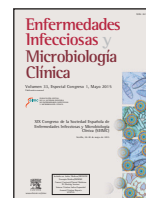




Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Mesas Redondas

XIX Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC)

Sevilla, 28-30 de mayo de 2015

Mesa Redonda 1:

La gran revolución en la hepatitis C

HEPATITIS C: LA CARGA DE LA ENFERMEDAD EN ESPAÑA

M.A. Simón

Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza.

La epidemia del virus de la hepatitis C (VHC) a nivel global está en continua evolución y los parámetros epidemiológicos (prevalencia, incidencia, modalidad de contagio y distribución de los genotipos) han cambiado en manera substancial en las últimas décadas.

A nivel mundial la prevalencia de anticuerpos de la hepatitis C está entre 2-3% con 180.000.000 de personas infectadas y 350.000 muerte cada año. El genotipo más frecuente a nivel mundial es el genotipo 1, pero la distribución difiere de manera significativa a nivel regional, así el genotipo 3 es más frecuente en Asia (40%), y el genotipo 4 altamente prevalente en Egipto (93%).

Situación actual en España

En España falta un verdadero estudio poblacional actual. Los datos publicados entre los años 1.996-2.000 sitúan la prevalencia entre el 1.0% y el 2.6%, siendo el genotipo 1 el más prevalente con un 69% de los casos, en segundo lugar el genotipo 3 con un 20%. Recientemente se ha observado un aumento en la prevalencia de genotipos 3 y 4 debida al consumo de drogas por vía parenteral (ADVP) y a la inmigración.

En la última década la incidencia y prevalencia en España han disminuido. La prevalencia de pacientes virémicos VHC es del 1% lo que significa que existen unos 481.000 pacientes, de los cuales solo están diagnosticados 167.300. Por el contrario la enfermedad crónica avanzada y el cáncer hepatocelular serán más prevalentes, ocasionando un mayor gasto sanitario. Téngase en cuenta que un 30% de los 1.093 trasplantes realizados en 2013 fueron debidos al VHC.

¿Qué ha cambiado en la transmisión?

La transfusión sanguínea fue la responsable de la mayoría de los casos de infección por el virus C junto con el consumo de drogas por vía intravenosa. Actualmente la transmisión nosocomial relacionada con

factores de riesgo como el ingreso hospitalario, procedimientos dentarios, reutilización de jeringas y cirugía previa ha sido la más prevalente. En España el origen nosocomial de nueva infección llegó a ser del 73% en 2005. En las últimas dos décadas se ha observado una disminución casi absoluta en las tasas de contagio a través de transfusión por sangre y un claro descenso en el asociado al uso de drogas por vía parenteral.

Por el contrario se ha detectado un aumento de la incidencia de infección por VHC en hombres homosexuales HIV positivo, como consecuencia de un relajamiento en las medidas de protección.

Escenarios futuros

Se estima que en el futuro el número de personas infectadas por VHC irá progresivamente disminuyendo, paralelamente se observará un incremento constante, de hasta el 14%, en el número de pacientes con cirrosis por VHC y, de carcinoma hepatocelular. Hasta 2030 en España se esperan 90 mil fallecimientos debidos a patología relacionada con el VHC y se calcula que el coste para el servicio público de salud alcanzaría los 2700 millones de euros.

Para obtener un efecto significativo sobre la morbi-mortalidad relacionada con la infección por VHC es necesario que un mayor número de pacientes tengan acceso a tratamientos. Teniendo a disposición tratamientos que permitan tasas de RVS superiores al 80% el objetivo actual tratar al mayor número de personas con infección VHC como así lo prevee el Plan estratégico Nacional para el abordaje de la hepatitis C.

TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS CRÓNICA C: ESTADO DEL ARTE

J. Crespo

Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. IDIVAL. Santander.

El descubrimiento de la hepatitis C se produjo en el año 1989. Dos décadas después, un tiempo extraordinariamente corto en medicina, el profundo conocimiento del ciclo vital del VHC ha conducido a una impresionante innovación terapéutica. En este momento, la terapia antiviral es capaz de curar la infección en la mayoría de los pacientes y en la mayor parte de las circunstancias, con tratamientos cortos, libres de IFN y por lo tanto, con mínimos efectos secundarios. Y, aunque hay múltiples aspectos de la terapia que están pendientes de

confirmación, es probable que consigamos disminuir de manera muy significativa la mortalidad tanto de causa hepática como extrahepática, particularmente cardiovascular y renal.

Y este profundo, revolucionario, cambio, ha venido acompañado por otros cambios no menos notables en múltiples aspectos relacionados con esta infección, algunos de los cuales me permito recordar. En primer lugar, su propio descubrimiento, que utilizó una estrategia desconocida hasta entonces para la búsqueda de una infección viral sospechada desde hacía años pero que permanecía oculta a los ojos de los investigadores. En segundo término y con el objetivo de acelerar el desarrollo de los nuevos agentes antivirales directos, los organismos reguladores más importantes, la FDA y la EMA, han aprobado ensayos clínicos muy rápidos, evitando la rama de terapia comparadora estándar. En tercer lugar, en muchas regiones del mundo y, particularmente en España, se ha producido una intensa movilización social, solo comparable a la que se produjo en los primeros años de la pandemia por el VIH. Las sociedades científicas han tenido que cambiar la estrategia de sus conferencias de consenso, dado que la rapidez en la innovación farmacológica, hace que nazcan anticuadas. Incluso desde el punto de vista económico, tanto la industria farmacéutica como las autoridades han hecho un notable esfuerzo, sustituyendo la habitual compra de pequeños volúmenes y elevado precio, por una estrategia inversa. Y, finalmente, se han elaborado planes estratégicos frente a la infección que abordan, de una forma integral el control de la infección a corto y a largo plazo.

Todos los hechos relacionados conducen al optimismo. La erradicación de una enfermedad nunca sucede como consecuencia de la acción de una persona, una institución o una industria farmacéutica; requiere múltiples acciones concertadas a gran escala, un enfoque basado en la población y, probablemente, el desarrollo de una vacuna que impide la aparición de nuevas infecciones. Y, aunque el final del VHC todavía no se vislumbra, sin duda, la relevancia de la infección decrecerá de forma categórica en pocos años. El éxito de esta misión no solo depende de la efectividad de la terapia antiviral; dependerá en gran medida de nuestro decidido empeño, y el de la sociedad en su conjunto, en finalizar con este virus silente que todavía provoca una enorme morbimortalidad.

RESISTENCIAS DEL VHC A ANTIVIRALES DIRECTOS: QUÉ SABEMOS Y QUÉ DESCONOCEMOS

F. García

Complejo Hospitalario Universitario de Granada. Centro San Cecilio-PTS. Granada.

El ciclo de replicación del VHC ofrece numerosas dianas terapéuticas, y por lo tanto numerosas oportunidades para el diseño de moléculas con actividad antiviral directa. Esto ha permitido el desarrollo de los agentes antivirales de acción directa frente al VHC. Hasta el momento se han comercializado fármacos pertenecientes a tres grandes familias: Inhibidores de la Proteasa (IPs); Inhibidores de NS5b; e Inhibidores de NS5a. Los IPs frente al VHC, en especial los de primera generación, se caracterizan por presentar una elevada actividad antiviral y una baja barrera genética a la resistencia. En esta familia de fármacos hay que destacar también las diferencias que existen en relación al subtipo 1a y 1b, y en cuanto a la dinámica de reversión de las variantes de resistencia, hecho que abre una puerta al posible reciclado de fármacos de esta familia en futuros esquemas de tratamiento, hecho que tendrá que ser validado en ensayos clínicos. Los inhibidores de NS5a se caracterizan por una buena actividad pangenotípica, la ausencia de resistencia cruzada con otros AADs, y una buena actividad antiviral aunque esta es menor en los genotipos 1a, fundamentalmente condicionada por la baja barrera genética a la resistencia a estos fármacos de este genotipo en concreto. Estudios recientes describen con detalle los cambios asociados a resistencia en

NS5a en genotipos 1a y 1b, llegando la prevalencia a cifras cercanas al 30%. Existen dos grandes grupos de fármacos entre los inhibidores de NS5b, los Análogos de Nucleós(t)idos, que son fármacos con una estructura similar a los sustratos naturales de la enzima y que actúan como terminadores de la cadena de polimerización del ARN; y los No Análogos de Nucleósidos, que son inhibidores alostéricos de la ARN polimerasa, e inducen cambios conformacionales en la enzima inactivando el complejo de replicación. Los Análogos de nucleós(t)idos tienen actividad pangenotípica, y presentan una alta barrera genética y baja resistencia cruzada de clase. Los no análogos de nucleósidos presentan baja barrera genética a la resistencia y la resistencia cruzada de clase es variable. En la actualidad se encuentran en diversas fases de desarrollo nuevas moléculas, como gazoprevir, con las que se consiguen minimizar los efectos adversos y modificar la barrera genética para que no se seleccionen las mutaciones de resistencia con tanta facilidad.

La terapia libre de interferón con nuevos antivirales de acción directa (AADs) abre las puertas a la erradicación de la hepatitis C. Aunque las tasas de curación con las nuevas combinaciones de AADs son muy elevadas, existe un pequeño porcentaje de pacientes que no consiguen respuesta viral sostenida. Tanto los inhibidores de la proteasa como, en especial, los inhibidores de NS5a, muestran una baja barrera genética a la resistencia. Los inhibidores de NS5a constituyen uno de los ejes centrales de los esquemas actuales del tratamiento, por lo que es de fundamental interés conocer la dinámica de selección de variantes de resistencia a estas familias, y su persistencia en el tiempo, con el objetivo de poder diseñar los mejores esquemas de rescate en estos pacientes. Además, la correcta caracterización del geno/subtipo del VHC juega un papel cardinal en la selección del régimen de tratamiento, por lo que se debe asegurar el empleo de métodos de genotipado que sean capaces de discernir correctamente el genotipo que infecta al paciente.

Mesa Redonda 2:

La segunda vida de los viejos antibióticos

IMPLICACIONES MICROBIOLÓGICAS Y FARMACOLÓGICAS PARA EL USO TERAPÉUTICO DE LA FOSFOMICINA

F. Docobo

Departamento de Microbiología. Universidad de Sevilla. Sevilla.

El aumento en los últimos años de infecciones causadas por enterobacterias multirresistentes, ha hecho necesario, llevar a la primera línea de tratamiento a viejos antimicrobianos con actividad frente a este tipo de microorganismos.

Fosfomicina es un antimicrobiano con actividad bactericida, que actúa a nivel de la biosíntesis de la pared celular bacteriana inhibiendo la formación del peptidoglicano, mediante su unión al enzima UDP-N-acetilglucosamina enolpiruvil transferasa (MurA), en una reacción que se lleva a cabo en el citosol. En enterobacterias, la entrada de fosfomicina al interior celular está mediada por los transportadores de glucosa-6-fosfato (UhpT) y glicerol-3-fosfato (GlpT), respectivamente. Es por ello, que la pérdida de estos confiere resistencia a este antimicrobiano.

En la actualidad, distintos trabajos sitúan la tasa de sensibilidad a fosfomicina (CMI \leq 64 mg/L) en un 80-100% entre aislados de *E. coli* y *K. pneumoniae*, incluso en cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido y carbapenemasas.

Sin embargo, el papel en la resistencia desde el punto de vista clínico y por lo tanto del fracaso terapéutico de muchos de los mecanismos que causan resistencia a fosfomicina son desconocidos, ya que se desconoce si todas las mutaciones que aparecen en los estudios *in vitro*, realmente aparecen luego *in vivo*.

En este sentido, distintos trabajos han mostrado que la tasa de aparición de mutantes resistentes a fosfomicina *in vitro*, en aislados clínicos de *E. coli* y *K. pneumoniae*, se encontraban entre 1×10^{-5} a 1×10^{-8} . A pesar de estos datos, la tasa de resistencia a fosfomicina en aislados clínicos es baja.

Una de las hipótesis sobre la baja tasa de resistencia a fosfomicina en enterobacterias es, que la resistencia a este antimicrobiano induce una menor tasa de crecimiento bacteriano comparada con cepas sensibles a fosfomicina. Además, las cepas resistentes presentaban una disminución de la adherencia bacteriana a células del uroepitelio y catéteres urinarios. Sin embargo, este coste biológico no parece ocurrir en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a fosfomicina. En nuestro país, la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) autoriza el tratamiento con fosfomicina intravenosa (i.v) de un gran número de infecciones graves de diferente origen. Actualmente, la dosificación máxima autorizada es de 4 g, cada 6-8h. Por otro lado, en la literatura podemos encontrar gran cantidad de trabajos con un amplio abanico de dosificaciones que van desde 2 a 8 g y en pautas de 6 a 12h. Esto pone de manifiesto el desconocimiento sobre los parámetros farmacodinámicos que predicen eficacia y reducen la aparición de aislados resistentes a este antimicrobiano. Además, el uso de fosfomicina en monoterapia puede generar mutantes resistentes conduciendo a un fracaso terapéutico. Sin embargo, se desconocen las ventajas que pudiera aportar un tratamiento combinado en términos de aumento de eficacia y reducción de la aparición de mutantes resistentes.

El objetivo de esta ponencia es exponer la evidencia actual sobre el uso clínico de fosfomicina i.v., los distintos aspectos farmacocinéticos y farmacodinámicos que se conocen de este antimicrobiano, así como poner de manifiesto los aspectos desconocidos actualmente y que permitirían un uso optimizado de fosfomicina.

USO DE LOS AMINOGLUCÓSIDOS PARA EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES CAUSADAS POR ENTEROBACTERIAS MULTIRRESISTENTES

J. de la Torre

Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Reina Sofía- IMIBIC. UCO. Córdoba.

El mayor problema del manejo de las infecciones por enterobacterias multirresistentes, generalmente productoras de carbapenemasas radica en la dificultad para encontrar un régimen antibiótico adecuado, ya que la resistencia a carbapenemasas suele estar acompañada de resistencia a otras familias de antibióticos de primera línea¹. Algunas cepas multirresistentes mantienen sensibilidad a fármacos considerados de segunda línea como tigeciclina, aminoglucósidos, colistina o fosfomicina. Esto explica el renovado interés en la utilidad de los aminoglucósidos en este tipo de infecciones. Algunos estudios han comunicado buenos resultados al emplear aminoglucósidos cuando la cepa es sensible a este grupo de antibióticos^{1,2}. En concreto, se acepta que la monoterapia con aminoglucósidos es efectiva en infecciones leves del tracto urinario o de catéter, tras la retirada del mismo^{2,3}. Sin embargo en infecciones graves de otras localizaciones se consideran inferiores a betalactámicos o quinolonas. Dado que existen evidencias de que tienen efecto sinérgico con otros antibióticos, sólo se recomiendan en terapia combinada³. Además se acepta que las infecciones graves por enterobacterias multirresistentes deben ser tratadas con terapia combinada. ¿Existen evidencias para que se incluyan los aminoglucósidos en estos regímenes combinados?

En ausencia de ensayos clínicos, la práctica clínica debe guiarse por los estudios observacionales. En un estudio reciente nuestro grupo ha demostrado que el uso de gentamicina en infecciones graves producidas por *Klebsiella pneumoniae* altamente resistente a carbapenemasas y colistina reduce la mortalidad cruda a los 30 días del 62% frente al

21%. El efecto beneficioso se mantiene, con menor intensidad, cuando la cepa tiene sensibilidad intermedia. Estos resultados nos permiten recomendar la inclusión de aminoglucósidos, siempre que lo permita la sensibilidad de la cepa, cuando se diseñe un régimen combinado para tratar infecciones graves por enterobacterias multirresistentes. El desarrollo de nuevos aminoglucósidos como la plazomicina, de mayor actividad frente a estos patógenos, abre nuevas expectativas de utilización de los aminoglucósidos⁵.

Bibliografía

- Hirsch EB, Tam VH. Detection and treatment options for *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPCs): an emerging cause of multidrug-resistant infection. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65:1119-25.
- Satlin MJ, Kubin CJ, Blumenthal JS, et al. Comparative effectiveness of aminoglycosides, polymyxin B, and tigecycline for clearance of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* from urine. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:5893-9.
- Rodríguez-Baño J, Cisneros JM, Gudiol C, Martínez JA. Treatment of infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014;32(supl 4):49-55.
- González-Padilla M, Torre-Cisneros J, Rivera-Espinar F, et al. Gentamicin therapy for sepsis due to carbapenem-resistant and colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother.* 2014. doi:10.1093/jac/dku432.
- Horcajada JP, Torre-Cisneros J, Peña C, Fariñas MC. Future alternatives for the treatment of infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: What is the pipeline? *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014;32(supl 4):56-60.

TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES POR ACINETOBACTER BAUMANNII CON TETRACICLINAS Y RIFAMICINAS

G. Bou

Servicio de Microbiología. Complejo Hospitalario Universitario A Coruña.

Durante la ponencia se discutirán distintos aspectos microbiológicos, clínicos y basados en PK/PD en relación al uso de distintas tetraciclinas y rifamicinas para el tratamiento y erradicación de las infecciones causadas por *Acinetobacter baumannii*.

Se analizará la bibliografía publicada a la fecha y se discutirán los aspectos más fundamentales de las mismas.

Mesa Redonda 3:

Mecanismos de acción de los antimicrobianos: más allá de la diana

MUERTE CELULAR MEDIADA POR QUINOLONAS

J.M. Rodríguez

Departamento de Microbiología. Universidad de Sevilla.

Las quinolonas son agentes antimicrobianos capaces de fijarse a las topoisomerasas de tipo II (ADN girasa y topoisomerasa IV). Estos agentes se unen de un modo no covalente (a través de puentes con iones divalentes coordinados con moléculas de H₂O) a los residuos Ser83 y Asp87, en el caso de la ADN girasa de *Escherichia coli*, formando un complejo estable en el momento en el que se produce el corte de doble cadena del ADN. Esta acción convierte a las dianas de las quinolonas en enzimas tóxicas que conducen a la fragmentación del ADN cromosómico. Aunque existe evidencia de que esta fragmentación desencadena la respuesta SOS y otras vías de respuesta a estrés, las bases moleculares que conducen finalmente a la muerte celular son aún inciertas, así como los procesos que ocurren en el rango de concentraciones que va por encima de la concentración mínima inhibitoria hasta la concentración preventiva de mutantes. En este rango de concentraciones las células son expuestas desde niveles de stress moderado a niveles que producen daño severo, siendo los sistemas

implicados en muerte celular (como el sistema SOS o diversos sistemas toxina-antitoxina como *mazEF*) activados de modo diferencial. Por otro lado, en los últimos años se han publicado diversas evidencias de que algunos antimicrobianos, como las quinolonas, pueden inducir la aparición de especies reactivas de oxígeno de carácter endógeno debido a una desregulación de la cadena transportadora de electrones durante la respiración aerobia. Las especies reactivas de oxígeno pueden producir daño celular al reaccionar con el ADN, ARN, proteínas y lípidos contribuyendo a la muerte bacteriana cuando sus niveles superan la capacidad de detoxificación y reparación de la célula. En este sentido, se ha postulado que las especies reactivas de oxígeno (como ión superóxido $[O_2^-]$ y agua oxigenada $[H_2O_2]$ que conducen a la aparición de radical hidroxilo $[OH^-]$ el cual no puede ser eliminado por el metabolismo celular) podrían constituir una vía convergente que contribuiría a la actividad bactericida final de quinolonas y otros antimicrobianos. Aunque esta hipótesis no ha sido uniformemente aceptada por diversos motivos como la heterogeneidad en las técnicas empleadas para medir las diversas especies reactivas de oxígeno, parece bien establecido, por ejemplo, que enzimas implicados en detoxificación de estas especies, como catalasa o superóxido dismutasa, modulan el nivel de supervivencia frente a quinolonas. En esta ponencia se discutirán los principales aspectos que explican las causas finales que conducen a muerte celular bacteriana en presencia de quinolonas y cómo esta información puede resultar útil para el diseño de nuevas estrategias terapéutica que potencien la acción de las mismas.

PAPEL DEL SISTEMA SOS EN LA MUERTE CELULAR INDUCIDA POR BETA-LACTÁMICOS

A. Rodríguez

Evolutionary Biology. Institute for Biology. Free University of Berlin. Alemania.

Los beta-lactámicos constituyen, probablemente, el grupo de antibióticos más importante. Su historia se inicia con el descubrimiento de la penicilina en 1928 por Alexander Fleming y ha llegado hasta nuestros días con el desarrollo de varias generaciones de antimicrobianos¹. La aparición de resistencias y la necesidad de contar con una mayor variedad de propiedades farmacodinámicas son los factores que han impulsado el desarrollo de los dos grandes grupos basados en las penicilinas y cefalosporinas. En general, son antibióticos de acción bactericida lenta, con una actividad dependiente del tiempo de exposición de los patógenos, con la ventaja de que suelen tener una buena distribución y poca toxicidad. Son activos contra bacterias Gram negativas y Gram positivas. El mecanismo de acción común es la inhibición de la síntesis de la pared bacteriana interfiriendo en el último paso de la síntesis, al bloquear la actividad de las transpeptidasas o proteínas PBPs, que participan en la formación de los peptidoglicanos. La muerte bacteriana se produce síntesis incompleta de la pared necesaria para la división y en muchos casos lleva a la inducción de autólisis, que suele estar asociada a sistemas de toxinas endógenas y bacteriofagos¹. A la acción tóxica de los beta-lactámicos, las bacterias contraponen la activación del sistema conocido como SOS, o de daño al ADN. Este sistema, detecta el daño celular o toxicidad a diferentes niveles, detiene la división celular y promueve la activación de una serie de genes que permiten la reparación del daño, pero que además, promueven la mutagénesis y la transferencia horizontal de genes, causas ambas de aparición de resistencias a estos antibióticos². Aunque la diana última de los beta-lactámicos es la síntesis de la pared, el sistema SOS desempeña un papel fundamental, tanto en la muerte de los patógenos como en la generación de resistencias. Se ha propuesto que la inhibición del sistema SOS podría eliminar o atenuar, en gran medida, la dispersión de la resistencia antibiótica³. El sistema

SOS está extremadamente regulado. En el momento en que desaparece o disminuye en concentración el agente encargado del daño, los mecanismos proteolíticos bacterianos (Lon, ClpXP, ClpAP y Hs1UV) degradan las proteínas del regulón y la célula comienza a dividirse nuevamente⁴. El regulador maestro del SOS, LexA, que mantiene los genes del sistema reprimidos en ausencia de daño, provoca la muerte de las bacterias si se inactiva. Sin embargo, esa letalidad, en *E. coli* se suprime por la inactivación de un segundo gen, denominado *sulA*. Su producto génico, *SulA*, es un inhibidor de la proteína *FtsZ*, cuya función es esencial para la división celular⁵. La inhibición de la regulación proteolítica del SOS ofrece una oportunidad única de reforzar la acción de antibióticos tan importantes como los beta-lactámicos. Probablemente, el uso de inhibidores de proteasas específicos contra proteínas como Lon y ClpXP, podría permitir la creación de una segunda diana de acción sinérgica con muchos antibióticos, incluidos los betalactámicos, y disminuir la ventana de selección de mutantes gracias al funcionamiento del sistema SOS.

Bibliografía

1. Kong K-F, Schnepfer L, Mathee K. Beta-lactam antibiotics: from antibiosis to resistance and bacteriology. *APMIS*. 2010;118:1-36.
2. Blázquez J, Couce A, Rodríguez-Beltrán J, Rodríguez-Rojas A. Antimicrobials as promoters of genetic variation. *Curr Opin Microbiol*. 2012;15:561-9.
3. Thi TD, Lopez E, Rodríguez-Rojas A, Rodríguez-Beltrán J, Couce A, et al. Effect of *recA* inactivation on mutagenesis of *Escherichia coli* exposed to sublethal concentrations of antimicrobials. *J Antimicrob Chemother*. 2011;66:531-8.
4. Pruteanu M, Baker TA. Proteolysis in the SOS response and metal homeostasis in *Escherichia coli*. *Res Microbiol*. 2009;160:677-83.
5. Bunny K, Liu J, Roth J. Phenotypes of *lexA* Mutations in *Salmonella enterica*: Evidence for a Lethallex. A Null Phenotype Due to the Fels-2 Prophage. *J Bacteriol*. 2002;184:6235-49.

INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS POR AMINOGLUCÓSIDOS

M. Fernández

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IDIVAL. Santander.

El ribosoma bacteriano es la diana de múltiples antibióticos que interfieren en la síntesis de proteínas. Consta de dos subunidades 50S (con dos moléculas de ARN, 5S y 23S y 33 proteínas) y 30S (con un único ARN 16S y 20 proteínas). Cada subunidad tiene tres sitios de unión para el ARNt: el sitio-A (aminoacil) que acepta un nuevo ARNt aminoacetilado, el sitio-P (peptidil) que sostiene un ARNt que porta la cadena de aminoácidos naciente y el sitio-E (de salida) que sostiene el ARNt desacetilado antes de que abandone el ribosoma. La subunidad 30S se une al ARNm y al ARNt contribuyendo a la fidelidad de la traducción. La subunidad 50S se une a los brazos aceptores del ARNt y cataliza la formación del enlace peptídico entre el nuevo aminoácido del ARNt en el sitio-A y la cadena peptídica asociada al ARNt en el sitio-P. Las dos subunidades están implicadas en la translocación, en donde los ARNt y ARNm se mueven cada vez un codón de manera precisa a través del ribosoma. El acoplamiento de un par codón-anticodón correcto induce un cambio conformacional en el ribosoma, en el que están implicadas las bases universalmente conservadas G530, A1492 y A1493 del sitio-A del ARNr 16S; las bases A1492 y A1493 se giran hacia fuera de la hélice 44 y A1493 interacciona con el primer par de bases del codón-anticodón mientras que A1492 y G530 interaccionan con el segundo par de bases del codón-anticodón. Así es como el ribosoma monitoriza rigurosamente los dos primeros pares de bases, pero es capaz de tolerar un par de bases no correcto en la tercera posición.

Los estudios estructurales demuestran que los aminoglicósidos se unen al sitio-A en la hélice 44 (H44) del ARNr 16S, induciendo en éste un cambio conformacional análogo al observado en presencia de un

par codón-anticodón correcto. Esto disminuye su capacidad de discriminar los pares codón-anticodón correctos de los incorrectos, lo que afecta a la fidelidad de la traducción. Aunque todos los aminoglicósidos se unen a la subunidad ribosomal 30S, los detalles de las interacciones para las diferentes clases de aminoglicósidos son diferentes. Además se ha descrito una segunda diana localizada en la subunidad 50S, en la hélice 69 (H69) del ARNr 23S. La unión en este sitio inhibe el proceso de reciclaje ribosómico, un paso necesario en la que los dos subunidades se separan después de la fase de terminación de la síntesis de proteínas. La proximidad física de estas dos dianas (H44 y H69) sugiere la existencia de un acoplamiento funcional entre ambas. También se ha comprobado el impacto de los aminoglicósidos en otras etapas de la traducción como la rotación y la translocación del ribosoma.

La elevada actividad bactericida de los aminoglicósidos sería debida a la incorporación de algunos de estos péptidos erróneamente sintetizados a la membrana citoplasmática, lo que determina alteraciones de su permeabilidad y una entrada progresiva de aminoglicósidos al interior de la bacteria, produciendo una inhibición ribosómica irreversible y por tanto de la síntesis de proteínas.

Mesa Redonda 4:

El diagnóstico de las enfermedades infecciosas: grandes cambios, grandes retos

DIAGNÓSTICO EN VIROLOGÍA CLÍNICA: CULTIVO VIRAL VS BIOLOGÍA MOLECULAR

D. Navarro

Servicio de Microbiología. Hospital Clínico Universitario. Valencia.

El aislamiento de los virus en cultivo celulares *ex vivo* ha sido durante muchos años el procedimiento de referencia ("gold standard") en virología clínica. La metodología del cultivo celular de virus ha progresado solo moderadamente en los últimos 25 años, con la introducción secuencial del cultivo en tubo, luego en "shell vials", con el uso de la centrifugación para incrementar la sensibilidad del procedimiento y el empleo extendido de combinaciones de líneas celulares en un mismo tubo o de líneas celulares transgénicas para cultivo de algunas especies víricas. No obstante lo anterior, el cultivo celular continúa siendo lento, caro, trabajoso e implausible para algunos virus. Los métodos moleculares, con la PCR en tiempo real a la cabeza, han desplazado el cultivo celular en la inmensa mayoría de laboratorios de diagnóstico clínico. Aquellos permiten la detección precoz y pronta de la práctica totalidad de virus conocidos, su cuantificación e incluso permiten poner de manifiesto la presencia de resistencia (genotípicas) a los antivirales. Los métodos moleculares cuantitativos son irremplazables en el seguimiento de la evolución clínica, estimación del pronóstico y evaluación de la respuesta al tratamiento de un variado espectro de enfermedades infecciosas. La PCR en tiempo real definitivamente ha alcanzado su madurez: procedimentalmente simple, específica, precisa y a un coste razonable. Más allá de la PCR en tiempo real y otras tecnologías de amplificación de ácidos nucleicos (NASBA, nucleic acid sequence-based amplification, strand displacement amplification, transcription-mediated amplification, branched DNA amplification, loop-mediated amplification, and helicase-dependent amplification) se hallan los nuevos procedimientos de secuenciación masiva y de arrays en nanoformatos, que auguran una nueva revolución en el diagnóstico virológico. Aún así, siempre habrá espacio para el cultivo celular, tal vez en laboratorios altamente especializados, pero siempre lo habrá.

Mesa Redonda 5:

La tuberculosis en el siglo XXI

NUEVOS ENFOQUES EN LA VIGILANCIA MOLECULAR DE LA TRANSMISIÓN DE LA TUBERCULOSIS

D. García de Viedma

Servicio de Microbiología. Hospital Gregorio Marañón. Madrid.

La integración de estrategias de caracterización genotípica de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) ha permitido avanzar notablemente en el conocimiento de las pautas de transmisión de este patógeno. Sin embargo, la mera identificación descriptiva de cadenas de transmisión, clusters, objeto de los primeros estudios de epidemiología molecular, ha dado paso a la necesidad de progresar en la precisión y rapidez en la que somos capaces de identificar estos clusters de transmisión, con una nueva finalidad de optimizar la vigilancia y el control de los mismos. El desarrollo de nuevos sistemas de genotipado basados en PCR de minisatélites, y la adecuación de algunos de estos sistemas al análisis directo sobre muestras respiratorias, han sido algunas etapas en este proceso de aproximar los datos genotípicos a los tiempos de respuesta requeridos para abordar una epidemiología molecular intervencionista. El último salto en la evolución de las estrategias moleculares de vigilancia de la transmisión de TB ha resultado de la incorporación de esquemas de secuenciación de genoma completo (WGS), lo que ha significado la transición a una epidemiología genómica, que aporta una capacidad de discriminación nunca antes alcanzada. Sin embargo, estos procedimientos requieren un equipamiento costoso y avanzado y exigen análisis complejos que demoran la disponibilidad de resultados, suponiendo en cierto modo una marcha atrás en cuanto a la rapidez alcanzada por las estrategias de genotipado basadas en PCR antes mencionadas. Con el fin de conciliar la alta discriminación ofrecida por las técnicas de WGS y la rapidez de respuesta y mayor sencillez metodológica de los métodos basados en PCR, en nuestro grupo estamos desarrollando una tercera vía de avance. Está basada en la vigilancia dirigida de las cepas responsables de los eventos de transmisión más relevantes de cada población, por ser responsables de un mayor número de casos secundarios o por implicar a cepas MDR o de alta transmisibilidad/virulencia. La vigilancia enfocada en estas cepas se aborda mediante el desarrollo "a la carta" de PCRs específicas diseñadas para identificar los SNPs marcadores de las cepas seleccionadas, obtenidos a partir del estudio de WGS. Esta estrategia está siendo evaluada en diferentes nodos nacionales e internacionales para el rastreo simultáneo de cepas implicadas en eventos de transmisión activa no controlados, para la vigilancia de la transmisión de cepas MDR y para el análisis de distribución de cepas de alta transmisibilidad. El valor añadido de nuestra estrategia reside en que los ensayos una vez diseñados y optimizados son transferidos a los laboratorios locales implicados en el estudio de los eventos de transmisión cuya vigilancia es prioritaria. De este modo, se podrá transformar una situación en que la vigilancia de la transmisión de TB descansa mayoritariamente en unos pocos centros de referencia, en un nuevo sistema en red multinodal deslocalizado constituido por los laboratorios de las poblaciones con problemas de transmisión no controlados, que serán dotados con ensayos moleculares diseñados para abordar la vigilancia *in situ* de sus propios retos epidemiológicos.

PAPEL DE LOS IGRAs EN EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN TUBERCULOSA, HOY Y AQUÍ

L. Anibarro García

Servicio de Medicina Interna. Complejo Hospitalario de Pontevedra. Pontevedra.

La introducción progresiva en el mercado durante la última década de las pruebas de liberación de interferon gamma (IGRA) ha supuesto una

pequeña revolución para el diagnóstico de la infección latente tuberculosa (ILT). Por primera vez en 100 años, se ofrece una alternativa a la prueba de tuberculina (PT), hasta entonces la única prueba disponible. Existen dos IGRAs comercializados: Quantiferon®-TB Gold in-Tube y T-SPOT®.TB. Al igual que ocurre con la PT, el diagnóstico de la ILT se realiza mediante medidas indirectas, ya que ambos detectan la existencia de respuesta inmune por parte de linfocitos T sensibilizados que reconozcan antígenos de *M. tuberculosis* frente al cual han estado expuestos. Sin embargo, a diferencia de la PT, los IGRAs contienen únicamente 2 o 3 antígenos frente a los cerca de 200 presentes en el PPD empleado para la PT, lo que les confiere mayor especificidad. Una segunda característica propia de los IGRAs es su realización *in vitro* tras la extracción de sangre lo que supone, al menos en teoría, una única visita por parte del paciente, y mejor reproducibilidad de la prueba. Sin embargo, la validez de los IGRAs viene limitada por la ausencia de "gold standard" para el diagnóstico de ILT. Intentando solventar esta limitación se ha recurrido a diversos métodos que intentan evaluar el papel de los IGRAs en el diagnóstico de ILT.

- Concordancia con la PT. Estos estudios comparaban los resultados obtenidos con IGRAs frente a la PT en distintas situaciones de riesgo de infección o progresión a enfermedad tuberculosa. En general, la concordancia entre ambas pruebas era elevada en pacientes adultos sanos no vacunados con BCG y que habían estado en contacto con un paciente con tuberculosis pulmonar activa. En otras situaciones, la concordancia entre ambas pruebas era menor. Los estudios que evaluaban pacientes con inmunosupresión médica o farmacológica, infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana, pacientes con insuficiencia renal terminal, mujeres embarazadas, niños de corta edad, o pacientes con enfermedades autoinmunes, presentaban en general mayor número de discordancias del tipo PT negativa/IGRA positivo. Por otra parte, en los pacientes sanos con antecedentes de vacunación por BCG, las discordancias eran más frecuentemente IGRA negativo/PT positiva.
- Correlación con el grado de exposición a *M. tuberculosis*. En estos estudios se evaluaba la validez de las pruebas en función del riesgo de infección. En general, los IGRAs presentan una correlación similar o mejor que la PT con el grado de exposición a *M. tuberculosis*, especialmente si tenemos en cuenta las situaciones comentadas en el apartado anterior.
- Validez diagnóstica en la tuberculosis activa. En ausencia de un "gold standard" para el diagnóstico de ILT, numerosos estudios han evaluado los IGRAs en pacientes con tuberculosis activa confirmada. Sin embargo, igual que ocurría con la PT, existen también pacientes con tuberculosis confirmada e IGRAs negativos, especialmente en fases precoces de la enfermedad.
- Riesgo de progresión a enfermedad. Son estudios de mayor calidad. Tanto la PT como los IGRAs presentan un valor predictivo bajo para el desarrollo de enfermedad, lo que está en consonancia con el bajo riesgo de progresión a enfermedad en pacientes infectados (estimado en 10% en la población general incluso en ausencia de tratamiento). Sin embargo, existe cada vez mayor evidencia acumulada de que los IGRAs presentan un valor predictivo de desarrollo de enfermedad similar o incluso superior a la PT. El valor predictivo negativo de ambas pruebas es habitualmente muy alto, en ocasiones próximos al 100%. La incorporación de los IGRAs a la práctica clínica, bien como alternativa o bien como complemento a la PT, contribuye a un mejor control de la enfermedad tuberculosa.

AVANCES EN EL TRATAMIENTO DE LA TUBERCULOSIS: NUEVAS ESTRATEGIAS Y NUEVOS FÁRMACOS

E. Navas Elorza

Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

El tratamiento de la tuberculosis apenas ha cambiado en los últimos 50 años, desde que se generalizaron las pautas de 6 meses de duración

basadas en rifampicina, isoniazida, pirazinamida y etambutol. La irrupción de la tuberculosis multirresistente, relacionada en gran parte con las dificultades para la puesta en marcha de programas adecuados de tratamiento y control de la tuberculosis en los países de baja renta, con el estímulo de los programas STOP TB de la OMS han impulsado la investigación tanto en nuevos fármacos para el tratamiento de la tuberculosis resistente, como de nuevos regímenes que acorten o simplifiquen tanto el tratamiento de la enfermedad como la infección latente tuberculosa.

El intento de acortar la duración del tratamiento de la tuberculosis sensible a 4 meses sustituyendo en la pauta estándar isoniazida o etambutol por una fluorquinolona (gatifloxacino o moxifloxacino) no ha tenido éxito hasta la fecha, a pesar de la eficacia bactericida de las quinolonas en los modelos experimentales, puesta de manifiesto en los ensayos clínicos al conseguir mayores tasa de conversión del esputo en el segundo mes; sin embargo, los regímenes de 4 meses han presentado tasas inaceptables de recidiva, significativamente mayores que la pauta estándar.

La rifapentina es una rifamicina de larga vida media, lo que puede contribuir a la simplificación de los regímenes antituberculosos. Se ha propuesto para la fase de continuación en los regímenes de tratamiento supervisado en pauta semanal con isoniazida, con una eficacia relativa, ya que su empleo en pacientes con infección VIH se asoció a tasas muy elevadas de fracaso y selección de resistencias secundarias, en el subgrupo de pacientes con CD4 inferiores a 100/mm³. En el ensayo clínico PREVENT TB, doce dosis supervisadas de la combinación de rifapentina-isoniazida semanal fue tan eficaz en el tratamiento de la infección tuberculosa latente como 9 meses de isoniazida diaria autoadministrada.

Respecto a los nuevos fármacos disponibles, varias moléculas están actualmente en fase II y fase III de desarrollo, y disponemos de algunos resultados preliminares de su actividad bactericida precoz y de su eficacia en el tratamiento de tuberculosis sensible y resistente:

- Nitroimidazoles: delamanid (OPC-67683) y pretomanid (PA-824).
- Oxazolidinonas: sutezolid (PNU-100480) y AZD-5847.
- Diarilquinolinas: bedaquilina (TMC-207).
- Etilendiaminas: SQ109.

Recientemente se han comunicado los resultados de la combinación moxifloxacino, pretomanid y pirazinamida (PaMZ), en tuberculosis sensible, mostrando una mayor eficacia bactericida en las primeras 8 semanas respecto a la pauta estándar de rifampicina-isoniazida-etambutol-pirazinamida, lo que ha dado pie a la puesta en marcha de un ambicioso ensayo clínico en fase III (ensayo STAND) que explorará la eficacia de pautas cortas de 4 meses para tuberculosis sensible, y 6 meses para tuberculosis resistente.

Mesa Redonda 6:

Las especialidades de Microbiología y Enfermedades Infecciosas y su formación

PRESENTE Y FUTURO DE LA FORMACIÓN

J.M. Miró y R. Cantón

Presidente y Vicepresidente de la SEIMC.

El 6 de agosto de 2014 el Boletín Oficial del Estado publicó el Real Decreto (RD) Ley 639/2014, de 25 de julio, por el que se regula la troncalidad, la reespecialización troncal y las áreas de capacitación específica, se establecen las normas aplicables a las pruebas anuales de acceso a plazas de formación y otros aspectos del sistema de formación sanitaria especializada en Ciencias de la Salud y se crean y modifican determinados títulos de especialista. La Sociedad Español-

la de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) ha impugnado este Real Decreto en el Tribunal Supremo, solicitando la creación de la Especialidad primaria de Enfermedades Infecciosas y que la Microbiología y Parasitología esté fuera del tronco de laboratorio y mantenga los 4 años de formación específica.

En este RD la especialidad de Microbiología y Parasitología se incluía en el denominado Tronco de Laboratorio y Diagnóstico Clínico, junto a las especialidades de Análisis Clínicos-Bioquímica Clínica (se fusionan en una sola), Inmunología Clínica y Genética Clínica (creada en este RD). De persistir su desarrollo, el tiempo de formación de los futuros microbiólogos españoles sufrirá una merma importante. Pasaría de cuatro años con el sistema actual (Orden SCO/3256/2006) a tan solo dos años de formación específica en Microbiología que se realizarían al finalizar los dos años troncales iniciales. El programa formativo está aún por definir por la Dirección General de Ordenación Profesional del Ministerio de Sanidad y la Comisión Nacional de la Especialidad. Este sistema ha sido rechazado por los 61 Jefes de las Unidades Docentes de Microbiología y Parasitología acreditadas en España ya que consideran insuficiente el tiempo específico para formar especialistas que sean capaces de desarrollar habilidades y adquirir competencias suficientes para afrontar los retos actuales de la Microbiología. Esta reducción podría condicionar el ejercicio en Europa de los futuros microbiólogos españoles ya que la directiva europea 2005/36/EC y las recomendaciones de la UEMS (*Union of European Medical Specialities*) marcan una duración mínima de cuatro años para la especialidad de Microbiología. La implantación del RD de troncalidad supondrá también la necesidad de reacreditar las actuales unidades docentes y acreditar tutores troncales.

Asimismo, no reconoce la especialidad de Enfermedades Infecciosas, dentro del Tronco Médico, sino que la configura como un Área de Capacitación Específica (ACE). En el RD no se especifica la duración del periodo formativo de las ACE (aunque lógicamente debería ser menor que el de una especialidad médica, que dura como mínimo dos años) y, en concreto, a la ACE de Enfermedades Infecciosas se podría llegar desde las especialidades de Medicina Interna, Pediatría, Neumología y Microbiología (si el microbiólogo es médico) tras trabajar como mínimo dos años en esas especialidades. La ACE, además, im-

pedirá la libre circulación de profesionales en Europa ya que los periodos formativos serán diferentes.

La especialidad de Enfermedades Infecciosas no está reconocida en España aunque desde hace más de 30 años existen unos 100 Servicios, Unidades de Gestión, Unidades Clínicas y Secciones de Enfermedades Infecciosas en España. La asistencia y docencia que realizan es de elevada calidad y la investigación clínica está situada entre los primeros países del mundo. Sólo en cuatro países de la Unión Europea: Bélgica, Luxemburgo, Chipre y España no existe una formación específica en patología infecciosa.

La SEIMC considera que un ACE de 1-2 años de duración impedirá la formación adecuada de los futuros especialistas en Enfermedades Infecciosas, que con la reducción del periodo formativo de la Microbiología y Parasitología en un 50%, originará una disminución de la calidad asistencial, un aumento de la mortalidad y del gasto económico. La SEIMC cree, al igual que la UEMS, la Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas (ESCMID), y los programas formativos de la mayoría de países desarrollados, que las Enfermedades Infecciosas deben ser una especialidad primaria incluida en el tronco médico con dos años de formación en medicina y cuatro de formación específica en Enfermedades Infecciosas, con el fin de adquirir los conocimientos, habilidades y competencias en muy diferentes áreas de la especialidad: infecciones comunitarias, infecciones hospitalarias y asociadas a la asistencia sanitaria (IRAS), infecciones en inmunodeprimidos, VIH/Sida y otras infecciones de transmisión sexual, infecciones en pacientes portadores de dispositivos protésicos, control de la infección hospitalaria, tratamiento antimicrobiano y programas de optimización de su uso (PROA), salud internacional, Medicina Tropical y atención a pacientes con patologías importadas, infecciones emergentes, alertas epidemiológicas y bioterrorismo.

Negar la creación de la especialidad de Enfermedades Infecciosas y amputar la formación en Microbiología y Parasitología hará de España un caso singular en nuestro entorno y originará, de persistir el desarrollo del RD, una anomalía que afectará negativamente al Sistema Nacional de Salud y pondrá en peligro la salud de nuestros pacientes. La SEIMC espera que el Tribunal Supremo reconozca esta realidad y subsane este tremendo error.