



REIAL ACADÈMIA DE DOCTORS

Reflexions sobre resistència
bacteriana als antibiòtics

•

Discurs d'ingrés de l'acadèmica numerària electa

Excma. Sra. M^a de los Angeles Calvo i Torras

Doctora en Farmàcia i Veterinària

A l'acte de la seva recepció, 20 de maig de 2003, i

discurs de contestació de l'acadèmic de número

Excm. Sr. Pere Costa i Batllori

Doctor en Veterinària

Barcelona

2003

Dra. M^a de los Angeles Calvo i Torras

Reflexions sobre resistència
bacteriana als antibiòtics

REAL ACADEMIA DE DOCTORS

-Publicacions-



Excmo. Sr. Degà President,
Excmos. Sres. Académicos,
Querida familia y amigos,
Señoras y Señores:

Es para mí un honor y una profunda satisfacción poder dirigiros hoy estas palabras, que sin duda debo iniciar con un profundo agradecimiento a todas las personas que han hecho posible mi ingreso en esta Real Academia de Doctores de Catalunya.

Permítanme que mis primeras palabras sirvan de homenaje a mis queridos y añorados padres y a mi tío, que hoy no pueden estar con nosotros pero que con toda seguridad desde el cielo, contemplan este Acto de recepción que les dedico con todo mi corazón.

A mi amado esposo, a quien no me cansaré de repetir que debo mi renovada ilusión para seguir mi labor investigadora y docente y aún más importante con quien comparto todos y cada uno de los instantes de la vida. A su lado siempre encuentro la palabra y el consejo acertado para seguir adelante .

A mis hermanos, a mi sobrina Eulalia, a mis tíos y a mis primos en quienes he encontrado siempre el apoyo preciso y como no a todos mis maestros en el Colegio y en la Universidad, entre los que sin duda debo destacar al Dr. Guillermo Suárez Fernández, director de mis Tesis doctorales en Farmacia y Veterinaria y que me apadrinó en mi Acto de recepción en la Real Academia de Doctores de Madrid en el año 1996.

Ya en el seno de esta Real Academia debo citar y lo hago con gran cariño y amistad, al Dr. Pere Costa-Batllo. Quizás él no sabe que desde hace muchos años, desde finales de la década de los setenta del pasado siglo su nombre ya era para mí familiar, resonaba en los pasillos de la Real Academia de Medicina de Catalunya cuando recién terminada mi licenciatura de Farmacia inicié mi colaboración con mi admirado y querido maestro el Dr. Belarmino Rodríguez Arias en la elaboración de las Actas y Memorias de Secretaría de la misma. También quisiera transmitirle mi agradecimiento por haber aceptado redactar y presentar el discurso de respuesta en este Acto y por la sincera e incondicional amistad con la que me distingue.

No puedo, ni debo dejar de mencionar mi agradecimiento a mis queridos alumnos y colaboradores, como profesor universitario, ellos son sin duda, la razón de mi trabajo y saben que pueden contar conmigo cuando lo precisen, así como a todos mis amigos, importantes en número pero más en calidad, muchos me han oído repetir que los amigos son uno de los mejores tesoros con que puede contar el hombre.

Muchas gracias a todos

Una cuestión que resulta siempre difícil de decidir es la elección de un tema para un discurso de ingreso en una Real Academia y más cuando se trata de una Real Academia que aglutina Académicos destacados por ser doctores en los más variados ámbitos.

En este sentido y con el deseo de presentar un tema de actualidad y que pudiera ser del interés de un amplio sector de Académicos y del amable público que nos honra con su presencia, elegimos aportar una serie de reflexiones y comentarios sobre un aspecto que preocupa a nivel mundial por las consecuencias que implica y así mismo que puede ser considerado de interés tanto en Sanidad humana como Animal y en el que se implican diversos aspectos de la Producción Animal y Vegetal. Nos referimos al tan controvertido tema de las resistencias bacterianas y a las causas y motivos que han permitido que se manifestaran desde hace años, pero con mayor intensidad y profusión en los últimos tiempos.

REFLEXIONES SOBRE RESISTENCIA BACTERIANA A LOS ANTIBIÓTICOS

INTRODUCCIÓN

España es uno de los primeros consumidores mundiales de antibióticos. Ya en la década de los ochenta, los estudios sobre consumo de antibióticos, destacaban que en España el consumo de antibióticos por cada 1000 habitantes y día era superior al 30% del consumo que se registraba en Australia, segundo consumidor en el ranking mundial.

Otro dato a considerar es que a lo largo de los últimos años, se ha observado un incremento progresivo de las resistencias bacterianas a los antibióticos. Este hecho ha despertado una gran preocupación y alarma no sólo entre los científicos, sino en la población en general.

En nuestro país, los valores que expresan las tasas de resistencia de algunos microorganismos a los antibióticos son muy elevadas, si bien, debe tenerse en cuenta que muchos de estos datos de resistencia han sido obtenidos a partir de aislamientos bacterianos realizados en pacientes ingresados en medios hospitalarios y que por tanto, no se conocen con exactitud los datos relativos a la atención primaria ni en consecuencia su repercusión.

Los antibióticos, constituyen uno de los grupos farmacológicos que se han empleado, durante varios años con menor rigurosidad y por tanto pueden en muchos casos ser causa de problemas. El empleo a dosis incorrectas de estos productos o de forma indiscriminada de los mismos puede determinar la aparición de serias complicaciones tales como: reacciones alérgicas, suero-infecciones, dificultad y retraso en la

correcta identificación del agente etiológico y la posible aparición de microorganismos antibiótico resistentes, incluso a veces con resistencias cruzadas que determina la necesidad de pensar en la elaboración o propuesta de nuevos productos.

La expansión de los microorganismos resistentes a antibióticos provoca un incremento en la tasa de mortalidad y una seria complicación en los índices de morbilidad y de efectos secundarios. Asimismo son la causa de un problema de difícil cuantificación como puede ser el incremento del gasto hospitalario y la aparición de efectos secundarios no deseados. Es interesante destacar que en los informes del año 1998 y 2000, España ocupaba un lugar destacado entre los países con mayor índice de bacterias resistentes a los antibióticos, causantes de procesos en el hombre y en los animales.

La síntesis de antibióticos y el descubrimiento y mejora de los mismos han supuesto en el siglo pasado una auténtica revolución en el tratamiento de las enfermedades infecciosas. Sin embargo, la extraordinaria versatilidad y adaptabilidad de los microorganismos ha impedido que el hombre haya ganado totalmente la batalla, dado que muchas bacterias han ido desarrollando en los últimos decenios mecanismos que las protegen contra la acción de los fármacos.

Ya en el año 1907, Paul Ehrlich, al introducir la quimioterapia frente a protozoos se dio cuenta que algunas cepas desarrollaban resistencias a lo largo del tratamiento.

Tras el optimismo inicial que acompañó a la introducción de las sulfamidas y penicilinas en las décadas de los 40 y de los 50 del pasado siglo, se constató igualmente un fenómeno de surgimiento de resistencias bacterianas a estos productos.

Aunque el tratamiento con antibióticos ha sido capaz de actuar eficazmente frente a los agentes etiológicos de las

grandes epidemias del pasado, las enfermedades infecciosas siguen en auge y constituyen en muchos casos un problema emergente.

La introducción de los antibióticos, ha determinado un proceso múltiple de intervención genética en los seres vivos más abundantes del planeta: las bacterias.

La presión selectiva que representa la aplicación a gran escala de los quimioterápicos ha permitido la diseminación de cepas bacterianas con mecanismos de resistencia que, en muchas ocasiones dificultan el adecuado tratamiento clínico.

Algunos ejemplos a este respecto serían los siguientes:

- Transcurridos seis años desde la introducción de la penicilina G, la frecuencia de cepas de *Staphylococcus aureus*, resistentes en los hospitales de Inglaterra pasó de menos del 10% a un 60%. Actualmente el valor se sitúa alrededor del 90%.

- Con los nuevos beta-lactámicos también han empezado a surgir cepas bacterianas resistentes aunque con frecuencia relativamente baja.

- Actualmente se detectan importantes problemas de tratamiento frente a *Enterobacteriaceae* y también frente a *Neisseria* que tradicionalmente habían sido muy sensibles a las penicilinas.

- También se ha detectado un incremento en la aparición de cepas resistentes del *Mycobacterium tuberculosis*, a los quimioterápicos de elección.

En contraposición con estos hechos algunos quimioterápicos de última generación como las fluoroquinolonas están manteniendo e incluso incrementando su efectividad, frente a determinados grupos de bacterias.

Otro aspecto que debemos considerar es que la mayor parte de las especies bacterianas han sido seleccionadas de modo natural con fenotipos sensibles a los antibióticos; los cambios genéticos mutacionales que las convierten en resistentes pueden disminuir su adaptación a otros factores de tipo ecológico, por lo que probablemente la presión de los antibióticos, puede determinar en muchos casos un equilibrio entre cepas sensibles y cepas resistentes. De hecho, se ha podido comprobar un descenso en la frecuencia de cepas resistentes a los antibióticos que se empezaron a utilizar desde hace más tiempo por lo que parece indicarse que para estos antibióticos se esté alcanzando el equilibrio mencionado.

La investigación sobre resistencia bacteriana, se basó inicialmente en el estudio de los mecanismos empleados por los diversos productos para introducirse en las células, en este sentido la presencia de cápsula, así como la composición y estructura de la membrana y de la pared bacteriana, en cada caso, adquieren un papel fundamental. Posteriormente, los avances en biología molecular y genética se aplicaron al estudio de la resistencia de las bacterias a los antibióticos. A partir de 1980 el origen genético de la resistencia a nuevos antibióticos y el fenómeno de la transferencia de genes de resistencia entre bacterias ha sido objeto de estudio, por parte de numerosos investigadores.

COMPONENTES ESTRUCTURALES Y MECANISMOS BIOQUÍMICOS IMPLICADOS EN LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

Los principales mecanismos bioquímicos implicados en la resistencia de las bacterias a los antibióticos, los podemos agrupar en:

A.-Disminución de la permeabilidad hacia el antibiótico

- B.- Inactivación enzimática del antibiótico
- C.- Modificación química de la diana sobre la que actúa el antibiótico
- D.- Síntesis de un enzima resistente.

A.- Disminución de la permeabilidad celular hacia el antibiótico

Entre los componentes de las bacterias que contribuyen a la resistencia de las mismas a los antibióticos podemos destacar a un grupo de proteínas, denominadas porinas que tiene por función facilitar el paso o transporte de los componentes fisiológicos de las bacterias como por ejemplo los aminoácidos a través de la membrana celular. Estas porinas determinan también el paso de los antibióticos al interior de la célula donde pueden llevar a cabo su función de destrucción o de alteración de la misma. La producción de las porinas está codificada por los genes Omp .

Los estudios más recientes han demostrado que uno de los factores más directamente implicados en la resistencia a los antibióticos está relacionado con el sinergismo que se manifiesta entre la membrana exterior de la célula, que actúa como una auténtica barrera para la entrada de estos productos y los flujos constantes de los diversos antibióticos que entran en contacto con la misma.

El mecanismo de entrada de antibióticos y la ruta de acción de los mismos puede permitir entender la existencia de antibióticos de amplio espectro como por ejemplo las tetraciclinas.

Los cambios de diversa índole que pueden presentarse en los lipopolisacáridos de la superficie de las bacterias pueden ser el origen de que se altere la sensibilidad a los antibióticos. Un claro ejemplo de estos hechos, lo constituyen las bacterias que pueden modificar su resistencia a los antibióticos y su carácter virulento en función de que sus colonias sean lisas o rugosas.

Esta capacidad del dimorfismo que presentan determinadas bacterias tiene su origen en cambios constitutivos de sus estructuras más externas e incluso en la pérdida de la cápsula, en algunos casos.

La disminución de la permeabilidad celular hacia el antibiótico determina la modificación de una barrera pre-existente en los microorganismos.

La membrana externa de las bacterias Gram-negativas suponen una barrera natural que determina que muchas bacterias de este grupo sean insensibles a la acción de varios antibióticos, por ej., la vancomicina y la bacitracina no pueden atravesar las porinas de la membrana.

No todas las bacterias Gram-negativas son igualmente impermeables a los mismos antibióticos.

Entre las menos impermeables están especies de los géneros *Haemophilus* y *Neisseria*, que dejan pasar a su través numerosos beta-lactámicos.

Las especies de la Familia de las *Enterobacteriaceae*, suelen considerarse intermedias, por lo que a la capacidad de ser permeables a los antibióticos se refiere.

Las bacterias del género *Pseudomonas* y otros relacionados son insensibles a la mayoría de los antibióticos beta-lactámicos ya que éstos no pueden pasar a través de la membrana externa. Se han aislado mutantes que se han vuelto resistentes a los beta-lactámicos de última generación: el cambio ha afectado a una determinada porina que no permite el paso de estos nuevos antibióticos.

En otros casos la resistencia se debe a la presencia de la cápsula, éste es el caso de algunos neumococos resistentes a la estreptomomicina y a la eritromicina.

Asimismo se plantean algunos mecanismos específicos como:

A.1.- Mecanismo de extrusión activa del antibiótico

A.2.- Alteración del mecanismo de transporte de los antibióticos.

A.1.- Mecanismo de extrusión activa del antibiótico

El ejemplo más típico estriba en la resistencia a las tetraciclinas desarrollada por muchas bacterias. El efecto inhibitorio de las tetraciclinas depende de la acumulación activa de este tipo de antibióticos por parte de las bacterias. Ciertos plásmidos R poseen transposones como el Tn10 o el Tn 1721 que codifican un sistema para "bombear" tetraciclina desde el interior bacteriano hacia el exterior en contra del gradiente de concentración.

Asimismo se conocen resistencias a sulfamidas dependientes de un mecanismo específico de impermeabilidad.

A.2.- Alteración del mecanismo de transporte del antibiótico

Cuando el antibiótico accede al interior bacteriano por algún mecanismo de transporte específico, una mutación que afecte a dicho sistema de transporte supondrá una mayor resistencia al antibiótico. Por ej., en *Escherichia coli*, la cicloserina entra en la célula bacteriana aprovechando el sistema de transporte de la valina o la glicocola.

Determinadas mutantes incapaces de transportar estos aminoácidos son en consecuencia, resistentes a la cicloserina.

B.- Inactivación enzimática de antibióticos

Este tipo de mecanismo depende en muchos casos de los plásmidos R, los ejemplos típicos son las resistencias a:

B. 1.- Antibióticos beta-lactámicos

B.2.- Cloranfenicol

B.3.- Aminoglucósidos.

B.1.- Resistencia a beta-lactámicos por acción de beta-lactamasas.

Ciertas bacterias producen penicilinasas o beta-lactamasas, capaces de abrir el anillo beta-lactámico de la penicilina para dar lugar al ácido peniciloico que carece de actividad antibacteriana. Un hecho similar tiene lugar en el caso de las cefalosporinas, en las que la cefalosporinasa genera un producto inestable inactivo que se descompone rápidamente. Sin embargo, la naturaleza de la cadena lateral influye notablemente en la susceptibilidad de rotura del anillo por las lactamasas.

Las beta-lactamasas codificadas por cromosoma y de bajo nivel (beta-lactamasa de tipo TEM), están distribuidas entre bacterias Gram-negativas y confieren resistencia a las cefalosporinas y a las penicilinas.

La base de la resistencia en muchos casos es la siguiente:

Cuando se expone la bacteria al beta-lactámico durante mucho tiempo, pueden seleccionarse determinadas mutaciones en genes cromosómicos que codifican proteínas parecidas de tipo PBP de modo que adquieren un fuerte promotor que permite su expresión a alto nivel. Este tipo de beta-lactamasas se excretan al medio donde inactivan al antibiótico.

Las beta-lactamasas de origen plasmídico, se originan en cepas de *Staphylococcus aureus*. Existen cuatro variantes responsables del espectacular aumento de cepas resistentes de esta especie surgidas en los años cincuenta. Se trata de enzimas inducibles: el gen que codifica la beta-lactamasa se induce por pequeñas cantidades de penicilina o cefalosporina y se

producen enormes cantidades del enzima que se excreta de modo que inactiva el beta-lactámico en el entorno de la bacteria.

El gen responsable de este fenómeno es transportado por plásmidos de tipo R.

En las bacterias Gram negativas se han descubierto unos 20 tipos de beta-lactamasas de codificación plasmídica. Suelen ser enzimas de síntesis constitutiva que se expresan a bajos niveles y cuya localización es periplásmica. Esta localización permite que el antibiótico sea inactivado antes de que llegue a la membrana citoplasmática, donde se localizan las proteínas diana de los beta-lactámicos. Algunas de ellas vienen codificada por genes plasmídicos que forman parte de transposones, como por ejemplo: Tn1 o Tn4.

Aunque la prevalencia de cepas resistentes a beta-lactámicos es un fenómeno que se disparó en los años cincuenta con el empleo masivo de estos antibióticos, la resistencia a ellos detectada en las bacterias estaba ya presente en las mismas con anterioridad.

La aplicación clínica a gran escala de penicilinas y cefalosporinas ha permitido observar en acción un ejemplo de evolución bacteriana en el que las cepas más aptas han sobrevivido y se han multiplicado y en el que por acción de los intercambios genéticos y por la construcción de transposones de muchos plásmidos R, las entidades genéticas responsables se han diseminado de unas cepas bacterianas a otras.

Se puede suponer que en la naturaleza ciertas cepas bacterianas poseían ya estos mecanismos para destruir los beta-lactámicos segregados por hongos con los que coexistían.

Al profundizar más en el tema podemos indicar que las propias beta-lactamasas proceden evolutivamente, por mutaciones sucesivas, de algunos de los genes que

originalmente codificaban algunas autolisinas que intervienen en la maduración del peptidoglucano. Es decir, las beta-lactamasas serían formas modificadas de las mismas dianas sobre las que actúan los beta-lactámicos.

Los beta-lactámicos forman complejos covalentes estables con algunas de las PBPs (peniciloil-PBPs) que hacen que estas autolisinas se inactiven.

Existen indicios de que las beta-lactamasas serían unas autolisinas evolucionadas que en vez de formar complejos estables con los beta-lactámicos se habrían especializado en cortar el anillo lactámico originando ácido peniciloico a expensas de su actividad transpeptidasa original.

B. 2.- Resistencia al cloramfenicol

La resistencia al cloramfenicol suele deberse a una enzima inactivante de dicho antibiótico. Esta enzima se denomina cloramfenicol-acetiltransferasa (CAT) que normalmente está codificada por genes plasmídicos. Uno de los genes CAT de Gram-negativas más estudiados forma parte del transposón Tn9.

La CAT convierte el cloramfenicol en su derivado 3-acetoxi, usando 1-acetil CoA, a continuación una reacción química determina que el grupo acetoxi pase a la posición 1, finalmente tiene lugar una segunda acetilación catalizada enzimáticamente que genera el producto final, 1,3-diacetoxi-cloramfenicol.

Los derivados mono o diacetilados del cloramfenicol son inactivos como antibióticos.

B.3.- Resistencia a ciertos aminoglucósidos

Los aminoglucósidos son un grupo amplio y abundante de antibióticos por lo que no es sorprendente que las bacterias hayan evolucionado hacia la producción de distintos

mecanismos para inactivarlos, que se pueden agrupar en tres tipos:

- Fosforilación
- Adenilación
- Acetilación

La modificación enzimática de los aminoglucósidos tiene lugar en el espacio periplasmático o en la membrana citoplasmática y produce un doble efecto:

a.- El antibiótico modificado covalentemente ya no puede usar el mecanismo de transporte facilitado a través de la membrana, por tanto accede en menor cantidad al citoplasma.

b.- El compuesto modificado ya no puede afectar al ribosoma por lo que no ejecuta acción inhibitoria sobre el desarrollo de la bacteria.

C.- Modificación química de la diana del antibiótico

Uno de los mecanismos de resistencia a los antibióticos se basa en la modificación de las zonas de unión de los antibióticos a la bacteria o en los cambios a nivel estructural o de otra índole de las dianas de actuación.

Entre las resistencias que se manifiestan por este mecanismo podemos citar:

- C.1.- Resistencia a la estreptomina
- C.2.- Resistencia a la eritromicina
- C.3.- Resistencia a las rifamicinas
- C.4.- Resistencia a las quinolonas, novobiocina y coumermicina.

C.1.- Resistencia a la estreptomina

Este mecanismo es consecuencia de una mutación cromosómica *strA* que produce una proteína ribosómica S13 alterada que impide la unión de la estreptomina.

C.2.- Resistencia a la eritromicina

Ciertos plásmidos de cepas de *Staphylococcus aureus* y de *Streptococcus* codifican una metilasa de ARN inducida por la presencia de eritromicina: esta enzima modifica por metilación en un determinado nucleótido del ARNr23S de la subunidad grande del ribosoma. Concretamente introduce dos metilos en el N de una determinada adenina, usando S-adenosilmetionina (SAM) como donador. Esta reacción determina un cambio conformacional en el ribosoma que disminuye su afinidad hacia la eritromicina y hacia la lincomicina, es decir se produce una resistencia cruzada a los dos antibióticos.

El mecanismo genético subyacente al carácter inducible de la metilasa es muy importante. En lugar de un mecanismo a nivel transcripcional como es habitual en las bacterias, se trata de un mecanismo de regulación traduccional.

En las bacterias en ausencia de eritromicina el ARNm de la enzima posee una estructura secundaria que evita su traducción por los ribosomas, pero en presencia de eritromicina este ARNm cambia de conformación y puede ser leído, produciéndose la metilasa que inactivará la diana de antibiótico.

C.3.- Resistencia a las rifamicinas

Las rifamicinas actúan uniéndose a la subunidad beta de la ARN polimerasa eubacteriana. La resistencia a estos antibióticos depende de una mutación cromosómica que altera dicho subunidad, haciéndola insensible a estos inhibidores.

C.4.- Resistencia a las quinolononas, novobiocina y coumermicina

Las mutaciones cromosómicas que interesan a la subunidad A de las ADN-girasa bacteriana producen resistencia al ácido nalidíxico. Sin embargo las quinolononas de la última generación no se ven afectadas, probablemente por su gran potencia, como antibióticos.

Las mutaciones cromosómicas que afectan a la subunidad B de la girasa rinden resistencia a la novobiocina y a la coumermicina.

D.- Síntesis de una nueva enzima sensible

Otro mecanismo para adquirir resistencia a determinados productos con efecto inhibidor del crecimiento bacteriano, se basa en la síntesis por parte de la célula implicada de nuevas enzimas sensibles capaces de competir con los naturales y evitar así la incorporación y metabolización del producto con capacidad antibiótica.

Entre los fenómenos de resistencia que optimizan las bacterias por este mecanismo podemos citar:

D.1.- Resistencia a las sulfamidas

D.2.- Resistencia a trimetoprim

D.3.- Resistencia a metilicina

D.1.- Resistencia a las sulfamidas

Determinados plásmido R portan genes de resistencia a sulfamidas que codifican una dihidropteroico sintetasa muy resistente a la acción de los quimioterápicos, debido a que tienen una afinidad 10000 veces menor que la enzima normal codificada por el cromosoma.

D.2.- Resistencia a trimetoprim

Muchos plásmidos R llevan un gen que codifica dihidrofolatorreductasa (DHFR) muy resistente al trimetoprim.

D.3.- Resistencia a metilina

En muchos hospitales se detectan cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes al beta-lactámico metilina. Estas cepas producen una forma especial de proteína PBP2 que posee una baja afinidad por los beta-lactámicos incluyendo la metilina. Parece que el gen codificador reside en un transposón.

BASES GENÉTICAS DE LA RESISTENCIA

Una de las aplicaciones prácticas más interesantes de los avances realizados en las últimas décadas en el campo de la genética bacteriana ha sido comprender los mecanismos genético-moleculares de la resistencia a los antibióticos, lo que ha permitido un "ataque" más racional a este problema clínico.

Los primeros estudios sobre los genes que intervienen en la resistencia a los antibióticos se basaron en determinar cuál o cuáles eran los mecanismos que permiten la transferencia y regulación de estos genes entre los microorganismos.

En los últimos años ha surgido una nueva área de estudio: la ecología de los genes de resistencia.

Una cepa bacteriana puede mostrarse resistente a un antibiótico por dos tipos principales mecanismos:

- 1.- Mutación en un gen cromosómico.
- 2.- Introducción de un plásmido R de resistencia.

Este segundo mecanismo supone el problema más difícil de resolver, ya que:

- Está muy extendido.
- Puede conferir resistencia a varios antibióticos a la vez.
- A diferencia del mecanismo mutacional, no suele suponer una desventaja adaptativa ya que no disminuye la tasa de crecimiento de la bacteria ni le hace disminuir o perder sus propiedades de virulencia.

SELECCIÓN DE MUTANTES RESISTENTES

Las mutaciones se definen como espontáneas ya que ocurren sin intervención de procedimientos mutagénicos experimentales. Las mutaciones bacterianas son aleatorias y afectan a un gen cualquiera con frecuencias dentro del rango de una por cada 10⁵ o de una por cada 10¹⁰ células bacterianas.

En la década de los cincuenta se observó que cuando un cultivo bacteriano de una cepa sensible a un antibiótico se ponía en contacto con ese antibiótico, al cabo de un cierto tiempo en todos los cultivos se detectaban cepas resistentes. A través de diversos experimentos se pudo demostrar que el antibiótico lo único que hace es seleccionar los mutantes resistentes espontáneos que surgen en la población independientemente de la presencia del agente selectivo.

En estos hallazgos científicos, se puede evidenciar la base genética de la aparición de cepas patógenas resistentes a los antibióticos: el fármaco inhibe o mata las bacterias silvestres sensibles pero no afecta a los pocos individuos que por mutación espontánea hayan adquirido un alelo resistente. Estos individuos se multiplican de forma normal por lo que al final se

observa la prevalencia de una población de células bacteriana resistentes a los antibióticos de uso.

El conocimiento de la frecuencia de aparición de una mutación de resistencia a un antibiótico o quimioterápico en una determinada especie bacteriana, así como el lugar de acción o diana de dicho fármaco son factores importantes para una aproximación racional a la quimioterapia.

Un ejemplo de este hecho podíamos centrarlo en el Bacilo de Koch, agente etiológico de la tuberculosis en el hombre. Cuando el microorganismo se encuentra en el pulmón, desencadena frecuentemente graves lesiones en las que se concentran ingentes cantidades de la bacteria. Por este motivo, el tratamiento con un solo agente quimioterápico puede no tener éxito ya que aunque un producto sea muy activo y mate a casi todas las células bacterianas, no afectará a una pequeña subpoblación capaz de sobrevivir a este tratamiento y que podrá multiplicarse y recolonizar el pulmón, dando lugar a que se desencadene una marcada persistencia de la infección. En estos casos, es aconsejable tratar con más de un quimioterápico simultáneamente, teniendo en cuenta además que la probabilidad de aparición de resistencias múltiples basadas en mutaciones espontáneas equivale al producto de las probabilidades de que se manifiesten las resistencias a cada uno de los antibióticos considerados como si se administraran individualmente.

RESISTENCIA POR INTERCAMBIO GENETICO

El principal enemigo del éxito de la quimioterapia está representado por la posible transmisión por mecanismos genéticos de los denominados plásmidos de resistencia a antibióticos o plásmidos R.

Si nos remontamos a la década de los años cincuenta del pasado siglo, poco después de la administración de los primeros antibióticos, en el Japón se detectó un espectacular incremento en el número de pacientes que cursaban una disentería bacilar y que al intentar el tratamiento se mostraban resistentes a la acción de varios antibióticos. Las cepas de *Shigella dysenteriae* aisladas de estos pacientes poseían el fenotipo SuR, StrR, CmR, TetR. Se comprobó que los genes correspondientes a esas resistencias formaban parte de un único plásmido al que pasaron a denominar plásmido R o plásmido de resistencia. Asimismo pudo observarse que estos pacientes presentaban a nivel de su intestino cepas de *Escherichia coli* que eran también resistentes a esos mismos antibióticos. Ello sugería que este tipo de plásmidos de resistencia se podían transferir de unas especies a otras. La explicación de este fenómeno radicaba en un mecanismo de intercambio de material genético dependiente del contacto bacteria-bacteria y que denominamos conjugación.

En definitiva se pudo demostrar que existen plásmidos R capaces de diseminarse por conjugación no sólo entre bacterias de una misma especie sino entre especies distintas, incluyendo a cepas patógenas.

Poco a poco fueron descubriéndose en Occidente cepas patógenas resistentes a uno o a varios antibióticos y actualmente, podemos afirmar que las cepas con resistencias múltiples codificadas por plásmidos son muy abundantes en todo el mundo hecho que complica y en ocasiones desaconseja el empleo de la quimioterapia.

Existen plásmidos R de distintos grupos de incompatibilidad. Son abundantes en *Pseudomonas* y en *Enterobacteriaceae*, desde las que se pueden transferir a una amplia gama de bacterias Gram negativas.

Además de los plásmidos R conjugativos existen otros no conjugativos que sin embargo pueden ser transferidos entre distintas bacterias, por:

1.- Otro plásmido conjugativo compatible residente en la misma célula.

2.- Transducción, mediante bacteriófagos.

3.- Transformación, mecanismo por el que el ADN desnudo del plásmido puede ser incorporado por una bacteria sensible receptora.

VENTAJAS ADAPTATIVAS DE LOS PLASMIDOS R

Los plásmidos R han evolucionado en respuesta a presiones selectivas ambientales, entre las que podemos citar a los antibióticos administrados por el hombre y los agentes inhibidores presentes en los medios naturales en los que se desarrollan las bacterias.

Los plásmidos son capaces de conferir varias resistencias simultáneamente a las bacterias que los adquieren y pueden diseminarse rápidamente de modo "horizontal" es decir entre células de la misma especie o en algunos casos entre células de distintas especies.

Están constituidos por "módulos" móviles o transposones de modo que tienen flexibilidad para adquirir nuevos módulos a partir de otras especies.

Cuando no existe presión selectiva estos plásmidos pueden perderse en la mayor parte de las bacterias de una determinada población, fenómeno que se denomina curación espontánea, pero su modo de transmisión "epidémica" los capacita para

diseminarse de una forma muy rápida a la mayoría de la población cuando la ocasión lo requiere, es decir cuando se manifieste de nuevo la presión selectiva.

No poseen apenas efectos negativos sobre los demás caracteres de la bacteria incluyendo en el caso de las patógenas, su poder de virulencia.

Muchos de los plásmidos responden a mayores concentraciones de antibióticos aumentando su número de copias.

El estudio epidemiológico de los plásmidos R posee un gran interés de cara a la salud pública.

Este tipo de estudios se basa fundamentalmente en:

- 1.- Detección de los grupos de incompatibilidad.
- 2.- Análisis de restricción y comparación de mapas físicos.

1.- Detección de grupos de incompatibilidad.

Los plásmidos presentan la característica diferencial de poder diferenciarse en base a grupos de incompatibilidad y en consecuencia poder establecer las denominadas familias de plásmidos.

Se dice que dos plásmidos son de una misma familia, cuando no pueden producir una sobre-infección en una misma células, de ahí surge el concepto de incompatibilidad. Si una célula está parasitada por un plásmido no podrá introducirse en la misma célula otro plásmido de la misma familia.

2.- Análisis de restricción y comparación de mapas físicos

Mediante técnicas genéticas se pueden establecer características de cada uno de los plásmidos. Los principales

métodos utilizados se basan en conocer los genes que constituyen cada uno de los plásmidos y a partir de ello establecer las características físicas diferenciales de cada uno de ellos.

A lo largo de estas primeras páginas, hemos intentado revisar de forma resumida los principales aspectos de las resistencias de las bacterias a los antibióticos, pero consideramos de notable interés acercarnos con mayor profundidad a los diversos elementos considerados por muchos sectores como responsables directos del estado actual de las resistencias detectadas en los antibióticos de empleo en medicina humana. Ya hemos indicado que uno de los factores a los que se atribuye la extensión de la resistencia a los antibióticos deriva del uso indebido y en muchos casos del abuso de antibióticos en los tratamientos de procesos de etiología infecciosa.

ADMINISTRACIÓN DE ANTIBIÓTICOS EN MEDICINA HUMANA

Los patrones de prescripción, de dispensación y de uso en medicina humana, son las principales causas del consumo elevado de los antibióticos. Aunque los antibióticos pueden ser muy útiles para el tratamiento de las infecciones, no siempre se administran o se utilizan de forma adecuada. Es muy frecuente su empleo en el caso de infecciones víricas (infecciones de vías respiratorias o en gastroenteritis) o bien en indicaciones adecuadas pero prescritos a dosis o duraciones del tratamiento incorrectas.

Diversos estudios han demostrado que la prescripción de antibióticos inadecuada es en general muy elevada y se sitúa cerca de un 60% del total de las prescripciones.

Otros importantes factores a considerar son: la dispensación de antibióticos sin receta y la automedicación. Un estudio transversal reciente llevado a cabo en seis farmacias de Catalunya, indica que un 29% de los antibióticos dispensados lo son como consecuencia de automedicación y un 12.5% sin receta. Por otro lado, se ha puesto de manifiesto que un 61% de los pacientes no termina el tratamiento completo prescrito, generalmente porque al experimentar una mejoría sintomática, decide interrumpirlo.

EJEMPLOS DE RESISTENCIAS BACTERIANAS A LOS ANTIBIÓTICOS ADMINISTRADOS EN MEDICINA HUMANA

Entre los problemas de resistencia a los antibióticos, podemos citar aquellas que se manifiestan frente a microorganismos considerados como agentes etiológicos de procesos de infección en vías respiratorias y en vías urinarias en el hombre.

A.- Infecciones respiratorias

El principal agente etiológico de neumonías adquiridas a nivel de la comunidad y de otitis media y sinusitis aguda es el *Streptococcus pneumoniae*. En nuestro medio ambiente se ha venido observando un aumento progresivo de la resistencia del neumococo a la penicilina desde un 4% en el año 1979 a un 27% en el año 1992. En un estudio multicéntrico realizado en España, se ha observado recientemente que en las cepas aisladas de procesos respiratorios, la incidencia de resistencias a la penicilina fue del 36,5%, a la amoxicilina de un 24%, a la amoxicilina+ácido clavulánico, de un 26% y a la cefuroxina de un 46%. A pesar de las tasas crecientes de neumococos resistentes a la penicilina, la mayoría de cepas tienen una resistencia intermedia (CMI de 0.1 a $\mu\text{g/ml}$) y sólo un 12% a un

14% de los neumococos presentan tasas de elevada resistencia a la penicilina ($\text{CMI} \geq 2 \mu\text{g/ml}$).

En los estudios realizados en nuestro medio, se han identificado diversos factores clínicos que se asocian a un aumento de riesgo de infecciones neumocócicas causadas por cepas resistentes a los beta-lactámicos. Son considerados factores de riesgo el uso de antibióticos o haber estado hospitalizado durante los tres meses anteriores al proceso clínico actual, haber padecido una neumonía un año antes del cuadro actual, presentar una inmunosupresión o una grave enfermedad de base, tener afectado más de un lóbulo pulmonar así como la edad del paciente. Se consideran pacientes de alto riesgo los adultos de más de setenta y cinco años y los niños menores de cuatro.

Las consecuencias clínicas no son bien conocidas, sin embargo, se sugiere, según resultados de diversos estudios que la infección por cepas resistentes no aumenta la tasa de mortalidad en los pacientes con neumonía neumocócica tratados con antibióticos beta-lactámicos.

La prevalencia de neumococos resistentes a los macrólidos también se ha incrementado de forma rápida y progresiva. La tasa de resistencia a la eritromicina se vió incrementada desde un 0.9% en el año 1979 hasta un 10% en el año 1990. En un estudio multicéntrico realizado a nivel de España en el año 1996, se pudo observar que se registraban tasas de resistencia a la eritromicina y a la azitromicina del orden del 35% y a la claritromicina de un 31,5%. La prevalencia de neumococos resistentes a los macrólidos incrementa hasta un 62% en niños con un proceso de otitis y que habían sido tratados previamente con macrólidos.

Las tasas de resistencia del neumococo a otros antibióticos, como por ejemplo al cotrimoxazol y a las tetraciclinas son también superiores al 30%.

En los últimos años también se ha descrito un aumento de las resistencias a las fluoroquinolonas y se ha asociado a la resistencia a otros antibióticos como la penicilina y los macrólidos. Asimismo en los últimos años, la tasa de los denominados neumococos multiresistentes, que poseen resistencia como mínimo a tres grupos diferentes de antibióticos, también ha sufrido un marcado incremento.

Aunque en Catalunya, los neumococos presentan una elevada tasa de resistencia a la penicilina y a otros antibióticos beta-lactámicos, estos antibióticos aún son de elección para el tratamiento de las infecciones neumocócicas. Debe destacarse que adicionar ácido clavulánico al tratamiento no aumenta la eficacia clínica de la amoxicilina sobre los neumococos resistentes a la penicilina ya que la resistencia no se relaciona con la síntesis de beta-lactamasas.

Las cefalosporinas por vía oral, son menos activas que la amoxicilina sobre los neumococos resistentes a la penicilina. En consecuencia, la amoxicilina y la penicilina continúan siendo los fármacos de elección en el tratamiento de la mayoría de las infecciones neumocócicas en atención primaria. Los macrólidos sólo deben ser una alternativa a la amoxicilina en caso de individuos alérgicos a los beta-lactámicos.

Haemophilus influenzae también es considerado un agente etiológico importante en los procesos de otitis y sinusitis aguda, y con menos frecuencia de neumonía. El principal mecanismo de la resistencia de *Haemophilus influenzae* a los antibióticos beta-lactámicos es la producción por parte de las cepas de beta-lactamasas. También interviene de forma directa la denominada resistencia intrínseca, no relacionada con la presencia de los enzimas.

En Catalunya, entre un 40 y un 50% de las cepas de *Haemophilus influenzae* son resistentes a la amoxicilina, de las

cuales, en un 35-43% la resistencia es debida a la producción de beta-lactamasas y un 5-7% a la resistencia intrínseca.

A partir de un estudio realizado con 1.500 cepas de *Haemophilus influenzae* aisladas de muestras de procesos respiratorios, se ha podido detectar que entre un 19% a un 29% son resistentes al cefaclor, en tanto que no se observaron resistencias a la asociación de la amoxicilina con el ácido clavulánico, con la cefurexina, ni con otras cefalosporinas de tercera generación. En cuanto a la sensibilidad frente a los macrólidos, se han observado tasas de resistencia a la claritromicina del orden del 2% al 4.5% y a la azitromicina del 2.5% al 9%. Las cepas de *Haemophilus influenzae* presentan tasas de resistencia a las tetraciclinas del orden del 15% al 40% y al cotrimoxazol de más del 50%.

A pesar de los datos microbiológicos, en los ensayos clínicos que se han realizados con pacientes que presentaban proceso respiratorios susceptibles de ser causados por *Haemophilus influenzae*, no se han observado diferencias notables en la eficacia entre amoxicilina, amoxicilina+ácido clavulánico y las cefalosporinas, aunque estos resultados pueden ser distintos en diferentes áreas geográficas.

Asimismo podemos indicar que en los ensayos clínicos realizados en pacientes que presentaban cuadros de otitis, sinusitis crónica y en cuadros agudos de bronquitis crónica, los macrólidos de nueva generación, tampoco han demostrado una eficacia superior a la eritromicina ni a los beta-lactámicos.

Las cepas de *Streptococcus piógenos*, agentes etiológicos de faringo-amigdalitis, son sensibles a la penicilina. De las 871 cepas de esta bacteria, aisladas en un estudio multicéntrico realizado en España, ninguna cepa presentó resistencia ni a la penicilina, ni a la amoxicilina, ni tampoco a las cefalosporinas. Por el contrario, cerca de un 27% de las cepas fueron resistentes a la eritromicina, la claritromicina y a la azitromicina. Al

analizar estos datos de sensibilidad, la penicilina o la amoxicilina deben seguir siendo considerados como los antibióticos de primera elección para el tratamiento de faringoamigdalitis estreptocócicas y no parece justificado el hecho de administrar antibióticos beta-lactámicos de amplio espectro como las cefalosporinas.

Las elevadas tasas de resistencia del estreptococo a los macrólidos se ha atribuido a una administración poco controlada de los mismos. En algunos estudios se ha observado que al reducir el empleo de los macrólidos, también disminuyen las tasas de resistencia.

Como conclusión podemos indicar que no deben administrarse de forma indiscriminada los macrólidos y deben reservarse para el adecuado tratamiento de las faringoamigdalitis de presunta etiología estreptocócica en pacientes alérgicos a los beta-lactámicos.

En Catalunya, *Moraxella catarrhalis* es un patógeno poco frecuente, representa tan sólo el 4% del total de microorganismos respiratorios patógenos. Si consideramos que la mayoría de las cepas son productoras de beta-lactamasas y que no se han detectado resistencias a las cefalosporinas ni a la amoxicilina+ácido clavulánico, estos antibióticos pueden ser considerados de elección. Tampoco se han detectado resistencias a los macrólidos, que pueden ser administrados como una alternativa en el caso de individuos alérgicos a los beta-lactámicos.

B.- Infecciones urinarias

Las cepas de *Escherichia coli* son los agentes etiológicos de más de un 70% de todas las infecciones urinarias extra-hospitalarias. Más del 50% de las cepas son resistentes a la amoxicilina, en tanto que menos de un 10% lo son a la amoxicilina+ácido clavulánico o a las cefalosporinas.

Aproximadamente un 25% de las cepas presentan resistencia a las quinolonas y se han descrito resistencias cruzadas entre ellas. Más del 30% de las cepas son resistentes al cotrimazol y las tasas de resistencia a fosfomicina y a la gentamicina son muy bajas (<5%).

Estas elevadas tasas de resistencia microbiológica no tiene siempre una traducción clínica ya que para el tratamiento de las infecciones urinarias se administran antibióticos, de tipo beta-lactámico y quinolonas que son eliminados en forma inalterada por la orina, en la que alcanzan concentraciones generalmente muy superiores a las que se ensayan en el laboratorio.

En consecuencia, antibióticos como la amoxicilina y el ácido pipemídico pueden ser útiles para el tratamiento de las infecciones urinarias de vías bajas, como la cistitis, pero no se aconseja su administración en las infecciones urinarias de parénquima, como las pielonefritis, en estos casos se recomienda la amoxicilina+ácido clavulánico, la cefalexina o la norfloxacin.

Otras bacterias Gram negativas, como por ejemplo cepas de *Proteus mirabilis* o de *Klebsiella pneumoniae*, son menos frecuentes en las bacteriurias extra-hospitalarias. Las cepas resistentes a la ampicilina son muy elevadas, más del 50% del total de cepas aisladas. En comparación con *Escherichia coli*, las resistencias a la amoxicilina+ácido clavulánico y a las cefalosporinas son más elevadas, cerca del 20% y las tasas de resistencias a las quinolonas son menores, inferior al 10%.

Un aspecto interesante que debemos tener en cuenta es que en los hospitales se establece un nicho ecológico específico que sin duda puede ser origen de la dispersión de la resistencia bacteriana a determinados antibióticos. En esta ambiente concreto se pueden manifestar mini-epidemias causadas por la acción sobre las personas ingresadas de bacterias resistentes a los antibióticos. El agente etiológico de estas infecciones puede

tener su origen en una cepa resistente que se transmite de paciente a paciente a través del medio ambiente o incluso por la alimentación. Asimismo no debemos olvidar la re-infección que puede tener lugar a través de la microbiota del propio paciente. En estudios recientes se ha podido observar que el tratamiento y control de portadores de enterococos vancomicina-resistentes, es una buena medida preventiva que facilita la eliminación del riesgo de transmisión de cepas resistentes.

A través de otras investigaciones se ha podido poner de manifiesto que la presencia de *Staphylococcus aureus* meticilina-resistentes está mucho más extendida entre la población de lo que podría ser esperable. Este hecho evidenció que si una población en general, puede ser portadora de cepas resistentes como la citada o de cepas multi-resistentes, debería establecerse un plan de prevención y control para evitar que estos individuos entraran en contacto con el medio hospitalario o en su caso se tomaran las medidas necesarias para evitar la posible difusión de estas cepas resistentes entre la población hospitalizada, que evidente es de alto riesgo.

Un aspecto interesante sobre el que debemos hacer hincapié, es la posibilidad de que como hemos indicado, la dispersión de cepas resistentes en el ambiente hospitalario se produzca a través de la alimentación. Si los microorganismos resistentes se ingieren a través de los alimentos, es posible que nuevos patógenos resistentes, se detecten con cierta rapidez, en el propio individuo y fácilmente pasen al medio hospitalario, como consecuencia de la transferencia de genes de resistencia entre las bacterias que pasan a través del colon y las que forma parte de la microbiota del individuo. Esta transferencia puede darse forma horizontal o también entre el individuo y el medio ambiente, pasando así a otros individuos.

ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS EN PRODUCCIÓN ANIMAL Y SU POSIBLE INCIDENCIA EN EL DESARROLLO DE LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN EL HOMBRE

Como ya hemos indicado anteriormente, entre los factores fundamentales que han impactado en la emergencia y extensión de la resistencia a los antibióticos podemos citar:

- 1.- Los genes de resistencia transferibles entre bacterias.
- 2.- La presión selectiva debida al empleo de los antibióticos.

En este sentido, varios estudios consideran que si bien la concentración de pacientes con procesos de infección en los hospitales y la administración del antibiótico correspondiente, colaboran de forma activa en la implantación de los factores citados, los sistemas empleados durante años, en el área de producción de animales pueden ser un segundo factor de considerable importancia en la transferencia de resistencias y en la presión selectiva sobre las bacterias, como consecuencia del empleo de antibióticos en este ámbito.

La producción de animales a gran escala determina que un gran número de los mismos estén confinados en espacios reducidos, por lo que la aparición de un brote de infección rápidamente puede transferirse de unos a otros animales. Por razones técnicas se aconseja a menudo una medicación masiva de los animales para evitar graves consecuencias.

Algunos ejemplos del consumo comparativo de antibióticos, entre el tratamiento en el hombre y el empleo en veterinaria podríamos establecerlos en los siguientes:

En Dinamarca, en el año 1994, 24 Kg de vancomicina fueron utilizados en terapéutica humana frente a los 24.000 Kg

de un glicopérido similar la avoparcina utilizado en alimentación animal. Australia importó un promedio de 582 kg de vancomicina anuales con fines terapéuticos y 63.642 kg de avoparcina por año para producción animal. La vancomicina y la avoparcina posee el mismo modo de acción, la resistencia a uno puede conferir resistencia al otro.

El efecto no deseado de esta práctica de utilización amplia de una profilaxis con antibióticos puede ser la aparición de resistencias a los mismos.

Asimismo durante varias décadas los antibióticos han sido empleados como promotores de crecimiento especialmente en cerdos y en aves. El empleo de estos promotores puede determinar un incremento del orden de un 4% al 5% del peso corporal para los animales tratados al compararlos con los animales control.

Las bases biológicas de los efectos de los antibióticos como promotores de crecimiento y los procesos metabólicos de los animales que pueden ser capaces de modificar y que han justificado su empleo hasta el presente, se conocen desde hace tiempo y podríamos resumirlos en:

- 1.- Excreción del nitrógeno.
- 2.- Incremento en la eficiencia de las reacciones de fosforilación en las células y por tanto en la síntesis proteica.
- 3.- Modificaciones en la microbiota intestinal, en general disminución de la presencia de microorganismos patógenos.
- 4.- Reducciones en el tránsito de la digesta.
- 5.- Aumento en la absorción de determinados nutrientes, como por ejemplo, las vitaminas.

6.- Reducción en la producción de amoníaco, aminos tóxicas y determinadas toxinas.

En el caso de los rumiantes, además de los efectos citados se manifiestan los siguientes:

- 1.- Aumento en la producción de ácido propiónico.
- 2.- Disminución en la producción de metano.
- 3.- Disminución en la producción de ácido láctico.
- 4.- Disminución de la degradación proteica.
- 5.- Disminución en la desaminación de los aminoácidos.

En su conjunto, todos estos cambios determinan un mayor eficiencia del metabolismo energético y nitrogenado en el rumen y/o en todo el animal.

EL EMPLEO DE LOS ANTIBIÓTICOS EN VETERINARIA: PERSPECTIVA ACTUAL

Los antibióticos se incluyen en la composición de determinados piensos destinados al consumo animal, pudiendo adicionarse con dos fines claramente diferenciados:

1.- Como agentes profilácticos y/o terapéuticos.

Los piensos constituyen una de las vías de administración de fármacos y por ello podemos hablar de PIENSOS MEDICAMENTOSOS. En este caso, los antibióticos se incorporarían a los piensos en forma de premezcla medicamentosa a concentraciones relativamente elevadas. Se

precisa una prescripción veterinaria para el empleo de estos piensos.

2.- Como promotores del crecimiento.

Con este fin, el antibiótico se incorpora al pienso en forma de aditivo y a dosis sub-terapéuticas. Así se ha demostrado que es posible controlar la microbiota intestinal del animal, traduciéndose este efecto en un mayor aprovechamiento de los nutrientes y un importante aumento de peso del animal,

En la actualidad el uso veterinario de los antibióticos como promotores de crecimiento está siendo objeto de duras críticas y de claros controles legales. La razón que se aduce es que estos productos podrían ser una de las causas del incremento de la resistencia de las bacterias a los antibióticos administrados en medicina humana. Por una parte, los alimentos procedentes de animales tratados terapéuticamente con agentes antimicrobianos pueden contener trazas de éstos que se incorporan a la cadena alimentaria fomentando de igual manera la aparición de bacterias resistentes en el hombre. Por otro lado, el consumo continuado de antibióticos como promotores de crecimiento, aún a concentraciones sub-terapéuticas, puede fomentar la selección de cepas bacterianas resistentes que por diferentes vías de transmisión, especialmente a través de la cadena alimentaria pueden llegar al ser humano.

1.- Administración de antibióticos con fines profilácticos y terapéuticos

Los agentes antimicrobianos pueden utilizarse en veterinaria con dos fines perfectamente definidos: profilácticos y terapéuticos.

A.- Fines profilácticos

En aquellos casos en que esté demostrado su importancia para prevenir una infección al llevar a cabo un procedimiento determinado y durante su duración, por ejemplo: en los ciclos iniciales del crecimiento de los animales (destete), especialmente sensibles a agentes infecciosos específicos. En estos casos sería recomendable no administrar antibióticos de nueva generación ya que son, en general, menos eficaces como preventivos de infección que los más tradicionales y además podrían favorecer la adquisición y aparición de nuevas resistencias.

B.- Fines terapéuticos

Como tratamiento ante una infección documentada. Por regla general, el tratamiento se inicia de forma empírica, aunque sería muy recomendable que siempre que fuera posible, se realizaran análisis previos para poder valorar la eficacia del tratamientos recomendados. Es aconsejable recurrir a antibióticos de espectro reducido para poder aumentar la eficacia del tratamiento y minimizar el eventual efecto negativo que el antibiótico pueda ejercer sobre la microbiota intestinal. Sólo es recomendable la administración simultánea de dos más antibióticos cuando éstos presenten efectos aditivos o sinérgicos.

Las dosis deben ser siempre las terapéuticas para evitar resistencias. La vía de administración puede ser diferente en función de los animales a tratar y según cada profesional aunque podemos destacar que a través de la alimentación es una de las formas más empleadas cuando se precisa la medicación en los sectores zootécnicos, en especial en el sector del porcino, por lo que podremos hablar de piensos medicamentosos.

Piensos medicamentosos

Un pienso medicamentoso procede de mezclar un medicamento veterinario, que se comercializa como una premezcla medicamentosa, con el pienso antes de proceder a su comercialización. Este pienso se administra a los animales sin transformación alguna con fines curativos y/o preventivos en función de las características del fármaco a administrar.

Los piensos medicamentosos, contienen en general concentraciones relativamente elevadas del fármaco ya que alcanzan valores del orden de 100 a 1000 mg/L y se administran durante períodos relativamente cortos de la vida del animal.

A nivel de Directivas Europeas la 90/167/CEE traspuesta a nuestra legislación como Real Decreto 157/1999, se establecen las condiciones de preparación, de puesta en el mercado y de utilización de los piensos medicamentosos con el fin de garantizar un uso racional de los mismos.

Premezclas medicamentosas

El medicamento veterinario preparado con vistas a la fabricación de piensos medicamentosos, se comercializa como una premezcla veterinaria para piensos medicamentosos. Esta premezcla está considerada como un medicamento veterinario y está regulado por la legislación vigente.

Las premezclas medicamentosas suelen ser de naturaleza sólida, se incorporan al pienso durante sus elaboración en proporciones no inferiores al 2% para garantizar así su distribución homogénea.

El principal inconveniente en la preparación de las premezclas medicamentosas, deriva, en general, del método

aplicado tras su adición a la materia base del pienso, ya que tras esta fase, el pienso suele ser sometido a diferentes etapas de procesado que en muchas ocasiones conllevan un aumento importante de la temperatura, por lo que se pueden provocar pérdidas notables en aquellos productos o compuestos termolábiles, entre lo que podemos citar en muchas ocasiones a los antibióticos, muy inestables por el calor. Por estos motivos, actualmente, se están ensayando nuevas técnicas de incorporación de premezclas a los piensos, con el fin de garantizar su correcta dosificación, por ejemplo la adición por técnica de spray del producto al pienso una vez elaborado, este proceso tiene la dificultad de la correcta y completa homogenización del producto adicionado al pienso.

2.- Antibióticos como promotores del crecimiento animal

Los antibióticos como promotores del crecimiento han sido unos de los aditivos más utilizados en la alimentación animal. Según un estudio realizado por la Federación Europea para la Salud Animal, en el año 1999, los animales de granja de la UE consumieron 4.700 toneladas de antibióticos, cifra que representó el 35% del total de antibióticos administrados. De estos antibióticos, 786 toneladas (un 6% del total) se utilizaron como aditivos promotores del crecimiento. Sin embargo la cantidad de antibióticos promotores del crecimiento disminuye más de un 50% desde que 1997, ya que en ese año, el consumo fue de 1.600 toneladas, es decir de aproximadamente un 15% del total.

Los antibióticos empleados como promotores del crecimiento provocan, como ya hemos indicado, una serie de efectos en los procesos digestivos y metabólicos de los animales que se traducen en un incremento en la transformación de los alimentos y en una mejora significativa en su ganancia en peso.

La utilización de antibióticos como promotores del crecimiento disminuye la incidencia de enfermedades en el

ganado, mejora la digestión y utilización de los alimentos y reduce la cantidad de gases y excretas producidos por los animales. Todo ello se traduce en beneficios tanto para el consumidor, a través de un mejor ajuste del precio de los productos como para el medio ambiente.

Los efectos derivados de la administración de los antibióticos como promotores del crecimiento, pueden llegar a ser casi imperceptibles si los animales que los reciben se encuentran en condiciones de manejo y de higiene óptimas.

En la directiva 70/524/CEE del Consejo de la Unión Europea y en sus posteriores ampliaciones y modificaciones, que en la actualidad ya superan el centenar, se recogen las disposiciones legislativas, reglamentarias y administrativas a escala comunitaria en relación con todos los aditivos empleados en alimentación animal.

Estas normativas determinan que los antibióticos promotores del crecimiento no deben causar daños a los consumidores a través de las alteraciones de las características de los productos animales y no deben dejar residuos inaceptables de compuestos relacionados o de sus metabolitos en carnes, huevos o en leche.

Desde la publicación de la citada directiva se han producido diversos cambios y la lista de antibióticos promotores del crecimiento se ha visto notablemente reducida hasta el punto que en la actualidad únicamente está autorizado el empleo de cuatro:

- 1.- Flavofosfolipol
- 2.- Monensina sódica
- 3.- Salinomicina sódica
- 4.- Avilamicina

A pesar de estas autorizaciones, se critica el empleo de la avilamicina ya que este producto, pertenece al mismo grupo químico que la everninomicina, antibiótico de reserva para medicina humana que aún tardará unos cuatro años en ser administrado en clínica, pero que según algunos investigadores, puede presentar resistencia cruzada con la avilamicina.

En cuanto al flavofosfolipol, es también objeto de marcadas controversias por determinados sectores por ser similar químicamente a otros antibióticos que actualmente no se están administrando, pero si se conocen y pueden ser considerados de reserva y también podrán dar lugar a resistencias cruzadas.

La monensina y la salinomicina sódica parecer ser que no presentan problemas ya que no se administran ni en medicina humana ni en medicina veterinaria como agentes terapéuticos.

Los cuatro antibióticos legalizados permiten el control de las bacterias patógenas Gram positivas que pueden colonizar el intestino animal, lo cual facilita que el animal pueda absorber y aprovechar mejor los nutrientes que recibe a través de la dieta. Como resultado del empleo de estos productos se observa un crecimiento equilibrado, acorde con el alimento recibido.

La autorización de empleo de estos cuatro productos es temporal ya que en el mes de marzo del 2002 la Comisión de la UE propuso la prohibición también de estos cuatro antibióticos como promotores del crecimiento a partir del mes de enero del año 2006.

Estas prohibiciones se basan en la ya citada posibilidad de que estas sustancias pueden determinar la aparición de resistencias cruzadas con los antibióticos utilizados en medicina humana. Sin embargo, no existen datos concluyentes, hasta el momento presente que permitan caracterizar y evaluar con fiabilidad la generación de resistencias a antibióticos de

administración en clínica, tras el empleo de los antibióticos como promotores de crecimiento.

Algunos investigadores destacan que la presencia de microorganismos resistentes en los tejidos animales puede determinar que éstos transfieran su información genética a los microorganismos presentes en el intestino humano a través de la cadena alimentaria, como ya hemos citado y de ello se desprende un peligro manifiesto para el consumidor.

A partir de estudios clínicos experimentales se ha puesto de manifiesto la resistencia de cepas de *Enterococcus* a la vancomicina y la de cepas de *Streptococcus* y de cepas de *Staphylococcus* a la penicilina, entre otros.

Si tenemos en cuenta que en el año 1997 se utilizaron 5.100 toneladas de antibióticos como promotores de crecimiento en veterinaria mientras que en medicina humana se administran más de 5.400 toneladas y además si consideramos que los antibióticos en medicina humana son de potencia superior, podemos indicar que sin olvidar el papel que puedan desencadenar los antibióticos como promotores de crecimiento en la posible aparición de resistencias, debe controlarse sin duda el mal uso y el abuso de antibióticos en medicina humana, como primer factor de riesgo.

El hecho discutible de que la utilización de antibióticos a bajas concentraciones, como promotores de crecimiento determinan la aparición de resistencia ha sido ampliamente debatido, pero existen algunos ejemplos que debemos comentar.

La alimentación de pollos con productos adicionados de bajas concentraciones de oxitetraciclina ha demostrado una selección de plásmidos que median la resistencia a las tetraciclinas en *Escherichia coli* en los pollos. Esta resistencia se puede transferir desde el *Escherichia coli* de los animales a las

cepas que poseen el personal de la granja como constituyentes de su microbiota.

En Alemania en 1983, la oxitetraciclina fue reemplazada como aditivo alimentario por un antibiótico denominado nurseotricina de la familia de la estreptotricina. Este antibiótico fue utilizado ampliamente en el país. No se detectó ningún tipo de resistencia en 1983. Dos años después, la resistencia (mediada por un transposón codificado por el gen acetiltransferasa estreptotricina) fue detectado en *Escherichia coli* aislados de los pollos y de los productos derivados de los mismos.

En el año 1990 la resistencia a la nurseotricina se extendió desde el *Escherichia coli* de los cerdos, al de las cepas causantes de problemas en el hombre, apareciendo graves problemas de resistencia en individuos con infecciones en el tracto urinario. Posteriormente, en el año 1997, esta misma resistencia pudo detectarse en otros patógenos entéricos, incluyendo especies de *Shigella*, que sólo se detectan en el hombre.

Con la emergencia y dispersión de la resistencia a los glicopéptidos, los enterococos, se transformaron en agentes etiológicos de gran interés en procesos clínicos. Los enterococos colonizan el tracto digestivo del hombre y de los animales y fácilmente adquieren resistencias que se transfiere de unos a otros. Durante los últimos cinco años se han aislado enterococos que han sido considerados entre las cinco bacterias que determinan mayor cantidad de problemas a nivel de patógenos nosocomiales. Aunque algunos sean menos patógenos que *Enterococcus faecalis* o *Enterococcus faecium*, su interés se ha incrementado por el hecho de haber adquirido una marcada resistencia a los glicopéptidos.

En los enterococos se conocen tres genotipos de transferencia de resistencia a los glicopéptidos, de los cuales el cluster del gen *vanA* es el más ampliamente diseminado. Varios

estudios han demostrado una selección por transferencia de la resistencia a glicopéptidos en *Enterococcus faecium* mediada por *vanA* por el empleo del glicopéptido avoparcina como promotor de crecimiento en producción animal, hecho que ha marcado la atención en el empleo de promotores de crecimiento.

Las cepas de *Enterococcus faecium* resistentes a los glicopéptidos pueden ser aisladas con facilidad de individuos no hospitalizados, ya que fácilmente llegan a ellos por consumo de productos cárnicos que contienen las cepas. Una estructura común del cluster del gen *vanA* se ha detectado en cepas resistentes de *Enterococcus faecium*, procedentes de diversos orígenes ecológicos (hombre, alimentos, animales) indicando la frecuente y fácil diseminación del *vanA* entre las diferentes cepas y también por medio de diversos plásmidos de tipo conjugativo.

El empleo ergotrópico de avoparcina fue cesado en Dinamarca en mayo del año 1995, en Alemania en enero de 1996 y en todos los estados de la EU en abril de 1997. Cuando diversos investigadores estudiaron la presencia de *Enterococcus faecium* en el año 1994, observaron que en todas las carcasas de pollo analizadas se detectaban en altas concentraciones, cuando a finales del año 1997, se realizaron de nuevo los estudios, observaron que sólo se detectaban estas cepas en un 25% de las carcasas analizadas y en bajas concentraciones en todos los casos. Asimismo y de forma paralela se observó un marcado descenso de la presencia de cepas de *Enterococcus faecium* resistentes al glicopéptidos al estudiar su posible presencia en heces de origen humano, observándose que mientras a finales del 1994, el porcentaje de heces contaminadas eran del orden del 12% de las estudiadas, a finales del 1997, las muestras positivas no superaban el 3.3%. Estos hallazgos parecen demostrar claramente el papel potencial que poseen como reservorio los animales en relación a la transferencia de resistencia a los glicopéptidos al hombre.

La posible combinación de la estreptogramina con quinupristina y dalfopristina ha logrado ser una importante alternativa al tratamiento de las infecciones ocasionadas por cepas de *Enterococcus faecium* resistentes a los glicopéptidos, pero no así en el caso de cepas de *Enterococcus faecalis*.

Hasta los últimos años no se ha utilizado la estreptogramina con fines de tratamiento en humanos en los hospitales alemanes. Sin embargo, se han detectado cepas resistentes de *Enterococcus faecium* tanto en pacientes humanos como animales. Esta resistencia viene mediada por el gen *satA* que codifica la acetiltransferasa estreptogramina. La diseminación del *satA* probablemente sea debida al empleo del antibiótico virgamicina como promotor de crecimiento por espacio de más de 20 años.

Utilización de la fluoroquinolona en veterinaria

Un descenso en la sensibilidad de *Salmonella typhimurium* a la fluoroquinolona fue descrito en paralelo a su empleo en medicina veterinaria. Este fenómeno fue especialmente observado en el Reino Unido, y en concreto en el caso de la cepa *Salmonella typhimurium* St 104.

La resistencia bacteriana a las fluoroquinolona se debe principalmente a las mutaciones en el punto de actuación de los enzimas (DB girasa, topoisomerasa IV) y se expande de forma clonal en las cepas bacterianas particularmente afectadas.

Las bacterias entéricas desarrollan una marcada resistencia a las quinolonas y pueden adquirir ciertas mutaciones en posiciones determinadas para activar la diana de actuación de los enzimas. Acumulaciones de estas mutaciones en cepas entéricas, de *Salmonella*, por ejemplo, determinan un alto nivel de resistencia a las quinolonas.

Otros patógenos intestinales que tienen a los animales como principal reservorio son las cepas del género *Campylobacter*. Los *Campylobacter* resistentes a las fluoroquinolonas pueden aislarse de infecciones en el hombre, de heces de pollos y de carne de pollo.

Las diferentes frecuencias de aislamiento de cepas de *Campylobacter* resistentes a las quinolonas a partir de heces del hombre, varían de unas áreas o regiones geográficas a otras.

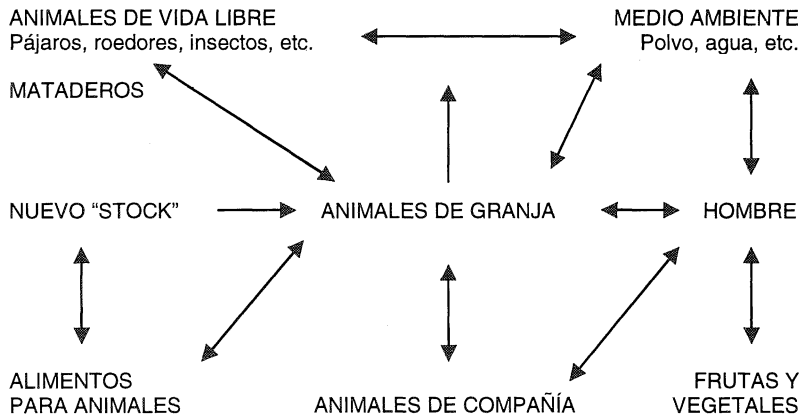
EMPLEO DE ANTIMICROBIANOS EN ANIMALES Y APARICIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE BACTERIAS RESISTENTES

El empleo de antimicrobianos en producción animal aparentemente contribuye a la selección y dispersión de la resistencia entre diferentes poblaciones bacterianas y también a su dispersión entre diferentes especies animales. Un ejemplo nos lo puede facilitar el amplio desplazamiento entre animales de unas zonas a otras del mundo, pero también juega un papel muy importante el ecosistema por medio de vectores, roedores, insectos y pájaros que colaboran de forma indudable a esta amplia transmisión de resistencias.

La complejidad de las interacciones entre los diversos elementos de un ecosistema, quedan resumidos en el esquema de la página siguiente.

Algunos tratamientos con antibacterianos pueden, sin duda, ejercer una presión selectiva sobre la resistencia de otros productos. Por ejemplo, alimentar a los animales con promotores de crecimiento determina exponer a las bacterias a dosis sub-letales de los productos y durante largos períodos de tiempo, puede conducir a una selección y mantenimiento de cepas de bacterias resistentes. Esta práctica es consecuencia de

que algunas bacterias pueden sobrevivir e incluso multiplicarse a estas dosis, en tanto que otras no son capaces de subsistir. Sin embargo debe tenerse en cuenta que ante el riesgo de adquisición de resistencias al empleo de antimicrobianos, debe contraponerse la posibilidad de minimizar otros problemas o riesgos, por lo que ante el posible empleo de estas sustancias, todavía permitidas, debe tenerse siempre en cuenta: especie animal, dosis, duración del tratamiento, número de animales tratados, manejo de los animales, desplazamientos a que serán sometidos los animales y posibilidad de dispersión en el medio ambiente.



Esquema núm. 1.- Interacción entre los diversos elementos de un ecosistema (adaptado de McEwenn and Fedorka-Cray, 2002)

Un factor de dispersión muy importante son los excrementos de los animales que se utilizan en muchas ocasiones como sistema de fertilización de suelos, en ocasiones después de un proceso de compostaje o no. Un ejemplo típico son los purines de cerdos, que en muchas ocasiones están

directamente implicados en la contaminación del medio ambiente con bacterias resistentes a determinados antibióticos.

Otro factor importante pueden ser los alimentos de origen animal, pero existen además otras fuentes importantes de diseminación de bacterias resistentes que debemos considerar y que resumimos en: basuras procedentes de las casas, de las oficinas y especialmente de los hospitales que en general pueden ser eliminadas en sistemas municipales correctos, pero que en algunas ocasiones se mantienen en fosas sépticas o en sistemas de eliminación poco controlados.

Asimismo, otros factores, que facilitan posible dispersión de bacterias resistentes pueden ser los restos de productos farmacéuticos que se han detectado en ocasiones en el medio ambiente en zonas de alta producción. No se conoce con exactitud como pueden afectar estos restos a la aparición de resistencias entre los microorganismos, pero es otro elemento a tener en consideración en un futuro.

Los microorganismos resistentes pueden también difundirse entre granjas a través del transporte de animales, por medio de los piensos o alimentos e incluso por vectores de toda índole, incluyendo las ropas de los granjeros o del propio veterinario.

Algunos estudios han demostrado que aunque el tratamiento con antimicrobianos puede determinar esta diseminación de resistencia, ésta puede presentarse sólo en determinados grupos de individuos (por ejemplo, *Salmonella*, en caballos), en algunos grupos de *E. coli* en cerdos o pollos o en poblaciones de una determinada región (utilización de quinolonas en Inglaterra) y da lugar a la emergencia de una reducida susceptibilidad en cepas del género *Salmonella*.

EFFECTO DE LOS ANTIBIOTICOS SOBRE LOS ENTEROPATOGENOS QUE SE EXCRETAN POR LAS HECES Y MODIFICACIÓN DE SU SUCEPTIBILIDAD

El tratamiento de los animales con antimicrobianos que sean selectivos frente a determinados microorganismos enteropatógenos como por ejemplo cepas del género *Salmonella* (ej., apramicina y oxitetraciclina en cerdos; oxitetraciclina en terneros, y oxitetraciclina en pollos) puede reducir la eliminación por vía fecal de estos microorganismos y ejercer, en consecuencia un efecto positivo sobre la salud pública al reducir el número de microorganismos patógenos que se dispersan al medio ambiente. Sin embargo, en general, los animales destinados a alimentación no se tratan con productos antimicrobianos que tengan por función básicamente la eliminación o disminución de los enteropatógenos.

Por el contrario, los tratamientos administrados a los animales, en muchas ocasiones pueden incrementar las cepas patógenas, por el hecho de desencadenar un proceso de selección de los microorganismos que pueden transferirse de unos a otros animales y por la cadena alimentaria incluso al hombre.

El tratamiento de los animales con antibióticos puede incrementar la susceptibilidad de los animales a procesos de infección dado que estos tratamientos pueden modificar su microbiota y suprimir incluso la normal, incrementando la probabilidad del desarrollo de cepas patógenas, capaces de colonizar por efecto competitivo o por selección de cepas resistente. En diversas especies animales se han descrito salmonelosis resistentes de origen nosocomial atribuibles a los tratamientos, éste es el caso de caballos y gatos, pero probablemente también se presente en otras especies animales.

Entre el 3% y el 26% de las infecciones por *Salmonella* resistentes en el hombre, pueden adquirirse a través de un

mecanismo selectivo asociado a tratamientos con antimicrobianos. En el caso de los animales se desconocen los porcentaje pero probablemente sean de un orden muy parecido.

El tratamiento con antimicrobianos puede determinar una más duradera eliminación de bacterias a través de las heces o bien la presencia de bacterias resistentes a los antibióticos a una concentración elevada en las heces.

Un aspecto muy importante para controlar que estos fenómenos negativos no tengan lugar deriva de la una aplicación correcta de los sistemas de Control de Puntos Críticos y de análisis de riesgos, que permiten establecer sistemas de control y verificar medidas adecuadas para evitar o reducir el flujo de bacterias patógenas resistentes a los antibióticos asociadas a los alimentos destinados al consumo del hombre y de los animales.

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA Y SALUD ANIMAL

La resistencia a los antibióticos es también con seguridad muy importante por lo que se refiere a todos los aspectos de la salud de los animales. Los estudios realizados acerca de las resistencias detectadas en especies bacterianas exclusivamente patógenas para los animales, son todavía muy reducidos y por tanto no nos permiten conocer la auténtica magnitud del posible problema.

La capacidad de resistencia entre las bacterias patógenas en animales reduce la efectividad de los tratamientos con antibióticos. Este hecho puede potencialmente afectar asimismo a la salud pública ya que al disminuir la eficacia, con gran probabilidad se incrementarán las dosis suministradas o se utilizarán productos alternativos que pueden ser cruciales para la salud del hombre y de los animales.

Actualmente, existe una marcada tendencia a la búsqueda de nuevas moléculas para su empleo en veterinaria.

A lo largo de los últimos diez años, se han desarrollado métodos para poder detectar bacterias patógenas y sus genes de resistencia, siendo una buena herramienta para poder llevar a cabo estudios epidemiológicos y aportar, en su caso, evidencias acerca de la posible dispersión de la resistencia bacteriana a los antibióticos por paso de los animales al hombre.

SITUACIÓN GLOBAL PARA LA PREVENCIÓN Y LA LEGISLACIÓN

Tras el informe Swann del año 1969, el Reino Unido concluyó que no debían utilizarse los antibióticos como promotores de crecimiento si eran empleados estos mismos productos como tratamiento en la especie humana y/o podían ocasionar resistencia cruzada con antibióticos empleados en el hombre.

Los criterios de la legislación en los diferentes países de la Comunidad Europea fueron publicados dieciséis años después. Sin embargo estos criterios han sido sólo aplicados a sustancias admitidas por la legislación y no para los “antiguos” que se vienen empleando desde hace mucho tiempo.

El empleo de los antibióticos depende y varía mucho de unas zonas a otras en el mundo. Así, por ejemplo, en los países desarrollados que son los responsables del 25% de la producción de carne mundial, las leyes que regulan el empleo de antibióticos en veterinaria están poco desarrolladas. En países, como China, se utiliza directamente como promotor de crecimiento masas de micelio fúngico, sin tratamiento alguno. En Rusia, el cloramfenicol en veterinaria es aún de uso

frecuente y en Oriente, el empleo de agentes antimicrobianos no está regulados.

El problema ocasionado por el empleo inapropiado de los antibióticos se extiende más allá que en el país donde se origina. Los productos cárnicos se comercializan en todo el mundo y por ello las poblaciones bacterianas se manifiestan como independientes del lugar de origen.

La industria agrícola, está por ejemplo, ahora construyendo grandes granjas para pollos en Brasil, con el deseo de mandarlos a los países árabes. Un fenómeno idéntico se observa en Tailandia, con destino a Europa central. Por todo ello y dado que unas leyes de regulación global, no son fáciles de alcanzar, debería establecerse un control de bacterias multirresistentes para evitar la profusión de este problema y su difusión a cualquier área geográfica.

LIMITE MÁXIMO RESIDUAL DE UN ANTIBIOTICO

Tras la administración y consumo de un antibiótico por el animal tiene lugar un proceso de metabolización que favorece la detoxicación y también la eliminación del mismo por parte el organismo. Sin embargo, la adición de antibióticos a los piensos, puede originar la presencia de residuos de dichos fármacos en los alimentos de origen animal destinados al consumo humano.

La localización de los residuos es variable. El tejido muscular y la grasa son los lugares preferentes para la acumulación y se han detectado residuos en el hígado y en los riñones. La toxicidad de estos residuos varía desde productos que son inocuos hasta aquellos cuya ingestión pueden dar lugar a graves problemas con alteraciones de consecuencia clínica,

hematológica, bioquímica, anatomopatológicas e incluso mortales.

La desaparición de estos residuos puede ser rápida sin que dejen rastro alguno o no sean detectables en los tejidos comestibles o por el contrario pueden originar residuos de muy difícil eliminación y que precisen de un largo período de tiempo para ello, que determina incluso la prohibición del empleo de las sustancias antimicrobianas iniciales en los animales.

Por todo lo que hemos comentado ha sido imprescindible establecer unos límites máximos residuales o LMR para todos aquellos productos farmacológicos activos que se emplean como medicamentos en veterinaria y que pueden originar residuos en los alimentos, elaborados a partir de los animales tratados.

El límite máximo residual (LMR) se define como la concentración aceptable de una sustancia en los tejidos comestibles de un animal o en sus productos (músculo, hígado, riñones, grasa, leche, miel y huevos) y que al ser ingerida por el ser humano no constituya ningún riesgo para su salud. Los LMR se fijan para cada especie animal y para cada tejido o producto obtenido del animal.

En consecuencia el valor del LMR de cada sustancia farmacológicamente activa queda fijado por el residuo marcador y el tejido diana correspondiente para cada especie animal de la que se obtienen alimentos.

Los valores del LMR en los diferentes tejidos y productos son el resultado de la cinética de depleción teniendo en cuenta todas las fuentes del alimentos, las condiciones de uso del medicamento, la factibilidad de los tiempos de espera derivados de estos ensayos y la disponibilidad de los métodos analíticos para su determinación.

Se ha establecido un procedimiento comunitario para fijar los límites máximos de residuos de medicamentos de empleo en veterinaria en los alimentos de origen animal.

En base a estas determinaciones se han clasificado las sustancias farmacológicamente activas en cuatro categorías desde las que se eliminan muy rápidamente y por tanto no precisan límite de ningún tipo hasta aquellas que se han debido prohibir debido a su toxicidad y dificultad de eliminación por el organismo.

Para garantizar que la concentración residual de los antibióticos no sea nunca superior a su correspondiente LMR es necesario establecer siempre un tiempo de espera, antes del consumo. Este tiempo de espera es el plazo de tiempo que debe transcurrir y ser respetado, desde el último tratamiento farmacológico hasta el sacrificio de los animales para poder consumir la carne o comercializar sus productos (leche, huevos, miel).

Estos tiempos se determinan en función del perfil cinético de eliminación tisular del fármaco (inalterados y/o por sus metabolitos) en los animales. Cada antibiótico debe ir acompañado de un prospecto en el que conste el valor de espera. No tener en cuenta esta consideración puede suponer un grave riesgo para la salud de los consumidores.

Asimismo se han establecido medidas de control para la vigilancia de la cadena de producción de los animales y de los productos primarios de origen animal con el fin de detectar residuos y sustancias tales como: anabolizantes, medicamentos veterinarios, y otros contaminantes medio-ambientales en muestras como tejidos, piensos, agua para beber, líquidos biológicos y excrementos.

ALTERNATIVAS AL EMPLEO DE LOS ANTIBIÓTICOS COMO PROMOTORES DE CRECIMIENTO

Los inconvenientes que pueden derivar del hecho de prohibir el empleo de los antibióticos como promotores del crecimiento, podrían paliarse si se encuentran alternativas eficaces al uso de los mismo. En este sentido la Comisión de la UE del mes de marzo el 2002 hace hincapié en la necesidad de desarrollar alternativas válidas a los antibióticos promotores del crecimiento. Estas alternativas deben cumplir dos requisitos fundamentales:

- 1.- Ser eficaces, y por tanto ejercer un efecto positivo sobre la producción animal.
- 2.- Ser seguras, es decir carecer de riesgo para la salud humana, la salud animal y el medio ambiente.

En este sentido, pueden considerarse dos alternativas no excluyentes al uso de los antibióticos como promotores de crecimiento:

A.- Implantación de nuevas estrategias de manejo en producción animal.

B.- Utilización de otras sustancias que tengan efectos similares a los antibióticos promotores de crecimiento sobre los niveles productivos pero que no acarreen lo problemas de resistencia indiciados anteriormente.

A.- Implantación de nuevas estrategias de manejo en producción animal.

Las estrategias de manejo deben ir encaminadas a reducir la incidencia de las enfermedades en los animales de forma que se pueda evitar el empleo de los antibióticos con fines terapéuticos y las pérdidas en los niveles de producción ocasionadas por las enfermedades. Estas estrategias según el

Comité on Drug Use in Food Animals, publicado en 1999 se agrupan en cuatro apartados:

1.- Prevenir o reducir el estrés a través de estrictos controles de la higiene de los animales, de la calidad de los alimentos que reciben y de las condiciones medio ambientales en las que se crían.

2.- Optimizar la nutrición de los animales de forma que se mejore su estado inmunológico y se eviten cambios bruscos en las condiciones de alimentación.

3.- Erradicar en la medida de lo posible las enfermedades infecciosas.

4.- Seleccionar genéticamente animales resistentes a las enfermedades.

B.- Utilización de sustancias alternativas.

En cuanto a las sustancias alternativas destacan como principales opciones el empleo de probióticos y prebióticos, los ácidos orgánicos, las enzimas y los extractos naturales.

Estos productos alternativos pueden utilizarse individualmente o en mezclas sinérgicas según los casos.

EMPLEO DE ANTIBIOTICOS EN AGRICULTURA

El uso de los antibióticos en agricultura puede ser una tercera causa de la resistencia a los antibióticos y también por este mecanismo se pueden transferir genes de resistencia al hombre. Este hecho se viene discutiendo desde hace más de treinta años.

Antibióticos como las tetraciclinas y la estreptomicina se utilizan para el control de infecciones bacterianas en árboles

frutales, patatas, tabaco y diversos a productos útiles en consumo humano y animal.

La resistencia a los antibióticos puede pasar de las plantas a los hombres, fundamentalmente por intercambio de material genético, entre microorganismos de la misma Familia. Las bacterias resistentes pueden transmitirse a través de la cadena alimentaria (vegetales, frutas) al consumidor.

Otro aspecto importante a considerar es la obtención de plantas transgénicas, en las que los mecanismos genéticos pueden estar modificados. El hecho de obtener plantas resistentes a distintas enfermedades, puede incidir según indican algunos autores en la transferencia de resistencia a antibióticos en el hombre y en los animales.

PERSPECTIVAS DE FUTURO Y REFLEXIONES FINALES

Ante el problema planteado y que hemos intentado revisar a lo largo de los diferentes capítulos, se nos plantean diversas preguntas:

¿Precisamos de nuevas moléculas de antibióticos, para asegurar la lucha contra los agentes infecciosos?

¿El problema se extiende a otros agentes infecciosos diferentes a las bacterias?

¿Dejar de adicionar antibióticos como promotores del crecimiento, facilitará la no aparición de nuevas resistencias?

¿Controlar el empleo de antibióticos en agricultura, determinará la no aparición de nuevas resistencias?

¿Controlar la administración correcta de antibióticos en tratamientos de procesos de infección, facilitará el control de los tratamientos y la disminución de cepas resistentes?

La variedad de preguntas que podemos plantearnos ante este tema es realmente muy amplio y sus respuestas no son siempre fáciles de obtener.

Existen algunas bacterias que presentan una resistencia natural a ciertos, antibióticos. Otras desarrollan resistencia a lo largo del tiempo como consecuencia del empleo de un determinado antibiótico en tratamientos tanto en el hombre como en los animales. El abuso de antibióticos puede facilitar este proceso pero no siempre el empleo de un antibiótico en condiciones consideradas correctas impide que se manifiesten estas resistencias.

Las preocupaciones relativas a la posible transferencia de la resistencia a los antibióticos desde los animales al hombre a través de microorganismos patógenos presentes en los alimentos de origen animal, surgieron desde el momento en que los antibióticos empezaron a utilizarse en producción animal.

Los estudios exhaustivos llevados a cabo durante décadas no han logrado proporcionar una total evidencia de que exista un riesgo significativo para la salud humana, por el empleo de antibióticos en veterinaria.

Actualmente se han descrito varias bacterias patógenas resistentes que han centrado la preocupación en medicina humana. Entre ellas podemos citar a *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus* resistentes a metilicina (SARM), *Streptococcus* resistentes a la penicilina o *Klebsiella* multi-resistentes.

Según el profesor M. Casewell, del King's College Hospital de Londres, no existen evidencias que puedan justificar que el uso de antibióticos en veterinaria haya jugado un papel decisivo en el desarrollo de estas bacterias resistentes, indicando que el principal origen de los problemas actuales es el uso o abuso de los antibióticos en los tratamientos en el hombre, tanto en el ambiente hospitalario como en el ámbito doméstico.

La falta de evidencias que vinculen el empleo de antibióticos en animales con las resistencias detectadas en terapias utilizadas en el hombre, está ilustrado por el caso de las cepas de *Enterococcus* resistentes a la vancomicina. De hecho se ha planteado que el empleo de un producto similar como la avoparcina, en piensos para animales podría haber sido la causa de la transferencia de la resistencia a la vancomicina. Sin embargo, la resistencia a la vancomicina es especialmente frecuente en EEUU, donde la avoparcina no se utiliza en los animales. Asimismo podemos decir que si el empleo de avoparcina en animales fuese la causa directamente responsable de la presencia de resistencias a la vancomicina en seres humanos, las cepas aisladas tanto del hombre como de los animales deberían tener perfiles de resistencia prácticamente idénticos. Los estudios realizados ponen en evidencia que las cepas aisladas del hombre y de las aves, si bien poseen características estructurales comunes, constituyen dos subpoblaciones bacterianas perfectamente diferenciadas. Por todo ello, podemos pensar que la causa más verosímil de la presencia de cepas de *Enterococcus* resistentes a la vancomicina deriva de una infección cruzada originada por la administración de vancomicina en medios hospitalarios.

Ningún estudio ha logrado demostrar que al utilizar antibióticos en veterinaria, éstos desarrollen resistencia en el hombre. Sin embargo, es cada vez más patente que algunos antibióticos son cada vez más ineficaces en medicina humana. Deben tenerse en cuenta dos hechos importantes:

1.- En Europa el 48% de los antibióticos se emplean en veterinaria, la mayoría para uso terapéutico. Estos productos se administran en relación con el peso del animal, que según la especie considerada, aves por ejemplo, es menor que el del hombre.

2.- El número de tratamientos con antibióticos a lo largo de la vida es muy superior en el hombre que en los animales. Este hecho es fácilmente demostrable si consideramos la esperanza de vida en el hombre y la vida media de los animales. Por ejemplo, frente a los 70 años en el hombre, hablaremos de 5 a 7 semanas en los pollos, seis meses en los cerdos o de 2 a 4 años en ganado vacuno.

A partir de diversos estudios realizados en EEUU, podemos indicar que menos de un 5% de la resistencia a los antibióticos observada en los microorganismos es atribuible a los antibióticos utilizados en veterinaria. El 95% restante, corresponde al uso y al abuso de antibióticos en el hombre.

Otro aspecto que podemos considerar es el número de personas y el número de cabezas de ganado en una zona o país determinado, en base a este hecho, el empleo de antibióticos en animales es diez veces inferior al uso en el hombre por unidad de peso corporal.

Finalmente podemos indicar que la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que el 40% del uso de antibióticos en el hombre no es necesario.

Aunque la industria farmacéutica descubra con relativa frecuencia nuevos medicamentos para reemplazar a aquellos que pierden eficacia contra las principales enfermedades de etiología infecciosa, no son muy abundantes los antibacterianos de nueva generación. Como promedio la investigación y el desarrollo de un nuevo medicamento anti-infeccioso requiere

entre 15 y 20 años y puede suponer un coste superior a más de 500 millones de dólares, según los datos obtenidos de las empresas farmacéuticas. Debemos señalar que el desarrollo de nuevos antibióticos no asegura la no aparición de resistencias a corto o a largo plazo frente a este nuevo producto.

Debemos también señalar que hasta el presente, el estudio de las resistencias se centra en las bacterias, pero este grupo de microorganismos no es el único capaz de desencadenar procesos de infección. Si bien en mucha menor incidencia, los hongos pueden también, ocasionar procesos de infección en el hombre y en los animales. Hasta el presente se citan pocos casos de resistencia de estos microorganismos a los antifúngicos administrados pero no se descarta que la incidencia de las resistencias, se incremente a lo largo del tiempo.

En relación con el empleo de antibióticos en agricultura podemos indicar que debería desaconsejarse el uso en la protección de plantas de antimicrobianos que se empleen en medicina humana o en medicina veterinaria. Aunque hoy en día no existen pruebas de que marcadores genéticos de resistencia a los antibióticos se hayan transmitidos desde organismos genéticamente modificados a microorganismos, se recomendó retirar los marcadores genéticos de las células vegetales antes de la comercialización y evitar, en el desarrollo de plantas genéticamente modificadas, el uso de marcadores que pudieran conferir resistencia contra antibióticos clínicamente importantes.

En resumen y a modo de conclusión, podemos señalar que la prevención de la resistencia a antibióticos se debe asegurar de forma colectiva, mediante un empleo prudente de los mismos. La gestión adecuada de la prevención de la resistencia requiere, sin duda una estrecha colaboración entre el sector público y el privado y una participación conjunta de los sectores dedicados a la sanidad humana y a la sanidad animal.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

Aarestrup FM. 1995. Occurrence of glycopeptide resistance among *Enterococcus faecium* isolates from ecological and conventional poultry farms. *Microb. Drug Resist.* 1: 255-257.

Aarestrup FM. 2000. Occurrence, selection and spread of resistance to antimicrobial agents used for growth promotion in Denmark. *APMIS* 108 (suppl. 101): 1-48

Abou Yusef MH, Di Cuollo CJ, Free SM, Scott GC. 1983. The influence of a feed additive level of Virginiamycin on the course of an experimentally induced *Salmonella* phage infection in broilers. *Poult. Sci.* 62 (1): 30-37.

Agger WA. 2002. Antibiotic resistance: unnatural selection in the office and on the farm. Guest editorial.

American society for Microbiology. 1999. Antimicrobial Resistance. An ecological perspective. Report 14pp.

Bager F, Madsen M, Christensen J, Aarestrup FM. 1997. Avoparcin used as a growth promotor is associated with the occurrence of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* on Danish poultry and pig farms. *Prev. Vet. Med.* 31: 95-112.

Barrow PA, Smith HW, Tucker JF. 1984. The effect of feeding diets containing avoparcin on the excretion of *Salmonella* by chickens experimentally infected with natural sources of *Salmonella* organism. *Journal of Hygiene* 93 (3): 439-444.

Bates J, Jordens J, Griffith DT: 1994. Farm animals as a putative reservoir for vancomycin resistant enterococcal infections in man. *J. Antimicrob. Chemother.* 34: 507-516.

Bolder NM, Wagenaar JA, Putirulan FF, Veldman KT, Sommer M. 1999. The effect of flavofosfolipol (Flavomycin ®) and salinomycin sodium (Sacox ®) on the excretion of *Clostridium perfringens*, *Salmonella enteritidis* and *Campylobacter jejuni* in broilers experimental infection. *Poultry Science* 78(12): 1681-1689.

Bridges JH, Dyer IA, Powers JJ. 1953. Penicillina and streptomycin affect the microflora of the intestinal tract of pigs. *J. Anim. Sci* 12: 96-101.

Butlletí d'informació terapèutica. 2000. Resistències bacterianes als antibiòtics. *Servei Català de la Salut*. 12(5): 69-74

Calvo, M^a A., Agut, Assaoui, H. 1998. Probiòtics. *El farmacèutic* 215: 96-100.

Calvo, M^a A., Asensi, E. 1999a. Métodos para análisis y control de la actividad antimicrobiana de productos útiles en alimentación animal. *Producción Animal* 145: 66-70 y *Anaporc* 192: 142-146.

Calvo, M^a A., Asensi, E. 1999b. Evaluación de la eficacia de productos antimicrobianos en alimentación animal. *Producción Animal* 146: 51-55 y *Anaporc* 191: 97-102

Calvo, M^a A., Agut, M., Assaoui, H. 1999c. Effect of the raw extract of *Arthrinium* strains (Hyphomycetes, Dematiaceae) on the growth of pathogenic bacteria in poultry feed. *Microbios* 100: 109-115.

Calvo, M^a A. 2000a. Probiòtics y productos naturales: un alternativa al empleo de antibiòtics. *Discurso de ingreso*. Academia de Ciències Veterinàries de Catalunya.

Calvo, M^a A. y Agut, M. 2000b. Metabolitos secundarios del género *Arthrinium*. *Anales de la Real Academia de Doctores* 4-2: 385- 400.

Calvo, M^a A., et al.. 2000 c. Sinergismo entre extractos naturales y ácidos orgánicos: Control microbiológico y aplicaciones en nutrición animal. Cuadernos técnicos. FEDNA. 35 pp.

Calvo, M A. 2001. Los microorganismos útiles en la salud. Discurso ingreso. Real Academia de Farmacia de Catalunya.

Calvo, M^a A.. 2002a. Uso de extractos vegetales en las dietas para lechones. Nutrición 3tres3. (<http://www.3tres3.com>).

Calvo, M^a A. 2002b. Comentarios acerca de la situación actual tras la regulación del empleo de antibióticos como promotores del crecimiento. Nutrición. 3tres3. (<http://www.3tres3.com>).

Cancho Grande B, García-Falcón MS, Simal Gándara J. 2000. El uso de los antibióticos en la alimentación animal: perspectiva actual. Cienc. Tecnol. Aliment. 3(1): 39-47.

Carro MD, Ranilla MJ. 2002. Los aditivos antibióticos promotores del crecimiento de los animales: situación actual y posibles alternativas. Exopol. Circular 90, 7 pp.

Center for Veterinary Medicine, Food and Drug Administration. 1999. A proposed framework for evaluation and assuring the human safety of the microbial effects of antimicrobial new animal drugs for use in food-producing animals. US Department of Health Services.

Center for Veterinary Medicine, Food and Drug Administration. 2000. Effect of the use of antimicrobials in food-producing animals on pathogen load: Systematic review of the published literature. US Department of Health Services.

Colomer A. 2000. Antibióticos y resistencia bacteriana: un problema de todos. Editorial. Centro de Salud 693-695.

Committee on Drug use in Food Animals. 1999. Panel on Animal Health, Food Safety and Public Health. The use of drugs in Food Animals. National Research Council (ed.) National Academy Press. Washington. USA.

Crum JA, Griffin PM, Angulo FJ. 2002. Bacterial contamination of animal feed and its relationship to human food borne illness. *Clinical Infectious Disease* 35: 859-865.

DeGeeter MJ, Stahl GL, Geng S. 1976. Effect of lincomycin on prevalence, duration and quantity of *Salmonella typhimurium* excreted by swine. *Am. J. Vet.Res.* 37: 525-529.

D.O.C.E. 1998. Reglamento n° 2821/98 del Consejo de 17 de diciembre de 1998, por el se modifica la Directiva 70/524/CEE sobre los aditivos en la alimentación animal, en lo que respecta a la revocación de la autorización de determinados antibióticos. L351/4-6

Ebner PD, Mathew AG. 2000. Effects of antibiotic regimens of the faecal shedding patterns of pigs infected with *Salmonella typhimurium*. *Journal of Food Protection* 63(6): 709-714.

Edmond MB, Ober JF, Weinbaum DL, Pfaller MA, Hwang T, Sanford MA. 1995. Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteraemia: risk factors for infection. *Clin. Infect. Dis* 20: 126-133.

Frimondt-Moller N, Rosdahl N, Caspar Wegenr H. 1998. Microbiological resistance promoted by misuse of antibiotics: a public health concern. *European Journal of Public Health* 8: 193-194.

González J, Ripoll MA, Prieto J. 1998. Automedicación con antibióticos. *Medicina Clínica* 11: 182-186.

Gonzalez J, Orero A. 1996. Consumo de antibióticos en España. *Rev. Esp. Química* 9: 155.

Gorbach SL. 2001. Editorial: Antimicrobial use in animal feed-time to stop. *N. Engl. J. Med.* 16: 1202-1203.

Gustafson RH, Beck JR, Kobland JD. 1982. The influence of avoparcin on the establishment of *Salmonella* in chickens. *Zentralblatt für Veterinärmedizin B29*: 119-128.

Gutzmann MS, Layton H., Simkins K. and Jarolmen H. 1976. Influence of antibiotic-supplemented feed on occurrence and persistence of *Salmonella typhimurium* in experimental infected swine. *Am. J. Vet. Res.* 37: 649-655.

Hellmuth R, Bulling E. (eds.). 1995. Criteria and methods for the microbiological evolution of growth promoters in animal feeds. Bundesgesundheitsamt Berlin.

Herrero I, Teshager T., Garde J., Moreno M.A., Domínguez L. 2000. Prevalence of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* (VREF) in pig faeces from slaughterhouses in Spain. *Preventive Veterinary Medicine* 47: 255-262.

Hillman K. 2001. Bacteriological aspects of the use of antibiotic and their alternatives in the feed of non-ruminant animals. In: *Recent Advances in Animal Nutrition*. Garnsworthy PC and Wiseman J. (Ed.) pp. 107-134. Nottingham University Press, Nottingham UK.

Hinton M. 1988. *Salmonella* colonization in young chickens given feed supplemented with the growth promoting antibiotic avilamycin. *J. Pharmacolo. Ther.* 11 (3): 269-275.

Hinton M., Al-Chalaby ZAM, Linton AH. 1986. The influence of dietary protein and antimicrobial feed additives on

Salmonella carriage by broiler chickens. *Veterinary Record* 119: 495-500.

Holmberg T., Wierup M., Engstrom B. 1984. The effect of feeding diets containing avoparcina and monensin on the occurrence of Salmonella in caecum and liver in experimental infected chickens. *Poultry Sci.* 63: 1144-1148.

<http://www.who.int/emc/diseases/zoo/antimicrobial.html>. 2002. Use of antimicrobial outside human medicine.

Jukes T. 1986. Effects of low levels of antibiotics in livestock feed. *Effects Antibiotics Livestock Feeds* 10: 112-126

Kühn I., Iversen A., Burman L.G., Olsson-Liljequist B., Franklin A., Finn M., Aaerstrup F., Seyfarth A-M, Blanch A.R., Taylor H., Caplin J., Moreno M.A., Domínguez L., Möllby R. 2000. Epidemiology and ecology of enterococci, with special reference to antibiotic resistant strains, in animals, humans and the environment. Example of an ongoing project within the European research programme. *International Journal of Antimicrobial Agents* 14: 337-342.

Levy SB, FitzGerald GB, Maccone AB. 1976. Spread of antibiotic-resistant plasmids from chicken to chicken and from chicken to man . *Nature* 260: 40-42.

Lewis K, Salyers AA., Taber HW, Wax RG (eds.). 2002. Bacterial resistance to antimicrobials. Marcel Dekker Inc. New York, Basel, 495 pp.

Mamber S., Kaltz SE. 1985. Effects of antimicrobial agents fed to chickens on some Gram-negative enteric bacilli. *Appl. Environ. Microbiol.* 50: 638-648.

McEwen SA, Fedorka-Cray PJ. 2002. Antimicrobial use and resistance in animals. *Clinical Infectious Diseases* 34: 93-106.

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. 2000. Aditivos en la Alimentación Animal (Compendio reglamentario). MAPA. Madrid.

Moreno M.A., Domínguez L. Teshager T., Herrero I.A., Porrero C. 2000. Antibiotic resistance monitoring: the Spanish programme. *International Journal of Antimicrobial Agents* 14: 285-290.

National Research Council. 1999. The use of Drugs in Food Animals: Benefits and risks. National Academic Press. Washington.D.C.

Novick RP. 1981. The development and spread of antibiotic-resistant bacteria as a consequence of feeding antibiotics to livestock. *Ann NY Acad. Sci.* 368: 23-59.

Piva G y Rossi F. 1999. Future prospects for the non-therapeutic use of antibiotics. In: *Recent Progress in Animal Production Science. I. Proceedings of the A.S.P.A. XII Congress.* Piva G., G. Bertoni, F. Masoero, P. Bani y L Calamari (ed.) pp. 279-317, Piacenza, Italia.

Reports of Joint Committee on the use of antibiotics in animal husbandry and veterinary medicine. Swann Committee, Her Majesty's Stationary Office, London. 1969.

Robertson RE, Lansburgh E, Ryba S. 1999. Food safety: the agricultural use of antibiotics and its implications for public health. Washington DC. US. General Accounting Office.

Rosen GD. 1995. Antibacterials in poultry and pig nutrition. In *Biotechnology in Animal Feeds and Animal Nutrition.* J. Wallace and Chesson A. (ed.) pp.143-172. VCH Verlagsgesellschaft mnH, Weinheim, Alemania.

Smith H., Gree SI. 1980. The effect of feed additives on the incidence of naturally acquired Salmonella in turkeys. *Veterinary Record* 107: 289.

Smith HW, Tucker JF. 1980. Further observations on the effect of feeding diets containing avoparcina, bacitracina and sodium arsenilate on the colonization of the alimentary tract of poultry by Salmonella organisms. *Journal of Hygiene* 84: 137-150.

Swartz MN. 2002. Human diseases caused by food-borne pathogens of animal origin. *Clin. Infect. Diseases* 34: 111-122.

Swedish Ministry of Agriculture, Food and Fisheries. 1997. Can we use less antibiotics?. A brochure on antibiotics in animal feed and how they affect humans and animals.

Taylor D.1997. The uses and abuses of antibacterials in animal husbandry. In: *Abstracts of the Conference Antibiotic Resistance: the Threat to International Health*, Broadway.

Wallinga D, Bermudez N y Hopkins E. 2002. Poultry on antibiotics: hazards to human health. Institute for agriculture and trade policy. Minneapolis. USA. 24 pp.

Wegener HC, Aarestrup FM, Jensen LB, Hammerum AM y Bager F. 2002. Use of antimicrobial growth promoters in food animals and Enterococcus faecium resistance to therapeutic antimicrobial drugs in Europe. *Emerging infectious diseases* 5(4): 1-13.

Weirup M.1998. Preventive methods replace antibiotic growth promoters: ten years experience from Sweden. *APUA Newsletter* 16(2): 1-4

WHO Press. 1997. Antibiotics use in food-producing animals must be curtailed to prevent increased resistance in humans. WHO/73 of 20 october.

Witte W. 1998a. Antibiotic use in animal husbandry and resistance development in human infections. APUA Newsletter 16(3): 4-6

Witte W. 1998b. Medical consequences of antibiotic use in agriculture. Antimicrob. Agents Chemother. 42: 30-49.

Wray C, Gnanou JC. 2000. Antibiotic resistance monitoring in bacteria of animal origin: analysis of national monitoring programmes. Int. J. Antimicrobial Agents 14: 291-294.

DISCURS DE CONTESTACIÓ
PER L'ACADÈMIC NUMERARI

EXCM. SR. DR. PERE COSTA i BATLLORI

Excm. Degà President,
Excms. Srs. Acadèmics,
Senyores i Senyors,

Es la segona vegada, en el transcurs de la meva vida acadèmica, que em correspon l'honor de donar resposta a la conferència de un nou membre de la corporació. Es afalagador i agraeixo la deferència de que he sigut objecte, si bé i perquè tothom es quedi tranquil, prometo no tornar a reincidir a menys que es tractés d'un imperatiu legal del Excel·lentíssim Sr. Degà.

Ara bé, si que voldria incidir sobre una curiosa coincidència temàtica. El Dr. Albert Bosch i Navarro, el primer a qui vaig donar la benvinguda a la nostra Reial Acadèmia, va parlar de virus. La Dra. Maria Àngels Calvo i Torras ens ha parlat de bacteris. Per un veterinari que ha dedicat la seva vida al que abans en dèiem zootècnia i avui s'escou anomenar producció animal, ambdós temes el sorprenen dins del seu escàs coneixement de la "assignatura", ja que personalment mai hem passat del que en podem dir les baceroles.

Però el tema de la Dra. Calvo ens preocupa i us diré perquè. Algú ha dit, millor dit, molts diuen, que el veterinari es el metge dels animals, amb perdó dels metges, però no sempre

es així. Molts veterinaris hem dedicat la nostra vida a aconseguir l'increment de la producció dels animals en, bàsicament, carn, llet i ous, tant necessaris a la meitat del segle passat en una Espanya i en una Europa devastades per les guerres, i hem deixat la teràpia a mans dels companys especialitzats en clínica o patologia. Quant un virus o un bacteri es presentava davant nostre avisàvem al veterinari patòleg o clínic. La nostra feina era produir més i més quilos de menjar d'origen animal per alimentar el millor possible als ciutadans i, naturalment, ciutadanes que generalment disposaven d'una alimentació més aviat deficitària. Avui es possible no estiguem gaire ben vistos, ara benauradament a la nostra Europa sobra de tot, avui sobren aliments i a nosaltres ens cataloguen de "productivistes", avui la Dra. Calvo ens "estira les orelles" per haver donat antibiòtics com a promotors del creixement, els ecologistes ens miren malament perquè no hem tingut en compte els "drets dels animals" i els consumidors arriben a creure que els pinsos els hem fet amb "química" i no amb blat de moro i soja.

Potser sí, alguna vegada ens hem "passat". En aquest cas demano excuses públicament en nom dels que hem sigut, i ja no tenim remei, seguirem sent «productivistes».

Però jo voldria dir algunes coses, dins de la meva ignorància del tema, sobre el problema dels bacteris i de les resistències bacterianes i m'agradaria fer-hi algunes reflexions. Deu ser cosa de l'edat.

A mi els bacteris em cauen bé i els tinc un gran respecte ja que es tracta d'un grup d'organismes molt diversificats, molt diferenciats, dins la seva petitesa, que com a màxim arriba a 1 mil·lèsima de mil·límetre. Es coneixen més de 3000 espècies. Uns tenen una paret que queda tenyida per la tinció anomenada de Gram, altres son gramnegatius. Poden tenir forma esfèrica o cilíndrica, agrupar-se en parelles, cadenes o formes de raïm, tetraèdriques o cúbiques. A vegades son curts,

altres afilats, filamentosos, corbats o en forma de tirabuixó. Per altre part tenen, quin avorriment, reproducció asexual, per divisió longitudinal o transversal de manera que cada bacteri dona lloc a un clon perfecte. Per si fora poc i si troben un medi idoni es reproduïen en un ordre exponencial. Uns són aeròbics, altres anaeròbics. En general sols viuen en substrats orgànics però alguns viuen per la presència de llum, altres aprofitant reaccions químiques de oxidoreducció. Alguns poden viure a temperatures de 90° i altres creixen per sota dels 0°. Alguns viuen perfectament en medis àcids i altres en medis alcalins. I podríem afegir un llarg etcètera.

Per altre part es ben coneguda la seva activitat d'actuar com a paràsits d'altres organismes tals com els animals, els homes o les plantes produint un enorme nombre de malalties. Però també poden formar part de la població normal dins d'aquests organismes, com la panxa dels rumugants i les vies respiratòries i l'intestí dels animals superiors i l'home, amb una activitat favorable i positiva.

Els cicles de la matèria i de l'energia en el món vivent estan regulats de manera important per els bacteris. Uns són nitrificants i sense ells desapareixeria la vida sobre la terra, altres donen lloc a grans transformacions de diversos substrats i a la síntesi de moltes substàncies útils com aliments, els propis antibiòtics dels que la Dra. Calvo ens ha parlat, productes químics, producció de vinagre, formatges, iogurts i un altre llarg etcètera. Per últim queden els que donen lloc a la necessària biodegradació de les restes de la pròpia vida.

El nostre medi ambient està ple de bacteris, l'atmosfera, el sol, la mar, els rius. Cada persona és portadora, com exemple, de uns 1000 bilions de bacteris, el que constitueix una població superior a la de les pròpies cèl·lules de cadascun i cada persona excreta per via intestinal de 1 a 10 bilions de bacteris per dia.

Hem dit que, reproductivament, cada bacteri dona lloc a un clon. Però no sempre es així, no sempre la reproducció dona lloc a cèl·lules idèntiques. Per atzar o per mecanismes d'adaptació apareixen mutacions que modifiquen les característiques del bacteri, i poden servir d'exemple la virulència front el poder de produir malalties o la resistència als antibiòtics. Tornarem sobre el tema.

La història de la vida és llarga, cada dia és més llarga. En el segle XVIII s'assegurava que el món havia sigut creat feia 6.000 anys. Avui s'ens assegura que el big bang va tenir lloc fa 15.000 milions d'anys i que la edat del nostre planeta es de uns 5.000 milions d'anys. Però encara més, s'ens diu que els primers primats varen aparèixer fa uns 70 milions d'anys, els primers homínids fa unes 17 milions, el genero Homo fa uns 10 milions i l'anomenat Homo sapiens, el ser humà, fa sols 50.000 o 100.000 anys que fa malifetes per el planeta, però, quant es va iniciar la vida?

El quant, i naturalment el com es va iniciar, és el gran enigma del l'home. La vida sembla va començar fa 4.000 milions d'anys després de la formació de una rara seqüència d'aminoàcids al llarg de una singular molècula de proteïna, l'ADN, que va donar lloc a una bactèria arcaica, que vivia suportant altes temperatures i alta salinitat amb l'ADN flotant dins una membrana. Més endavant varen desenvolupar activitats fermentatives, fixadores de nitrogen, usuàries de sofre, productores d'oxigen, etc. etc. fins a convertir-se en bactèries eucariotes que vol dir que ja tenien els seus gens, el seu ADN, empaquetat dins d'un nucli i així es constituí la unitat bàsica per organismes mes complexes, o sigui son l'origen de la nostra vida.

Aquestes cèl·lules inicials varen aprendre a aprofitar la energia solar, l'oxigen, l'aigua i varen donar lloc a una mena d'explosió de noves estructures, a milions i milions de formes

de vida diferents, en una bogeria de provatures de les que, inexplicablement, em sortit els que estem aquí.

I quines lleis, nosaltres no podem viure sense lleis, han regit aquest cúmulo de disbarats evolutius?. Ho aclareix Charles Darwin en quatre simples proposicions:

1. Els organismes produeixen generalment més descendència que la pot sobreviure i reproduir-se.
2. Els descendents que sobreviuen tendeixen a ser els més forts.
3. Les característiques dels pares apareixen en els fills.
4. D'aquesta manera, generació rera generació, a través de cents de milions de períodes, les línies més fortes sobreviuran al traspasar a la seva descendència les característiques que els han fet forts.

Val la pena que ens preocupem de la resistència bacteriana als antibiòtics? Ben segur que sí, però amb tranquil·litat. Fa milions d'anys que la vida s'està transformant i adaptant per sobreviure, fa milions d'anys que els bacteris són, numèricament, els més nombrosos del planeta, no és doncs res estrany que avui, al inici del segle XXI els bacteris, amb 4.000 milions d'anys d'existència, s'espavilin per adaptar-se a les males condicions de vida que els hi està creant aquest parent llunyà, llest i agosarat, que es diu Homo sapiens, amb l'invent dels antibiòtics. Com a vingut passant des de l'origen de la vida, el més fort és el que sobreviurà i, avui, la fortalesa esta en la intel·ligència i aquesta és la que tenim que utilitzar per, sense angoixes ni mides fora de mida, poder sobreviure. I pensem que les possibilitats de vida a la terra sembla que no s'acabaran fins d'aquí 100.000 milions d'anys. ¡Les mutacions que queden per desenvolupar encara!.

I ja tranquil·litzats passem a posar de manifest que avui tenim com a nova doctora numeraria de la nostra Corporació a una de les primeres figures de la Microbiologia no sols del país si no també d'Europa com podeu comprovar, si teniu paciència, en el resum del seu ampli curriculum que passo a esposar.

La Dra. M^a dels Àngels Calvo i Torras va néixer a Barcelona el 3 de juliol de 1953, és Llicenciada i Doctora en Farmàcia per la Universitat de Barcelona, amb Premi extraordinari de Llicenciatura. Es també Doctora en Veterinària per la Universitat Complutense de Madrid. Per altre part es Diplomada en Sanitat i Especialista en Microbiologia i Parasitologia.

A l'any 1980 ja era Professora adjunt Numeraria i a l'any 1985 Catedràtica de Sanitat Animal. Actualment desenvolupa la seva activitat docent en la Facultat de Veterinària de la Universitat Autònoma de Barcelona.

En el seu curriculum figuren més de cent vuitanta treballs, publicats en revistes de àmbit nacional i internacional, ha presentat més de tres-centes comunicacions com invitada o com assistent a Congressos de la seva especialitat. Ha col·laborat en la redacció de diversos capítols de llibres a on reflecteixen els seus amplis coneixements. Ha dirigit trenta sis tesines entre las de màster i llicenciatura i onze tesis doctorals.

Ha sigut investigadora col·laboradora o principal en diversos projectes de contingut microbiològic concedits por la CAICYT, la CIRIT i la Unió Europea i ha rebut dotze premis relacionats amb la seva labor investigadora.

La Dra. Calvo es Membre Numerari de la Reial Acadèmia de Medicina de Catalunya, de la Real Acadèmia de Doctores de Madrid, de la Acadèmia de Ciències Veterinàries de Catalunya, Acadèmica corresponent de la Real Acadèmia de Medicina de Madrid, de la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya, de la

Acadèmia Nacional de Medicina de Mèxic i, a partir d'avui Membre Numerari de la Reial Acadèmia de Doctors del Districte Universitari de Barcelona.

Per altre part es Membre del Institut Mèdic- Farmacèutic de Catalunya, de la Societat Argentina de Veterinària i de la Cofradia Internacional de Investigadores de Toledo.

És, i cal resaltar-ho, membre del Comité Científic de Nutrició Animal (SCAN) de la Unió Europea, desde desembre del 2000.

Fins aquí una relació incompleta, excessivament reduïda i forçosament freda del seu curriculum. Cal fer-ho en un acte com aquest, però crec que també cal fer especial menció a la seva dedicació important a la Microbiologia dels Aliments i a la seva relació amb els aspectes nutricionals del tema, com són els aliments funcionals i els probiòtics. També hem de mencionar els seus estudis relacionats amb diversos aspectes de la Micologia i de la Microbiologia Ambiental.

No es fàcil recordar-ho tot, a manera de resum podríem dir que les línies fonamentals de la activitat investigadora de la Dra. Calvo han estat:

- La taxonomia dels fongs imperfectes.
- La bioquímica i la fisiologia dels fongs imperfectes.
- La bioproducció de metabolits secundaris es espècies del gènere *Arthrini*.
- La microbiologia del suro.
- Els probiòtics i els productes naturals amb activitat antimicrobiana.
- Les micosi i micotoxicosi.
- La microbiologia ambiental.
- El biodeteriorament de les obres d'art i dels documents.
- La síndrome de l'edifici malalt.

En un altre aspecte de la seva vida professional cal recordar que ha sigut Sot-degana i Degana de la Facultat de Veterinària de la Universitat Autònoma de Barcelona.

Per últim vull fer esment de uns aspectes de la Dra. Calvo, bé coneguts dels que hem tingut la sort de compartir amb ella coses, encara que petites, tasques professionals i que mereixen figurar en aquest discurs de resposta. Em refereixo a la seva incuestionable honradessa professional, a la seva total dedicació a les tasques docents i investigadora que ha sabut sempre equilibrar magníficament, a l'ajuda sincera i sense limitacions que ha donat a tots els que hem trucat a la seva porta (que per cert sempre està, també físicament, oberta a tot-hom), al fet de que ha sabut desenvolupar en un alt grau de eficàcia la col·laboració entre la Universitat i l'empresa privada amb excel·lents resultats favorables a ambdós estaments i d'una manera especial als seus alumnes universitaris.

La Dra. Calvo sorprén als que la coneixem perquè sempre "està al dia" en qualsevol problema que se li planteji, i que sempre està en disposició d'ajuda i col·laboració, perquè sempre està oberta a fer partícip dels seus coneixements a qui ho necessiti, perquè mai té un no, perquè sempre té temps per engregar un nou projecte o estudiar un nou problema i perquè, no perquè s'acabin les paraules sino perquè s'acaba el temps, sap compaginar tot això amb un envejable tarannà optimista i amb una vida familiar plena i rica.

Per fi, em plau, en nom de la Corporació, donar la més cordial benvinguda a la Dra. Calvo, demanar-li la seva valuosa col·laboració en les tasques de la mateixa i expressar-li el nostre desig que la seva activitat futura iguali, ja que difícilment es superable, la que ha sigut la norma de la seva vida fins el dia d'avui.

Però abans d'acabar l'acte deixeu-me retornar al tema original de la Dra. Calvo i, a manera de cloenda, despedir-me

amb alguns del pensaments de Jorge Wagensberg sobre la incertesa, recentment publicats, i dels que n'he escollit exactament mitja dotzena, que deixo en la seva llengua d'origen:

“La interacción entre un elefante y una bacteria es una bacteria.”

“Un manual mínimo de instrucciones para vivir debe parecerse al genoma de cierta bacteria, un texto de unos pocos cientos de miles de letras.”

“Principio antotrópico: las constantes fundamentales del universo son las que son porque de otro modo el jamón de pata negra no habría accedido a la existencia.”

“La solución trivial para seguir vivo, cuando la incertidumbre aprieta, se parece mucho a no vivir: letargo, hibernación, formas resistentes (independencia pasiva).”

“Desde una sopa bacteriana hasta un Consejo de Administración, la ilusión de seguir vivo favorece ciertas estrategias ¡y las contrarias!: competir o colaborar, destacar o pasar desapercibido, especializarse o diversificarse.”

“Entre la primera bacteria y Shakespeare algo ha tenido que ocurrir.”

Moltes gràcies.

ÍNDICE

DISCURSO DE INGRESO	7
REFLEXIONES SOBRE RESISTENCIA BACTERIANA A LOS ANTIBIÓTICOS.....	10
INTRODUCCIÓN.....	10
COMPONENTES ESTRUCTURALES Y MECANISMOS BIOQUÍMICOS IMPLICADOS EN LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS	13
BASES GENÉTICAS DE LA RESISTENCIA.....	23
SELECCIÓN DE MUTANTES RESISTENTES.....	24
RESISTENCIA POR INTERCAMBIO GENÉTICO	25
VENTAJAS ADAPTATIVAS DE LOS PLASMIDOS R	27
ADMINISTRACIÓN DE ANTIBIÓTICOS EN MEDICINA HUMANA	29
EJEMPLOS DE RESISTENCIAS BACTERIANAS A LOS ANTIBIÓTICOS ADMINISTRADOS EN MEDICINA HUMANA	30
ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS EN PRODUCCIÓN ANIMAL Y SU POSIBLE INCIDENCIA EN EL DESARROLLO DE LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN EL HOMBRE	37
EL EMPLEO DE LOS ANTIBIÓTICOS EN VETERINARIA: PERSPECTIVA ACTUAL	39
EMPLEO DE ANTIMICROBIANOS EN ANIMALES Y APARICIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE BACTERIAS RESISTENTES... ..	50
EFFECTO DE LOS ANTIBIÓTICOS SOBRE LOS ENTEROPATÓGENOS QUE SE EXCRETAN POR LAS HECE Y MODIFICACIÓN DE SU SUCEPTIBILIDAD	53
RESISTENCIA ANTIMICROBIANA Y SALUD ANIMAL.....	54
SITUACIÓN GLOBAL PARA LA PREVENCIÓN Y LA LEGISLACIÓN	55
LÍMITE MÁXIMO RESIDUAL DE UN ANTIBIÓTICO	56

ALTERNATIVAS AL EMPLEO DE LOS ANTIBIÓTICOS COMO PROMOTORES DE CRECIMIENTO	59
EMPLEO DE ANTIBIOTICOS EN AGRICULTURA.....	60
PERSPECTIVAS DE FUTURO Y REFLEXIONES FINALES.....	61
BIBLIOGRAFIA CONSULTADA	66
DISCURSO DE CONTESTACIÓN	101

NOVES PUBLICACIONS DE LA REIAL ACADÈMIA DE DOCTORS

Directori 1991.

Los tejidos tradicionales en las poblaciones pirenaicas (Discurs de promoció a acadèmic numerari de l'Excm.Sr. Eduardo de Aysa Satué, Doctor en Ciències Econòmiques, i contestació per l'Excm.Sr. Josep Antoni Plana i Castellví, Doctor en Geografia i Història), 1992.

La tradición jurídica catalana (Conferència magistral del acadèmic de número Excm.Sr. Josep Joan Pintó i Ruiz, Doctor en Dret, en la Solemne Sessió d'apertura de curs 1992-93, que fou presidida per SS.MM. el Rei Joan Carles I i la Reina Sofia), 1992.

La identidad étnica (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Angel Aguirre Baztan, Doctor en Filosofia i Lletres, i contestació per l'Excm.Sr. Josep M. Pou d'Avilés, Doctor en Dret), 1993.

Els laboratoris d'assaig i el mercat interior; Importància i nova concepció (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Pere Miró i Plans, Doctor en Ciències Químiques, i contestació per l'Excm.Sr. Josep M^a Simón i Tor, Doctor en Medicina i Cirurgia), 1993.

Contribución al estudio de las Bacteriemias (Discurs d'ingrés de l'acadèmic corresponent Il.lm.Sr. Miquel Marí i Tur, Doctor en Farmàcia, i contestació per l'Excm.Sr. Manuel Subirana i Cantarell, Doctor en Medicina i Cirurgia), 1993.

Realitat i futur del tractament de la hipertròfia benigna de pròstata (Discurs de promoció a acadèmic numerari de l'Excm.Sr. Joaquim Gironella i Coll, Doctor en Medicina i Cirurgia, i contestació per l'Excm.Sr. Albert Casellas i Condom, Doctor en Medicina i Cirurgia i President del Col.legi de Metges de Girona), 1994.

La seguridad jurídica en nuestro tiempo. ¿Mito o realidad? (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. José Méndez Pérez, Doctor en Dret, i contestació per l'Excm.Sr. Angel Aguirre Baztán, Doctor en Filosofia i Lletres), 1994.

La transició demogràfica a Catalunya i a Balears (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Tomàs Vidal i Bendito, Doctor en Filosofia i Lletres, i contestació per l'Excm.Sr. Josep Ferrer i Bernard, Doctor en Psicologia), 1994.

L'art d'ensenyar i d'aprendre (Discurs de promoció a acadèmic numerari de l'Excm.Sr. Pau Umbert i Millet, Doctor en Medicina i Cirurgia, i contestació per l'Excm.Sr. Agustín Luna Serrano, Doctor en Dret), 1995.

Sessió necrològica en record de l'Excm.Sr. Lluís Dolcet i Buxeres, Doctor en Medicina i Cirurgia i Degà emèrit de la Reial Acadèmia de Doctors, que morí el 21 de gener de 1994. Enaltíren la seva personalitat els acadèmics de número Excms.Srs.Drs. Ricard García Vallès, Josep M^a Simón i Tor i Albert Casellas i Condom. 1995.

La Unió Europea com a creació del geni polític d'Europa (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Jordi Garcia-Petit i Pàmies, Doctor en Dret, i contestació per l'Excm.Sr. Josep Llorit i Brull, Doctor en Ciències Econòmiques), 1995.

La explosión innovadora de los mercados financieros (Discurs d'ingrés de l'acadèmic corresponent Il.lm.Sr. Emilio Soldevilla García, Doctor en Ciències Econòmiques i Empresariales, i contestació per l'Excm.Sr. José Méndez Pérez, Doctor en Dret), 1995.

La cultura com a part integrant de l'Olimpisme (Discurs d'ingrés com acadèmic d'honor de l'Excm.Sr. Joan Antoni Samaranch i Torelló, Marquès de Samaranch, i contestació per l'Excm.Sr. Jaume Gil i Aluja, Doctor en Ciències Econòmiques), 1995.

Medicina i Tecnologia en el context històric (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Felip Albert Cid i Rafael, Doctor en Medicina i Cirurgia, i contestació per l'Excm.Sr. Angel Aguirre Baztán, Doctor en Filosofia i Lletres) 1995.

Els sòlids platònics (Discurs d'ingrés de l'acadèmica numerària Excma.Sra. Pilar Bayer i Isant, Doctora en Matemàtiques, i contestació per l'Excm.Sr. Ricard Garcia i Vallès, Doctor en Dret) 1996.

La normalització en Bioquímica Clínica (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Xavier Fuentes i Arderiu, Doctor en Farmàcia, i contestació per l'Excm.Sr. Tomàs Vidal i Bendito, Doctor en Geografia) 1996.

L'entropia en dos finals de segle (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. David Jou i Mirabent, Doctor en Ciències Físiques, i contestació per l'Excm.Sr. Pere Miró i Plans, Doctor en Ciències Químiques) 1996.

Vida i música (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Carles Ballús i Pascual, Doctor en Medicina i Cirurgia, i contestació per l'Excm.Sr. Josep M^a Espadaler i Medina, Doctor en Medicina i Cirurgia) 1996.

La diferencia entre los pueblos (Discurs d'ingrés de l'acadèmic corresponent Il.lm.Sr. Sebastià Triás Mercant, Doctor en Filosofia i Lletres, i contestació per l'Excm.Sr. Angel Aguirre Baztán, Doctor en Filosofia i Lletres) 1996.

L'aventura del pensament teològic (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Josep Gil i Ribas, Doctor en Teologia, i contestació per l'Excm.Sr. David Jou i Mirabent, Doctor en Ciències Físiques) 1996.

El derecho del siglo XXI (Discurs d'ingrés com acadèmic d'honor de l'Excm.Sr.Dr. Rafael Caldera, President de Venezuela, i contestació per l'Excm.Sr. Angel Aguirre Baztán, Doctor en Filosofia i Lletres) 1996.

L'ordre dels sistemes desordenats (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Josep M^a Costa i Torres, Doctor en Ciències Químiques, i contestació per l'Excm.Sr. Joan Bassegodà i Nonell, Doctor Arquitecte) 1997.

Un clam per a l'ocupació (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Isidre Fainé i Casas, Doctor en Ciències Econòmiques, i contestació per l'Excm.Sr. Joan Bassegodà i Nonell, Doctor Arquitecte) 1997.

Rosalía de Castro y Jacinto Verdaguer, visión comparada (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Jaime Manuel de Castro Fernández, Doctor en Dret, i contestació per l'Excm.Sr. Pau Umbert i Milllet, Doctor en Medicina i Cirurgia) 1998.

La nueva estrategia internacional para el desarrollo (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Santiago Ripol i Carulla, Doctor en Dret, i contestació per l'Excm.Sr. Joaquim Gironella i Coll, Doctor en Medicina i Cirurgia) 1998.

El aura de los números (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Eugenio Oñate Ibáñez de Navarra, Doctor Enginyer de Camins, Canals i Ports, i contestació per l'Excm.Sr. David Jou i Mirabent, Doctor en Ciències Físiques) 1998.

Nova recerca en Ciències de la Salut a Catalunya (Discurs d'ingrés de l'acadèmica numeraria Excm.Sra. Anna M^a Carmona i Cornet, Doctora en Farmàcia, i contestació per l'Excm.Sr. Ricard Garcia i Vallès, Doctor en Dret) 1998.

Dilemes dinàmics en l'àmbit social (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Albert Biayna i Mulet, Doctor en Ciències Econòmiques, i contestació per l'Excm.Sr. Josep Ma. Costa i Torres, Doctor en Ciències Químiques) 1999.

Mercats i competència: Efectes de liberalització i la desregulació sobre l'eficàcia econòmica i el benestar (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Amadeu Petitbó i Juan, Doctor en Ciències Econòmiques, i contestació per l'Excm.Sr. Jaime M. de Castro Fernández, Doctor en Dret) 1999.

Epidemias de asma en Barcelona por inhalación de polvo de soja (Discurs d'ingrés de l'acadèmica numeraria Excm.Sra. M^a José Rodrigo Anoro, Doctora en Medicina, i contestació per l'Excm.Sr. Josep Lloret i Brull, Doctor en Ciències Econòmiques) 1999.

Hacia una evaluación de la actividad cotidiana y su contexto: ¿Presente o futuro para la metodología? (Discurs d'ingrés de l'acadèmica numeraria Excm.Sra. Maria Teresa Anguera Argilaga, Doctora en Filosofia i Lletres (Psicologia) i contestació per l'Excm.Sr. Josep A. Plana i Castellví, Doctor en Geografia i Història) 1999.

Directori 2000.

Génesis de una teoría de la incertidumbre. Acte d'imposició de la Gran Creu de L'Orde d'Alfons X el Savi a l'Excm.Sr. Jaume Gil i Aluja, Doctor en Ciències Econòmiques i Financeres. 2000

Antonio de Capmany: el primer historiador moderno del Derecho Mercantil (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Xabier Añoveros Trias de Bes, Doctor en Dret, i contestació per l'Excm.Sr. Santiago Dexeus i Trias de Bes, Doctor en Medicina i Cirurgia) 2000.

La medicina de la calidad de vida (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Luís Rojas Marcos, Doctor en Psicologia, i contestació per l'Excm.Sr. Angel Aguirre Bazlán, Doctor en Psicologia) 2000.

Pour une science touristique: la tourismologie (Discurs d'ingrés de l'acadèmic corresponent, Il.lm.Sr. Jean-Michel Hocner, Doctor en Lletres i President de la Universitat de Perpinyà, i contestació per l'Excm.Sr. Jaume Gil-Aluja, Doctor en Ciències Econòmiques) 2000.

Virus, virus entèrics, virus de l'hepatitis A (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Albert Bosch i Navarro, Doctor en Ciències Biològiques, i contestació per l'Excm.Sr. Pere Costa i Batllori, Doctor en Veterinària) 2000.

Mobilitat urbana, medi ambient i automòbil. Un desafiament tecnològic permanent. (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Pere de Esteban Altirriba, Doctor en Enginyeria Industrial, i contestació per l'Excm.Sr. Carlos Dante Heredia García, Doctor en Medicina i Cirurgia) 2001.

El rei, el burgès i el cronista: una història barcelonina del segle XIII (Discurs

d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. José Enrique Ruiz-Domènec, Doctor en Història, i contestació per l'Excm.Sr. Felip Albert Cid i Rafael, Doctor en Medicina i Cirurgia) 2001.

La informació, un concepte clau per a la ciència contemporània (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Salvador Alsius i Clavera Doctor en Ciències de la Informació, i contestació per l'Excm.Sr. Eugenio Oñate Ibáñez de Navarra, Doctor en Enginyeria de Camins, Canals i Ports) 2001.

La drogaaddicció com a procés psicobiològic (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Miquel Sánchez-Turet, Doctor en Ciències Biològiques, i contestació per l'Excm.Sr. Pedro de Esteban Altirriba, Doctor en Enginyeria Industrial) 2001.

Un univers turbulent (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Jordi Isern i Vilaboy, Doctor en Física, i contestació per l'Excma.Sra. Ma. Teresa Anguera i Argilaga, Doctora en Psicologia) 2002.

L'envelliment del cervell humà (Discurs de promoció a acadèmic numerari de l'Excm.Sr.Dr. Jordi Cervós i Navarro, Doctor en Medicina i Cirurgia, i contestació per l'Excm.Sr. Josep Ma. Pou d'Avilés, Doctor en Dret) 2002.

Les telecomunicacions en la societat de la informació (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Àngel Cardama Aznar, Doctor en Enginyeria de Telecomunicacions, i contestació per l'Excm.Sr. Eugenio Oñate Ibáñez de Navarra, Doctor en Enginyeria de Camins, Canals i Ports) 2002.

La veritat matemàtica (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Josep Pla i Carrera, Doctor en Matemàtiques, i contestació per l'Excm.Sr. Josep Ma. Costa i Torres, Doctor en Ciències Químiques) 2003.

L'humanisme essencial de l'arquitectura moderna (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Helio Piñón i Pallarés, Doctor en Arquitectura, i contestació per l'Excm.Sr. Xabier Añoveros i Trías de Bes, Doctor en Dret) 2003.

De l'economia política a l'economia constitucional (Discurs d'ingrés de l'acadèmic numerari Excm.Sr. Joan Francesc Corona i Ramon, Doctor en Ciències Econòmiques i Empresariales, i constestació per l'Excm.Sr. Xavier Iglesias i Guiu, Doctor en Medicina) 2003.

La Reial Acadèmia, bo i respectant com a criteri d'autor les opinions exposades en les seves publicacions, no se'n fa responsable ni solidària.

© Reial Acadèmia de Doctors
Impressió: Imprenta Baltasar 1861
Tels. 93 346 91 52 - 93 346 92 06
Tiratge 350 exemplars

Dipòsit Legal: B-26499-2003

REIAL ACADÈMIA DE DOCTORS
-Publicacions-