LA LUCHA CONTRA LAS RESISTENCIAS BACTERIANAS DESDE EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

POR LA ACADÉMICA ELECTA

ILMA. SRA. Dª. CRISTINA SERAL GARCÍA

DISCURSO LEÍDO EN EL ACTO DE SU RECEPCIÓN
COMO ACADÉMICA DE NÚMERO
EL DÍA 29 DE NOVIEMBRE DE 2022

DISCURSO DE CONTESTACIÓN DE LA
ACADÉMICA DE NÚMERO

ILMA. SRA. Dª. CARMEN TORRES MANRIQUE

ACADEMIA DE FARMACIA "REINO DE ARAGÓN"
Zaragoza
2022

LA LUCHA CONTRA LAS RESISTENCIAS BACTERIANAS DESDE EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

POR LA ACADÉMICA ELECTA

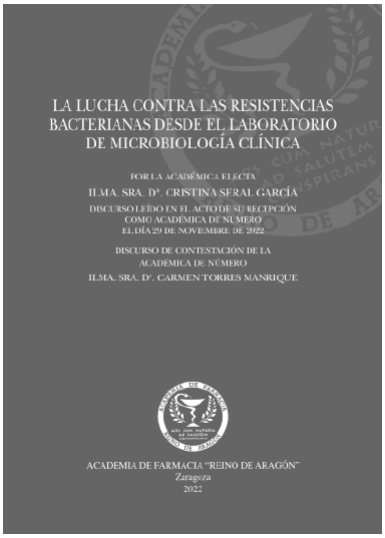
ILMA. SRA. Dª. CRISTINA SERAL GARCÍA

DISCURSO LEÍDO EN EL ACTO DE SU RECEPCIÓN
COMO ACADÉMICA DE NÚMERO
EL DÍA 29 DE NOVIEMBRE DE 2022

DISCURSO DE CONTESTACIÓN DE LA
ACADÉMICA DE NÚMERO

ILMA. SRA. Dª. CARMEN TORRES MANRIQUE

ACADEMIA DE FARMACIA "REINO DE ARAGÓN"
Zaragoza
2022



Edita:
Colegio Oficial de Farmacéuticos de Zaragoza

Distribuye:
Academia de Farmacia "Reino de Aragón"

Imprime:
Cometa, S.A.
Ctra. Castellón, km 3,400 – 50013 Zaragoza

Depósito Legal:
Z. 1737-2022

A mi familia

Sumario

Palabras de salutación, memoria y agradecimientos 7

La lucha contra las resistencias bacterianas desde el Laboratorio de Microbiología Clínica
Ilma. Sra. Dª Cristina Seral García 13

Un tsunami silencioso 15
Concepto de la Microbiología clínica 15
Desarrollo histórico de la Microbiología 16
Microbiología clínica 29
Inicio de la microbiología clínica en España 29
Especialidad en microbiología y parasitología clínica en España 31
¿Qué es un antimicrobiano y su modo de actuar? 35
Historia del descubrimiento de los antibióticos 36
Resistencia bacteriana a los antibióticos 38
Mecanismos de resistencia a los antibióticos 39
Nuevos antibióticos y rescate de los "viejos antibióticos" 41
El uso de fagos contra la resistencia bacteriana a antibióticos 44
Magnitud del problema y lucha contra las resistencias 45
Propuesta de acción futura para la lucha contra las resistencias 48
Nuevas herramientas de diagnóstico microbiológico 50
Futuro del diagnóstico microbiológico 53
Bibliografía 54

Discurso de contestación
Ilma. Sra. Dª Carmen Torres Manrique 59

Palabras de salutación, memoria y agradecimientos

Excelentísimo Sr. Presidente de la Academia de Farmacia “Reino de Aragón”,
Excelentísimos e Ilustrísimos Señoras y Señores Académicos
Queridos familiares y amigos
Señoras y Señores

Es para mí un honor ser recibida como Académica en esta Ilustre Academia de Farmacia “Reino de Aragón” y por ello quisiera expresar mi agradecimiento a su presidente, a los miembros fundadores y a los académicos que la constituyen, por haber considerado mi trayectoria académica e investigadora merecedora de esta distinción. Me embarga en este momento un sentimiento de enorme gratitud hacia todos ustedes, señores Académicos, porque acordaron, tras examinar los méritos y trayectoria que he podido atesorar, otorgarme el alto honor de nombrarme Académica electa. Un sentimiento de profunda responsabilidad, que asumo con ilusión, ya que esta academia es un referente nacional e internacional de los avances en las ciencias farmacéuticas, y anhelo poder contribuir con mi actividad a la misma. Mi más sincero agradecimiento a la Ilma. Sra. Dña. Transito Salvador Gómez y a la Ilma. Sra. Dña. María Luisa Bernal Ruiz por avalar generosamente mi candidatura y, a la Ilma. Sra. Dña. Carmen Torres Manrique por avalar mi candidatura y por realizar la contestación a mi discurso de ingreso. Permítanme unas palabras hacia la Dra. Carmen Torres, Catedrático de Bioquímica y Biología molecular de la Universidad de la Rioja, que desde que formó parte del tribunal de defensa de mi tesis doctoral en el año 2000 ha sido para mí un “referente”, una “gran maestra”, con mayúsculas, en lo científico, en lo profesional y en lo humano. Un gran respeto y máxima admiración que me inspira una mujer científica brillante, habiendo tenido la suerte de tener una colaboración fructífera con su grupo durante más de veinte años, y muchas vivencias compartidas en congresos nacionales e internacionales.

La Microbiología Clínica ha estado muy bien representada en Aragón y en la Real Academia de Medicina de Zaragoza por el profesor Rafael Gómez-Luz, la profesora Carmen Rubio Calvo, el profesor F. Javier Castillo García y el profesor Carlos Martin Montañés. El único mérito que puedo aducir es que me considero discípula de todos ellos. En Zaragoza, desde 1956, el Prof. Gómez-Luz, mi director de tesis, médico e investigador ilustre aportó su sabia humanidad a la Universidad de Zaragoza. Ha sido uno de los mejores microbiólogos que ha dado esta tierra y cuya huella es imperecedera en todas las instituciones a las que ha servido, entre ellas la Real Academia de Medicina, de la que fue Presidente y destacado miembro du-

rante muchos años. Su escuela ha permitido que grandes microbiólogos trabajen bien como profesores en esta universidad y en diversas universidades de España y del extranjero o bien como microbiólogos clínicos de la sanidad pública y privada. En nuestro hospital, el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, desde 1975, el servicio de Microbiología fue dirigido por la Profesora María del Carmen Rubio Calvo, mi querida jefa, que supo conjugar la docencia y la investigación con la labor asistencial, Catedrático de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza desde el año 1982, labor que continuó desarrollando hasta septiembre de 2014, sintiendo la Universidad y el Hospital en toda su dimensión. Fue Académica de la Real Academia de Medicina, representando el área de Microbiología Médica desde 2007. El Profesor F. Javier Castillo García, Catedrático de Microbiología y Parasitología de la misma Facultad desde 2010, Decano de la Facultad durante 8 años de la última década, además de un gran Microbiólogo Clínico al que le debo gran parte de mi aprendizaje en esta disciplina. Javier ha sido mi maestro del día a día, apasionado de la microbiología, irradia un atractivo que arrastra a quienes se acercan y los seduce para que se inicien como discípulos deseosos de penetrar en ese mundo microbiano lleno de retos y aventuras.

Queridos maestros, mi gratitud es inabarcable por haber recibido de vosotros la pasión por la ciencia y la curiosidad de conocer el microcosmos bacteriano y el mundo de la ecología de la resistencia bacteriana.

Permitirán que exprese también mi agradecimiento a todos los miembros del Departamento de Microbiología de la Universidad de Zaragoza y del Servicio de Microbiología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa donde ejerzo mi profesión como farmacéutica y microbióloga clínica desde 2003, mismo servicio donde realicé la especialidad de Microbiología y Parasitología clínica tras superar el FIR con nota en 1996. A los que están actualmente en el servicio y a los que se fueron, de todos he aprendido. Extiendo mi agradecimiento a mis compañeros de otros servicios del hospital con los que comparto tanta ilusión y trabajo todos los días por mejorar la utilización de los antibióticos.

Quisiera expresar también mi gratitud a la familia Roncales, farmacéuticos y amigos, por hacer posible mi primera estancia en el extranjero en FISONS, UK, al terminar la carrera de farmacia y poder adentrarme en el conocimiento de la industria farmacéutica. A la Dra. Joyce Sutcliffe, de Pfizer, Connecticut, por el trabajo realizado conjuntamente describiendo los transposones que portaban los genes de resistencia a macrólidos cuando el descubrimiento de la azitromicina en el año 2000, y a los Dres. P. Tulkens y F. van Bambeke por tutorizarme mi estancia postdoctoral en Bruselas ampliando mis conocimientos en Biología celular y molecular, mérito que me otorgó el recibir el nombramiento de Académico Correspondiente de la Real Academia de Medicina en 2003 con el discurso titulado “Actividad intracelular de los antibióticos”.

Quisiera dedicar unas palabras de agradecimiento al colegio de farmacéuticos de Zaragoza, especialmente a su Presidenta, Raquel García Fuentes, por invitarme a formar parte de su junta de gobierno y representar a los laboratorios clínicos, al resto de la junta, a Ángel por animarme a presentarme a esta vacante y a Verónica, por sus consejos en la redacción de este manuscrito.

Pertenezco a la estirpe médica Iñigo Seral. Una estirpe médica de 4 generaciones y más de 7 médicos en la familia. La primera generación comenzó con Manuel Iñigo Nougués (1874-1941), mi bisabuelo, médico del cuerpo de sanidad militar, Director del hospital de la Cruz Roja que en 1928 fue nombrado Académico Numerario de la Real Academia de Medicina de Zaragoza. Su discurso de ingreso se tituló "El shock traumático. Su etiología, patogenia y tratamiento". La tercera generación la representa Fernando Señal Iñigo (1939-2016), mi padre, Catedrático de Traumatología y Ortopedia infantil y Jefe de Servicio de Traumatología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. En 1988 fue nombrado Académico Numerario de la Real Academia de Medicina, presentando su discurso de ingreso "Artroplastia total de cadera: un desafío a la biología". Él ha sido para mí mi mayor referente, el ejemplo a seguir. Por mis circunstancias personales, por mi historia familiar, hace que tengamos especial relación con la Real Academia de Medicina, presidida actualmente por el Ilmo. Sr. D. Miguel Tobajas, al que el tengo un especial aprecio y cariño.

Por último, quisiera dedicar una mención muy especial a mis amigos de siempre, tan necesarios y tan queridos. A mi familia, que es lo más importante en mi vida. A mi marido, Fernando, juntos hemos formado una gran familia con dos hijas maravillosas. A mi madre, Begoña, ejemplo de generosidad y entrega, a mis hermanas por su amistad y complicidad.

Quiero agradecer por último a todos ustedes, señoras y señores, su presencia en este acto.

La lucha contra las resistencias bacterianas desde el laboratorio de Microbiología Clínica

Ilma. Sra. Dª. Cristina Seral García

Académica electa

UN TSUNAMI SILENCIOSO

La resistencia a los antimicrobianos y las infecciones provocadas por bacterias resistentes y multirresistentes han aumentado progresivamente en los últimos años. Diferentes informes alertan de este hecho, incluidos los realizados por las agencias de Salud Pública, ECDC y CDC, y la propia Organización Mundial de la Salud (OMS). Fruto de ello se han establecido diferentes planes que tratan de evitar su continuo aumento, aunque su implementación es desigual en los diferentes países, incluidos en los de la Unión europea. La consecuencia más inmediata del aumento de las resistencias bacterianas es la ineficacia de los tratamientos antimicrobianos y la mayor carga de enfermedad de las infecciones producidas por ellas.

Actualmente la resistencia a los antimicrobianos (RAM) desarrollada por las bacterias está considerada por la OMS como una de las principales amenazas para la salud. Las resistencias a los antimicrobianos son una prioridad en salud pública debido a su impacto clínico; de hecho, un estudio del ECDC atribuyó a las infecciones causadas por microrganismos resistentes más de 33.000 muertes en 2015. El problema radica en la dificultad para su tratamiento, sobre todo en las bacterias gram-negativas, debido a las escasas opciones terapéuticas. Los antimicrobianos constituyen la principal herramienta para controlar y tratar las infecciones bacterianas, tanto en la medicina humana como en la veterinaria. Los antibióticos, como las vacunas, han salvado millones de vidas, pero además han supuesto una revolución en la medicina. La pérdida de eficacia de estos fármacos nos aboca a un tsunami silencioso que, sin ruido, invade el mundo y derrumba los pilares sobre los que se construye la medicina moderna. La resistencia a los antibióticos no es solo una amenaza futura; está presente aquí y ahora. La reciente pandemia por COVID la ha acelerado. Como farmacéuticos que somos, tenemos que actuar compartiendo la responsabilidad de preservar los antibióticos para las generaciones actuales y futuras.

CONCEPTO DE LA MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Los organismos vivos invisibles al ojo humano desnudo se consideran microorganismos y son objeto de estudio de la Microbiología. En general los microorganismos son seres dotados de individualidad, que presentan una organización biológica simple en comparación con los organismos superiores. En su mayoría son unicelulares. Se han definido también como "seres vivos, de tamaño generalmente

microscópico, con una organización biológica elemental, cuya célula individualizada es habitualmente capaz de llevar a cabo los procesos vitales de crecimiento, respiración y reproducción".

El funcionamiento de la biosfera depende totalmente de las actividades del mundo microbiano. La vida sobre la tierra, a pesar de nuestra tradicional concepción antropocéntrica, es fundamentalmente microbiana. Se pensaba que la mayor diversidad evolutiva de la vida en la tierra, se producía entre los eucariotas, en particular en los seres multicelulares. Sin embargo, el conocimiento real de la diversidad biológica surgió con la determinación de las secuencias genómicas y con la comprensión de que estas secuencias se podían utilizar para relacionar los organismos entre sí. Este planteamiento, desarrollado por Carl Woese, permitió descubrir que el mayor grado de diversidad biológica se produce en los microorganismos (1).

A menudo surge la pregunta de cómo se puede explicar la inclusión en una ciencia como la Microbiología de una gama tan diversa de microorganismos. La justificación está basada en la metodología necesaria para proceder a su estudio:

- Para su observación es necesario el uso de instrumentos de aumento óptico o electrónico como el microscopio.
- Casi nunca se pueden detectar las actividades de los microorganismos de forma individual y, por lo tanto, es necesario recurrir para su estudio a la obtención de poblaciones bacterianas en cultivo puro, hecho que implica el trabajo en condiciones de esterilidad en los métodos e instrumentos empleados
- Todas estas técnicas han ido adquiriéndose durante el desarrollo de la Microbiología y le han conferido una identidad propia.

La Microbiología también se ha definido como la ciencia que trata de los organismos microscópicos y especialmente de sus efectos sobre otras formas de vida (2). Entre estos efectos, la asociación de los microorganismos con la producción de enfermedades infecciosas sirvió para definir la Microbiología Clínica como "la ciencia que estudia los microorganismos capaces de penetrar en el organismo del ser humano y de desarrollar un poder patógeno causante de enfermedad" (3).

DESARROLLO HISTÓRICO DE LA MICROBIOLOGÍA

Si bien el descubrimiento efectivo de seres vivos no visibles a simple vista debió aguardar hasta el último tercio del siglo XVII, sus actividades son conocidas por la humanidad desde muy antiguo, tanto las beneficiosas, representadas por las fermentaciones implicadas en la producción de bebidas alcohólicas, pan y productos lácteos, como las perjudiciales, en forma de enfermedades infecciosas.

Diversas fuentes escritas de la antigüedad griega y romana hablan de gérmenes invisibles que transmiten enfermedades contagiosas. Lucrecio (96-55 a.C.),

en su «De rerum natura», hace varias alusiones a «semillas de enfermedad». En el Renacimiento europeo, Girolamo Fracastorius, en su libro «De contagione et contagionis» (1546) dice que las enfermedades contagiosas se deben a «gérmenes vivos» que pasan de diversas maneras de un individuo a otro. Estos inicios de explicación que renunciaban a invocar causas sobrenaturales fueron probablemente catalizados por la introducción en Europa de la sífilis, una enfermedad en la que estaba clara la necesidad de contacto para su contagio. Pero la «cosa» que se transmite en la enfermedad siguió siendo objeto de conjeturas durante mucho tiempo.

El primer cazador de microbios es indudablemente Antonio van Leeuwenhoek (1632-1723). Nacido en Delft (Holanda), entre molinos azules, bajas callejuelas y altos canales, comerciante del lugar y guardián de la Town Hall, su verdadera y apasionada vocación era la talla y pulido de lentes, que iban a transformarlo en el más famoso microscopista y genial descubridor de los microbios. A pesar de su escasa cultura, tenía una gran tenacidad como decía Paul de Kruif (4, 5). Tuvo que fiarse exclusivamente de sus ojos, de sus ideas y de sus juicios. En su fuero interno pensaba en lo maravilloso que sería mirar a través de una lente y ver las cosas de mayor tamaño. ¿Por qué habría que comprar una lente si podía construirla él mismo? Para ello visitó a orfebres, boticarios, alquimistas…

Las aportaciones de Leeuwenhoek a la ciencia estuvieron marcadas por su silenciosa investigación y por el tardío reconocimiento a su obra. Construyó numerosos microscopios y los utilizó durante veinte años sin apenas auditorio.

Es inimaginable lo que vio el "ojo mágico" del holandés, ya que analizó con sus lentes todo lo imaginable. El listado es interminable…y un día inesperado se le ocurrió examinar una gota de agua: descubrió así los microbios, a los que llamó "animáculos" o "pequeñas bestezuelas". Exclamó en voz alta: "Nadan, se mueven".

En esa época se fundó en Inglaterra la "Royal Society" para la comunicación y publicación de trabajos científicos. Leeuwenhoek transmitió sus observaciones a la Royal Society en forma de una larga serie de cartas escritas en holandés y con un estilo coloquial muy atractivo. Muchas de ellas fueron publicadas en inglés en los Proceedings of the Royal Society, lo que permitió su rápida y amplia difusión. Con su publicación puede decirse que nace la ciencia de la Microbiología.

Simultáneamente el inglés Robert Hooke (1635-1703) usando microscopios compuestos, describió los hongos filamentosos (1667), y descubrió la estructura celular de las plantas (Micrographia, 1665), acuñando el término célula. Pero el trabajo con microscopios compuestos aplicados al estudio de los "animáculos" languideció durante casi 200 años, debido a sus imperfecciones ópticas, hasta que hacia 1830 se desarrollaron las lentes acromáticas.

En 1723 murió Leeuwenhoek: ¿Quién iba a continuar el estudio de los microbios? Lazzaro Spallanzani nacía en Scandiano, al norte de Italia, en el año 1729: otro cazador de microbios iba a tomar el relevo. Este joven se preguntaba: ¿Pueden los seres formarse de manera espontánea o han de tener progenitores?. La respuesta la daría el sabio Horace Bénédict de Sausure (1749-1799), compañero de Bonnet, quien valoró que dos microbios acoplados no se han unido, sino que se

están dividiendo y originarán dos nuevos individuos. Se descubría así un fenómeno maravilloso: la escisión binaria.

En el siglo XVII y XVIII se hicieron importantes contribuciones al perfeccionamiento del microscopio, como las de Malpighi (1628-1694), se adoptó el sistema métrico de longitud y volumen, se inventó el termómetro, Buffón (1707-1788) editó su enciclopedia de historia natural, Jenner (1749-1823) desarrolló la técnica de la variolización y se descubrió la utilidad de la quinina para el tratamiento del paludismo.

El desarrollo de la Bacteriología como disciplina científica se produce a mediados del siglo XIX, como resultado de los trabajos de Louis Pasteur (1822-1895). Aunque Spallanzani, Bassi, Pollender y Davaine realizaron observaciones aisladas de microorganismos y Shultze, Schroeder y Dusch desarrollaron algunos métodos, fueron Pasteur y sus discípulos quienes marcaron las pautas fundamentales que permitieron el cultivo puro y el estudio de las bacterias. Pasteur se había formado como químico y llegó al estudio de los microorganismos debido a sus trabajos sobre la fermentación. Pasteur observó que la fermentación de diferentes fluidos orgánicos se asociaba con la presencia de células vivas y que diferentes tipos de fermentaciones se relacionaban con diferentes organismos microscópicos con morfología y requerimientos de cultivo variados. Introdujo la idea de la especificidad en Bacteriología y sus estudios le llevaron a enfrentarse con el problema del origen de los microorganismos.

A mediados del siglo XIX existían dos escuelas de pensamiento que oponían sus ideas sobre la génesis de los microorganismos. Una de ellas, basada en los conceptos de Aristóteles, creía en la generación espontánea de los organismos vivos a partir de la materia muerta; la otra escuela defendía la idea de que todos los microorganismos vivos provenían de otros microorganismos vivos. Pasteur demostró, siguiendo la técnica de Spallanzani, que en las soluciones esterilizadas por calentamiento se iniciaba la putrefacción por contaminación con microorganismos que se encontraban en el aire y comprobó que esta contaminación podía ser eliminada mediante filtros, o con el empleo de matraces de cuello de cisne, que hacían que las partículas de polvo se sedimentaran en las curvaturas de largo cuello del matraz.

El gran bacteriólogo francés y sus colaboradores E. Roux (1853-1933) y Ch. Chamberland (1851-1908) observaron que los cultivos viejos del agente del cólera de las gallinas (*Pasteurella multocida*) se atenuaban. La conclusión de Pasteur fue inequívoca: "cuando los microbios envejecen, se domestican". Habían descubierto la vacuna inmunizante específica frente a *Pasteurella multocida*. En la Academia de Medicina, Pasteur presentó su vacuna contra el cólera de las gallinas como "más científica y segura que la de Jenner" ya que "el microbio que mata es el mismo que protege". Pronto resurgiría Pasteur, con sus fieles colaboradores, a la búsqueda de una vacuna contra el carbunco. Su estrategia consistiría en atenuar gradualmente los bacilos del carbunco mediante pases sucesivos por ratón, cobaya y conejo. Introdujo los conceptos de virulencia y atenuación y demostró que un cultivo bacteriano atenuado podía servir de vacuna y que era posible estudiar un virus (el de la rabia) mediante su cultivo en animales cuando el agente infeccioso no podía ser cultivado en medios artificiales.

Fue el poeta y médico norteamericano Oliver Wendell Holmes (1809-1894) el autor de un artículo sobre fiebre puerperal. En el contenido de su trabajo destacaba que la enfermedad podría ser diseminada por medio de las manos de los médicos y enfermeras. Demostró, asimismo, el poder desinfectante del agua de cloro, y la recomendó a los institutos de obstetricia. Por esas mismas fechas, Ignaz Semmelweiss (1818-1865) llegó a idénticas conclusiones. Observó que la incidencia de la fiebre puerperal era mayor en las salas de obstetricia donde los estudiantes que realizaban prácticas provenían directamente de la sala de autopsias, introduciendo el lavado de manos antes de atender el parto con una solución de cloruro cálcico lo que redujo notablemente la mortalidad de las parturientas.

Como un juego del destino, precisamente en el año de la muerte de Semmelweiss (1865), Joseph Lister (1827-1912) realizó su primera operación aplicando el tratamiento antiséptico a la prevención y cuidado de las infecciones quirúrgicas. Al famoso cirujano ingles le había impresionado la similitud entre las infecciones de heridas y los fenómenos de putrefacción y fermentación, cuya génesis microbiana había demostrado Pasteur, y llego a la conclusión de que también las heridas se infectaban por microorganismos. Con esta idea en su mente, protegió las heridas con vendajes impregnados con ácido fénico (fenol) y diseñó procedimientos en los quirófanos para destruir microorganismos. Los métodos fueron tan eficientes que a J. Lister se le considera desde entonces como el padre de la antisepsia quirúrgica.

Pasteur vio la necesidad de la esterilización escrupulosa de todos los materiales y productos que fuesen a estar en contacto con las muestras que iban a ser sometidas a examen bacteriológico e ideó métodos para esterilizar con corriente de vapor, autoclave, horno o flameado. También se dio cuenta de la importancia de la composición de los nutrientes, de la acidez o alcalinidad del medio y de la presión de oxígeno a la que estaba sometido éste para el crecimiento favorable de los microorganismos.

El aislamiento en cultivo puro de microorganismos fue posible gracias a los trabajos de Robert Koch (1843-1910) quien con sus estudios y cultivo del bacilo del carbunco (descrito con anterioridad por Delafond, Pollender y Davaine) abrió una nueva era en la tecnología bacteriológica. Demostró cómo se dividían los bacilos del carbunco, mediante la técnica de la gota pendiente y usando humor acuoso de buey. Concluía entusiasmado: “luego están vivos”. Completando sus estudios microscópicos, vio que los bacilos del carbunco que estaba observando se lisaban y se preguntaba: ¿cómo se mantienen en la naturaleza? ¿qué sucede en los campos malditos para que se mantengan contaminados a lo largo del tiempo? Ante sus propios ojos un día se produjo el cambio: los bacilos contenían unos brillantes óvalos. Además, conservados durante un mes, se mantenían y, tras añadirles humor acuoso, ante su asombro, comprobó que se transformaban en largos bacilos.

La aportación de Fannie Eilshemius (1850-1934) y Walther Hesse (1846-1911) a los cultivos en medio sólido al introducir el agar sustituyendo a la problemática gelatina fue de un valor incalculable, ya que ningún microbiólogo puede imaginarse hoy un laboratorio en el que no se utilice el agar. La relación de R. Koch con Ernst Abbe, Karl Zeiss, y su discípulo Paul Ehrlich, con el progreso de la óptica de los microscopios y las técnicas de tinción, respectivamente, significaron un avance

espectacular. Con solo 34 años, R. Koch demostró en Breslau que un microbio (*Bacillus anthracis*) era el agente causal de una enfermedad infecciosa. Conheim afirmó: "Es el más maravilloso descubrimiento efectuado en el reino de los microbios". Y tenía razón, porque hasta ese momento casi nadie creía que los pequeños animáculos de Leeuwenhoek podían provocar enfermedades humanas. El progreso de sus investigaciones fue espectacular: demostró que cada microbio produce una enfermedad determinada e insistió en la transcendencia de evitar la contaminación, con la idea de obtener cultivos puros. Un hallazgo fortuito lo demostró, al ver que una patata cocida abandonada en el laboratorio presentaba una colección de manchas coloreadas. ¡Eran colonias de microbios, cada una diferente!. Había descubierto la manera de obtener cultivos puros.

Mientras tanto, en la ciudad de Jena, se había creado una atmósfera de progreso donde confluían grandes naturalistas como Haeckel, Strassburger o Abbé, interaccionando con una pujante editorial especializada en Biología y Medicina (Gustav Fischer) y con una poderosa industria óptica y química, pudieron satisfacer la necesidad de Koch de perfeccionar el microscopio compuesto, introduciendo lentes acromáticas y una iluminación inferior provista de condensador. En 1875 Carl Weigert tiñó bacterias con pirocarmín, un colorante que ya venía siendo usado desde hacía unos años en estudios zoológicos. En años sucesivos se fueron introduciendo el azul de metileno (Koch, 1877), la fuchsina, y el violeta cristal. En 1882-1883 Ziehl y Neelsen desarrollan su método de ácido-alcohol resistencia para teñir Mycobacterium tuberculosis. En 1884 el patólogo danés Christian Gram establece una tinción de contraste que permite distinguir dos tipos bacterianos en función de su reacción diferencial de tinción y que, como se vería mucho más tarde, reflejaba la existencia de dos grupos de bacterias con rasgos estructurales distintivos. En 1890 Loeffler logra visualizar flagelos bacterianos por medio de su técnica de impregnación argéntica.

Un nuevo reto fue la tuberculosis, y R. Koch se dispuso a identificar al agente que la produce. En 1882 escribió "la etiología de la tuberculosis", donde recogía sus observaciones clínicas y experimentales sobre la tuberculosis, describiendo su patogenia, y posteriormente estudió su diagnóstico e intentó su tratamiento con la tuberculina. Koch fue extraordinariamente minucioso en sus estudios y desarrolló una serie de principios necesarios para establecer la relación entre un microorganismo y una enfermedad infecciosa, los denominados Postulados de Koch, que constituyen uno de los principales fundamentos básicos de la Microbiología médica.

Los experimentos de Koch cumplían con los criterios establecidos por Henle treinta y seis años antes como los necesarios para que se pudiese establecer la relación causal entre un microorganismo y una enfermedad, que son:

- El microorganismo debe estar presente en todos los casos de enfermedad.
- El microorganismo debe poder aislarse en cultivo puro.
- La enfermedad debe poder reproducirse cuando dicho cultivo puro es transmitido a un animal susceptible.

- El microorganismo ha de poderse recuperar a partir del hospedador infectado experimentalmente.

Las contribuciones de Pasteur y Koch se vieron reforzadas por la actuación de sus discípulos que colaboraron en sus trabajos de investigación y realizaron, junto con otros investigadores, importantes descubrimientos y abrieron una nueva era en la Medicina. La mayoría de estos hallazgos se llevaron a cabo a finales del siglo XIX, periodo que ha sido bautizado como la "Edad de Oro de la Bacteriología".

Fue asimismo Koch quien demostró el principio de especificidad biológica del agente infeccioso: cada enfermedad infecciosa específica está causada por un tipo de bacteria diferente. Estos trabajos de Koch abren definitivamente el campo de la Microbiología Médica sobre firmes bases científicas.

Durante las dos décadas siguientes la Microbiología experimentó una auténtica edad de oro, en la que se aislaron y caracterizaron muchas bacterias patógenas. La Alemania del Reich, que a la sazón se había convertido en una potencia política y militar, decidió apoyar la continuidad de los trabajos del equipo de Koch, dada su enorme importancia social y económica, creando un Instituto de investigación, siendo Koch su director en el Departamento de Salud. De esta forma, en la Escuela Alemana se aislaron los agentes productores del cólera asiático (Koch, 1883), de la difteria (Loeffler, 1884), del tétanos (Nicolaier, 1885 y Kitasato, 1889), de la neumonía (Fraenkel, 1886), de la meningitis (Weichselbaun, 1887), de la peste (Yersin, 1894), de la sífilis (Schaudinn y Hoffman, 1905), etc. Igualmente se pudieron desentrañar los ciclos infectivos de agentes de enfermedades tropicales no bacterianas que la potencia colonial se encontró en ultramar: malaria (Schaudinn, 1901-1903), enfermedad del sueño (Koch, 1906), peste vacuna africana (debida al inglés Bruce, 1895-1897), etc.

Por otro lado, la Escuela Francesa, nucleada en el Instituto Pasteur, se concentró en los estudios sobre los procesos infectivos, la inmunidad del hospedador, y la obtención de vacunas, sobre todo a raíz de la vacuna antirrábica ensayada por Pasteur (1885), contribuyendo al nacimiento de la Inmunología.

El descubrimiento de las características de un microorganismo por las que podía ser identificado, fue el primer paso hacia la definición precisa de los géneros y especies bacterianas y para establecer los cimientos de la taxonomía microbiana. Durante los primeros años del siglo XX, se puso mucho cuidado en la identificación y denominación de los microorganismos descritos, revisándose las denominaciones, a veces incorrectas, que tenían algunos microorganismos. Este trabajo comparativo se vio enormemente facilitado por el establecimiento de colecciones de cultivo tipo, que servían como referencia para las demás investigaciones.

El estudio y clasificación de los hongos superiores se inició relativamente pronto, pero no es hasta 1665, cuando Hooke (1635-1703) describe algunos hongos microscópicos y hasta la segunda mitad del siglo XVIII, cuando son reconocidos como agentes productores de enfermedades (*Aspergillus* y *Mucor*) y comienza a despertarse un profundo interés por ellos. La primera asociación de un hongo con una enfermedad humana la realizó Remark, en 1837, al observar filamentos en el

favus, hecho que fue confirmado por Schönlein. Gruby (1810-1898) describió algunos dermatofitos, como *Trichophyton mentagrophytes* y *Microsporum audouini*. Robin estudió y dio nombre a *Candida albicans* y escribió "Historia natural de las plantas parásitas que crecen en el hombre y los animales vivientes", con lo que comenzó el estudio de las levaduras patógenas.

Sin embargo, Sabouraud (1864-1934), con su extremada dedicación al estudio de las micosis superficiales y su identificación, y al desarrollo de medios de cultivo especiales (agar glucosado de Sabouraud) y métodos terapéuticos efectivos en el control de las tiñas, fue el promotor real de la Micología médica moderna. Los agentes de otras micosis fueron aislados y descritos en los últimos años del siglo XIX y primeros del XX (aunque la reclasificación definitiva de *Pneumocystis jirovecii* como hongo es relativamente reciente), y las micosis oportunistas han alcanzado un protagonismo cada vez mayor hasta constituir el importante problema médico que son en la actualidad (6).

La inmunología es, en la actualidad, una ciencia autónoma y madura, pero sus orígenes han estado estrechamente ligados a la Microbiología. Su objeto consiste en el estudio de las respuestas de defensa que han desarrollado los animales frente a la invasión por microorganismos o partículas extraños, aunque su interés se ha volcado especialmente sobre aquellos mecanismos altamente evolucionados e integrados, dotados de especificidad y de memoria, frente a agentes reconocidos por el cuerpo como no propios, así como de su neutralización y degradación.

Como tantas otras ciencias, la Inmunología presenta un prolongado período pre-científico, de observaciones y aproximaciones meramente empíricas. La resistencia a ulteriores ataques de una enfermedad infecciosa fue ya recogida en escritos de la antigüedad; el historiador griego Tucídides (464-404 a.C.) narra que, en una epidemia acaecida durante la guerra del Peloponeso, los enfermos eran atendidos solo por aquellos que habían sobrevivido previamente a la enfermedad, en la seguridad de que éstos no volverían a ser contagiados. Igualmente, en la antigua China se había observado que las personas que en su niñez habían padecido la viruela no la adquirían más adelante en su vida. Los mismos chinos, en el siglo XI a. C., fueron los primeros en intentar una aplicación de estas observaciones que indicaban la inducción de un estado protector por medio de una forma suave de la enfermedad: la inhalación de polvo de escaras de viruela provocaba un ataque suave que confería resistencia ante infecciones posteriores.

El primer acercamiento a la inmunización con criterios racionales fue realizado por el médico inglés Jenner (1749-1823), ya comentado previamente, tras su constatación de que los vaqueros que habían adquirido la viruela vacunal (una forma benigna de enfermedad que sólo producía pústulas en las manos) no eran atacados por la grave y deformante viruela humana. Jenner publicó sus resultados en 1798 ("An enquiry into the causes and effects of the variolae vaccinae..."), pronosticando que la aplicación de su método podría llegar a erradicar la viruela. Jenner fue el primero en recalcar la importancia de realizar estudios clínicos de seguimiento de los pacientes inmunizados, consciente de la necesidad de contar con controles fiables.

El primer abordaje plenamente científico de problemas inmunológicos se debió, de nuevo, a Pasteur. Realizó la primera vacunación antirrábica en humanos el 6 de julio de 1885, sobre el niño Joseph Meister, que había sido mordido gravemente por un perro rabioso. A este caso siguieron otros muchos, lo que valió a Pasteur reconocimiento universal y supuso el apoyo definitivo a su método de inmunización, que abría perspectivas prometedoras de profilaxis ante muchas enfermedades. A su vez, los norteamericanos Salmon y Smith (1886) perfeccionaron los métodos serológicos de Pasteur, lo que les permitió producir y conservar más fácilmente sueros tipificados contra la peste porcina.

A finales del siglo XIX existían dos teorías opuestas sobre los fundamentos biológicos de las respuestas inmunes. Por un lado, el zoólogo ruso Ilya Ilich Mechnikov (1845-1916), que había realizado observaciones sobre la fagocitosis en estrellas de mar y pulgas de agua, estableció, a partir de 1883, su "Teoría de los fagocitos", tras estudiar fenómenos de englobamiento de partículas extrañas por los leucocitos de conejo y de humanos. Informó que existían fenómenos de eliminación de agentes patógenos por medio de "células devoradoras" (fagocitos) que actuaban en animales vacunados contra el carbunco, y explicó la inmunización como una "habituación" del hospedador a la fagocitosis. Más tarde, ya integrado en el Instituto Pasteur, propugnó la idea de que los fagocitos segregan enzimas específicos, análogos a los "fermentos" digestivos (1900). Esta teoría de los fagocitos constituyó el núcleo de la teoría de la inmunidad celular, de modo que la fagocitosis se consideraba como la base principal del sistema de defensa inmune del organismo.

Por otro lado, la escuela alemana de Koch hacía hincapié en la importancia de los mecanismos humorales. Emil von Behring (1854-1917) y Shibasaburo Kitasato (1856-1931), a resultas de sus trabajos sobre las toxinas del tétanos y de la difteria, observaron que el cuerpo produce "antitoxinas" (más tarde conocidas como anticuerpos) que tendían a neutralizar las toxinas de forma específica, y evidenciaron que el suero que contiene antitoxinas es capaz de proteger a animales expuestos a una dosis letal de la toxina correspondiente (1890). La intervención de Ehrlich permitió obtener sueros de caballo con niveles de anticuerpos suficientemente altos como para conferir una protección eficaz, e igualmente se pudo disponer de un ensayo para cuantificar la "antitoxina" presente en suero. Ehrlich dirigió desde 1896 el Instituto Estatal para la Investigación y Comprobación de Sueros, en Steglitz, cerca de Berlín, y, a partir de 1899, estuvo al frente del mejor equipo del Instituto de Terapia Experimental, en Frankfurt. Durante este último periodo de su vida, Ehrlich produce una impresionante obra científica, en la que va ahondando en la comprensión de la inmunidad humoral. En 1900 da a luz su "Teoría de las cadenas laterales", en la que formula una explicación de la formación y especificidad de los anticuerpos, estableciendo una base química para la interacción de éstos con los antígenos. Por su lado, R. Kraus visualiza por primera vez, en 1897, una reacción antígeno-anticuerpo, al observar el enturbiamiento de un filtrado bacteriano al mezclarlo con un suero inmune específico (antisuero). En 1898 Jules Bordet (1870-1961) descubre otro componente sérico relacionado con la respuesta inmunitaria, al que bautiza como "alexina", caracterizado, frente al anticuerpo, por su termolabilidad e inespecificidad. (Más tarde se impondría el nombre de

complemento, propuesto por Ehrlich). El mismo Bordet desarrolló, en 1901, el primer sistema diagnóstico para la detección de anticuerpos, basado en la fijación del complemento.

La conciliación de las dos teorías se debió a Almorth Wrigth y Stewart R. Douglas, quienes en 1904 descubren las opsoninas, anticuerpos presentes en los sueros de animales inmunizados y que, tras unirse a la superficie bacteriana, incrementan la capacidad fagocítica de los leucocitos.

El área de la inmunopatología inicia su historia con la descripción del fenómeno de anafilaxia producido por introducción en un animal de un suero de una especie distinta (Portier y Richet, 1902; Arthus, 1903), lo que a su vez abriría la posibilidad de métodos de serodiagnóstico, con aplicaciones múltiples en Medicina, Zoología, y otras ciencias biológicas. En 1905 Pirquet sugiere que la enfermedad del suero (un fenómemo de hipersensibilidad) tiene relación directa con la producción de anticuerpos contra el suero inyectado, introduciendo el término de alergia para referirse a la reactividad inmunológica alterada.

La inmunoquímica cobra un gran impulso en las primeras décadas del siglo XX con los trabajos de Karl Landsteiner (1868-1943). Su primera contribución de importancia había sido la descripción, mediante reacciones de aglutinación, del sistema de antígenos naturales (ABC0) de los eritrocitos humanos (1901-1902), completada (en colaboración con Von Dungern y Hirzfeld), con las subdivisiones del grupo A y el estudio de su transmisión hereditaria. Estos trabajos sirvieron de estímulo para avanzar en el desentrañamiento de la especificidad química de los antígenos que determinan la formación de anticuerpos. Landsteiner estudió sistemáticamente las características de inmunogenicidad y especificidad de reacción de antígenos con anticuerpos, valiéndose de la modificación química de antígenos, denominando haptenos a aquellos grupos químicos que por sí mismos no desencadenan formación de anticuerpos, pero sí lo hacen tras ser conjugados a proteínas portadoras.

La cuestión de las reacciones antígeno-anticuerpo se convirtió en polémica entre escuelas hasta finales de los años 20. Mientras Ehrlich y sus seguidores mantenían que estas reacciones tienen una base puramente química, Bordet y sus discípulos las explicaban como fenómenos físicos de reacciones entre coloides. La resolución del debate debió aguardar hasta finales de los años 30, al incorporarse avances técnicos como la electroforesis, la cromatografía en papel, la ultracentrifugación y el microscopio electrónico. Heidelberg y Kendall (1936) purificaron anticuerpos a partir de sueros por disociación de precipitados. Tiselius (1939) demostró que los anticuerpos constituyen la fracción gamma-globulínica del suero. Veinte años después R.R. Porter y G.M. Edelman establecen la estructura de las inmunoglobulinas. Durante este lapso de tiempo se descubre que la síntesis de anticuerpos ocurre en las células plasmáticas, aunque éstas no son puestas en relación aún con los linfocitos; durante muchos años se siguió creyendo que los linfocitos eran células pasivas, sin función inmune. Por aquella época se describe, también, la diversidad de inmunoglobulinas, llegándose al establecimiento de una nomenclatura. Enseguida comienza la era de los múltiples experimentos sobre timectomía en ratones neonatos y sobre bursectomía en aves, así como los de reconstitución de animales irradiados,

con timocitos y células de la médula ósea, y que permiten afirmar el papel esencial de los linfocitos, encuadrarlos en tipos funcionales T y B, y relacionarlos con las respuestas inmunes celular y humoral, respectivamente.

Una importante faceta de la inmunología de la primera mitad del siglo XX fue la obtención de vacunas. Se lograron toxoides inmunogénicos a partir de toxinas bacterianas, en muchos casos por tratamiento con formol: toxoide tetánico (Eisler y Lowenstein, 1915) y toxoide diftérico (Glenny, 1921). En 1922 se desarrolla la vacuna BCG contra la tuberculosis, haciendo uso de una cepa atenuada de Mycobacterium tuberculosis, el bacilo de Calmette-Guérin. La utilización de coadyuvantes se inicia en 1916, por LeMoignic y Piroy.

Una contribución esencial a las ideas sobre el mecanismo de formación de los anticuerpos la realizó el australiano Macfarlane Burnet (1899-1985), al establecer su teoría de la selección clonal; ésta argumenta que cada linfocito B sintetiza un único tipo de anticuerpo, específico para cada antígeno (determinante antigénico), de modo que la unión del antígeno causa la proliferación clonal del linfocito B, con la consecuente síntesis incrementada de anticuerpos específicos. Igualmente, Burnet lanzó una hipótesis sobre el mecanismo subyacente a la auto-tolerancia inmunológica, que fue confirmada experimentalmente por Peter Medawar. Más recientemente Niels Jerne ha realizado nuevas aportaciones y refinamientos a la teoría de la selección clonal, proponiendo un modelo de regulación inmune conocido como teoría de las redes idiotípicas.

Los avances en Inmunología durante los últimos años han sido espectaculares, consolidando a ésta como ciencia independiente, con su conjunto propio de paradigmas, ya relativamente escindida de su tronco originario microbiológico. Entre los hitos recientes hay que citar la técnica de producción de anticuerpos monoclonales a partir de hibridomas, desarrollada originalmente por César Milstein y Georges Kohler en 1975, y que presenta una enorme gama de aplicaciones en bioMedicina, o el desentrañamiento de los fenómenos de reorganización genética responsables de la expresión de los genes de inmunoglobulinas, por Susumu Tonegawa.

La Virología ha sido la ciencia microbiológica de origen más tardío, surgiendo como resultado del hallazgo de enfermedades infecciosas en las que la demostración de implicación de microorganismos se mostraba esquiva con los medios habituales disponibles a finales del siglo XIX. La euforia que se vivía en los ámbitos científicos y médicos, al socaire de la edad de oro de aislamiento de bacterias patógenas, se plasmó en el prejuicio de que la incapacidad de hacer crecer los agentes causantes de ciertas enfermedades se debía a una técnica inapropiada o mal aplicada.

El botánico ruso Dimitri Iwanovski había observado (1892) que la enfermedad del mosaico del tabaco podía ser reproducida experimentalmente usando el fluido que atravesaba los filtros de porcelana que normalmente retenían a las bacterias, pero siendo incapaz de aislar y crecer el supuesto microorganismo, abandonó la investigación. Pocos años más tarde (1898), y probablemente sin tener noticias del trabajo de Iwanovski, Beijerink realizó experimentos similares con el mismo sistema, y en otro rasgo de su genio, enfrentándose a los conceptos de la época,

avanzó la idea de que el agente filtrable (un contagium vivum fluidum, según su expresión), debía de incorporarse al protoplasma vivo del hospedador para lograr su reproducción. Este tipo de agentes infectivos que atravesaban los filtros de porcelana fueron llamados en principio "virus filtrables", quedando más tarde su denominación simplemente como virus. Aquel mismo año de 1898 Loeffler y Frosch descubren los virus animales al comprobar que un virus filtrable es responsable de la glosopeda del ganado. En 1901, Reed descubre el primer virus humano, el de la fiebre amarilla, y en 1909, Landsteiner y Pope detectan el de la poliomielitis. A comienzos de siglo, Copeman desarrolla su técnica de multiplicación de virus animales en embriones de pollo, con la que P. Rous aísla y cultiva el virus del sarcoma aviar (1911).

Los virus bacterianos fueron descubiertos en 1915 por F.W. Twort, si bien su trabajo no alcanzó la elegancia y claridad del desarrollado poco más tarde por el canadiense Félix d'Hérelle (1917); fue éste quien acuñó el término bacteriófago, y supuso correctamente que el fenómeno de lisis por estos agentes debía de estar ampliamente difundido entre las bacterias. Aunque su esperanza en la aplicación de los fagos como elementos bactericidas para uso médico no pudo satisfacerse, la contribución de los virus bacterianos al avance de la genética y biología moleculares ha sido decisiva: de hecho, los primeros estudios cuantitativos sobre replicación viral se realizaron sobre fagos de *Escherichia coli*, lo que suministró modelos aplicables a otros virus, incluidos los de animales. En 1925 Bordet y Bal describen por primera vez el fenómeno de lisogenia, pero las relaciones entre los ciclos lítico y lisogénico de los fagos no fueron aclaradas hasta los estudios de André Lwoff (1950).

La primera visualización de un virus se debe a las observaciones a microscopio ultravioleta del bacteriólogo inglés Barnard (1925), y en 1939, se realiza la primera fotografía de un virus a microscopio electrónico. Pero los avances más significativos en el estudio de la composición y estructura de los virus se inician con la purificación y cristalización, por Wendell M. Stanley, del virus del mosaico del tabaco (1935), aplicando procedimientos típicos de la cristalización de enzimas. Inicialmente Stanley comprobó que el virus del mosaico del tabaco contenía gran proporción de proteína, pero poco más tarde detecta, además, la presencia de ácido nucleico. A partir de aquí, la Virología entra en una fase de ciencia cuantitativa, en la que participan numerosos físicos, bioquímicos y genetistas, en un esfuerzo interdisciplinar que da origen a la moderna Biología Molecular.

Un importante avance metodológico para el estudio de los virus animales se debió a Enders, Weller y Robbins (1949), al desarrollar por primera vez un método para la multiplicación viral sobre cultivos de tejidos de mamíferos, técnica que fue perfeccionada más tarde por el equipo de Renato Dulbecco.

Los recientes progresos en las numerosas técnicas de Biología molecular han propiciado una auténtica explosión de descubrimientos sobre la biología de los virus y de sus células hospedadoras; baste citar la replicación del genoma de ARN de los retrovirus por reversotranscripción a ADN, los fenómenos de transformación oncogénica virásica y su aplicación a los estudios generales del cáncer, el diseño de vacunas recombinantes por manipulación in vitro de genomios virásicos, la aplicación clínica de la primeras terapias génicas en humanos recurriendo a vectores

virásicos, etc. La metodología existente ha permitido la rápida identificación y caracterización del virus de la inmunodeficiencia humana, lo que se está traduciendo en una intensa y racional búsqueda de procedimientos para prevenir y eliminar la inesperada epidemia de SIDA.

En años recientes han sido descubiertos dos nuevos tipos de entidades infectivas, subvirásicas: T.O. Diener describió en 1967 la existencia de ARN desnudos infectivos en plantas, a los que llamó viroides, y en 1981 Prusiner puso de manifiesto que determinadas enfermedades de mamíferos se deben a partículas proteicas aparentemente desprovistas de material genético, a las que bautizó como priones.

El auge de la Microbiología desde finales del siglo XIX se plasmó, entre otras cosas, en el aislamiento de gran variedad de cepas silvestres de microorganismos, lo que suministró un enorme volumen de nuevo material biológico sobre el que trabajar, aplicándose una serie de enfoques que eran ya habituales en las ciencias naturales más antiguas; así, había que crear un marco taxonómico (con sus normas de nomenclatura) para encuadrar a los organismos recién descubiertos, era factible desarrollar trabajos sobre morfología y fisiología comparadas, sobre variabilidad y herencia, evolución, ecología, etc. De este modo la joven Microbiología fue objeto, en pocos años, de la utilización, a un ritmo acelerado, de los métodos taxonómicos y experimentales que habían ido surgiendo y madurando desde el siglo XVIII en los ámbitos de la "Historia Natural" clásica. Los avances de Taxonomía Microbiana, se debe a los esfuerzos tempranos para lograr una clasificación bacteriana por parte de Cohn (1875) y Migula (1894), que sustentaban su concepto de especie predominantemente sobre caracteres morfológicos. Pero hacia 1900 era evidente la arbitrariedad e insuficiencia de este tipo de clasificaciones, de modo que los intentos posteriores hicieron uso de caracteres bioquímicos (Orma Jensen, 1909), o de una mezcla de rasgos morfológicos, bioquímicos, patogénicos y de tinción (Buchanan, 1915). El sistema de taxonomía bacteriana adquirió un nuevo impulso a partir de la 1ª edición del "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology" (1923), y de las propuestas de Kluyver y van Niel "Prospects for a natural system of classification of bacteria" (1936). En cuanto a la nomenclatura, no fue hasta 1958 en que se aprobó un Código Internacional de Nomenclatura Bacteriológica, aunque ya se venía aplicando desde hacía tiempo el procedimiento tipológico para los microorganismos, con criterios similares a los de la Zoología y la Botánica.

El establecimiento de relaciones taxonómicas precisó el recurso de métodos cada vez más amplios y sensibles de análisis genético, estructural o fisiológico. Otro paso importante en la percepción de la unidad bioquímica del mundo vivo deriva del descubrimiento de las vitaminas (término acuñado por Funk en 1911), al establecerse que determinados factores de crecimiento requeridos por algunos microorganismos eran químicamente similares a las vitaminas necesarias en la dieta de los animales, y que este tipo de compuestos representa precursores biosintéticos de coenzimas del metabolismo celular. Así pues, este tipo de investigaciones sentó claramente la idea de la unidad química de los seres vivos, independientemente de su encuadre taxonómico, y encauzó una buena parte de los trabajos bioquímicos hacia los microorganismos, dadas sus cualidades de facilidad de manejo y cultivo en el laboratorio.

En cuanto a las conexiones de la Microbiología con la Genética, ya Beijerink, en 1900, tras analizar la teoría de la mutación de De Vries, había predicho que los microorganismos podrían convertirse en objetos de investigación más adecuados que los sistemas animales o vegetales. Pero las primeras conexiones entre ambas ciencias arrancan de la necesidad que hubo, a principios del siglo XX, de determinar la sexualidad de los hongos con fines taxonómicos. En 1905 Maire demostró la existencia de meiosis en la formación de ascosporas, y Claussen (1907) evidenció fusión de núcleos en Ascomicetos, mientras que Kniepp, hacia finales de los años 30 había recogido un gran volumen de información sobre procesos sexuales en Basidiomicetos. El sueco Lindegren (1936) realiza las primeras cartografías genéticas en cromosomas de Neurospora, durante su estancia en el laboratorio californiano de Morgan; este último, propugnador de la "teoría de los genes" (1926), confiaba desde hacía años en ampliar sus éxitos, logrados en Drosophila, hacia el estudio de la genética microbiana. En 1941, otros dos discípulos de Morgan, Beadle y Tatum, aíslan mutantes auxotróficos de Neurospora, con lo que se inicia el estudio de la base bioquímica de la herencia, y convierten a este hongo en una valiosa herramienta de trabajo en esta línea de investigación.

Las estrategias diseñadas por Beadle y Tatum fueron aplicadas por Luria y Delbrück (1943) a cultivos bacterianos, investigando la aparición de mutaciones espontáneas resistentes a fagos o estreptomicina. La conexión de estos experimentos con las observaciones previas de Griffith (1928) sobre la transformación del neumococo, llevó a Avery y colaboradores (1944) a demostrar que el "principio transformante" portador de la información genética es el ADN. En 1949 Erwin Chargaff demuestra bioquímicamente la transmisión genética mediante ADN en Escherichia coli, y en 1952 Alfred Hershey y Martha Chase, en experimentos con componentes marcados de fagos, ponen un elegante colofón a la confirmación de la función del ADN, con lo que se derribaba el antiguo y asentado "paradigma de las proteínas" que hasta mediados de siglo intentaba explicar la base de la herencia. De esta forma, la Microbiología experimental se sitúa en pleno centro del nacimiento de la Genética molecular, de la mano de los avances paralelos en Bioquímica (análisis por rayos X de la estructura del ADN debido a Maurice Wilkins y Rosalind Franklin, modelo de Watson y Crick de la doble hélice del ADN, etc.), dando origen esta confluencia a lo que se ha llamado la "edad de oro" de la Biología Molecular.

Muchos de los hitos del desarrollo histórico de la Microbiología que he descrito en este manuscrito se relatan en libros cuya lectura recomendaría a los estudiantes interesados en nuestra disciplina: Cazadores de microbios, de Paul de Kruif (5); Viruses, plagues and history, de Michael Oldstone (7); Sobre virus y hombres, de Luc Montagnier (8); La estatua interior, de François Jacob (9); De los cazadores de microbios a los descubridores de antibióticos, de Rafael Gómez-Lus (10); Bacterias, de lo desconocido a la celebridad actual, de M. Carmen Rubio-Calvo (11), Virus y pandemias, de Ignacio Lopez-Goñi (12), Microbiota, los microbios de tu organismo, de Ignacio Lopez-Goñi (13), La resistencia bacteriana, paradigma de supervivencia, de F. Javier Castillo García (14) .

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

La Microbiología y Parasitología clínica estudia los microorganismos que se interrelacionan con el hombre y la naturaleza de dicha relación que, en ocasiones, se traduce en una enfermedad infecciosa. La Microbiología y Parasitología clínica no sólo ha de considerar el estudio de los microorganismos que producen enfermedades en el hombre, también debe ocuparse de los microorganismos que forman parte de la microbiota saprofita, por la trascendencia que dichos agentes pueden tener en el control de diversos nichos ecológicos, por sus efectos beneficiosos en la fisiología humana y por su potencial patógeno. Las aplicaciones de la Microbiología y Parasitología clínica al diagnóstico, tratamiento y profilaxis de las enfermedades infecciosas en los humanos son el objeto de estudio de la Microbiología clínica (15).

La Microbiología clínica es hoy en día una especialidad bien consolidada en nuestro país y cuyo desarrollo ha estado necesariamente vinculado a la mejora en el diagnóstico, tratamiento y prevención de las enfermedades infecciosas. En torno a ella, se han ido formando a lo largo del tiempo estructuras asistenciales, docentes y de investigación. Nuevas perspectivas de futuro (identificación de nuevos microorganismos patógenos, cambios metodológicos, calidad y rapidez diagnóstica, infecciones nosocomiales, desarrollo de resistencia a los antimicrobianos, control de la infección, etc.) mantienen la vigencia de nuestra especialidad y constituyen un área de conocimiento bien definida con razón de ser propia.

INICIO DE LA MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN ESPAÑA

El reconocimiento académico en nuestro país de un colectivo de profesionales especialistas en Microbiología clínica es reciente o relativamente reciente; de hecho, el título de especialista en Microbiología se creó en 1955 y no es hasta 1976 cuando se estructura la especialidad de Microbiología y Parasitología. Sin embargo, desde el comienzo del desarrollo de la Microbiología en Europa, vinculado a las grandes escuelas de París y Berlín a finales del siglo XIX y principios del XX, hubo en España médicos y otros profesionales sanitarios con dedicación al estudio de los microorganismos como agentes causales de las infecciones. En aquellos tiempos de gran penuria científica en nuestro país, la gran referencia científico- médica, si no única, es Ramón y Cajal y, por ello, es un honor para los microbiólogos españoles poder vincular los orígenes de su especialidad al Premio Nobel, cuyo interés por la bacteriología se recoge no únicamente en su libro Anatomía Patológica General y Fundamentos de Bacteriología, publicado en 1890, sino en varias publicaciones a lo largo de su trayectoria científica. Contemporáneo de Ramón y Cajal, Jaime Ferrán también merece figurar en los orígenes de nuestra especialidad por su esfuerzo, no siempre reconocido, en el desarrollo y mejora de vacunas, como la anticolérica o la antirrábica.

El nacimiento de la Microbiología clínica en España tiene un triple origen: los profesionales que provienen inicialmente del Instituto Nacional de Higiene, dirigi-

do desde su creación en 1899 por Ramón y Cajal, y los provenientes de la Universidad que desarrollan su actividad en cátedras en hospitales universitarios como los Hospitales Clínicos. El tercer origen lo constituyen los profesores de Microbiología de las Facultades de Medicina que, en su actividad, se inclinaron por el diagnóstico microbiológico y que completaron su formación en centros europeos.

En el primer tercio del siglo XX se crean en España 3 instituciones: el Instituto Nacional de Higiene Alfonso XIII, el Hospital del Rey de Enfermedades Infecciosas y, posteriormente, en 1924 la Escuela Nacional de Sanidad. Estas 3 instituciones serán complementarias en su actividad y permitirán el nacimiento de los primeros microbiólogos españoles dedicados a los aspectos diagnósticos y sanitarios de la Microbiología.

Como actividad pública de estas instituciones debemos destacar la organización del 1er Congreso Nacional de Sanidad en 1934 en Madrid, que supuso un estímulo científico extraordinario y tuvo una numerosísima asistencia. La continuación de esta labor de formación de microbiólogos sanitarios llegará hasta nosotros a través del Dr. Baquero en el laboratorio del Hospital del Rey, hoy Hospital Carlos III, y del Dr. Moreno López, uno de nuestros más reconocidos microbiólogos, descubridor del género *Bordetella*, que años más tarde y desde la Clínica Puerta de Hierro de Madrid impulsó y generalizó el concepto de Microbiología clínica vigente hasta nuestros días.

El segundo grupo de microbiólogos clínicos se formó en el entorno de 2 extraordinarios clínicos, los catedráticos de patología médica Carlos Jiménez Díaz, en Madrid, y Agustín Pedro-Pons, en Barcelona. En Barcelona será el Dr. Amadeo Foz el que seguirá un desarrollo paralelo. El Dr. Foz desempeñará además una misión fundamental en la edición de la sección dedicada a las enfermedades infecciosas dentro del Tratado de Medicina interna dirigido por el Dr. Pedro-Pons, libro de referencia para varias generaciones de médicos de habla española.

El tercer origen del que vienen a unirse otros profesionales a estos 2 focos principales será la Microbiología universitaria. Microbiólogos de diferentes cátedras de facultades de Medicina viajan a diversos centros europeos para especializarse, como a los Institutos Pasteur de París y Lille, Instituto de Medicina Tropical de Hamburgo, etc. Cabe destacar que en Zaragoza desde 1956 el Prof. Gómez-Lus, médico e investigador ilustre, huésped científico en Hamburgo, Atlanta o Wisconsin, aportó su sabia humanidad a la Universidad de Zaragoza además de desempeñar la Jefatura Provincial de Sanidad en Zaragoza (1967) y la Jefatura del Servicio de Bacteriología y la Dirección del Instituto Municipal de Higiene (1972-1980). Su escuela ha permitido que grandes microbiólogos trabajen como profesores en esta universidad y en diversas universidades de España. Mención especial al Profesor F. Javier Castillo García, Catedrático de Microbiología y Parasitología de esta Facultad desde 2010, Decano de la Facultad, además de un gran Microbiólogo Clínico al que le debo gran parte de mi aprendizaje en esta disciplina.

Será en los años setenta, coincidiendo con los grandes cambios sociales, el desarrollo económico y el impulso al sistema sanitario público en nuestro país, la creación de nuevos hospitales y la modernización de otros, cuando la Microbiología

clínica comienza a adquirir el protagonismo que le corresponde en el sistema sanitario español. El primer servicio de Microbiología de la Seguridad Social se creó en la Clínica Puerta de Hierro de Madrid en el año 1966 y sería el modelo a seguir por otros grandes hospitales. En nuestro hospital, el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, desde 1975, el servicio de Microbiología fue dirigido por la Profesora María del Carmen Rubio Calvo, que supo conjugar la docencia y la investigación con la labor asistencial, Catedrático de Microbiología y Parasitología de esta Facultad desde el año 1982, labor que continuó desarrollando hasta septiembre de 2014. En junio de 2003, la que escribe este manuscrito, fue la primera farmacéutica especialista en Microbiología y Parasitología Clínica que ocupaba una plaza vacante del servicio. Hasta entonces, solo había habido médicos microbiólogos en el servicio. Actualmente, el Servicio tiene la mitad de la plantilla de farmacéuticos especialistas y es dirigido por el Profesor Rafael Benito, Catedrático de Microbiología y Parasitología y un gran especialista en virología y serología.

Un conjunto de factores, como la necesidad de aunar calidad diagnóstica y proximidad a los clínicos, el uso masivo de antimicrobianos y el desarrollo de resistencias frente a ellos, así como la creciente importancia de las infecciones hospitalarias, crearon la necesidad de disponer de profesionales con formación especializada en Microbiología clínica. Especialidad que por su contenido específico y por su grado de desarrollo con tecnología propia, constituía un área de conocimiento con entidad diferenciada de otras especialidades sanitarias.

Desde entonces, los nuevos agentes causales de infecciones, el desarrollo de resistencias a los microorganismos, el descubrimiento y aplicación de nuevos métodos diagnósticos más rápidos y específicos, los cambios sociales y poblacionales, que propician la alta incidencia de las enfermedades infecciosas en el mundo, han mantenido la vigencia y la necesidad de nuestra especialidad. Actualmente es una especialidad pluridisciplinar a la que pueden acceder graduados en Medicina, Farmacia, Biología, Química, Biotecnología, Bioquímica y ciencias afines.

ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA CLÍNICA EN ESPAÑA

Según la Orden SCO/3256/2006 (15), la especialidad de Microbiología y Parasitología estudia los microorganismos que se interrelacionan con el hombre y la naturaleza de dicha relación que, en ocasiones, se traduce en una enfermedad infecciosa. No obstante, no sólo ha de considerar el estudio de los microorganismos que producen enfermedades en el hombre, sino que también ha de ocuparse de los que forman parte de la microbiota saprófita. El objetivo central de la actuación del especialista en Microbiología y Parasitología es el hombre enfermo, portador o susceptible a la infección. Su actividad se centra esencialmente, aunque no de forma exclusiva, en el laboratorio de Microbiología. Asimismo, esta orden recoge de manera específica en la definición de la especialidad su proyección hacia la clínica, desde la orientación diagnóstica del paciente y obtención de muestras adecuadas para el diagnóstico hasta las medidas de tratamiento y control de la infección.

Competencias específicas del especialista en Microbiología y Parasitología descritas en la Comisión Nacional de la Especialidad en Microbiología y Parasitología en 2007 son:

- Estudio y conocimiento de los microorganismos patógenos y/o con potencial patogenicidad para el hombre.
- Diagnóstico microbiológico por medios directos o indirectos de las enfermedades infecciosas.
- Interpretación de los datos microbiológicos que permita formar una opinión clínica adecuada.
- Estudio de la actividad de los antimicrobianos y propuestas de políticas de uso racional de los antimicrobianos.
- Conocimientos de bioseguridad y bioterrorismo.
- Colaboración con equipos pluridisciplinares en el control de la infección hospitalaria y extrahospitalaria, y en el diseño de medidas de prevención y profilaxis.
- Metodología científica, elaboración y desarrollo de proyectos de investigación en Microbiología.

El marco teórico de la disciplina lleva asociado el conocimiento de las relaciones parásito-hospedador y todas las generalidades de la ecología bacteriana y la biología de los microorganismos, como paso previo al conocimiento posterior, en detalle, de los microorganismos implicados en las enfermedades infecciosas, agrupados taxonómicamente en bacterias, virus, parásitos y hongos. Como esta disciplina estudia los microorganismos que son capaces de producir infección en el hombre, es fundamental, además, el conocimiento profundo (epidemiología, patogenia, clínica, diagnóstico, tratamiento y prevención) de los principales síndromes clínicos en patología infecciosa.

Probablemente, una de las funciones más importantes del microbiólogo sea la de identificar con precisión y rapidez los microorganismos causantes de las enfermedades infecciosas, especialmente aquellos cuyo aislamiento suponga una amenaza o sobre los que se deba establecer un control. El estudio de la inmunología microbiana le permitirá conocer e interpretar el diagnóstico serológico de las infecciones en las que el diagnóstico se realizará de manera indirecta. Por otro lado, las técnicas de Microbiología molecular, que alcanzan ya casi todas las áreas de trabajo en Microbiología (16), bien en sustitución, bien como complemento o ampliación de las más tradicionales, son herramientas imprescindibles que los nuevos especialistas deben conocer y aplicar. Asimismo, han de adquirir conocimiento en las nuevas técnicas de aplicación posterior en la Microbiología, como la citometría de flujo o la espectrometría de masas (17).

El interés por el conocimiento de la infección nosocomial se inició en los años cincuenta y, desde entonces, se ha producido un incremento notable tanto en el número como en la complejidad de estas infecciones, ampliándose su

campo de acción con los nuevos conceptos de las infecciones en las instituciones de cuidados de salud. El servicio de Microbiología en el hospital ocupa un lugar importante en su control. A través de él se establecen sistemas precoces de alarma, y a él le corresponde el estudio de las muestras denominadas de "vigilancia epidemiológica" (18).

El sistema de alertas clínicas desde el laboratorio de Microbiología es el método reconocido más sensible de detección de brotes causados por microorganismos poco frecuentes o que presentan patrones de resistencia inusuales. En muchos casos, el tipado de aislados e interpretación puede ser un factor crítico en la dirección, alcance y éxito de las investigaciones e intervenciones epidemiológicas (19). En este sentido, las técnicas moleculares han tenido un impacto directo sobre la respuesta rápida y sobre la vigilancia de las enfermedades infecciosas, y de ahí la importancia de su conocimiento y manejo (20).

Por otra parte, aunque la función primordial del laboratorio de Microbiología es el diagnóstico de las enfermedades infecciosas sobre muestras biológicas, es imprescindible conocer el estudio de muestras no biológicas o ambientales para la detección y aislamiento de microorganismos con importante repercusión en el estudio de la infección nosocomial: muestras de aire para verificar su calidad, estudio del agua hospitalaria como fuente de legionelosis, o el estudio de diversas superficies medioambientales para investigar la persistencia y las dinámicas de colonización por microorganismos multirresistentes (21). Asimismo, es importante ampliar sus conocimientos en los modelos predictivos que favorezcan el desarrollo de la Microbiología aplicada al control epidemiológico.

El microbiólogo no sólo debe identificar el agente causal de la infección, sino que además debe informar de los distintos patrones de sensibilidad a los distintos antimicrobianos de los microorganismos aislados. La vigilancia de las resistencias y el ejercicio de la denominada lectura interpretada del antibiograma, constituyen una de las aportaciones más valiosas que puede hacer el microbiólogo (22), siendo su deber realizar una identificación correcta del microorganismo, conocer sus patrones de resistencias naturales, inferir los mecanismos de resistencia subyacentes e incluir en el antibiograma los antibióticos que sean más adecuados a la situación clínica del paciente.

Por ello, familiarizarse con el uso clínico de los antimicrobianos y sus aspectos farmacocinéticos y farmacodinámicos, realizar el estudio cuantitativo de sensibilidad y conocer la epidemiología de las resistencias, son requisitos imprescindibles del microbiólogo. Le corresponde también valorar la eficacia de posibles combinaciones de antimicrobianos en situaciones clínicas concretas y evitar su abuso, así como el control sobre los posibles efectos secundarios o de la toxicidad del antimicrobiano empleado, realizado su estudio a través de las concentraciones de éstos en líquidos biológicos.

Durante las 2 últimas décadas, muchos trabajos han puesto de relieve la importancia de la profilaxis antibiótica no sólo en la reducción de las infecciones en los distintos tipos de cirugía, sino también en su impacto en la morbimortalidad postoperatoria. La elección del antibiótico en profilaxis depende de diferentes factores,

entre los que destaca la necesidad de evitar cambios en la ecología hospitalaria y de contención de costes.

La aparición de un nuevo patógeno, un método de diagnóstico novedoso o un antimicrobiano nuevo en el arsenal terapéutico, obliga a un estudio continuo y una puesta al día por parte de los especialistas.

Sobre la base de estas premisas, el especialista de Microbiología, además de realizar el diagnóstico etiológico de la infección, debe ser capaz de adoptar actitudes y aplicar sus conocimientos y habilidades a las situaciones específicas del propio servicio, del hospital o de la comunidad, ofreciendo una atención individualizada a los pacientes, asesorando e informando de las medidas adecuadas para el manejo de una infección concreta, tanto en lo concerniente al diagnóstico como al tratamiento o a su prevención.

En 1998, la American Academy of Microbiology organizó una reunión para analizar el papel de la Microbiología clínica. En el apartado dedicado a las conclusiones destacaron: a) la necesidad creciente de la Microbiología clínica ante el aumento de enfermos inmunodeprimidos y el envejecimiento de la población; b) que los métodos moleculares y las nuevas tecnologías requieren personal técnico muy entrenado, frente a la tendencia de la gestión a reducir costes y a emplear personal polivalente y con escasa formación, y c) que la Microbiología es una ciencia interpretativa que requiere la comunicación entre el microbiólogo y los distintos especialistas clínicos.

Desde entonces han pasado algo más de 20 años y, si se organizase una reunión similar, las conclusiones no serían muy distintas. No obstante, en la actualidad se podría añadir la importancia que el microbiólogo y el laboratorio de Microbiología han adquirido en aspectos tales como la detección de resistencias a los nuevos antibióticos, nuevos patógenos o patógenos emergentes, brotes de infección, tanto hospitalaria como extrahospitalaria, sin olvidar la posibilidad de actuación ante un hipotético ataque de bioterrorismo y una pandemia (23) . Los objetivos del trabajo asistencial del microbiólogo comprenden, fundamentalmente, 4 aspectos: el diagnóstico, el tratamiento, el control y la prevención de la infección.

El especialista en Microbiología debe dar respuesta a los problemas clínicos y epidemiológicos que se le presentan con el mayor rigor, rapidez y calidad posible. Deberá emitir informes claros, objetivos, que contesten a lo que se pregunta, y que ayuden y no confundan al especialista que ha solicitado la prueba. Asimismo, debe colaborar con el resto de los facultativos especialistas relacionados con el diagnóstico, tratamiento, control y prevención de la infección, asesorándoles respecto a la utilidad de las pruebas diagnósticas y la interpretación de éstas, contribuyendo a una utilización racional y eficiente de los recursos y de la tecnología, y facilitando la solución al problema planteado o, en el caso de que esto no sea posible, comentar las limitaciones existentes o sugerir alternativas. Para que todo lo anteriormente expuesto sea factible, es necesaria una comunicación fluida entre los distintos especialistas, ya que sólo la integración de la historia clínica del paciente, junto con los resultados de las pruebas y exámenes realizados, permitirá tomar decisiones

clínico-epidemiológicas, instaurar el tratamiento antimicrobiano o elegir las opciones terapéuticas más idóneas en cada caso y situación.

Otros puntos clave de la actividad asistencial del microbiólogo, y donde su papel es fundamental y decisivo, son el control y prevención de la infección hospitalaria y la política del uso racional de los antibióticos, ejemplos claros de trabajo multidisciplinar y en equipo. Se debe tener presente que, aproximadamente, la tercera parte de los pacientes ingresados en nuestros hospitales presenta una infección, y más del 40% es tratado con antibióticos. En este contexto, es fácil comprender por qué la infección hospitalaria se ha convertido en uno de los parámetros más importantes cuando se valora la calidad de una institución sanitaria, y su control es una actividad imprescindible en un hospital del siglo XXI (24),(25).

Otra faceta fundamental del trabajo del microbiólogo es su contribución al uso adecuado de los antibióticos. Es un hecho que España se encuentra entre los estados europeos con mayor consumo de antibióticos por habitante y mayores problemas de resistencia bacteriana a estos fármacos. Si lo que acabamos de exponer es preocupante, no lo es menos el incremento de las infecciones por microorganismos multirresistentes, hecho que implica un grave problema de salud pública. Por todo ello, el microbiólogo y el laboratorio de Microbiología juegan un papel fundamental en la detección de resistencias a los antibióticos, el seguimiento de las tendencias y evolución de las sensibilidades de los distintos microorganismos de importancia clínica, así como para definir una política de utilización de los antimicrobianos adaptada a la realidad de cada centro asistencial. Para llevar a cabo esta tarea, llamada "mapa de resistencias", una aportación importante en la práctica diaria es la obtención rápida de los resultados del antibiograma, ya que contribuye al éxito terapéutico, al uso adecuado de los antibióticos y a la disminución del gasto sanitario. Algunos autores han demostrado que la información rápida al clínico responsable del paciente de los informes de sensibilidad tiene un impacto significativo en la reducción de la morbimortalidad y en la duración y el coste de la estancia hospitalaria (26, 27). El trabajo del microbiólogo en la contribución al uso adecuado de los antimicrobianos no se reduce a lo que hemos comentado hasta el momento, sino que abarca otra serie de procesos. Entre los más destacables, se relacionan los siguientes (24), : a) toma de decisiones sobre la introducción de nuevos fármacos en el hospital; b) establecimiento de niveles de restricción de la información sobre antimicrobianos; c) transmisión de la información y consejo terapéutico; d) indicaciones y control de la profilaxis antimicrobiana en procedimientos médicos y quirúrgicos; e) protocolos de actuación, y f) formación continuada en antibioticoterapia.

¿QUÉ ES UN ANTIMICROBIANO Y SU MODO DE ACTUAR?

Los antibióticos han sido considerados como los compuestos producidos de forma natural por los microorganismos (bacterias u hongos) o derivados semisintéticos de los mismos, con actividad inhibitoria o bactericida especifica frente a bacterias. En la actualidad, se utiliza con frecuencia el termino antibiótico en un

sentido más amplio incluyendo también a algunos antimicrobianos sintéticos con esta actividad. El termino proviene del Griego "anti" y "bios" que significan "contra" y "vida", respectivamente, así que literalmente quiere decir "contra la vida". Según la RAE un antibiótico es una sustancia química producida de manera natural o por síntesis, capaz de inhibir el crecimiento de ciertos microorganismos, por su acción bacteriostática o, causar la muerte de ellos, por su acción bactericida (28).

Los antibióticos actúan sobre microorganismos patógenos y sobre microorganismos comensales, seleccionando cepas resistentes y genes de resistencia. Por lo tanto, la selección es por el uso apropiado y por el inapropiado.

HISTORIA DEL DESCUBRIMIENTO DE LOS ANTIBIÓTICOS

La era antibiótica es uno de los momentos clave de nuestra época. Ya hace casi un siglo que Alexander Fleming descubrió la penicilina (1928) y más de medio siglo de la aparición de los antibióticos de amplio espectro. Una marcada diferencia existía entre estos dos hallazgos: el primero fue realizado por un hombre solo, como lo hiciera Louis Pasteur, mientras que el segundo lo llevaron a cabo equipos de científicos; se había producido un cambio en la actitud mental y social de la investigación.

La idea de la antibiosis aparece ya en las descripciones de L. Pasteur y J.F. Joubert (1877), y sobre todo de V. Babés (1885). Este último autor escribió: "Hemos estudiado experimentalmente el mecanismo por el que una bacteria de una especie conocida produce sustancias químicas o modifica el medio de cultivo de tal modo que daña a las bacterias de otras especies". Si el estudio del mutuo antagonismo surgiera cuando la enfermedad estaba ya en evolución, otra bacteria podría actuar terapéuticamente. La acción recíproca es mucho más obvia cuando la concurrencia de las bacterias no es simultánea. Así la bacteria que se siembra primero en gelatina actúa de dos modos sobre la segunda: 1) Actividad química, y 2) Función vital. Estos criterios adquieren todo su valor si recordamos la proximidad de los hallazgos de L. Pasteur y de R. Koch. Por su parte, Bartolomeo Gosio descubrió en 1896 que ciertos microorganismos podían formar sustancias activas frente a las bacterias, observando que la especie *Penicillum brevicompactum*, productor del ácido micofenólico, inhibía el crecimiento de *Bacillus anthracis* y de ciertas especies de hongos.

Uno de los avances más importante del pasado siglo XX ha sido el desarrollo de la quimioterapia mediante el empleo de agentes, naturales o sintéticos, capaces de destruir a los microorganismos sin dañar a la persona enferma (29). Con anterioridad se habían utilizado productos naturales, como la corteza del árbol chinchona en el tratamiento del paludismo o de las raíces de ipecacuana en el de la disentería amebiana.

Pero indudablemente la quimioterapia tal y como hoy la entendemos se inicia con Paul Ehrlich (1854-1915), quien situó en un primer plano el tratamiento antimicrobiano, creando un nuevo escenario en el que las sustancias químicas podían destruir a los microorganismos sin dañar al huésped. Este genial investigador creía

que los compuestos químicos podrían ser agentes curativos y no solo paliativos. Capaz como era de comprender intelectualmente las ventajas de unir la biología y la química, dedujo el posible hallazgo de fuertes compuestos con tropismo por los parásitos y nula afinidad por el organismo infectado. Sus primeros resultados los obtuvo al tratar una tripanosomiasis en ratas con el colorante rojo tripan y otra en ratones con el derivado del arsénico "Atoxyl". En 1910, otro de sus arsenicales, la arsfenamina o "Salvarsan" fue empleado con éxito en el tratamiento de la sífilis. En 1935, Domgk publico el tratamiento con el colorante "Prontosil" de infecciones estreptocócicas en ratones. El principio activo, la sulfanilamida, bloqueaba la utilización del ácido paraaminobenzoico, que era el nutriente esencial para estas bacterias.

En 1928 el famoso bacteriólogo escocés Alexander Fleming descubrió la penicilina al interpretar el fenómeno de antagonismo entre un hongo contaminante (*Penicilum notatum*) y una cepa de estafilococo. Un año después de su hallazgo, propiciado por una serie de circunstancias afortunadas, Fleming comunicó que el citado hongo producía durante su crecimiento una sustancia a la que denominó penicilina. Sin embargo, hasta 1938 sus esfuerzos cayeron en el olvido, hasta que Howard Florey y Ernst Boris Chain retomaran la investigación, recibiendo los tres el premio Nobel en 1945.

Las investigaciones continuaron y en 1959, se descubrió la estructura del ácido 6-aminopenicilinánico (6-APA). Este compuesto podía convertirse fácilmente en diferentes penicilinas mediante acilación del aminogrupo en posición 6. Al lograr escindir la cadena en situación R1 en la penicilina G potásica, se inició, en base a los hallazgos anteriores, la era de las penicilinas semisintéticas. Fueron surgiendo nuevas variantes, tales como la penicilina V, ampicilina, carbenicilina y una larga lista de derivados.

Se descubrió que la penicilina no era una sola molécula, sino que constaba de diversos compuestos relacionados que podía clasificarse de acuerdo a las características de la cadena lateral de la molécula. Tales compuestos se denominaron penicilina G, F, K y X, y resultó que la G, la benzilpenicilina, era la más útil para el campo clínico. En efecto, la benzilpenicilina era activa frente a la mayoría de los microorganismos gram-positivos y algunos gram-negativos.

Otra fuente de antibióticos fue el mar, que proporcionó otro hongo, *Cephalosporium acremonium*, productor de una nueva clase: las cefalosporinas. Los resultados revelaron que en el líquido en el que había crecido *C. acremonium* no había un antibiótico sino varios. Se identificaron tales compuestos como cefalosporina P, N y C.

Albert Schatz, Elisabeth Bugie y Selma Waskman comunicaron en 1944 el descubrimiento de la estreptomicina, que pronto se utilizó en la terapéutica de la tuberculosis. Este antibiótico aminoglicósido presentaba afinidad frente a las bacterias gram-negativas, como solía mostrar la penicilina frente a las gram-positivas.

Aun cuando la penicilina y la estreptomicina habían revolucionado el tratamiento de las enfermedades infecciosas en la década de los cuarenta, muchos patógenos importantes no eran sensibles a estos antimicrobianos. Así sucedía con las

rickettsias, causantes de procesos epidémicos graves como el tifus exantemático, la fiebre manchada de las Montañas Rocosas y la fiebre Q.

La búsqueda de más antibióticos se realizó analizando muestras ambientales de todo el mundo, siendo en 1947 cuando se descubrió que el actinomiceto *Streptomyces venezuelae* mostraba actividad frente a gram-positivos, gram-negativos y rickettsias. Se había encontrado el primer antibiótico de amplio espectro, el cloranfenicol. Casi coincidentes en el tiempo y con espectro similar, aparece la clortetraciclina que descubrió Benjamin Duggar en una cepa de *Streptomyces aureofaciens*.

Desde mediados del siglo XX, la industria farmacéutica inicio una carrera para obtener nuevas moléculas de antibióticos procedentes de diferentes microorganismos, preferentemente de muestras de suelo, o derivados semisintéticos de los mismos. Se descubrieron una gran variedad de estos compuestos pertenecientes a muy diversas familias (beta-lactámicos, glicopéptidos, macrólidos, aminoglicósidos, tetraciclinas, etc.). Fue la era dorada para estos fármacos y se creía que la batalla contra las enfermedades infecciosas estaba ya ganada, de hecho, la mortalidad y la morbilidad infantil disminuyeron de manera muy importante. También se investigó en el desarrollo de antibióticos sintéticos que fueron empleados en terapéutica humana y animal, como las fluoroquinolonas obtenidas a partir del ácido nalidíxico, otro agente sintético. Las fluoroquinolonas resultaron una familia de antibióticos muy difundida debido a sus cualidades farmacocinéticas, su acción bactericida sobre un gran número de agentes patógenos y su baja toxicidad. Múltiples derivados de las fluoroquinolonas aparecieron desde entonces y se siguen comercializando actualmente. La exploración de nuevos antibióticos siguió mucho más lenta los siguientes años y en los últimos 30 años solo han aparecido dos nuevas familias de antibióticos.

RESISTENCIA BACTERIANA A LOS ANTIBIÓTICOS

Las bacterias, en el curso de un proceso evolutivo que persigue su supervivencia, han desarrollado y continúan desarrollando mecanismos bioquímicos y genéticos destinados a hacerlas más competitivas para sobrevivir con éxito en entornos complejos y exigentes, que incluyen la presencia de antimicrobianos como elementos que ejercen presión selectiva.

La principal fuente de determinantes de resistencia antibiótica son los propios microorganismos, que generan compuestos con actividad antimicrobiana para mejorar su supervivencia y capacidad competitiva en ambientes extremadamente complejos e incluso hostiles.

La microbiota que coloniza nuestro tracto digestivo está sometida a una competencia brutal en la que consiguen convivir entre 300 y 500 especies diferentes de bacterias, arqueobacterias y hongos a concentraciones que oscilan entre 104 y 1012 microorganismos, desde el duodeno al recto.

No hay que olvidar, que, en el curso de la evolución natural, y antes de adaptar su metabolismo para llegar a colonizar a los seres vivos y al hombre, estas bacte-

rias o sus ancestros han vivido en un mundo competitivo que de forma natural les condujo a sintetizar compuestos con actividad antimicrobiana que utilizan como armas en la batalla que permanentemente han de librar para garantizar su propia supervivencia. De hecho, algunos de los principales mecanismos bioquímicos que utilizan las bacterias para hacerse resistentes son fruto de la adaptación de mecanismos naturales que ya poseían de forma ancestral y que son capaces de modificar para responder a la agresión que amenaza su supervivencia.

Ejemplos de estos mecanismos son las bombas de expulsión, que las bacterias utilizan para evitar que se acumulen en su citoplasma sustancias, que provenientes del exterior, resultarían tóxicas y que han conseguido adaptar para expulsar algunos antibióticos del citoplasma impidiendo que puedan alcanzar su diana. O los enzimas modificantes de antimicrobianos que son, en algunas especies, un mecanismo defensivo natural que protege a bacterias productoras de antibióticos de su acción nociva.

Aunque nosotros hemos reparado en la existencia de mecanismos de resistencia cuando hemos empezado a usar antibióticos, hay datos que demuestran de modo fehaciente que el fenómeno de la resistencia está presente en algunos genomas bacterianos mucho antes, hasta 4 millones de años antes, de su hallazgo entre las bacterias patógenas.

MECANISMOS DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS

La resistencia a los antimicrobianos puede ser intrínseca o adquirida. La primera de ellas la presentan las bacterias de forma natural y se asocia a genes cromosómicos. La resistencia adquirida puede obtenerse como consecuencia de la adquisición de nuevo material genético procedente de otras bacterias. Esta información puede estar contenida en plásmidos, transposones o integrones, que se transfieren de manera horizontal entre bacterias; o alcanzarse por mutaciones cromosómicas en el DNA originadas por errores en su replicación en presencia del antibiótico, y se transmitirá de manera vertical a sus células hijas.

Con frecuencia, estos mecanismos no se desarrollan de forma aislada, sino que nos encontramos que las cepas resistentes a una familia de antibióticos también lo son a otras familias con mecanismos de acción o resistencia diferente, proporcionando a la bacteria un nivel de resistencia mayor a los antibióticos. Esto produce que los tratamientos sean insuficientes, lo que conlleva un fracaso terapéutico.

Los mecanismos de resistencia a antimicrobianos que se conocen en las bacterias son: alteración de la permeabilidad de la membrana y pérdida de porinas, modificación enzimática del antimicrobiano, rotura enzimática del antimicrobiano, expulsión activa del antimicrobiano, modificación o hiperproducción de la diana de acción y/o desarrollo de nuevas vías metabólicas (30).

Las bacterias resistentes a los antimicrobianos no sólo están presentes en humanos, sino que cada vez son más frecuentes en otros ecosistemas, especialmente en animales, explotaciones ganaderas, alimentos y medioambiente.

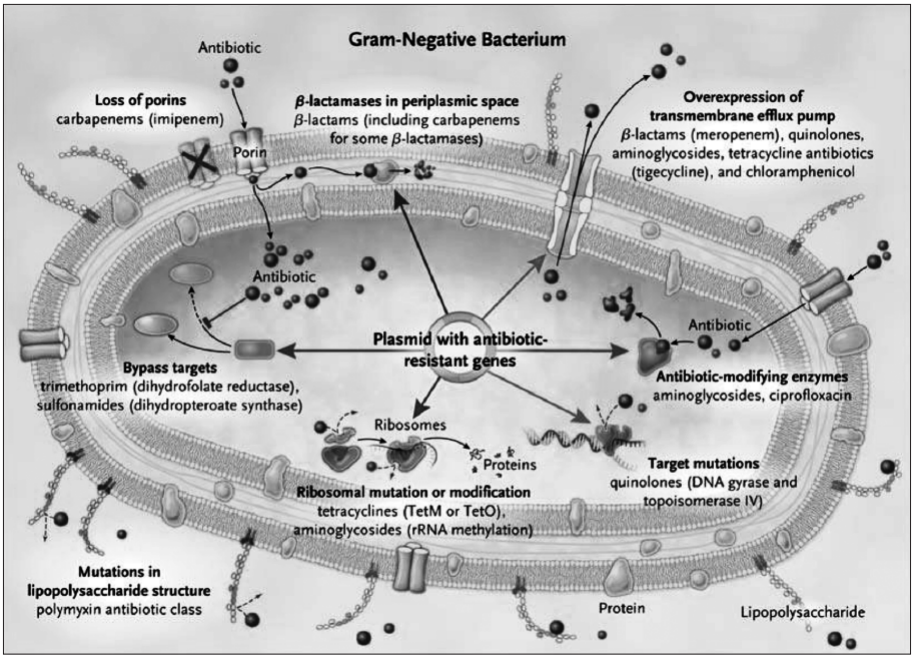


Figura 1. Mecanismos de resistencia en gram negativos y antibióticos que afectan.

En las últimas décadas, se ha despertado una gran preocupación ante el riesgo de diseminación de microorganismos resistentes a diferentes familias de antibióticos a través de la cadena alimentaria y sus potenciales efectos para la salud humana. Esta preocupación se inició a comienzo de los años noventa cuando se describieron los primeros enterococos resistentes a vancomicina con el genotipo *van*A y ha ido creciendo en los últimos 25 años, especialmente por la emergencia y diseminación en animales, alimentos y medio ambiente, de algunos mecanismos de resistencia como es el caso de las betalactamasas de espectro extendido (BLEE), las cefamicinasas plasmídicas (pAmpC), las carbapenemasas, y ciertas líneas genéticas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), entre otros (31-33).

Aunque su aparición es relativamente reciente existe ya una muy amplia diseminación de los aislados productores de BLEE y pAmpC y su prevalencia es variable en humanos, animales y medio ambiente. Los estudios comparativos de aislados clínicos y comensales de origen humano y los procedentes de la cadena alimentaria o de animales, muestran que existen grupos genéticos y plásmidos comunes en ambos grupos. Incluso, en ocasiones se han detectado las mismas cepas. El estudio de este tipo de aislados en alimentos y animales se hace imprescindible para analizar la magnitud y para tener datos que orienten hacia la posible direccionalidad de la dispersión, así como para medir el impacto en salud humana y monitorizar la repercusión de las medidas correctoras.

Una de las mayores amenazas para la Salud Pública en el ámbito de la resistencia antibiótica la constituye el riesgo de diseminación de enterobacterias resistentes a carbapenems (ERC) desde el hospital a la comunidad y al medio ambiente. La presencia de bacterias productoras de carbapenemasas adquiridas ha sido descrita en animales de granja, animales de compañía, animales salvajes, ectoparásitos y muestras medioambientales. Si bien, hasta ahora, solo se ha documentado su presencia en muestras de alimentos en el caso de marisco importado de Asia y en especies no incluidas en los programas de vigilancia, concretamente OXA-48 en *Stenotrophomonas maltophilia* y *Pseudomonas* spp. y VIM- 1 en *Pseudomonas putida*.

También es reseñable la descripción de distintas carbapenemasas relacionadas con infecciones clínicas, como KPC-2, VIM-2, OXA-48 o NDM-1, en cepas de serotipos de Salmonella que suelen tener un origen habitualmente zoonótico (*Salmonella* Cubana, *Salmonella* Kentucky, *Salmonella* Saintpaul, *Salmonella* Senftenberg y *Salmonella* Westhampton)

El uso de antibióticos en la agricultura también afecta al microbioma ambiental. Hasta el 90% de los antibióticos que se administran al ganado se eliminan por la orina y las heces, facilitando su dispersión a través de escorrentías, aguas residuales y fertilizantes. En algunas regiones de Estados Unidos se utilizan tetraciclinas y estreptomicina como pesticidas mediante fumigación. Estas prácticas contribuyen a exponer a los microorganismos ambientales a agentes inhibidores que alteran el equilibrio ecológico aumentando la proporción de microorganismos resistentes respecto a los sensibles.

Diferentes estudios avalan la existencia en personas, animales y medio ambiente, de bacterias resistentes que constituyen un reservorio enorme de genes de resistencia, el llamado resistoma, del que pueden nutrirse a futuro bacterias patógenas y oportunistas. Se ha calculado que hay más de 20.000 genes de resistencia antibiótica.

La complejidad de las interacciones que pueden establecerse en los eco-sistemas microbianos en los que coexisten genes de resistencia y antibióticos propicia la movilización de estos genes desde reservorios diversos y la selección de bacterias que acumulan diferentes mecanismos de resistencia gracias a la enorme plasticidad de los genomas bacterianos. Un mejor conocimiento de los genes de resistencia presentes en los diferentes reservorios podría arrojar pistas acerca de mecanismos que, potencialmente, pueden difundir en las comunidades bacterianas en el futuro.

NUEVOS ANTIBIÓTICOS Y RESCATE DE LOS "VIEJOS ANTIBIÓTICOS"

Uno de los factores que condiciona más claramente el desarrollo de nuevos antibióticos y la recuperación de algunos caídos en desuso por problemas asociados a su manejo clínico más complejo, tiene que ver con la renuncia de las compañías farmacéuticas a investigar en este terreno, debido a la falta de rentabilidad y/o al mayor interés de la industria por el desarrollo de fármacos destinados al tratamiento de enfermedades crónicas, para los que hay una mayor expectativa de obtener

beneficios.

El desarrollo de nuevos antibióticos ha sido durante mucho tiempo una estrategia efectiva para combatir la resistencia, pero ha decaído sustancialmente por las dificultades económicas y regulatorias. De las 18 compañías farmacéuticas más grandes, 15 han abandonado el campo de los antibióticos. Las fusiones entre compañías farmacéuticas también han reducido de forma sustancial el número y la diversidad de los grupos de investigación.

La crisis económica ha restado fondos a esta actividad porque el desarrollo de nuevos antibióticos ya no se considera una inversión rentable. Debido a que los antibióticos se administran en periodos relativamente cortos y suelen ser curativos, no generan tanto beneficio como otros fármacos destinados a tratar enfermedades crónicas. Un análisis coste-beneficio de la Oficina de Economía de la Salud de Londres calculó que el valor neto actual para un nuevo antibiótico es de solo unos 50 millones de dólares, comparado con los 1.000 millones de dólares de un fármaco usado para tratar una enfermedad neuromuscular. Otro factor que resta atractivo económico al desarrollo es el relativamente bajo coste del tratamiento antibiótico. Los nuevos antibióticos se comercializan a precios máximos que oscilan entre 1.000 y 3.000 dólares por tratamiento, comparados con las decenas de miles que cuesta la quimioterapia anticancerígena.

A todo ello se suma que los microbiólogos y los infectólogos aplican políticas cada vez más restrictivas a su uso clínico, reservando el uso de los antibióticos más nuevos para los casos más graves o complejos, por miedo a promover la aparición de resistencia (33). También las medidas de austeridad impuestas en los países más desarrollados, que cuentan con sistemas sanitarios consolidados y accesibles, tienden a implantar limitaciones al acceso o al con- sumo de los fármacos más caros, más aún cuando hay alternativas disponibles más baratas. Por todo ello, paradójicamente, más resistencia nos lleva a un menor consumo y este descenso conduce a menos inversión para investigar nuevos antibióticos.

La industria farmacéutica, ha de invertir los recursos necesarios para investigar y desarrollar nuevos antibióticos y nuevas estrategias terapéuticas y diagnósticas que ayuden a mejorar y adelantar el manejo correcto de las infecciones, procurando políticas comerciales que garanticen la vida útil de los nuevos antibióticos frente a su uso indiscriminado.

La autoridad administrativa debe abordar este problema propiciando el desarrollo de la normativa reguladora y la incentivación adecuadas para retomar la senda que nos permita disponer de nuevas armas de diagnóstico y tratamiento.

La exploración de fármacos diferentes a los antibióticos con actividad sobre microorganismos y nuevos procesos de obtención o de potenciación de aquéllos, han de ser apoyados y probados.

Se han descrito nuevas combinaciones de **β**-lactámicos con inhibidores de **β**-lactamasas

- Ceftolozano/tazobactam: esta combinación tiene un amplio espectro frente a grampositivos y gramnegativos aerobios y anaerobios, incluyendo

aquellas productoras de β-lactamasas plasmídicas, como las de espectro extendido y *Pseudomonas* spp.

- Ceftazidima/avibactam: presenta actividad in vitro frente a infecciones graves causadas por gramnegativos, incluyendo una amplia gama de ß-lactamasas de amplio espectro, AMPc, carbapenemasas de *K. pneumoniae*, OXA-48 producida por enterobacterias y aislados de *P. aeruginosa* multirresistente. Avibactam no es activo frente a metalobetalactamasas producidas por *Acinetobacter baumanii*. La eficacia clínica de ceftazidima/avibactam ha demostrado no ser menor que la terapia con carbapenémicos.
- Imipenem-cilastatina/relebactam: presenta actividad frente a *P. aeruginosa* resistente a carbapenemicos y frente a enterobacterias productoras de ESBL y resistentes a carbapenemicos. La combinación no es activa frente a OXA-48 ni metalobetalactamasas.
- Meropenem/vaborbactam: su uso se restringe al tratamiento de gramnegativos resistentes a carbapenemicos. Tiene actividad in vitro frente enterobacterias productoras de KPC, *P. aeruginosa* y *A. baumanii*.

Aunque estas combinaciones han demostrado tener un amplio espectro de acción, recientemente se están notificado casos de resistencia, lo que aumenta el problema, ya creciente, en la búsqueda de alternativas terapéuticas para bacterias multirresistentes.

Están en marcha estrategias de recuperación de algunos antibióticos que se han utilizado poco, por su estrecho margen terapéutico o por dificultades de comercialización, pero que han demostrado su potencial utilidad terapéutica, solos o en combinación, para el manejo de infecciones producidas por microorganismos multirresistentes. Algunos de estos viejos conocidos, como colimicina, fosfomicina,

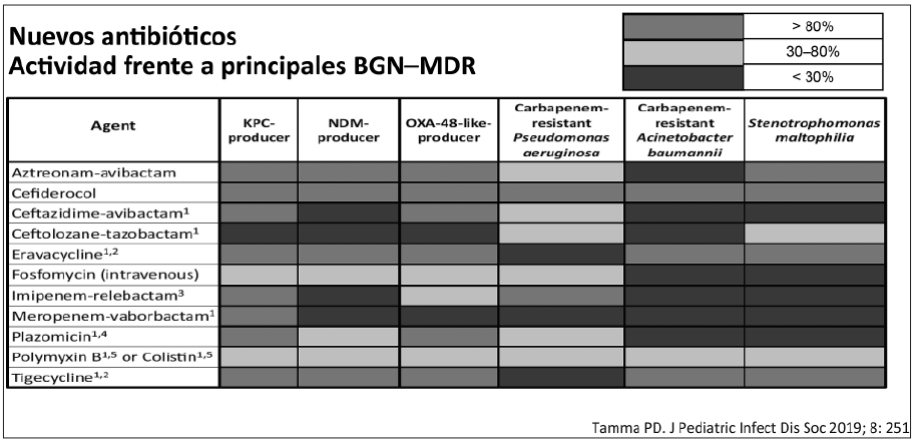


Figura 2. Nuevos antibióticos y actividad frente a los mecanismos de resistencia existentes en la actualidad en gram-negativos.

minociclina, cotrimoxazol, cloranfenicol, clindamicina o clofazimina, mantienen eficacia in vitro y han probado en la clínica su utilidad para el tratamiento de infecciones producidas por diferentes bacterias multirresistentes, si bien es cierto, que generalmente son menos efectivos cuando se usan en monoterapia, por lo que deberían administrarse en asociación con otros antimicrobianos para obtener un efecto sinérgico.

EL USO DE FAGOS CONTRA LA RESISTENCIA BACTERIANA A ANTIBIÓTICOS

Los bacteriófagos, comúnmente llamados fagos, son los virus más abundantes de la biosfera. Se estima que, para cada bacteria, hay al menos un fago capaz de infectarle. Su potencial como herramienta biomédica para tratar infecciones abre una prometedora etapa en la era de las bacterias multirresistentes. Los fagos contienen genomas que pueden ser de ARN o ADN, de cadena sencilla, doble, circular o lineal, segmentada o no segmentada. Según su ciclo biológico, los fagos pueden dividirse en fagos líticos o atemperados. Los primeros destruyen la bacteria hospedadora en un proceso conocido como lisis, que supone la ruptura de la membrana celular y la liberación del virus al medio extracelular. Los fagos atemperados incor-

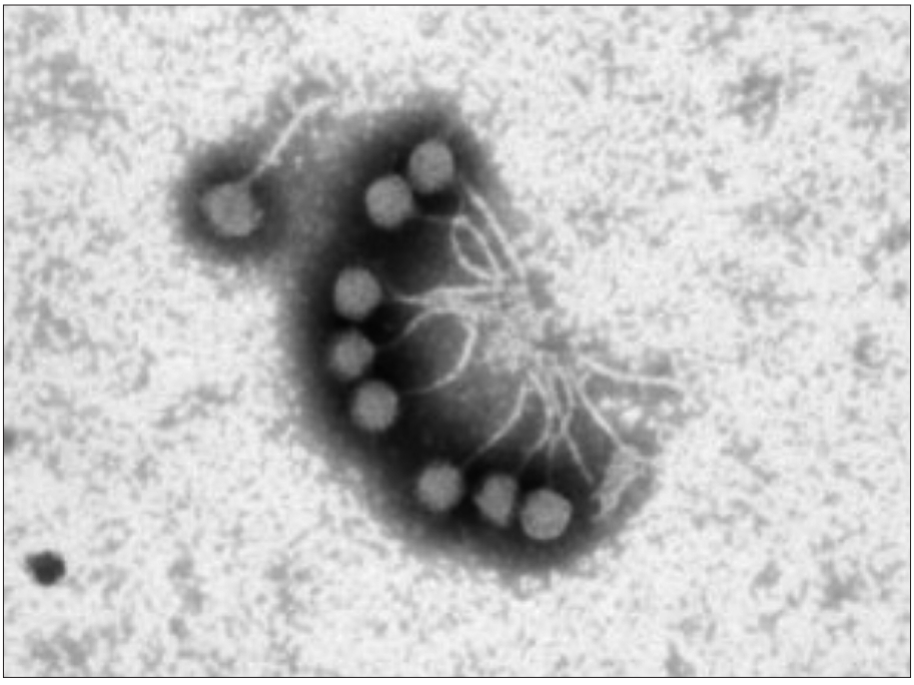


Figura 3. Microscopía electrónica de fagos.

poran su genoma en el del hospedador y se mantienen latentes en forma de profagos, jugando un papel fundamental en la transferencia de información genética entre organismos de forma horizontal.

En los últimos años, se están realizando en Europa los primeros ensayos clínicos en terapia de fagos, y recientemente a causa de la pandemia ocasionada por el SARS-CoV-2, EEUU ha permitido el uso de fagos en pacientes de COVID-19 en cuidados intensivos. La razón principal es que la mitad de los fallecimientos se producía por infecciones secundarias ocasionadas por superbacterias nosocomiales causantes de neumonía o sepsis. *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* han sido tratadas con éxito con fagos en pacientes. El proceso es lento porque tiene que haber una red de laboratorios que generen bibliotecas de fagos disponibles para terapia y la falta de legislación dificulta el proceso. En el caso de la terapia con fagos es importante utilizar fagos líticos capaces de lisas rápidamente las bacterias de manera eficiente. Cabe destacar que se ha propuesto también el uso de terapias combinadas de fagos con antibióticos ya que se ha visto que podría haber un efecto sinérgico combinando ambos tratamientos. Por otra parte, igual que han emergido resistencia a los antibióticos podría aparecer resistencia a los fagos. Sin embargo, al contrario de los antibióticos, que son moléculas químicas estables, los fagos evolucionan y se adaptan y pueden contrarrestar las resistencias. Además, es posible reducir la emergencia de resistencias mediante la evolución dirigida de los fagos en el laboratorio. Otra solución es el uso de cocteles de fagos en los que se puede reducir la aparición de resistencias de forma significativa. Los fagos, hasta donde llega el conocimiento, no son reconocidos por el sistema inmune, así que no habría respuesta inmunológica específica contra ellos, lo cual facilita su administración incluso por vía intravenosa. Así que no todos los virus son malos. Hay virus buenos que nos pueden ayudar a controlar lo que podría ser la siguiente pandemia: las superbacterias. Los fagos se postulan como una herramienta prometedora en la lucha contra las bacterias resistentes y es necesario invertir para poder avanzar en este campo de estudio (34-37).

MAGNITUD DEL PROBLEMA Y LUCHA CONTRA LAS RESISTENCIAS

La resistencia a los antimicrobianos y las infecciones provocadas por bacterias resistentes y multirresistentes han aumentado progresivamente en los últimos años. Diferentes informes alertan de este hecho, incluidos los realizados por las agencias de Salud Pública, ECDC y CDC, y la propia OMS. Fruto de ello se han establecido diferentes planes que tratan de evitar su continuo aumento, aunque su implementación es desigual en los diferentes países, incluidos en los de la Unión europea. La consecuencia más inmediata del aumento de las resistencias bacterianas es la ineficacia de los tratamientos antimicrobianos y la mayor carga de enfermedad de las infecciones producidas por ellas.

En 2016 se publicó un informe encargado por el gobierno del Reino Unido y que posteriormente tuvo una enorme notoriedad, en el que se indicaba que, de no tomarse medidas frente a las resistencias a los antimicrobianos, en 2050 se

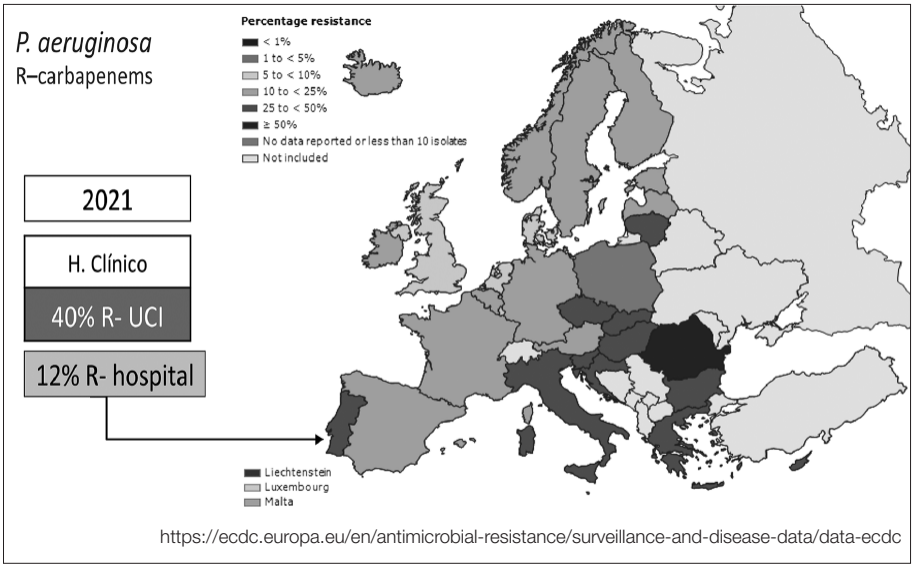


Figura 4. Resistencia a carbapenems en Pseudomonas aeruginosa *en Europa y en el Hospital Clínico Lozano Blesa.*

producirían en el mundo más de 10 millones de muertes, siendo incluso superior a la mortalidad producida por el cáncer. En Europa la mortalidad alcanzaría las 390.000 personas. Estas cifras, tildadas de alarmistas, se han confirmado en un análisis en el que se estimó que en 2019 se produjeron en el mundo 4,95 millones de muertes asociadas a la resistencia, de las cuales 1.27 millones estarían directamente relacionadas con ella.

También son impactantes las cifras publicadas en el ECDC en las que la mortalidad directa en España en el año 2015 habría sido de 1.899 personas, cifra que supera a las producidas por accidentes de trabajo. Este dato podría estar incluso infra-estimado ya que la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) en un estudio realizado en 2018 en 82 hospitales estimó que la mortalidad anual habría sido de 29.586 personas. Las autoridades europeas calculan que las superbacterias matan cada año a 33.000 personas ahora y 4000 muertes en España, el triple que las causadas por accidentes de tráfico. Pese a estas cifras todavía la pandemia de supermicrobios sigue siendo invisible. No hay colectivos de pacientes que se quejen de la resistencia a los antibióticos. Es un silencio sorprendente porque el 6% de los ingresados en los hospitales adquiere una infección nosocomial y muchos de ellos por superbacterias.

En cuanto al impacto económico el Banco Mundial ha estimado que, en el caso de bajo impacto de la resistencia, la caída del PIB será de 1,1% en 2050 en el caso de no actuar frente a las resistencias, reflejando un déficit de 1 billón de dólares a partir de 2030. En un escenario de alto impacto, la caída del PIB llegaría al 3,8% en 2050, con un déficit de 3,4 billones de dólares en 2030.

Durante la pandemia de COVID se ha formado la tormenta perfecta. En la primera ola, de febrero a marzo de 2020 aumento un 400% el uso de azitromicina, un antibiótico usado a la desesperada por si también funcionaba contra el virus SARS-CoV-2. El consumo de doxiciclina se incrementó un 517%. En España estos niveles volvieron rápido a la normalidad, pero siguieron desbocados en otros países del mundo, como América Latina. Durante la pandemia se han utilizado tantas carbapenemasas que tenemos los niveles de resistencia que esperábamos tener en 2030. Hemos acelerado 10 años dice Bruno Gonzalez Zorn, Microbiólogo asesor de la OMS y One Health.

Los mecanismos de resistencia solo tienen que aparecer una vez y entonces la caja de pandora ya está abierta. En las aguas residuales hay bacterias resistentes a carbapenems por doquier. Las tuberías de los hospitales contribuyen a diseminar superbacterias en la naturaleza. La amenaza de combinaciones inimaginables esta sobre la mesa dice Ana Maria de Roda Husman, investigadora del CDC en Utrech.

En los laboratorios hace 20 años lo habitual era dar los antibiogramas con todo S, la letra inicial de sensible. Ahora la mayoría de los valores son R, de resistente. Solemos estudiar unos 20 antibióticos para cada infección y unas 15 veces al año nos encontramos con una situación dramática. Todo R. No tenemos opciones terapéuticas para estos casos, dice Rafa Cantón, jefe de Servicio del Hospital Ramón y Cajal)

Hay menos infecciones adquiridas en el hospital hoy en día, pero las que se adquieren son más problemáticas. “Lo llamamos capitalismo genético. Una bacteria resistente tiende a permanecer y tiene más posibilidades de adquirir todavía más mecanismos de resistencia. Es como el que ya tiene dinero, que tienen mayor facilidad para ganar más dinero”, dice Cantón R. El término capitalismo genético fue descrito por Fernando Baquero, anterior jefe de servicio del mismo hospital.

El panorama de la industria farmacéutica es desolador. Solo hay 43 antibióticos experimentales en ensayos clínicos, según la OMS, frente a más de 5700 posibles

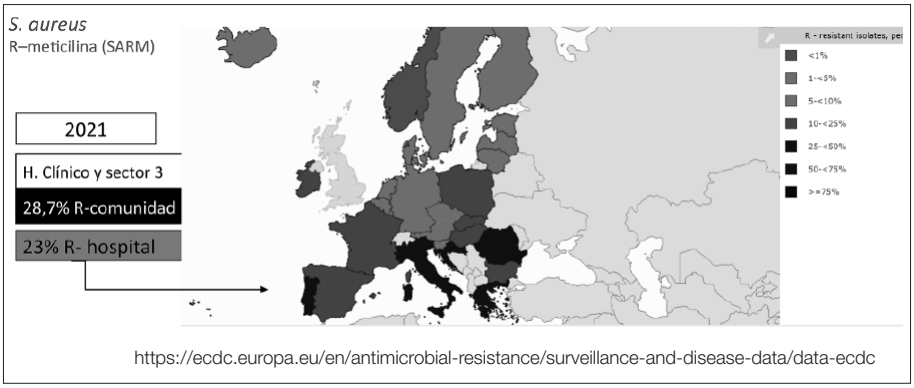


Figura 5. Resistencia a meticilina en Spaphylococcus aureus *(SARM) en Europa y en el sector 3 de Zaragoza..*

nuevos tratamientos contra el cáncer. Siendo que está previsto que el 2050 estas infecciones mataran igual que el cáncer son datos inaceptables. Las industrias farmacéuticas no quieren invertir en antibióticos. No es rentable.

Hace 15 años, ante la falta de alternativas, los médicos tuvieron que resucitar la colistina para usarla como último recurso en personas con infecciones multirresistentes. Esto da una idea de la situación en la que estamos. Rescatamos antibióticos tóxicos de los años 50 para salvar vidas en los hospitales del mundo. En noviembre de 2015 se detectó un gen capaz de convertir las bacterias en superbacterias resistentes a colistina. Se abrió la caja de pandora.

PROPUESTA DE ACCIÓN FUTURA PARA LA LUCHA CONTRA LAS RESISTENCIAS

Ante el aumento de la concienciación global sobre el problema de las resistencias, en 2017 la OMS publicó una lista de bacterias resistentes a antibióticos para las cuales se necesita urgentemente el desarrollo de nuevos antibióticos. El principal objetico de hacer este listado es priorizar la inversión y coordinar la investigación y el desarrollo de nuevos agentes activos frente a bacterias causantes de infecciones agudas. La lista de la OMS da prioridad a un grupo de bacterias que son resistentes a múltiples antibióticos y pueden transmitir estos mecanismos mediante transferencia de su material genético que permite a otras bacterias convertirse en resistentes por adquisición de ese material a través de mecanismos como transformación, conjugación, transducción y transposición. La lista se divide en tres categorías en función de la urgencia en la que se necesitan nuevos antibióticos: prioridad critica, alta o media. En el grupo de prioridad critica se incluyen las bacterias multirresistentes que son especialmente transmisibles en los hospitales, residencias y centros relacionados con la asistencia sanitaria y entre pacientes que necesitan ser atendidos con dispositivos como ventiladores y catéteres intravenosos. Estas bacterias, casi todas nosocomiales, causan infecciones graves y difíciles de tratar con el arsenal disponible actualmente. Las bacterias de la lista incluidas en las categorías de prioridad alta y media provocan infecciones más comunes como la gonorrea o intoxicaciones alimentarias como *Salmonella*, *Shigella* y *Campylobacter*.

Prioridad 1: CRITICA

- *Acinetobacter baumannii*, resistencia a carbapenems.
- *Pseudomonas aeruginosa*, resistencia a carbapenems.
- *Enterobacteriaceae*, resistencia a carbapenems, productores de BLEEs.

Prioridad 2: ALTA

- *Enterococcus faecium*, resistencia a vancomicina.
- *Staphylococcus aureus*, resistencia a meticilina, resistencia a vancomicina.
- *Helicobacter pylori*, resistencia a claritromicina.

- *Campylobacter* spp., resistencia a fluoroquinolonas.
- *Salmonellae*, resistencia a fluoroquinolonas.
- *Neisseria gonorrhoeae*, resistencia a cefalosporinas, resistencia a fluoroquinolonas.

Prioridad 3: MEDIA

- *Streptococcus pneumoniae*, resistencia a penicilina.
- *Haemophilus influenzae*, resistencia a ampicilina.
- *Shigella* spp., resistencia a fluoroquinolonas.

En España, el Plan Nacional frente a la resistencia a los antibióticos (PRAN), es el plan estratégico y de acción cuyo objetivo es reducir el riesgo de selección y diseminación de resistencia a los antibióticos que se aprobó por el consejo Interterrritorial del Sistema Nacional de Salud y la Conferencia Intersectorial de Agricultura como respuesta a la petición de la Comisión Europea del 17 de noviembre de 2011 y a las conclusiones de la UE del 29 de mayo de 2021, en el que la Comisión europea instaba a los países miembros a desarrollar una estrategia conjunto de lucha contra la resistencia bacteriana.

Era imprescindible que la lucha contra las resistencias, que en España está representada como hemos comentado desde 2014 por el Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos (PRAN), figure en los presupuestos generales del estado, como sucede, por ejemplo, con la donación y trasplantes de órganos, con una financiación acorde a la magnitud del problema de salud que representan estas infecciones. La coordinación de la ejecución del PRAN recae sobre la Agencia Española de Medicamentes y Productos sanitarios (AEMPS). El periodo de vigencia del primer PRAN fue del 2014-2018, el segundo periodo fue del 2019-2021, y recientemente este mes se ha publicado los objetivos del tercer periodo 2022-2025. En la actualidad participan más de 300 expertos españoles en sanidad humana y animal que representan a las instituciones participantes: todas las comunidades

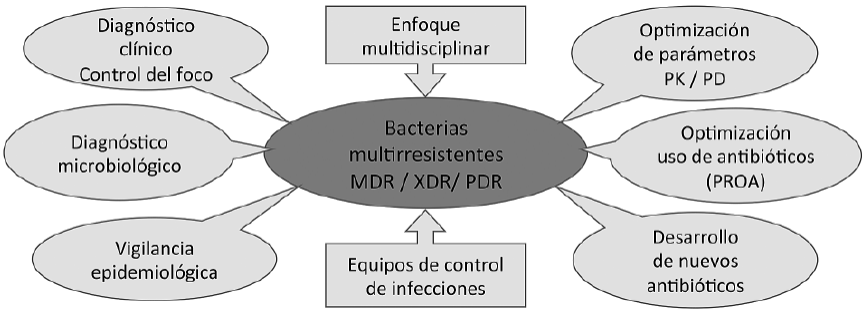


Figura 6. Estrategias frente a la multirresistencia.

autónomas, nueve ministerios, laboratorios de referencia, expertos externos, plataformas profesionales, representantes de sociedades y asociaciones científicas, universidades y organizaciones colegiales.

Es imprescindible que la lucha contra las resistencias, que en España está representada desde 2014 por el Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos (PRAN), figure en los presupuestos generales del estado, como sucede, por ejemplo, con la donación y trasplantes de órganos, con una financiación acorde a la magnitud del problema de salud que representan estas infecciones.

Es importante implantar PROAs en hospitales, atención primaria y centros socio sanitarios, convirtiéndolos en un requisito de calidad asistencial imprescindible para la acreditación del centro.

Se necesita la implantación de programas de diagnóstico rápido en los hospitales. Para ello es necesario dotar de recursos humanos y extender los laboratorios de microbiología a laboratorios abiertos 24 horas 7 días a la semana, convirtiéndolos en un requisito de calidad asistencial imprescindible para la acreditación del centro (38, 39).

Se necesita mejorar la implantación de programas de prevención y control de las infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria (IRAS) y específicamente de las infecciones por bacterias multirressitentes en los hospitales y centros socio sanitarios, convirtiéndolos en un requisito de calidad asistencial imprescindible para la acreditación del centro (40).

La coordinación de estos programas por equipos multidisciplinares para optimizar los resultados en salud es fundamental. Estos equipos están formados con un mínimo de microbiólogo, farmacéutico e infectólogo para lo que es necesario consolidar la especialidad de enfermedades infecciosas.

Hay que priorizar la financiación en investigación por bacterias multirresistentes y nuevos antimicrobianos, así como acelerar la accesibilidad a los nuevos antimicrobianos tras su autorización por las agencias reguladoras.

Es necesario realizar todas las medidas en el marco de “una salud o “one health”. Para ello es necesario coordinar las actividades de estos problemas centrados en la salud humana, en la salud animal, en la alimentación y en el medio ambiente (31, 33, 41-54).

NUEVAS HERRAMIENTAS DE DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

Tradicionalmente, el laboratorio de Microbiología ha sido “artesanal”. Hasta no hace demasiados años, cada laboratorio se fabricaba los medios de cultivo y procesaba las muestras de forma manual. Asimismo, manualmente se realizaban las técnicas de diagnóstico serológico, muchas de ellas desarrolladas en el propio laboratorio con la utilización de sueros de otros pacientes. Todo ello llevaba consigo un elevado consumo de recursos humanos y de tiempo. Sin embargo, en las últimas décadas, el desarrollo de las nuevas tecnologías ha cambiado el concepto del laboratorio de Microbiología, ha permitido acortar los tiempos de respuesta e identifi-

car microorganismos que hasta ahora no era posible. Otro hecho importante, ocurrido de forma paralela, es la introducción paulatina de la automatización. Su aplicación abarca no sólo la realización de la serología infecciosa, sino también, y entre otros, la identificación y el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Estas aportaciones han permitido manejar sin dificultad el elevado volumen de muestras que hoy día recibe un laboratorio de Microbiología, estandarizar muchos estudios y optimizar mejor los recursos humanos. Por otra parte, se ha hecho imprescindible un soporte informático que permita almacenar los datos demográficos y los resultados, haciendo posible, además, su explotación estadística. Ante un presente ya automatizado y un futuro con una automatización mucho mayor, el microbiólogo clínico posee una perspectiva diferente. Debe potenciar sus conocimientos y su trabajo como consultor, asesor e intérprete cualificado de los resultados.

Desde que en 1992 se introdujo formalmente el concepto de lectura interpretada del antibiograma (55), muchos laboratorios clínicos realizan el análisis de las sensibilidades microbianas observando el fenotipo de resistencia del microorganismo e infiriendo, a partir de éste, los mecanismos de resistencia subyacentes. De esta manera, según el mecanismo de que se trate, se pueden definir las diferentes categorías: sensible, intermedio y resistente (22). Uno de los últimos logros en el área de interpretación del antibiograma ha sido la introducción de programas informáticos, denominados "sistemas expertos", que facilitan la interpretación clínica de los resultados obtenidos (56). La lectura interpretada del antibiograma exige la labor activa del microbiólogo, quien no sólo debe elaborar informes clínicos, sino que debe mantener una actitud alerta para, una vez descartados los errores metodológicos, poder detectar la aparición de patrones de resistencia poco frecuentes o "imposibles". Por lo tanto, sin menospreciar la útil herramienta que suponen los sistemas expertos, no debe olvidarse que también pueden generar una inadecuada sensación de fiabilidad que comprometa la significación clínica de los resultados obtenidos, algo que, finalmente, tendrá que validar un "microbiólogo experto".

En la misma línea, hace ya algunos años, Perea (57) escribió que "la innovación tecnológica y la limitación de recursos son un tema crítico, y dicha limitación significa elegir entre diversas alternativas y hacer un uso adecuado y eficiente de la elegida".

Es un hecho que las nuevas técnicas aplicadas al diagnóstico de las enfermedades infecciosas, especialmente las técnicas moleculares, están revolucionando nuestra práctica diaria. Su introducción ha solucionado problemas hasta ahora no resueltos, como el diagnóstico de infecciones ocasionadas por microorganismos de cultivo difícil (*Tropheryma whipplei, Bartonella henselae, Ehrlichia chaffeensis*), o mejorar la forma de resolverlos con los métodos ya existentes (detección de parasitemias bajas o mixtas de *Plasmodium*, caracterización de brotes de infección, etc.). Su aplicación comprende desde la cuantificación de los virus de alta prevalencia en nuestro medio (virus de la inmunodeficiencia humana [VIH], virus de las hepatitis B y C, citomegalovirus, etc.), pasando por la identificación y caracterización de brotes, hasta la epidemiología de la resistencia antimicrobiana. Un ejemplo reciente de la capacidad de los laboratorios de Microbiología para

resolver problemas emergentes, cuando se les dota de los necesarios recursos, lo constituye la rapidez con la que los laboratorios de la red sanitaria pública española han diagnosticado, por la técnica de PCR en tiempo real, el virus An(H1N1) de la gripe pandémica de 2009. No obstante, las ventajas de estas técnicas no están exentas de problemas y todavía, a día de hoy, puede ser válida la frase que escribió Pérez–Trallero (58) en el año 2003, con referencia a la utilización de las técnicas de Microbiología molecular: "ni todo lo teóricamente disponible lo está, ni mucho de lo disponible ha demostrado su eficacia", y más recientemente, Baron (59) escribió que la utilización generalizada y sistemática de estas técnicas aún quedaba lejos. La pandemia, si algo bueno ha dejado, es que ha mejorado la tecnología de los laboratorios de microbiología.

Las técnicas moleculares son, por tanto, una herramienta muy útil, pero, su interpretación puede ser difícil, ya que no todo ácido nucleico detectado es sinónimo de patógeno viable. Asimismo, conviene no olvidar que, en muchas de las ocasiones de la práctica diaria, una "simple" tinción de Gram correctamente realizada e interpretada por un microbiólogo con experiencia puede ser tan útil y con igual valor diagnóstico que la más sofisticada tecnología (60).

No obstante, los avances tecnológicos imponen una nueva realidad y para la identificación bacteriana de aislamientos clínicos ya se puede aplicar la proteómica. La mass spectrometry (MS, espectrometría de masas) matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight (MALDI-TOF) (17), según recientes trabajos publicados, presenta una correlación con los métodos convencionales que puede alcanzar niveles del 95,5% para enterobacterias, del 79,7% en los bacilos gramnegativos no fermentadores, del 99,5% en estafilococos, del 100% en enterococos y del 93,7% en estreptococos (61) así como para gran parte de las bacterias anaerobias, invirtiendo un tiempo aproximado de 5-10 minutos por identificación, y siguiendo un procedimiento sencillo y sin apenas material fungible, aunque el equipo necesario tiene un coste elevado. Esta tecnología ha supuesto una gran contribución a la Microbiología clínica, y ha sido un cambio revolucionario desde el punto de vista tecnológico y de la práctica diaria en el área de la identificación microbiana. La actualidad está centrada en la identificación de la mayor parte de los hongos y micobacterias, y en la posibilidad de identificar los microorganismos directamente de las muestras, aunque ya hay publicaciones realizadas en muestras de orina (61) y hemocultivos. Otra mejora importante, dado que no aporta datos de sensibilidad, aunque la identificación rápida permite inferir perfiles probables de sensibilidad y pautar tratamientos empíricos, sería la identificación de factores de resistencia o patogenicidad, como puede ser la detección de β-lactamasas de espectro extendido o la producción de la leucocidina de Panton Valentine.

Los nuevos retos para la Microbiología clínica son, entre otros, realizar diagnósticos más rápidos, incrementar la estandarización, estar preparados para diagnosticar patógenos emergentes y, finalmente, estar en posición de contestar con rapidez y calidad al mayor número de preguntas que nos hacen los otros especialistas, y al menor coste posible (62,39,38).

La implementación de técnicas de amplificación y detección de ácidos nucleicos a partir de cultivo o directamente de producto patológico, permiten diagnós-

ticos dirigidos más rápidos, específicos y sensibles que los procedimientos convencionales.

Se dispone de plataformas con las que detectar los principales agentes implicados en procesos que ponen en riesgo la vida del paciente, como la sepsis o la meningitis, y en síndromes infecciosos de etiología tan variada como la diarrea, la neumonía o las infecciones de transmisión sexual.

FUTURO DEL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

Las técnicas de diagnóstico microbiológico actualmente adolecen de algunas limitaciones que dificultan el abordaje terapéutico personalizado y de precisión de las enfermedades infecciosas, tienen una sensibilidad y un tiempo de respuesta mejorable. En un contexto de globalización de la resistencia antimicrobiana, y de emergencia de nuevas infecciones, estas carencias diagnosticas dificultan abordar estos problemas con suficientes garantías. Es esencial optimizar la selección de pacientes que necesitan de tratamientos antibióticos y poder personalizar su tratamiento en base a estudios microbiológicos que indiquen cual es el mejor tratamiento, con los menos efectos adversos incluyendo entre estos las resistencias antimicrobianas. Para ello es fundamental disponer de métodos diagnósticos precisos, fiables, rápidos. Afortunadamente la pandemia de COVID ha dejado algo bueno, y es el desarrollo tecnológico que ha habido en el ámbito de la microbiología, que está permitiendo la aplicación de nuevas técnicas y estrategias al diagnóstico microbiológico, con el avance en rendimiento, sensibilidad y especificidad, así como en la reducción en tiempo de respuesta. Entre estas técnicas cabe destacar la secuenciación metagenómica de alto rendimiento (nNGS) y la incorporación de múltiples ciencias ómicas complementarias y como principales estrategias, y la continuidad asistencial. Aun mejorando las pruebas diagnósticas de laboratorio no es garantía absoluta de que la decisión clínica va a ser la adecuada. La toma de decisiones clínicas, tanto diagnósticas como terapéuticas, precisa de la integración de la información microbiológica, junto con los aspectos clínicos, epidemiológicos y farmacéuticos en grupos multidisciplinares. Sin este proceso de integración coordinada y proactiva de análisis de la información las decisiones terapéuticas no serán óptimas (63, 64).

Es necesario incorporar nuevas tecnologías en los próximos años para aumentar el rendimiento del diagnóstico microbiológico convencional. La mNGS del microbioma humano en las mucosas, podría indicar el riesgo que tiene el paciente de contraer una infección por bacterias resistentes e incluso aconsejar intervenciones terapéuticas concretas. Permite conocer los marcadores de resistencia y los factores de virulencia. La complementación de la microbiómica con otras ciencias ómicas como la genómica, epigenómica, transcriptómica, proteómica, metabolómica, lipidómica, junto con el conocimiento de "bigdata" mediante plataformas de inteligencia artificial tiene potencial para avanzar en la medicina de precisión e individualizada (39).

Los PROA (programas de optimización del uso de los antibióticos) tienen que incluir los PRODIM (programas de optimización del diagnóstico microbiológico) y

coordinarse entre sí e idealmente deberían de formar un solo programa con doble vertiente diagnóstico y terapéutica. La especialidad de microbiología no debe de ir enfocada solo a la selección y ejecución de las técnicas diagnósticas más oportunas, sino que debe de conocer los diferentes contextos clínicos y asistenciales en los que los recursos diagnósticos que va a gestionar tienen que aportar valor para conocer de primera mano las barreras y dificultades de la práctica diaria e integrarlas de manera satisfactoria (65, 66).

BIBLIOGRAFÍA

1. Woese CR, Kandler O, Wheelis ML. 1990. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. Proc Natl Acad Sci U S A 87:4576-9.
2. Freeman BA. 1986. Microbiología de burrows. 22ª ed. Editorial Médica Interamericana MDF.
3. Frobisher M, Fuerst R. 1973. Microbiology in health and disease FROBISHER1973, vol 13th ed. Saunders, Philadelphia.
4. De Kruif P. 2018. Los cazadores de microbios / Microbe Hunters. Época.
5. de kruif P. 1996. Microbe hunters. Hancourt I, San diego.
6. Pereiro M. 1986. Introducción a la Micología Médica. Rev Iber Micol;3: 1-8.
7. Oldstone M. 2020. Virus, plagues and history. Oxford University Press, Oxford, UK.
8. Montagnier L. 1995. Sobre virus y hombres. Círculo de lectores, Barcelona.
9. Jacob F. 1989. La estatua interior. Tulquets ed.
10. Gómez Lus R. 2003. De los cazadores de microbios a los descubridores de antibióticos. Lecciones de Paraninfo. Institución Fernando el Católico (CSIC). Diputación de Zaragoza. 2004.
11. Rubio Calvo C. 2007. Bacterias, de lo desconocido a la celebridad actual. Real Academia de Medicina de Zaragoza.
12. López-Goñi I. 2021. Virus Y Pandemias. ALMUZARA.
13. López-Goñi I. 2019. Microbiota. Los Microbios de Tu Organismo. Guadalmazán.
14. García FJC, Arrizabalaga MM. 2016. La resistencia bacteriana, paradigma de supervivencia: discurso leído en el acto de su recepción pública como académico de número el día 17 de noviembre de 2016. Real Academia de Medicina.
15. Ministerio de Sanidad y Consumo. Orden SCO/3256/2006 de 2 de octubre , por la que se aprueba y publica el programa formativo de la especialidad de Microbiología y Parasitología. Boletín Oficial del Estado número 252, de 21 de octubre 2006. p. 36904-10.
16. Weile J, Knabbe C. 2009. Current applications and future trends of molecular diagnostics in clinical bacteriology. Anal Bioanal Chem 394:731-42.
17. Seng P, Drancourt M, Gouriet F, La Scola B, Fournier PE, Rolain JM, Raoult D. 2009. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. Clin Infect Dis 49:543-51.
18. Struelens MJ, Denis O, Rodriguez-Villalobos H. 2004. Microbiology of nosocomial infections: progress and challenges. Microbes Infect 6:1043-8.

19. Nicolas-Chanoine MH. 2000. Future needs–diagnostic services. Clin Microbiol Infect 6:423-5.
20. Van Eldere J. 2005. Changing needs, opportunities and constraints for the 21st century microbiology laboratory. Clin Microbiol Infect 11 Suppl 1:15-8.
21. Boyce JM. 2007. Environmental contamination makes an important contribution to hospital infection. J Hosp Infect 65 Suppl 2:50-4.
22. Cantón R, Sánchez-Romero MI, Gómez-Mampaso E. 2010. [Current panorama of the teaching of microbiology and parasitology in Spain]. Enferm Infecc Microbiol Clin 28 Suppl 3:16-24.
23. Peterson LR, Hamilton JD, Baron EJ, Tompkins LS, Miller JM, Wilfert CM, Tenover FC, Thomson Jr RB. 2001. Role of clinical microbiology laboratories in the management and control of infectious diseases and the delivery of health care. Clin Infect Dis 32:605-11.
24. Bouza E. 2003. [The role of the microbiologist in the control of nosocomial infection and antibiotic therapy]. Enferm Infecc Microbiol Clin 21 Suppl 2:32-6.
25. Sánchez-Payá J, Bischofberger C, Lizan M, Lozano J, Muñoz Platón E, Navarro J, Paz J, Vicente JA. 2009. Nosocomial infection surveillance and control: current situation in Spanish hospitals. J Hosp Infect 72:50-6.
26. Trenholme GM, Kaplan RL, Karakusis PH, Stine T, Fuhrer J, Landau W, Levin S. 1989. Clinical impact of rapid identification and susceptibility testing of bacterial blood culture isolates. J Clin Microbiol 27:1342-5.
27. Barenfanger J, Drake C, Kacich G. 1999. Clinical and financial benefits of rapid bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing. J Clin Microbiol 37:1415-8.
28. Gómez-Lus ML, López MT. 2006. [The keys of an era: Wright and Fleming]. Rev Esp Quimioter 19:187-92.
29. Davies TA, Pankuch GA, Dewasse BE, Jacobs MR, Appelbaum PC. 1999. In vitro development of resistance to five quinolones and amoxicillin-clavulanate in Streptococcus pneumoniae DAVIES1999. AntimicrobAgents Chemother 43:1177-1182.
30. Oteo J, Domingo-García D, Fernández-Romero S, Saez D, Guiu A, Cuevas O, Lopez-Brea M, Campos J. 2012. Abdominal abscess due to NDM-1-producing Klebsiella pneumoniae in Spain. J Med Microbiol 61:864-867.
31. Ceballos S, Aspiroz C, Ruiz-Ripa L, Reynaga E, Azcona-Gutiérrez JM, Rezusta A, Seral C, Antoñanzas F, Torres L, López C, López-Cerero L, Cercenado E, Zarazaga M, Torres C, LA-MRSA SGoc. 2019. Epidemiology of MRSA CC398 in hospitals located in Spanish regions with different pig-farming densities: a multicentre study. J Antimicrob Chemother 74:2157-2161.
32. de Toro M, Sáenz Y, Cercenado E, Rojo-Bezares B, García-Campello M, Undabeitia E, Torres C. 2011. Genetic characterization of the mechanisms of resistance to amoxicillin/clavulanate and third-generation cephalosporins in Salmonella enterica from three Spanish hospitals. Int Microbiol 14:173-81.
33. de Toro M, Seral C, Rojo-Bezares B, Torres C, Castillo FJ, Sáenz Y. 2013. [Antibiotic resistance and virulence factors in clinical Salmonella enterica isolates.]. Enferm Infecc Microbiol Clin.
34. Domingo-Calap P, Georgel P, Bahram S. 2016. Back to the future: bacteriophages as promising therapeutic tools. HLA 87:133-40.
35. Domingo-Calap P, Delgado-Martínez J. 2018. Bacteriophages: Protagonists of a Post-Antibiotic Era. Antibiotics (Basel) 7.

36. Gutiérrez B, Domingo-Calap P. 2020. Phage Therapy in Gastrointestinal Diseases. Microorganisms 8.
37. Vázquez R, Díez-Martínez R, Domingo-Calap P, García P, Gutiérrez D, Muniesa M, Ruiz-Ruigómez M, Sanjuán R, Tomás M, Tormo-Mas M. 2022. Essential Topics for the Regulatory Consideration of Phages as Clinically Valuable Therapeutic Agents: A Perspective from Spain. Microorganisms 10.
38. Bou G, Cantón R, Martínez-Martínez L, Navarro D, Vila J. 2021. Fundamentals and implementation of Microbiological Diagnostic Stewardship Programs. Enferm Infecc Microbiol Clin (Engl Ed) 39:248-251.
39. Bou G, Calbo E, Crespo M, Cantón R, Álvarez de Luna FF, García Rodríguez J, Ángel Goenaga M, González-García J, Gonzàlez J, Larrosa N, Martínez-Martínez L, Navarro D, Ramón Paño J, Rivero A, Carlos Rodríguez J, Tomás M, Vilaj J. 2022. Justification for 24/7 clinical microbiology services. Enferm Infecc Microbiol Clin (Engl Ed) 40:1-4.
40. Rodriguez-Bano J, Cisneros JM, Fernandez-Cuenca F, Ribera A, Vila J, Pascual A, Martinez-Martinez L, Bou G, Pachon J. 2004. Clinical features and epidemiology of Acinetobacter baumannii colonization and infection in Spanish hospitals. InfectControl HospEpidemiol 25:819-824.
41. Bellés A, Bueno J, Rojo-Bezares B, Torres C, Javier Castillo F, Sáenz Y, Seral C. 2018. Characterisation of VIM-2-producing Pseudomonas aeruginosa isolates from lower tract respiratory infections in a Spanish hospital. Eur J Clin Microbiol Infect Dis.
42. de Toro M, Rojo-Bezares B, Vinué L, Undabeitia E, Torres C, Sáenz Y. 2010. In vivo selection of *aac*(6')-Ib-cr and mutations in the *gyr*A gene in a clinical *qnr*S1-positive *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104B strain recovered after fluoroquinolone treatment. J Antimicrob Chemother 65:1945-9.
43. Gonzalez-Dominguez M, Seral C, Saenz Y, Salvo S, Jose Gude M, Porres-Osante N, Torres C, Javier Castillo F. 2012. Epidemiological features, resistance genes, and clones among community-onset methicillin-resistant Staphylococcus aureus (CO-MRSA) isolates detected in northern Spain. International Journal of Medical Microbiology 302:320-326.
44. Gude MJ, Seral C, Saenz Y, Gonzalez-Dominguez M, Torres C, Castillo FJ. 2012. Evaluation of four phenotypic methods to detect plasmid-mediated AmpC beta-lactamases in clinical isolates. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases 31:2037-2043.
45. Gude MJ, Seral C, Sáenz Y, Cebollada R, González-Domínguez M, Torres C, Castillo FJ. 2013. Molecular epidemiology, resistance profiles and clinical features in clinical plasmid-mediated AmpC-producing Enterobacteriaceae. Int J Med Microbiol.
46. Jose Gude M, Seral C, Saenz Y, Cebollada R, Gonzalez-Dominguez M, Torres C, Javier Castillo F. 2013. Molecular epidemiology, resistance profiles and clinical features in clinical plasmid-mediated AmpC-producing Enterobacteriaceae. International Journal of Medical Microbiology 303:553-557.
47. Lopez M, Rezusta A, Seral C, Aspiroz C, Marne C, Aldea MJ, Ferrer I, Revillo MJ, Castillo FJ, Torres C. 2012. Detection and characterization of a ST6 clone of vanB2-Enterococcus faecalis from three different hospitals in Spain. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases 31:257-260.
48. Lozano C, Aspiroz C, Sáenz Y, Ruiz-García M, Royo-García G, Gómez-Sanz E, Ruiz-Larrea F, Zarazaga M, Torres C. 2012. Genetic environment and location of the lnu(A)

and lnu(B) genes in methicillin-resistant Staphylococcus aureus and other staphylococci of animal and human origin. J Antimicrob Chemother 67:2804-8.

49. Mama OM, Aspiroz C, Lozano C, Ruiz-Ripa L, Azcona JM, Seral C, Cercenado E, López-Cerero L, Palacian P, Belles-Belles A, Berdonces P, Siller M, Aguirre-Quiñonero A, Zarazaga M, Torres C, CC398 SSGoCSa. 2021. Penicillin susceptibility among invasive MSSA infections: a multicentre study in 16 Spanish hospitals. J Antimicrob Chemother.
50. Porres-Osante N, Dupont H, Torres C, Ammenouche N, de Champs C, Mammeri H. 2014. Avibactam activity against extended-spectrum AmpC β-lactamases. J Antimicrob Chemother.
51. Porres-Osante N, Azcona-Gutiérrez JM, Rojo-Bezares B, Undabeitia E, Torres C, Sáenz Y. 2014. Emergence of a multiresistant KPC-3 and VIM-1 carbapenemase-producing Escherichia coli strain in Spain. J Antimicrob Chemother 69:1792-5.
52. Porres-Osante N, Estepa V, Seral C, Rojo-Bezares B, Salvo S, Algarate S, Torres C, Javier Castillo F, Saenz Y. 2014. First Description of a bla(VIM-2)-Carrying Citrobacter freundii Isolate in Spain. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 58:6331-6332.
53. Rojo-Bezares B, Estepa V, Cebollada R, de Toro M, Somalo S, Seral C, Castillo FJ, Torres C, Sáenz Y. 2014. Carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa strains from a Spanish hospital: characterization of metallo-beta-lactamases, porin OprD and integrons. Int J Med Microbiol 304:405-14.
54. Seral C, Sáenz Y, Algarate S, Duran E, Luque P, Torres C, Castillo FJ. 2011. Nosocomial outbreak of methicillin- and linezolid-resistant Staphylococcus epidermidis associated with catheter-related infections in intensive care unit patients. Int J Med Microbiol 301:354-8.
55. Courvalin P. Interpretative reading of antimicrobial susceptibility test. ASM News. 1992 58: 368-75.
56. Martínez-Martínez L. 2003. [The future of antimicrobial susceptibility testing]. Enferm Infecc Microbiol Clin 21 Suppl 2:64-71.
57. Alvar Ezquerra J GOTPEPE, Prieto J. (eds). Manual para la formación de residentes en Microbiología. Science Tools, Madrid, 2002.
58. Perez-Trallero E, Marimon JM, Iglesias L, Larruskain J. 2003. Fluoroquinolone and macrolide treatment failure in pneumococcal pneumonia and selection of multidrug-resistant isolates. EmergInfectDis 9:1159-1162.
59. Baron EJ. 2006. Implications of new technology for infectious diseases practice. Clin Infect Dis 43:1318-23.
60. Cercenado E. 2017. Utility of rapid microbiological techniques for the diagnosis of severe infections. Rev Esp Quimioter 30 Suppl 1:52-55.
61. Ferreira L, Sánchez-Juanes F, González-Avila M, Cembrero-Fuciños D, Herrero-Hernández A, González-Buitrago JM, Muñoz-Bellido JL. 2010. Direct identification of urinary tract pathogens from urine samples by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. J Clin Microbiol 48:2110-5.
62. Wilson ML. 2008. Assuring the quality of clinical microbiology test results. Clin Infect Dis 47:1077-82.
63. López-Pintor JM, Sánchez-López J, Navarro-San Francisco C, Sánchez-Díaz AM, Loza E, Cantón R. 2021. Real Life Clinical Impact of Antimicrobial Stewardship Actions on the Blood Culture Workflow from a Microbiology Laboratory. Antibiotics (Basel) 10.

64. Ortiz-Cartagena C, Fernández-García L, Blasco L, Pacios O, Bleriot I, López M, Cantón R, Tomás M. 2022. Reverse Transcription-Loop-Mediated Isothermal Amplification-CRISPR-Cas13a Technology as a Promising Diagnostic Tool for SARS-CoV-2. Microbiol Spectr:e0239822.
65. Horcajada JP, Grau S, Paño-Pardo JR, López A, Oliver A, Cisneros JM, Rodriguez-Baño J. 2018. Antimicrobial stewardship in Spain: Programs for Optimizing the use of Antibiotics (PROA) in Spanish hospitals. Germs 8:109-112.
66. Rodríguez-Baño J, Pérez-Moreno MA, Peñalva G, Garnacho-Montero J, Pinto C, Salcedo I, Fernández-Urrusuno R, Neth O, Gil-Navarro MV, Pérez-Milena A, Sierra R, Estella Á, Lupión C, Irastorza A, Márquez JL, Pascual Á, Rojo-Martín MD, Pérez-Lozano MJ, Valencia-Martín R, Cisneros JM, Group PP. 2020. Outcomes of the PIRASOA programme, an antimicrobial stewardship programme implemented in hospitals of the Public Health System of Andalusia, Spain: an ecologic study of time-trend analysis. Clin Microbiol Infect 26:358-365.

Discurso de Contestación

Ilma. Sra. Dª. Carmen Torres Manrique

Académica de número

Excmo. Señor Presidente de la Academia de Farmacia del "Reino de Aragón"

Excmas. Autoridades,

Excmas. e Ilmas. Señoras y Señores Académicos,

Señoras y Señores:

Es para mí un verdadero honor haber recibido la invitación para tomar la palabra en el solemne acto de ingreso de una nueva académica en la ilustre Academia de Farmacia del "Reino de Aragón". En este caso particular me corresponde llevar a cabo la contestación al brillante discurso que acaba de realizar la nueva Académica de Número, la Dra Cristina Seral García, por la cual siento un gran respeto y admiración en el ámbito profesional y a la que me une un gran cariño en lo personal.

Conozco bien la trayectoria de la Dra Seral. Aragonesa y perteneciente a una familia de profundas raíces en el ámbito médico, estudió en el colegio de marianistas y desde pequeña le gustaba tanto la medicina como la química por lo que se decantó por los estudios de Farmacia, que le permitía combinar ambas inquietudes. Se licenció en Farmacia por la Universidad de Navarra y realizó el doctorado bajo la dirección del Prof. D. Rafael Gómez Lus en la Universidad de Zaragoza. Fue la última tesis que dirigió el Dr. Gómez Lus, a sus 70 años, y se enfocó al estudio de la resistencia a antibióticos de cepas clínicas de *Streptococcus pneumoniae* y *S. pyogenes*. El espíritu investigador de la Dra Seral le llevó a realizar una estancia en EEUU en los laboratorios farmacéuticos Pfizer para analizar los mecanismos implicados en la resistencia en sus cepas bacterianas de la tesis. Realizó asimismo un postdoctorado de dos años en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Lovaina en Bruselas, profundizando en la actividad intracelular de los antibióticos, trabajando en cultivos celulares y aprendiendo PK/PD. Durante este periodo desarrolló un modelo de infección intracelular por *Staphylococcus aureus* que posteriormente ha servido para realizar numerosos estudios al grupo belga de investigacion.

La Dra Seral obtuvo la especialidad en Microbiología Clínica y Parasitología por el sistema FIR y en la actualidad es Profesora Titular de Microbiología en la Universidad de Zaragoza, que compagina con la plaza asistencial como Facultativo de Microbiología Clínica en el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza. De hecho, fue la primera farmacéutica especialista en Microbiología Clínica y Parasitología que ocupó una plaza vacante en el Servicio de Microbiología de dicho hospital.

Durante las últimas dos décadas la Dra Seral ha llevado a cabo una importante y fructífera actividad como microbióloga clínica hospitalaria, como investigadora en el estudio de las infecciones y en la resistencia a los antibióticos y asimismo como docente universitaria. En este sentido, ha dirigido numerosas tesis doctorales en el ámbito de la resistencia a los antibióticos en distintos microrganismos de interés clínico, con un enfoque especial en aquellos que son emergentes y de relevancia crítica en los hospitales. Asimismo, ha participado y coordinado numerosos proyectos de investigacion financiados por instituciones públicas o privadas en el ámbito de la resistencia a los antibióticos, la epidemiología de las infecciones y la evaluación de métodos diagnósticos en Microbiología Clínica. Es coautora de numerosas publicaciones científicas en revistas de alto impacto, y posee 4 sexenios de investigación.

Colabora con numerosos grupos de investigacion de carácter regional, nacional e internacional. En este sentido, quisiera señalar las estrechas colaboraciones con el grupo de Microbiología Molecular del CIBIR (Centro de Investigacion Biomédica de La Rioja) coordinado por la Dra Yolanda Sáenz y con el grupo One-Health-UR de la Universidad de La Rioja, que coordino. Estas colaboraciones realizadas durante casi dos décadas, han permitido estrechar las alianzas científicas en muchos aspectos de la microbiología clínica y también, y muy importante, los lazos de amistad. De todos estos años hay muchas anécdotas y vivencias que contar y que forman parte de nuestra historia personal y colectiva.

La Dra Seral ha participado activamente en numerosas comisiones hospitalarias, como es la Comisión de Infecciones y Política de Antibióticos y del grupo PROA, ha sido secretaria y presidenta del Grupo de Estudio de los Mecanismos de Acción y de Resistencia a los antibióticos (GEMARA) de la SEIMC, vocal del Grupo de Estudio de las infecciones relacionadas con la Asistencia Sanitaria (GEIRAS) de la SEIMC, vocal y secretaria de la junta de gobierno de la Sociedad Aragonesa de Microbiología y vocal de análisis clínicos del Colegio de Farmacéuticos de Zaragoza, miembro del grupo de microbiología de la comisión asesora técnica del programa IRASPROA, entre otras muchas. Por tanto, la actividad comprometida de la Dra Seral en los ámbitos asistencial y de gestión como también de investigación y de docencia universitaria son sobresalientes y constituyen un verdadero ejemplo de lo que una farmacéutica puede realizar para mejorar la calidad de vida de las personas y avanzar en el conocimiento de las infecciones y de su control. Quisiera destacar asimismo en la Dra Seral, su sencillez, elegancia y calidez que imprime a todas las actividades que realiza.

El excelente discurso llevado a cabo por la Dra Seral sobre la *Lucha contra las Resistencias Bacterianas desde el Laboratorio de Microbiología Clínica,* supone un viaje en el tiempo desde los inicios de la Microbiología y su desarrollo y evolución aterrizando posteriormente en la Microbiología Clínica, su evolución como especialidad biomédica y los retos futuros que plantea. La lectura de su discurso es una delicia para todos aquellos que quieran conocer los hitos claves en el conocimiento de los microorganismos y su interacción con el huésped y la importancia de éstos tanto en la salud como la enfermedad. Asimismo, es interesante las reflexiones que realiza en relación con las conexiones de la microbiología, la inmunología, o la genética, entre otros, y como los avances conjuntos han permitido su desarrollo. Es especial-

mente relevante el análisis sobre los inicios de la Microbiología Clínica en Europa, y en particular en España, señalando los tres principales núcleos que propiciaron el nacimiento de la Microbiología Clínica en nuestro país y su desarrollo posterior. La especialidad de Microbiología Clínica se reconoce en nuestro país en 1976, y desde esa fecha numerosos profesionales se han formado, inicialmente a través de los sistemas MIR y FIR, pero en la actualidad también pueden acceder otros profesionales en el ámbito de la Biología, Biotecnología, Química o Bioquímica, siendo una especialidad pluridisciplinar. La Dra Seral realiza un excelente análisis de los avances actuales en la especialidad y de los retos futuros, tanto en las técnicas diagnósticas, como en el estudio de la sensibilidad a los antibióticos y los mecanismos de resistencia y los sistemas de control de la infección. La incorporación de las técnicas de biología molecular (incluyendo la secuenciación masiva), de técnicas rápidas diagnósticas y la automatización, permiten cambios importantes en los laboratorios de microbiología clínica y una oportunidad para los facultativos en este campo. La Dra Seral realiza este análisis desde el conocimiento profundo de la especialidad y desde la reflexión sobre los problemas a los que se enfrenta y los nuevos retos futuros.

Cristina, es una enorme satisfacción personal y profesional para mi haberte dado esta respuesta a tu discurso de ingreso en la Academia de Farmacia del "Reino de Aragón", por el cual quiero felicitarte y dar mi más sincera enhorabuena, tanto a ti como a toda tu familia. Por último, mostrar en nombre de la Academia "Reino de Aragón" nuestro orgullo por tu incorporación. Bienvenida

Edición patrocinada por:

Colegio
Oficial
Farmacéuticos
Zaragoza