Modelo de infecciones por cuerpo extraño

Josep Anton Capdevila[a,*], Álvaro Pascual[b] y Antonio Sitges-Serra[c]

[a]Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitari de la Vall d'Hebron. Barcelona. [b]Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina. Sevilla. [c]Departamento de Cirugía. Hospital del Mar. Barcelona.

RESUMEN

El conocimiento de la fisiopatología, prevención y tratamiento de las infecciones protésicas necesita del concurso de modelos animales de infección en los que se puedan controlar las diversas variables que influyen en la interacción múltiple entre el material extraño, el organismo infectante, el antimicrobiano y el ser humano. Estos modelos deben completarse con estudios *ex vivo* que analicen el comportamiento del agente infectante en presencia del cuerpo extraño, puesto que las habituales correlaciones entre los parámetros farmacocinéticos y la eficacia de los antibióticos *in vivo* no se mantienen cuando existe un cuerpo extraño. De todos los modelos, por su simpleza, bajo coste económico y reproducibilidad, el de la cápsula subcutánea ha sido el más utilizado. No obstante, la aplicabilidad de sus resultados a la clínica sólo es factible si se emplean animales con mecanismos inmunológicos y de cicatrización semejantes a los humanos, si se tienen en cuenta las diferencias farmacocinéticas entre especies y si la propensión a la infección es similar.

Palabras clave:
Modelo experimental. Cuerpo extraño. Profilaxis.

FOREIGN BODY INFECTION MODEL

Animal models of foreign body infection are necessary to study the *in vivo* interactions between prosthetic materials, microorganisms and antibiotics.

The usual correlations between pharmacokinetic parameters and the effect of antibiotics *in vivo* seem not to hold when a foreign body is present. Since, the animal experimentation should be completed with *in vitro* studies taking account of the interactions between microorganisms and biomaterials.

Af all models decribed, the tissue cage model is the most useful for its reproducibility and low economic cost. However, to apply its results in human pathology needs that the immunologic mechanisms, healing characteristics and pharmacokinetics parameters of animals employed were similar to humans.

Key words:
Experimental model. Foreign body. Prophylaxis.

Introducción

En las últimas décadas, el avance de la medicina ha comportado un uso cada vez más frecuente de materiales ajenos al organismo para la colocación de todo tipo de prótesis mecánicas, plastias reconstructivas, catéteres y sondas, entre otros dispositivos no biológicos[1]. Esto ha significado recuperar la funcionalidad de diferentes sistemas y órganos lesionados, pero ha generado una no despreciable morbimortalidad asociada, debido principalmente a la aparición de complicaciones infecciosas[2,3].

Se calcula que entre un 0 y un 7 % de las prótesis cardíacas, entre un 0,2 y un 0,4 % de las prótesis totales de cadera, entre un 2 y un 24 % de los *shunts* derivativos de líquido cefalorraquídeo, entre un 4 y un 8 % de los catéteres intraperitoneales y entre un 0,2 y un 10 % de los catéteres intravasculares se infectan. La infección

*Correo electrónico: janton@hg.vhebron.es.

de la prótesis suele comportar la pérdida de su función mecánica y en ocasiones pone en peligro la integridad anatómica y la vida del paciente[4,5].

Las infecciones debidas a contaminación del material protésico tienen algunas características comunes: *a)* un bajo inóculo inicial de microorganismos[6]; *b)* una evolución clínica solapada[7]; *c)* la localización de la infección exclusivamente en la zona afectada[8], y *d)* la persistencia de la infección hasta la retirada del cuerpo extraño a pesar de un tratamiento antibiótico adecuado.

Estas características diferenciales y la necesidad de conocer la fisiopatología de las infecciones de cuerpo extraño han motivado el desarrollo de diversas líneas de investigacion sobre diferentes modelos experimentales de infección[9].

Dado que no todas las prótesis, ni todos los diferentes materiales empleados en su construcción, presentan la misma propensión a infectarse, y teniendo en cuenta las peculiaridades propias de cada paciente con diferentes enfermedades de base[10,11], y las diversas localizaciones anatómicas de las protésis, es comprensible que se hayan desarrollado múltiples modelos de infección en el animal de experimentación[9].

Como característica común y diferencial de los modelos de infección por cuerpo extraño, se encuentra el hecho de que en los mismos existe una nueva variable a estudio, como es la interacción mecánica y biológica que se produce entre el material protésico y el ser vivo. En otros modelos de infección se estudia la relación entre el microorganismo infectante y el animal. Sin embargo, cuando existe un cuerpo extraño infectado, hay que tener en cuenta cómo modifica la presencia de este material ajeno, tanto el comportamiento defensivo del hospedador como la virulencia del agente infectante[12,13]. Los modelos animales de infección por cuerpo extraño permiten analizar los cambios fisiopatológicos producidos como consecuencia de la presencia del material ajeno al organismo y efectuar estudios de profilaxis y tratamiento de infecciones en presencia de este material. Además, los estudios *in vitro* de sensibilidad antibiótica, farmacocinética y farmacodinamia que apoyan el modelo experimental deben realizarse teniendo en cuenta las modificaciones de las condiciones biológicas habituales debidas a la presencia del material extraño.

En esta revisión se expondrán los modelos de infección por cuerpo extraño que históricamente han sido más relevantes, nos centraremos en las aportaciones del modelo de la "cápsula subcutánea" *(tissue cage)* y, finalmente, se expondrá un modelo de infección de catéter intravascular.

Modelos históricos de infección por cuerpo extraño

La historia de esta línea de investigación va paralela a la introducción del material plástico en medicina[14], desde su uso inicial como sutura en cirugía general, a la progresiva utilización más especializada en cirugía vascular, cardíaca, ortopédica y neurocirugía.

Modelo de sutura

Éste es un modelo sencillo que simula la infección de herida quirúrgica. Se ha aplicado con diferentes materiales de sutura, tanto en el ratón, como en el perro y el cobaya. Se basa en el concepto general de que el aumento de la propensión a la infección a causa de la presencia de un material extraño se debe a la reacción inflamatoria previa que causa este material[15,16]. Existen diferencias entre los diversos experimentos en cuanto al inóculo y el momento de producir la infección.

Este modelo ha contribuido a conocer mejor los factores de riesgo y la prevención de la infección de herida quirúrgica: las suturas monofilamento se infectan menos que las trenzadas, las suturas sintéticas no absorbibles (nailon o polipropileno) favorecen menos la infección que los materiales naturales no absorbibles (seda o algodón) y las suturas sintéticas absorbibles (ácido poliglicólico) potencian menos la infección que los materiales naturales absorbibles como el catgut. Los modelos de infección de herida quirúrgica han sido, así mismo, muy útiles para el estudio de las mallas protésicas muy utilizadas en cirugía general.

Modelo de injerto vascular

Es un modelo que requiere de una complejidad quirúrgica no despreciable. El perro es el animal utilizado habitualmente en estos experimentos[17], tanto por consideraciones anatómicas como por su semejanza con los humanos en cuanto a las características de cicatrización de los injertos vasculares[18]. Otros animales propuestos, como el cerdo, el ternero y el mandril, presentan la característica diferencial con los humanos de que endotelizan la prótesis rápidamente. Por el contrario, el perro tiene el inconveniente de presentar frecuentemente bacteriemias que su sistema reticuloendotelial no aclara y, por tanto, una mayor facilidad para la infección espontánea de los implantes vasculares[19].

Este modelo ha permitido analizar aspectos como las características de la cicatrización[18], la

influencia de la integridad de la falsa íntima en la predisposición a la infección[19], la influencia del tipo de material, del inóculo y del intervalo postoperatorio en el desarrollo de la infección[20], el papel de la colonización por vía hematógena[19,21], diversas complicaciones clínicas y problemas diagnósticos[22,23] y el papel de la profilaxis y de diferentes pautas antibióticas terapéuticas[22].

Modelo de endocarditis protésica

Los modelos de endocarditis producidos a partir de la lesión valvular causada por un catéter serán objeto de otro artículo de esta monografía. La sustitución valvular cardíaca por prótesis mecánicas o biológicas susceptibles de infectarse precisa de modelos experimentales complejos.

Grogan et al[24] desarrollaron en 1980 un modelo de endocarditis protésica tricúspide utilizando el ternero como animal de experimentación. En el modelo de endocarditis precoz, la infección se produce en el mismo acto operatorio, inyectando entre 10^2 y 10^3 unidades formadoras de colonias (UFC)/ml de *Staphyloccus aureus* en el anillo de anclaje de la prótesis. En el modelo tardío, se administra un inóculo superior a 10^7 UFC/ml por vía hematógena, lográndose un 100 % de infecciones. Éste es un modelo caro y difícil de realizar, pero permite estudiar la fisiopatología de la endocarditis protésica, comparar la calidad de diferentes materiales, valorar pautas de tratamiento y profilaxis, a la vez que observar la interacción entre la sangre y la superficie protésica.

Modelo de rodilla protésica

Existen diferentes modelos difíciles de extrapolar en humanos, pero que en conjunto aportan datos sobre la conveniencia de ciertos materiales, cementos antibióticos y otros tipos de profilaxis[25,26].

Modelo de infección de cuerpo extraño intraperitoneal

Este modelo consiste en insertar, dentro de la cavidad peritoneal de la rata, uno o varios fragmentos de plástico, habitualmente catéteres de silicona de un diámetro de 0,9 cm y una longitud de 1,5 cm[27]. La infección se provoca instilando dentro de la cavidad peritoneal 1 ml de una suspensión salina que contiene *Staphylococcus aureus*, a los 10-15 min de la intervención. Seguidamente, a varios intervalos de tiempo, los animales son sometidos a repetidos lavados peritoneales bajo anestesia. El líquido aspirado es cultivado cuantitativamente. Finalmente, el animal es sacrificado y se realizan hemocultivos, cultivo del absceso peritoneal pericatéter y cultivo cuantitativo del lavado del catéter tras su suspensión en 1 ml de suero salino y posterior agitación en vórtex durante 10 s.

La infectividad depende del inóculo. Con inóculos bajos, la rata es capaz de eliminar la bacteria de la cavidad peritoneal al cabo de 72 h. Inóculos de 5×10^8 UFC/ml de *S. aureus* causan una elevada mortalidad, por lo que el inóculo estándar utilizado es de 5×10^6 UFC/ml.

Este modelo permite realizar experimentos de profilaxis y tratamiento. En los estudios terapéuticos se comprueba de nuevo la persistencia de la infección en el cuerpo extraño a pesar de obtener una concentración de antibiótico en el foco infeccioso superior en tres-cuatro veces la concentración mínima inhibitoria (CMI) del microorganismo. Se demuestra una vez más que no existe una correlación directa entre los parámetros farmacocinéticos y el efecto *in vivo* de la meticilina y la gentamicina en las infecciones por cuerpo extraño. La presencia del *biofilm* puede proteger a la bacteria de la acción los antibióticos[28].

Modelo de la cápsula subcutánea

Es un modelo sencillo consistente en la implantación quirúrgica de un tubo de plástico en el tejido subcutáneo del animal[29-31]. Se han utilizado cilindros de plexiglás (polimetilmetacrilato) o de Teflón (tetrafluoroetileno) con un diámetro externo entre 10 y 12 mm, y una longitud aproximada de 30 mm. Estos cilindros deben estar perforados en toda su superficie por agujeros de 1 mm de diámetro distribuidos de forma regular. La técnica quirúrgica es muy simple. Consiste en implantar en el flanco del animal de experimentación (conejos, perros o ratas) el cilindro de plástico. Tras anestesiar al animal y rasurar la zona a utilizar, se realiza una incisión con técnica estéril. Se diseca la grasa subcutánea creando una cavidad para alojar la cápsula. Una vez colocado el cilindro, se sutura la piel. Se pueden implantar uno o varios cilindros por animal.

Como reacción inflamatoria a cuerpo extraño, el organismo secreta líquido intersticial que se acumula en el interior del cilindro[32]. La presencia de los agujeros permite realizar aspiraciones periódicas de este líquido, analizar su composición bioquímica y celular a lo largo del tiempo, producir infecciones instilando inóculos en su interior y estudiar la farmacocinética tisular de

los antibióticos administrados por vía sistémica. Hay que tener la precaución de rasurar y esterilizar la piel que se va a puncionar para evitar contaminaciones indeseadas del contenido de la cápsula.

Los experimentos deben iniciarse al cabo de 2 semanas de la intervención para permitir la formación de un tejido de granulación estéril y la acumulación de exudado inflamatorio en el interior de la cápsula.

Zimmerli et al[9,29] han descrito la composición del líquido acumulado en el interior de la cápsula a lo largo del tiempo (desde 15 a 86 días). Para completar los estudios farmacocinéticos o para disponer de una referencia plasmática se realizan punciones cardíacas.

Aportaciones del modelo de la cápsula subcutánea

Estudios de la fisiopatología de la reacción inflamatoria frente a un cuerpo extraño. Ya han sido comentados.

Estudios de farmacocinética y distribución tisular de antibióticos aplicables para ensayos de profilaxis y terapéutica[33-38]. Se ha estudiado el papel de la rifampicina, vancomicina, penicilinas isoxazólicas, cefalosporinas y otros antibióticos, como profilaxis y tratamiento de la infección protésica por *S. aureus* y *S. epidermidis.* La evaluación de los resultados se realiza mediante cultivo cuantitativo del exudado aspirado del interior de la cápsula y la valoración de la infección "adherida" al plástico, mediante cultivo del material extraño tras su exéresis. El procesamiento de la cápsula incluye su sonicado tras lavado y aspiración del contenido, siendo opcional un tratamiento adicional con tripsina con la finalidad de obtener el mayor número posible de bacterias adheridas y/o incluidas en el tejido de granulación[39]. El análisis periódico del líquido del interior de la cápsula permite monitorizar la infección y las concentraciones antibióticas en el foco infeccioso. Estos experimentos han permitido comprobar cómo la infección de la cápsula persiste a pesar de la esterilización de su contenido. Además, las bacterias recuperadas tras el cultivo de la cápsula tuvieron un aumento considerable de su concentración mínima bactericida (CMB).

Estudios del riesgo de colonización por vía hematógena de las prótesis extravasculares[26]. Estos experimentos consisten en provocar una bacteriemia al animal portador de una cápsula subcutánea y analizar la posterior infección de la misma. Estos estudios sugieren la utilidad de la profilaxis antibiótica en pacientes con material protésico extravascular que van a ser sometidos a procedimientos invasivos con riesgo de bacteriemia.

Estudios de la biocompatibilidad y facilidad a la infección de diferentes materiales[40]. Consiste en comparar el grado de inflamación y la propensión a la infección entre varias cápsulas fabricadas con materiales diferentes. Las cápsulas de cerámica producen una mayor inflamación que las de Teflón, y son 10 veces más susceptibles a la infección.

El modelo de infección de la cápsula subcutánea es muy sencillo, económico y de fácil aplicabilidad. No obstante, presenta varios inconvenientes a la hora de extrapolar los resultados obtenidos a los humanos. En primer lugar, los mecanismos inflamatorios defensivos no son completamente iguales entre especies[18]. En este sentido, para experimentos que valoran la predisposición a la infección debido a la presencia de un cuerpo extraño, se prefiere utilizar el cobaya[12,13,25]. Para experimentos de farmacocinética antibiótica este animal no es apropiado.

Además, este modelo no tiene en cuenta las posibles interacciones mecánicas y biológicas que se producen cuando la prótesis está colocada en el interior del torrente sanguíneo o realiza una función dinámica.

Modelo de infección de catéter intravascular

La infección por catéter intravascular es una de las principales causas de infección nosocomial que va en aumento debido al mayor uso que se hace a diario de los catéteres tanto para fines diagnósticos como terapéuticos[41,42]. La infección por catéter comporta un considerable morbimortalidad y un incremento del gasto sanitario no despreciable. En España se calcula que una bacteriemia por catéter representa un coste adicional de medio millón de pesetas[43].

La prevención de esta infección es el objetivo a alcanzar. En este sentido, existen una serie de normas bien establecidas para el manejo de los catéteres con la finalidad de minimizar el riesgo de infección[44]. Paralelamente, se han diseñado diversas estrategias en cuanto a la manufactura, diseño y composición de los catéteres que tratan de dificultar la colonización y posterior desarrollo de la infección[45-48].

Los microorganismos anidan en la vaina de fibrina que se forma en el extremo distal del catéter. Las bacterias alcanzan esta situación mayoritariamente por progresión endoluminal a partir de

contaminaciones iniciales de la conexión, o por migración exoluminal pericatéter a partir de la piel[49-51]. El conocimiento de esta fisiopatología es esencial a la hora de diseñar estrategias de diagnóstico y prevención de la infección de catéter.

El tratamiento de la bacteriemia por catéter implicaba la retirada sistemática del cuerpo extraño infectado para curar la infección. No obstante, en los últimos años se ha comprobado que no siempre es imprescindible retirar el catéter para curar la infección[42,52]. Este planteamiento conservador es de gran interés en los pacientes que precisan mantener la vía, como son los pacientes con nutrición parenteral domiciliaria, los sometidos a hemodiálisis periódica o los pacientes oncohematológicos.

El tratamiento de la sepsis por catéter manteniendo el catéter tiene por objetivos tratar la bacteriemia y esterilizar el catéter[52,53]. Basándose en los conocimientos adquiridos sobre la dificultad de erradicar los microorganismos adheridos a las superficies de plástico[28], el éxito en la esterilización del catéter dependerá de que seamos capaces de exponer el microorganismo causal a concentraciones elevadas de antibiótico durante un período prolongado de tiempo. Estos dos objetivos pueden conseguirse con el *antibiotic-lock*[53]. Esta forma de administrar el antibiótico consiste en llenar y cerrar el catéter con el fármaco deseado por el período de tiempo en que el catéter no va a ser utilizado. Con esta estrategia se consigue una elevada eficacia local sin toxicidades sistémicas. No obstante, quedan varios puntos por aclarar, como: ¿qué papel tiene la heparina como fármaco adyuvante en la erradicación de la infección?, ¿cuál es el mejor antibiótico a utilizar?, ¿cuál debe ser la duración del *antibiotic-lock*?, ¿pueden tratarse de esta manera todos los microorganismos?, ¿es independiente la eficacia terapéutica de la composición química del catéter?, entre otros.

Éstos y otros interrogantes han motivado el desarrollo de un modelo experimental que sirva de banco de pruebas. En este sentido existen modelos *ex vivo*[54] que permiten analizar algunos componentes de la infección de catéter, pero que no tienen en cuenta los mecanismos defensivos del huésped ni el efecto del flujo vascular sobre la patogenia de esta infección.

Descripción de un modelo animal de infección de catéter

En la bibliografía existen escasos trabajos en los que se haya utilizado un modelo animal de sepsis por catéter. Además, los animales utilizados son de diferentes especies, los catéteres difieren en cuanto a su composición y los microorganismos utilizados son distintos[54-56].

Sitges-Serra et al diseñaron un modelo de sepsis por catéter en el conejo[54,55]. En este modelo la infección se establece a partir de producir una contaminación del interior de la conexión.

En nuestro laboratorio hemos desarrollado un modelo similar de sepsis por catéter en el que la infección se consigue mediante el relleno del catéter con un caldo de cultivo que contiene el inóculo bacteriano (mecanismo fisiopatológico endoluminal). El modelo consiste en colocar mediante disección anatómica, un catéter de silastic en la vena yugular externa del conejo, cuyo extremo distal se aloja en la vena cava inferior.

1. Estandarización del modelo

Se utilizan conejos machos blancos Nueva Zelanda con un peso aproximado entre 2 y 2,1 kg, a los que se coloca un catéter venoso central de silicona (Vygon® 1,2 mm interio/2,00 mm exterior) por vía yugular.

a) Inserción del catéter

La técnica consiste en disecar la vena yugular derecha tras anestesia general (inyección i.m. de 5 mg/kg de ketamina y 1 mg/kg de xilacina). Por una pequeña incisión en la zona lateral del cuello se pone a plano la vena yugular común y se aísla de la circulación venosa mediante ligadura proximal (seda 000). A través de una pequeña incisión se coloca el catéter, avanzando en dirección distal 8 cm hasta alojarse en la vena cava inferior. El catéter se fija a la vena yugular. Posteriormente el catéter se tuneliza a través del tejido subcutáneo del animal, exteriorizándolo en la región dorsal. De este modo se consigue una mejor fijación del catéter, lo que dificulta el acceso del animal al mismo. Durante todo el proceso de inserción del catéter, éste está cebado con suero fisiológico para evitar aspiraciones gaseosas y la formación de trombos. La técnica de inserción del catéter se efectuará en un quirófano de cirugía experimental con la máxima asepsia, teniendo especial cuidado en la esterilidad del catéter y en la desinfección de la piel en el punto de entrada del catéter.

b) Producción de la sepsis por catéter

Inmediatamente tras la inserción el catéter se procederá a su infección. La técnica consistirá en

cebar el catéter con 0,5 ml de caldo Mueller-Hinton que contenga 10^8 UFC/ml de *S. aureus*. Esta solución se deja en contacto con el catéter durante 18 h, momento en el que se retira, se comprueba la infección del catéter mediante la práctica de hemocultivos cuantitativos[57] (transcatéter y periféricos), y se inician las pautas terapéuticas.

2. Evaluación de los resultados

Para la evaluación de los resultados en este modelo de sepsis por catéter y poder efectuar comparaciones entre el grupo control y los diversos grupos terapéuticos realizamos las siguientes técnicas microbiológicas:

a) Hemocultivos cuantitativos (técnica de Shöttmueller) pretratamiento[57].
b) Hemocultivos cuantitativos (técnica de Shöttmueller) presacrificio.
c) Cultivo de la superficie exoluminal del catéter (2 cm distales) sobre una placa de agar (técnica de Maki[58]). Se considera un resultado positivo si el recuento de UFC es superior a 14.
d) Cultivo de la superficie endoluminal del catéter mediante cultivo cuantitativo del lavado del interior del catéter con 2 ml de caldo de Mueller-Hinton (técnica de Liñares modificada[50]).
e) Cultivo cuantitativo global del catéter tras sonicado del mismo en un baño con caldo de Mueller-Hinton a 50 Hz durante 10 min (técnica de Sheretz modificada[59]).

Los resultados de las técnicas cuantitativas se expresan como el logaritmo decimal del número de UFC/ml. En la tabla I se exponen los resultados obtenidos a las 18 y a las 48 h de la infección. El modelo a las 18 h presenta una menor mortalidad y, como el nivel de infección alcanzado es similar al obtenido a las 48 h, hemos decidido utilizar este modelo de infección a las 18 h para nuestros estudios terapéuticos.

Este modelo de infección de catéter por *S. aureus* ha permitido estudiar hasta la fecha alguno de estos puntos: el papel de la heparina y su interacción *in vivo* con los antibióticos en el tratamiento local del catéter infectado[60], valorar la eficacia de diversas pautas terapéuticas administradas localmente mediante la técnica del *antibiotic-lock* y evaluar la aparición de resistencias cuando se administra rifampicina a dosis elevadas (3.000 μg/ml) durante diversos intervalos de tiempo[61].

Ensayos *in vitro* predictores de la eficacia antibiótica en las infecciones relacionadas con cuerpo extraño

La elección de un tratamiento antibiótico se basa en su actividad *in vitro* (CMI) y en sus características farmacocinéticas. En el tratamiento de una infección protésica estos condicionantes no son suficientes, puesto que frecuentemente la infección persiste a pesar de un tratamiento apropiado durante un tiempo prolongado. Por tanto, es necesario realizar tests *in vitro* que predigan mejor la evolución del tratamiento antibiótico, teniendo en cuenta lo que sucede habitualmente en las infecciones de cuerpo extraño. En esta situación, las bacterias se hallan en una fase estacionaria de crecimiento[62], con lo que su sensibilidad frente a los antibióticos es menor, y además están adheridas al plástico, y englobadas en un magma de fibrina y tejido de granulación que dificulta la actividad de los antibióticos[62,63]. Los estafilococos pueden secretar además una sustancia mucoide, glicocálix o *slime*, que los envuelve obstaculizando aún más la acción de los antimicrobianos. La simple determinación de la CMI no

TABLA I
RESULTADOS DE LA ESTANDARIZACIÓN DE UN MODELO *IN VIVO* DE INFECCIÓN DE CATÉTER. INFECCIÓN ENDOLUMINAL CON 0,7 ml DE UNA SUSPENSIÓN DE *S. AUREUS* A 10^8 UFC/ml

Tiempo[a]	*Muertos/total*	*Rodaje*[b]	*HCC/HCP*[c]	*Lavado*[d]	*Sonicado*[e]
18	0/10	10/10	10/10	4,1 ± 1,2	4,5 ± 1,1
48	2/10	8/8	8/8	4,0 ± 1,5	4,1 ± 1,3

UFC: unidades formadoras de colonias.
[a]Tiempo en horas desde la infección al sacrificio.
[b]Técnica de Maki; número de positivos (> 100 UFC/ml)/número total.
[c]Número de UFC/ml en el hemocultivo cuantitativo transcatéter (HCC) dividido por el número de UFC/ml en el hemocultivo cuantitativo periférico (HCP) superior a cuatro veces.
[d]Resultado expresado como media ± desviación estándar del logaritmo decimal del número total de UFC recuperadas.

predice la evolución de la infección de un cuerpo extraño, donde las bacterias están en fase estacionaria y adheridas.

En este sentido, es interesante la aportación de Ramírez de Arellano et al[64] sobre la actividad de los antimicrobianos sobre biocapas de bacterias adheridas a catéteres de plástico. El método consiste, esencialmente, en la formación de biocapas de *Staphyloccus epidermidis* sobre catéteres de polivinilo. Para ello se desarrollan las biocapas en condiciones estáticas, incubando 50 segmentos de catéter en tubos que contienen 50 ml de caldo de Mueller-Hinton inoculado con *S. epidermidis* (10^5 UFC/ml). Los segmentos de catéteres se incuban 6,24 y 48 h a 37 °C.

El número de bacterias adheridas durante cada período de incubación se determina lavando tres veces un segmento de catéter con tampón fosfato frío (phosphate buffer sodium [PBS]) y estéril (pH = 7,2-7,4). Posteriormente se deposita cada segmento en un tubo que contiene 2 m de PBS, se sonica durante 1 min en un baño de sonicación a 45 kHz (Ultrasons, Selecta), y se agita en vórtex durante 15 s. A continuación se diluye el contenido del tubo y se siembran 10 μl en placa de agar de Mueller-Hinton para el recuento tras la incubación durante 24 h a 37 °C.

Simultáneamente, se determina la CMI de las cepas por el método de microdilución utilizando dos tipos de inóculos: bacterias adheridas a segmentos de cloruro de polivinilo (PVC) y bacterias en suspensión. En el primer caso, el inóculo utilizado fueron catéteres de polivinilo sobre los que se había formado una biocapa. Transcurrido el período de adherencia se lavan los segmentos de polivinilo dos veces en PBS frío y estéril, y se depositan en los pocillos de la placa de microdilución que previamente se han preparado con caldo de Mueller-Hinton suplementado con cationes y diferentes diluciones de antimicrobianos. Paralelamente se determina la CMI de los antimicrobianos para las bacterias en suspensión siguiendo la normativa del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). En este caso se utiliza un inóculo bacteriano similar al número de bacterias que se adhieren a los segmentos de polivinilo. Se considera la CMI de la biocapa bacteriana como la menor concentración de antimicrobiano que inhibe el crecimiento visible macroscópicamente en el pocillo. Para determinar la CMB de la biocapa bacteriana, se lavan dos veces con PBS los segmentos de catéter de los pocillos en los que no había crecimiento visible, se sonica y se agita en vórtex cada uno de los segmentos. Finalmente, se siembran 10 μl en placa de agar de Mueller-Hinton para su recuento. La CMB se define como la menor concentración de antimicrobiano capaz de acabar con el 99,9 % del inóculo inicial.

Con esta metódica, Ramírez de Arellano et al[64] comprueban que las biocapas bacterianas sobre polivinilo son más resistentes a la actividad bactericida de los antimicrobianos, y cómo sólo determinadas asociaciones de antibióticos son capaces de esterilizar la superficie del biomaterial. La producción de *slime* no es el único mecanismo implicado[61-65]. Con una metodología similar se ha observado que la CMI de determinados antimicrobianos (carbapenémicos) frente a bacilos gramnegativos se incrementa extraordinariamente en presencia de determinados plásticos (látex siliconizado). Este fenómeno se debe a alteraciones en las proteínas de la membrana externa bacteriana (porinas) inducidas por alguno de los componentes del biomaterial plástico aún por determinar[66].

BIBLIOGRAFÍA

1. Ingraham FD, Alexander E Jr, Matson DD. Synthetic plastic materials in surgery. N Engl J Med 1947; 236: 362-368.
2. Fry WJ, Lindenauer SM. Infection complicating the use of plastic arterial implants. Arch Surg 1967; 94: 600-609.
3. Dougherty SH, Simmons RC. Infections in bionic man: the pathobiology of infections in prosthesic devices. Curr Probl Surg 1982; 19: 219-239.
4. Bucholtz HW, Elson RA, Engelbrecht E, Lodenkämper H, Röttger J, Siegel A. Management of deep infection of total hip replacement. J Bone Joint Surg 1981; 63B: 614-618.
5. Widmer A. Intravenous-related infections. En: Wenzel RP, editor. Prevention and control of nosocomial infections (3ª ed.). Baltimore: Williams and Wilkins, 1997; 771-806.
6. Lidwell OM, Lowbury EJL, White W, Blowers R, Stanley SJ, Lowe D. Effect of ultraclean air in operating room on deep sepsis in the join after vtotal hip replacement: a randomized study. Br J Med 1982; 285: 10-14.
7. Fitzgerald RH Jr, Nolan DR, Elstrup DM, Van Scoy RE, Washington II Jr., Coventry MB. Deep wound sepsis following total hip arthroplasty. J Bone Joint Surg 1977; 59A: 847-855.
8. Hunter G, Dandy D. The natural history of the patient with an infected total hip replacement. J Bone Joint Surg 1977; 59B: 293-297.
9. Zimmerli W, Waldvogel FA. Models of foreign- body infections. En: Zak O, Sande MA, editores. Experimental models in antimicrobial chemotherapy. Londres: Academic Press, 1986; 295-318.
10. Rayfield EJ, Ault MJ, Keusch GT, Brothers MJ, Nechemias C, Smith H. Infection and diabetes: the

case for glucose control. Am J Med 1982; 72: 439-450.
11. Van der Meer JWM. Defects in host defense mechanisms. En: Rubin RH, Young LS, editores. Clinical approach to infection in the compromised host (3ª ed.). Nueva York: Plenum Medical Book Company, 1994; 33-66.
12. Zimmerli W, Waldvogel FA, Vadaux P, Nydegger UE. Pathogenesis of foreign body infection: description and characteristics of an animal model. J Infect Dis 1982; 146: 487-497.
13. Zimmerli W, Lew PD, Waldvogel FA. Pathogenesis of foreign body infection: evidence for a local granulocyte defect. J Clin Invest 1984; 73: 303-310.
14. Wipple AO. The use of silk in the repair of clean wounds. An Surg 1933; 98: 662-671.
15. Eleck SD, Conen PE. The virulence of *Staphylococcus pyogenes* for man. Br J Exp Pathol 1957; 38: 573-586.
16. James RC, McLeod CJ. Induction of staphylococcal infections in mice with small inocula introduced on sutures. Br J Exp Pathol 1961; 42: 266-277.
17. Moore WS. Experimental studies relating to sepsis in prosthesic vascular grafting. En: Duma RJ, editor. Infections of prosthetic heart valves and vascular grafts. Baltimore: University Park Press, 1977; 267-285.
18. Sauvage LR, Berger KE, Wood J, Yates SG, Smith JC, Mansfield PB. Interspecies healing of porous arterial prosthesis. Arch Surg 1974; 109: 698-705.
19. Malone JM, Moore WS, Campagna GC, Beam B. Bacteremic infectability of vascular grafts: the influence of pseudointimal integrity and duration of graft function. Surgery 1975; 78: 211-216.
20. Weber TR, Lindenauer SM, Miller TA, Salles CA, Ramsberg S, Gleich P. Focal Infection of aortofemoral prostheses. Surgery 1976; 79: 310-312.
21. Busuttil RW, Rees W, Baker D, Wilson SE. Pathogenesis of aortoduodenal fistula: experimental and clinical correlates. Surgery 1979; 85: 1-13.
22. Rutledge R, Burnham SJ, Johnson G Jr. The use of animal models in studying vascular graft infection. En: Zak O, Sande MA, editores. Experimental models in antimicrobial chemotherapy. Londres: Academic Press, 1986; 285-294.
23. Serota AI, Williams RA, Rose JG, Wilson SE. Uptake of radiolabeled leukocytes in prosthetic graft infection. Surgery 1981; 90: 35-40.
24. Grogan EL, Sande MA, Clark RE, Nolan SP. Experimental endocarditis in calf after tricuspid valve replacement. Ann Thorac Surg 1980; 30: 64-69.
25. Blomberg G, Lindgren U. Late hematogenous infection in total joint replacement. Clin Orthop 1981; 155: 244-248.
26. Zimmmerli W, Zak O, Vosbeck K. Experimental hematogenous infection subcutaneously implanted foreign bodies. Scand J Infect 1985; 17: 303-310.
27. Espersen F, Frimodt-Moller, N, Corneliussen L, Thamdrup Rosdhal V, Skinhoj P. Experimental foreign body infection in mice. J Am Coll Cardiol 1993; 31 (Supl D): 103-111.
28. Costerson JW, Geesey GC, Cheng KJ. How bacteria stick. Sci Am 1978; 238: 86-95.
29. Zimmerli W, Vaudaux P, Waldvogel FA, Nydegger UE. Foreign body infection: description of an animal model. Clin Res 1981; 29: 399A.
30. Carbon C, Chau NP, Contrepois A, Lamotte-Barrillon S. Tissue cage experiments with beta-lactam antibiotics in rabbits. Scand J Infect Dis 1978; (Supl 14): 127-134.
31. Bergan T. Pharmacokinetics of tissue penetration of antibiotics. Rev Infect Dis 1981; 3: 45-66.
32. Eickenberg HU. What is interstitial fluid? Biochemical and physiological analysis of fluid obtained from tissue cages. Scand J Infec Dis 1978; (Supl 14): 166-170.
33. Tshefu K, Zimmerli W, Waldvogel FA. Short-term rifampin administration in the prevention/eradication of foreign body infection. Rev Infect Dis 1983; 5 (Supl 3): 474-480.
34. Chuard C, Hermann M, Vadaux P, Waldvogel FA, Lew DP. Successful therapy of experimental chronic foreign body infection due to meticillin resistant S*taphylococcus aureus* by antimicrobial combinations. Antimicrob Agents Chemother 1991; 35: 2.611-2.616.
35. Fashing CE, Peterson LR, Moody JA, Sinn LM, Gerding DN. Treatment evaluation of experimental staphylococcal infections: comparison of beta-lactams, lipopeptide, and glycopeptide antimicrobial therapy. J Lab clin Med 1990; 116: 697-706.
36. Moody JA, Fasching CE, Sinn LM, Gerding DN, Peterson LR. Comparative efficacy of cefoperazone, cefoperazone plus sulbactam, ciprofloxacin, clindamycin, metronidazole, and penicillin G against anaerobic bacteria in an animal model. J Lab Clin Invest 1990; 115: 190-195.
37. Schaad HJ, Chuard C, Vadaux P, Waldvogel FA, Lew DP. Teicoplanin alone or combined with rifampin compared with vancomycin for prophylaxis of experimental foreign-body infection by meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 1994; 38: 1.703-1.710.
38. Zimmerli W, Frei R, Widmer AF, Rajacic Z. Microbiological tests to predict treatment outcome in experimental device-related infections due to *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother 1994; 33: 959-967.
39. O'Reilly T, Cleeland R, Squires EL. Evaluation of antimicrobials in experimental animal infections. En: Lorian V, editor. Antibiotics in laboratory medicine (4ª ed.). Baltimore: Williams and Wilkins, 1991; 604-765.
40. Widmer AF, Ochsner PE, Zimmerli W. Biocompatibility and resistance to infections of Teflon and ceramic (TCP) implants in guinea pigs [resumen B238]. Washington DC: Program and Abstracts of the Ninety-Second annual Meeting of the American Society for Microbiology, New Orleans 1992. American Society for Microbiology, 1992; 65.
41. Henderson DK. Bacteremia due to percutaneous intravascular devices. En: Mandell GL, Bennett JE,

Dolin R, editores. Principles and practice of infectious diseases. Nueva York: Churchill Livingstone, 1995; 2.587-2.599.
42. Capdevila JA. Catheter-related infection: an update on diagnosis, treatment, and prevention. Int J Infect Dis 1998; 2: 230-236.
43. Morís de la Tassa J, Fernández P, Antuña A, Gutiérrez MC, De la Fuente B, Cartón JA. Estudio de los costes asociados a la bacteriemia relacionada con el catéter. Rev Clin Esp 1998; 198: 641-646.
44. Pearson ML. Guideline for the Prevention of intravascular device-related infections. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. Infect Control Hosp Epidemiol 1996; 17: 438-473.
45. Raad II, Hohn DC, Gilbreath J, Suleiman N, Hill LA, Bruso P et al. Prevention of central venous catheter-related infections by using maximal sterile barrier precautions during insertion Inf Control Hosp Epidemiol 1994; 15: 231-238.
46. Maki D, Stolz SM, Wheeler S, Mermel LA. Prevention of central venous catheter-related bloodstream infection by use of an antiseptic-impregnated catheter. Ann Intern Med 1997; 127: 257-267.
47. Raad I, Darouiche R, Hachem R, Sacilowski M, Bodey GP. Antibiotics and prevention of microbial colonization of catheters. Ant Agents Chemother 1995; 39: 2.397-2.400.
48. Segura M, Álvarez F, Tellado JM, Jiménez-Farreres J, Oms L, Rello J et al. A clinical trial on the prevention of catheter-related sepsis using a new hub model. Ann Surg 1996; 223: 363-369.
49. Maki DG. Pathogenesis, prevention and management of infections due to intravascular devices used for infusion therapy. En: Bisno AL, Waldvogel FA, editores. Infections asociated with indwelling medical devices. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1989; 161-177.
50. Liñares J, Sitges-Serra A, Garau J, Pérez JL, Martin R. Pathogenesis of catheter sepsis: a prospective study with quantitative and semiquantitative cultures of catheter hub and segments. J Clin Microbiol 1985; 21: 357-360.
51. Moro ML, Franco E, Cozzi A. The central venous catheter-related infections study group. Risk factors for central venous catheter-related infections in surgical and intensive care patients. Inf Control Hosp Epidemiol 1994; 15: 253-264.
52. Capdevila JA, Segarra A, Planes AM, Ramírez de Arellano M, Pahissa A, Piera L et al. Successful treatment of haemodialysis catheter-related sepsis without catheter removal. Nephrol Dial Transplant 1993; 8: 231-234.
53. Capdevila JA, Gavaldà J, Pahissa A. Antibiotic-lock technique: its usefulness and its controversies. Antimicrob Infect Dis Newslet 1996; 15: 9-13.
54. Segura M, Alia C, Valverde J, Franch G, Torres Rodríguez JM, Sitges-Serra A. Assessment of a new hub design and the semiquantitative catheter culture method using an *in vivo* model of catheter sepsis. J Clin Microbiol 1990; 28: 2.551-2.554.
55. Pérez Sáenz JL. Bases microbiológicas para el tratamiento de la sepsis asociada a catéteres [tesis doctoral]. Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona, 1990.
56. Patrick CC, Hetherington SV, Roberson PK, Henwick S, Sloas MM. Comparative virulence of *Staphylococcus epidermidis* isolates in a murine catheter model. Pediatr Res 1995; 37: 70-74.
57. Capdevila JA, Planes AM, Palomar M, Gasser I, Almirante B, Pahissa A et al. Value of differential quantitative blood cultures in the diagnosis of catheter-related sepsis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1992; 11: 403-407.
58. Maki DG, Weise CE, Serafin HW. A semiquantitative culture for identifying intravenous catheter-related infection. N Engl J Med 1977; 296: 1.305-1.309.
59. Sheretz RJ, Raad II, Balani A. Three-year experience with sonicated vascular catheter cultures in a clinical microbiology laboratory. J Clin Microbiol 1990; 28: 76-82.
60. Capdevila JA, Gavaldà J, Laguarda M, López P, Pahissa A. Evaluation of antibacterial activity of sodium heparin (H) in the treatment of experimental catheter-related infection (CRI) due to *Staphyloccus aureus* (SA) using the antibiotic-lock technique (ALT) [póster B-101]. En: American Society for Microbiology, editores. Abstract book of 37th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Toronto: ICAAC, 1997; 44.
61. Capdevila JA, Gavaldà J, López P, Borrell N, Fortea J, Pahissa A. Efficacy of Rifampin (R) in the treatment of experimental *Staphylococcus aureus* catheter-related infection (CRI) using the antibiotic-lock technique (ALT) [póster B-71a]. En: American Society for Microbiology, editores. Abstract book of 38th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. San Diego: ICAAC, 1998; 65.
62. Proctor RA, Kahl B, Von Eiff Ch, Vadaux PE, Lew DP, Peters G. Staphylococcal small colony variants have novel mechanisms for antibiotic resistance. Clin Infect Dis 1998; 27 (Supl 1): 68-74.
63. Pascual A, Ramírez de Arellano E, Perea EJ. Activity of glycopeptides in combination with amikacin or rifampin against *Staphylococcus epidermidis* biofilms on plastic catheters. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994; 13: 515-517.
64. Ramírez de Arellano E, Pascual A, Martínez-Martínez L, Perea EJ. Actividad de antimicrobianos en biocapas de *Staphylococcus epidermidis* sobre catéteres de cloruro de polivinilo. Enferm Infecc Microbiol Clin 1995; 13: 581-586.
65. Ramírez-Ronda CH, Fuxench-Chiesa ZZ. *Ex vivo* models for studying adherence of bacteria/fungi to host tissues. En: Zak O, Sande MA, editores. Experimental models in antimicrobial chemotherapy. Londres: Academic Press, 1986; 33-54.
66. Martínez L, Pascual A, Conejo MC, Picabea L, Perea EJ. Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to imipenem induced by eluates from siliconized latex urinary catheters is related to outer membrane protein alterations. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 397-399.

DISCUSIÓN

E.M. Targarona: Como cirujano interesado en la infección quirúrgica, me gustaría introducir dos precisiones desde el punto de vista de la práctica clínica. Una se refiere a la clasificación de los modelos de infección por cuerpo extraño; habitualmente nosotros separamos claramente las prótesis subcutáneas u óseas, sea una prótesis de rodilla, una placa, una malla para sustitución de la pared abdominal, donde el problema es la contaminación peroperatoria, de lo que son los cuerpos extraños intravasculares, como puede ser un catéter, donde existe una fisiopatología propia derivada de su manipulación para la perfusión parenteral. La segunda precisión que me gustaría incluir hace referencia al creciente interés en los últimos años por la utilización de mallas sintéticas con el fin de paliar el problema de la infección quirúrgica. Esto ha conllevado la realización de numerosos estudios para valorar tanto la integración tisular de estos biomateriales como la prevención de infecciones, mediante la adición de diferentes soluciones, como por ejemplo de sales argénticas, a la constitución de la malla. Se trata de datos con directa aplicación clínica y que se basan en modelos experimentales que han sido de mucha utilidad y a su vez técnicamente muy sencillos.

J.L. Rodríguez Tudela: ¿Cómo se consigue estandarizar el inóculo adherido al catéter vascular?

J.A. Capdevila: Se incuban pedazos de catéter con un caldo de cultivo y se dejan a diferentes intervalos de 16, 24 o 48 h. Nosotros lo efectuamos a las 24 h, posteriormente se lavan con tampón fosfato y se sonica el catéter para obtener el inóculo de bacterias adheridas a éste. El día del experimento disponemos de esta información previa y sabemos el número de bacterias que tendremos adheridas al catéter. Una vez lavado el trozo de catéter obtenemos la CMI.

A. Pascual: Me gustaría resaltar la importancia que tienen aquí los estudios *in vitro,* particularmente si los comparamos con otros modelos experimentales de infección. Si nos fijamos en los estándares que tiene que cumplir cualquier material que se va a utilizar en biomedicina, es decir, la realización de estudios exhaustivos de biocompatibilidad, de citotoxicidad, etc., es, sin embargo, curiosa la inexistencia de pruebas de adherencia bacteriana o de pruebas de interacción con los mecanismos de defensa, a pesar de que la infección es la complicación más frecuente y costosa del uso de estos materiales. A menudo la importancia del material empleado se deja un poco en segundo plano, cuando las diferencias entre un tipo de material y otro son importantes. En el mundo de la ortopedia, por ejemplo, las bacterias en general se adhieren mucho más al acero inoxidable que a cualquier otra aleación de titanio u otro metal. En el plástico, en general, los bacilos gramnegativos se adhieren muchísimo más a un látex siliconizado que a un poliuretano o PVC. Incluso algunos materiales *per se* son tóxicos para la función del propio sistema inmune, como es el caso del látex siliconizado o el acero inoxidable que alteran la función bactericida de los polimorfonucleares. Y, finalmente, un aspecto novedoso que nos hemos encontrado en parte por casualidad, es la existencia de algunas bacterias, concretamente *Pseudomonas aeruginosa*, que al estar en contacto con sondas urinarias de látex se hacen resistentes a determinados antibióticos. No me refiero ya al aumento de CMB, sino que la CMI, concretamente de carbapenémicos, aumenta 16 o 32 veces. Parece ser que la bacteria adquiere resistencia por un mecanismo intrínseco, concretamente mediante la desaparición de una proteína de membrana externa o la aparición de una nueva. Es decir, que las bacterias, en contacto con un plástico, se hacen resistentes a los antibióticos porque ese plástico libera alguna sustancia, todavía por identificar, y sobre la que estamos trabajando. Esto podría explicar parcialmente por qué es tan difícil curar con antibióticos determinadas infecciones asociadas a materiales o a cuerpo extraño.

J. Ariza: Creo que al discutir el tema de las bacterias adherentes y de la dificultad de curación de las infecciones por cuerpos extraños, debemos considerar un triángulo de variables: *a)* ¿de qué cuerpo extraño estamos hablando? No es lo mismo curar una infección de prótesis, una infección vascular o una infección de malla; *b)* ¿qué antibiótico utilizamos y cómo se comportan los diferentes antibióticos ante estas situaciones?, y *c)* ¿de qué microorganismos se trata?, no tanto porque va a requerir un nuevo antibiótico, sino porque el propio microorganismo tampoco se comporta de la misma forma. A partir de estos puntos cabría añadir una serie de cuestiones: al hablar de bacterias adherentes, nos referimos exclusivamente a *Staphylococcus aureus*, ¿existe en la bibliografía información respecto al comportamiento de bacterias adherentes gramnegativas? He llegado a la conclusión de que ante *S. aureus*, la ri-

fampicina sería el único antibiótico a destacar, puesto que esa adherencia no modifica de forma importante su capacidad antibiótica; este criterio, ¿se puede aplicar en bacilos gramnegativos y quinolonas? Me gustaría obtener una respuesta a todas estas preguntas, puesto que son las incógnitas que hay que resolver en la práctica clínica del día a día. Para la resolución de las infecciones de cuerpos extraños los médicos deberíamos tener criterios muy claros. Por otro lado, y como última reflexión, parece que existe cierta disociación entre lo que se publica respecto a la sensibilidad de los estafilococos a la rifampicina y lo que ocurre en nuestros hospitales. No sé si esto se debe a problemas en el laboratorio al estudiar el comportamiento de la rifampicina *in vitro,* pero es un punto que tampoco acabo de entender.

A. Pascual: Me encantaría poder contestar a todas estas preguntas de Javier Ariza, pero por desgracia nos movemos en un mundo extraordinariamente complejo. Sobre el tema de los bacilos gramnegativos, en estudios *in vitro* muchos se comportan igual que los estafilococos, formando biocapas que se hacen extraordinariamente resistentes. En *Pseudomonas* está muy bien establecido, se conoce y se sabe que es muy difícil de erradicar sólo con el uso de antimicrobianos. El problema está en que, por complicarlo aún más, los biomateriales se comportan de manera muy distinta, incluso en términos de efectos de los antibióticos; es decir, la actividad de un antibiótico en una biocapa bacteriana no va a ser igual en la superficie de PVC que en una superficie de poliuretano; por lo menos lo que nuestros estudios *in vitro* demuestran es que hay determinados plásticos en que el antibiótico actúa de manera más eficaz, posiblemente por la propia constitución de la biocapa. Se trata, sin embargo, de estudios *in vitro*, con todas las limitaciones que ello conlleva. Es un mundo muy complejo en el que intervienen infinidad de factores que son complicados de analizar de una forma independiente. Es obvio que se requieren más modelos experimentales que nos permitan resolver tantas incógnitas. En cuanto a la rifampicina, y si te he entendido correctamente, no tenemos ningún tipo de problema en determinar su sensibilidad *in vitro* en nuestro laboratorio.

J.A. Capdevila: Nosotros, en cuanto a la rifampicina, hemos hecho algunas biocapas. No tenemos toda la batería hecha pero ya observamos que aumenta la CMB pero no tanto como ocurre en proporción con la vancomicina, pero lo que sucede es que con rifampicina partimos de unos niveles de sensibilidad muy bajos y conseguimos unas concentraciones muy altas en el catéter y, probablemente, esto sea muy favorable desde el punto de vista terapéutico, a pesar de que pueda aumentar un poco la CMB por el hecho de estar adheridas formando biocapas. Y, además, si realizamos el experimento manteniendo 3 mg de rifampicina en el interior del catéter durante 72 h, no aparece ninguna cepa resistente como ocurría a las 24 h. Probablemente esto sea por la exposición continuada al antibiótico que acaba con la posible emergencia de mutaciones.

J.M. Gatell: Álvaro Pascual, cuando hablabas de cepas que se vuelven resistentes en contacto con el material extraño, ¿te referías a un problema físico de acceso del antibiótico por el *slime* o por el glicocálix, o a cambios intrínsecos en la composición enzimática de la cepa?

A. Pascual: Clásicamente, todo lo que sabíamos de la actividad de los antibióticos en biocapas era que el antibiótico no era activo porque no llegaba, por la existencia de impermeabilidad de la biocapa, porque las bacterias se hallaban en estado latente y al no multiplicarse rápido algunos antibióticos, como los betalactámicos, por ejemplo, no podían actuar, etc. Pero ahora podemos añadir un nuevo concepto: la existencia de algo que se libera del látex siliconizado, que convierte la bacteria en resistente; es decir, la CMI a carbapenémicos se incrementa. Esto se observa tanto en presencia del biomaterial como en presencia de un medio de cultivo que ha contenido fragmentos de biomaterial durante unas horas. Sabemos que es por expresión de una nueva y eliminación de una de las porinas, proteína de membrana externa exactamente, de *Pseudomona aeruginosa.*

J.M. Miró: De las conclusiones obtenidas mediante vuestro modelo experimental, ¿habéis realizado algún tipo de aproximación a la clínica a la hora de intentar esterilizar los catéteres de diálisis, o basándose, sobre todo, en utilizar concentraciones de antibióticos muy elevadas por encima de las CMB de *S. aureus*?

J.A. Capdevila: Somos un poco atípicos porque hemos empezado por la clínica y hemos acabado por el laboratorio. Ya hace tiempo que esterilizamos los catéteres por *S. epidermidis* y por *S. aureus*. El problema de este último es más complejo por el hecho de la bacteriemia asociada, que muchas veces nos obliga a retirar el catéter de entrada. Pero, sobre todo, por *S. epidermidis* y por bacilos gramnegativos, los hemos esterilizado con dosis altas de ciprofloxacino o amikacina, o bien con vancomicina frente

a *S. epidermidis*. Estos resultados, ya publicados, han sido positivos en más del 90 % de los casos estudiados. Además, contrastan con resultados de series de pacientes que hemos revisado de la bibliografía que siendo tratados de una forma conservadora con antibióticos sistémicos y en algunos casos con perfusión continuada de antibióticos obtuvieron un fracaso del 30 %, entendiendo como tal la retirada precoz del catéter o bien que, una vez retirado, se constatase su infección.

J.M. Miró: En la práctica clínica ¿incluis siempre heparina?

J.A. Capdevila: Sí, porque no nos atrevemos a quitarla, aunque según la bibliografía no es necesario heparinizar un catéter que está cerrado, siempre y cuando tenga un calibre grande y esté en un vaso central, situación en la que el riesgo de trombosis es muy reducido. Además, es un problema de manejo, ya que es más complicado tener que preparar la mezcla de la heparina con la vancomicina que utilizar el antibiótico directamente.

A. Giménez: Como responsable de estabulario, querría formular una pregunta sobre los criterios en la elección de vuestros modelos experimentales y, concretamente, respecto al género del animal de experimentación. En un mismo modelo he apreciado que un grupo de investigadores emplea machos, mientras que otro utiliza hembras. Alguno de vosotros creo que ha comentado, incluso, la posibilidad de variaciones en los resultados con respecto al sexo. ¿Qué criterio rige la elección del género en vuestros modelos experimentales?

J. Gavaldà: No tengo conocimiento de que se hayan demostrado diferencias con el empleo de uno u otro género en un mismo modelo experimental.

J. Pachón: En el modelo de neumonía C57 BL6 se utilizan ratones hembras porque el modelo se estandarizó en este género, pero desconozco la existencia de diferencias con ratones machos. En cobayas el género es indistinto y en ratas, aunque nosotros no tenemos experiencia, tampoco he oído hablar de diferencias.

P.J. Cardona: En tuberculosis la elección del género es muy importante porque utilizamos modelos crónicos en los que los animales permanecen infectados durante meses. En esta situación, se ha observado que los machos poseen mayor agresividad, lo que desencadena una mortalidad superior. Por este motivo, se utilizan preferentemente hembras, a pesar de que los cambios hormonales de este género podrían ser un factor limitante considerable que puede afectar a la propia infección.

M. Cuenca-Estrella: En micología, donde no existe prácticamente ningún modelo estandarizado, se dispone de publicaciones en las que se han usado ambos géneros sin que se observen diferencias. Incluso se utiliza un modelo en ratones lactantes donde se mezclan ambos sexos en un mismo experimento.

C. Cabellos: En meningitis se utilizan animales hembras siguiendo el modelo descrito inicialmente. La única explicación al respecto es que se trata de un modelo que necesita mucha anestesia porque los animales tienen que estar dormidos durante períodos muy largos de tiempo y parece ser que la cantidad de anestesia que precisan las hembras es menor que la de los machos.

J. Cantó: Desde mi punto de vista si realmente no hay diferencias y por razones éticas, puesto que hasta el momento no podemos seleccionar el género de los animales, quizá sería aconsejable utilizar ambos; si hubiera diferencias, sería también aconsejable utilizar los dos géneros para poder constatar y estudiar estas diferencias.

J. Barberán: Hemos utilizado ambos géneros muchas veces por disponibilidad de uno u otro en el estabulario. De todas formas, preferimos el macho por dos motivos: porque a veces nos hemos encontrado con algunas hembras preñadas, y porque según nuestra experiencia el macho es más dócil de manejar a la hora de inyectar el antibiótico.

J.M. Miró: En el modelo de endocarditis no creo que haya ninguna diferencia en utilizar machos o hembras, ni en la farmacocinética ni en el desarrollo de lo que es el modelo en sí. De todas maneras, la impresión es que cada uno de nosotros ha aprendido el modelo con uno u otro género, y así se ha ido perpetuando. Tal vez sería interesante investigar esta posible influencia de la anestesia en relación con el género.