mientras que fue susceptible al resto de antimicrobianos, cefotaxima, ceftriaxona, eritromicina y vancomicina.

La cepa resistente a penicilina (R, CMI:2µg/mL) mostró resistencia intermedia a cefotaxima y ceftriaxona, siendo susceptible a cefuroxima, eritromicina y vancomicina.

Resultados

En cuanto a la CMB (tabla 1), para la cepa S todos los antimicrobianos tienen una CMB de una o dos diluciones superiores a la CMI, salvo para vancomicina cuya CMB es cuatro diluciones superior a la CMI. Aun así esta cepa no presentó tolerancia pues la CMB fue solo diez veces superior a la CMI.

Para la cepa con RI, cefotaxima y cefuroxima presentaron una CMB de una dilución superior a la CMI, para el resto de antimicrobianos la CMB fue igual a la CMI.

Para la cepa R todos los antimicrobianos presentaron una CMB de una dilución superior a la CMI, salvo para vancomicina en que CMB y CMI fueron iguales.

V.B. ACTIVIDAD BACTERICIDA DE LOS SEIS ANTIMICROBIANOS FRENTE A LAS TRES CEPAS DE *S. PNEUMONIAE* MEDIANTE CURVAS DE TIEMPO-MUERTE.

En las tablas 2 a 7, se muestra la disminución de log de ufc/mL de cada una de las cepas tras 8 horas de incubación, frente a concentraciones equivalentes a 1, 2 y 4 veces la CMI para cada uno de los antimicrobianos.

V.B.1. PENICILINA (Tabla 2)

Para la cepa S con penicilina no existió actividad bactericida a concentraciones de 1xCMI y de 2xCMI; con 4xCMI, la actividad bactericida comenzó a las 8 h. (Figura 1).

Para la cepa RI con Penicilina la actividad bactericida comenzó con concentraciones de 4xCMI desde las 4 h. Con concentraciones de 1xCMI y 2xCMI no existió actividad bactericida antes de 8 horas (Figura 2).

Para la cepa R, la actividad bactericida de penicilina comenzó a las 8 h con concentraciones 2xCMI, y a las 6 h con concentraciones de 4xCMI. Con una concentración de 1xCMI no existió con penicilina actividad bactericida antes de las 8 primeras horas de incubación (Figura 3).

V.B.2. CEFUROXIMA (Tabla 3)

Para la cepa S, con este antimicrobiano no existió actividad bactericida frente a esta cepa durante las primeras 8 horas a ninguna de las concentraciones estudiadas. La máxima reducción

que se obtuvo fue con 4xCMI de 2,23 log ufc/mL (Figura 4).

Para la cepa RI, Cefuroxima se mostró bactericida desde las 6 h con 4xCMI. No mostrando actividad bactericida a las otras dos concentraciones antes de las 8 primeras horas de incubación, aunque con 2xCMI se obtuvo una reducción de casi 3 logaritmos (2,8) desde las 6 horas (Figura 5).

Para la cepa R, durante las 8 primeras horas este antimicrobiano no alcanzó actividad bactericida para esta cepa (Figura 6).

V.B.3. CEFOTAXIMA (Tabla 4)

Para la cepa S, con cefotaxima no se obtuvo actividad bactericida a ninguna de las concentraciones utilizadas, aunque con concentraciones de 2 y 4 veces la CMI la reducción llegó a superar los 2 log ufc/mL (Figura 7).

Para la cepa RI, Cefotaxima fue bactericida a las 8 h con todas las concentraciones, y desde las 6 h con 2xCMI y 4xCMI (Figura 8).

Para la cepa R, al igual que ocurrió con la cepa S, no se obtuvo actividad bactericida a ninguna de las concentraciones utilizadas, aunque con concentraciones de 2 y 4 CMI se redujo el inóculo inicial en más de 2 log ufc/mL (Figura 9).

V.B.4. CEFTRIAXONA (Tabla 5)

Para ninguna de las cepas estudiadas se obtuvo actividad bactericida a ninguna de las concentraciones antes de las 8 primeras horas. No obstante para las cepas S y R con concentraciones de 2xCMI y 4xCMI se reduce el inóculo inicial en más de 2 logaritmos (Figuras 10, 11 y 12).

V.B.5. ERITROMICINA (Tabla 6)

Para la cepa S, antes de las 8 primeras horas no se obtuvo actividad bactericida con ninguna de las concentraciones estudiadas (Figura 13).

Para la cepa RI, eritromicina fue bactericida desde las 8 h con 2xCMI y 4xCMI (Figura 14).

Para la cepa R, tampoco hubo actividad bactericida a ninguna de las concentraciones, al igual que ocurrió con la cepa S. También con esta, a concentraciones de 2 y 4 veces la CMI la reducción de log ufc/mL es superior a 2 (Figura 15).

V.B.6. VANCOMICINA (Tabla 7)

Para la cepa S, vancomicina fue el más activo, siendo bactericida a las 8 horas de incubación con todas las concentraciones utilizadas (Figura 16).

Para la cepa RI, también fue vancomicina el más bactericida, siendolo desde las 2 horas con todas las concentraciones utilizadas (Figura 17).

Para la cepa R, al igual que ocurría con las otras dos cepas, vancomicina fue el más activo, siendo bactericida desde las 4 horas con todas las concentraciones utilizadas (Figura 18).

V.C. FARMACOCINÉTICA.

Las tasas plasmáticas que se obtuvieron en los cinco animales estudiados para cada uno de los antimicrobianos del estudio a las dosis inicialmente establecidas quedan expresadas en las tablas 8 a la 14.

V.C.1. PENICILINA

Para penicilina, se realizó el estudio farmacocinético con dos dosis, 50.000 y 200.000 U/kg. Las concentraciones pico (C_{max}) se obtuvieron a los 60' para ambas dosis ($4,16 \pm 1,58 \mu\text{g/mL}$ y $26 \pm 7,17 \mu\text{g/mL}$, respectivamente) (Tablas 8 y 9).

Los parámetros farmacocinéticos/farmacodinámicos obtenidos, aparecen en las tablas 18, 19 y 20. El area bajo la curva concentración-tiempo (AUC) es de 10,4 y 137,4 $\mu\text{g.h/mL}$ respectivamente para cada una de las dosis de penicilina utilizadas. La vida media ($t_{1/2}$) fue de 3,08 y 5,6 horas, respectivamente. El tiempo en que las concentraciones plasmáticas permanecen por encima de la CMI ($\Delta T/CMI$) fue de 10,63 y 10,40 horas para la cepa S, 9,73 y 14,25 horas para la cepa RI y de 6,87 y 13,78 horas para

la cepa R, respectivamente.

V.C.2. CEFUROXIMA

Para cefuroxima, a una dosis de 30 mg/kg la C_{max} se obtuvo en todos los animales estudiados a los 15', con una media de $75.75 \pm 6.01 \mu\text{g/mL}$ (Tabla 10). El AUC y la $t_{1/2}$ fueron de 141,91 $\mu\text{g.h/mL}$ y de 1,44 h, respectivamente (Tabla 18). El tiempo en que las concentraciones plasmáticas permanecieron por encima de la CMI fue de 4,54, 4,42 y 4,51 horas para las cepas S, RI y R, respectivamente (Tabla 19). A una dosis de 40 mg/kg, la C_{max} se obtuvo en todos los animales estudiados a los 15', con una media de $83,61 \pm 9,2 \mu\text{g/mL}$ (Tabla 11). El AUC y la $t_{1/2}$ fueron de 150,002 $\mu\text{g.h/mL}$ y de 2,4 h, respectivamente (Tabla 18). El tiempo en que las concentraciones plasmáticas permanecieron por encima de la CMI fue de 7,35, 7,12 y 7,30 horas para las cepas S, RI y R, respectivamente (Tabla 19).

V.C.3 CEFOTAXIMA

En la Tabla 12 se exponen las tasas plasmáticas obtenidas con una dosis única de 50 mg/kg de cefotaxima. La C_{max} se obtuvo

a los 30', con una media de $42,77 \pm 17,7$ $\mu\text{g/mL}$. Destacar que fue el antimicrobiano de los utilizados que menor $t_{1/2}$ tuvo (1,1 horas), el AUC fue de $55,6$ $\mu\text{g.h/mL}$, el $\Delta\text{T/CMI}$ fue de 6,5, 6,44 y 6,32 horas para las cepas S, RI y R, respectivamente (Tablas 18 y 19).

V.C.4. CEFTRIAXONA

A los 60' de instaurar una dosis de 40 mg/kg de ceftriaxona, en todos los animales estudiados se alcanzó la concentración pico, con una media de $97,18 \pm 6,32$ $\mu\text{g/mL}$ (Tabla 13). La $t_{1/2}$ fue de 3,8 horas. El $\Delta\text{T/CMI}$ fue de 13,17 horas para la cepa S, 13,25 horas para la cepa RI y de 13,14 horas para la cepa R. El AUC fue de $630,84$ $\mu\text{g.h/mL}$ (Tablas 18 y 19).

V.C.5. ERITROMICINA

En la Tabla 14, se expresan las tasas plasmáticas obtenidas con una dosis de 15 mg/kg de eritromicina. La C_{max} se obtuvo a los 60' con una media de $4,09 \pm 0,08$ $\mu\text{g/mL}$. El AUC fue $6,52$ $\mu\text{g.h/mL}$, la $t_{1/2}$ fue de 0,82 horas (Tabla 18). El $\Delta\text{T/CMI}$ fue de 4,56 horas para las cepas S y R, y de 4,52 para la cepa RI. En la tabla 15 podemos ver las tasas plasmáticas de eritromicina, tras una dosis de 30

mg/kg. La Cmax se obtuvo a los 60' al igual que con la dosis inferior, con una media de $24,8 \pm 2,84$ $\mu\text{g/mL}$. El AUC fue $23,67$ $\mu\text{g.h/mL}$, la $t_{1/2}$ fue de 0,68 horas (Tabla 18). El $\Delta\text{T/CMI}$ fue de 5,2 horas para las cepas S y R, y de 5,19 horas para la cepa RI (Tabla 19)

V.C.6. VANCOMICINA

En la Tabla 16 se exponen las tasas plasmáticas obtenidas con una dosis única de 15 mg/kg de vancomicina. La Cmax se obtuvo a los 15', con una media de $50,15 \pm 7,71$ $\mu\text{g/mL}$. Destacar que fue uno de los antimicrobianos con menor $t_{1/2}$ tuvo (1,7 horas), el AUC fue de $93,00$ $\mu\text{g.h/mL}$ y el $\Delta\text{T/CMI}$ fue de 4,90 horas para la cepa S y 4,85 h para las otras dos cepas (Tablas 18 y 19). Los datos que se obtuvieron a una dosis de 25 mg/Kg aparecen en la tabla 17, destacando que la vida media fue igual para las dos dosis empleadas, 1,7 horas. La Cmax se obtuvo a los 30', con una media de $80,58 \pm 8,34$ $\mu\text{g/mL}$, el AUC fue de $127,86$ $\mu\text{g.h/mL}$ y el $\Delta\text{T/CMI}$ fue de 4,61 horas para la cepa S y 4,58 h para las otras dos cepas (Tablas 18 y 19).

**V.C.7. RESUMEN DE LOS RESULTADOS
FARMACOCINÉTICOS/FARMACODINÁMICOS.**

En la Tabla 18 se representan los parámetros farmacocinéticos obtenidos tras una única dosis de cada uno de los antimicrobianos del estudio en conejos New Zealand de 2 a 3 kg de peso.

En la Tabla 19 se expresa el tiempo en que la concentración plasmática de cada antimicrobiano permanece por encima de los valores de la CMI para cada una de las cepas de *S. pneumoniae*.

En la Tabla 20 se expresa el cociente entre la concentración máxima obtenida con cada uno de los antimicrobianos estudiados y la concentración mínima inhibitoria para cada una de las cepas estudiadas (C_{max}/CMI), así como el cociente entre el area bajo la curva de cada uno de los antimicrobianos estudiados y la concentración mínima inhibitoria para cada una de las cepas (AUC/CMI).

V.C.8. AJUSTE DE DOSIS EN EL MODELO IN VIVO

Los datos anteriores se utilizaron para modificar algunas de las pautas de tratamiento en los estudios *in vivo*, para adaptarlos lo más cercanamente a la farmacocinética humana. Las dosis iniciales estimadas se calcularon de acuerdo con las dosis usadas habitualmente en humanos. Solo se modificaron en el caso de existir diferencias con la farmacocinética humana o bien diferencias entre las cepas estudiadas.

PENICILINA

La dosis inicial estimada de penicilina fue de 50.000 U/Kg. Para adaptar las dosis a la CMI de las cepas del estudio se tuvieron en cuenta dos parámetros, $\Delta T/CMI$ y C_{max}/CMI . Para la cepa R el $\Delta T/CMI$ fue menor que para las otras dos cepas (6,87 h frente a 10,63 y 9,73 h para las cepas S y RI, respectivamente). Con una dosis de 200.000 U/Kg, este parámetro se incrementó a 13,78 h, por lo que se decidió administrar esta dosis a los animales infectados por esta cepa. En cuanto a la cepa RI se utilizó en el tratamiento una dosis de 50.000 U/Kg que permite que el C_{max}/CMI (16,4) fuera similar al C_{max}/CMI de la dosis de 200.000U/Kg de penicilina para

la cepa R (13) (Tabla 20).

CEFUROXIMA

La dosis inicial estimada de 40 mg/Kg, se redujo a 30 mg/Kg para la cepa S, ya que la concentración pico es superior a la que se obtiene en humanos y el C_{max}/CMI era muy elevado (2786,6) respecto a las otras dos cepas (Tablas 18 ,19 y 20). Se mantuvo la misma dosis (40 mg/Kg) para las otras dos cepas. Por otra parte, al ser similares los $\Delta T/CMI$ para las tres cepas con dos dosis, se podría comprobar si la eficacia del tratamiento era dosis dependiente.

CEFOTAXIMA Y CEFTRIAXONA

No fue necesario realizar cambios en las dosis iniciales estimadas de 50 y 40 mg/Kg, respectivamente, con $\Delta T/CMI$ similares para las tres cepas con estos dos antimicrobianos.

ERITROMICINA

Para la cepa S, con eritromicina se disminuyó la dosis de 30 mg/Kg a 15 mg/Kg, ya que al existir muy poca diferencia en el tiempo

en que las concentraciones plasmáticas permanecen por encima de la CMI entre ambas dosis (5,12 h, vs. 4,56 h.), decidimos comprobar si con una dosis inferior se obtenía la misma eficacia que con la dosis superior (Tabla 19). Con las otras dos cepas se continuó con la dosis inicial.

VANCOMICINA

Para la cepa S se disminuyó la dosis de vancomicina de 25 mg/Kg a 15 mg/Kg porque la concentración pico fue superior a la que se obtiene en humanos, y el parámetro C_{max}/CMI fue 10 veces superior para esta cepa (Tabla 20). Los animales infectados con las otras dos cepas (RI y R) se trataron con la dosis inicial de 25 mg/Kg. Con ambas dosis, el $\Delta T/CMI$ fue similar para las tres cepas.

V.D. TRATAMIENTO *IN VIVO* DE LA ENDOCARDITIS NEUMOCÓCICA Y DE LA INFECCIÓN PULMONAR AGUDA EXPERIMENTALES EN CONEJOS NEW ZEALAND, CON DIFERENTES ANTIMICROBIANOS FRENTE A UN GRUPO CONTROL SIN TRATAMIENTO.

V.D.1. GRUPO DE ANIMALES INFECTADOS CON LA CEPA S A PENICILINA.

Se inocularon un total de 77 animales con la cepa S, que fueron asignados a los diferentes grupos terapéuticos. De estos 77 animales solo se contabilizaron 74, ya que el resto fallecieron antes del inicio del tratamiento. Los grupos definitivos fueron: grupo control sin tratamiento (N=14), penicilina G procaina (N=10), cefuroxima (N=10), cefotaxima (N=8), ceftriaxona (N=13), eritromicina (N=10) y vancomicina (N=10).

CEPA S, GRUPO CONTROL (Tabla 21)

En el grupo de animales inoculados con la cepa S y sin tratamiento, todos los animales fueron bacteriémicos a las 24 horas de la inoculación, con una media del log de ufc/mL de $3,76 \pm 0,51$, el

Resultados

de menor logaritmo fue de 3,00 y el de mayor logaritmo fue de 4,57. Todos los animales de este grupo fueron también bacteriémicos antes del sacrificio, con una media de $4,13 \pm 0,48$. En cuanto a las vegetaciones, todos los animales del grupo presentaron endocarditis, con una media de $8,52 \pm 1,3$ log de ufc/g de tejido; un solo animal presentó un log de ufc/g menor de 7 (4,23). Se pudo comprobar que todos los animales presentaron neumonía con una media de $2,65 \pm 0,49$ log ufc/g. Comentar también que no hubo ningún exitus entre las primeras 24 horas tras la inoculación (momento en que teóricamente se comienza el tratamiento) y el momento del sacrificio.

CEPA S, GRUPO TRATADO CON PENICILINA G PROCAINA (Tabla 22)

Todos los animales fueron bacteriémicos a las 24 horas de la inoculación, con una media de $3,72 \pm 0,65$ log ufc/ml; los hemocultivos presacrificio fueron todos estériles, así como los cultivos de las vegetaciones y de los pulmones; no existió ningún exitus mientras duró el tratamiento.

CEPA S, GRUPO TRATADO CON CEFUROXIMA (Tabla 23)

Todos los animales asignados a este grupo tuvieron

Resultados

hemocultivos positivos a las 24 horas de la inoculación ($3,42 \pm 0,33$ log ufc/mL). Tanto los hemocultivos presacrificio, como el cultivo de vegetaciones y pulmones fueron esteriles en el 100% de los animales estudiados, no existiendo ningún exitus una vez comenzado el tratamiento.

CEPA S, GRUPO TRATADO CON CEFOTAXIMA (Tabla 24)

Todos los animales fueron bacteriemicos a las 24 horas de la inoculación ($3,45 \pm 0,80$ log ufc/mL); los hemocultivos presacrificio fueron todos esteriles, así como los cultivos de las vegetaciones y de los pulmones, no existiendo ningún exitus mientras duró el tratamiento.

CEPA S, GRUPO TRATADO CON CEFTRIAXONA (Tabla 25)

Todos los animales asignados a este grupo tuvieron hemocultivos positivos a las 24 horas de la inoculación ($X \pm DS = 3,18 \pm 0,83$), tanto los hemocultivos presacrificio, como el cultivo de vegetaciones y pulmones fueron esteriles en el 100% de los animales estudiados. Una vez comenzado el tratamiento hubo un exitus (13,6%).

CEPA S, GRUPO TRATADO CON ERITROMICINA (Tabla 26)

Todos los animales asignados al grupo de tratamiento con eritromicina fueron bacteriémicos a las 24 horas de la inoculación ($3,23 \pm 0,71$ log ufc/mL), tanto los hemocultivos presacrificio, como el cultivo de vegetaciones y pulmones fueron esteriles en el 100% de los animales estudiados. Una vez comenzado el tratamiento no hubo ningun exitus.

CEPA S, GRUPO TRATADO CON VANCOMICINA (Tabla 27)

Todos los animales asignados a este grupo tuvieron hemocultivos positivos a las 24 horas de la inoculación ($3,47 \pm 0,65$ log ufc/mL). Tanto los hemocultivos presacrificio, como el cultivo de pulmones fueron esteriles en el 100% de los animales estudiados. En cuanto al cultivo de las vegetaciones aórticas, fueron esteriles todas menos una que presentó un logaritmo de 3,50 ufc/g. No obstante tanto el hemocultivo previo al sacrificio, como el cultivo de los pulmones de este animal fueron esteriles. Una vez comenzado el tratamiento, no existió ningún exitus.

V.D.2. GRUPO DE ANIMALES INFECTADOS CON LA CEPA RI A PENICILINA.

Se inocularon un total de 120 animales con la cepa RI, de los cuales se contabilizaron 85 y al igual que en el grupo anterior el resto falleció antes del inicio del tratamiento. Los animales se asignaron a los mismos grupos terapéuticos anteriores. Grupo control sin tratamiento (N=17), penicilina G procaina (N=11), cefuroxima (N=14), cefotaxima (N=13), ceftriaxona (N=11), eritromicina (N=9) y vancomicina (N=10).

CEPA RI, GRUPO CONTROL (Tabla 28)

En el grupo de animales inoculados con la cepa RI y sin tratamiento, todos los animales fueron bacteriémicos a las 24 horas de la inoculación, con una media del log de ufc/mL de $4,81 \pm 1,15$, el de menor logaritmo fue de 2,60 y el de mayor logaritmo fue de 6,71. Todos los animales de este grupo fueron sacrificados antes de las 48 horas desde la inoculación dada la alta mortalidad que presentaron los animales inoculados con esta cepa. En cuanto a las vegetaciones, todos los animales supervivientes del grupo presentaron endocarditis, con una media de $8,07 \pm 1,74$ log de ufc/g

de tejido. Se pudo comprobar que todos los animales presentaron neumonía con una media de $4,13 \pm 1,85$ log ufc/g. Comentar también que hubo un 23,5% de exitus entre las primeras 24 horas posteriores a la inoculación y el momento del sacrificio.

CEPA RI, GRUPO TRATADO CON PENICILINA G PROCAINA (Tabla 29)

Todos los animales fueron bacteriémicos a las 24 horas de la inoculación, con una media de $3,77 \pm 1,15$ log ufc/mL; los hemocultivos presacrificio fueron todos estériles. Los cultivos de las vegetaciones fueron todos estériles excepto uno (4,73). En cuanto a los cultivos de los pulmones hubo dos positivos; no existió ningún exitus mientras duró el tratamiento.

CEPA RI, GRUPO TRATADO CON CEFUROXIMA (Tabla 30)

Todos los animales asignados a este grupo tuvieron hemocultivos positivos a las 24 horas de la inoculación ($4,99 \pm 1,07$ log ufc/mL). Tanto los hemocultivos presacrificio, como el cultivo de vegetaciones y pulmones fueron estériles en el 100% de los animales estudiados, existiendo un solo exitus una vez comenzado

el tratamiento (7,1%).

CEPA RI, GRUPO TRATADO CON CEFOTAXIMA (Tabla 31)

Todos los animales fueron bacteriémicos a las 24 horas de la inoculación ($4,45 \pm 0,82$ log ufc/mL); los hemocultivos presacrificio fueron todos estériles. Los cultivos de los pulmones fueron todos estériles. En cuanto a los cultivos de las vegetaciones hubo un 81,8% de estériles, existiendo dos exitus mientras duró el tratamiento (15,3%)

CEPA RI, GRUPO TRATADO CON CEFTRIAXONA (Tabla 32)

Todos los animales asignados a este grupo tuvieron hemocultivos positivos a las 24 horas de la inoculación ($4,04 \pm 0,63$ log ufc/mL). Tanto los hemocultivos presacrificio, como el cultivo de vegetaciones y pulmones fueron estériles en el 100% de los animales estudiados. Una vez comenzado el tratamiento no hubo ningún exitus.

CEPA RI, GRUPO TRATADO CON ERITROMICINA (Tabla 33)

Todos los animales asignados al grupo de tratamiento con eritromicina fueron bacteriémicos a las 24 horas de la inoculación ($4,50 \pm 0,52$ log ufc/mL). Existió un hemocultivo presacrificio positivo ($1,69$ ufc/mL). Los cultivos de vegetaciones y pulmones fueron esteriles en el 100% de los animales supervivientes. Una vez comenzado el tratamiento hubo un 44,4% de exitus.

CEPA RI, GRUPO TRATADO CON VANCOMICINA (Tabla 34)

Todos los animales asignados a este grupo tuvieron hemocultivos positivos a las 24 horas de la inoculación ($4,24 \pm 0,28$ log ufc/mL). Tanto los hemocultivos presacrificio, como el cultivo de pulmones fueron esteriles en el 100% de los animales estudiados. En cuanto al cultivo de las vegetaciones aórticas, también fueron esteriles todas. Una vez comenzado el tratamiento, solo existió un exitus (10%).

V.D.3. GRUPO DE ANIMALES INFECTADOS CON LA CEPA R A PENICILINA.

Se inocularon un total de 98 animales con la cepa R, que se agruparon de la misma forma que los inoculados con las otras dos cepas. De estos 98 animales solo se contabilizaron 84, por ser los que pudieron iniciar tratamiento. Grupo control sin tratamiento (N=13), penicilina G procaina (N=12), cefuroxima (N=9), cefotaxima (N=12), ceftriaxona (N=12), eritromicina (N=16) y vancomicina (N=10).

CEPA R, GRUPO CONTROL (Tabla 35)

En el grupo de animales inoculados con la cepa R y sin tratamiento, todos los animales a los que se les pudo tomar hemocultivos a las 24 horas fueron bacteriémicos, con una media del log de ufc/mL de $3,26 \pm 0,42$, el de menor logaritmo fue de 2,60 y el de mayor logaritmo fue de 3,8. En cuanto a las vegetaciones, todos los animales del grupo presentaron endocarditis, con una media de $8,93 \pm 0,37$ log de ufc/g de tejido. Se pudo comprobar que todos los animales presentaron neumonía con una media de $3,34 \pm 0,57$ log ufc/g. No hubo ningún exitus despues de las 24 horas posteriores a

la inoculación.

**CEPA R, GRUPO TRATADO CON PENICILINA G PROCAINA
(Tabla 36)**

Todos los animales fueron bacteriémicos a las 24 horas de la inoculación, con una media de $3,88 \pm 0,76$ log ufc/mL; los hemocultivos presacrificio fueron todos estériles excepto uno (1,77). El porcentaje de vegetaciones estériles fue del 81,8%. En cuanto a los cultivos de los pulmones todos fueron estériles. Se contabilizó un exitus mientras duró el tratamiento (8,3%).

CEPA R, GRUPO TRATADO CON CEFUROXIMA (Tabla 37)

Todos los animales asignados a este grupo tuvieron hemocultivos positivos a las 24 horas de la inoculación ($3,97 \pm 0,56$ log ufc/mL). Solo hubo un hemocultivo presacrificio estéril, la media del log ufc/mL fue de $3,97 \pm 0,56$. En cuanto al cultivo de vegetaciones la media fue de $5,21 \pm 2,82$ log ufc/g, con tan solo dos estériles de los 9 animales del grupo. El cultivo de los pulmones fue de $X \pm DS = 2,68 \pm 2,19$, siendo solo dos estériles (22,2%). No hubo ningún exitus una vez comenzado el tratamiento.

CEPA R, GRUPO TRATADO CON CEFOTAXIMA (Tabla 38)

Todos los animales fueron bacteriémicos a las 24 horas de la inoculación ($3,49 \pm 0,86$ log ufc/mL); los hemocultivos presacrificio fueron estériles un 33,3%, así como un 58,3% de los cultivos pulmonares. En cuanto a los cultivos de las vegetaciones hubo un 66,68% de estériles, no existiendo ningún exitus mientras duró el tratamiento.

CEPA R, GRUPO TRATADO CON CEFTRIAXONA (Tabla 39)

Todos los animales asignados a este grupo tuvieron hemocultivos positivos a las 24 horas de la inoculación ($3,68 \pm 0,71$ log ufc/mL), los hemocultivos presacrificio fueron estériles en el 100% de los animales supervivientes. En cuanto al cultivo de vegetaciones hubo 2 positivos (16,6%). Durante el tratamiento no hubo ningún exitus.

CEPA R, GRUPO TRATADO CON ERITROMICINA (Tabla 40)

Todos los animales asignados al grupo de tratamiento con eritromicina fueron bacteriémicos a las 24 horas de la inoculación

($3,68 \pm 0,71$ log ufc/mL). Todos los hemocultivos presacrificio fueron esteriles. Los cultivos de vegetaciones fueron esteriles en el 92,8% de los animales supervivientes. Una vez comenzado el tratamiento hubo dos exitus (12,5%).

CEPA R, GRUPO TRATADO CON VANCOMICINA (Tabla 41)

Todos los animales asignados a este grupo tuvieron hemocultivos positivos a las 24 horas de la inoculación ($3,45 \pm 0,73$ log ufc/mL). Los hemocultivos presacrificio fueron esteriles en el 100% de los animales estudiados. En cuanto al cultivo de las vegetaciones aórticas y cultivo de pulmones fueron esteriles todos menos en dos animales (20%), coincidiendo ambos cultivos positivos en los mismos animales. Una vez comenzado el tratamiento, solo existió un exitus (10%)

V.D.4. CEPA S, COMPARACIÓN ENTRE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS SOBRE LA ENDOCARDITIS.

Todos los grupos de tratamiento fueron igualmente eficaces respecto de los controles en el aclaramiento del log ufc/g ($8,52 \pm 1,3$) ($p < 0.01$) (Tabla 42), así como en la esterilización de vegetaciones

(Tabla 43). Se esterilizaron las vegetaciones en todos los animales en todos los grupos de tratamiento, salvo en el grupo tratado con vancomicina en el que la esterilización ocurrió en el 90% de los animales.

En cuanto a los hemocultivos presacrificio, no hubo diferencias entre los diferentes grupos puesto que para todos los tratamientos fueron esteriles (Tabla 44).

V.D.5. CEPA RI, COMPARACIÓN ENTRE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS SOBRE LA ENDOCARDITIS.

Todos los grupos de tratamiento fueron igualmente eficaces respecto de los controles en el aclaramiento del log ufc/g ($8,07 \pm 1,74$) ($p < 0,01$) (Tabla 42). Con respecto a la esterilización de vegetaciones, todos los tratamientos fueron igual de eficaces respecto de los controles ($p < 0,01$). Hubo un 100% de vegetaciones esteriles para todos los antimicrobianos excepto para penicilina (90,9%) y para cefotaxima (81,8%) (Tabla 43).

Los hemocultivos presacrificio fueron esteriles para todos los grupos de tratamiento salvo para eritromicina ($1,13 \pm 0,30$) sin

diferencias significativas (Tabla 44).

V.D.6. CEPA R, COMPARACIÓN ENTRE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS SOBRE LA ENDOCARDITIS.

Todos los grupos de tratamiento, excepto cefuroxima, fueron eficaces respecto de los controles en el aclaramiento del número de unidades formadoras de colonias por gramo de vegetación ($\log \text{ufc/g}$) ($8,93 \pm 0,37$) ($p < 0.01$) (Tabla 42).

El mejor aclaramiento de microorganismos en las vegetaciones se obtuvo con vancomicina, penicilina y eritromicina ($1,95 \pm 0,58$; $2,11 \pm 1,04$ y $2,02 \pm 0,63$, respectivamente), pero sin alcanzar significación estadística respecto a cefotaxima y ceftriaxona.

En cuanto a la esterilización de vegetaciones no existía diferencia significativa entre el grupo control (0%) y el grupo tratado con cefuroxima (22,2%), siendo en ambos casos menos eficaces que el resto de grupos de tratamiento (Tabla 43). penicilina: 81,8%, cefotaxima: 66,6%, ceftriaxona: 83,3%, eritromicina: 92,8% y vancomicina: 88,8%.

Resultados

Con respecto a los hemocultivos presacrificio, ocurre igualmente que cefuroxima es el único tratamiento que no tiene diferencia significativa respecto a los controles ($3,69 \pm 1,18$ vs $4,39 \pm 0,50$) (Tabla 44).

V.E. INFLUENCIA DE LA SENSIBILIDAD O RESISTENCIA A LA PENICILINA DEL NEUMOCOCO EN LA GRAVEDAD DE LA ENDOCARDITIS.

V.E.1. COMPARACIÓN DE LOS CONTROLES

Se compararon los grupos controles (no tratamiento) infectados con cada una de las cepas entre ellos, a través del análisis de la mortalidad y la concentración de microorganismos en la válvula (log ufc/g de tejido) y sangre presacrificio (log ufc/mL). Se comprobó que no existía diferencia significativa entre ellos en cuanto a la concentración de microorganismos en la válvula, cepa S: $8,52 \pm 1,3$, cepa RI: $8,07 \pm 1,74$, cepa R: $8,93 \pm 0,37$ (Tabla 45) y en sangre, cepa S: $4,13 \pm 0,48$, cepa RI: $4,81 \pm 1,15$, cepa R: $4,39 \pm 0,5$ (Tabla 45). En lo que se refiere al análisis de la mortalidad, encontramos que con la cepa RI existía una mayor mortalidad que con el resto de las cepas (23,5% para la cepa RI vs 0% para las otras dos cepas, $p < 0,05$) (Tabla 45).

V.E.2. COMPARACIÓN EN LOS GRUPOS DE TRATAMIENTO DE LA ENDOCARDITIS.

Se analizaron también, los resultados del tratamiento con cada antimicrobiano por separado, para las tres cepas estudiadas.

En cada antimicrobiano se estudiaron las posibles diferencias en el aclaramiento de ufc/g de vegetaciones, esterilización de vegetaciones, hemocultivos presacrificio y mortalidad.

No existieron diferencias entre los grupos tratados con penicilina, ceftriaxona o vancomicina (Tablas 46, 49 y 51).

La cefuroxima fue menos eficaz en el aclaramiento de microorganismos, tanto en las vegetaciones como en los hemocultivos presacrificio para la cepa R comparada con las cepas S y RI ($p < 0.01$ respectivamente) (Tabla 47). En el resto de los parámetros (mortalidad y vegetaciones estériles) no hubo diferencias en la eficacia de cefuroxima entre las tres cepas (Tabla 47).

La cefotaxima fue menos eficaz en el aclaramiento de los hemocultivos presacrificio en la cepas R frente a las S y RI ($p < 0.01$),

Resultados

no existiendo diferencias significativas en cuanto al aclaramiento y esterilización de vegetaciones, y tampoco en cuanto a la mortalidad (Tabla 48).

En lo que se refiere a los grupos tratados con eritromicina, existía una mayor mortalidad en el grupo inoculado con la cepa RI ($p < 0,05$) (Tabla 50).

V.F. ESTUDIO DE LA INFECCIÓN PULMONAR QUE PRODUCE EL MODELO, A TRAVÉS DEL ESTUDIO DE LOS GRUPOS CONTROLES Y ANÁLISIS DEL TRATAMIENTO.

Se produjo infección pulmonar en el 100% de los grupos controles (Tablas 21, 28 y 35), confirmándose que este modelo produce infección pulmonar concomitante a la endocarditis.

Analizando cada uno de los grupos, en cuanto a la esterilización de los pulmones (Tabla 52) se pudo comprobar que para la cepa S todos los tratamientos fueron igualmente eficaces respecto de los controles con un 100% de pulmones esteriles en todos los casos frente a un 0% ($p < 0,01$). Para la cepa RI igualmente todos los tratamientos fueron mas eficaces que los controles ($p < 0,05$), aunque con penicilina se obtuvo un 77,7% de esterilidad y con el resto de los antimicrobianos en el 100%. Para la cepa R, todos los tratamientos alcanzaron diferencias significativas con los controles ($p < 0,05$), excepto cefuroxima con la que solo se obtuvo un 28,5% de pulmones esteriles.

En cuanto a la cuantificación de microorganismos en los pulmones, dado que para las cepas S y RI prácticamente todos los

Resultados

cultivos de pulmón fueron estériles, no se analizaron las medias de ufc/g de pulmón. Para la cepa R, todos los tratamientos fueron igualmente eficaces respecto de los controles ($p < 0,01$) salvo cefuroxima, que al igual que en la endocarditis, no presentó diferencia significativa con los controles (Tabla 53).

**V.G. ESTUDIO DE LA APARICIÓN DE CEPAS RESISTENTES
A LA PENICILINA AL FINALIZAR EL TRATAMIENTO, EN
LOS ANIMALES TRATADOS CON ESTE
ANTIMICROBIANO.**

De los animales inoculados con la cepa S y tratados con penicilina, hubo un 100% de esterilización de vegetaciones y de hemocultivos, por lo que no se pudo recuperar ninguna cepa.

De los animales inoculados con la cepa RI y tratados con penicilina, solo se pudo recuperar la cepa de un solo animal, ya que el resto fueron estériles, pudiendose comprobar que en esta cepa se mantenía la misma susceptibilidad a penicilina previa a la inoculación y tratamiento.

V.H. CORRELACIÓN DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS/FARMACODINÁMICOS CON LOS ESTUDIOS *IN VIVO*.

Dado que con las cepas S y RI a penicilina, prácticamente todas las vegetaciones y hemocultivos, así como los cultivos de pulmón fueron estériles, no se ha realizado el análisis farmacocinético/farmacodinámico con estas cepas.

Con la cepa R se calculó el coeficiente de correlación de Pearson para los parámetros farmacocinéticos/farmacodinámicos ($\Delta T/CMI$, C_{max}/CMI y AUC/CMI) frente a las variables estudiadas en los grupos terapéuticos (log ufc/g de vegetación, log ufc/g de pulmón y log ufc/mL de sangre).

V.H.1. Estudio de la correlación entre $\Delta T/CMI$ y el log ufc/g de vegetación.

1. Estudio de la correlación entre $\Delta T/CMI$ de todos los antimicrobianos del estudio (penicilina, cefuroxima, cefotaxima, ceftriaxona, eritromicina y vancomicina) y las medias del log ufc/g

de vegetación obtenida en los grupos de animales tratados con cada uno de los antimicrobianos. El coeficiente de correlación de Pearson fue de -0,19, siendo el valor de $p > 0,05$ para 4 grados de libertad. No existió pues correlación con nivel de significación estadística entre estas variables.

2. Estudio de la correlación entre $\Delta T/CMI$ de los β -lactámicos del estudio (penicilina, cefuroxima, cefotaxima y ceftriaxona) y las medias del log ufc/g de vegetación obtenida en los grupos de animales tratados con cada uno de los antimicrobianos. El coeficiente de correlación de Pearson fue de -0,87, siendo el valor de $p < 0,05$ para 2 grados de libertad. Existió pues correlación negativa con nivel de significación estadística entre estas variables.

V.H.2. Estudio de la correlación entre C_{max}/CMI y el log ufc/g de vegetación.

1. Estudio de la correlación entre C_{max}/CMI de todos los antimicrobianos del estudio (penicilina, cefuroxima, cefotaxima, ceftriaxona, eritromicina y vancomicina) y las medias del log ufc/g de vegetación obtenida en los grupos de animales tratados con cada

uno de los antimicrobianos. El coeficiente de correlación de Pearson fue de -0,25, siendo el valor de $p > 0,05$ para 4 grados de libertad. No existió pues correlación con nivel de significación estadística entre estas variables.

2. Estudio de la correlación entre C_{max}/CMI de los β -lactámicos del estudio (penicilina, cefuroxima, cefotaxima y ceftriaxona) y las medias del log ufc/g de vegetación obtenida en los grupos de animales tratados con cada uno de los antimicrobianos. El coeficiente de correlación de Pearson fue de +0,70, siendo el valor de $p > 0,05$ para 2 grados de libertad. No existió pues correlación con nivel de significación estadística entre estas variables.

V.H.3. Estudio de la correlación entre AUC/CMI y el log ufc/g de vegetación.

1. Estudio de la correlación entre AUC/CMI de todos los antimicrobianos del estudio (penicilina, cefuroxima, cefotaxima, ceftriaxona, eritromicina y vancomicina) y las medias del log ufc/g de vegetación obtenida en los grupos de animales tratados con cada uno de los antimicrobianos. El coeficiente de correlación de Pearson

fue de -0,31, siendo el valor de $p > 0,05$ para 4 grados de libertad. No existió pues correlación con nivel de significación estadística entre estas variables.

2. Estudio de la correlación entre AUC/CMI de los β -lactámicos del estudio (penicilina, cefuroxima, cefotaxima y ceftriaxona) y las medias del log ufc/g de vegetación obtenida en los grupos de animales tratados con cada uno de los antimicrobianos. El coeficiente de correlación de Pearson fue de -0,27, siendo el valor de $p > 0,05$ para 2 grados de libertad. No existió pues correlación con nivel de significación estadística entre estas variables.

V.H.4. Estudio de la correlación entre $\Delta T/CMI$ y el log ufc/g de pulmón.

1. Estudio de la correlación entre $\Delta T/CMI$ de todos los antimicrobianos del estudio (penicilina, cefuroxima, cefotaxima, ceftriaxona, eritromicina y vancomicina) y las medias del log ufc/g de pulmón obtenida en los grupos de animales tratados con cada uno de los antimicrobianos. El coeficiente de correlación de Pearson fue de -0,22, siendo el valor de $p > 0,05$ para 4 grados de libertad. No

existió pues correlación con nivel de significación estadística entre estas variables.

2. Estudio de la correlación entre $\Delta T/CMI$ de los β -lactámicos del estudio (penicilina, cefuroxima, cefotaxima y ceftriaxona) y las medias del log ufc/g de pulmón obtenida en los grupos de animales tratados con cada uno de los antimicrobianos. El coeficiente de correlación de Pearson fue de -0,75, siendo el valor de $p > 0,05$ para 2 grados de libertad. No existió pues correlación con nivel de significación estadística entre estas variables, aunque se ve una clara tendencia a la correlación negativa.

V.H.5. Estudio de la correlación entre C_{max}/CMI y el log ufc/g de pulmón.

1. Estudio de la correlación entre C_{max}/CMI de todos los antimicrobianos del estudio (penicilina, cefuroxima, cefotaxima, ceftriaxona, eritromicina y vancomicina) y las medias del log ufc/g de pulmón obtenida en los grupos de animales tratados con cada uno de los antimicrobianos. El coeficiente de correlación de Pearson fue de -0,04, siendo el valor de $p > 0,05$ para 4 grados de libertad. No

existió pues correlación con nivel de significación estadística entre estas variables.

2. Estudio de la correlación entre Cmax/CMI de los β -lactámicos del estudio (penicilina, cefuroxima, cefotaxima y ceftriaxona) y las medias del log ufc/g de pulmón obtenida en los grupos de animales tratados con cada uno de los antimicrobianos. El coeficiente de correlación de Pearson fue de +0,79, siendo el valor de $p > 0,05$ para 2 grados de libertad. No existió pues correlación con nivel de significación estadística entre estas variables.

V.H.6. Estudio de la correlación entre AUC/CMI y el log ufc/g de pulmón.

1. Estudio de la correlación entre AUC/CMI de todos los antimicrobianos del estudio (penicilina, cefuroxima, cefotaxima, ceftriaxona, eritromicina y vancomicina) y las medias del log ufc/g de pulmón obtenida en los grupos de animales tratados con cada uno de los antimicrobianos. El coeficiente de correlación de Pearson fue de -0,12, siendo el valor de $p > 0,05$ para 4 grados de libertad. No existió pues correlación con nivel de significación estadística entre estas variables.

2. Estudio de la correlación entre AUC/CMI de los β -lactámicos del estudio (penicilina, cefuroxima, cefotaxima y ceftriaxona) y las medias del log ufc/g de pulmón obtenida en los grupos de animales tratados con cada uno de los antimicrobianos. El coeficiente de correlación de Pearson fue de -0,06, siendo el valor de $p > 0,05$ para 2 grados de libertad. No existió pues correlación con nivel de significación estadística entre estas variables.

V.H.7. Estudio de la correlación entre $\Delta T/CMI$ y el log ufc/mL de sangre.

1. Estudio de la correlación entre $\Delta T/CMI$ de todos los antimicrobianos del estudio (penicilina, cefuroxima, cefotaxima, ceftriaxona, eritromicina y vancomicina) y las medias del log ufc/mL de sangre obtenida en los grupos de animales tratados con cada uno de los antimicrobianos. El coeficiente de correlación de Pearson fue de -0,20, siendo el valor de $p > 0,05$ para 4 grados de libertad. No existió pues correlación con nivel de significación estadística entre estas variables.

2. Estudio de la correlación entre $\Delta T/CMI$ de los β -lactámicos del estudio (penicilina, cefuroxima, cefotaxima y ceftriaxona) y las medias del log ufc/mL de sangre obtenida en los grupos de animales tratados con cada uno de los antimicrobianos. El coeficiente de correlación de Pearson fue de -0,74, siendo el valor de $p > 0,05$ para 2 grados de libertad. No existió pues correlación con nivel de significación estadística entre estas variables, aunque si existe una tendencia a la correlación negativa.

V.H.8. Estudio de la correlación entre C_{max}/CMI y el log ufc/mL de sangre.

1. Estudio de la correlación entre C_{max}/CMI de todos los antimicrobianos del estudio (penicilina, cefuroxima, cefotaxima, ceftriaxona, eritromicina y vancomicina) y las medias del log ufc/mL de sangre obtenida en los grupos de animales tratados con cada uno de los antimicrobianos. El coeficiente de correlación de Pearson fue de -0,18, siendo el valor de $p > 0,05$ para 4 grados de libertad. No existió pues correlación con nivel de significación estadística entre estas variables.

2. Estudio de la correlación entre C_{max}/CMI de los β -

lactámicos del estudio (penicilina, cefuroxima, cefotaxima y ceftriaxona) y las medias del log ufc/mL de sangre obtenida en los grupos de animales tratados con cada uno de los antimicrobianos. El coeficiente de correlación de Pearson fue de +0,76, siendo el valor de $p > 0,05$ para 2 grados de libertad. No existió pues correlación con nivel de significación estadística entre estas variables.

V.H.9. Estudio de la correlación entre AUC/CMI y el log ufc/mL de sangre.

1. Estudio de la correlación entre AUC/CMI de todos los antimicrobianos del estudio (penicilina, cefuroxima, cefotaxima, ceftriaxona, eritromicina y vancomicina) y las medias del log ufc/mL de vegetación obtenida en los grupos de animales tratados con cada uno de los antimicrobianos. El coeficiente de correlación de Pearson fue de -0,26, siendo el valor de $p > 0,05$ para 4 grados de libertad. No existió pues correlación con nivel de significación estadística entre estas variables.

2. Estudio de la correlación entre AUC/CMI de los β -lactámicos del estudio (penicilina, cefuroxima, cefotaxima y

Resultados

ceftriaxona) y las medias del log ufc/mL de sangre obtenida en los grupos de animales tratados con cada uno de los antimicrobianos. El coeficiente de correlación de Pearson fue de $-0,104$, siendo el valor de $p > 0,05$ para 2 grados de libertad. No existió pues correlación con nivel de significación estadística entre estas variables.

VI. TABLAS Y FIGURAS.-

Tablas y Figuras

Tabla 1. Concentraciones mínimas inhibitorias y bactericidas de los seis antimicrobianos frente a las tres cepas de *S. pneumoniae* estudiadas.

CEPAS	S		RI		R	
	CMI mg/L	CMB mg/L	CMI mg/L	CMB mg/L	CMI mg/L	CMB mg/L
PENICILINA	0,015	0,03	0,25	0,25	2	4
CEFUROXIMA	0,03	0,12	2	4	0,5	1
CEFOTAXIMA	0,015	0,03	0,5	1	1	2
CEFTRIAXONA	0,015	0,03	0,12	0,12	1	2
ERITROMICINA	0,03	0,06	0,06	0,06	0,03	0,06
VANCOMICINA	0,05	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

Tabla 2. Variaciones en log ufc/mL a las 8 horas de incubación con diferentes concentraciones de penicilina (Curvas de tiempo-muerte).

Variaciones en log de ufc/mL			
Penicilina			
	1CMI	2CMI	4CMI
Cepa S	+1,21	-2,79	-3,14
Cepa RI	+0,20	+1,30	-4,20
Cepa R	-1,02	-3,13	-3,73

Tabla 3. Variaciones en log ufc/mL a las 8 horas de incubación con diferentes concentraciones de cefuroxima (Curvas de tiempo-muerte).

Variaciones en log de UFC/mL			
Cefuroxima			
	1CMI	2CMI	4CMI
Cepa S	+0,80	-1,63	-2,23
Cepa RI	-1,20	-2,80	-3,80
Cepa R	+0,19	-1,39	-1,37

Tabla 4. Variaciones en log ufc/mL a las 8 horas de incubación con diferentes concentraciones de cefotaxima (Curvas de tiempo-muerte).

	Variaciones en log de ufc/mL		
	Cefotaxima		
	1CMI	2CMI	4CMI
Cepa S	-0,70	-2,04	-2,38
Cepa RI	-3,25	-3,50	-4,20
Cepa R	-0,94	-2,43	-2,83

Tabla 5. Variaciones en log ufc/mL a las 8 horas de incubación con diferentes concentraciones de ceftriaxona (Curvas de tiempo-muerte).

	Variaciones en log de ufc/mL		
	Ceftriaxona		
	1CMI	2CMI	4CMI
Cepa S	+0,51	-2,20	-2,60
Cepa RI	+0,80	+0,80	-1,40
Cepa R	-0,35	-2,02	-2,53

Tablas y Figuras

Tabla 6. Variaciones en log ufc/mL a las 8 horas de incubación con diferentes concentraciones de eritromicina (Curvas de tiempo-muerte).

Variaciones en log de ufc/mL			
Eritromicina			
	1CMI	2CMI	4CMI
Cepa S	-1,49	-2,07	-2,30
Cepa RI	-2,60	-3,20	-4,20
Cepa R	-1,43	-2,13	-2,43

Tabla 7. Variaciones en log ufc/mL a las 8 horas de incubación con diferentes concentraciones de vancomicina (Curvas de tiempo-muerte).

Variaciones en log de ufc/mL			
Vancomicina			
	1CMI	2CMI	4CMI
Cepa S	-3,27	-3,44	-3,74
Cepa RI	-4,20	-4,20	-4,20
Cepa R	-4,43	-3,83	-3,69

Tablas y Figuras

Tabla 8. Tasas plasmáticas ($\mu\text{g/mL}$) de penicilina en conejos New Zealand
(Dosis: 50.000 U/kg)

N/T	15'	30'	60'	120'	240'	480'	720'
1	2,3	2,4	2,6	2,2	0,95	0,32	0,80
2	2,8	4,0	5,0	1,4	0,95	-	-
3	2,0	IND	2,4	0,7	0,55	0,47	0,16
4	2,2	1,6	6,0	1,8	0,2	0,29	IND
5	2,3	1,4	4,8	1,6	0,35	0,49	0,50
X \pm DS	2,32 \pm 0,29	2,35 \pm 1,18	4,16 \pm 1,58	1,54 \pm 0,55	0,6 \pm 0,55	0,39 \pm 0,34	0,24 \pm 0,22

IND: Indeterminado

Tabla 9. Tasas plasmáticas ($\mu\text{g/mL}$) de penicilina en conejos New Zealand
(dosis: 200.000 U/kg)

N/T	15'	30'	60'	120'	240'	480'	720'
1	8,5	13	18	24	15	11,5	6,5
2	8	13	19	23	18	14,5	6
3	13,5	21	34	21	10	10	IND
4	8	16	28	17	7	8,5	5,5
5	7,5	11	31	13	4,5	2	6
X \pm DS	9,1 \pm 2,48	14,8 \pm 3,89	26 \pm 7,17	19,6 \pm 4,56	10,9 \pm 5,57	9,3 \pm 4,64	6 \pm 0,40

IND: Indeterminado

Tablas y Figuras

Tabla 10. Tasas plasmáticas ($\mu\text{g/mL}$) de cefuroxima en conejos New Zealand (dosis: 30 mg/kg)

N/T	15'	30'	60'	120'	240'	480'
1	71,5	67	56	30,5	12,9	IND
2	80	63	60	39	12	IND
X \pm DS	75,75	65	58	34,75	12,45	IND

IND: Indeterminado

Tabla 11. Tasas plasmáticas ($\mu\text{g/mL}$) de cefuroxima en conejos New Zealand (dosis: 40 mg/kg)

N/T	15'	30'	60'	120'	240'	480'
1	75,05	51,45	48,07	22,01	16,61	13,51
2	78,45	58,1	46,7	26,13	8,38	10,77
3	97,65	52,65	52,18	12,41	2,89	7,34
4	78,85	73,9	65,9	13,78	3,72	7,67
5	88,08	86,66	70,01	16,53	11,12	10,77
X \pm DS	83,61 \pm 9,2	64,55 \pm 15,2	56,57 \pm 10,6	18,17 \pm 5,7	8,54 \pm 5,6	10,01 \pm 2,5

IND: Indeterminado

Tablas y Figuras

Tabla 12. Tasas plasmáticas ($\mu\text{g/ml}$) de cefotaxima en conejos New Zealand (dosis:50 mg/kg).

N/T	15'	30'	60'	120'	240'	480'
1	52,6	60,1	12	10,5	0,42	0,5
2	30	48	28,5	11,65	0,58	0,56
3	10,6	18	15,8	13,9	0,82	0,54
4	19,6	-	9,8	9,75	0,58	0,52
5	48	45	31,5	14,25	0,76	0,52
X \pm DS	32,16 \pm 17,9	42,77 \pm 17,7	19,5 \pm 9,8	12,01 \pm 2	0,63 \pm 0,15	0,52 \pm 0,02

IND: Indeterminado

Tabla 13. Tasas plasmáticas ($\mu\text{g/ml}$) de ceftriaxona en conejos New Zealand (dosis:40mg/kg)

N/T	15'	30'	60'	120'	240'	480'	720'
1	52,65	65	91	87	71	17,5	4
2	50,3	62	91	90	85	40	15
3	53,3	62	105	90	81	34,5	16,5
4	49,5	64	101,9	96	99	45,5	28
5	56	IND	97	74	57	28,5	6,5
X \pm DS	52,35 \pm 2,58	63,25 \pm 1,5	97,18 \pm 6,32	87,4 \pm 8,17	78,6 \pm 15,7	33,2 \pm 10,8	14 \pm 9,4

IND: Indeterminado

Tablas y Figuras

Tabla 14. Tasas plasmáticas ($\mu\text{g/ml}$) de eritromicina en conejos New Zealand (dosis 15 mg/kg).

N/T	15'	30'	60'	120'	240'	480'
1	2,06	2,06	4,03	1,52	0,32	IND
2	2,5	2,17	4,14	1,3	0,21	IND
X \pm DS	2,28 \pm 0,31	2,12 \pm 0,08	4,09 \pm 0,08	1,41 \pm 0,16	0,26 \pm 0,08	IND

IND: Indeterminado

Tabla 15. Tasas plasmáticas ($\mu\text{g/ml}$) de eritromicina en conejos New Zealand (dosis 30 mg/kg).

N/T	15'	30'	60'	120'	240'	480'
1	2,06	2,9	21,5	2,06	0,76	IND
2	2,06	2,72	23,7	1,63	1,08	IND
3	2,5	2,9	28,1	1,85	1,08	IND
4	2,72	2,9	-	-	1,08	IND
5	2,28	2,5	25,9	2,06	0,43	IND
X \pm DS	2,32 \pm 0,29	2,78 \pm 0,18	24,8 \pm 2,84	1,9 \pm 0,21	0,89 \pm 0,29	IND

IND: Indeterminado

Tablas y Figuras

Tabla 16. Tasas plasmáticas ($\mu\text{g/ml}$) de vancomicina conejos New Zealand (dosis: 15 mg/kg).

N/T	15'	30'	60'	120'	240'	480'	720'
1	55,6	35,7	37,1	24,9	6,89	IND	IND
2	44,7	39,3	33,5	22,7	14,1	IND	IND
X \pm DS	50,15 \pm 7,71	37,5 \pm 2,55	35,3 \pm 2,55	23,8 \pm 1,56	10,49 \pm 5,1	IND	IND

IND: Indeterminado

Tabla 17. Tasas plasmáticas ($\mu\text{g/ml}$) de vancomicina conejos New Zealand (dosis: 25 mg/kg).

N/T	15'	30'	60'	120'	240'	480'	720'
1	76,64	84,32	44,9	27,89	17,47	IND	IND
2	77,74	93,1	48,19	29,54	21,31	IND	IND
3	74,44	73,34	44,9	24,05	14,73	IND	IND
4	67,86	78,84	44,9	26,8	15,28	IND	IND
5	55,78	73,34	37,77	20,21	-	IND	IND
X \pm DS	70,49 \pm 9,07	80,58 \pm 8,34	44,13 \pm 3,83	25,69 \pm 3,66	17,19 \pm 2,98	IND	IND

IND: Indeterminado

Tabla 18. Parámetros farmacocinéticos obtenidos con los antimicrobianos del estudio, en conejos New Zealand.

	DOSIS	AUC	Cmax	t _{1/2}
ANTIMICROBIANOS	U/Kg - mg/kg	µg.h/mL	µg/mL	h
PENICILINA G	50000 U/Kg	10,4	4,1±1,5	3,08
PENICILINA G	200000 U/Kg	137,4	26±7,1	5,6
CEFUROXIMA	30 mg/Kg	141,91	83,6±9,2	1,44
CEFUROXIMA	40 mg/Kg	150,7002	75,75±6,01	2,4
CEFOTAXIMA	50 mg/kg	55,6	42,7±17,7	1,1
CEFTRIAXONA	40 mg/Kg	630,84	97,1±6,3	3,8
ERITROMICINA	15mg/Kg	6,52	4,09±0,08	0,82
ERITROMICINA	30 mg/Kg	23,67	24,8±2,84	0,68
VANCOMICINA	15 mg/Kg	93,00	50,15±7,71	1,7
VANCOMICINA	25mg/Kg	127,8	80,5±8,3	1,7

Tablas y Figuras

Tabla 19. Tiempo (horas) en que las concentraciones plasmáticas permanecen por encima de la CMI ($\Delta T/CMI$).

$\Delta T/CMI$	Dosis	Cepa S	Cepa RI	Cepa R
PENICILINA G	50.000 U/Kg	10,63	9,73	6,87
PENICILINA G	200.000 U/Kg	14,4	14,25	13,78
CEFUROXIMA	30 mg/kg	4,54	4,42	4,51
CEFUROXIMA	40mg/Kg	7,35	7,12	7,30
CEFOTAXIMA	50 mg/Kg	65	6,44	6,32
CEFTRIAXONA	40 mg/Kg	13,17	13,25	13,14
ERITROMICINA	15 mg/Kg	4,56	4,52	4,56
ERITROMICINA	30 mg/Kg	5,20	5,19	5,20
VANCOMICINA	15 mg/Kg	4,90	4,85	4,85
VANCOMICINA	25 mg/Kg	4,61	4,58	4,58

Tablas y Figuras

Tabla 20. Cociente Cmax/CMI y AUC/CMI para cada uno de los antimicrobianos, frente a las tres cepas del estudio.

	Dosis	Cepa S		Cepa RI		Cepa R	
		Cmax/CMI	AUC/CMI	Cmax/CMI	AUC/CMI	Cmax/CMI	AUC/CMI
PENICILINA G	50.000 U/Kg	273,3	1,040	16,4	41,6	2,05	5,2
PENICILINA G	200.000 U/Kg	1733,3	15000,2	104	549,6	13	68,7
CEFUROXIMA	30 mg/Kg	2525	4730,3	37,87	70,95	151,5	283,82
CEFUROXIMA	40 mg/Kg	2786,6	1333,3	41,8	75,001	167,2	300,004
CEFOTAXIMA	50 mg/Kg	2846,6	3706,6	85,4	11,2	42,7	55,6
CEFTRIAXONA	40 mg/Kg	6473,3	42056	809,16	5257	97,1	630,84
ERITROMICINA	15 mg/Kg	136,3	217,3	68,16	108,6	136,3	217,3
ERITROMICINA	30mg/Kg	826,6	789	413,3	394,5	826,6	789
VANCOMICINA	15mg/Kg	1003,6	1860	100,36	186	100,36	186
VANCOMICINA	25 mg/Kg	1611,6	2556	161,16	255,6	161,16	255,6

Tablas y Figuras

Tabla 21. *S. pneumoniae* Cepa S. Grupo control

Nº	INOCULO log ufc/mL	HEMOCULTIVO 24HORAS INOCULACION log ufc/mL	HEMOCULTIVO PRESACRIFICIO log ufc/mL	VEGETACIONES log ufc/g	PULMON log ufc/g	EXITUS
1	7,1	4,04	4,04	7,62	3,04	NO
2	7,1	4,00	4,00	8,20	2,60	NO
3	7,1	4,20	4,20	8,81	2,93	NO
4	7,1	4,57	4,57	4,23	3,20	NO
5	6,7	4,30	3,69	8,25	2,41	NO
6	6,7	3,47	4,07	9,27	2,23	NO
7	6,7	3,46	4,17	9,77	2,36	NO
8	6,7	3,04	3,27	9,00	1,87	NO
9	6,7	4,56	4,69	9,49	2,78	NO
10	6,7	3,66	4,64	9,65	3,50	NO
11	6,7	3,30	>5	9,01	2,92	NO
12	6,7	3,00	3,69	8,83	3,11	NO
13	6,7	3,47	4,32	8,89	2,32	NO
14	6,7	3,69	3,60	8,32	1,92	NO
X±DS/%	6,81±0,18	3,76±0,51	4,13±0,48	8,52±1,3	2,65±0,49	0%

Tablas y Figuras

Tabla 22. *S. pneumoniae* Cepa S. Tratamiento con penicilina G procaina
50.000 U/kg im.

Nº	INOCULO log ufc/mL	HEMOCULTIVO 24HORAS INOCULACION log ufc/mL	HEMOCULTIVO PRESACRIFICIO log ufc/mL	VEGETACIONES log ufc/g	PULMON log ufc/g	EXITUS
1	7,55	4,41	<1	<1,76	<0,03	NO
2	7,55	2,69	<1	<1,47	<0,28	NO
3	7,55	4,17	<1	<1,49	<0,44	NO
4	7,55	3,07	<1	<1,28	<0,06	NO
5	7,55	3,60	<1	<2,02	<0,15	NO
6	7,55	4,79	<1	<2,42	<0,40	NO
7	7,55	3,77	<1	<1,46	<0,34	NO
8	7,64	3,90	<1	<1,85	<0,49	NO
9	7,64	3,04	<1	<1,76	<0,97	NO
10	7,64	3,84	<1	<1,59	<0,37	NO
X±DS/%	7,58±0,04	3,72±0,65	1	1,71±0,3	0,3±0,2	0%

Tablas y Figuras

Tabla 23. *S. pneumoniae* Cepa S. Tratamiento con cefuroxima 30 mg/kg im.

Nº	INOCULO log ufc/mL	HEMOCULTIVO 24HORAS INOCULACION log ufc/mL	HEMOCULTIVO PRESACRIFICIO log ufc/mL	VEGETACIONES log ufc/g	PULMON log ufc/g	EXITUS
1	7,91	3,69	<1	<1,60	<0,82	NO
2	7,91	2,77	<1	<2,03	<0,70	NO
3	7,91	3,69	<1	<1,54	<1,35	NO
4	7,91	3,30	<1	<1,33	<0,92	NO
5	7,91	3,00	<1	<2,36	<0,77	NO
6	7,91	3,62	<1	<1,48	<1,05	NO
7	7,91	3,47	<1	<1,48	<0,93	NO
8	7,91	3,30	<1	<1,63	<1,33	NO
9	7,91	3,60	<1	<1,88	<1,09	NO
10	7,91	3,83	<1	<1,55	<1,24	NO
X±DS/%	7,91	3,42±0,33	1	1,68±0,3	1,02±0,2	0%

Tablas y Figuras

Tabla 24. *S. pneumoniae* Cepa S. Tratamiento con cefotaxima 50 mg/kg im.

Nº	INOCULO log ufc/mL	HEMOCULTIVO 24HORAS INOCULACION log ufc/mL	HEMOCULTIVO PRESACRIFICIO log ufc/mL	VEGETACIONES log ufc/g	PULMON log ufc/g	EXITUS
1	7,11	4,38	<1	<1,8	<0,74	NO
2	7,11	3,47	<1	<1,54	<0,44	NO
3	7,11	3,84	<1	<1,84	<0,84	NO
4	7,11	3,77	<1	<1,60	<1,02	NO
5	7,11	2,84	<1	<2,10	<0,83	NO
6	7,11	4,30	<1	<1,65	<0,97	NO
7	7,11	2,00	<1	<3,39	<0,92	NO
8	7,11	3,00	<1	<2,37	<0,55	NO
X±DS/%	7,11	3,45±0,8	1	2,03±0,6	0,7±0,3	0%

Tablas y Figuras

Tabla 25. *S. pneumoniae* Cepa S. Tratamiento con ceftriaxona 40 mg/kg

im.

Nº	INOCULO log ufc/mL	HEMOCULTIVO 24HORAS INOCULACION log ufc/mL	HEMOCULTIVO PRESACRIFICIO log ufc/mL	VEGETACIONES log ufc/g	PULMON log ufc/g	EXITUS
1	6,77	4,23	<1	<3,00	<0,65	NO
2	6,77	2,00	<1	<2,52	<0,72	NO
3	6,77	2,77	<1	<2,24	<0,57	NO
4	6,77	2,84	<1	<2,74	<0,87	NO
5	6,77	4,73	<1	<2,05	<1,17	NO
6	6,77	2,47	<1	<2,60	<0,37	NO
7	6,77	2,69	<1	-	<2,72	NO
8	6,77	2,47	-	-	-	SI
9	6,77	3,53	<1	<1,23	<1,07	NO
10	6,77	2,47	<1	<2,92	<0,97	NO
11	6,77	3,30	<1	<2,31	<0,44	NO
12	6,77	4,00	<1	<2,88	<0,53	NO
13	6,77	3,95	<1	<1,81	<0,64	NO
X±DS/%	6,77	3,18±0,83	1	2,41±0,5	0,3±0,3	13,6%

Tablas y Figuras

Tabla 26. *S. pneumoniae* Cepa S. Tratamiento con eritromicina 15 mg/kg

iv.

N°	INOCULO log ufc/mL	HEMOCULTIVO 24HORAS INOCULACION log ufc/mL	HEMOCULTIVO PRESACRIFICIO log ufc/mL	VEGETACIONES log ufc/g	PULMON log ufc/g	EXITUS
1	6,80	1,47	<1	<1,72	<0,79	NO
2	6,80	3,77	<1	<1,95	<0,59	NO
3	6,80	3,30	<1	<1,97	-	NO
4	6,80	3,95	<1	<1,41	<0,67	NO
5	6,80	2,90	<1	<1,99	<0,65	NO
6	6,80	2,84	<1	<1,90	-	NO
7	6,80	3,69	<1	<1,52	<0,70	NO
8	6,80	3,30	<1	<1,80	<0,45	NO
9	7,86	3,69	<1	<2,03	<0,16	NO
10	7,86	3,47	<1	<2,50	-	NO
X±DS/%	7,01±0,44	3,23±0,71	1	1,87±0,30	0,8±0,4	0%

Tablas y Figuras

Tabla 27. *S. pneumoniae* Cepa S. Tratamiento con vancomicina 15 mg/kg iv.

Nº	INOCULO log ufc/mL	HEMOCULTIVO 24HORAS INOCULACION log ufc/mL	HEMOCULTIVO PRESACRIFICIO log ufc/mL	VEGETACIONES log ufc/g	PULMON log ufc/g	EXITUS
1	7,86	3,69	<1	<1,89	<0,29	NO
2	7,86	4,92	<1	3,50	<0,37	NO
3	7,86	3,34	<1	<2,27	-	NO
4	7,86	2,84	<1	<1,75	<0,42	NO
5	7,86	3,44	<1	<1,79	-	NO
6	7,23	3,00	<1	<1,93	<0,38	NO
7	7,23	3,90	<1	<1,43	<0,49	NO
8	7,23	3,30	<1	<1,41	-	NO
9	6,68	2,60	<1	<1,80	<0,39	NO
10	6,68	2,69	<1	<1,27	<0,38	NO
X±DS/%	7,43±0,49	3,47±0,65	<1	1,90±0,60	0,2±0,2	0%

Tablas y Figuras

Tabla 28. *S. pneumoniae* cepa RI. Grupo control.

Nº	INOCULO log ufc/mL	HEMOCULTIVO 24HORAS INOCULACION log ufc/mL	HEMOCULTIVO PRESACRIFICIO log ufc/mL	VEGETACIONES log ufc/g	PULMON log ufc/g	EXITUS
1	7,47	4,64	4,64	7,18	4,14	NO
2	7,47	3,77	3,77	7,56	3,14	NO
3	7,47	4,99	4,99	9,07	-	NO
4	7,47	2,60	2,60	3,60	2,38	NO
5	7,47	3,57	3,57	9,15	2,30	NO
6	7,47	5,81	5,81	6,36	5,29	NO
7	7,53	6,17	6,17	7,57	-	NO
8	7,53	4,86	4,86	9,53	3,77	NO
9	7,53	4,25	4,25	7,79	3,96	NO
10	7,53	3,14	3,14	9,20	2,11	NO
11	7,53	4,77	4,77	10,52	7,36	NO
12	7,53	4,14	4,14	8,70	-	NO
13	7,53	4,97	-	-	-	SI
14	7,92	5,20	5,20	8,72	6,86	NO
15	7,53	6,17	-	-	-	SI
16	6,92	6,11	-	-	-	SI
17	6,92	6,71	-	-	-	SI
X±DS/%	7,46±0,22	4,81±1,15	4,45±1,01	8,07±1,74	4,13±1,85	23,5%

Tablas y Figuras

Tabla 29. *S. pneumoniae* Cepa RI. Tratamiento con penicilina G procaina 50.000 u/kg im.

N°	INOCULO log ufc/mL	HEMOCULTIVO 24HORAS INOCULACION log ufc/mL	HEMOCULTIVO PRESACRIFICIO log ufc/mL	VEGETACIONES log ufc/g	PULMON log ufc/g	EXITUS
1	5,96	1,30	<1	<2,06	0,76	NO
2	5,96	4,34	<1	<1,74	<0,73	NO
3	5,96	3,07	<1	<2,4	<0,72	NO
4	5,96	3,50	<1	<2,03	<0,74	NO
5	5,96	4,25	<1	4,73	<0,84	NO
6	5,96	3,14	<1	<2,03	<0,44	NO
7	5,96	5,77	<1	<2,42	-	NO
8	5,96	3,34	<1	<1,78	-	NO
9	5,96	4,30	<1	<1,75	<0,63	NO
10	5,96	4,90	<1	<1,87	2,46	NO
11	5,96	3,30	<1	<2,01	<0,41	NO
X±DS/%	5,96	3,77±1,15	1	2,25±0,85	0,85±0,61	0%

Tablas y Figuras

Tabla 30. *S. pneumoniae* Cepa RI. Tratamiento con cefuroxima 40 mg/kg im.

Nº	INOCULO ufc/mL	HEMOCULTIVO 24HORAS INOCULACION log ufc/mL	HEMOCULTIVO PRESACRIFICIO log ufc/mL	VEGETACIONES log ufc/g	PULMON log ufc/g	EXITUS
1	7,84	3,25	<1	<2,15	<0,28	NO
2	7,84	5,30	<1	<2,15	<0,50	NO
3	7,84	4,41	<1	<1,53	<0,88	NO
4	7,84	3,92	<1	<0,83	-	NO
5	7,77	5,47	<1	<2,37	-	NO
6	7,77	6,17	<1	<0,75	<0,57	NO
7	7,77	4,55	<1	<2,15	<0,89	NO
8	7,77	5,71	<1	<0,81	<0,50	NO
9	7,77	5,25	<1	<2,31	<0,48	NO
10	7,77	5,25	<1	<2,20	<0,72	NO
11	7,69	4,04	<1	<2,95	<0,75	NO
12	7,69	4,04	<1	<3,09	<0,50	NO
13	7,69	5,10	<1	<2,69	<1,07	NO
14	7,84	7,47	-	-	-	SI
X±DS/%	7,77±0,05	4,99±1,07	1	1,99±0,78	0,64±0,23	7,1%

Tablas y Figuras

Tabla 31. *S. pneumoniae* Cepa RI. Tratamiento con cefotaxima 50 mg/kg im.

Nº	INOCULO ufc/mL	HEMOCULTIVO 24HORAS INOCULACION log ufc/mL	HEMOCULTIVO PRESACRIFICIO log ufc/mL	VEGETACIONES log ufc/g	PULMON log ufc/g	EXITUS
1	7,34	3,98	<1	<2,27	<0,63	NO
2	7,34	4,73	<1	<1,66	<0,90	NO
3	7,34	3,84	<1	<2,23	<0,86	NO
4	7,34	3,44	<1	4,86	<0,6	NO
5	7,34	4,44	<1	<2,52	<0,59	NO
6	7,34	3,41	<1	<2,79	-	NO
7	7,34	3,73	<1	<2,85	-	NO
8	7,34	5,30	<1	<1,60	<0,42	NO
9	7,34	4,64	<1	5,44	<1,02	NO
10	7,34	4,53	-	-	-	SI
11	7,69	5,12	<1	<2,11	<0,71	NO
12	7,69	4,43	<1	<1,73	<0,39	NO
13	7,76	6,38	-	-	-	SI
X±DS/%	7,42±0,15	4,45±0,82	1	2,7±1,2	0,2±0,3	15,3%

Tablas y Figuras

Tabla 32. *S. pneumoniae* Cepa RI. Tratamiento con ceftriaxona 40 mg/kg

im.

Nº	INOCULO log ufc/mL	HEMOCULTIVO 24HORAS INOCULACION log ufc/mL	HEMOCULTIVO PRESACRIFICIO log ufc/ml	VEGETACIONES log ufc/g	PULMON log ufc/g	EXITUS
1	7,60	4,00	<1	<1,46	<0,76	NO
2	7,60	2,86	<1	<1,26	<0,58	NO
3	7,60	3,30	<1	<1,25	<1,25	NO
4	7,60	4,30	<1	<2,06	<0,63	NO
5	7,60	4,76	<1	<1,88	<1,21	NO
6	7,60	3,84	<1	<1,89	<0,4	NO
7	7,60	4,86	<1	<1,88	<0,79	NO
8	6,47	3,60	<1	<1,73	<0,75	NO
9	6,47	4,85	<1	<1,76	<0,89	NO
10	6,47	4,07	<1	<1,91	<0,57	NO
11	6,47	4,04	<1	<2,25	<0,49	NO
X±DS/%	7,18±0,57	4,04±0,63	1	1,75±0,31	0,75±0,27	0%

Tablas y Figuras

Tabla 33. *S. pneumoniae* Cepa RI. Tratamiento con eritromicina 30 mg/kg

iv.

Nº	INOCULO log ufc/mL	HEMOCULTIVO 24HORAS INOCULACION log ufc/mL	HEMOCULTIVO PRESACRIFICIO log ufc/mL	VEGETACIONES log ufc/g	PULMON log ufc/g	EXITUS
1	7,54	>5	1,69	<1,58	<0,005	NO
2	7,54	>5	-	-	-	SI
3	7,36	4,14	<1	<1,27	<0,70	NO
4	7,36	4,36	<1	<1,77	<0,50	NO
5	7,36	5,004	-	-	-	SI
6	6,47	3,55	-	-	-	SI
7	6,47	4,34	<1	<1,80	<0,69	NO
8	6,47	4,14	<1	<1,72	<0,40	NO
9	6,47	>5	-	-	-	SI
X±DS/%	7,00±0,51	4,5±0,52	1,13±0,3	1,62±0,21	0,45±0,28	44,4%

Tablas y Figuras

Tabla 34. *S. pneumoniae* Cepa RI. Tratamiento con vancomicina 25 mg/kg iv.

N°	INOCULO log ufc/mL	HEMOCULTIVO 24HORAS INOCULACION log ufc/mL	HEMOCULTIVO PRESACRIFICIO log ufc/mL	VEGETACIONES log ufc/g	PULMON log ufc/g	EXITUS
1	7,69	4,57	-	-	-	SI
2	7,69	4,30	<1	<2,6	<0,19	NO
3	7,69	3,90	<1	<2,76	<0,38	NO
4	7,69	3,60	<1	<1,86	<0,59	NO
5	7,69	4,94	<1	<1,46	<0,62	NO
6	7,69	4,55	<1	<2,27	<0,90	NO
7	6,89	3,69	<1	<2,20	<0,67	NO
8	6,89	3,69	<1	<2,69	<0,65	NO
9	6,89	4,69	<1	<1,80	<0,82	NO
10	6,89	4,50	<1	<2,39	<0,64	NO
X±DS/%	7,37±0,41	4,24±0,28	1	2,22±0,44	0,6±0,21	10%

Tablas y Figuras

Tabla 35. *S. pneumoniae* Cepa R. Grupo control

Nº	INOCULO log ufc/mL	HEMOCULTIVO 24HORAS INOCULACION log ufc/mL	HEMOCULTIVO PRESACRIFICIO log ufc/mL	VEGETACIONES log ufc/g	PULMON log ufc/g	EXITUS
1	6,17	3,77	4,93	9,28	3,44	NO
2	6,17	2,60	4,07	9,04	3,50	NO
3	6,17	3,25	4,74	9,38	3,58	NO
4	6,17	3,07	5,11	9,08	3,73	NO
5	6,17	3,25	4,38	8,86	3,44	NO
6	6,17	2,77	4,14	8,75	2,77	NO
7	6,17	3,81	4,07	8,87	3,34	NO
8	6,17	3,68	3,90	9,12	3,11	NO
9	6,17	3,20	4,93	9,17	3,81	NO
10	6,01	-	5,07	7,94	4,49	NO
11	6,01	-	4,07	8,70	3,08	NO
12	6,01	-	3,50	8,75	2,06	NO
13	6,01	-	4,25	9,23	3,18	NO
X±DS/%	6,12±0,07	3,26±0,42	4,39±0,50	8,93±0,37	3,34±0,57	0%

Tablas y Figuras

Tabla 36. *S. pneumoniae* Cepa R. Tratamiento con penicilina G procaina
200.000 u/kg im.

Nº	INOCULO log ufc/mL	HEMOCULTIVO 24HORAS INOCULACION log ufc/mL	HEMOCULTIVO PRESACRIFICIO log ufc/mL	VEGETACIONES log ufc/g	PULMON log ufc/g	EXITUS
1	7,90	2,47	<1	3,14	<0,63	NO
2	7,90	3,90	<1	<1,53	<0,48	NO
3	7,90	3,90	<1	<1,92	<0,42	NO
4	7,90	3,50	<1	4,55	-	NO
5	7,90	4,25	<1	<1,75	-	NO
6	7,90	4,00	<1	<2,20	<0,27	NO
7	7,90	4,92	1,77	<2,42	-	NO
8	7,60	3,07	<1	<1,75	<0,07	NO
9	7,60	3,60	<1	<1,30	<1,07	NO
10	7,60	3,90	<1	<2,20	<0,39	NO
11	7,60	3,74	<1	<0,55	<0,51	NO
12	7,60	5,38	-	-	-	SI
X±DS/%	7,77±0,15	3,88±0,76	1,07±0,23	2,11±1,04	0,48±0,29	8,3%

Tablas y Figuras

Tabla 37. *S. pneumoniae* Cepa R. Tratamiento con cefuroxima 40 mg/kg im.

Nº	INOCULO log ufc/mL	HEMOCULTIVO 24HORAS INOCULACION log ufc/mL	HEMOCULTIVO PRESACRIFICIO log ufc/mL	VEGETACIONES log ufc/g	PULMON log ufc/g	EXITUS
1	7,17	3,84	4,11	3,41	4,39	NO
2	7,17	3,79	3,86	9,04	3,74	NO
3	7,17	3,95	4,41	4,57	<0,28	NO
4	7,17	3,47	-	<2,42	<0,34	NO
5	7,17	3,64	4,77	3,79	0,80	NO
6	7,17	3,80	3,60	4,37	2,81	NO
7	7,17	5,41	<1	<1,95	1,86	NO
8	7,17	4,07	4,49	8,61	7,02	NO
9	7,17	3,80	3,34	8,77	2,94	NO
X±DS/%	7,17	3,97±0,56	3,69±1,18	5,21±2,82	2,68±2,19	0%

Tablas y Figuras

Tabla 38. *S. Pneumoniae* Cepa R. Tratamiento con cefotaxima 50 mg/kg im.

Nº	INOCULO log ufc/mL	HEMOCULTIVO 24HORAS INOCULACION log ufc/mL	HEMOCULTIVO PRESACRIFICIO log ufc/mL	VEGETACIONES log ufc/g	PULMON log ufc/g	EXITUS
1	7,9	3,90	3,14	<2,92	2,80	NO
2	7,9	3,84	2,00	>7,00	<0,76	NO
3	7,9	4,54	>5,00	7,17	2,91	NO
4	7,9	3,84	2,20	>7,00		NO
5	7,9	3,69	3,20	6,98	3,25	NO
6	7,9	4,32	<1	<2,44	-	NO
7	6,5	1,77	<1	<2,28	<0,33	NO
8	6,5	3,71	<1	<2,05	<0,45	NO
9	6,5	3,57	<1	<2,46	<0,53	NO
10	6,5	4,04	1,47	<1,69	<0,73	NO
11	6,5	2,77	1,00	<2,06	<0,43	NO
12	6,5	2,44	1,00	<1,87	<0,45	NO
X±DS/%	7,2±0,73	3,49±0,86	1,91±1,27	3,82±2,39	1,26±1,20	0%

Tablas y Figuras

Tabla 39. *S. pneumoniae* Cepa R. Tratamiento con ceftriaxona 40 mg/kg im.

N°	INOCULO log ufc/mL	HEMOCULTIVO 24HORAS INOCULACION log ufc/mL	HEMOCULTIVO PRESACRIFICIO log ufc/mL	VEGETACIONES log ufc/g	PULMON log ufc/g	EXITUS
1	5,98	3,73	<1	<2,14	-	NO
2	5,98	3,25	<1	<2,31	<0,59	NO
3	5,98	3,11	<1	3,94	-	NO
4	5,98	3,25	<1	<1,82	-	NO
5	5,98	3,01	-	<2,00	<0,55	NO
6	5,98	4,01	<1	<1,92	<0,27	NO
7	5,98	3,00	<1	<2,08	-	NO
8	5,98	2,92	<1	3,95	-	NO
9	5,98	2,44	<1	<2,08	<0,39	NO
10	7,60	3,60	<1	<1,96	<0,86	NO
11	7,60	5,03	<1	<1,29	<0,20	NO
12	7,60	4,34	<1	<2,05	<1,09	NO
X±DS/%	6,38±0,73	3,47±0,71	<1	<2,29±0,8	<0,56±0,3	0%

Tablas y Figuras

Tabla 40. *S. pneumoniae* Cepa R. Tratamiento con eritromicina 30 mg/kg

iv.

Nº	INOCULO log ufc/mL	HEMOCULTIVO 24HORAS INOCULACION log ufc/mL	HEMOCULTIVO PRESACRIFICIO log ufc/mL	VEGETACIONES log ufc/g	PULMON log ufc/g	EXITUS
1	6,50	4,41	<1	<1,55	<1,65	NO
2	6,50	2,25	<1	<1,89	<0,43	NO
3	6,50	2,90	<1	<1,86	<0,39	NO
4	6,50	3,04	<1	<1,67	0,96	NO
5	6,50	3,79	<1	<2,09	<0,62	NO
6	7,99	3,47	<1	<2,26	<0,96	NO
7	7,99	3,47	<1	<2,05	<0,93	NO
8	7,99	4,25	<1	<1,79	<0,47	NO
9	7,99	2,84	<1	<2,03	<0,17	NO
10	7,11	4,50	-	-	-	SI
11	7,11	3,90	<1	<1,66	<1,04	NO
12	7,11	3,95	<1	<2,06	<1,34	NO
13	7,11	>5	-	-	-	SI
14	7,11	3,60	<1	<1,63	<0,96	NO
15	7,11	4,20	<1	<1,71	<1,20	NO
16	7,11	3,34	<1	4,10	<0,99	NO
X±DS/%	7,13±0,57	3,68±0,71	1	2,02±0,63	0,86±0,40	12,5%

Tablas y Figuras

Tabla 41. *S. pneumoniae* Cepa R. Tratamiento con vancomicina 25 mg/kg iv.

Nº	INOCULO log ufc/mL	HEMOCULTIVO 24HORAS INOCULACION log ufc/mL	HEMOCULTIVO PRESACRIFICIO log ufc/mL	VEGETACIONES log ufc/g	PULMON log ufc/g	EXITUS
1	7,23	2,30	-	-	-	SI
2	7,23	3,60	<1	<1,26	<0,51	NO
3	7,23	3,00	<1	<2,16	<0,37	NO
4	7,23	3,60	<1	<3,15	<0,67	NO
5	7,23	3,14	<1	<1,85	<0,17	NO
6	6,92	4,92	<1	<1,82	<0,53	NO
7	6,92	3,95	<1	<1,69	<0,36	NO
8	6,92	4,07	<1	<1,84	<0,03	NO
9	6,92	3,00	-	2,48	0,19	NO
10	6,92	3,00	<1	1,36	0,14	NO
X±DS/%	7,06±0,16	3,45±0,73	1	1,95±0,58	0,33±0,21	10%

Tabla 42. Número de microorganismos en las vegetaciones aórticas (log ufc/g), en los distintos grupos terapéuticos, para las tres cepas estudiadas.

	CEPA S	CEPA RI	CEPA R
ANTIMICROBIANOS	log ufc/g	log ufc/g	log ufc/g
CONTROLES	8,52±1,3	8,07±1,74	8,93±0,37
PENICILINA	1,71±0,3	2,25±0,8	2,11±1,04
CEFUROXIMA	1,68±0,3	1,99±0,7	5,21±2,8
CEFOTAXIMA	2,03±0,6	2,70±1,2	3,82±2,3
CEFTRIAXONA	2,41±0,5	1,75±0,3	2,29±0,8
ERITROMICINA	1,87±0,3	1,62±0,2	2,02±0,63
VANCOMICINA	1,90±0,6	2,22±0,4	1,95±0,58

Tabla 43. Porcentaje de vegetaciones estériles en los distintos grupos terapéuticos, para las tres cepas estudiadas.

	CEPA S	CEPA RI	CEPA R
ANTIMICROBIANOS	%	%	%
CONTROLES	0	0	0
PENICILINA	100	90,9	81,8
CEFUROXIMA	100	100	22,2
CEFOTAXIMA	100	81,8	66,6
CEFTRIAXONA	100	100	83,3
ERITROMICINA	100	100	92,8
VANCOMICINA	90	100	88,8

Tablas y Figuras

Tabla 44. Número de microorganismos en los hemocultivos tomados previos al sacrificio (log ufc/ml), en los distintos grupos terapéuticos, Para las tres cepas estudiadas.

	CEPA S	CEPA I	CEPA R
ANTIMICROBIANOS	log ufc/g	log ufc/g	log ufc/g
CONTROLES	4,13±0,48	4,45±1,01	4,39±0,50
PENICILINA	<1	<1	1,07±0,23
CEFUROXIMA	<1	<1	3,69±1,18
CEFOTAXIMA	<1	<1	1,91±1,27
CEFTRIAXONA	<1	<1	<1
ERITROMICINA	<1	1,13±0,3	<1
VANCOMICINA	<1	<1	<1

Tabla 45. Comparación de los parámetros de gravedad según la sensibilidad de la cepa en los grupos controles.

	CEPA S	CEPA RI	CEPA R
Vegetaciones log ufc/g($X \pm DS$)	8,52 \pm 1,3	8,07 \pm 1,74	8,93 \pm 0,37
Hemocultivos presacrificio log ufc/mL($X \pm DS$)	4,13 \pm 0,48	4,45 \pm 1,01	4,39 \pm 0,50
Mortalidad (%)	0	23,5	0

Tabla 46. Comparación de las variables de la endocarditis según la sensibilidad de la cepa en los grupos tratados con penicilina G procaina.

	CEPA S	CEPA RI	CEPA R
Vegetaciones log ufc/g($X \pm DS$)	1,71 \pm 0,3	2,25 \pm 0,80	2,11 \pm 1,04
Hemocultivos presacrificio log ufc/mL ($X \pm DS$)	<1	<1	1,07 \pm 0,23
Vegetaciones esteriles(%)	100	90,9	81,8
Mortalidad (%)	0	0	8,3

Tabla 47. Comparación de las variables de la endocarditis según la sensibilidad de la cepa en los grupos tratados con cefuroxima.

	CEPA S	CEPA RI	CEPA R
Vegetaciones log ufc/g(X±DS)	1,68±0,3	1,99±0,70	5,21±2,80
Hemocultivos presacrificio log ufc/mL (X±DS)	<1	<1	3,69±1,18
Vegetaciones esteriles(%)	100	100	22,2
Mortalidad (%)	0	7,1	0

Tabla 48. Comparación de las variables de la endocarditis según la sensibilidad de la cepa en los grupos tratados con cefotaxima.

	CEPA S	CEPA RI	CEPA R
Vegetaciones log ufc/g($X \pm DS$)	2,03 \pm 0,6	2,70 \pm 1,20	3,82 \pm 2,30
Hemocultivos presacrificio log ufc/mL ($X \pm DS$)	<1	<1	1,91 \pm 1,27
Vegetaciones esteriles (%)	100	81,8	66,6
Mortalidad (%)	0	15,3	0

Tabla 49. Comparación de las variables de la endocarditis según la sensibilidad de la cepa en los grupos tratados con ceftriaxona

	CEPA S	CEPA RI	CEPA R
Vegetaciones log ufc/g($X \pm DS$)	2,41 \pm 0,5	1,75 \pm 0,30	2,29 \pm 0,80
Hemocultivos presacrificio log ufc/mL ($X \pm DS$)	<1	<1	<1
Vegetaciones esteriles (%)	100	100	83,3
Mortalidad (%)	13,6	0	0

Tabla 50. Comparación de las variables de la endocarditis según la sensibilidad de la cepa en los grupos tratados con eritromicina.

	CEPA S	CEPA RI	CEPA R
Vegetaciones log ufc/g($X \pm DS$)	1,87 \pm 0,3	1,62 \pm 0,20	2,02 \pm 0,63
Hemocultivos presacrificio log ufc/mL ($X \pm DS$)	<1	1,13 \pm 0,3	<1
Vegetaciones esteriles (%)	100	100	92,8
Mortalidad (%)	0	44,4	12,5

Tabla 51. Comparación de las variables de la endocarditis según la sensibilidad de la cepa en los grupos tratados con vancomicina

	CEPA S	CEPA RI	CEPA R
Vegetaciones log ufc/g(X±DS)	1,90±0,6	2,22±0,40	1,95±0,58
Hemocultivos presacrificio log ufc/mL (X±DS)	<1	<1	<1
Vegetaciones esteriles (%)	90	100	88,8
Mortalidad (%)	0	10	10

Tabla 52. Porcentaje de pulmones estériles en los distintos grupos terapéuticos, para las tres cepas estudiadas.

	CEPA S	CEPA RI	CEPA R
ANTIMICROBIANOS	%	%	%
CONTROLES	0	0	0
PENICILINA	100	77,7	100
CEFUROXIMA	100	100	28,5
CEFOTAXIMA	100	100	70
CEFTRIAXONA	100	100	100
ERITROMICINA	100	100	92,8
VANCOMICINA	100	100	77,7

Tabla 53. Número de microorganismos en las muestras de pulmón (log ufc/g), en los distintos grupos terapéuticos.

	CEPA S	CEPA RI	CEPA R
ANTIMICROBIANOS	log ufc/g	log ufc/g	log ufc/g
CONTROLES	2,65±0,49	4,13±1,85	3,34±0,57
PENICILINA	0,3±0,2	0,85±0,61	0,48±0,29
CEFUROXIMA	1,02±0,2	0,64±0,23	2,68±2,19
CEFOTAXIMA	0,7±0,3	0,2±0,3	1,26±1,2
CEFTRIAXONA	0,3±0,3	0,7±0,2	0,56±0,3
ERITROMICINA	0,8±0,4	0,4±0,2	0,8±0,4
VANCOMICINA	0,2±0,2	0,6±0,2	0,33±0,21

Fig 1: Actividad bactericida de penicilina frente a *S.pneumoniae* S

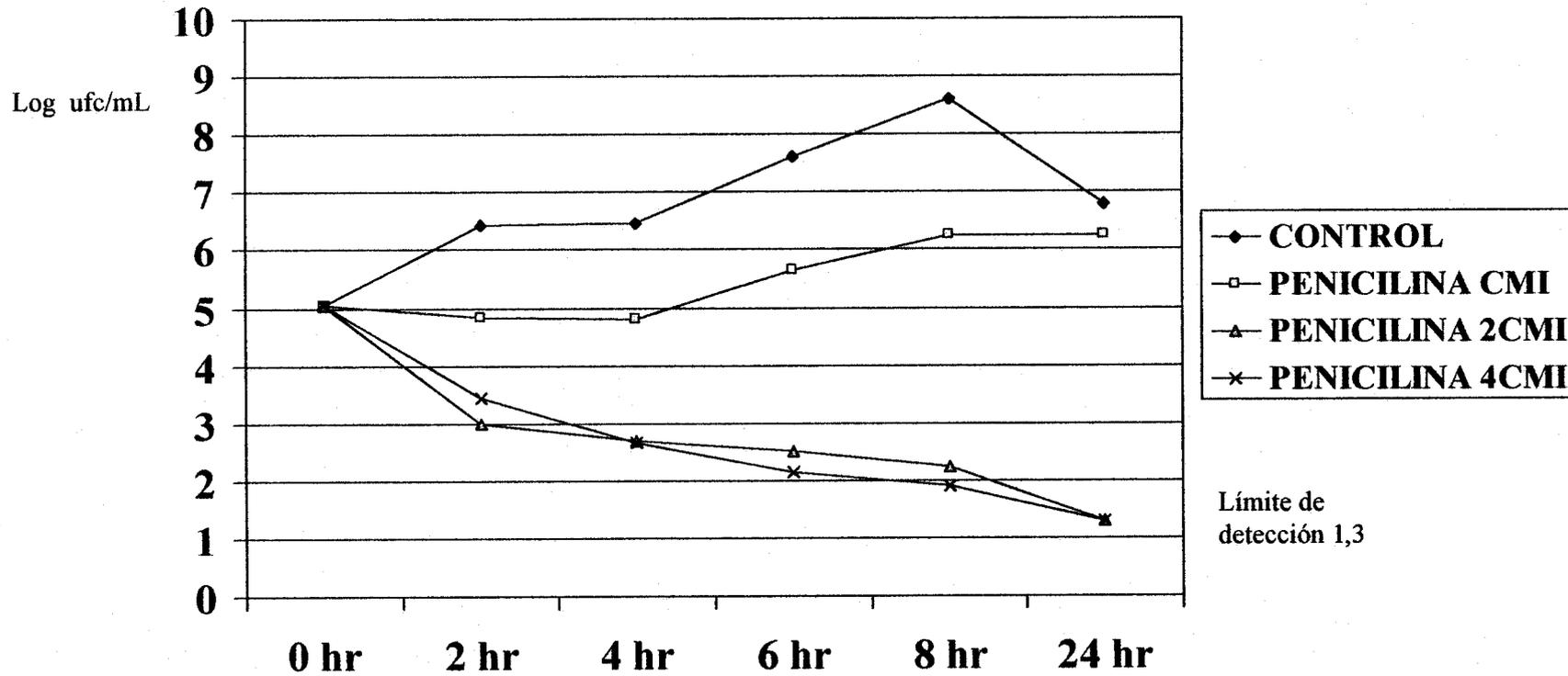


Fig 2: Actividad bactericida de penicilina frente a *S.pneumoniae* RI

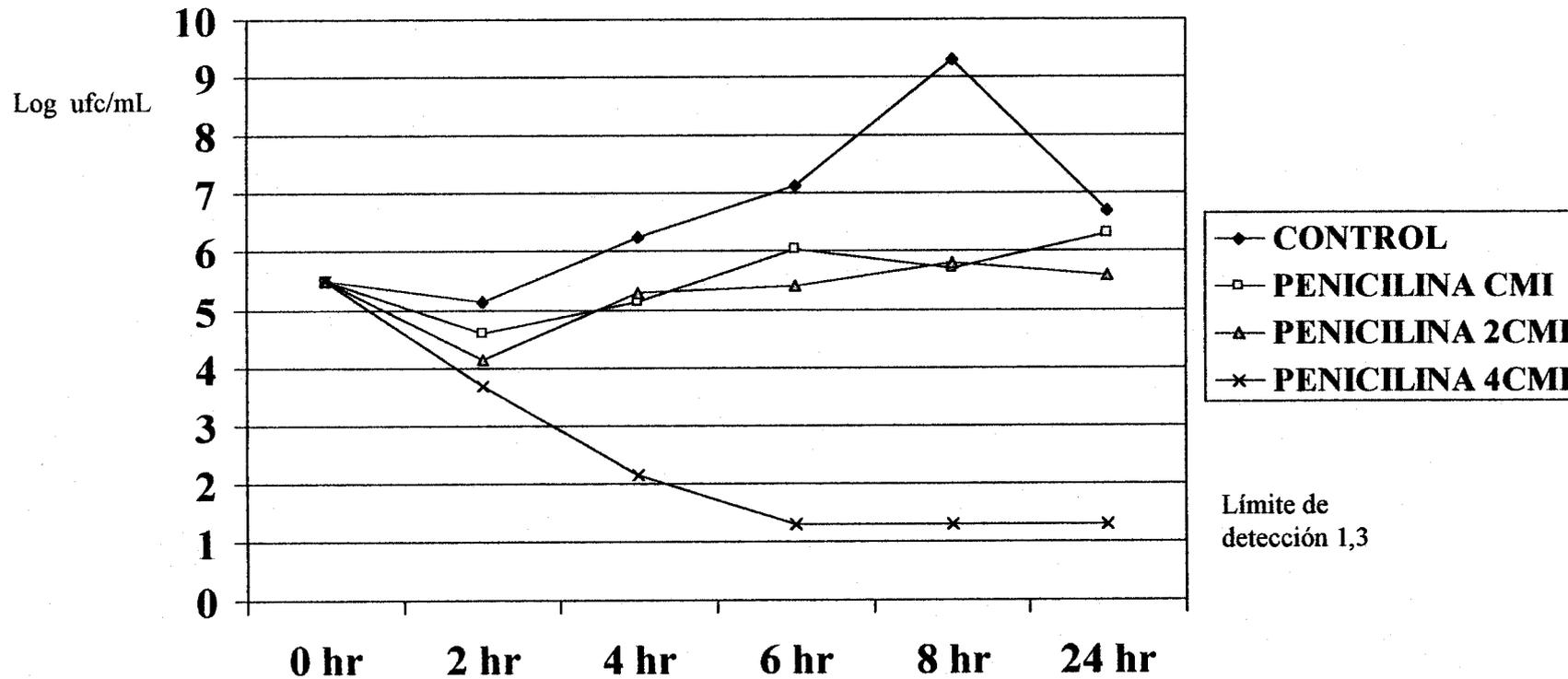


Fig 3: Actividad bactericida de penicilina frente a *S.pneumoniae* R

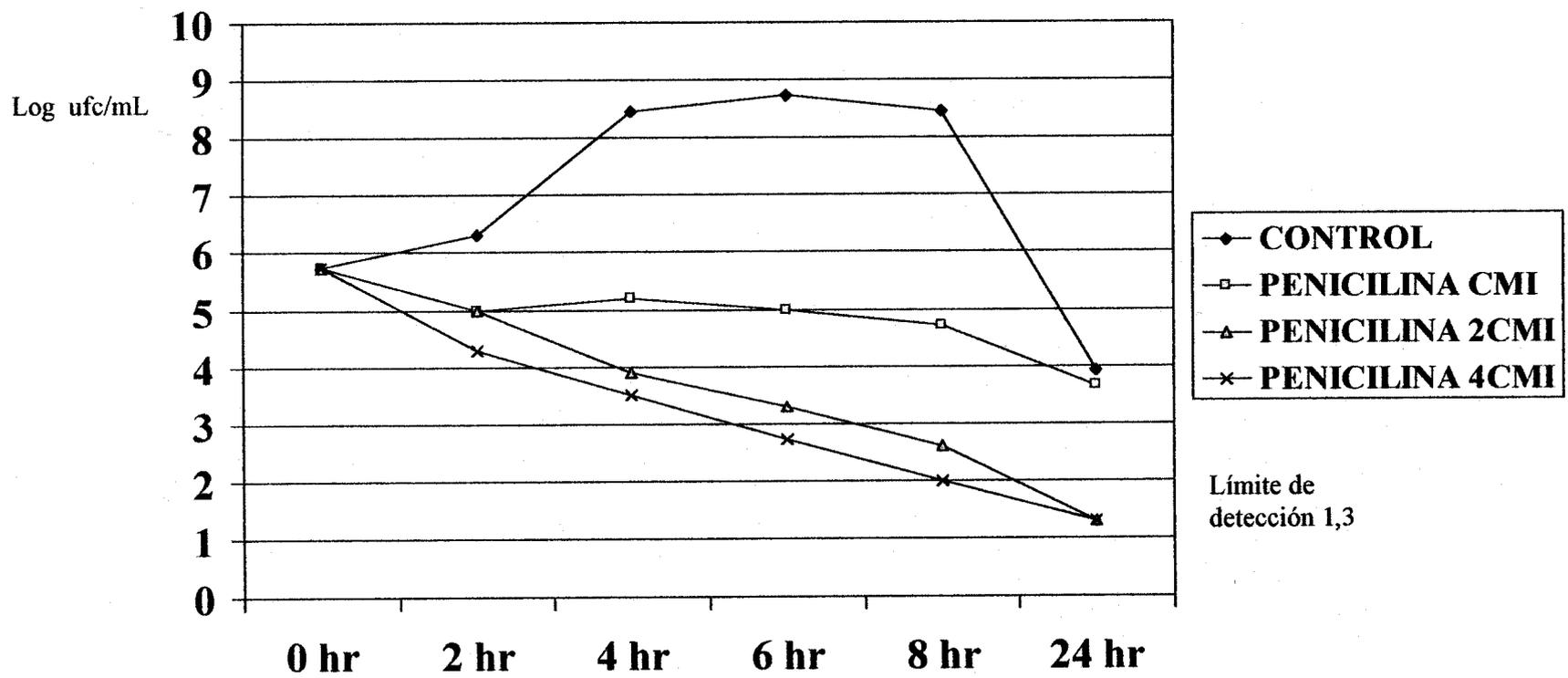


Fig 4: Actividad bactericida de cefuroxima frente a *S.pneumoniae* S

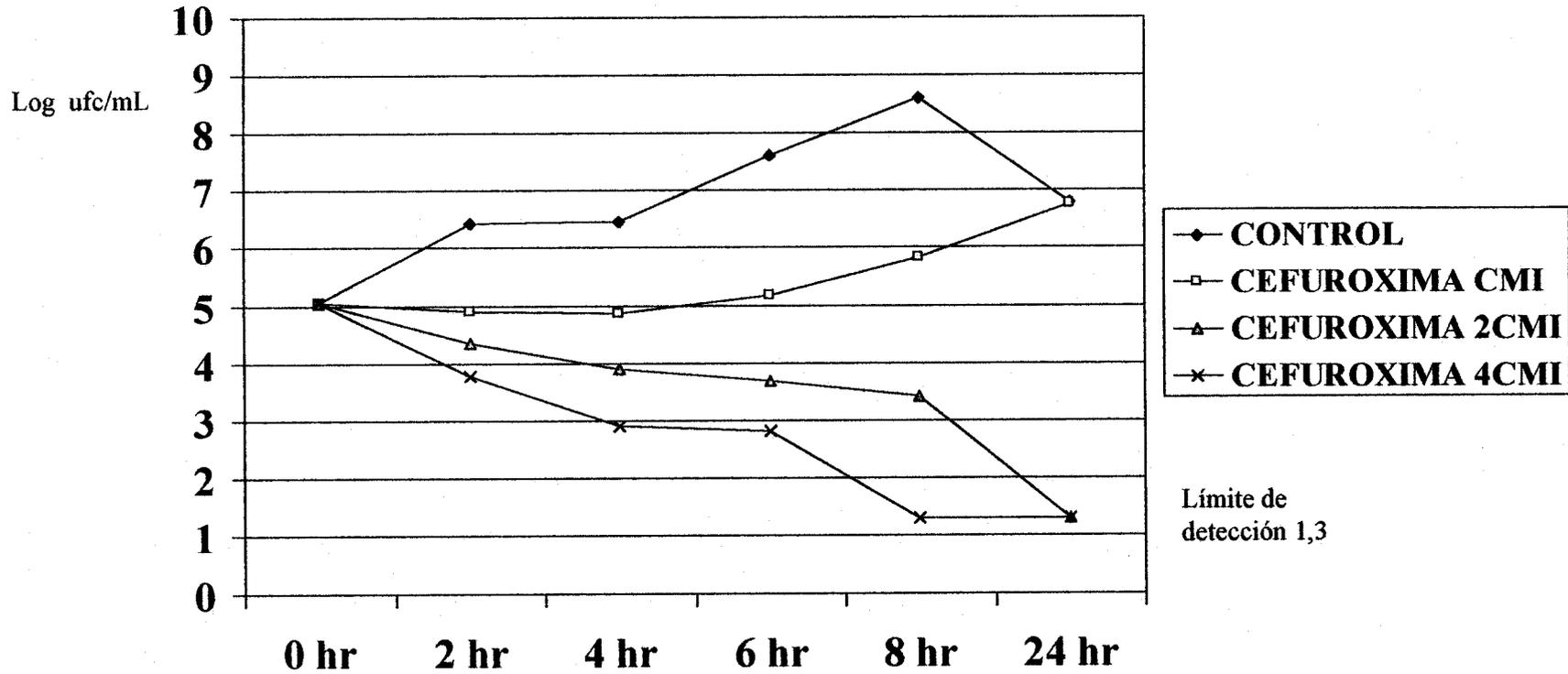


Fig 5: Actividad bactericida de cefuroxima frente a *S.pneumoniae* RI

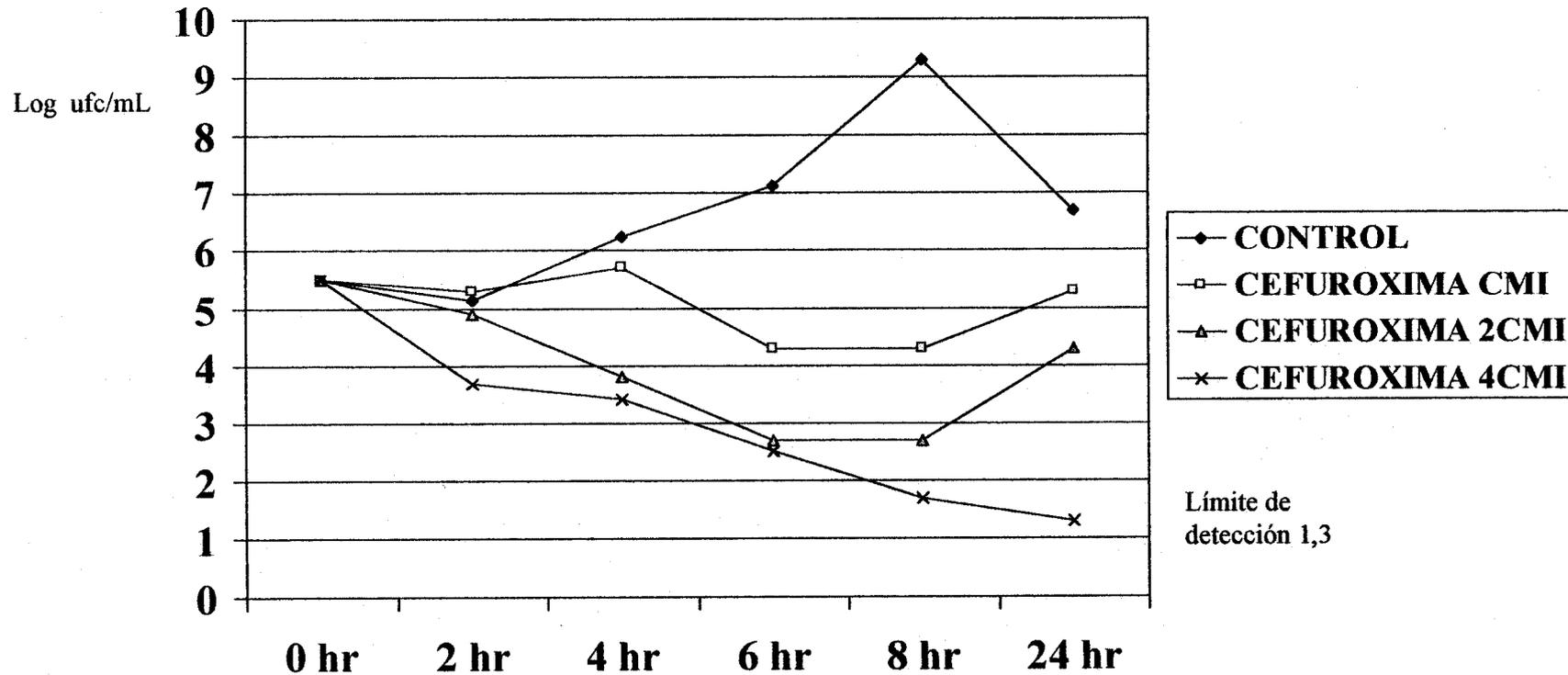


Fig 6: Actividad bactericida de cefuroxima frente a *S.pneumoniae* R

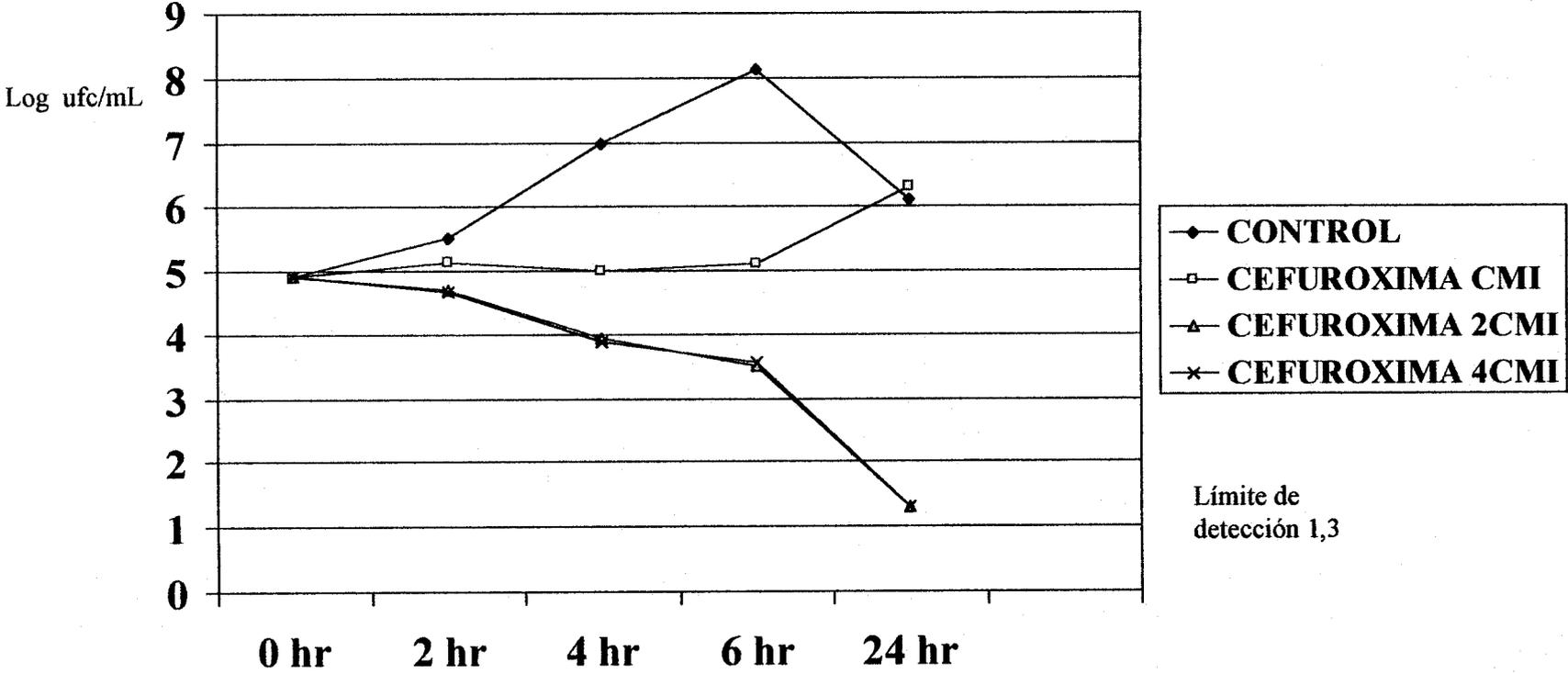


Fig 7: Actividad bactericida de cefotaxima frente a *S.pneumoniae* S

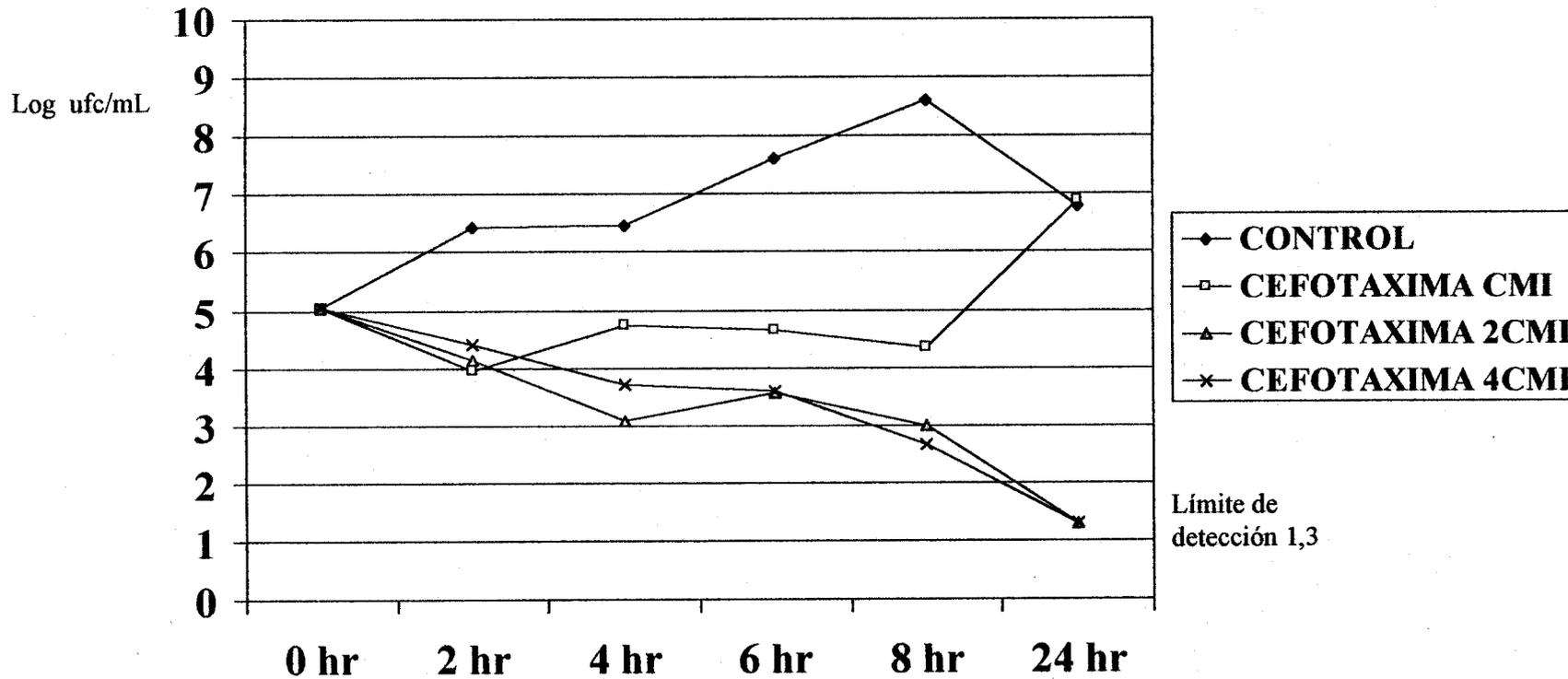


Fig 8: Actividad bactericida de cefotaxima frente a *S.pneumoniae* RI

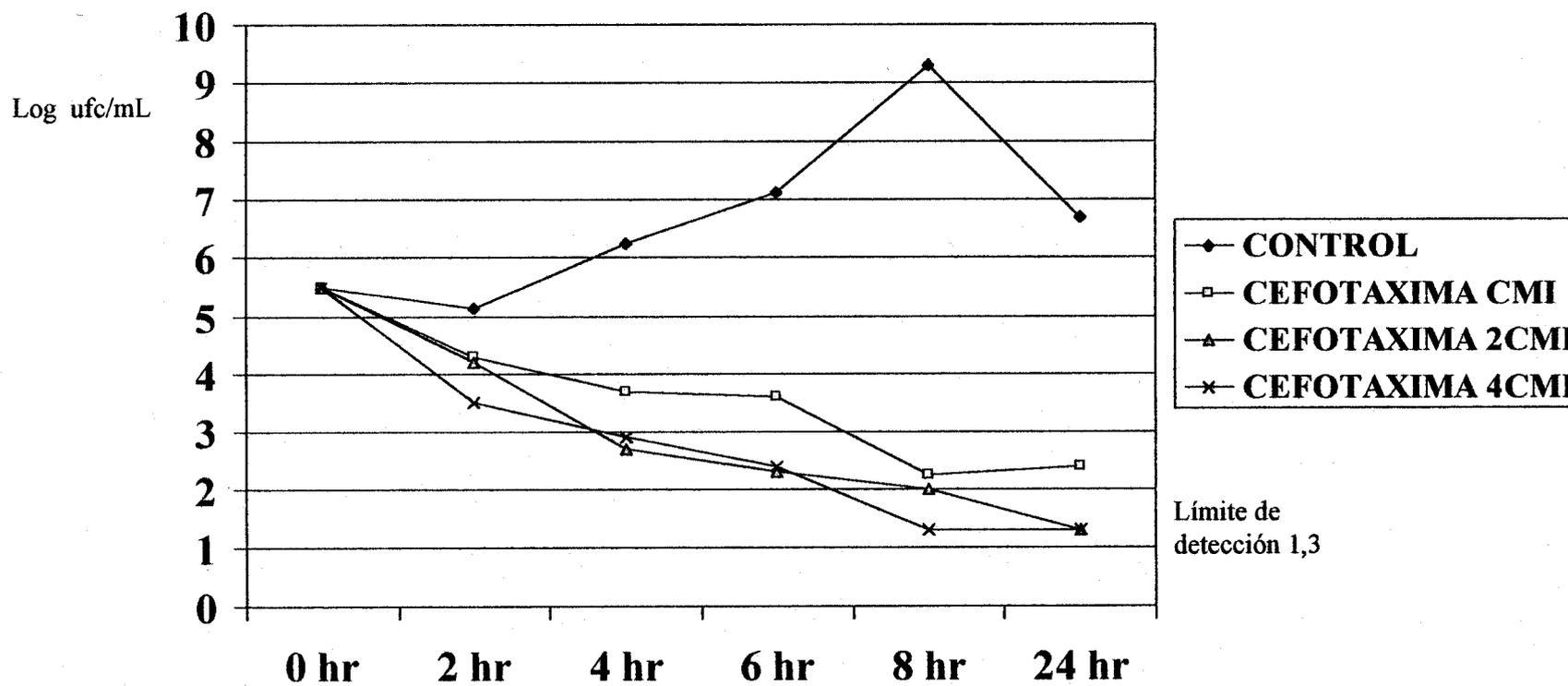


Fig 9: Actividad bactericida de cefotaxima frente a *S.pneumoniae* R

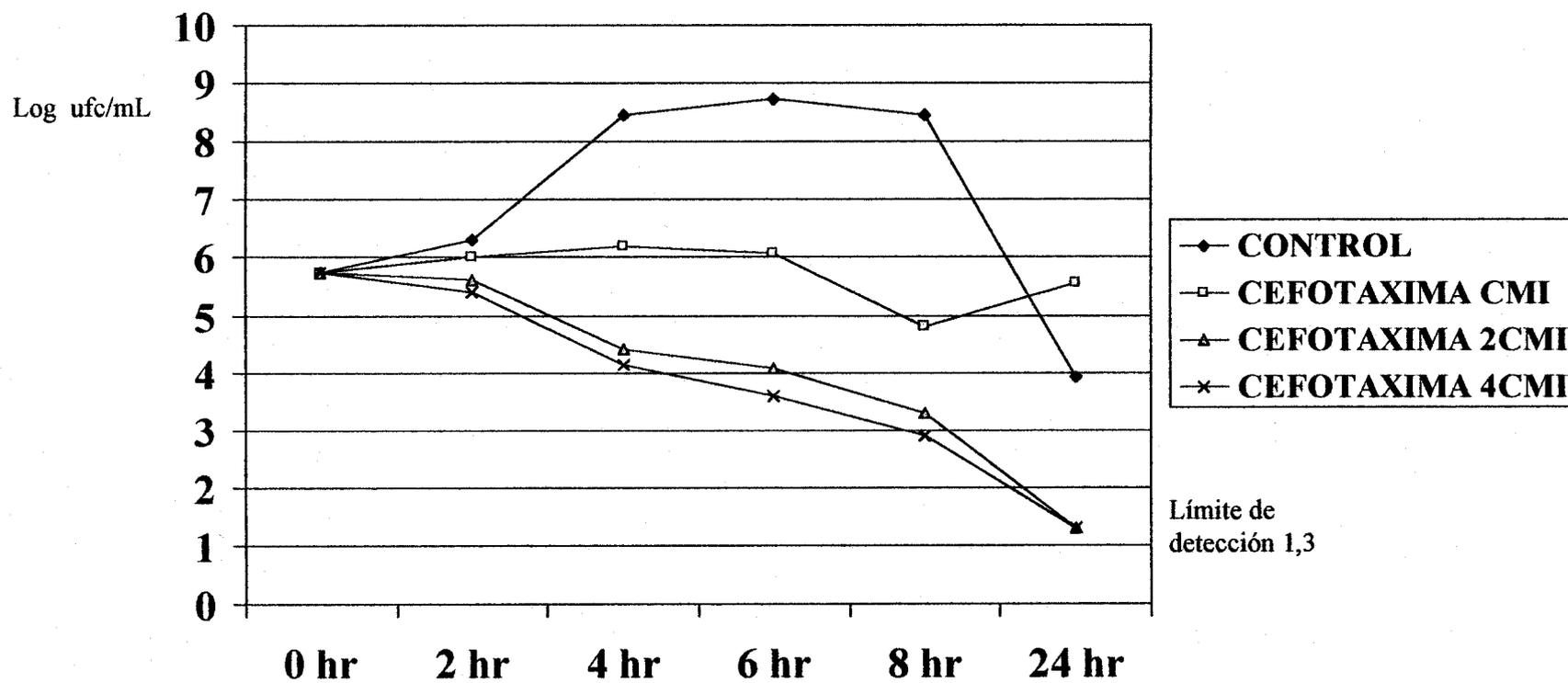


Fig 10: Actividad bactericida de ceftriaxona frente a *S.pneumoniae* S

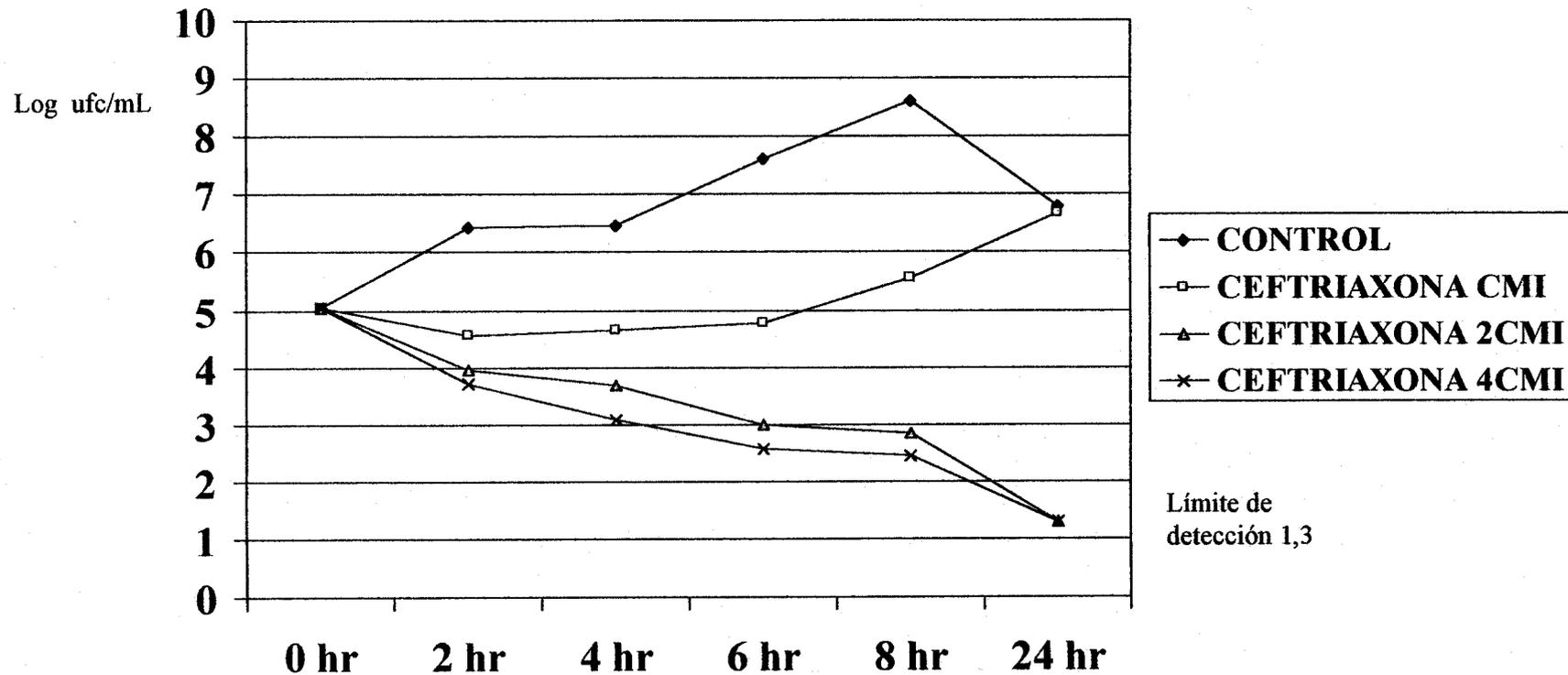


Fig 11: Actividad bactericida de ceftriaxona frente a *S.pneumoniae* RI

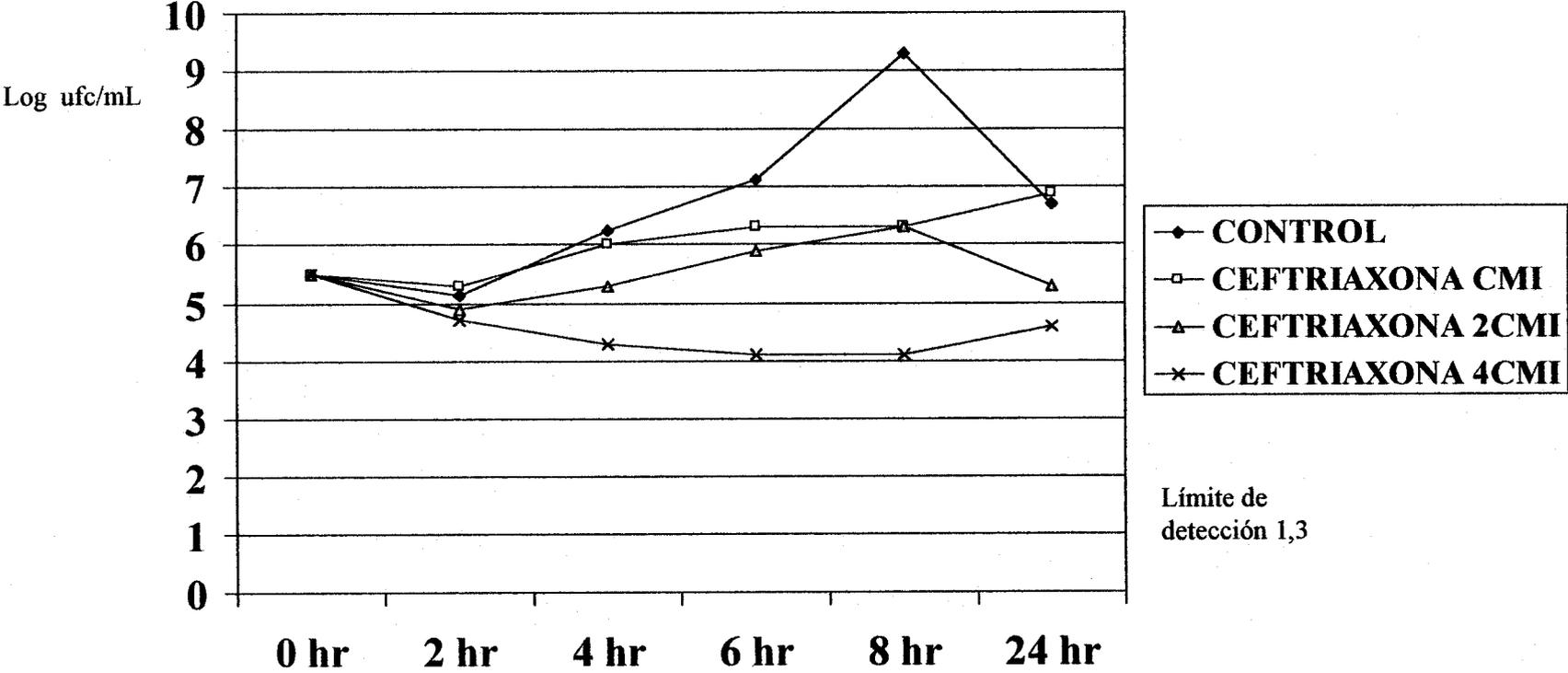


Fig 12: Actividad bactericida de ceftriaxona frente a *S.pneumoniae* R

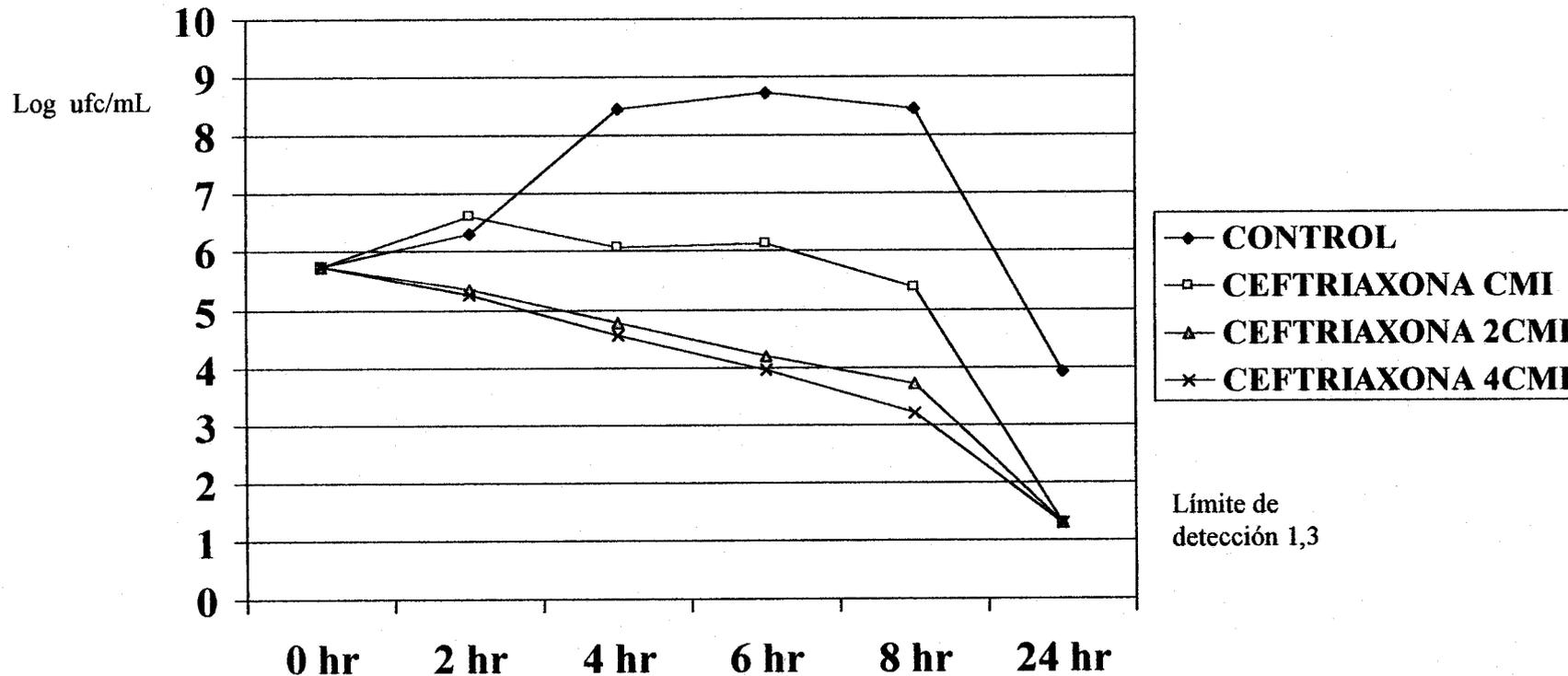


Fig 13: Actividad bactericida de eritromicina frente a *S.pneumoniae* S

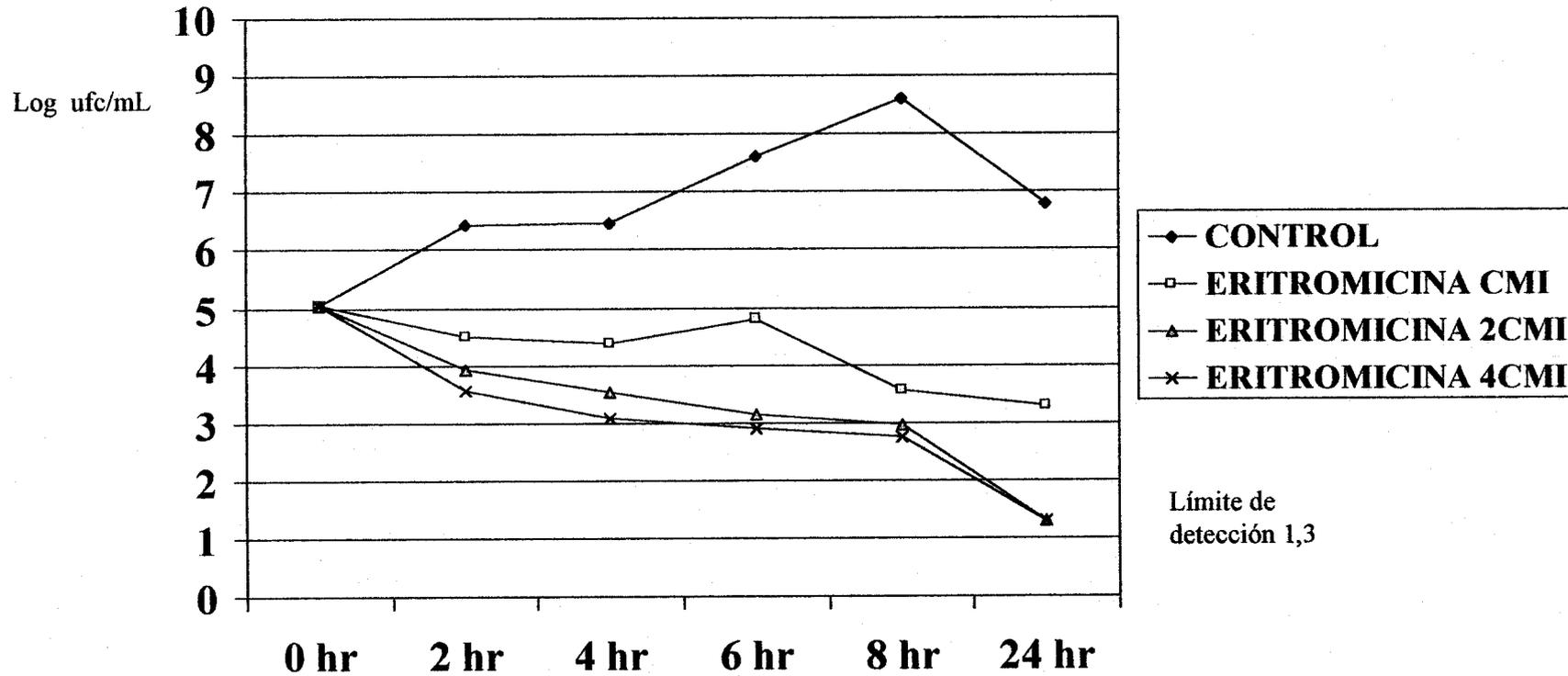


Fig 14: Actividad bactericida de eritromicina frente a *S.pneumoniae* RI

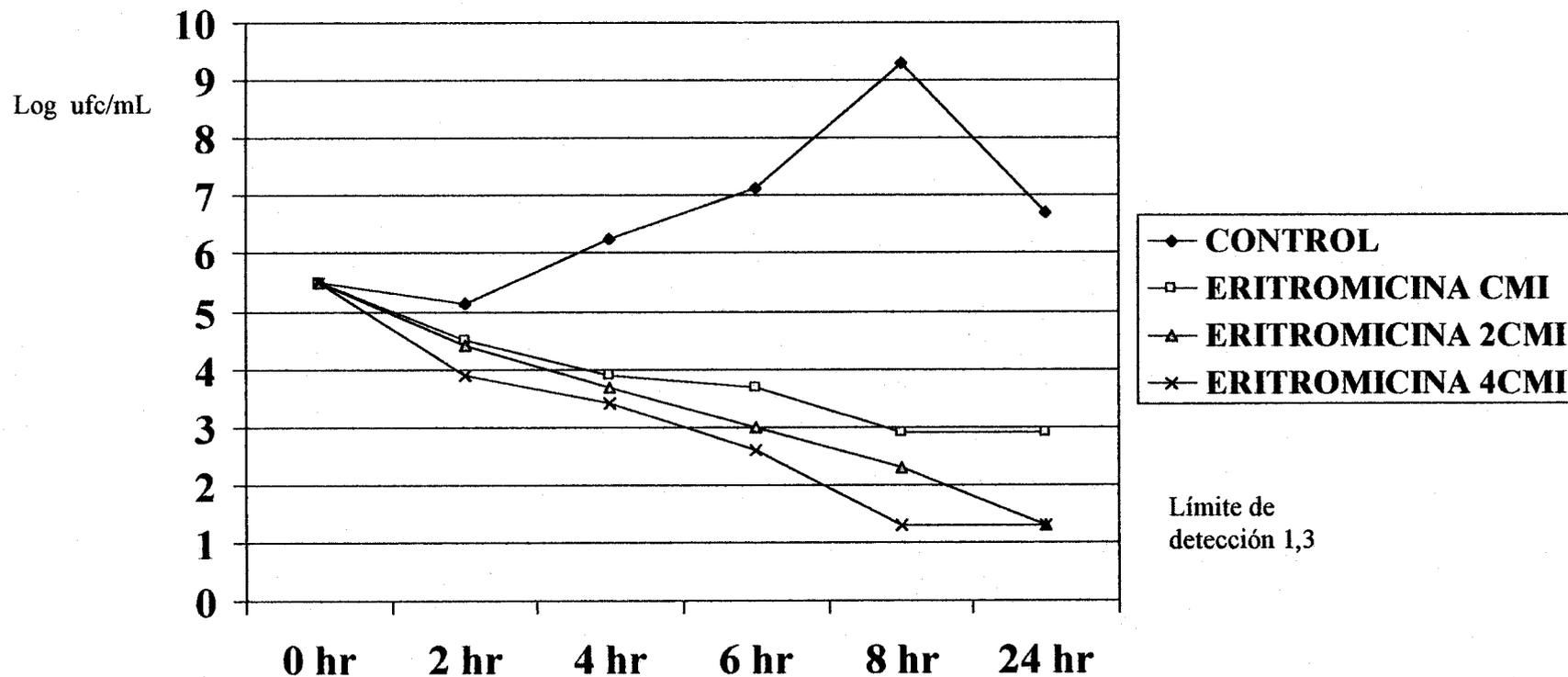


Fig 15: Actividad bactericida de eritromicina frente a *S.pneumoniae* R

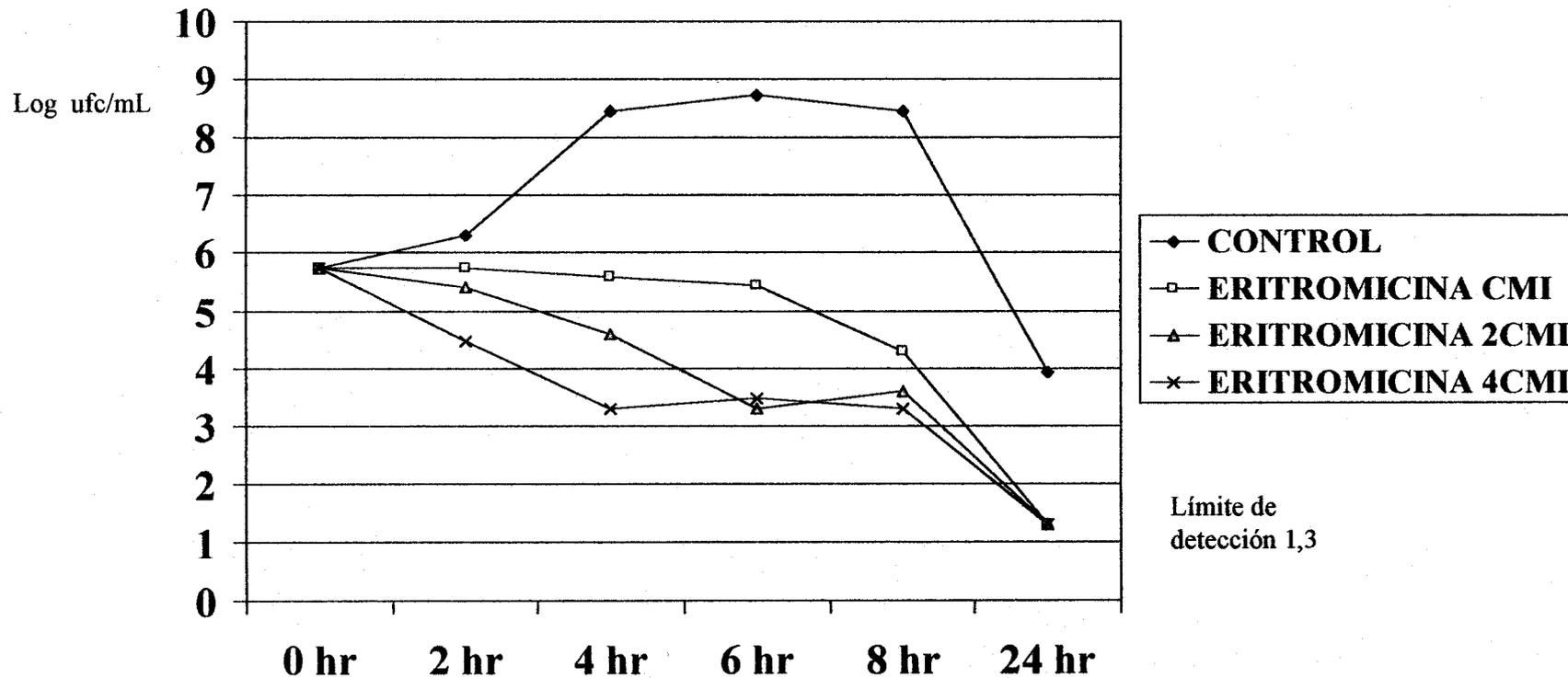


Fig 16: Actividad bactericida de vancomicina frente a *S.pneumoniae* S

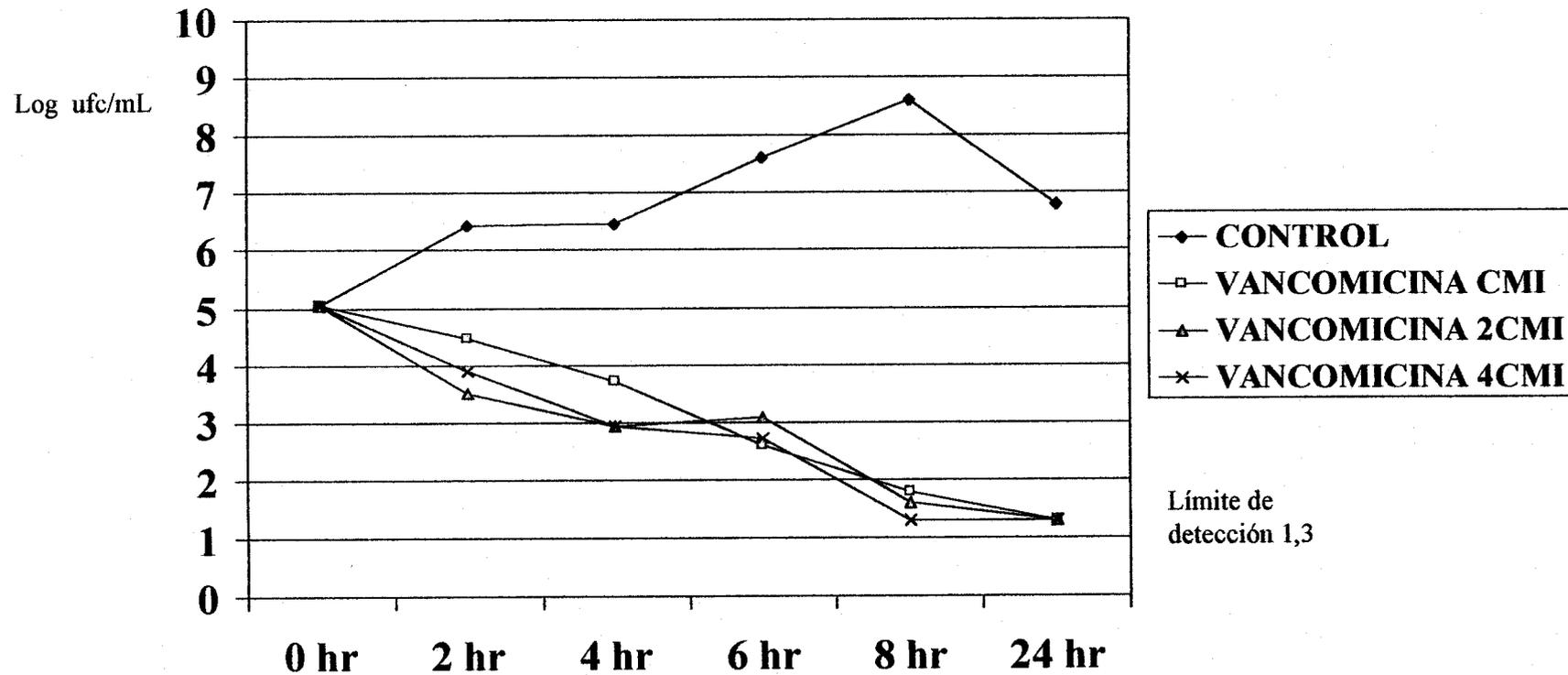


Fig 17: Actividad bactericida de vancomicina frente a *S.pneumoniae* RI

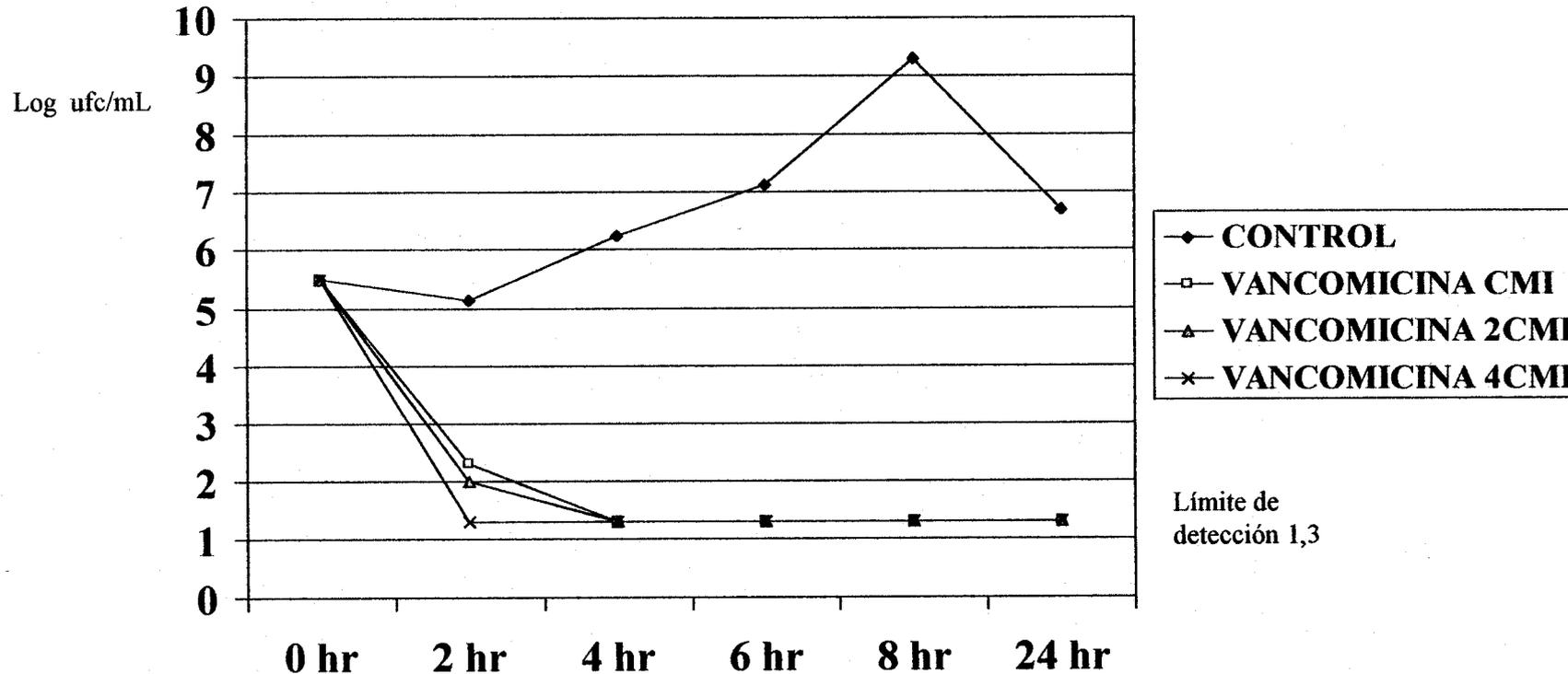
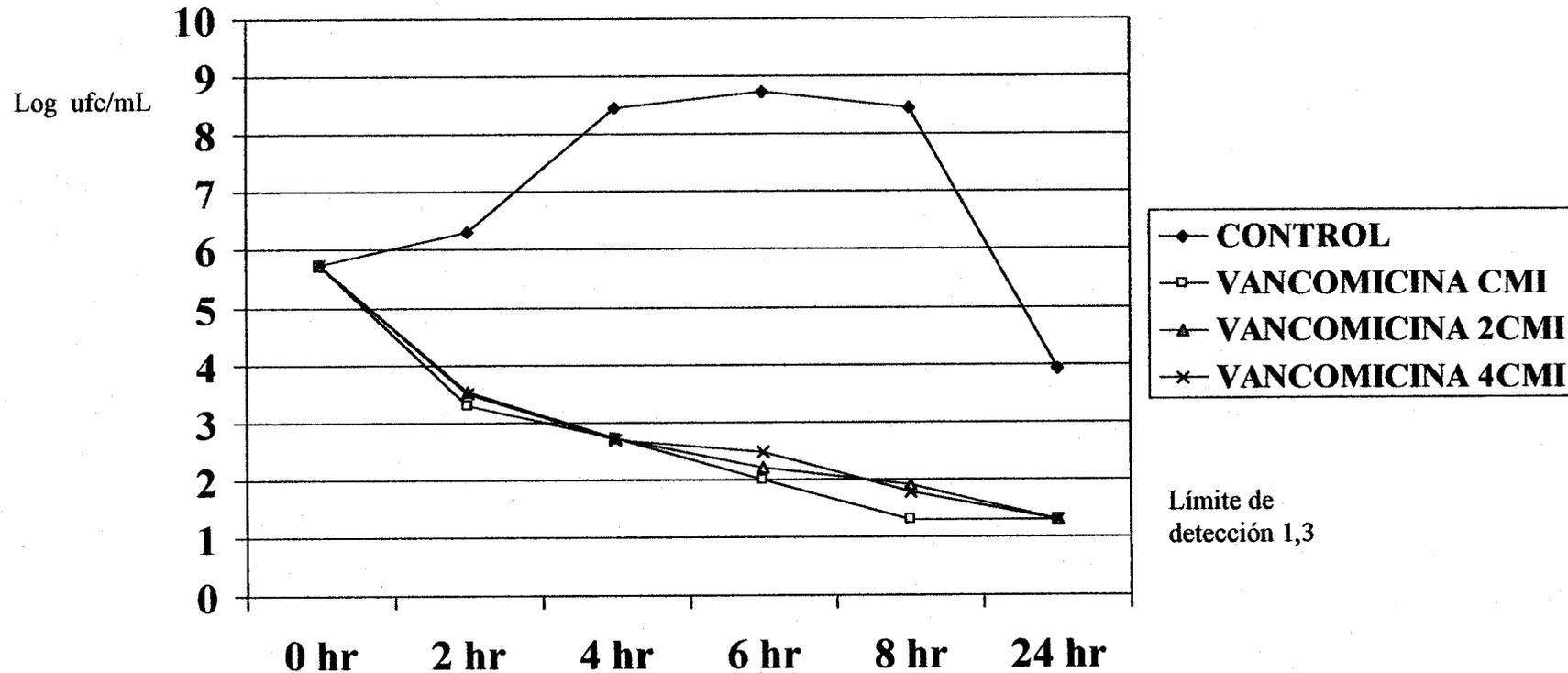


Fig 18: Actividad bactericida de vancomicina frente a *S.pneumoniae* R



VII.DISCUSIÓN.-

VII.A ENDOCARDITIS EXPERIMENTAL

Como ya se comentó en la introducción, fue en los años 50 cuando Hamburguer y colaboradores diseñaron el primer modelo de endocarditis en perros para el estudio de terapéuticas antimicrobianas. Pero el modelo en conejos no fue descrito hasta 1971 por Peerlman y Freedman¹¹⁵ y fue modificado por Durack et al en 1973¹¹⁶. La endocarditis infecciosa experimental, producida tras la introducción de un catéter de polietileno a través de la válvula aórtica y la subsecuente inyección del inóculo bacteriano, ha sido utilizada ampliamente, entre otros objetivos para el estudio de la patogenia de la endocarditis infecciosa y de la eficacia de diversos medicamentos ante distintos agentes patógenos. El modelo permite el estudio de la concentración de microorganismos en la válvula aórtica, así como la comparación entre tejidos estériles, posibilitando la comparación entre diversas pautas terapéuticas, incluyendo diversos aspectos de sensibilidad de las cepas utilizadas y de la farmacocinética de los medicamentos utilizados.

Fernández Guerrero et al¹¹⁷ han referido datos sobre el tratamiento de la endocarditis neumocócica experimental, en un modelo en conejos, utilizando cepas de neumococo con CMI de penicilina de 1 mg/L y 4 mg/L, comprobando como la penicilina procaina a altas dosis fue tan

eficaz como la cefotaxima y la teicoplanina. La importancia de la aparición de cepas de *S. pneumoniae* altamente resistentes a penicilina y otros antimicrobianos, así como la falta de estudios comparativos clínicos hace que los resultados de este trabajo sean interesantes. No obstante, en nuestro trabajo aportamos la comparación de una cepa sensible a penicilina con dos cepas de características similares a las del trabajo anterior, evaluando de esta manera cuales son las diferencias que podríamos encontrar en la efectividad de los diferentes tratamientos en función de la CMI de las cepas. Por otro lado, nuestro trabajo evalúa la eficacia de otros antimicrobianos que como sabemos son alternativas terapéuticas en la infección neumocócica invasiva, como son otras cefalosporinas, tanto de segunda (cefuroxima) como de tercera generación (ceftriaxona y cefotaxima), así como vancomicina y eritromicina.

El modelo de endocarditis neumocócica experimental, no ha sido demasiado utilizado hasta ahora. Tan solo algunos autores¹¹⁷ se han servido de este modelo para la evaluación de alternativas terapéuticas en la infección neumocócica causada por cepas resistentes. En nuestro trabajo podemos destacar la reproductibilidad del modelo en todos los casos, así como con cepas con diferentes susceptibilidades a penicilina, ya sean totalmente sensibles o con algún grado de resistencia a este

Discusión

antimicrobiano. Por otro lado, también es destacable que no ha sido necesario un inóculo muy elevado ($\approx 10^6$ - 10^7 ufc/mL) para el desarrollo del modelo, así como tampoco han sido necesarias técnicas coadyuvantes para la facilitación de la producción de la infección como puede ser la mezcla del inóculo con mucina^{134,149}, o usar otras técnicas de preparación del inóculo para facilitar la infección^{146,147}. Hacer hincapié también en que se trata de un modelo no mortal, con lo cual no vamos a evaluar reducción de mortalidad, sino curación o reducción de microorganismos en los diferentes focos de infección, al tratarse de un modelo hematógeno, con respecto a los controles.

Los órganos en los que se produce el aclaramiento hemático del neumococo han sido estudiados tras una inyección intravenosa única de un inóculo de 10^6 - 10^7 UFC/ml marcado con ⁹⁹Tc, mostrando como el hígado capta el 60% del inóculo inyectado y el pulmón el 15%; en este estudio no se practicaron cultivos de los órganos tras el sacrificio de los animales, para conocer si las bacterias fueron destruidas tras la captación por los diferentes órganos¹¹⁹. La constancia de la bacteriemia en la endocarditis y el aclaramiento del neumococo por distintos órganos, sugiere la posibilidad de que se produzca una infección neumocócica diseminada en este modelo, al igual que ocurre en la endocarditis por *Candida* spp. No obstante, Perry et al¹²⁰ no encuentran cultivos positivos

Discusión

en distintos órganos tras la infección neumocócica bacteriémica producida en conejos tras la inoculación intraperitoneal; aunque no especifican el tiempo de extracción de los órganos tras el inóculo, el diseño de su estudio hace suponer que la duración de la bacteriemia fue escasa. En el modelo experimental de endocarditis, hemos podido demostrar la presencia de infección sistémica en el 100% de los animales que no fueron tratados. Todos los animales supervivientes fueron sacrificados, extrayéndoles previamente al sacrificio hemocultivos para demostrar que la bacteriemia no se aclaraba por si sola, así como también se le extrajo una cuña pulmonar para cultivo, demostrando, como se ha señalado anteriormente, la presencia en el 100% de los casos tanto bacteriemia como infección pulmonar, lo cual hace posible el estudio en paralelo de la actividad de distintos antimicrobianos sobre la endocarditis y sobre la neumonía.

VII. B. NEUMONÍA NEUMOCÓCICA EXPERIMENTAL.

El modelo de neumonía por *S. pneumoniae* se viene utilizando desde hace años¹²⁷. En 1941¹²⁷ se describía como el modelo de neumonía neumocócica en ratas podía ser mejorado simplemente utilizando neumococos en fase exponencial de crecimiento. Así, con este tipo de modelo se comprobó la eficacia de sulfamidas primero y de penicilina después. Actualmente, las neumonías neumocócicas han vuelto a cobrar una gran importancia debido al problema de las cepas resistentes a penicilina y eritromicina. Por ello, nuevamente se están empleando modelos de neumonía neumocócica que tratan de encontrar un tratamiento alternativo eficaz contra estas cepas resistentes.

Existen muchos trabajos en los que se describen modelos de neumonía neumocócica. La mayoría de estos trabajos utilizan animales inmunodeprimidos (mediante instilaciones intraperitoneales de ciclofosfamida, se les provoca una neutropenia¹³⁹⁻¹⁴⁴) para facilitar de esta manera el desarrollo de la infección deseada. Estos modelos tienen el inconveniente de no reflejar totalmente el proceso fisiológico natural de la neumonía, lo cual supone un problema a la hora de extrapolar los resultados que se obtengan con respecto a los diversos tratamientos antimicrobianos.

Discusión

Aunque la proporción es menor, también se han desarrollado algunos trabajos en los que se provoca neumonía por *S. pneumoniae* a animales sanos. Los resultados obtenidos mediante estos modelos son más extrapolables a la terapéutica antimicrobiana en humanos.

Entre los modelos de neumonía neumocócica que se desarrollan en animales sanos, podríamos destacar algunos. En un trabajo en cobayas¹⁴⁵ se realizó una instilación intratraqueal de 0,5 mL de un cultivo de 18 horas, concentrado 25 veces, de una cepa de *S. pneumoniae* con una CMI a penicilina de $1\mu\text{g}/\text{mL}$ (aproximadamente 3×10^9 ufc), lo que produjo una bacteriemia y una neumonía mortal en más del 85% de los animales sin tratamiento en menos de 46 horas, obteniendo una concentración de $8,83 \pm 1,11$ log ufc en el homogeneizado de pulmón; al ser un modelo con una elevada mortalidad, va a permitir el estudio de la supervivencia con los diferentes tratamientos antimicrobianos. Existen otros trabajos donde el modelo se realiza en ratas inmunocompetentes^{146,147}. En uno de estos, realizado por Gavaldá y colaboradores, se utiliza una cepa de *S. pneumoniae* resistente a penicilina (CMI= $2\mu\text{g}/\text{mL}$) inoculada intratraquealmente a ratas Wistar sanas a una concentración de 3×10^9 ufc. Los animales experimentan una neumonía mortal en el 70-80% de los casos sucediendo esto entre las 48-72 horas tras la inoculación; el conteo de bacterias en los pulmones se

Discusión

encontró entre 8 y 9 log ufc/g. Por último, también se ha desarrollado el modelo de neumonía en ratones sanos¹⁴⁸ ; mediante la inoculación intranasal de 10^6 ufc/mL de cepas penicilin-sensibles y penicilin-resistentes en fase de crecimiento exponencial se indujo neumonía y bacteriemia; con la cepa penicilin-resistente en los controles obtuvieron un número de microorganismos de 10^4 - 10^6 ufc/g de pulmón.

Como modelos de neumonía en conejos también existen algunos trabajos. Recientemente, en el 9th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases se presentó un trabajo¹⁵⁰ en el que se mostraba un modelo de neumonía neumocócica (con inoculación intrabronquial) en conejo inmunocompetente causada por cepas susceptibles y resistentes a penicilina, obteniéndose una concentración de microorganismos en el pulmón de 5,78 y 4,15 log ufc/g, respectivamente.

En nuestro trabajo, durante el desarrollo del modelo de endocarditis, pudimos confirmar, como ya se ha comentado anteriormente, la presencia de neumonía en todos los animales que se utilizaron como controles sin tratamiento. La media de microorganismos en los pulmones fue de 2,65 log ufc/g para la cepa sensible a penicilina, 4,13 log ufc/g para la cepa intermedia a penicilina y de 3,34 log ufc/g para

Discusión

la cepa resistente a penicilina. Aunque el contaje de bacterias en los pulmones no es tan elevado como en los modelos de neumonía que hemos comentado, nos permite, no obstante, realizar comparaciones en cuanto a la efectividad de diversos tratamientos antimicrobianos por lo que se refiere a la esterilización y reducción de microorganismos en el tejido pulmonar. Estos datos permiten describir la caracterización del modelo de neumonía neumocócica por vía hematógica, lo que abre una vía para futuros estudios basados en este modelo.

VII.C. ESTUDIO DE LA BACTERIEMIA.

El modelo de endocarditis aórtica experimental neumocócica permite estudiar la endocarditis en si, así como conocer la efectividad de los diversos tratamientos antimicrobianos sobre las vegetaciones que aparecen en la válvula aórtica. No obstante, la endocarditis neumocócica no es una infección frecuente. Lo que si es más interesante de este modelo es usarlo como modelo de bacteriemia, ya que las infecciones graves por *S. pneumoniae* cursan casi todas con bacteriemia.

El estudio de la bacteriemia en el modelo de endocarditis experimental, previa a la instauración del tratamiento antimicrobiano, va a permitir comprobar la producción de la endocarditis. Durante el desarrollo del modelo de endocarditis neumocócica experimental, grupos controles de animales fueron sacrificados inmediatamente después de la extracción de los hemocultivos comprobando que los animales cuyo hemocultivo era positivo, tenían en la válvula aórtica vegetaciones de un tamaño considerable (2-3mm); así como que las válvulas que carecían de vegetaciones coincidían con los hemocultivos que fueron negativos.

Por otro lado, la resolución o no del proceso infeccioso con los diferentes tratamientos antimicrobianos con respecto a los grupos

Discusión

controles puede seguirse mediante el estudio de la bacteriemia previa al sacrificio. Existen controversias en cuanto a la eficiencia de los hemocultivos en la endocarditis para conocer la eficacia del tratamiento, debido al posible efecto de las concentraciones residuales de la última dosis de los antimicrobianos sobre el crecimiento bacteriano *in-vitro*. Existe un trabajo que estudia los hemocultivos en la endocarditis experimental¹³⁸. En este trabajo se comparan diversos medios de cultivo para diversos microorganismos y con concentraciones diferentes de varios antimicrobianos. Entre las conclusiones de este trabajo, se puede destacar que, según los resultados obtenidos, los hemocultivos son capaces de permitir el crecimiento de microorganismos a pesar de la presencia de antimicrobianos. No obstante, la eficiencia de este cultivo va a depender de la concentración relativa de antimicrobianos así como de la CMI para el microorganismo¹³⁸.

Los resultados del trabajo comentado anteriormente corroboran la utilidad de los datos obtenidos en nuestro trabajo sobre los hemocultivos presacrificio. En primer lugar, como ya se comentó en el apartado del material y métodos, la extracción de dichos hemocultivos se realizó tras un intervalo de 12-18 horas desde la última dosis de antimicrobianos. Como se observa en el análisis farmacocinético en ninguno de los tratamientos establecidos la vida media de los fármacos superó las 6

Discusión

horas y en ningún caso el tiempo por encima de la CMI fue superior a 14 horas, además en la mayoría de los casos este parámetro no superó las 8 horas. En segundo lugar, al tratarse de hemocultivos cuantitativos, se realizaron diluciones seriadas decimales, con lo cual la concentración de antimicrobiano existente se redujo 10 veces en cada dilución. Todo esto no hace mas que afianzar la utilidad diagnóstica de esta prueba en nuestro modelo.

El número de microorganismos en los hemocultivos tomados previos al sacrificio (log ufc/mL) en los grupos controles fue superior a 4,13 para las tres cepas estudiadas. Por otra parte la reducción del número de colonias o la esterilización de los hemocultivos en los diferentes grupos terapéuticos se asocia bastante bien al cultivo del material valvular. Podemos ver como para los grupos inoculados con las cepas S y RI, en los que todos los tratamientos se esterilizaron entre el 80 y el 100% del tejido valvular, con los hemocultivos ocurre algo similar, todos los tratamientos esterilizaron prácticamente el 100% de los hemocultivos. Con la cepa R se observa como los tratamientos que esterilizaron mayor número de vegetaciones, fueron también los que esterilizaron mayor número de hemocultivos, así como los que contaron con un menor número de microorganismos.

VII. D. INFLUENCIA DE LA SENSIBILIDAD A PENICILINA EN LA GRAVEDAD DE LA ENDOCARDITIS.

Entre los objetivos de nuestro trabajo, nos proponíamos estudiar la influencia de la sensibilidad o resistencia a la penicilina del neumococo en la gravedad de la endocarditis. Para ello se han comparado los grupos controles (no tratamiento), a través del análisis de la mortalidad y la concentración de microorganismos en la válvula (log UFC/g de tejido) y sangre (log UFC/mL). Con este análisis, se pudo comprobar que no existía diferencia significativa en cuanto a la concentración de microorganismos en la válvula y en sangre, en relación con el grado de susceptibilidad de los neumococos a penicilina. En lo que se refiere al análisis de la mortalidad, encontramos que con la cepa de resistencia intermedia existió mayor mortalidad que con el resto de las cepas (23,5% vs 0% para las otras dos cepas, $p < 0,05$). Estas diferencias en cuanto a la mortalidad entre las cepas, no son achacables a la resistencia o no a penicilina de estas, ya que en ese caso la cepa resistente sería la que mayor mortalidad tendría. Además, el resto de parámetros que indican gravedad de la enfermedad no presentan variaciones dependiendo de la cepa. Existe un estudio de Pallarés y colaboradores⁸⁷, en el que a lo largo de 10 años observaron la relación existente entre resistencia a penicilina y cefalosporinas y la mortalidad en

Discusión

pacientes con neumonía neumocócica grave. En el análisis univariado de este trabajo los pacientes infectados por cepas resistentes a penicilina tenían una mayor mortalidad que los pacientes infectados por cepas sensibles a penicilina. Posteriormente, ajustando por otras variables, la resistencia a penicilina no estuvo asociada al incremento de mortalidad, sino que la mortalidad se asoció a otros factores como: edad superior a 70 años, enfermedad de base grave, insuficiencia cardíaca, shock, afectación multilobar, leucopenia inferior a 5.000 células/mL, neumonía nosocomial y neumonía polimicrobiana. Los factores asociados al incremento de mortalidad en el trabajo anterior, son similares a lo publicado previamente^{40,97}. En resumen, podemos decir que todos estos trabajos sugieren que los niveles de resistencia actuales a penicilina y cefalosporinas no suponen un incremento en la mortalidad de los pacientes infectados por estas cepas. Lo que si puede ocurrir es que los pacientes infectados por cepas resistentes a penicilina, generalmente tienen mas factores subyacentes, que influyen directamente sobre la mortalidad, que los pacientes infectados por cepas sensibles a penicilina⁹⁷.

VII.E. TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN NEUMOCÓCICA CON PENICILINA.

Los resultados obtenidos en nuestro trabajo, sugieren que la penicilina continua siendo una alternativa terapéutica segura en el tratamiento de la infección neumocócica comunitaria, a pesar de que exista una elevada prevalencia de neumococos resistentes a penicilina. En nuestro trabajo, se pudo comprobar como la penicilina fue efectiva en la resolución del proceso infeccioso, aun habiéndose inoculado los animales con una cepa de *S. pneumoniae* con una CMI de penicilina de $2\mu\text{g/mL}$. Además, se comprobó que fue eficaz tanto en la esterilización de vegetaciones aórticas y hemocultivos como en la resolución de la neumonía concomitante.

Sobre el tratamiento de las neumonías neumocócicas bacteriémicas o no, causadas por cepas con CMI de penicilina no superior a $2\mu\text{g/mL}$, se ha sugerido que pueden ser tratadas con penicilina por vía intravenosa, en dosis entre 150.000 y 250.000 U por kg de peso y día⁹⁷. Los resultados de un estudio retrospectivo sobre la evolución de la neumonía aguda comunitaria, incluyendo casos con resistencia elevada e intermedia a penicilina, muestran una evolución satisfactoria en el 87% de los pacientes que recibieron penicilina, lo cual apoya todo lo que se ha

comentado anteriormente¹⁰¹.

Todos estos resultados, tanto de modelos experimentales como de estudios clínicos, son correlacionables con los estudios de actividad bactericida mediante curvas de tiempo-muerte. En nuestro trabajo, como ya se explicó, se realizaron curvas de tiempo-muerte con las tres cepas estudiadas a tres concentraciones diferentes de penicilina en relación con la CMI de cada una de las cepas. Como se pudo comprobar, a las 8 horas de incubación penicilina fue bactericida frente a las tres cepas con la concentración más elevada; en cambio, a una concentración equivalente a 2CMI tan solo fue bactericida para la cepa R, lo cual nos hace pensar en la falta de relación de la CMI con lo que ocurre *in vivo* con estas cepas respecto a penicilina. Pero no solo en nuestro trabajo encontramos estos resultados en cuanto a la actividad bactericida de penicilina frente a *S. pneumoniae*. En un trabajo de Liñares et al¹³³, utilizando tres cepas de *S. pneumoniae* con diferentes susceptibilidades a penicilina, pudieron comprobar como a las 6 horas y a concentraciones equivalentes a 2CMI, penicilina fue bactericida para las tres cepas estudiadas, y que a concentraciones equivalentes a 1CMI, penicilina, paradójicamente como ocurre en nuestro estudio, solo fue bactericida para la cepa R, lo que hace suponer que la efectividad de penicilina es dosis-dependiente, y no depende de los puntos de corte de sensibilidad establecidos hasta ahora.

Continuando con la búsqueda de explicación a que cepas de *S. pneumoniae* consideradas microbiológicamente no sensibles (CMI más altas que los puntos de corte establecidos) puedan ser eliminadas por penicilina, tendremos que acercarnos a la farmacocinética y farmacodinámica de este antimicrobiano. La penicilina y en general los β -lactámicos, pueden alcanzar concentraciones séricas y tisulares muy por encima de la CMI¹⁵¹. La eficacia terapéutica de estos antimicrobianos está en relación con este parámetro (tiempo en que las concentraciones séricas están por encima de la CMI del patógeno) como puede ser confirmado por los datos observados en la clínica^{97,101}. En nuestro trabajo, también encontramos relación entre los parámetros farmacocinéticos/farmacodinámicos que obtuvimos, fundamentalmente la Cmax y el $\Delta T/CMI$ y los resultados favorables, que como ya se ha comentado, se obtuvieron con los grupos terapéuticos. En todos los casos la Cmax de penicilina fue superior a 4 veces la CMI de cada una de las cepas en su caso y el $\Delta T/CMI$ estuvo siempre alrededor de 10 horas, siendo el régimen terapéutico de una dosis cada 12 horas. Paralelamente en los grupos tratados con penicilina se encontró que para las 3 cepas el número de vegetaciones estériles fue cercano al 100%; en cuanto a la esterilización de los hemocultivos también se acercó al 100% para los tres grupos. Cuando se calculó el coeficiente de correlación de Pearson entre los parámetros farmacocinéticos/farmacodinámicos frente a las medias

obtenidas de los diferentes parámetros (log ufc/g de vegetación, log ufc/g de pulmón y log ufc/mL de sangre) de los grupos inoculados con la cepa resistente a penicilina y tratados con β -lactámicos, pudimos observar como existía una correlación negativa clara entre el $\Delta T/CMI$ y las medias estudiadas, llegando a ser significativa estadísticamente en el caso del log ufc/g de vegetación.

En el modelo de endocarditis experimental neumocócica descrito por Fernández Guerrero y colaboradores¹¹⁷, cabe destacar como el efecto sobre las vegetaciones cardíacas de penicilina es concentración dependiente; concentraciones de penicilina en suero similares a la CMI de la cepa infectante, produjeron una reducción significativa del número de microorganismos en las vegetaciones cardíacas. Por otro lado niveles de penicilina en suero de 3 a 4 veces la CMI, produjeron una profunda reducción de microorganismos en las vegetaciones y mas número de animales con cultivos negativos.

En resumen, se puede afirmar que la utilización de penicilinas en el tratamiento de la infección neumocócica que no afecte a sistema nervioso central, o en el tratamiento empírico de las neumonías extrahospitalarias de alta sospecha de etiología neumocócica, o en aquellas cuya etiología neumocócica está documentada, sigue siendo

Discusión

eficaz, a pesar de la elevada prevalencia de neumococos penicilin-resistentes en nuestra comunidad.

VII. F. TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN NEUMOCÓCICA CON β -LACTÁMICOS.

Las cefalosporinas se han utilizado ampliamente en el tratamiento de las infecciones neumocócicas por diferentes razones. En primer lugar, su espectro de actividad antimicrobiana hace que su uso empírico ofrezca garantía "teórica" de tratar los principales patógenos, fundamentalmente en infección respiratoria bacteriana; por otro lado, su actividad antimicrobiana frente a *S. pneumoniae*, que a medida que ha pasado el tiempo y se han incorporado nuevas moléculas, se equipara a la propia penicilina G.

Como se ha comentado anteriormente, en nuestro trabajo se compararon diversos tratamientos, entre los que se encontraban cuatro β -lactámicos, penicilina, cefuroxima, cefotaxima y ceftriaxona. Entre los animales que se inocularon con las cepas S y RI todos los antimicrobianos fueron efectivos tanto en la esterilización de tejidos como en la reducción del número de microorganismos en estos. En cambio, cuando los animales fueron inoculados con la cepa R hubo algunas diferencias en cuanto a la eficacia de los diferentes tratamientos con β -lactámicos. Cefuroxima, fue el antimicrobiano menos efectivo, tanto en el aclaramiento de ufc/g de vegetación y esterilización de éstas, como en los

Discusión

hemocultivos tomados previos al sacrificio. Igualmente ocurrió en el cultivo de pulmón, en que cefuroxima fue el único antimicrobiano que no mejoró los controles.

De los β -lactámicos, el mejor aclaramiento de microorganismos en las vegetaciones se obtuvo con penicilina. En cuanto a la esterilización de vegetaciones los grupos tratados con ceftriaxona, penicilina y cefotaxima fueron los que obtuvieron mejores resultados de los β -lactámicos. Para los animales inoculados con la cepa S, en lo referente al cultivo de pulmón, aunque todos los tratamientos fueron mejores que los controles, hubo diferencias significativas entre los diferentes grupos, siendo penicilina mejor que los otros β -lactámicos (cefalosporinas).

En un modelo de endocarditis experimental en conejos causada por cepas intermedias y resistentes a penicilina¹¹⁷, se concluyó que en términos de eficacia antimicrobiana, cefotaxima es equivalente a regímenes con altas dosis de penicilina.

En un modelo de neumonía experimental en ratón sano por cepas de neumococo resistentes a penicilina (CMI de penicilina de $2\mu\text{g/mL}$)¹⁴⁶, se sugiere también que altas dosis de penicilina son tan eficaces como cefotaxima y cefpiroma en la resolución del proceso neumónico.

Discusión

Continuando con los modelos de neumonía experimental, en estudios comparativos con cefalosporinas, amoxicilina a altas dosis ha sido más eficaz que cefotaxima con una cepa resistente a penicilina y cefotaxima (CMI $4\mu\text{g/mL}$)¹⁴³. Ceftriaxona, en un modelo de ratón neutropénico, ha sido más eficaz que amoxicilina para una cepa con CMI de amoxicilina de $2\mu\text{g/mL}$ y sensible a ceftriaxona, y que cefotaxima para una cepa resistente a ambas cefalosporinas (CMI $4\mu\text{g/mL}$), relacionándose con un mayor tiempo por encima de la CMI para ceftriaxona^{139,140}.

Si comparamos los resultados del modelo *in vivo* de nuestro trabajo con los resultados que obtuvimos en las curvas de tiempo-muerte, pudimos comprobar como al igual que penicilina fue el antimicrobiano más bactericida de todos los β -lactámicos, también fue con el que se obtuvieron mejores resultados *in vivo*. En cuanto a las cefalosporinas la pobre actividad bactericida *in vitro*, puede explicar los malos resultados obtenidos *in vivo* con cefuroxima. En un estudio de actividad bactericida de cinco antibióticos β -lactámicos frente a *S. pneumoniae* con diferentes sensibilidades a penicilina (CMI de 0,03, 0,25 y $2\mu\text{g/mL}$) concluyeron que penicilina y amoxicilina fueron más bactericidas que las cefalosporinas frente a las tres cepas¹³³. En un estudio de actividad bactericida de amoxicilina y cefotaxima frente a *S. pneumoniae* observaron que son necesarias menores concentraciones de amoxicilina que de cefotaxima

Discusión

para la obtención de decrementos bacterianos significativos, tras cortos períodos de exposición al fármaco (1 hora)¹⁵².

Según un trabajo, en el que hacen un análisis de la farmacodinámica respecto a la sensibilidad antibiótica a *S. pneumoniae*¹⁵¹, como ya se comentó también en el apartado anterior, la eficacia terapéutica de los antibióticos β -lactámicos está relacionada con el tiempo en que las concentraciones séricas superan la CMI para el patógeno, así como con un alto cociente inhibitorio (C_{max}/CMI_{90}). Aplicando tales conceptos se demuestra que, para antibióticos administrables por vía oral, la amoxicilina/ácido clavulánico o la amoxicilina sola presentaron los mejores parámetros farmacodinámicos. Por lo que respecta a los antibióticos de administración parenteral, fueron cefotaxima, amoxicilina/ácido clavulánico, amoxicilina y ceftriaxona los antibióticos que presentan parámetros farmacodinámicos mas ventajosos, lo cual apoya los resultados obtenidos en nuestro trabajo.

VII.G. TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN NEUMOCÓCICA CON OTROS ANTIMICROBIANOS.

VII.G.1. ERITROMICINA Y OTROS MACRÓLIDOS.

Eritromicina se ha usado ampliamente como alternativa a penicilina en el tratamiento de la infección neumocócica en pacientes con historia de alergia a penicilina, o en áreas donde el nivel de resistencia a penicilina es elevado. Es por ello por lo que se incluyó este antimicrobiano entre los utilizados para el desarrollo de nuestro modelo.

En el modelo *in vivo*, los resultados que se obtuvieron en los grupos tratados con eritromicina fueron similares a los obtenidos con los antimicrobianos mas eficaces. Se alcanzó un buen aclaramiento de microorganismos en todos los tejidos estudiados, y la esterilización tanto de las vegetaciones como de los hemocultivos estuvo cercana al 100%. No obstante, analizando el estudio de actividad bactericida mediante curvas de tiempo-muerte, pudimos observar como solo se obtuvo actividad bactericida con la cepa RI a concentraciones superiores a 2CMI, cepa que precisamente era la que tenía una mayor CMI de eritromicina. Por ello hay de nuevo que volver a resaltar la importancia, al igual que ocurre con los β -lactámicos, del tiempo en que las concentraciones

séricas permanecen por encima de la CMI, así como de un alto cociente inhibitorio¹⁵¹, el tiempo en que la concentración de eritromicina permanecía por encima de la CMI en los animales de nuestro trabajo a las dosis empleadas estuvo alrededor de las 5 horas, tiempo que fue similar al que se alcanzó algunos de los β -lactámicos; por otro lado, el cociente C_{max}/CMI tanto para la cepa RI como para la cepa R fueron de los más elevados. Esto es así para macrólidos como eritromicina y claritromicina. Para otros macrólidos como la azitromicina, la eficacia terapéutica se correlaciona con un cociente AUC/CMI elevado.

Los datos obtenidos en nuestro modelo sugerirían que eritromicina, podría ser una alternativa eficaz en infecciones neumocócicas causadas por cepas resistentes a penicilina y sensibles a eritromicina. No obstante el aumento de la proporción de resistencias a este fármaco¹⁵³, obliga a realizar un uso juicioso, sobre todo en áreas donde la proporción de cepas resistentes sea elevada.

VII. G. 2. VANCOMICINA Y OTROS GLICOPÉPTIDOS.

De todo lo comentado hasta ahora, parece quedar claro que el uso tanto de penicilina como de cefalosporinas, en infecciones neumocócicas que no afecten al sistema nervioso central (SNC), está justificado a pesar

de que estén provocadas por cepas de neumococos con ciertos grados de resistencia a estos antimicrobianos. No obstante, el tratamiento de infecciones que afecten al SNC causadas por cepas con disminución de la sensibilidad a penicilina y otros β -lactámicos supone un problema mayor. Esto es así porque el objetivo del tratamiento de la meningitis neumocócica es obtener una esterilización rápida de LCR y para ello la concentración antibiótica en LCR debe ser unas 10 veces superior a la CMB de ese antibiótico para la cepa infectante⁷⁸. Este hecho, como ya se comentó en la introducción, puede suponer un problema a la hora de usar penicilina y cefalosporinas en el tratamiento de infecciones del SNC producidas por cepas RI o R, puesto que no alcanzan los niveles recomendados en LCR. Se han descrito casos de fracasos terapéuticos con cefalosporinas de tercera generación que se resolvieron favorablemente con vancomicina^{79,80}. Todo ello hace que sean necesarios estudios comparativos entre los β -lactámicos y vancomicina u otros glicopéptidos.

En nuestro trabajo, se incluyó un grupo con cada una de las cepas estudiadas, con tratamiento con vancomicina. Los resultados que se obtuvieron en el estudio *in vivo* en los tres grupos de tratamiento con vancomicina, fueron similares a los obtenidos con penicilina, tanto en el aclaramiento de microorganismos en los tejidos como en la esterilización

tanto de vegetaciones como de hemocultivos. En cuanto a las curvas de tiempo-muerte, fue bactericida con todas las concentraciones estudiadas frente a las tres cepas antes de las primeras 8 horas de incubación.

En el modelo de endocarditis de Fernández Guerrero y colaboradores¹¹⁷, utilizan teicoplanina como alternativa de tratamiento frente a penicilina frente a cepas RI y R a penicilina. Ellos también obtuvieron resultados similares para ambas cepas, en cuanto al aclaramiento de microorganismos en los tejidos como en la esterilización de tejidos, comparando los resultados que obtuvieron con el glicopéptido y penicilina a altas dosis. En el estudio de actividad bactericida, también fue teicoplanina el antimicrobiano más rápidamente bactericida, aunque sin grandes diferencias con altas dosis de penicilina y con cefotaxima.

Existe un trabajo¹⁵⁴, en el que se exponen los parámetros farmacodinámicos, relacionados con la actividad tanto *in vitro* como *in vivo* de vancomicina y teicoplanina frente a neumococos penicilin resistentes, utilizando un modelo de peritonitis en ratón. Estos autores, concluyen que el efecto de los glicopéptidos no está influenciado por la resistencia de los neumococos a penicilina, tanto *in vitro* como *in vivo*. En este mismo trabajo, observaron una mayor actividad *in vitro* de teicoplanina frente a vancomicina, diferencias que no se presentaron *in vivo*.

Discusión

En otro modelo de neumonía experimental en ratas inmunocompetentes¹⁴⁶, también compararon entre otros grupos, un grupo de tratamiento con vancomicina, frente a cepas R a penicilina. Estos autores obtuvieron resultados en la misma línea de los anteriormente citados, vancomicina fue mas eficaz que penicilina a bajas dosis, pero fue tan eficaz como penicilina a altas dosis y cefpiroma.

Con todos estos datos se puede sugerir que el tratamiento con glicopéptidos, como vancomicina o teicoplanina, en infecciones causadas por neumococos resistentes a penicilina es eficaz, debiendo reservarse su uso a infecciones graves, fundamentalmente que afecten al sistema nervioso central.

VIII. CONCLUSIONES.-

Conclusiones

1. *Streptococcus pneumoniae* produce endocarditis en todos los casos con el modelo utilizado, comprobándose dichos resultados mediante cultivo microbiológico de las vegetaciones aórticas, e independientemente del grado de susceptibilidad a penicilina.
2. La sensibilidad o resistencia a la penicilina del neumococo no influye en la gravedad de la endocarditis experimental.
3. La utilización del modelo de endocarditis aórtica experimental por *S. pneumoniae* permite la comparación de la efectividad de diferentes tratamientos frente a cepas de *S. pneumoniae* con diferentes susceptibilidades a antimicrobianos, en un modelo de infección bacteriémica.
4. El modelo utilizado produce bacteriemia en todos los casos, comprobándose también mediante cultivo microbiológico.
5. El modelo además reproduce siempre un modelo de neumonía, adquirida por vía hematogena. Este modelo de neumonía permite, así mismo, la comparación de la eficacia de diferentes antimicrobianos en el tratamiento de la infección neumocócica.

Conclusiones

6. Entre los estudios *in vitro*, la actividad bactericida de los antimicrobianos frente a *S. pneumoniae*, estudiada mediante curvas de tiempo-muerte, es la que mejor se ha asociado con la actividad *in vivo* en el animal de experimentación.

7. El conocimiento de los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos de los β -lactámicos, tales como el T/CMI y el cociente C_{max}/CMI , son necesarios para predecir, valorar y comparar la eficacia de estos antimicrobianos en el modelo experimental, así como para comparar las distintas pautas de tratamiento.

8. En los animales infectados con las cepas sensible y con sensibilidad intermedia a penicilina, los tratamientos con penicilina y con el resto de los antimicrobianos utilizados (cefalosporinas, eritromicina y vancomicina) fueron igualmente eficaces respecto a los controles en el aclaramiento de microorganismos tanto en las vegetaciones, en los pulmones como en los hemocultivos, así como en la esterilización de estos tejidos.

9. En los animales infectados con la cepa resistente a penicilina, todos los tratamientos, excepto cefuroxima, fueron eficaces en el aclaramiento y esterilización tanto de las vegetaciones, de los pulmones,

Conclusiones

como de los hemocultivos.

10. Considerados separadamente, cefuroxima y cefotaxima fueron los antimicrobianos menos activos frente a la endocarditis causada por la cepa de neumococo resistente a la penicilina.

11. De este modo, la penicilina continua siendo un antimicrobiano eficaz en la infección neumocócica, cuando ésta está causada por cepas de *S. pneumoniae* con el grado de resistencia empleada. En cambio, las cefalosporinas, como grupo, han sido menos eficaces en el modelo de endocarditis y de neumonía.

12. No han aparecido cepas resistentes a la penicilina al finalizar el tratamiento, en los animales tratados con este antimicrobiano.

IX. BIBLIOGRAFÍA.-

Bibliografía

1. Facklam, RR. Carey, RB. Streptococci and Aerococci. En: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy H. Manual of Clinical Microbiology. Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 1985. p. 154-175.
2. Musher DM, *Streptococcus pneumoniae*. En: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE, . Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone; 1995. p. 1811-1825.
3. Palomino J. Portadores escolares de *Streptococcus pneumoniae* versus infección neumocócica invasiva. Susceptibilidad a los antimicrobianos y factores asociados a la resistencia a penicilina. Universidad de Sevilla. 1995.
4. Klebs E. Beiträge zur Kenntniss der Schistomyceten. VII. Die Monadinen. Arch Exp Pathol Pharmako (Leipzig) 1875;4:409-488.
5. Eberth CJ. Zur Kenntniss der mykotischen Processe. Deutsches Arch Klin Med (Leipzig) 1880;28:1-42.
6. Pasteur L. Note sur la maladie nouvelle provoquée par la salive d'un enfant mort de la rage. Bull Acad Méd (Paris)[series 2] 1881;10:94-103.
7. Pasteur L, Chamberland M, Roux M. Sur une maladie nouvelle provoquée par la salive d'un enfant mort de la rage. Compt Rend Acad Sci 1881; 92:159-165
8. Sternberg GM. A fatal form of septicaemia in the rabbit, produced

Bibliografia

- by the subcutaneous injection of human saliva. Annual Reports of the National Board of Health 1881a; 3:87-108.
9. Sternberg GM. A fatal form of septicaemia in the rabbit, produced by the subcutaneous injection of human saliva. National Board of Health Bulletin 1881b; 2:781-783.
 10. Deibel RH, Seeley HW Jr. Family II: *Streptococcaceae*. Famm. nov. En: Buchanan RE, Gibbons NE, eds. Bergey's manual of determinative bacteriology. 8^a ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1974; 490-517.
 11. Klemperer G, Klemperer F. Versuche über Immunisirung und Heilung bei der Pneumokokkeninfection. Berliner Klin Wochens 1891a;28:869-875.
 12. Klemperer G, Klemperer F. Versuche über Immunisirung und Heilung bei der Pneumokokkeninfection. Berliner Klin Wochens 1891b;28:833-835.
 13. Issaef B. Contribution à L'étude de l'inmunité acquise contre le pneumocoque. Ann Inst Pasteur 1893;7:260-279.
 14. Neufeld F, Rimpau W. Ueber die Antikörper des streptokokken- und pneumokokken- Immunserums. Deutsche Med Wochens 1904; 30:1458-1460.
 15. Van Damm JEG, Flear A, Snippe H, Immunogenicity and immunochemistry os *Streptococcus pneumoniae*

Bibliografía

- capsularpolysaccharides. *Antonie Van Leeuwenhoek* 1990; 58: 1-47.
16. Austrian R. Pneumococcal infection and pneumococcal vaccine. *N Engl J Med* 1977; 297:938-939.
17. Austrian R, Douglas RM, Schiffman G. Prevention of pneumococcal pneumonia by vaccination. *Trans Assoc Am Physicians* 1976; 89: 184-194.
18. Hansman D, Bullen MM. A resistant pneumococcus(letter). *Lancet* 1967; 2:264-265.
19. Appelbaum PC, Koornhof HJ, Jacobs M. Multiple-antibiotic resistance of pneumococci: South Africa. *MMWR* 1977; 26: 285-286.
20. Jacobs MR, Koornhof HJ, Robins-Browne RM. Emergence of multiply resistant pneumococci. *N Engl J Med* 1978; 299: 735-740.
21. Hakenbeck R, Tarpay M, Tomasz A. Multiple changes of penicillin-binding proteins in penicillin-resistant clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1980; 17:364-371.
22. Zigelboim S, Tomasz A. Penicillin-binding proteins of multiply antibiotic-resistant South African strains of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1980; 17:434-442.
23. Palomino J, Pachón J, García-Curiel A, Toledo C, Jiménez-Mejías

Bibliografía

- ME, Prados D, et al. Penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in clinical samples. Risk factors and influence on prognosis. 6th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Sevilla, 28-31/3/93. Abstract Nr.31.
24. Bruyn GAW, Van der Meer JWM, Hermans J, Knoppert W. Pneumococcal bacteremia in adults over a 10-year period at University Hospital, Leiden. *Rev Infect Dis* 1988; 10:446-450.
25. Klugman KP. Pneumococcal resistance to antibiotics. *Clin Microbiol Rev* 1990; 3:171-196.
26. Powderly WG, Stanley SL, Medoff G. Pneumococcal endocarditis: report of a series and review of the literature. *Rev Infect Dis* 1986; 5:786-791.
27. Fleisher GR. Management of children with occult bacteremia who are treated in the emergency department. *Rev Infect Dis* 1991; 13(Suppl 2):S156-S159.
28. Aguado JM, Casillas A, Lizasoain M, Lumbreras C, Peña C, Martín-Durán R, et al. Endocarditis por neumococos sensibles y resistentes a penicilina: perspectivas actuales de la enfermedad. *Med Clin (Barc)* 1993; 100:325-328.
29. Schoenmakers EAJM, Brummer RJM, van Tiel FH. Spontaneous bacterial peritonitis due to *Streptococcus pneumoniae* in male who did not have another concurrent infection. *Clin Infect Dis* 1994;

Bibliografía

- 19:551-552.
30. Garcia-Arenzana JM, Idígoras P, Peris A, Gómez Osúa N, Montes M. Infecciones neumocócicas peritoneales. *Rev Clín Esp* 1992; 190:131-133.
 31. Lluch MM, Fdez-Solá J, López MT, Coca A. Artritis séptica por neumococo en una paciente afectada de condrocalcinosis. *Med Clin (Barc)* 1992; 99:52-53.
 32. Kutas LM, Duggan JM, Kauffman CA. Pneumococcal vertebral osteomyelitis. *Clin Infect Dis* 1995; 20:286-290.
 33. Escrivá B, Blázquez C, Llaveró JM, Tovar J. Espondilodiscitis por *Streptococcus pneumoniae*. *Enf Infecc Microbiol Clin* 1996; 14: 198-199.
 34. Garibaldi RA. Epidemiology of community-acquired respiratory tract infections in adults. *Am J Med* 1985; 78(Suppl 6B):32-37.
 35. Pachón J, Caballero FJ. Neumonías por bacterias grampositivas. *Rev Clin Esp* 1994; 194:839-846.
 36. Finch RG. Epidemiological features and chemotherapy of community-acquired respiratory tract infections. *J Antimicrob Chemother* 1990; 26(Suppl E):53-61.
 37. Breiman RF, Spika JS, Navarro VJ, Darde PM, Darby CP. Pneumococcal bacteremia in Charleston County, South Carolina. A decade later. *Arch Intern Med* 1990; 150:1401-1405.

Bibliografía

38. Mercat A, Nguyen J, Dautzenberg B. An outbreak of pneumococcal pneumonia in two men's shelters. *Chest* 1991; 99:147-151.
39. Gaztelorrutia L, Zalacain R, Rubio G, Hernández JL, Urra E, Hernández M, et al. Actualidad de la penicilina en las neumonías neumocócicas extrahospitalarias. *Enf Infecc Microbiol Clin* 1994; 12:17-20.
40. Austrian R, Gold J. Pneumococcal bacteremia with special reference to bacteremic pneumococcal pneumonia. *Ann Intern Med* 1964; 60:759-776.
41. Esposito AL. Community-acquired bacteremic pneumococcal pneumonia. *Arch Intern Med* 1984; 144:945-948.
42. Musher DM. Pneumococcal pneumonia including diagnosis and therapy of infection caused by penicillin-resistant strains. *Infect Dis Clin North Am* 1991; 5:509-521.
43. Musher DM, Groover JE, Rowland JM, Watson DA, Struewing JB, Baughn RE, et al. Antibody to capsular polysaccharides of *Streptococcus pneumoniae*: Prevalence, persistence, and response to revaccination. *Clin Infect Dis* 1993; 17:66-73.
44. Pareja A, Bernal C, Leyva A, Piedrola G, Maroto MC. Etiology study of patients with community-acquired pneumonia. *Chest* 1992; 101:1207-1210.
45. Murie M, Hueto J, Sanchez Alvarez J, Tiberio G, Hernández R,

Bibliografía

- Rivero A. Epidemiología de las neumonías adquiridas en la comunidad del Area de Salud I de Navarra. Med Clin (Barc)1991; 97:50-52.
46. Karalus NC, Cursons RT, Leng RA, Mahood CB, Rothwell RPG, Hancock B, et al. Community acquired pneumonia: aetiology and prognostic index evaluation. Thorax 1991; 46:413-418.
47. Almirall J, Casado M, Valls F, Morató I, Agudo A, Priu R, et al. Estudio prospectivo de las neumonías extrahospitalarias atendidas en un hospital general. Error diagnóstico. Med Clin (Barc) 1991; 97:250-254.
48. Granados A, Podzamczar D, Gudiol F, Manresa F. Pneumonia due to *Legionella pneumoniae* and pneumococcal pneumonia: similarities and differences on presentation. Eur Respir J 1989; 2:130-134.
49. Antela A, Guerrero A, Meseguer M, Gonzalez-Sainz J, Escudero R, Perez-Elias MJ et al. Neumonías extrahospitalarias: estudio prospectivo de 101 pacientes adultos e inmunocompetentes durante un año. Enf Infec Microbiol Clin 1993; 11:525-530.
50. Ansola P, Sobradillo V, Baranda F, Gaztelurrutia L, Llorente JL, Antoñana JM. Neumonías adquiridas en la comunidad de Vizcaya. Arch Bronconeumol 1990; 263:103-107.
51. Rello J, Quintana E, Ausina V, Net A, Prats G. A three-year study

Bibliografía

- of severe community-acquired pneumonia with emphasis on outcome. *Chest* 1993; 103:232-235.
52. Potgieter PD, Hammond JM. Etiology and diagnosis of pneumonia requiring ICU admission. *Chest* 1992; 101:199-203.
53. Pachón J, Prados MD, Capote F, Cuello JA, Garnacho J, Verano A. Severe community-acquired pneumonia. Etiology, prognosis, and treatment. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142:369-373.
54. Venkatesan P, Gladman J, Macfarlane JT, Barer D, Berman P, Kinnear W, et al. A hospital study of community acquired pneumonia in the elderly. *Thorax* 1990; 45:254-258.
55. Marrie TJ, Durant H, Yates L. Community-acquired pneumonia requiring hospitalization: 5-year prospective study. *Rev Infect Dis* 1989; 11:586-599.
56. Celis R, Torres A, Gatell JM, Almela M, Rodriguez-Roisin R, Agusti-Vidal A. Nosocomial pneumonia. A multivariate analysis of risks and prognosis. *Chest* 1988; 93:318-324.
57. Rello J, Quintana E, Ausina V, Castella J, Luquin M, Net A, et al. Incidence, etiology, and outcome of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients. *Chest* 1991; 100:439-444.
58. Fagon JY, Chastre J, Domart Y, Trouillet JL, Pierre J, Darne C, et al. Nosocomial pneumonia in patients receiving continuous mechanical ventilation. Prospective analysis of 52 episodes with

Bibliografía

- use of a protected specimen brush and quantitative culture techniques. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139:877-884.
59. Sirvent JM, Verdaguer R, Ferrer MJ, Avila FJ, Diaz-Prieto A, Carratala J. Neumonía asociada a ventilación mecánica y profilaxis de ulcus de estrés. Ensayo clínico aleatorizado de antiácidos y ranitidina frente a sucralfato. *Med Clin (Barc)* 1994; 102:407-411.
60. Rello J, Ausina V, Ricart M, Castella J, Prats G. Impact of previous antimicrobial therapy on the etiology and outcome of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1993; 104:1230-1235.
61. Polsky B, Gold JWM, Whimbey E, Dryjansky J, Brown AE, Schiffman G, et al. Bacterial pneumonia in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med* 1986; 104:38-41.
62. Teira R, Zubero Z, Muñoz J, Alvarez M, Cisterna R, Santamaria JM. Neumonía por bacterias no oportunistas en pacientes infectados por VIH. Incidencia y valoración de una aproximación no invasiva. *Enf Infec Microbiol Clin* 1992; 10:11-16.
63. Garcia-Leoni ME, Moreno S, Rodeño P, Cercenado E, Vicente T, Bouza E. Pneumococcal pneumonia in adult hospitalized patients infected with the human immunodeficiency virus. *Arch Intern Med* 1992; 152:1808-1812.
64. Janoff EN, Breiman RF, Daley CL, Hopewell PC. Pneumococcal

Bibliografía

- disease during HIV infection. Epidemiologic, clinical, and immunologic perspectives. *Ann Intern Med* 1992; 117:314-324.
65. Mufson MA. *Streptococcus pneumoniae*. En: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. New York: Churchill Livingstone; 1990. p. 1539-1550.
66. Styrt B. Infection associated with asplenia: Risks, mechanisms, and prevention. *Am J Med* 1990; 88:33-42.
67. Gudiol F, Solans P, Sabaté X, Fernández Viladrich P, Pac V. Neumonía neumocócica bacteriémica. A propósito de setenta casos. *Med Clin (Barc)* 1977; 69:1-8.
68. Farr BM, Kaiser DL, Harrison BDW, Connolly CK. Prediction of microbial aetiology at admission to hospital for pneumonia from the presenting clinical features. *Thorax* 1989; 44:1031-1035.
69. Javaloyas M, Admetilla M, Closas J, García MD. Absceso de pulmón por *Streptococcus pneumoniae*. *Med Clin (Barc)* 1989; 93:479.
70. Yangco BG, Deresinski SC. Necrotizing or cavitating pneumonia due to *Streptococcus pneumoniae*: Report of four cases and review of literature. *Medicine (Baltimore)* 1980; 59:449-457.
71. Gransden ER, Eykyn SJ, Phillips I. Pneumococcal bacteremia: 325 episodes diagnosed at St. Thomas's Hospital. *Br Med J* 1985; 290:505-508.

Bibliografía

72. Austrian R. Pneumococcal pneumonia. Diagnostic, epidemiologic, therapeutic and prophylactic considerations. *Chest* 1986; 90:738-743.
73. Ruben FL, Norden CW, Korica Y. Pneumococcal bacteremia at a medical/surgical hospital for adults between 1975 and 1980. *Am J Med* 1984; 77:1091-1094.
74. Örtqvist A, Kalin M, Julander I, Mufson MA. Deaths in bacteremic pneumococcal pneumonia. A comparison of two populations-Huntington, WVa, and Stockholm, Sweden. *Chest* 1993; 103:710-716.
75. Pesola GR, Charles A. Pneumococcal bacteremia with pneumonia. Mortality in acquired immunodeficiency syndrome. *Chest* 1992; 101:150-155.
76. Liñares J, Tubau F. Meningitis neumocócica y cefalosporinas de tercera generación. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1996; 14:1-6.
77. Fernandez-Viladrich P, Gudiol F, Rufí G, Ariza J, Pallarés R, Casanova A, et al. Meningitis bacteriana. Etiología y origen de 482 episodios. *Med Clin (Barc)* 1986; 87: 615-620.
78. Fernandez-Viladrich P, Gudiol F. Avances en las infecciones del sistema nervioso central producidas por bacterias grampositivas. *Rev Clin Esp* 1994; 194:847-852.
79. Pinilla L, Lorente B, Garcia Castaño J, Gonzalez Parra S, Muiño

Bibliografía

- Miguez A. Tratamiento de meningitis neumocócica. *An Med Intern* 1994; 11(5): 256.
80. Aísa ML, Esteban A, Villuendas C, López C, Moles B y Marco ML. Meningitis neumocócica. Revisión de seis años. *Enf Infec y Microbiol Clin* 1991; 5:277-282.
81. Wenger JD, Hightower AW, Facklam RR, Gaventa S, Broome CV and The Bacterial Meningitis Study Group. Bacterial Meningitis in The United States 1986: Report of Multiresistance surveillance study. *J Infect Dis* 1990; 162:1.316-1.323.
82. Almirante B, Cortés E, Pigrau C, Gasser I, del Valle O, Campos L, et al. Terapéutica y evolución de la meningitis neumocócica en el adulto. Estudio de una serie reciente de 70 episodios. *Med Clin (Barc)* 1995; 105:681-686.
83. Fdez-Viladrich P, Gudiol F. Tratamiento actual de la meningitis neumocócica. *Enf Infec Microbiol Clin* 1991; 9: 591-593.
84. Fdez-Viladrich P, Gudiol F, Liñares J, Pallarés R, Sabaté I, Rufí G, et al. Evaluation of vancomycin for therapy of adult pneumococcal meningitis. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 2467-2472.
85. Bouza E. Infección neumocócica. Patrones de susceptibilidad antibiótica en España. *Enferm Infec Microbiol Clin* 1993;1:15-22.
86. Casal J. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae*: serotype distribution of penicillin-resistant strains in Spain.

Bibliografía

- Antimicrob Agents Chemother 1982; 22:222-225.
87. Pallares R, Liñares J, Vadillo M, Cabellos C, Manresa F, Viladrich PF, et al. Resistance to Penicillin and Cephalosporin and Mortality from severe pneumococcal pneumonia in Barcelona, Spain. *N Engl J Med* 1995; 24:474-480.
88. Pérez JL, Liñares J, Bosch J, López de Goicoechea MJ, Martín R. Antibiotic resistance of *Streptococcus pneumoniae* in childhood carriers. *J Antimicrob Chemother* 1987; 19:278-280.
89. Liñares J, Pallares R, Alonso T, et al. Trends in antimicrobial resistance of clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Bellvitge hospital, Barcelona, Spain (1979-1990). *Clin Infect Dis* 1992; 15: 99-105.
90. Fenoll A, Bourgon CM, Muñoz R, Vicioso D, Casal J. Serotype distribution and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* isolates causing systemic infections in Spain, 1979-1989. *Rev Infect Dis* 1991; 13: 56-60.
91. Fenoll A. Informe del Laboratorio de Referencia de Neumococos 1990-1993. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. *Boletín Epidemiológico y Microbiológico* 1994; 2: 21-22.
92. Palomino J, García-Curiel A, Caballero FJ, Moreno I, Pichardo C, Pachón J. Severe *Streptococcus pneumoniae* infection trend in antibiotic susceptibility. 6th International Congress for Infectious

Bibliografía

- Diseases. Prague, 26-30/4/1994. Abstract Nr.80091.
93. Palomino J, Toledo C, Garcia-Curiel A, Caballero FJ, Moreno I, Martín A, et al. Evolución cronológica del estado de portador de *Streptococcus pneumoniae* en escolares sanos de Sevilla. V Reunión Nacional de Enfermedades Infecciosas y Microbiología clínica. Valladolid, 26-29/9/1993. Abstract Nr.83.
94. Liñares J. Resistencia de *Streptococcus pneumoniae* a los antibióticos en España (1979-1994). Crónica antiinfecciosa 1995; 1:4-6.
95. Appelbaum PC. Antimicrobial Resistance in *Streptococcus pneumoniae*: An Overview. Clin Infect Dis 1992; 15: 77-83.
96. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. Fourth edition; Approved standard. Document M7-A4 (ISBN 1-56238-309-4). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087.
97. Pallarés R, Gudiol F, Liñares J, Ariza J, Rufi G, Murgui L, et al. Risk factors and response to antibiotic therapy in adults with bacteremic pneumonia caused by penicillin resistant pneumococci. N Engl J Med 1987; 317: 18-22.
98. Muñoz R, Musser JM, Crain M, Briles DE, Marton A, Parkinson AJ, et al. Geographic Distribution of Penicillin-Resistant Clones of

- Streptococcus pneumoniae*: Characterization by Penicillin-Binding Protein Profile, Surface Protein A Typing, and Multilocus Enzyme Analysis. Clin Infect Dis 1992; 15: 112-118.
99. Liñares J, Alonso T, Perez JL, et al. Decreased susceptibility of penicillin-resistant pneumococci to twenty-four betalactam antibiotics. J Antimicrob Chemother 1992; 30: 279-288.
100. Cabellos C, Ariza J, Barreiro B, Tubau F, Liñares J, Manresa F, et al. Is the use of penicillin procaine (PEN) still appropriate in pneumococcal pneumonia (PP)? En: Abstracts of the 6th International Congress for Infectious Diseases. Prague, 26-30 de abril, 1994; (resumen PCS 11).
101. Sánchez C, Armengol R, Mir I, Lite J, Garau J. Neumococos resistentes a penicilina y uso empírico de penicilinas en el tratamiento de la neumonía aguda extrahospitalaria. Enf Infec Microbiol Clin 1992; 10:334-339.
102. Friedland IR, Paris M, Ehrett S, Hickey S, Olsen K, McCracken GH. Evaluation of antimicrobial regimens for treatment of experimental penicillin-and cephalosporin-resistant pneumococcal meningitis. Antimicrob Agents Chemother 1993; 37: 1630-1636.
103. Paris M, Hickey S, Uscher M, Shelton S, Olsen K, McCracken GH. Effect of dexamethasone on therapy of experimental penicillin-and cephalosporin-resistant pneumococcal meningitis. Antimicrob

Bibliografia

- Agents Chemother 1994; 38: 1320-1324.
104. Quagliarello VJ, Scheld WM. New perspectives on bacterial meningitis. *Clin Infect Dis* 1993; 17: 603-610.
 105. Zak O, Sande MA. Introduction: The role of animal models in the evaluation of new antibiotics. In : Zak O, Sande MA (eds), *Experimental models in antimicrobial chemotherapy, volume 1*. Academic Press London & New York. 1986;1-5
 106. Domagk G. Ein Beitrag zur Chemotherapie der Bakteriellen Infektionen. *Deutsche Med Wochens* 1935; 61:250-253.
 107. Zak O. Scope and limitations of experimental chemotherapy. *Experientia* 1980; 36:479-483.
 108. Miller AK. In vivo evaluation of antibacterial chemotherapeutic substances. *Adv Appl Microbiol* 1971; 14:151-183.
 109. Bergeron MG. A review of models for the therapy of experimental infections. *Scand J Infect Dis* 1978; 14(Suppl 1):189-206.
 110. Barza M. A critique of animal models in antibiotic research. *Scand J Infect Dis* 1978; 14 (Suppl 1):109-117.
 111. Zak O, Sande MA. Correlation of in vitro antimicrobial activity of antibiotics with results of treatment in experimental animal models and human infection. In: Sabath LD (ed), *Action of antibiotics in patients*. Hans Huber Publishers Bern Stuttgart & Vienna;1982. p. 55-67.

Bibliografía

112. Scheld WM. Experimental animal models of bacterial meningitis. In : Zak O, Sande MA (eds), Experimental models in antimicrobial chemotherapy, volume 1. Academic Press London & New York; 1986. p. 139-186
113. Sande MA. Animal models in the evaluation of antimicrobial agents (Guest editorial). Infect Dis (New York, N.Y.) 1981; 4(11):4-20.
114. Drake, TA. Sande, MA. Experimental endocarditis. In : Zak O, Sande MA (eds), Experimental models in antimicrobial chemotherapy, volume 1. Academic Press London & New York; 1986. p. 257-283
115. Perlman BB, Freedman LR. Experimental endocarditis. II. Staphylococcal infection of the aortic valve following placement of a polyethylene catheter in the left side of the heart. Yale J Biol Med 1971; 44:206-13.
116. Durack DT, Beeson PB. Experimental bacterial endocarditis. I. Colonization of a sterile vegetation. Br J Exp Pathol 1972; 53:44-9.
117. Fernández Guerrero ML, Arbol F, Verdejo C, Fernández Roblas R, Soriano F. Treatment of experimental endocarditis due to penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 1994; 38:1103-1106.
118. Scheld WM. Pathophysiological correlates in bacterial meningitis. J Infect 1981; 3(Suppl 1):5-19.

Bibliografia

119. Holdsworth RJ, Neill GD, Irving AD, Cuschieri A. Blood clearance and tissue distribution on 99Tc-labelled pneumococci following splenectomy in rabbits. *Br J Exp Path* 1989; 70:669-77.
120. Perry JE, Cluff LE. Manifestations of fatal pneumococcal infection in rabbits. *J Lab Clin Med* 1963; 62:549-558.
121. Giebink GS, Meyerhoff WL, Cantekin EI. Animal models of otitis media. In : Zak O, Sande MA (eds), *Experimental models in antimicrobial chemotherapy*, volume 1. Academic Press London & New York; 1986. p. 213-236
122. Sato K, Quartey MK, Liebler CL, Giebink GS. Timing of penicillin treatment influences the course of *Streptococcus pneumoniae*-induced middle ear inflammation. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39:1896-1898.
123. Beam TH. Vancomycin therapy of experimental pneumococcal meningitis caused by penicillin-sensitive and resistant strains. *J Antimicrob Chemother* 1981; 7:89-99.
124. McCracken GH, Sakata Y. Antimicrobial therapy of experimental meningitis caused by *Streptococcus pneumoniae* strains with different susceptibilities to penicillin. *Antimicrob Agents Chemother* 1985; 27:141-5.
125. Espósito AL, Pennington JE. Effects of aging on antibacterial mechanisms in experimental pneumonia. *Am Rev Respir Dis* 1983;

Bibliografia

- 128:662-667
126. Espósito AL, Pennington, JE. Experimental pneumonia due to *Haemophilus influenzae* : Observations and treatment. J Infect Dis 1984; 149:728-734.
127. Wood WB.Jr. Studies on the mechanism of recovery in Pneumococcal pneumonia. I. The action of Type-specific antibody upon the pulmonary lesions of experimental pneumonia. J Exp Med 1941; 73: 201-222.
128. Nungester WJ, Jourdanais LF. Mucin as an aid in the experimental production of lobar pneumonia. J Infect Dis 1936; 59:258-265.
129. Azoulay-Dupuis E, Bedos JP, Vallée E, Hardy DJ, Swanson RN, Pocardalo JJ. Antipneumococcal activity of ciprofloxacin, ofloxacin, and temafloxacin in an experimental mouse pneumonia model at various stages of the diseases. J Infect Dis 1991; 163:319-324.
130. Azoulay-Dupuis E, Vallée E, Veber B, Bedos JP, Bauchet J, Pocardalo JJ. In vivo efficacy of a New Fluorquinolone, Sparfloxacin, against Penicillin-Susceptible and -Resistant and Multiresistant Strains of *Streptococcus pneumoniae* in a Mouse Model of Pneumonia. Antimicrob Agents Chemother 1992; 36:2698-2703.
131. Stratton CW, Cooksey RC. Susceptibility Test: Special Tests. In Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg H.D, Shadomy HJ (ed): Manual of Clinical Microbiology, 5th edn. American Society for

Bibliografía

- Microbiology, Washington, DC; 1991. p.1153-1165.
132. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents; Tentative Guideline 771 E. NCCLS, Villanova, PA. 1992.
133. Liñares J, Tubau F, Alcaide F, Mariscal D, Ardanuy C, Martín R. Actividad bactericida de cinco antibióticos betalactámicos frente a *Streptococcus pneumoniae*. Enferm Infecc Microbiol Clín 1993; 11(Supl 1):23-27.
134. Knudsen JD, Frimodt-Møller N, Espersen F. Experimental *Streptococcus pneumoniae* infection in mice for studying correlation of *in vivo* activities of penicillin against pneumococci with various susceptibilities to penicillin. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39:1253-1258.
135. Chidiac C, Roussel-del Vallez M, Guery B, Beaucaire G. Should *Pseudomonas aeruginosa* isolates resistant to one of the fluorinated quinolones be tested for the others? Studies with an experimental model of pneumonia. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39:677-679.
136. Drake TA, Sande MA. Studies of chemotherapy of endocarditis: Correlation of *in vitro*, animal model, and clinical studies. Rev Infect Dis 1983; 5(Suppl 2): S345-S355.
137. Frimodt-Møller N, Bentzon MW, Thomsen VF. Experimental

Bibliografia

- infection with *Streptococcus pneumoniae* in mice: Correlation of in vitro activity and pharmacokinetic parameters with in vivo effect for 14 cephalosporins. J Infect Dis 1986; 154:511-517.
138. McKenzie R, Reimer LG. Effect of Antimicrobials on Blood Cultures in Endocarditis. Diagn Microbiol Infect Dis 1987; 8:165-172.
139. Moine P, Vallée E, Azoulay-Dupuis E, Bourget P, Bédos JP, Bauchet J, et al. In Vivo Efficacy of a Broad-Spectrum Cephalosporin, Ceftriaxone, against Penicillin-Susceptible and -Resistant Strains of *Streptococcus pneumoniae* in a Mouse Pneumonia Model. Antimicrob Agents Chemother 1994; 38:1953-1958.
140. Sauve C, Azoulay-Dupuis E, Moine P, Darras-Joly C, Rieux V, Carbon C, et al. Efficacies of Cefotaxime and Ceftriaxone in a Mouse Model of Pneumonia Induced by Two Penicillin- and Cephalosporin-Resistant Strains of *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40:2829-2834.
141. Darras-Joly C, Bédos JP, Sauve C, Moine P, Vallée E, Carbon C, et al. Synergy between Amoxicillin and Gentamicin in Combination against a Highly Penicillin-Resistant and -Tolerant Strains of *Streptococcus pneumoniae* in a Mouse Pneumonia Model. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40:2147-2151.
142. Smith GM, Slocombe B, Abbott KH, Mizen LW. Activity of

- Amoxicillin- Clavulanate against Penicillin-Resistant *Streptococcus pneumoniae* in a Experimental Respiratory Infection Model in Rats. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42:813-817.
143. Moine P, Sauve C, Vallee E, Bedos JP, Azoulay-Dupuis E. In vivo efficacy of cefotaxime and amoxicillin against penicillin-susceptible, penicillin-resistant and penicillin-cephalosporin-resistant strains of *Streptococcus pneumoniae* in a mouse pneumonia model. *Clinical Microbiology and Infection*. 1997; 3:608-615.
144. Soriano F, Ponte C, Nieto E, Parra A. Correlation of in-vitro activity and pharmacokinetic parameters with in-vivo effect of amoxycillin, co-amoxiclav and cefotaxime in a murine model of pneumococcal pneumonia. *J Antimicrob Chemoth*. 1996; 38:227-236.
145. Ponte C, Parra A, Nieto E, Soriano F. Development of Experimental Pneumonia by Infection with Penicillin-Insensitive *Streptococcus pneumoniae* Guinea-Pigs and Their Treatment with Amoxicillin, Cefotaxime, and Meropenem. *Antimicrob Agents Chemoth*. 1996; 40:2698-2702.
146. Gavaldá J, Capdevila JA, Almirante B, Otero J, Ruiz I, Laguarda M, et al. Treatment of Experimental Pneumonia Due to Penicillin-Resistant *Streptococcus pneumoniae* in Immunocompetent Rats. *Antimicrob Agents Chemoth*. 1997; 41:795-801.
147. Candiani G, Abbondi M, Borgonivi M, Williams R. Experimental

- lobar pneumonia due to penicillin-susceptible and penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in immunocompetent and neutropenic rats: efficacy of penicillin and teicoplanin treatment. J Antimicrob Chemoth. 1997; 39:199-207.
148. Fukuoka T, Kawada H, Kitayama A, Koga T, Kubota M, Harasaki T, et al. Efficacy of CS-834 against Experimental Pneumonia Caused by Penicillin-Susceptible and -Resistant *Streptococcus pneumoniae* in Mice. Antimicrob Agents Chemoth. 1998; 42:23-27.
149. Knudsen JD, Fuursted K, Frimodt-Moller N, Espersen F. Comparison of the effect of cefepime with four cephalosporins against pneumococci with various susceptibilities to penicillin, *in vitro* and in the mouse peritonitis model. J Antimicrob Chemoth. 1997; 40:679-686.
150. Piroth L, Coulon A, Martín L, Lequeu C, Duong M, Buisson M, et al. Amoxicillin treatment by reproducing human pharmacokinetics of penicillin-susceptible *Streptococcus pneumoniae* experimental pneumonia in immunocompetent rabbits. Clinical Microbiology and Infection (9thECCMID abstracts). 1999; 5(s3):340.
151. Soriano F. Lectura farmacodinámica de la sensibilidad antibiótica a *Streptococcus pneumoniae*. Med Clin (Barc) 1999; 113:103-108.
152. Gómez-Lus ML, Giménez MJ, Aguilar L, Martínez P, Prieto J. Velocidad y magnitud de actividad bactericida de amoxicilina y

Bibliografía

- cefotaxima frente a *Streptococcus pneumoniae*: Posible trascendencia en la predicción de su eficacia. Rev Esp Quimioterap 1996; 9:247-249.
153. Moreno S, Garcia-Leoni ME, Cercenado E, Díaz MD, Bernaldo de Quirós JCL, Bouza E. Infections caused erithromycin-resistant *streptococcus pneumoniae* : Incidence, risk factors, and response to therapy in a prospective study. Clinical Infect Dis 1994; 20:1195-1200.
154. Knudsen JD, Fursted K, Espersen F, Frimodt-Moller N. Activities of vancomycin and teicoplanin against penicillin-resistant pneumococci in vitro and in vivo and correlation to pharmacokinetic parameters in the mouse peritonitis model. Antimicrob Agents Chemoth. 1997; 41:1910-1915.

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA
INSTITUT DE CIÈNCIES DE LA SALUT
INSTITUT DE NEUROLOGIA I PSICOLOGIA
EN EL DIA 19 DE JULIO DE 2000

D^a Cristina Pichardo Guerrero.

por su Tesis Doctoral "Eudocarditis veumocólica experimental causada por cepes con diferentes sensibilidades a penicilina. Comparación de estudio in vitro e in vivo."

concediéndole el grado de Doctora "cum laude" - *habetur*
satisfactoriamente *cum laude* *apto* *cum laude* *por unanimidad.*
19 julio 2000 *vate la corrección*


J. N. GIRÓN


J. N. GIRÓN


J. N. GIRÓN

