



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO

"DR. FEDERICO GOMEZ"

NEUTROPENIA INDUCIDA POR ANTIBIOTICOS
BETA-LACTAMICOS

[Handwritten signatures]

TESIS DE POST-GRADO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
E S P E C I A L I S T A E N
P E D I A T R I A M E D I C A
P R E S E N T A

DR. ANGEL OCTAVIO BONFIL ARIAS

DIRECTOR DE TESIS
DR. ANTONIO ARBO SOSA



MEXICO, D. F.

1989

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

- INTRODUCCION.
- HISTORIA Y ORIGENES DE LOS ANTIBIOTICOS BETA-LACTAMICOS.
- MECANISMOS DE ACCION DE LOS ANTIBIOTICOS BETA-LACTAMICOS.
- MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA A LOS ANTIBIOTICOS BETA-LACTAMICOS.
- GENERALIDADES DE LOS ANTIBIOTICOS BETA-LACTAMICOS.
- TOXICIDAD POR ANTIBIOTICOS BETA-LACTAMICOS.
- NEUTROPENIA INDUCIDA POR BETA-LACTAMICOS.
- CONCLUSIONES.
- BIBLIOGRAFIA.

I N T R O D U C C I O N

INTRODUCCION.

Uno de los factores que más han incidido en forma favorable en la mejoría de las cifras de morbi-mortalidad infantil en nuestro país y en el mundo en general, ha sido la introducción de los antibióticos e indudablemente que el principal fármaco responsable de este hecho es la penicilina, el prototipo de los antibióticos beta-lactámicos.

La historia de estos antibióticos se remonta hasta el verano de 1928 cuando Fleming descubre la penicilina mediante su genial interpretación de la interacción entre un molde de *Penicillium* y *Staphylococcus aureus*.

Desde entonces muchos microbiólogos y químicos orgánicos han purificado y sintetizado miles de variantes de la molécula original y numerosas de ellas han encontrado aplicación clínica. De este modo la familia de los beta-lactámicos ha continuado su crecimiento a ritmo casi exponencial hasta llegar a convertirse en arma terapéutica fundamental para el clínico en el manejo de las enfermedades infecciosas.

Se considera que en general los antibióticos beta-lactámicos tienen muy favorables rangos terapéuticos con respecto a sus eventuales efectos tóxicos. Sin embargo, este último aspecto no ha sido suficientemente enfatizado en la literatura contemporánea.

El objetivo de este trabajo es brindar un panorama general de estos antibióticos, dar a conocer los nuevos agentes disponibles y sus características y lo más importante, revisar acerca de los efectos indeseables de estos antibióticos haciendo énfasis en su potencial capacidad para inducir neutropenia durante la terapia con estos fármacos.

**HISTORIA Y ORIGENES DE LOS ANTIBIOTICOS
BETA-LACTAMICOS**

HISTORIA Y ORIGENES DE LOS ANTIBIOTICOS BETA-LACTAMICOS.

Antes de que Fleming descubriera la Penicilina en el verano de 1928 en una caja de Petri contaminada, la posibilidad de que un organismo interfiriera con el crecimiento de otros era ya motivo de investigación marcando los inicios de la Microbiología.

Pasteur y Joubert son de los primeros autores citados desde 1877 como postulantes de la posibilidad terapéutica de tal antagonismo. Diez años más tarde Garré demostró que una sustancia de Bacillus fluorescens difundida en un medio sólido inhibía al Staphylococcus pyrogenes.

En 1889 Vuillemin fué el primero en acuñar el termino de antibiosis.

En 1871 Sanderson reportó la inhibición del crecimiento bacteriano en un cultivo simple cuando el caldo contenía Penicillium. Más tarde Lister reportó el mismo fenómeno usando como caldo de cultivo orina.

Dentro de este grupo de pioneros en Penicillium sólo dos parecían tener la idea de que una sustancia antibacteriana podía estar involucrada y ellos fueron Lister y Roberts.

A fines del siglo IXX el concepto fué claro. El antagonismo microbiológico podía estar dado por una sustancia liberada por uno de los organismos interactuantes. La idea surgió cuando el Penicillium se utilizó como la fuente del primer antibiótico aislado de caldos fermentados.

En 1897 C. Duchesne descubrió el antagonismo entre Escherichia coli y Penicillium glaucum. Duchesne descubrió que E. coli no sobrevivía cuando era transferida a un cultivo en crecimiento activo de Penicillium. El mismo autor extendió sus observaciones hacia el antagonismo en animales inyectando cobayos con E. coli y S. tiphy y posteriormente trato a la mitad de los animales inyectándoles un caldo nutritivo que permitía el crecimiento de Penicillium. Los animales control murieron pero los animales tratados con Penicillium sobrevivieron. Estos estudios no dieron ningún fruto y en 1897 Duchesne dejó su laboratorio para recibirse de médico y su tesis no fue conocida sino hasta 40 años después en que la Penicilina se desarrollaba independientemente como una fuente de antibióticos utilizados en la clínica.

Desarrollo del Potencial Clínico.

La historia de los antibióticos beta-lactámicos puede considerarse que se inicia con la observación de Fleming de que el Penicillium lisaba al Staphylococcus aureus que crecía con un plato con agar. El Penicillium descrito por Fleming como Penicillium rubrum fué posteriormente clasificado como Penicillium notatum y probablemente fué llevado al laboratorio de Fleming de una manera accidental debido a la existencia de un laboratorio de Micología que se encontraba en el mismo edificio. Sin embargo, Fleming tuvo menos éxito al tratar de aislar el componente activo liberado por el organismo en el caldo de cultivo.

Como sugerencia de Fleming, S. Craddock y F. Ridley intentaron extraer el agente activo del medio acuoso y ponerlo en éter así como en otros solventes. Aunque Craddock sugería en sus notas que la actividad antibacteriana era satisfactoria cuando se extraía en éter, acetona y alcohol, el procedimiento era tedioso y se producía a muy pequeña escala. En sus resultados Fleming reportó que el compuesto era soluble en alcohol e insoluble en éter y cloroformo.

En base a estos datos, Fleming se desanimó con el procedimiento de purificación química y concentración de la actividad antibacteriana a la que dió el nombre de Penicilina.

Por esta razón él regresó al uso de un caldo de cultivo crudo y demostró que los cultivos con Staphylococcus, Streptococcus pyrogenes y Pneumococcus, se inhibían con un caldo de Penicilina aún en diluciones de 1:800. Sorprendentemente notó que la Penicilina era el primer compuesto que él había analizado que era más dañino a la bacteria que a los leucocitos. Lo cual sugería que podía tener eventual utilidad en humanos ya que los antisépticos disponibles entonces, si bien mataban microorganismos, al mismo tiempo lisaban células humanas. También analizó la toxicidad del caldo de tejidos animales, aplicándolo directamente a heridas y también en los ojos humanos. El material fué confirmado como no irritante y no tóxico.

Al mismo tiempo, en Oxford, un grupo de investigadores progresaban en sus estudios sobre Penicilina en 1940 reportaron el uso de Penicilina para curar infecciones animales. En 1941 reportaron el

primer uso clínico en humanos. De esta manera y en un período más corto estos investigadores resolvieron muchos de los problemas que se habían presentado a los primeros trabajadores con Penicilina.

Sanders fué el responsable de la producción a gran escala de Penicilina para diversos estudios de Investigación y Abraham, reconocido bioquímico, fué quien introdujo el uso de la Cromatografía para la producción de Penicilina para uso clínico.

Fué precisamente en 1941 cuando se empezaron a realizar mayores ensayos clínicos con el uso de Penicilina y estos se realizaron en pacientes que sufrían de infecciones causadas por Staphylococcus o Streptococcus, gérmenes mencionados por Fleming como susceptibles a la Penicilina en sus estudios in vitro.

El grupo de investigadores de Oxford reportó que el primer tratamiento en humanos con Penicilina se había realizado con un 0.3% a 7% de pureza.

Para fines de 1941 J. Moyer en Illinois, US mejoró la producción de Penicilina más allá de 10 veces adicionando licor de maíz a la fermentación. Este fué uno de los 3 avances en este año en lo referente a ampliar la disponibilidad de la Penicilina. El segundo incluía el desarrollo de técnicas para el cultivo de Penicillium suspendido en un medio aerobio y el tercero fué el aislamiento de nuevas cepas de Penicillium que pudieran producir altas cantidades de Penicilina en medios de cultivo líquido.

Para fines de 1942 se producían en los Estados

Unidos más de 122 millones de unidades de Penicilina.

Sabiendo que el *Penicillium* produce diferentes Penicilinas dependiendo de la cepa, nutrientes disponibles y condiciones de cultivo, en los Estados Unidos e Inglaterra se hicieron diversos estudios para poder aislar. La Penicilina llamada Penicilina G por los estadounidenses y la Penicilina II por los ingleses, contenían un anillo Beta-lactámico, estructura que no fué completamente conocida sino hasta 1945.

En 1949 se conocían ya 6 Penicilinas que sólo diferían una de la otra de su cadena lateral. De estos compuestos la Benzylpenicilina fué la más potente y la única explotada para uso médico.

La llave para las modificaciones bioquímicas de la Penicilina fué el Acido 6-aminopenicilánico del que se desarrollaron las Penicilinas semisintéticas. La primera Penicilina Semisintética en ser introducida fué la Feneticilina (Fenoxietilpenicilina) la cual apareció en 1959. La primera Penicilina Semisintética con propiedades únicas fué la Meticilina aprobada para uso clínico en los Estados Unidos en 1960. Esta droga fué designada para resistir la hidrólisis por Penicilinasas.

Las Penicilinas Semisintéticas se han desarrollado continuamente desde esa fecha, actualmente se cuentan 18 de ellas en la práctica médica.

En 1961 Abraham y Newton describieron un nuevo Beta-lactámico, la Cefalosporina C producida por una cepa de *Cefalosporium acremonium*. Este compuesto rápidamente generó una nueva familia de antibióticos Beta-lactámicos

cuando químicamente formaron el núcleo 7 amino-cefalosporánico conformando un nuevo antibiótico semisintético llamado Cefalosporina.

En un proceso que pudiera llamarse el del regreso a la naturaleza algunos investigadores por medio de la fermentación natural descubrieron algunos compuestos relacionados con importante actividad antibiótica. De este modo los Carbapenems fueron obtenidos de *Streptomyces*, las Cefamicinas de Actinomicetos, y los Monobactams de *Pseudomonas*, *Gluconobacter* y *Cromobacterium*. El desarrollo de estas nuevas y exitosas clases de Beta-lactámicos apenas a comenzado.

El Dr. J. C. Sheehan quien a invertido la mayor parte de su carrera científica trabajando con el núcleo de la Penicilina, llamó a la estructura de estos Beta-lactámicos como un "anillo encantador" ya que sus beneficios han enriquecido todas nuestras vidas. (1).

**MECANISMO DE ACCION DE LOS ANTIBIOTICOS
BETA-LACTAMICOS**

Mecanismo de Acción de los Antibióticos beta-lactámicos.

El mecanismo de acción de la Penicilina ha sido un tema de interés desde que Fleming descubrió sus propiedades antibacterianas.

Los primeros estudios al respecto se limitaron a la observación de los cambios morfológicos experimentados por las bacterias sensibles. Posteriormente se observó que a concentraciones subinhibitorias la Penicilina producía filamentación y a concentraciones mayores ocurría lisis de la bacteria; postulándose de esta manera que la acción inhibitoria de la Penicilina se producía en la síntesis de alguna estructura superficial.

Hace 3 décadas se descubrió la unión de penicilina radioactiva a la membrana citoplasmática, siendo este hecho relacionado directamente con la acción bactericida (2).

Para comprender bien el modo de acción de los beta-lactámicos es necesario primeramente conocer algunos aspectos importantes de la estructura y síntesis del Peptidoglicano, macromolécula que es componente esencial de la pared celular bacteriana y con el cual los antibióticos beta-lactámicos interfieren para lograr su función (3).

El peptidoglicano es un polímero compuesto de cadenas de glicana entrecruzadas por pequeños péptidos. Las cadenas lineales de glicana se forman con la polimerización de un disacárido de N-acetil-glucosamina y ácido N-acetil-murámico, unidos por los enlaces B, 1-4.

Cada monómero presenta un tetrapéptido en el grupo carboxilo del ácido murámico; los péptidos de cadenas de glicana adyacentes a su vez, se enlazan por enlaces peptídicos (4).

La primera fase en la síntesis del peptidoglicano se realiza en el citoplasma, en donde se forman UDP-N-acetil-glucosamina y UDP-N-acetil-muramil-pentapéptido (el pentapéptido en esta etapa termina en dos residuos de alanina). Después, los precursores se ensamblan para formar el disacárido con la intervención de sistemas enzimáticos de la membrana citoplasmática contando con la ayuda de lípidos acarreadores. Para finalizar, el monómero se incorpora al extremo reductor del peptidoglicano en crecimiento (5).

Todas las Enterobacterias contienen múltiples moléculas proteicas llamadas proteínas fijadores de Penicilina (PFP) que se unen covalentemente a las Penicilinas y a otros antibióticos beta-lactámicos, generalmente hay de 3 a 8 tipos diferentes de PFP en cada bacteria y para cada organismo se numeran en orden decreciente de acuerdo a su peso molecular que usualmente fluctúa entre 40,000 y 140,000 (6).

La mayoría de las bacterias contienen de 1,000 a 10,000 moléculas de PFP por célula, que representan en conjunto alrededor de 1% de las proteínas de membrana citoplasmática. Se han definido dos grupos de PFP: las de bajo peso molecular (40 a 50 Kd.), que no son afectados por las cefalosporinas pero si por muchas Penicilinas; y las de alto peso molecular (60 a 140 Kd.) de mayor sensibilidad tanto a cefalosporinas como a Penicilinas. Las primeras son más abundantes y no son

esenciales para la viabilidad bacteriana. Por el contrario las PFP de alto peso molecular se encuentran en menor cantidad y son indispensables para la viabilidad celular (2,4).

Las principales PFP de alto peso molecular son:

1. **Proteínas 1A y 1Bs.** Las cuales al parecer intervienen de manera importante en el crecimiento longitudinal de las bacterias mediante raciones de transpeptidación. La proteína 1Bs es tal vez la más importante pues cataliza la mayoría de la actividad biosintética invitro.
2. **PFP-2.** La cual al parecer funciona como transpeptidasa (e incluso carboxipeptidasa) con especificidad topológica y con actividad durante una corta fase del ciclo de reproducción.
3. **PFP-3.** La cual actua en las primeras etapas de la división bacteriana, iniciación del septo, y la formación completa del mismo.

Después de ser purificadas, se tiene evidencia de que éstas proteínas tienen la capacidad de catalizar reacciones de transpeptidación y transglicosilación, usando como sustrato el undecaprenol-pirofosforil-disacárido pentapéptido (2).

Los beta-lactámicos son antibióticos que se unen e inactivan a estas PFP y de esta manera impiden la transpeptidación, necesaria para lograr el encruzamiento de las cadenas paralelas del peptidoglicano

que le confiere resistencia a la pared bacteriana. A medida que se fuerón descubriendo las principales etapas en la síntesis de la pared celular bacteriana pudo concluirse que la Penicilina no interfiere con las reacciones para sintetizar la unidad repetitiva del peptidoglicano, si no más bien es a nivel de la transpeptidación donde realiza su función (7).

El resultado de inhibir las reacciones de transpeptidación, es la síntesis de una pared celular debilitada incapaz de resistir la presión osmótico-mecánica de la célula bacteriana en condiciones de crecimiento normal (8).

Otra hipótesis es que otros beta-lactámicos al unirse a PFP específicas inactivan a inhibidores endógenos de autolisinas bacterianas. Las autolisinas en esta forma activadas rompen los enlaces covalentes en la pared bacteriana y causan lisis celular. El crecimiento de ciertos organismos que caracen de autolisinas o que las tienen pero que son defectuosas, puede ser inhibido por los antibióticos beta-lactámicos, pero tales organismos no son destruidos condicionando el fenómeno denominado tolerancia bacteriana (9, 10).

El hecho de que beta-lactámicos estructuralmente diferentes pueden causar, en la misma especie bacteriana, muy distintos efectos antibacterianos desde el punto de vista bioquímico y morfológico, hace considerar la posibilidad de que exista, más de un mecanismo que conduzca a la pérdida de la viabilidad y lisis bacteriana (2, 5, 11).

**MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA A LOS
ANTIBIOTICOS BETA-LACTAMICOS**

Mecanismos de Resistencia Bacteriana a los Antibióticos Beta-Lactámicos.

La resistencia bacteriana a los antibióticos beta-lactámicos pueden ocurrir en cualquiera de los pasos involucrados en la actividad del antibiótico (10).

Los mecanismos básicos pueden ser divididos en cuatro categorías de acuerdo a los ejemplos mencionados por Koch (12):

1. Producción de beta-lactamasas
2. Alteraciones en el control de beta-lactamasas
3. Disminución de la permeabilidad de la membrana externa
4. Cambios en la proporción y tipo de las proteínas fijadoras de penicilina.

1. Producción de Beta-lactamasas.

Considerado el mecanismo más importante de resistencia bacteriana a los beta-lactámicos (10). Las beta-lactamasas son enzimas descubiertas alrededor de 1940 por Abraham y Chain (13) quienes observaron que al machacar una suspensión de E. coli se producía un extracto que inactivaba a la Penicilina. Debido a que la digestión con papaína y el calor inactivaban el extracto, los autores postularon que el componente activo eran enzimas a las que denominaron "penicilinasas".

Los autores creyeron que estas enzimas tenían especificidad hacia el enlace beta-lactámico del ácido 6-aminopenicilánico sin considerar de este modo a las cefalosporinas.

Actualmente se sabe que hay beta-lactamasas cuya actividad se manifiesta solamente sobre cefalosporinas. En sentido amplio, se denominan beta-lactamasas a las enzimas capaces de hidrolizar el enlace beta-lactámico de Penicilinas y Cefalosporinas; los terminos "penicilinasa" y "cefalosporinasas" se aplican a los casos en que existe la especificidad implícita en la denominación (14).

Al actuar sobre la Penicilina, las beta-lactamasas las convierten en ácido peniciloico, molécula que no ejerce ninguna acción inhibitoria; en las cefalosporinas se produce además degradación del antibiótico (14).

El obstáculo más grande para la efectividad terapéutica de los beta-lactámicos han sido sin duda las beta-lactamasas y el ejemplo más claro lo representa el S. aureus cuyas cepas eran en su mayoría sensibles a las Penicilinas G y V cuando estas empezaron a utilizarse en el campo clínico en 1940. Esta situación cambió para 1944 en que Kirby demostró que la producción de Penicilinas se correlacionaba fuertemente con la resistencia de aislamientos clínicos de esta bacteria a la Penicilina (13). Para 1958 el porcentaje de cepas hospitalarias de S. aureus resistentes a la penicilina, productoras de beta-lactamasas se elevó hasta un 70%, y actualmente entre las bacterias gram-positivas, los estafilococos son los principales patógenos productores de beta-lactamasas (16).

El interés por el estudio de las beta-lactamasas se incrementó al emerger cepas de enterobacterias resistentes a los beta-lactámicos, en especial aquellas involucradas en infecciones intrahospitalarias. De este modo se ha puesto de manifiesto que ha medida que se

sintetiza y utilizan nuevos beta-lactámicos, aparecen nuevas enzimas que los inactivan (15).

La información genética necesaria para la síntesis de beta-lactamasas esta codificada cromosómicamente, directamente en el cromosoma bacteriano o extracromosómicamente por medio de plásmidos o transposones (13, 17, 21).

1a. Beta-lactamasas codificadas por plasmidos y Transposones.

Las bacterias gram-negativas producen una enorme variedad de beta-lactamasas. Varias clasificaciones al respecto han sido propuestas; así Richmond y Sykes, en 1973 (14), las clasificaron en cinco clases empleando antisueros específicos, considerando el sustrato sobre el que actúan, y su reacción frente a diversos inhibidores. Esta clasificación aún tiene actualidad y sus características principales son:

CLASE 1.

Enzimas con actividad predominante contra cefalosporinas. Se divide en cuatro grupos (del Ia al Id), e incluyen la mayoría de las cefalosporinas codificadas por el cromosoma de enterobacterias y de pseudomonas.

CLASE II.

Enzimas con actividad principal contra penicilinas. Son inhibidas por cloxacilina, pero no por carbenicilina.

CLASE III.

Enzimas con actividad similar contra penicilinas y cefalosporinas, su actividad es inhibida por cloxacilina y resistente al p-cloromercuribenzoato (en ellas se encuentran las beta-lactamasas tipo TEM codificadas por plásmidos).

CLASE IV.

Enzimas con actividad semejante a las de clase III resistentes a la inhibición por cloxacilina pero sensibles al p-cloromercuribenzoato.

CLASE V.

Enzimas que actúan sobre penicilina y la cloxacilina, y son resistentes a los agentes destructores de grupos sulfhidrilos. Ejemplos: Enzimas Oxa y Carb.

En 1975 Matthew (13, 22) propuso otra clasificación de las beta-lactamasas codificadas por plasmidos basandose en la técnica de isoelectroenfoque en geles de poliacrilamida, con el que se pone de manifiesto la presencia de todas las beta-lactamasas producidas por una cepa.

Este autor describió 11 tipos de beta-lactamasas agrupandolas en tres clases:

CLASE A.

Penicilinasas de amplio espectro (Tipo TEM, así

llamadas del nombre de un paciente, Témoniera), hidrolizan penicilinas y cefalosporinas a velocidad semejante.

CLASE B.

Oxacilinasas (tipo OXA) que hidrolizan rápidamente la oxacilina y la cloxacilina.

CLASE C.

Carbenicilinasas (tipo CARB), destruyen preferencialmente la carbenicilina.

Una tercera clasificación de beta-lactamasas ha sido propuesta por Mitsubishi (22).

En la tabla 1 se resumen las distintas formas de clasificación para las beta-lactamasas codificadas por plásmidos. Además de las beta-lactamasas anotadas en en ésta tabla, en la tabla 2 se ejemplifican beta-lactamasas provenientes de aislamientos clínicos todas codificadas por plásmidos y transposones y que han sido aisladas recientemente (15, 23).

De las beta-lactamasas anotadas en las tablas 1 y 2 once de ellas son codificadas por transposones: tres del tipo TEM (TEM-1, TEM-2, SHV-1), cuatro del tipo OXA (OXA-1, OXA-4, OXA-5, OXA-6) y cuatro del tipo CARB (PSE-1, PSE-2, PSE-4 y AER-1).

TABLA 1

ENZIMAS	MATLHEW	MITSUBASHI	RICHMOND Y SYKES
Penicilinas de amplio espectro	TEM-1		IIIa
	TEM-2	Tipo Ia	IIIa
	SHV-1	Tipo Ib	IV
	HMS-1		
Oxacilinasas	OXA-1	Tipo II	Va
	OXA-2	Tipo III	V
	OXA-3		V
Carbencilinasas	PSE-1		V
	PSE-2	Tipo IV	V
	PSE-3		V
	PSE-4		V

Clasificación de beta-lactamasas codificadas por plásmidos.

TABLA 2

Tipo	Nombre	Huésped	Origen	Plasmido
TEM		<u>E. Coli</u> 7604	Brasil	PMG 2046
	ROB-1	<u>H. Influenzae</u>	Baltimore	RRob
	LCR-1	<u>P. Aeruginosa</u>	Londres	pMG 76
		<u>H. Pleuropneumoniae</u>	Dakota	pVM 105
OXA	OXA-4	<u>E. Coli</u> 7529	Brasil	PMG 203
	OXA-5	<u>P. Aeruginosa</u>	Londres	PMG 54
	OXA-6	<u>P. Aeruginosa</u>	Chicago	pMG 39
	OXA-7	<u>E. Coli</u> 7181	Brasil	pMG 202
		<u>B. Fragilis</u>	Japón	
CARB	AER-1	<u>A. Hidrophila</u>	India	R-Tn 798
Unica	CEP-2	<u>Achromobacter</u>	Quebec	pLQ 3

Beta-lactamasas codificadas por plasmidos y transposones descubiertos recientemente en bacilos gram-negativos.

1b. Beta-lactamasas de Origen Cromosomico.

Casi todas las especies de bacilos gram-negativos producen beta-lactamasas codificadas cromosomicamente. Swai y cols (20) las han dividido en dos clases:

- a) Las que hidrolizan bencilpenicilina, ampicilina y carbenicilina, así como cefalosporinas. Incluyendo las beta-lactamasas de Proteus vulgaris y de Klebsiella.
- b) Las que carecen o tienen muy baja actividad contra las Penicilinas mencionadas en el inciso anterior. Ejemplos: Las provenientes de la mayoría de enterobacterias, Pseudomonas, Acinetobacter y Bacteroides. Muchas de estas son enzimas inducibles que en algunos casos se sintetizan de manera continua a consecuencia de una mutación (24).

La existencia de genes con información para la producción de beta-lactamasas en plásmidos y en transposones provoca que las enzimas presentes en un grupo de bacterias se propaguen a otras; el uso indiscriminado de beta-lactámicos propicia la selección de cepas resistentes que pueden llegar a tener una distribución mundial (15). Por otra parte se han efectuado estudios sobre fallas en el tratamiento de infecciones debidas a cepas inicialmente sencibles de enterobacterias, las cuales han demostrado un aumento en la producción de beta-lactamasas probablemente debido a mutaciones en el loccus regulador de la expresión de beta-lactamasas (13).

2. Alteraciones en el Control de Beta-lactamasas.

Este mecanismo fue postulado posterior a la observación de la aparición de cepas resistentes de gram-negativos fundamentalmente Pseudomonas, E. coli, Enterobacter y Serratia en el curso de tratamientos con antibióticos beta-lactámicos que previamente se sabía eran sensibles a la acción de beta-lactamasas (25, 26).

Sanders (27) denominó a este mecanismo de resistencia como "barrera no hidrolítica". Según esta teoría algunas beta-lactamasas se encuentran normalmente controladas por un represor. Esta situación puede ser anulada por dos situaciones:

- a) El contacto de la cepa con un inductor, que provoque la des-represión en tanto se encuentre en el medio. Los inductores más potentes son los beta-lactámicos resistentes a las beta-lactamasas (28, 30).
- b) Una mutación bacteriana dando como resultado la síntesis constitutiva de estas beta-lactamasas.

En consecuencia, en el estado de represión normal, existe una pequeña cantidad de moléculas de beta-lactamasas en el espacio periplasmático, permitiendo el paso de beta-lactámicos (hidrolizables o no) hasta la membrana citoplasmática, donde se unen las PFP y expresen, su acción total. En el estado desrepresión (inducción) hay gran cantidad de moléculas de beta-lactamasas en el espacio periplasmático. Algunos beta-lactámicos como el cefamandol son hidrolizados; con los antibióticos que no lo son, forman complejos estables de tal manera que no pueden unirse a las moléculas blanco.

En tales condiciones es poco probable que haya suficientes moléculas de antimicrobiano libre como para que pueda manifestarse su acción inhibitoria (27, 31, 32).

3. Barreras de Permeabilidad.

Este mecanismo de resistencia bacteriano esta dado fundamentalmente por la membrana externa. La envoltura de las bacterias gram-negativas consta de dos membranas, separadas por una capa de peptidoglicano y el espacio periplásmatico.

La membrana externa vital en la fisiología de éstas bacterias, ya que les permite la supervivencia en presencia de sustancias con potencialidad antimicrobiana como lisozima, sales biliares y enzimas digestivas en el caso de las enterobacterias. Esta compuesta de proteínas y de una bicapa asimétrica de lípidos. De los componenetes de ésta membrana, el LPS* y las porinas son las que tienen mayor relevancia en este mecanismo de resistencia (33, 34). El LPS es una molécula anfipática y anfotérica cuya región hidrofóbica, el lípido A, se forma de fosfato de d-glucosamina con 5 ó 6 ácidos grasos esterificados (33). Este LPS tiene una carga neta negativa que junto con el encruzamiento que tiene por medio de cationes le confiere importantes propiedades a las bacterias gram-negativas como la resistencia a diversos factores de huésped ya mencionados. Asimismo constituye una barrera de permeabilidad contra antibióticos hidrofóbicos que inhiben el desarrollo de bacterias gram-positivas (35, 36). Si bien se desconoce su manera exacta de participación, la cual probablemente sea mediante interacción con porinas se conoce de la

* Lipopolisacárido.

importancia del LPS integro para presentar las propiedades de permeabilidad selectiva tanto en enterobacterias como en Pseudomonas (37, 38).

Las porinas son proteínas de membrana externa incluidas dentro de las llamadas proteínas mayores cuyo papel estructural parece ser la unión de la membrana externa al peptidoglicano y en cuanto a su función forman canales no selectivos, con límites de exclusión definidos para el paso de compuestos hidrofílicos (33, 39, 40).

Las porinas son de diferentes tipos y tienen algunas características estructurales comunes: Su peso molecular es de 35,000 a 40,000 daltons, se encuentran asociadas al peptidoglicano, y son las más ácidas de las proteínas de membrana externa (41). Hay estudios que demostraron que son la vía principal de difusión a través de la membrana externa bacteriana (38). Los canales formados por las porinas muestran discriminación en base a las propiedades fisicoquímicas de los solutos y hay tres factores que influyen de manera importante en la permeabilidad (38, 42).

1. El tamaño de los solutos.
2. La hidrofobicidad de los solutos.
3. Las cargas eléctricas presentes en los solutos.

Estos factores influyen asimismo sobre la velocidad de difusión de un antibiótico beta-lactámico a través de la membrana externa.

La velocidad de difusión se convierte en un factor crítico en dos situaciones:

- a) Cuando actúan antimicrobianos con velocidad de penetración baja sobre bacterias que sintetizan niveles muy bajos de beta-lactamasas.
- b) En el caso de antimicrobianos con alta velocidad de penetración, muy susceptibles a hidólisis por beta-lactamasas interactuando con bacterias que poseen actividades elevadas de beta-lactamasas localizada en el espacio periplásmico.

En cualquiera de estas dos situaciones, al disminuir la permeabilidad de la membrana externa se producirá resistencia a los beta-lactámicos.

Como se mencionó en un principio, lo más probable es que tanto el LPS como las porinas interactuen de una manera activa para determinar este mecanismo de resistencia bacteriano, el cual reduce enormemente las alternativas para un tratamiento efectivo con antibióticos beta-lactámicos.

4. Cambios en las Proteínas Fijadoras de Penicilina.

Este mecanismo de resistencia también conocido con el nombre de resistencia intrínseca, es aquel que no depende de beta-lactamasas, sino de cambios en el conjunto de PFP y/o la afinidad de éstas hacia la penicilina.

Para ejemplificar este caso, hasta hace algunos años, dos de los microorganismos con sensibilidad uniforme a la penicilina eran S. pneumoniae y N. gonorrhoeae. Cuando se descubrieron cepas resistentes,

en ningún neumococo y sólo en unas cuantas de gonococo se demostró la producción de beta-lactamasas. En cambio, no se ha comprobado que los cambios en las PFP sean el origen de cepas resistentes de enterobacterias (43).

GENERALIDADES DE LOS ANTIBIOTICOS

BETA-LACTAMICOS

Generalidades de los Antibióticos Beta-lactámicos.

Los beta-lactámicos son un grupo de antibióticos que incluye a las penicilinas, cefalosporinas, monobactams y carbapenems (Tabla 3).

Todos tienen un anillo B-lactámico el cual es esencial para su actividad antibacteriana (10).

Considerando sus propiedades más importantes, los antibióticos beta-lactámicos podrían ser mencionados como ejemplos de las cualidades deseables de un antimicrobiano: baja toxicidad para las células eucarióticas; acción altamente selectiva, que se ejerce sobre la síntesis de la pared celular bacteriana, además de que su acción inhibitoria se manifiesta contra un componente de la envoltura bacteriana, con lo que se evita un posible mecanismo de resistencia como es, el bloqueo del transporte del antibiótico al interior de la bacteria (44, 45).

PENICILINAS.

El núcleo básico de todas las penicilinas es el ácido aminopenicilánico, formado por la unión de un anillo tiazolidina con un anillo beta-lactámico (46) (Fig. 1)

Hasta la década pasada, todas las penicilinas fueron derivados acilados del ácido 6-aminopenicilánico. En la actualidad hay muchos derivados penicilínicos agrupados en la Tabla 3.

Las isoxazolil penicilinas resistentes a beta-lactamasas sintetizadas para el manejo de infecciones

TABLA 3

I) PENICILINAS

Penicilinas Naturales:	Pelicina G Penicilina G Procafnica Penicilina G Benzatfnica Penicilina V
Penicilinas Resis- Tentes a Peniacilina sas. (Isaxazolil Peni- cilinas)	Meticilina Oxacilina Nafcilina Cloxacilina Dicloxacilina
Penicilinas de amplio Espectro	Ampicilina Amoxacilina Hetacilina Mecilinam
Carboxipenicilinas	Carbenicilina Ticarcilina
Ureidopenicilinas	Azlocilina Mezlocilina Piperacilina

II) CEFALOSPORINAS

Primera Generación	Cefazolina Cefalexina Cefalotina
Segunda Generación	Cefaclor Cefamandol Cefonicid Cefotetan Cefoxitin Cefuroxime Cefuroxime axetil
Tercera Generación	Cefoperazone Cefotaxime Ceftazidime Ceftizoxime Ceftriaxone Moxalacatam

III) MONOBACTAMS

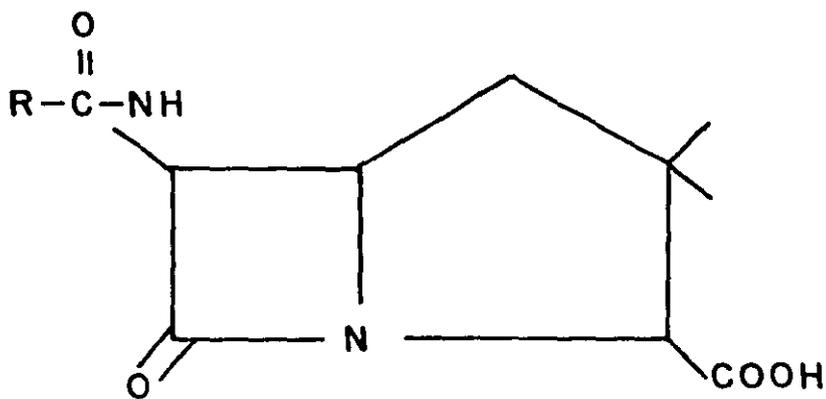
Aztreonam (SQ 26,776)

IV) CARBAPENEMS

Imipenem/Cilastatin

Figura 1

PENICILINAS



Estructura de las Penicilinas.

producidas por S. aureus, el cual mostró amplia resistencia a las penicilinas naturales. La aplicación de este grupo de antibióticos, tan eficaces en el tratamiento de infecciones estafilocócicas, coincidió con el surgimiento de las enterobacterias, como patógenos importantes en infecciones intrahospitalarias. En 1960, la mayoría de las cepas de este grupo mostraron resistencia a todas las penicilinas conocidas.

Por esta razón en 1962 sintetizó la ampicilina, y su actividad contra gram-negativos la hizo muy utilizable en infecciones causadas por estas bacterias (47). Sin embargo y en similitud a lo sucedido con S.aureus gradualmente se incrementó el porcentaje de cepas resistentes a este antibiótico, propiedad condicionada por la producción de beta-lactamasas.

A la Ampicilina se agregaron otro conjunto de moléculas con características similares, grupo al que se le denominó penicilinas de amplio espectro; poseen diferentes cadenas laterales que modifican ligeramente su actividad contra diversos géneros bacterianos y dan lugar a una mejor absorción intestinal en el caso de los compuestos esterificados que se administran por vía oral (34, 47).

La mayoría de las nuevas penicilinas son modificaciones de la Ampicilina. La sustitución de un grupo amino de la Ampicilina por un grupo carboxilo da como resultado a las carboxipenicilinas (10). Estas tienen una mayor actividad contra gram-negativos incluyendo Ps. aeruginosa particularmente por incremento en la penetración de la droga por la pared bacteriana.

La sustitución de los grupos carboxilo por los grupos ureido dio como resultado a las ureidopenicilinas (10), las cuales mantienen la actividad de la Ampicilina e incrementan su acción contra gram-negativos y anaerobios por aumento en la penetración a través de la pared bacteriana y una mayor afinidad por las PFP.

Tanto las carboxipenicilinas como las ureidopenicilinas son consideradas como penicilinas de amplio espectro pues inhiben una gran variedad de aerobios gram-negativos incluyendo Ps. aeruginosa, pero no son útiles en infecciones por S. aureus por su sensibilidad a beta-lactamasas. Son menos activas que la Penicilina y la Ampicilina contra gram-positivos excepto que las ureidopenicilinas inhiben entero-cocos en grado similar a la Ampicilina (10).

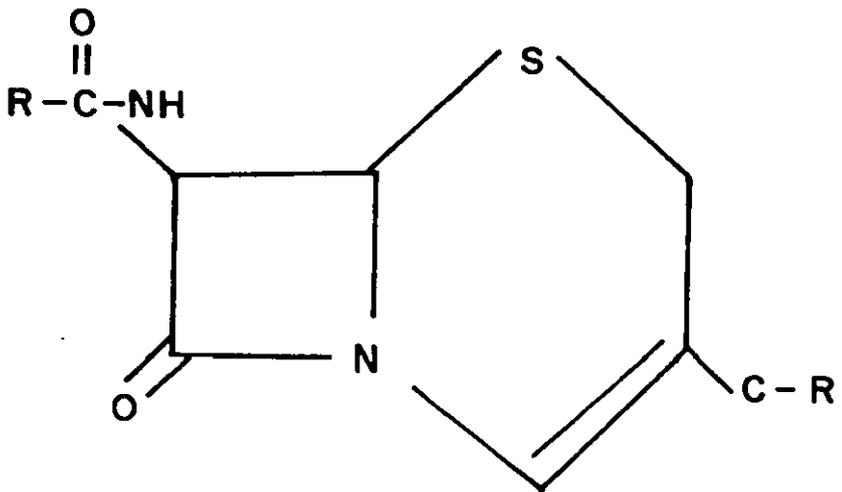
CEFALOSPORINAS

En estas el anillo beta-lactámico esta unido a un anillo hexagonal dihidrotiazina (fig 2). En contaste con las penicilinas, son más resistentes a la acción de beta-lactamasas y tienen mayor actividad contra bacterias productoras de éstas enzimas tales como S. aureus y E. coli. Estas moléculas también brindan más sitios de potencial manipulación (10).

Han sido agrupadas en generaciones en base a su espectro de actividad contra gram-negativos (48)(Tabla3).. Las cefalosporinas de primera generación descubiertas en 1962 presentan su mayor actividad contra gram-positivos fundamentalmente S. aureus y estreptococos no entéricos. El S. aureus meticilino resistente y S. pneumoniae

Figura 2

CEFALOSPORINAS



Estructura de las cefalosporinas.

penicilino resistente usualmente no son sensibles a estos agentes.

Las cefalosporinas de segunda generación tienen actividad contra algunos agentes gram-negativos fundamentalmente enterobacterias. Su cobertura incluye cepas de Enterobacter, Serratia, Proteus indol positivo, H. influenzae, N. gonorrea, N. meningitidis y anaerobios. Sin embargo, ninguna cefalosporina de segunda generación es activa contra Pseudomonas (48) y en la actualidad múltiples cepas de enterobacterias inicialmente sensibles, se han vuelto resistentes.

Las cefalosporinas de tercera generación son agentes descubiertos a partir de 1977 y son preparadas a partir del ácido 7-aminocefalosporánico al igual que las de primera y segunda generación (34,46).

Se han dividido en dos grupos: las que tienen actividad contra Ps. aeruginosa y las que no la tienen. En el primer grupo se incluyen Ceftazidime que es la más activa de las de tercera generación contra Ps. aeruginosa y Cefoperazone. En el segundo grupo se encuentran Cefotaxime, Ceftriaxone, Ceftizoxime, y Moxalactam; este último no es una cefalosporina verdaderamente, sino un oxa-beta-lactámico, que tiene un óxigeno en lugar de una molécula de sulfuro en la posición Cl. Su espectro de actividad y aspectos farmacológicos son similares a las cefalosporinas de tercera generación.

Estas cefalosporinas no tienen mejor actividad que las de primera generación contra cocos gram-positivos, y no son de primera elección en infecciones por gram-positivos. Sin embargo, por su resistencia a las beta-

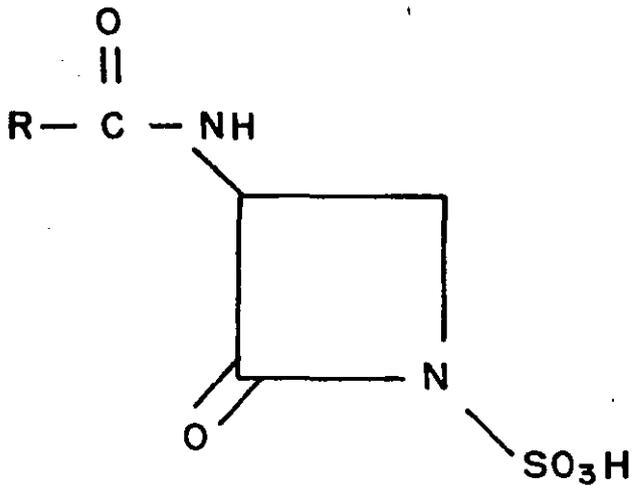
lactamasas presentan un potente y amplio espectro contra bacterias aerobias gram-negativas que es marcadamente mayor que el de las cefalosporinas de primera y segunda generación. Su actividad contra anaerobios varía de pobre a moderada (48). Su espectro antibacteriano es comparable al de los aminoglucósidos, con la ventaja de ser menos tóxicos que éstos.

MONOBACTAMS

Son los antibióticos de forma molecular más sencilla de la familia, pues constan de un anillo beta-lactámico cuyo nitrógeno se une a un grupo sulfónico; y de cadenas laterales presentes en el carbono 3, que le confiere diversas actividades antimicrobianas (49) (fig. 3). El principal representante de este grupo de antibióticos es el Aztreonam (SQ 26, 776), es un análogo sintético de un antibiótico aislado inicialmente de bacterias estercoáceas. Se une primariamente a la PFP-3 con lo cual interrumpe la síntesis de la pared bacteriana al igual que otros beta-lactámicos. Su espectro de actividad se limita a gram-negativos y es parecido al de los aminoglucósidos. No tiene ninguna acción contra gram-positivos ni anaerobios (48). Es activo contra la mayoría de las enterobacterias y es comparable en este sentido con las cefalosporinas de tercera generación y penicilinas de amplio espectro. Es tan potente como las cefalosporinas de tercera generación contra N. gonorrhoeae y bacilos gram-negativos no entéricos tales como H. influenzae productor de beta-lactamasas. La susceptibilidad de Ps. aeruginosa es variable. Se ha demostrado sinergismo invitro con aminoglucósidos en 30 a 60% de los organismos estudiados incluyendo a Ps. aeruginosa y gram-negativos resistentes a

Figura 3

MONOBACTAMS



Estructura de los monobactams.

aminoglucósidos. No se ha demostrado sinergismo con otros beta-lactámicos (50, 51).

CARBAPENEMS

Este grupo de antibióticos tiene un carbono en lugar de un sulfuro en el pentágono anexo al anillo beta-lactámico.(fig. 4). Su pequeño tamaño y estructura compacta permiten a estos agentes su fácil paso a través de la pared bacteriana de gram-negativos. El antibiótico representativo de los Carbapenems es el Imipenem, el cual tiene un hidroxietil en lugar de la clásico mitad acil-amino de las penicilinas y las cefalosporinas. Su transfiguración le brinda resistencia a la hidrólisis de la mayoría de las beta-lactamasas (10).

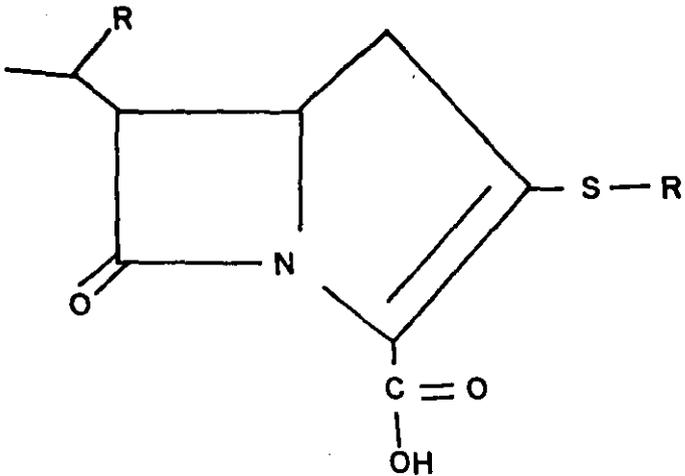
El Imipenem es usado en combinación con Cilastatin, un compuesto que inhibe su metabolismo por dipeptidasas renales, con lo cual se incrementan las concentraciones urinarias de la droga (48).

Este beta-lactámico se une a PFP-1 y PFP-2 causando elongación y subsecuente lisis bacteriana (52). Es el más potente de los nuevos agentes contra cocos gram-positivos y sus niveles de actividad contra estafilocócos y estreptocócos se acerca al de las penicilinas.

Más del 90% de las especies de gram-negativos son susceptibles, incluyendo aquellas resistentes a otros beta-lactámicos y aminoglucósidos. Su actividad contra Ps. aeruginosa se acerca a la de ceftazidime y es menor que la de cefoperazone. Es el antibiótico de mayor actividad contra anaerobios y en general tiene una actividad comparable con la del metronidazol y clindamicina (48).

Figura 4

CARBAPENEMS



Estructura de los Carbapenems.

INHIBIDORES DE BETA-LACTAMASAS

Este grupo de antibióticos representados por el Acido Clavulánico y el Sulbactam, son parecidos estructuralmente a la Penicilina y mejoran in vitro la actividad de los beta-lactámicos ya que los protegen de la hidrólisis de las beta-lactamasas.

Reciben el nombre de inhibidores suicidas porque al unirse e inactivar a las beta-lactamasas son destruidos en el proceso (10).

TOXICIDAD POR ANTIBIOTICOS BETA-LACTAMICOS

PENICILINAS

Las penicilinas son agentes que generalmente se encuentran libres de efectos tóxicos. El mayor factor limitante para su uso son las reacciones alérgicas (53). Sin embargo, la gran mayoría de las reacciones denominadas como alérgicas no pueden ser clasificadas como tales sobre una base inmunológica y sólo deben describirse como reacciones adversas de naturaleza desconocida (53).

Las reacciones a drogas mediadas inmunológicamente de acuerdo a la clasificación de Gell y Coombs se dividen en cuatro tipos:

TIPO 1: Que incluye a las reacciones mediadas por anticuerpos IgE también llamadas reacciones de hipersensibilidad inmediata y que son las más dañinas. Sus manifestaciones clínicas van de urticaria a la anafilaxia y en ocasiones puede ser causa de muerte.

TIPO 2: Son reacciones no mediadas por IgE y que son mediadas por anticuerpos citotóxicos, ejemplo de cuadros causados por éste mecanismo lo constituyen algunas formas de anemia hemolítica.

TIPO 3: Son reacciones mediadas por complejos antígeno-anticuerpo, en las que tampoco intervienen IgE, ejemplo la enfermedad del suero.

TIPO 4: También llamadas reacciones de hipersensibilidad retardada y que está mediada por reactividad de células T, como ejemplo se puede mencionar

a la dermatitis por contacto .

Por último se encuentran las reacciones idiopáticas, las cuales no son incluidas dentro de un grupo en especial y cuyo mecanismo de producción se desconoce. Clínicamente incluye erupciones maculo-papulares y eosinofilia, fiebre medicamentosa, nefritis y urticaria de inicio lento.

Los tipos de reacciones alérgicas a las penicilinas pueden ser clasificadas de acuerdo a la Tabla 4.

Las reacciones inmediatas ocurren dentro de la primera hora después de la administración del fármaco y están mediadas por anticuerpos IgE que están dirigidos a los determinantes antigénicos menores de la penicilina.

Las reacciones aceleradas ocurren de 1 a 72 horas después de la administración de la penicilina y al igual que las inmediatas requieren de sensibilización previa. Son mediadas por anticuerpos IgE, los que reaccionan fundamentalmente con el determinante antigénico mayor (penicilloyl).

Las reacciones tardías ocurren después de 72 horas y pueden marcar el inicio de una hipersensibilidad mediada por IgE para uno o más determinantes antigénicos de la penicilina.

El amplio uso de las penicilinas ha hecho posible que se pueda documentar la frecuencia con la cual estas reacciones se presentan. Las reacciones inmediatas sistémicas o anafilaxia se presentan en cerca del 0.01%

TABLA 4

A.- Inmediatas (dentro de 1 hora) y aceleradas (de 1 a 72 horas).

Urticaria
Edema Laríngeo
Broncoespasmo
Hipotensión
Tumefacción local

B.- Tardías (después de 72 horas).

Exantema morbiliforme
Enfermedad del Suero
Urticaria

C.- Otras reacciones tardías

Síndrome de Stevens Johnson
Nefritis intersticial
Infiltración pulmonar
Vasculitis
Anemia Hemolítica
Neutropenia
Trombocitopenia

de los pacientes que reciben la droga (54), y son fatales en el 10% de los casos (53,55). La urticaria después del empleo de penicilina ocurre en el 4.5% de los pacientes sin una historia de alergia previa. Puede presentarse sin manifestaciones sistémicas, pero cuando lo hace en la primera hora después de la aplicación de la droga, sugiere la posibilidad de una reacción generalizada.

Para poder predecir estas reacciones a la penicilina existen tres pruebas, las cuales son útiles únicamente para predecir reacciones en las cuales la IgE está involucrada. Estas pruebas son:

1.- Pruebas cutáneas, en las que se utiliza como reactivo el determinante antigénico mayor Benzylpenicilloyl-polylysina. Se le ha denominado determinante antigénico mayor en vista de que el 95% de la penicilina se une a los tejidos en esta forma (56,57).

2.- Inmunoensayos in vitro de anticuerpos IgE que se unen a los determinantes de penicilina.

3.- Pruebas in vitro de liberación de histamina procedente de basófilos de pacientes inducidos por los determinantes antigénicos de penicilinas (58).

Las pruebas cutáneas son el método más aceptado, porque pueden ser realizadas rápidamente en menos de una hora, y su seguridad y eficacia ha sido bien determinada.

La suma de los dos determinantes menores (benzylpenicilloate y benzylpenilloate) al protocolo de estudio de estos pacientes reduce la incidencia de las

reacciones en pacientes con una prueba cutánea negativa, a menos del 1% (53,59).

Utilizando en las pruebas cutáneas los determinantes menores, sólo el 10% de los pacientes con una historia de supuesta alergia a la penicilina tienen una prueba positiva (60).

No hay evidencia definitiva de que estos pacientes con atopia (rinitis alérgica, dermatitis atópica y asma) tengan un incremento en la frecuencia de alergia a la penicilina (61).

Se ha podido demostrar que estos anticuerpos IgE detectados por las pruebas cutáneas están dirigidos contra los sitios antigénicos del núcleo bicíclico de las penicilinas, más que a las cadenas laterales de las mismas (53).

En relación con otros efectos indeseables de las penicilinas, se debe hacer mención de las reacciones hematológicas las cuales son poco comunes y dentro de estas se encuentran la anemia hemolítica y la trombocitopenia inmune. La leucopenia se ha descrito para varias clases de penicilinas y está relacionada con la dosis y el tiempo de administración (55).

Alteraciones en el tiempo de sangrado se han observado asociadas a la administración de dosis altas de carboxipenicilinas, sin embargo es poco común a menos que se encuentre asociada la administración de aspirina, anti-inflamatorios no esteroideos o anticoagulantes (48,55).

En presencia de insuficiencia renal, el empleo de dosis altas de penicilinas puede condicionar la presencia de convulsiones. En general todas las penicilinas son en algún grado epileptógenas, pero la neurotoxicidad raramente se presenta cuando hay una función renal adecuada (55).

Las penicilinas no se han asociado a nefrotoxicidad como la que se describe con el uso de aminoglucósidos. En cambio, si se puede presentar nefritis intersticial de origen alérgico particularmente con el uso de meticilina y se manifiesta por fiebre, eosinofilia, exantema, y hematuria. Este tipo de reacciones no pueden ser precedidas por las pruebas cutáneas, ya que no son mediadas por IgE (53) y generalmente es reversible al suspender el medicamento (55).

Se pueden presentar en ocasiones alteraciones electrolíticas fundamentalmente con las carboxipenicilinas, debido a su alto contenido de sodio, lo que debe tenerse en cuenta en pacientes con falla cardíaca. Se puede producir asimismo hipopotasemia en el 1 al 15% de estos pacientes lo cual puede ser de importancia en aquellos que reciben diuréticos o anfotericina B.

La diarrea es una complicación que ocurre del 1 al 5% con la mayoría de los derivados penicilínicos. Es más frecuente en niños particularmente con la administración oral de ampicilina y con la combinación de amoxicilina + ácido clavulánico (55).

La elevación transitoria de las enzimas hepáticas ha

sido reportada particularmente con oxacilina y carbenicilina, pero por lo regular no tiene significancia clínica y es reversible.

CEFALOSPORINAS

Las complicaciones alérgicas a las cefalosporinas se presentan en un rango del 5.4 al 16.5% cuando existe historia de hipersensibilidad a la penicilina. Cuando esta historia no existe la incidencia baja del 1 al 2.5% (62).

Las reacciones cruzadas con penicilina no han sido determinadas estadísticamente pero al parecer son menores del 10% y se piensa están relacionadas con la similitud en sus núcleos bicíclicos (53).

Algunos reportes recientes sugieren que los nuevos compuestos como son las cefalosporinas de tercera generación tienen menos reacciones cruzadas que las cefalosporinas de primera generación con la molécula de penicilina (63).

Simultáneamente la fiebre medicamentosa se desarrolla en un porcentaje bajo (64) pero la flebitis es una complicación ocasional que puede ser minimizada aumentando la dilución del antibiótico, bajando el rango de infusión o introduciendo un filtro dentro del sistema de infusión (65).

Muchos pacientes tratados con cefalosporinas desarrollan una prueba de Coombs directo positivo, pero la anemia hemolítica es rara. Igualmente la leucopenia y la trombocitopenia son poco comunes (65). La

hipoprotrombinemia puede ocurrir con algunas cefalosporinas de tercera generación y de estas el moxalactam se ha asociado también con alteraciones en la agregación plaquetaria, lo cual se ha relacionado con la presencia de un grupo alfa-carboxil (66).

La terapia con cefalosporinas ocasionalmente se ha asociado con náuseas o diarreas y esto ocurre más frecuentemente con los nuevos compuestos probablemente debido a supresión importante de la flora normal intestinal (65). La colitis pseudomembranosa es una complicación rara. Elevaciones de las enzimas hepáticas fundamentalmente transaminasas no son infrecuentes pero raramente tiene significancia clínica.

Un efecto parecido al Antabuse se ha observado en pacientes que ingieren alcohol al estar recibiendo tratamiento con moxalactam, cefalosporinas (67).

La cefalotina administrada como monoterapia puede producir insuficiencia renal aguda oligúrica o no oligúrica pero esta complicación es rara y probablemente sea por hipersensibilidad aún cuando se ha observado en asociación a dosis altas del antibiótico. La biopsia renal en algunos de estos casos ha mostrado necrosis tubular aguda (68).

Hay controversia en la demostración de un sinergismo con aminoglucosidos para la producción de nefrotoxicidad. La única cefalosporina demostrada en tener un efecto sinérgico con los aminoglucosidos con respecto al daño renal es la Cefaloridina (69).

MONOBACTAMS

Los efectos adversos reportados con aztreonam son similares a los encontrados con otros beta-lactámicos. Estos efectos adversos se han visto en menos del 7% de los casos y sólo en el 2% de los casos ha habido necesidad de suspender la droga (70).

Aztreonam se ha utilizado en individuos con hipersensibilidad a la penicilina y acefalosporinas y en menos del 1% de ellos se ha demostrado reacción cruzada con aztreonam, demostrando que en comparación a los dos primeros es muy poco inmunogénico (70). Esto es debido a que la reactividad inmunológica hacia los monobactámicos esta dirigida contra su cadena lateral más que a los determinantes del núcleo bicíclico como sucede con las penicilinas y cefalosporinas (53, 71).

Dentro de las reacciones dermatológicas, el exantema con o sineosinofilia se ha reportado en alrededor del 1% de los pacientes y generalmente es leve y transitorio (72).

Diarrea, náuseas y vómitos se presentan en un 1 a 2% de los pacientes. Se ha reportado colitis pseudo membranosa como efecto colateral, principalmente cuando el aztreonam es administrado junto con otros antibióticos (70).

Las alteraciones hematológicas, son raras y muy poco significativas y engloban neutropenia, trombocitopenia, anemia, leucocitosis y trombocitosis. Un test de Coombs directo positivo puede presentarse en ocasiones, pero la evidencia clínica de anemia hemolítica se ha reportado

en forma rara (70).

Se ha reportado elevación de las enzimas hepáticas y de la fosfatasa alcalina en cerca del 5 al 20% de los pacientes que reciben aztreonam. Los efectos locales como flebitis y tromboflebitis son raros cuando se administra este fármaco por vía endovenosa (70).

El aztreonam no es nefrotóxico en humanos y la colonización o superinfección con organismos resistentes es poco común (73).

CARBAPENEMS

Los efectos adversos de la combinación Imipenem-Cilastatin son pocos y son similares a los observados con la mayoría de los beta-lactámicos convencionales.

Se han reportado náuseas, vómitos, diarrea, flebitis en el sitio de infusión, exantema, fiebre y convulsiones (74), durante cursos terapéuticos con este antibiótico.

El mayor factor limitante del uso de estos antibióticos es la incidencia de reacciones de hipersensibilidad que ocurren con su uso. El grado de reactividad cruzada con las diversas clases de beta-lactámicos no está claramente establecida. Sin embargo hay estudios, recientes en los que se encontró un alto grado de reacciones cruzadas con penicilinas y que esta mediada por IgE, por lo que se recomienda administrar con prudencia en pacientes con historia o datos de hipersensibilidad mediada por IgE a otros beta-láctamicos (53).

Las crisis convulsivas se han observado en aproximadamente el 1% de los pacientes que reciben esta combinación. Generalmente ocurre en ancianos o en pacientes con factores predisponentes como trauma craneal, alcoholismo crónico o antecedentes familiares. Estas son fácilmente controlables con anticonvulsivantes (75).

Existen pocas anormalidades en los datos de laboratorio durante la terapia con Imipenem-Cilastatin. Ninguna es grave y todas son reversibles dentro de las que se cuentan anormalidades mínimas en las pruebas de función hepática, eosinofilia, coombs directo positivo sin datos clínicos de anemia hemolítica, trombocitosis o trombocitopenia, incremento del nitrógeno uréico y leucopenia.

El único efecto notable con la administración de esta combinación es la presencia de náuseas y vómitos. Estos pueden ser minimizados reduciendo el grado de infusión de la droga. Cuando las náuseas son muy severas la terapia debe suspenderse (74).

NEUTROPENIA INDUCIDA POR BETA-LACTAMICOS

NEUTROPENIA INDUCIDA POR BETA-LACTAMICOS.

Definición.

Se define como una cuenta de neutrofilos menor de 1000/mm³ y es atribuible al empleo de antibióticos beta-lactámicos sólo si ésta sigue a una razonable secuencia de tiempo de la administración de la droga, desaparece al suspender el medicamento y no es aplicable por la condición clínica del paciente (76).

Epidemiología.

La neutropenia es una complicación que se reconoce cada vez con mayor frecuencia como un efector indeseable con el uso de antibióticos. La lista de éstos fármacos que han sido asociados con neutropenia es larga y la frecuencia con la cual producen depresión de la médula ósea varía considerablemente (77).

Dicha neutropenia se ha asociado con una evolución fatal en algunos casos y en algunos reportes sólo la anafilaxia y la hepatotoxicidad se han relacionado con mayor letalidad (78).

En relación con los antibióticos beta-lactámicos, la incidencia de neutropenia ha sido estimada en alrededor del 5 al 15% cuando los pacientes son tratados con éstos fármacos por más de 10 días. Sin embargo, con cortos períodos de administración, la incidencia baja hasta en un 0.1% de los casos.

La exposición posterior al mismo o a diferente antibiótico beta-lactámico puede inducir una recaída en

la neutropenia en el 31% de los casos (76) y se han reportado recaídas de meses e incluso años después del primer episodio de neutropenia. Sin embargo, otros autores no han encontrado que esta complicación vuelva a presentarse después de cambiar el tratamiento a otro preparado penicilínico (79), por lo que esta aseveración se encuentra aún en controversia.

Esta complicación ha sido atribuida a la mayor parte de los antibióticos beta-lactámicos incluidas las penicilinas naturales, penicilinas semisintéticas, penicilinas de amplio espectro, carboxipenicilinas, cefalosporinas e incluso penicilinas combinadas con inhibidores de beta-lactamasas (80, 94).

La duración de la neutropenia es en promedio de 1 a 7 días después de suspender la terapia con el antibiótico y este período sólo se ha prolongado en los casos en que la agranulocitosis fué total (76, 79, 89, 95, 96, 97).

La principal complicación de la neutropenia es el incremento de la susceptibilidad a sobreinfecciones; así, Neftel (76) reporta una frecuencia de 4.2% de infección secundaria en pacientes con neutropenia por beta-lactámicos.

Mecanismos de Producción:

El mecanismo fundamental por el cual ésta complicación se produce permanece en controversia, pero en mayoría de los casos se considera secundaria a un efecto tóxico directo de la droga sobre la producción granulocítica, o bien que sea mediada por mecanismos inmunológicos (98).

Los datos para apoyar el hecho de que este evento sea mediado inmunologicamente incluyen la presencia de neutropenia en pacientes quienes previamente presentaron manifestaciones de alergia a la penicilina, como la presencia de exantema y también el desarrollo de eosinofilia (99, 100). En algunas ocasiones la neutropenia se ha presentado rápidamente después de iniciada la droga, lo que indicaría la presencia de un fenómeno de hipersensibilidad (99, 101, 102). Asimismo, la reaparición de la neutropenia después de cambiar a una penicilina deferente y su rápida resolución con el uso de corticosteroides pueden implicar la supersión de una reacción inmune que estaba desencadenando la neutropenia (103, 104). En este sentido, algunos autores han podido determinar la presencia de altos niveles de anticuerpos antigranulocitos en el suero de pacientes quienes desarrollaron neutropenia posterior a la terapia con beta-lactámicos (78, 95, 105). Asimismo, Murphy y cols (106), demostraron la presencia de una IgE fijadora de complemento reaccionando con granulocitos y plaquetas en cinco pacientes tratados con penicilina G a altas dosis.

El mismo autor (96), reportó dos casos adicionales de pacientes quienes recibían cefalosporinas a altas dosis y por períodos prolongados de tiempo que se desarrollaron neutropenia. En ambos encontró anticuerpos antineutrófilos dependientes de cefalosporinas. El autor concluyo que en el primer caso la neutropenia fué debida a adsorción de la droga por un mecanismo similar al que produce anemia hemolítica después de penicilina (107, 180); y en el segundo caso a la formación de complejos inmunes.

Por otra parte, la mayoría de los reportes en la literatura coinciden en apoyar un mecanismo tóxico sobre

la producción granulocítica como causa de la neutropenia por el uso de antibióticos beta-lactámicos. Los datos que apoyan el mecanismo tóxico dosis-relacionado, son el hecho de que casi invariablemente se asocia con la administración de altas dosis del antibiótico (79, 97) y que la neutropenia raramente ocurre antes de los primeros 10 días de iniciada la terapia antimicrobiana (76, 79). La rápida recuperación de las cuentas leucocitarias después de suspender el antibiótico (76, 79) y el hecho de que varios pacientes fueron manejados con dosis bajas de penicilinas semisintéticas después de que la neutropenia fué detectada, encontrando que las cuentas de leucocitos volvieron a la normalidad, apoyan igualmente este mecanismo (97, 101).

Otros autores han determinado los niveles séricos de lisozima en el momento de la neutropenia y después de la recuperación de la cuenta de neutrófilos, encontrando que dichos niveles se hallaban en límites normales lo que indicó que no había una destrucción excesiva de leucocitos que pudiera haber condicionado la neutropenia (85).

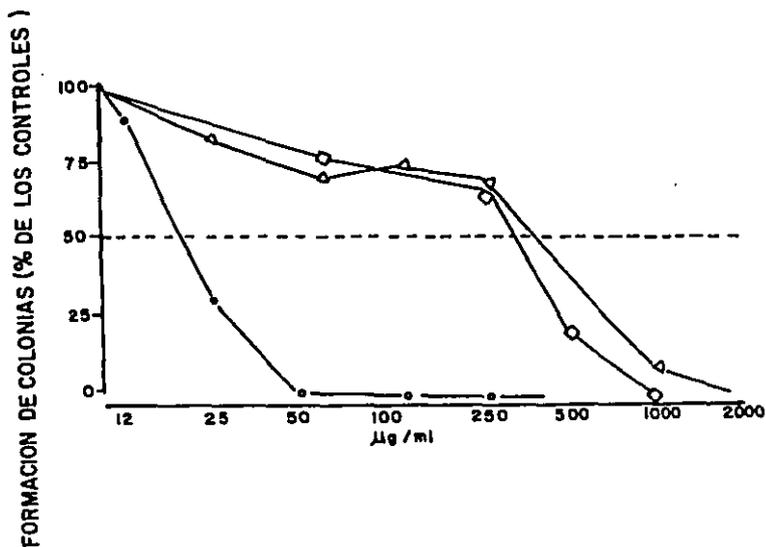
La hidrocortizona produce neutrofilia por movilización de las reservas de neutrofilos en médula ósea o por disminución de la migración de los mismos al espacio extravascular. Los resultados de este estudio revelaron una respuesta a la estimulación con epinefrina que varió de pobre a normal indicando una disminución en la reserva de neutrófilos intravasculares más que una excesiva marginación de los mismos. Resultados similares se obtuvieron con la prueba de estimulación con hidrocortizona en la que el incremento de los neutrófilos circulantes no fué significativo. Con estos resultados

pudo concluirse que existía una pobre reserva de la médula ósea en estos pacientes más que un incremento en la destrucción de neutrófilos circulantes ocasionados por la metilicina (86).

Otro hecho que apoya el mecanismo tóxico, son los datos aportados por los estudios de médula ósea realizados en estos pacientes en los que se describe una supresión de la serie mieloide y ocasionalmente supresión de los precursores de eritrocitos y plaquetas con la consecuente anemia y trombocitopenia, con lo que queda de manifiesto que el efecto tóxico puede extenderse a las tres líneas hematopoyéticas (89, 97). Nuevos aspirados realizados varios días después de la suspensión de la droga han revelado hiperplasia de la serie mieloide indicativo de recuperación (79). En este mismo contexto, se han reportado estudios *in vitro* con el objeto de analizar el efecto de diferentes diluciones de penicilina y cefalosporinas sobre cultivos de médula ósea de donadores hematológicamente sanos. Los resultados obtenidos muestran que la adición de estos beta-lactámicos a los cultivos de médula ósea normales, resultó en una inhibición dosis-dependiente de la formación de colonias mieloides (figura 5).

Sin embargo, se observó que la células progenitoras no fueron directamente muertas, ya que la incubación de células de médula ósea durante 18 horas con el antibiótico, con posterior remoción de la droga por lavado, no inhibió la formación de colonias mieloides. De este modo, el efecto inhibitorio de los beta-lactámicos sobre la granulopoyesis se observó solo cuando la droga estuvo presente durante la fase de proliferación temprana. Esto, aunado al hallazgo de que la adición de

Figura 5



Inhibición de la formación de colonias en cultivos de médula ósea por ceftizoxime (O), cloxacilina (Δ) y penicilina G (□).

suero en fase aguda y/o linfocitos de 2 pacientes con neutropenia inducida por penicilina a cultivos autólogos de médula ósea, no alteró el efecto de beta-lactámico, condujo al autor a la conclusión de que estos datos tomados en conjunto son compatibles con un mecanismo no inmunológico por medio del cual los beta-lactámicos inducen neutropenia (76).

Puede concluirse en que si bien, en la gran mayoría de los casos, es probable que la neutropenia se explique por mecanismos tóxicos de los beta-lactámicos, la frecuente presencia de anticuerpos antineutrófilos en estos pacientes, no tendría relación con la neutropenia como reportan algunos autores (96, 105), sino más bien, son consecuencia de la administración de altas dosis de penicilinas o cefalosporinas.

Factores que Influyen en la Presentación de la Neutropenia.

Los factores mayormente involucrados en la presencia de neutropenia por beta-lactámicos son indudablemente la dosis del fármaco, y el tiempo de administración.

Es un hecho evidente en la gran mayoría de los reportes de la literatura que el evento está relacionado con la dosis, ya que en casi todos los casos se ha asociado la neutropenia con dosis altas de penicilinas o cefalosporinas (79, 95, 97).

Más evidencia que apoya la severación de la relación de la neutropenia con la dosis del fármaco es el hecho de que varios pacientes han sido manejados con dosis bajas

del mismo antibiótico después de haber sido detectada la neutropenia, notando que la cuenta leucocitaria retornó a la normalidad (97, 101).

El tiempo de administración del antibiótico parece jugar un papel tan importante como la dosis del mismo. La mayoría de los reportes coinciden en afirmar que casi todos los casos de neutropenia, esto es, por arriba de 96%, se presentan después de que el tratamiento se ha prolongado por más de 10 días (76, 79, 85, 95, 97). Más aún, se han reportado casos de neutropenia después de períodos de administración del antibiótico extraordinariamente largos, tanto como 263 días (89).

Ha habido reportes de pacientes quienes desarrollaron neutropenia secundaria al uso de beta-lactámicos y quienes previamente mostraban historia de alergia a la penicilina, sin embargo, no se ha dilucidado por completo el papel de esta supuesta hipersensibilidad en la incidencia de la neutropenia, inducida por beta-lactámicos (99, 100).

Manifestaciones clínicas acompañantes.

Simultáneamente al desarrollo de la neutropenia durante el curso de la terapia con beta-lactámicos se han encontrado otros datos clínicos y de laboratorio que pueden orientar al clínico en el estudio de esta complicación.

Estos datos son fundamentalmente la presencia de fiebre, exantema y eosinofilia en la biometría hemática. En el estudio de los 140 casos de neutropenia inducida por beta-lactámicos publicados en la literatura y que fueron analizados por Neftel (76), el 68% de los

pacientes tuvieron fiebre, el 41% exantema y el 32% eosinofilia en el momento en que la neutropenia fué detectada.

Estudios Recomendados para el Diagnóstico.

El principal estudio en estos pacientes es la biometría hemática, la cual debe realizarse de rutina cada semana en todo paciente que vaya a ser sometido a terapia con altas dosis de beta-lactámicos y por tiempo prolongado.

La gran mayoría de los casos las alteraciones en la fórmula blanca se encuentran después de 10 días de iniciado en tratamiento y fundamentalmente consiste en una disminución en la cuenta leucocitaria que es progresiva y puede persistir, a menos que se disminuya la dosis del antibiótico o sea suspendido dependiendo de la severidad de la neutropenia.

En algunos reportes se han descrito anemia y trombocitopenia concomitantes con la neutropenia (89, 97), sin embargo, estos hallazgos no han sido constantes.

El siguiente estudio, el cual es básico en el diagnóstico de esta complicación, es la realización de un aspirado de médula ósea. Los hallazgos de estos aspirados están caracterizados invariablemente por la presencia de hipocelularidad, además de una falta de elementos mieloides bien diferenciados, en presencia de numerosos precursores granulocíticos (detención de la maduración).

Aspirados de médula ósea efectuados en una etapa temprana del desarrollo e la neutropenia ha sugerido que los beta-lactámicos parece no afectar a las células Stem o células madre pluripotenciales, pero pueden extender su efecto inhibitorio sobre otros precursores celulares dentro del pool mitótico, explicando así la rápida recuperación de la neutropenia poco después de suspender la droga (76).

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

De los muchos efectos adversos atribuidos a los antimicrobianos, quizás el más peligroso sea el referente a las discrásias sanguíneas y de éstas la neutropenia es una complicación que se empieza a reconocer con mayor frecuencia en los últimos años como un importante efecto indeseable secundario al uso de beta-lactámicos.

En base a los datos previamente expuestos se puede afirmar que el desarrollo de neutropenia esta fuertemente relacionado con la duración de la terapia ya que en la gran mayoría de los casos ocurre en pacientes que han recibido beta-lactámicos por más de 10 días.

Asimismo, la gran mayoría de los casos estudiados demostró que la cuenta leucocitaria volvió a la normalidad de 1 a 7 días después de discontinuar el antibiótico, con excepción de aquellos en los que la agranulocitosis fué muy severa. No se ha podido demostrar daño permanente en la granulopoyesis.

El otro punto cardinal lo constituye el hecho de que esta complicación se presenta casi invariablemente con el empleo de altas dosis de beta-lactámicos y que si la dosis total excede de 120 gramos o la cantidad correspondiente en casos pediátricos, una incidencia del 5 al 15% o más puede ser esperada.

En cambio, cuando los períodos de administración son cortos la incidencia se reduce notablemente hasta el 0.1% de los casos. Lo mismo sucede cuando no se emplean altas dosis del antimicrobiano.

En el estudio de Neftel, sólo el 4.2% de los casos de neutropenia inducida por beta-lactámicos desarrollaron infección secundaria a esta complicación; sin embargo es probable que la incidencia sea mayor.

Existen múltiples evidencias que indican que la neutropenia inducida por beta-lactámicos es mediada por un efecto tóxico dosis-dependiente que inhibe a los precursores mieloides en la médula ósea. Sin embargo, no puede excluirse por completo la interacción de un mecanismo inmunológico en el efecto mencionado y mayores estudios prospectivos al respecto son necesarios para esclarecer el mecanismo fundamental de su producción.

Lo relevante para el clínico estriba en la importancia de monitorizar cuidadosamente la cifra de leucocitos y su diferencial en cualquier paciente que reciba terapia con penicilinas, penicilinas semisintéticas o cefalosporinas por largos períodos de tiempo y altas dosis, como por ejemplo en pacientes con endocarditis u osteomielitis. Si las cifras de leucocitos llegan por debajo de 5000/mm³ debe valorarse la reducción de la dosis del antibiótico y el paciente debe ser observado cuidadosamente con cuentas diarias de la fórmula blanca. Si la disminución se incrementa el antibiótico debe suspenderse completamente y seguirse la vigilancia del paciente hasta que la cuenta de leucocitos y su diferencial retorne a cifras normales.

La dificultad estará en balancear los posibles riesgos de la neutropenia contra aquellos secundarios contra aquellos secundarios a la suspensión de la droga o cambiarla por una alternativa menos efectiva.

Existen algunos signos de alarma que pueden alertar al clínico sobre el posible desarrollo de neutropenia en el curso de una terapia prolongada con beta-lactámicos como son eosinofilia, exantema y fiebre. Estos signos parecen representar un síndrome patogenéticamente relacionado a esta complicación y que se han encontrado presentes en porcentajes significativos en el momento en que la neutropenia ha sido detectada.

Es importante tener en cuenta las propiedades farmacocinéticas de un antimicrobiano en particular en vista de su probable mielotoxicidad. Tal es el caso del ceftriaxone que tiene una vida media más larga y la neutropenia ocurre con dosis más bajas que con cualquier otro beta-lactámico. Asimismo la excreción renal y el metabolismo de la droga deben ser considerados en casos individuales ya que influyen directamente sobre las concentraciones séricas de la misma.

En la práctica clínica existe un grupo de pacientes en quienes ésta complicación debe ser evaluada cuidadosamente ya que comúnmente reciben grandes dosis de beta-lactámicos y son aquellos con falla en la médula ósea (generalmente debida al uso de medicamentos citotóxicos o secundario a padecimientos oncológicos) en los cuales se inicia de manera empírica tratamiento con altas dosis de antimicrobianos cuando se presenta fiebre en la fase neutropénica. Es bien sabido que la incidencia de infecciones bacterianas y micóticas está relacionada directamente con la neutropenia y que cualquier retardo en la recuperación de la médula ósea conlleva un incremento en la morbi-mortalidad en estos pacientes. Esto viene a colación por el trabajo realizado por Neftel (76) quien analizó 227 episodios de

granulocitopenia en pacientes con Leucemia Mielógena aguda y encontró que la neutropenia fué significativamente más prolongada en aquellos que recibían antibióticos beta-lactámicos.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Queener S.F. History and Origins of Beta-Lactam Antibiotics. In: Queener SF, Webber JA, Queener SW, eds. Beta-Lactam antibiotics for clinical use. New York: Marcel Dekker. 1986; 4: 3-15.
- 2.- Waxman, D.J y J.L Strominger. Penicillin-binding proteins and the mechanism of action of Beta-Lactam antibiotics. Ann. Rev. Biochem. 1983; 52: 825-869.
- 3.- Neu H. C. Penicillin-binding proteins and beta-lactamases: their effects on the use of cephalosporins and other new beta-lactams. In: Remington JS; Swartz MN. eds. Clinical Current Topics in Infectious Diseases. Mc Graw Hill. 1987; 8: 37-61.
- 4.- Tipper H.C. Mode of action of Beta-Lactam antibiotics. Rev. Infect. Dis. 1979; 1:39-53.
- 5.- Strominger, J.L. How penicillins kills bacteria: a short history. In: D. Schlessinger (ed). Microbiology 1977. American Society for Microbiology. Washington, USA. 1977; pp. 195-202.
- 6.- Mizuguchi Y., M. Ogawa y T. Udou. Morphological changes induced by B-lactam antibiotics in Mycobacterium avium intracellulare complex. Antimicrob Agents Chemother. 1985;27: 541-547.

- 7.- Tipper, D. y Strominger JL. Mechanism of action of penicillins: a proposal based on their structural similarity to acyl-D-alanyl-D-alanine. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1955; 54:1133-1141.
- 8.- Spratt B. Penicillin-binding proteins of *Escherichia coli*: general properties and characterization of mutants. In: Microbiology 1977. D. Schelessinger (ed). American Society Microbiology. Washington, USA. 1977.
- 9.- Tipper, D.J. Mode of action of Beta-Lactam antibiotics. En: Queener S.F, Webber JA, Queener SW, eds. Beta-Lactam antibiotics for clinical use. New York:Marcel Dekker. 1986; 4: 17-47.
- 10.- Donowitz G.R, Mendell G.L. Beta-Lactam antibiotics. (First of two parts). The New England Journal of Medicine. 1988; 7: 419-426.
11. Tomasz, A. From penicillin-binding proteins to the lysis and death of bacteria. A 1979 view. Rev. Infect. Dis. 1979; 1: 39-53.
- 12.- Koch, A.L. Evolution of antibiotic resistance gene function. Microbiol. Rev. 1981; 45: 355-378.
- 13.- Madeiros A.A, Jacoby G.A. Beta-Lactamase-Mediated Resistance. En: Queener S.F. Webber J.A, Queener S.W. eds. Beta-Lactam antibiotics for clinical use. New York: Marcel Dekker. 1986; 4: 49-84.
- 14.- Richmond M.H. y R.B. Sykes. The beta-lactamases of Gram-negative bacteria and their possible physiological role. Adv. Microb. Physiol. 1973; 9:31-88.

- 15.- Madeiros A.A. Classification and distribution of beta-lactamases. En:Schle ssinger, D. (ed). Microbiology 1984. American Society for Microbiology. Washington, USA. 1984. pp. 385-390.
- 16.- Ogawara H. Antibiotic resistance in pathogenic and producing bacteria, with special reference to B-lactam antibiotics. Microbiol. Rev. 1981; 45: 591-619.
- 17.- Datta, N. y P. Kontomichalou. Penicillinase synthesis controlled by infectioud R-factors in Enterobacteriaceae. Nature (London). 1965; 208: 239-241.
- 18.- Foster, T.J. Plasmid-determinatee drug resistance. Microbiol. Rev. 1983; 47: 361-409.
- 19.- Matthew, M.R. Types of B-Lactamases determined by plasmides in gram-negative bacteria. J. Bacteriol. 1969; 138: 657-662.
- 20.- Sawai, T., M. Kanno y K. Tsukamoto. Characterization of eighti beta-lactamases od Gram-negative bacteria. J. Bacteriol. 1982; 152: 567-571.
- 21.- Sykeks, R.B. y M. Matthew. The B-lactamases of Gram-negative bacteria and their role in resistance to B-lactam antibiotic. J. Antimicrob. Chemother. 1976; 2: 116-157.
- 22.- Matthew, M.R. Identification of B-lactamases by analytical isoelectric focusing. J.Gen. Microbiol. 1976; 94: 55-67.

- 23.- Madeiros A.A., M. Cohenford y G.A Jacoby Five novel plasmid-determined B-lactamases. Antimicrob. Agents Chemther. 1985; 27: 715-719.
- 24.- Sanders, C.C. Alterations in beta-lactamase control as a resistance mechanism. pp. 391-392. En: D. Schlessinger (ed). Microbiology 1984. American Society for Microbiology. Washington, USA. 1984.
- 25.- Beckwith, D.G. y J.A. Jahre. Role of a beta-lactamase in a case of breakthrough bacteremia. J. Clin. Microbiol. 1980; 12: 517-520.
- 26.- Sebeerg A.H., R.M. Tolxdorff. Neutzling y B. Wiedemann. Chromosomal B-lactamases of Enterobacter cloacae are responsible for resistance to third-generation cephalosporins. Antimicrob. Agents Chemother. 1983; 23: 918-925.
- 27.- Sanders, C.C. Emergence of resistance during therapy with newer beta-lactam antibiotics: role of inducible beta-lactamases and implications for the future. Rev. Infect. Dis. 1983; 5: 639-648.
- 28.- Gootz T.D. y Sanders C.C. Characterization of B-lactamase induction in Enterobacter cloacae. 1983; 23: 91-97.
- 29.- Sanders, C.C., W.E. Sanders Jr. y R.V. goering. In vitro antagonism of beta-lactam antibiotics by cefoxitin. Antimicrob. Agents Chemother. 1982; 21: 968-975.

- 30.- Sanders, C.C. W.E. Sanders Jr. y R.V. Georing. Influence of Clindamycin on derepression of B-lactamases in *Enterobacter* sp and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1983; 24: 48-53.
- 31.- Gutmann L., R. Williamson. A model system to demonstrate that B-lactamase associated antibiotic trapping could be a potential means of resistance. 1983; 148: 316-321.
- 32.- Santos, J.I. y M. Finland Resistance to beta-lactam antibiotics for clinical use. F. Queener y J.A. Webber (eds) Marcel Dekker. New York, USA.
- 33.- Hancock, R.E.W. Alterations in the outer membrane permeability. *Ann. Rev. Microbiol.* 1984; 38: 237-264.
- 34.- Mouton R.P. Recent advances in the development of broad-spectrum antibiotic. In: *Antibacterial treatment of infection in the hospital*. R.P. Mouton (ed). Excerpta Medica. Amsterdam, The Netherlands. pp. 1-14. 1981.
- 35.- Hrebenda, J. y H. Heleszko. Mutation affecting the resistance of *Escherichia coli* K-12 to B-lactam antibiotics. *J. Antimicrob. Chemother.* 1985;16: 149-156.
- 36.- NiKaido, H. y Vaara. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. *Microbiol. Rev.* 1985; 49: 1-32.

- 37.- Godfrey A.J., L. Hatlelid y LE. Bryan. Correlation between lipopolysaccharide structure and permeability resistance in B-lactam-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1984; 26: 181-186.
- 38.- Nikaido, H. Outer membrane permeability and B-lactam resistance. In: D. Schlessinger (ed). *Microbiology 1984*. American Society for Microbiology. Washington USA. 1984. pp. 381-384.
- 39.- Lugtenberg, B. y Van Alphen. Molecular architecture and functioning of the outer membrane of *E. coli* and other gram-negative. *Biochim. Acta.* 1983; 737: 51-115.
- 40.- Nikaido H. y T. Nakae. The outer membrane of gram-negative bacteria. *Adv. Microb. Physiol.* 1979; 20: 163-250.
- 41.- Gutmann L. R. Williamson y E. Collatz. The possible role of porins in bacterial antibiotic resistance. *Ann. Int. Med.* 1984; 101: 554-557.
- 42.- Nikaido H., E. Y. Rosenberg y J. Foulds. Porin channels in *Escherichia coli*: studies with B-lactam in intact cells. *J. Bacteriol.* 1983; 153: 232-240.
- 43.- Jaffé A., Y.A. Chabbert y E. Darlot. Selection and characterization of beta-lactam-resistant *Escherichia coli* K-12 mutants. *Antimicrob. Agents Chemother* 1983; 23: 622-625.
- 44.- Calderón Jaimes E. Aplicación clínica de antibióticos y quimioterápicos. 5ta. ed. Ed. Méndez Cervantes. México. 1984. pp. 56-90.

- 45.- Neu H.C. The emergence of bacterial resistance and its influence on empiric therapy. Rev. Infect. Dis. 1983; 5 (suppl): 59-520.
- 46.- Kumate J. 1981 Antibióticos y Quimioterapéuticos. 2da. ed. pp. 83-115. Ed. Méndez Cervantes. México.
- 47.- Christensen B.G. 1981. Structure-activity relationships in B-lactam antibiotics. In: B-lactam antibiotics M.R.I. Salton y G.D. Shockman (eds). Academic Press. New York, USA. pp. 101-122.
- 48.- Donowitz GR., Mandell G.L. Beta-lactam antibiotics. (Second of two parts). The New England Journal of Medicine. 1988. 8:490-500.
- 49.- Neu HC., Structure-activity relation of new beta-lactam compounds and in vitro activity against common bacteria. Rev. Inf. Dis. 1983; 5 (suppl 2); 5319-5337.
- 50.- Stupman HR., Welch D.F. Seribner RK, Marks MD. In vitro antimicrobial activity of Aztreonam Alone and in combination against bacterial isolates from pediatric patients. Antimicrob agents Chemother. 1984; 25: 212-5

- 51.- Van Laethem YE, Husson M, Klastersky. J. Serum Bactericidal Activity of Aztreonam, cefoperazone, and Amikacin alone or in combination, against *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1984; 26: 224-7.
- 52.- Spratt BG, Jobanputra V, Zimmermann W. Binding of thienamycin and clavulanic acid to the penicillin-binding proteins of *Escherichia coli* K-12. *Antimicrob Agents Chemother.* 1977; 12: 406-9.
- 53.- Saxon A, Beall GN, Rochr AS, Adelman DC. Immediate Hipersensitivity Reactions to Beta-lactam Antibiotics. *Annals of Internal Medicine.* 1987; 107: 204-215.
- 54.- Idsoe O, Giuthe T, Wilcox RR, De Weck AL. Nature and extent of penicillin side-reactions, with particular reference to fatalities from Anaphylactic shock. *Bull LUHO.* 1968; 38: 159-88.
- 55.- Parry M.F. The Penicillins, Update on Antibiotics I *Medical Clinics of North America*, 1987; 6: 1093-1112.
- 56.- De Weck AL, Eisen HN, Some immunochemical properties of Penicillenic acid. *J. Exp. Med.* 1960; 112; 1227-48.

- 57.- Parker CW, De Week AL, Kern M, Eisen HN. The preparation and some properties of penicillenic acid derivatives relevant to penicillin hypersensitivity. *J. Exp. Med.* 1962; 115: 803-19.
- 58.- Lichtenstein LM. Diagnostic tests in allergic diseases. IN :Rose NR, Friedman H, eds. *Manual of Clinical Immunology*. 2nd ed. Washington, D.C: American Society for Microbiology; 1980: 775-7.
- 59.- Warrington RJ, Simons FE, Ho HW, Gorsk;BA. Diagnosis of penicillin allergy by skin testing: the Manitoba experience. *Can Med Assoc J.* 1978;118: 787-91.
- 60.- Green GR, Rosenblum AH, Sweat LC. Evaluation of penicillin hypersensitivity: value of clinical history and skin testing with penicilloyl-polylysine and penicillin G. *J. Allergy Clin Immunol.* 1977; 60: 339-45.
- 61.- Stember RH, Levine BB. Prevalence of allergic diseases (Abstract). *J. Allergy Clin Immunol.* 1973.51: 100.
- 62.- Petz LD. Immunologic reactions of humans to cephalosporins. *Post-grad Med. J.* 1971; 47 (Suppl): 64-9.
- 63.- Adkinson NF, Saxon A, Spence MR, et al: Cross-allergenicity and immunogenicity of Aztreonam. *Rev Infect Dis.* 1985; 74: S613-S621.

- 64.- Gold JA, McKee JJ, Ziv AS: Experience with Cefazolin: An overall summary of pharmacologic and clinical trials in man. *J. Infect. Dis.* 1973; 128 (Suppl): S415-S412.
- 65.- Goldberg DM. The Cephalosporins. Update on Antibiotics I. *Medical Clinics of North America.* 1987; 6: 1113-1133.
- 66.- Sattler FR, Weite Kamp MR, Ballard JO. Potential for bleeding with new beta-lactam antibiotics. *Ann Intern Med.* 1986; 105:924-931.
- 67.- Neu HC, Prince AS: Interaction between moxalactam and alcohol. *Lancet.* 1980; 1: 1422.
- 68.- Kleinknecht D, Ganeval D, Droz D. Acute renal failure after high doses of gentamicin and cephalotin. *Lancet.* 1973; 1: 1129.
- 69.- Mondorf AW. Nephrotoxicity of cefotaxime. *Lancet.* 1979; 2: 799.
- 70.- Neu HC. Aztreonam: The first monobactam. Update on Antibiotics II. *Medical Clinics of North America.* 1988; 3: 555-566.
- 71.- Adkinson NNF Jr., Swabb EA, Sugarman AA. Immunology of the monobactam aztreonam. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1984; 25:933-7.
- 72.- Stille W, Gillissen J. Clinical experience with aztreonam in Germany and Austria. *Rev. Infect Dis. (suppl 4).* 1985; 7: 825-830.

- 73.- Daikos GK. Clinical experience with aztreonam in four Mediterranean countries. Rev Infect Dis. (Suppl. 4). 1985; 7: 831-839.
- 74.- Lipman B, Nan HC. Imipenam: A new Carbapenem Antibiotic. Update on Antibiotics II. Medical Clinics of North America, 1988; 3: 567-579.
- 75.- Calandra GR, Brown KR, Grad CL, et al. Review of adverse experiences and tolerability in the first 2,516 patients treated with Imipenem/Cilastatin. Am J. Med. 1985; 78: 65-70.
- 76.- Neftel K.A., Hauser SP., Müller MR. Inhibition of Granulopoiesis in Vivo and in vitro by Blactam Antibiotics. The Journal of Infectious Diseases. 1985; 1: 90-98.
- 77.- Young GA. Vicent PC. Drug induced-agranulocytosis. Clin Haematal. 1980; 9: 483-504.
- 78.- Weitzman SA, Stossed TP, Drug-induced immunological neutropenia. The lancet. 1978; 20: 1068-1071.
- 79.- Carpenter J. Neutropenia Induced by Semisynthetic Penicillin. Souther Medical Journal. 1980; 6: 745-748.
- 80.- Corbtt GM, Parry D.J, Shaw T.R.D. Penicillin induced Leucopenia. The New England Journal of Medicine, 1982; 26: 1642-43.

81. Coluin B, Roger M, Lay Tan C. Bencyl Penicillin-induced leucopenia; complication of treatment of bacterial endocarditis. Br Heart J. 1974;36:216-9
- 82.- Gastineau D, Spector R, Philips D, with severe Neutropenia Associate penicillin the rapy Annals of Internal Medicine. 1981; 5: 711-712.
- 83.- Reyes MP, Palutke M, Lerner AM, The American Journal of Medicine. 1973; 54: 413-418.
- 84.- Kahn J.B. Oxacillin-Induced Agranulocytosis JAMA. 1978; 24: 2632.
- 85.- Chu JY, O'Connor DM, Schmidt RR. The Mechanism of oxacillin-induced neutropenia. The Journal of Pediatrics. 1977; 4:668-669.
- 86.- Mallouh AA, Methicillin-induced neutropenia. Pediatrics Infeccions Disease. 1985; 3: 262-264.
- 87.- Green GR, Cohen E: Nefcillin-induced neutropenia in childeren. Pediatrics. 1978; 61: 94-97.
- 88.- Gatell JM, Rello J, Miro JM, Martinez JA, Soriano E, Garcia JSM. Cloxacillin-Induced Neutropenia. The Journal of Infeccion Disease. 1986; 2:372.
- 89.- Shah, L, Kumar KS,. Lemer AM. Agranulositosis Associated with cronic Oral Administracion Cloxacillin for Suppresiono of Staphylococcal Osteomyelitis. American Journal of Hematology. 1982 12: 203-206.

- 90.- Dicafo Ma. Ellman L, Cephalotin-Induced granulocytopenia (letter) *Ann Internal Med.* 1975; 83: 671-2.
- 91.- Holt S, Khan MM, Orlands DA, Epstein EJ, Cefalotin induced neutropenia during the treatment of bacterial endocarditis. *Scott Med. J.* 1978; 23: 135-9.
- 92.- Ohsawa T, Furukawa F. Neutropenia Associated with cefotaxime, *Drug Intell Clin. Pharm* 1983; 17:739-41.
- 93.- Becq-Giraudon B, Cazenave F, Breux JP. Agranulocytose AIGUE Reversible Au. Cours D'UN Traitement Par la Ceftriaxone. *Path Biol.* 1986; 5: 534-535.
- 94.- Monique MA, Dubs MD. Beta-lactam induced neutropenia. *Pediatric Infectious Disease.* 1985; 6: 705-706.
- 95.- Snavelly SR, Helzberg JH, Bodensteiner DC, Plapp FV, Davis JW, Hodges GR. Profund Neutropenia Associated with Benzypenicillin. *Southern Medical Journal.* 1983; 10:1299-1301.
- 96.- Murphy MF, Metcalfe P, Grint PCA, Green AR, Knowles S, Amess JAL, Waters A.H. Cephalosporin-induced immune neutropenia. *British Journal of Hematology.* 1985; 59: 9-14.

- 97.- Homayouni H, Gross PA, Setia U, Lych TJ. Leucopenia due to Penicillin and cephalosporin Homologues. Arch Intern Med. 1979; 139: 827-828.
- 98.- Pisciotto AV, Immune and toxic mechanisms in drug-induced agranulocytosis. Semin Hematol. 1973; 10: 279-310.
- 99.- Lewitt BA, Gottlieb AJ, Rosenberg IR, et al. Bone Marrow depression due to methicillin, a semisynthetic penicillin. Clin Pharmacol Ther. 1964; 5: 301-306.
- 100.- Westeman EL, Bradshaw MW, Williams TW: Agranulocytosis during therapy with orally administered cloxacillin. And J. Clin. Patol. 1978; 69: 559-560.
- 101.- Ahern MJ, Hicks JE, Andriole UT: Neutropenia during high dose intravenous oxacillin therapy. Yale J. Biol. Med. 1976; 49: 351-360.
- 102.- Brook I, Leucopenia and granulocytopenia after oxacillin therapy. South Med, J. 1977; 70: 565-566.
- 103.- Yow MD, Taber LH, Barrett FF, et al: Aten year assesment of methicillin-associated side effects. Pediatrics. 1975; 58: 329-334.
- 104.- Neftel KA, Wältli M, Spengler H, Von Felten A, Weitzman SA, Bürgi H, de Weck AL, Nautropenia after penicillins: Toxic or immune-mediated ? Klin Wochenschr. 1981; 59: 877-88.

- 105.- Rouveix B, Lassoued K, Vittecoq D, Regnier B, Neutropenia due to B-lactamine antibodies. British Medical Journal. 1983; 287: 1832-1834.
- 106.- Murphy MF, Riordan T, Minchinton RM, Chapman JF, Amess JAL, Shaw EJ, Waters AH: Demostration of an inmune-mediated mechanism of penicillin-induced neutropenia and Thrombocytopenia. British Journal of Hematology. 1983; 55: 155-160.
- 107.- Petz LA, Fudenberg HH. Coombs positive hemolytic Anemia caused by penicillin administration, New England Journal of Medicine. 1966; 274: 171-1678.
- 108.- White JM, Brown DL, Hepner GW, y Worlledge, SM. Penicillin-induced haematytic anaemia. British Medical Journal iii, 26-29.
- 109.- Neftel KA, Wälti M, Spengler H, de Weck Al. Effect of storage of Penicillin-G solutions on sensitization to penicillin-G after intravenous administration. Lancet 1983; 1: 986-988.