

ARTÍCULO DE REVISIÓN

ACTUALIDADES EN TERAPÉUTICA: NUEVOS ANTIBACTERIANOS

Segura Cano, Sofía¹ y Brenes Madrigal, Mary Yesenia¹

¹Departamento de Farmacología y Toxicología Clínica de la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica, San Pedro, San José, Costa Rica.

Resumen: La resistencia bacteriana a antibióticos es un problema con enormes repercusiones a nivel de la salud pública mundial, incluyendo Costa Rica. Esta situación ha llevado a organizaciones internacionales a tomar medidas encaminadas a mitigar el problema. Dentro de las medidas sugeridas se incluyen: la identificación de los microorganismos bacterianos multirresistentes, la vigilancia epidemiológica, la implementación de estrategias que minimicen la resistencia y el desarrollo de nuevos fármacos. En el marco de esta última sugerencia, este trabajo analiza los nuevos antibacterianos aprobados por agencias reguladoras en el periodo 2007-2014, así como los fármacos en fases II y III de desarrollo en Estados Unidos y Europa. Los datos obtenidos evidencian que la mayor parte de los fármacos nuevos son modificaciones de moléculas de familias conocidas, llamando la atención sobre la necesidad de innovar las estrategias farmacológicas. Otras alternativas analizadas, aún en investigación, son el desarrollo de fármacos con mecanismos de acción no tradicionales, que incluye el aislamiento de lantibióticos, el estudio de fuentes marinas, la síntesis de híbridos, la investigación de péptidos antimicrobianos, el uso de bacteriófagos y el desarrollo de fármacos que modifiquen la virulencia. Se concluye que a pesar de la extensa investigación en el tema, en muchos casos, esta no se ha traducido en opciones disponibles para uso médico.

Palabras clave: Agentes antibacterianos, Resistencia a drogas, Nueva droga. Fuente: NLM, MeSH.

Recibido: 13 Enero 2014. Aceptado: 28 Marzo 2014. Publicado: 23 Abril 2014.

CURRENT AFFAIRS IN THERAPEUTIC: NEW ANTIBACTERIALS

Abstract: Bacterial resistance to antibiotics is a major problem that affects public health worldwide, including Costa Rica. This situation has led to international organizations to take measures to alleviate the problem. Within these measures the identification of multiresistant bacterial organisms, epidemiological surveillance, implementation of strategies to minimize resistance and the development of new drugs are suggested. Following this last suggestion, this paper analyzes the new antibacterial approved regulatory agencies in the period 2007-2014, as well as drugs in phase II and III development in the U.S. and Europe. The data show that most of the new drugs are modifications of molecules from known families, calling attention to the need to innovate pharmacological strategies. Other analyzed alternatives, still in investigation, are the development of drugs with non-traditional action mechanisms, including isolation of lantibiotics, study of marine sources, hybrid synthesis, research on antimicrobial peptides, the use of bacteriophages and the development of drugs that modify virulence; although these options are still under research. We concluded that despite extensive research on the subject, in many cases this has not translated into options available for medical use.

Key words: Anti-bacterial Agents, Drug Resistance, New drug.

INTRODUCCIÓN

El presente artículo tiene como objetivo analizar las nuevas opciones antibacterianas de uso sistémico y en periodo de investigación, así como sintetizar la información publicada sobre resistencia en Costa Rica.

La resistencia bacteriana es un problema mundial que tiene implicaciones y consecuencias en múltiples aspectos del área de la salud. La evolución y la diseminación acelerada de los elementos de resistencia representan una alarma que no tiene fronteras.

Después del descubrimiento de los primeros antibacterianos: penicilina y sulfonamidas, le tomó a las bacterias entre 5 y 10 años para desarrollar mecanismos de resistencia a estos fármacos; hecho que se ha repetido para la gran mayoría de antibióticos que se han lanzado al mercado [1-3].

A pesar de que los antimicrobianos son drogas que modifican la evolución de muchas enfermedades infecciosas, son prescritos erróneamente hasta en un 50% de los casos, lo que favorece una presión selectiva para la aparición de cepas resistentes [3-5].

Por otro lado, las infecciones por gérmenes multirresistentes se asocian a exposición de antimicrobianos de amplio espectro y estancias hospitalarias prolongadas, esto se traduce en el aumento de los costos de atención de la salud y mayores tasas de morbilidad y mortalidad [4,6].

Aunado a esto, se está experimentando un fenómeno caracterizado por un menor desarrollo de fármacos nuevos y, sobre todo, por la carencia de mecanismos de acción innovadores [1,2,3,6,7,8,9].

Por tanto, se evidencia la necesidad urgente de crear nuevas opciones terapéuticas y

reflexionar sobre las opciones ya existentes [1,2,3,6,7,8,9].

METODOLOGÍA

RESISTENCIA EN COSTA RICA

Se realizó una búsqueda de literatura utilizando las bases de datos: Scielo (Scientific Electronic Library Online, Sao Paulo, Brasil; lo publicado hasta febrero de 2014) y Medline (National Library of Medicine, Bethesda, MD, USA; lo publicado hasta febrero de 2014). Las palabras claves utilizadas fueron drug resistance AND Costa Rica. Se incluyeron artículos publicados en inglés y español. Se limitó la búsqueda a aquellos artículos que hicieran referencia al desarrollo de resistencia en muestras de pacientes de estudios clínicos, hospitales u otros centros de salud del país. Se excluyeron los estudios referentes al desarrollo de resistencia en alimentos, fuentes de agua, entre otros. Se encontraron 19 publicaciones, los cuales se ordenaron cronológicamente y se clasificaron de la siguiente manera: 1978-1994, 2 artículos; 1995-2001, 8 artículos; y 2002-febrero de 2014, 9 artículos.

ANTIBACTERIANOS DE USO SISTÉMICO COMERCIALMENTE DISPONIBLES

Se realizó una búsqueda de los fármacos disponibles, utilizando las bases de datos: Drugs@FDA (U.S. Food and Drug Administration, Silver Spring, MD, USA; 2007-2014) y European Medicines Agency (European Medicines Agency, London, UK; 2007-2014).

ANTIBACTERIANOS DE USO SISTÉMICO EN FASES II Y III DE DESARROLLO

Se realizó una búsqueda de los fármacos en desarrollo, utilizando las bases de datos: ClinicalTrials.gov (U.S. National Institute of Health, Bethesda, MD, USA; 2005-2014) y EU Clinical Trials Register (European Medicines Agency, London, UK; 2005-2014).

Se incluyeron solamente estudios en proceso o completados. Se excluyeron los estudios que fueron terminados prematuramente y aquellos que estuvieran en periodo de reclutamiento.

RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) [10], la resistencia a los antibióticos es la capacidad de un microorganismo para resistir a los efectos del fármaco. Este fenómeno lleva al continuo crecimiento de microorganismos a pesar de concentraciones que superan los niveles tóxicos para las bacterias [1].

A su vez, la multiresistencia se define como la no susceptibilidad a uno o más antibióticos de clases diferentes. Un germen extremadamente resistente es aquel que no es susceptible, al menos a un agente, en casi todas las categorías de antimicrobianos, pero, sigue siendo susceptible a una o dos categorías. Mientras que los gérmenes pan-resistentes no son susceptibles a ningún agente, en ninguna categoría, es decir, no hay tratamiento para dicho organismo [11].

La resistencia a los antimicrobianos se puede clasificar en dos grandes grupos: la intrínseca y la adquirida [12,13].

La resistencia intrínseca es aquella que ha sido desarrollada por las poblaciones de bacterias en ausencia del uso humano de antibacterianos. Podría decirse que aparece de forma natural y es una propiedad innata de las bacterias [10-12].

La OMS [10] define resistencia adquirida como: "el fenómeno por el cual un microorganismo deja de verse afectado por un antimicrobiano al que anteriormente era sensible".

La resistencia adquirida es también llamada resistencia genética, surge debido a una mutación puntual en el material genético propio de la bacteria, lo que se conoce como evolución vertical. Esta se transmite cuando la bacteria se reproduce

por fisión binaria y hereda a su progenie la copia exacta de su material genético [13,14,15,16].

Sin embargo, la resistencia también puede aparecer como resultado de la ganancia de un gen proveniente de otro organismo; esto se denomina evolución horizontal y puede ocurrir entre cepas de la misma especie o entre diferentes géneros o especies bacterianas [1,12-15].

En la transferencia horizontal, los mecanismos de intercambio de material genético incluyen conjugación, transducción y transformación [12,15,16]. La presencia de plásmidos, transposones e integrones cumplen un papel muy importante en la diseminación de esta [12,14-16].

MECANISMOS DE RESISTENCIA

Las bacterias han desarrollado mecanismos de protección contra la acción de los antimicrobianos a través de diferentes métodos [1].

En la Tabla 1 se describen los principales mecanismos de resistencia. Si bien es cierto, los mecanismos mencionados son los más conocidos, no son los únicos. La resistencia a las sulfonamidas puede estar mediada por la sobreproducción de la enzima dihidropteroato sintetasa [14]. Asimismo, algunos autores consideran la formación biopelículas como parte de los mecanismos de resistencia [12].

Tabla 1. Mecanismos de resistencia bacteriana.

Mecanismo de resistencia	Definición	Ejemplo
Inactivación enzimática	Producción de enzimas que neutralizan los antibacterianos [14,18].	<i>Klebsiella pneumoniae</i> productora de carmapenemasas (enzimas que dividen el enlace amida del anillo de los β-lactámicos y le confiere resistencia a toda la categoría). Gen: blaKPC, mediado por plásmidos [19].
Alteración del sitio blanco	Modificación del sitio de acción del antibiótico ocasionando pérdida de la afinidad [12,14,16,18].	SARM codifica por PBP2a (proteína con baja afinidad por los β – lactámicos). Gen: mecA [14,20,21].
Impermeabilidad	Modificación en la disponibilidad de los canales denominados porinas lo que conlleva a la disminución de la entrada del antibiótico al interior de la célula [12,14,16].	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente al imipenem por pérdida de la porina D2. Gen: oprD [22,23].
Bombas de expulsión	Bombas dependientes de energía que pueden transportar activamente hacia el exterior algunos antibióticos [12,14,16].	<i>Streptococcus pyogenes</i> codifica para bombas de expulsión que le confieren resistencia a los macrólidos de 14 y 15 átomos [14,24]. Gen: mefA

SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a metilina; PBP: Proteínas de unión a los β – lactámicos



MICROORGANISMOS IMPORTANTES

Los microorganismos más frecuentemente relacionados con mecanismos de resistencia son los llamados patógenos ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter* spp.) [17].

Los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés) ante esta situación y sus repercusiones, han creado sistemas de información y estrategias para abordar el problema. Los CDC dividen a los gérmenes según la amenaza que representan y en algunos casos son específicos en cuanto al antibiótico al que son resistentes. Se distinguen [4]:

- Amenazas urgentes: *Clostridium difficile*, Enterobacteriaceae resistentes a carbapenémicos y *Neisseria gonorrhoeae* resistente a drogas.
- Amenazas graves: *Acinetobacter* spp. multirresistente, *Campylobacter* spp. resistente a drogas, Enterobacteriaceae productoras de beta lactamasas de espectro extendido (BLEE), *Enterococcus* spp. resistentes a vancomicina (ERV), *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente, *Salmonella* no tifoidea resistente a drogas, *Salmonella* tifoidea resistente a drogas, *Shigella* spp. resistente a drogas, *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (SARM), *Streptococcus pneumoniae* resistente a drogas, tuberculosis resistente a drogas.
- Amenazas considerables: *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina (SARV), *Streptococcus* del grupo A resistente eritromicina, *Streptococcus* del grupo B resistente a clindamicina.

RESISTENCIA EN COSTA RICA

Debido que se han llevado a cabo diversas investigaciones en torno al tema de resistencia bacteriana, y sus características epidemiológicas en Costa Rica, a continuación se brinda la información publicada en orden cronológico.

Investigaciones realizadas en el periodo 1978-1994

En el ámbito nacional, la preocupación por la aparición de cepas resistentes data de 1978, cuando se alerta por la presencia de infecciones intrahospitalarias por *K. pneumoniae* multirresistente en el Hospital Nacional de Niños [25].

De igual manera, en el Hospital Nacional de Niños, se analizaron los resultados procedentes de un estudio de nueve años (1977-1985). Dicho estudio señala un aumento de la resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMS) del 28% en muestras de orina que contenían, principalmente, cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. Además, en la familia Enterobacteriaceae, se demostró un incremento del 11% en la resistencia a la amikacina en muestras de secreciones, abscesos, heridas, sangre y LCR. En relación con *Shigella* spp., se evidenció una disminución de la sensibilidad del 40% para el TMP-SMS. En el caso de *S. aureus*, los autores reportaron un aumento de la resistencia en un 50% a la penicilina [26].

Investigaciones realizadas en el periodo 1995-2001

Las investigaciones hechas durante este periodo se clasificaron en dos grupos: estudios epidemiológicos en centros de salud y estudios específicos para las siguientes patologías: infecciones en tracto respiratorio alto, infecciones genitourinarias, infecciones gastrointestinales e infecciones sistémicas.

- **Estudios epidemiológicos en centros de salud**

De 1995 a 1999, en el Hospital San Juan de Dios, se estudió el perfil epidemiológico bacteriano [27]. El coco grampositivo aislado más frecuentemente fue *S. aureus*, el cual presentó una alta resistencia a penicilina (90%) y un aumento en la resistencia a oxacilina (17%) y cefalotina (15%). *E. coli* fue el bacilo gramnegativo aislado con más frecuencia, indicándose resistencia a ceftazidima (25%), amikacina (15%), cefotaxima (7%) y ciprofloxacina (8%). Para *K. pneumoniae* y *Enterobacter cloacae* el incremento en la resistencia a la ceftazidima fue de más del 50%. Por último, *Acinetobacter calcoaceticus* mostró un aumento significativo en la resistencia a amikacina (52%), cefalosporinas de tercera generación (61%) y ciprofloxacina (57%) [27].

Por otro lado, investigadores del Hospital Nacional de Niños encontraron dos cepas de *E. cloacae* y una de *K. pneumoniae* productoras de BLEE, las cuales significaron un 1.25% del total de muestras analizadas [28].

- **Estudios relacionados con infecciones en tracto respiratorio alto**

Arguedas et al [29] analizaron los agentes patógenos más comunes en pacientes pediátricos con otitis media aguda. Los agentes más importantes fueron *S. pneumoniae* (30%), *Haemophilus influenzae* (14%), *S. aureus* (4%) y *Streptococcus pyogenes* (4%). La presencia de beta-lactamasas en *H. influenzae* fue de 3.7%. El patrón de sensibilidad en *S. pneumoniae* penicilino sensible fue de 81% para azitromicina, 89% para claritromicina y, 100% para ceftriaxona y TMP-SMS. En cambio, el patrón para en *S. pneumoniae* penicilino resistente fue de 89% para azitromicina, claritromicina y ceftriaxona y de 67% para TMP-SMS.

Luego, de 1999 a 2001, se investigó sobre la microbiología de la otitis media. Esta publicación señala que los agentes más importantes fueron *S. pneumoniae* (88 cepas), seguido de *H. influenzae*

(41 cepas) y *S. pyogenes* (10 cepas). *Moraxella catarrhalis* fue poco común. La producción de beta lactamasas por parte de *H. influenzae* aumentó a un 7%; no obstante, las cepas fueron sensibles a la cefuroxima y ceftriaxona en un 96% [30].

En este estudio, la susceptibilidad de *S. pneumoniae* fue variable en relación con la manifestación de la enfermedad (otitis media aguda, recurrente y secundaria a falla terapéutica). En la otitis media aguda se demostró un 58% de sensibilidad a la penicilina, en cambio, para la enfermedad recurrente y por falla terapéutica, este porcentaje bajó a 37% y 36%, respectivamente [30].

- **Estudios relacionados con infecciones genitourinarias**

Williams et al [31] investigaron el patrón de resistencia en infecciones del tracto urinario (ITU), en el Hospital San Juan de Dios (San José), de junio a diciembre de 2000. Los autores reportaron un menor porcentaje de sensibilidad del TMP-SMS (64%) en comparación con la ciprofloxacina (87%) y la nitrofurantoína (81%). Esta resistencia a la ciprofloxacina, superó el reportado en otros países, como Estados Unidos.

En relación con este tema, Weber [32] concluyó de manera similar, en el contexto de una clínica periférica del país (La Unión, Cartago). Es más, propuso el uso de nitrofurantoína como opción de primera línea en el tratamiento empírico de las ITU.

- **Estudios relacionados con infecciones gastrointestinales**

En el Hospital de San Vito, Puntarenas, se analizaron 420 muestras diarreicas de pacientes, durante 2001. En 148 de ellas (35,2%) se obtuvieron cepas de *Shigella*. El estudio del patrón de sensibilidad demostró más de un 70% de resistencia a TMP-SMS, tetraciclina y ampicilina [33].

- **Estudios relacionados con infecciones sistémicas**

En el Hospital Nacional de Niños, se realizó un estudio retrospectivo, de enero de 1995 a diciembre de 2001, sobre la enfermedad neumocócica invasiva. De los 85 aislamientos estudiados para determinar el patrón de sensibilidad a penicilina, el 85.7% fueron sensibles. Por otro lado, de los 66 casos estudiados para cefotaxima, el 95.5% resultaron sensibles. Cabe destacar que la resistencia a cefotaxima se presentó durante el 2001 [34].

Investigaciones hechas de 2002 en adelante

Al igual que con el periodo anterior, las investigaciones hechas durante este periodo se clasificaron en dos grupos: estudios epidemiológicos en centros de salud, estudios específicos para las siguientes patologías: infecciones en tracto respiratorio alto, infecciones gastrointestinales e infecciones intraabdominales.

- **Estudios epidemiológicos en centros de salud**

En 2002, en el Hospital Nacional de Niños, el porcentaje de muestras con BLEE positivas fue del 77.9% para *K. pneumoniae*, 100% para *Klebsiella oxytoca* y del 26.7% para *E. coli*. [35].

En otro sentido, Gamboa et al [36] analizaron muestras de agua acumuladas en respiradores y aires acondicionados, en 4 hospitales: A, B, C y D (no identificados). En general, el 63% de las muestras fueron positivas por bacterias, los bacilos gramnegativos representaron el 73% y los cocos grampositivos el 27%.

De los bacilos gramnegativos (73%), *Pseudomonas* y géneros relacionados representaron el 47%. En este grupo se presentó multirresistencia en el 64% de los casos, destacándose una alta resistencia a cefalotina (77%) y a amoxicilina (71%). Cabe destacar que en el hospital B, el porcentaje de resistencia de *Pseudomonas* al imipenem fue del 29% [36].

En relación con los cocos grampositivos, *Staphylococcus* fue el género más frecuente (84%), con una resistencia a penicilina del 75%, a rifampicina del 14% y multirresistencia del 50%. Es importante mencionar que seis cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativo fueron resistentes a vancomicina. Además, en el Hospital B el 75% de los *Staphylococcus* fue resistente a 10 antibióticos [36].

- **Estudios relacionados con infecciones en tracto respiratorio alto**

Arguedas et al [37] investigaron el patrón de sensibilidad en pacientes de 6-60 meses de edad, diagnosticados con otitis media aguda, otitis media recurrente u otitis media por falla terapéutica. De 2002 a 2003 se analizaron 124 aislamientos del fluido del oído medio, en donde los principales agentes patógenos fueron *S. pneumoniae* y *H. influenzae*. Estos mostraron una resistencia al TMP-SMS del 25% para *S. pneumoniae* y del 12% para *H. influenzae*.

En esta misma línea, Aguilar et al [38], analizaron la microbiología de la otitis media en niños de 2 a 92 meses de edad, en el periodo 2002-2007. En concordancia con la publicación hecha por Arguedas et al [30], los agentes patógenos más frecuentes fueron *S. pneumoniae* (44%) y *H. influenzae* (37%). Sin embargo, *M. catarrhalis* (11%) aumentó, ubicándose en tercer lugar, y *S. pyogenes* (4%) se ubicó en cuarto lugar. El porcentaje de beta lactamasas en *H. influenzae* aumentó a un 14% [38]. La incidencia de infecciones por *S. pneumoniae* resistente a penicilina fue de 20% en otitis media aguda, 17% en otitis media recurrente y 42% en otitis media secundaria a falla terapéutica [38].

- **Estudios relacionados con infecciones gastrointestinales**

Pérez et al [39], estudiaron 173 muestras de heces de niños menores de 5 años, atendidos en el Hospital Nacional de Niños, de agosto de 2005 a agosto de 2007. De estas, identificaron 52



muestras patogénicas de *E. coli* a las cuales les determinaron el patrón de sensibilidad antimicrobiana. El 40% fue resistente a ampicilina, el 11% a cefalosporinas de primera generación, el 6% a cefalosporinas de segunda generación, el 11% a minociclina y el 13% a TMP-SMS. No se identificó resistencia a fluorquinolonas.

En relación con esta patología, merece especial atención la resistencia a los microorganismos del género *Bacteroides*. Quirós et al [40] aislaron muestras de heces de pacientes internados en el Hospital Nacional de Niños y el Hospital Geriátrico Raúl Blanco Cervantes, durante 12 meses. De las 39 muestras colectadas, 13 pertenecían al grupo de *B. fragilis*. Se destaca la alta resistencia a beta lactámicos, incluyendo cefalosporinas de tercera generación (cefotaxime), así como clindamicina.

Asimismo, Rodríguez et al [41] estudiaron 80 muestras de heces no diarreas de pacientes atendidos en un centro de salud (no identificado), con el fin de determinar las principales especies del grupo *B. fragilis* que se encuentran en la flora intestinal de personas asintomáticas. Se realizaron 87 aislamientos en los cuales se determinó el patrón de sensibilidad, los antibacterianos en los que se demostró un porcentaje de resistencia mayor al 40% fueron: penicilina (100%), ampicilina (93.1%), amoxicilina (79.3%), piperacilina (40.2%), ticarcilina (44.8%) y cefotetán (46.0%).

- **Estudios relacionados con infecciones intraabdominales**

Cordero et al [42], estudiaron 100 aislamientos (principalmente infecciones intraabdominales) de un hospital nacional (no identificado), del 2000 al 2008. Se determinó la sensibilidad de *Bacteroides* a los siguientes fármacos: amoxicilina, amoxicilina con ácido clavulánico, piperacilina, piperacilina con tazobactam, ticarcilina, ticarcilina con ácido clavulánico, cefoxitina, cefotetan, imipenem, cloranfenicol, clindamicina y metronidazol. De las 100 muestras analizadas, 93 fueron resistentes al menos a un fármaco, principalmente, beta lactámicos y clindamicina. Los autores

recomendaron el uso de metronidazol e imipenem como opciones terapéuticas viables.

Otro estudio, realizado en el Hospital Monseñor Sanabria, Puntarenas, en el año 2006; concuerda con estos datos al reportar una alta resistencia a beta-lactámicos por parte de *Bacteroides* en muestras intraabdominales [43].

- **Últimos reportes**

Por último, en 2014, el Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA) emite una alerta sobre el primer aislamiento positivo por carbapenemasas, tipo Metalobetalactamasa New Delhi (MBL-NDM), en un aislamiento de *E. coli* en el Hospital Nacional de Niños [44].

OPCIONES TERAPÉUTICAS

Los antibacterianos disponibles producen detención del crecimiento y muerte celular al interferir con los procesos vitales basales [45]. Los mecanismos a través de los cuales ejercen estas acciones son: inhibición de la síntesis de la pared celular, inhibición de la síntesis de proteínas, inhibición de la síntesis de ADN o ARN y la disrupción de la membrana celular [46]. Estos mecanismos de acción producen una presión selectiva que favorece el desarrollo de resistencia [47].

El desarrollo de nuevos fármacos se ha visto mermado por barreras científicas. El desarrollar una molécula con actividad biológica puede significar, incluso, una tasa de éxito de apenas un 7%. Sumado a esto, se debe considerar que, de las moléculas elegibles, no todas van a poseer las características farmacocinéticas apropiadas, lo que dificulta aún más el desarrollo [48].

Asimismo, hechos como que los tratamientos sean de corta duración, que en los estudios clínicos no se puedan comparar contra placebo y que haya una cantidad limitada de sujetos elegibles, además del rápido desarrollo de resistencia –lo que limita la rentabilidad–, han ocasionado una disminución de la participación de

las compañías farmacéuticas en la investigación y el desarrollo [46,48].

Ante este panorama, numerosas agencias y sociedades profesionales han llamado la atención sobre la necesidad de revigorizar la inversión en la investigación y desarrollo de nuevos antibióticos [49]. La Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés) pretende proveer de incentivos económicos para el descubrimiento de antibióticos, a través de la Ley de Generación de Incentivos para Antibióticos (GAIN, por sus siglas en inglés). Dichos incentivos incluyen la prolongación de cinco años de protección en el mercado y la aceleración de los procesos de aprobación de nuevos fármacos [50].

En 2010, la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA, por sus siglas en inglés) lanzó una iniciativa llamada 10x20, que propone desarrollar diez nuevos antibacterianos sistémicos para el 2020. Para ello, han acudido a autoridades regulatorias con el fin de revisar los requerimientos en el desarrollo de nuevos antibacterianos, además de impulsar medidas para frenar el desarrollo de resistencia [51].

De igual modo, la OMS ha lanzado su estrategia para contener la resistencia a los antimicrobianos. En relación con el desarrollo de fármacos, la entidad promueve el desarrollo de nuevos antibacterianos y vacunas, a través de incentivos para la industria farmacéutica y la asociación con entes gubernamentales e instituciones académicas [3].

En la Tabla 2 se enumeran los antibióticos de uso sistémico aprobados recientemente por la FDA o la Agencia Europea de Medicinas (EMA, por sus siglas en inglés). Es importante mencionar los casos del ceftobiprol y de la dalbavancina. Ambos fueron aprobados para su comercialización y, posteriormente, fueron retirados del mercado [52,53].

El ceftobiprol fue aprobado en 2007 para el tratamiento de infecciones de piel y tejidos blandos [52]. No obstante, a partir de 2008 se cuestionó que los estudios clínicos utilizados para su aprobación no cumplieran a cabalidad con las buenas prácticas clínicas [52]. Por lo tanto, fue retirado del mercado en 2009 por la FDA y, en 2010, la EMA rechaza su solicitud de comercialización [44]. Actualmente se encuentra en fase III de desarrollo en el tratamiento de neumonía adquirida en la comunidad [54,55].

La dalbavancina fue aprobada en el 2007 por la FDA para el tratamiento de infecciones en piel y tejidos blandos [53]. Un año después, Pfizer anuncia la retirada del producto, señalando que son necesarios más estudios para comprobar su utilidad clínica [56]. Actualmente, se encuentra en periodo de revisión por parte de la FDA [57]. En la EMA, la dalbavancina se encuentra dentro de los medicamentos pendientes de evaluación para su comercialización [58].

En las Tablas 3 y 4 se detallan aquellos fármacos de uso sistémico que se encuentran en fase II y III de desarrollo a través de la FDA o de la EMA. Cabe destacar que la tedizolida se encuentra en periodo de evaluación por parte de la EMA y de la FDA [58].

En general, sobresale el hecho de que la mayor parte de fármacos nuevos poseen mecanismos de acción conocidos; esto pone de manifiesto la necesidad de innovar más allá de la modificación de una molécula dentro de una familia. Por otro lado, se registran mayores opciones farmacológicas para las infecciones por gram positivos; siendo las infecciones complicadas de piel y tejidos blandos, la indicación con la mayor cantidad de fármacos en desarrollo. En cambio, el desarrollo de fármacos para infecciones por gram negativos es limitado [8,9,49].

Tabla 2. Antibacterianos aprobados por la FDA o EMA desde el 2007.

Droga	Familia terapéutica	Año de aprobación	Usos terapéuticos
Ceftarolina	Cefalosporina	2010	Infecciones complicadas en piel y tejidos blandos, neumonía adquirida en la comunidad [59,60].
Ceftobiprol	Cefalosporina	2007 (aprobado) 2009 (retirado del mercado)	Infecciones complicadas en piel y tejidos blandos [59,60].
Dalbavancina	Glucopéptido	2007 (aprobado) 2008 (retirado del mercado) 2014 (en revisión)	Infecciones complicadas en piel y tejidos blandos [59].
Doripenem	Carbapeneme	2007	Infecciones complicadas en piel y tejidos blandos, neumonía adquirida en el hospital, neumonía asociada al ventilador, infecciones complicadas intraabdominales [59,60].
Fidaxomicina	Macrólido	2011	Diarrea por <i>C. difficile</i> [59,60].
Telavancina	Glucopéptido	2009	Infecciones complicadas en piel y tejidos blandos [59], neumonía adquirida en el hospital [59,60], neumonía asociada al ventilador [59].

Tabla 3. Antibacterianos en fase III de desarrollo.

Droga	Familia terapéutica	Autoridad reguladora del estudio	Usos terapéuticos
Ceftazidima / Avibactam	Cefalosporina + inhibidor de beta lactamasas	EMA	Infecciones intraabdominales complicadas, neumonía adquirida en el hospital, infecciones complicadas del tracto urinario [61-63].
Ceftobiprol	Cefalosporina	FDA	Neumonía adquirida en el hospital, neumonía severa adquirida en la comunidad [54,55].
Cetromicina	Macrólido	FDA	Neumonía adquirida en la comunidad [64].
Faropenem	Carbapeneme	EMA	Neumonía adquirida en la comunidad [65].
Iclaprim	Inhibidor dihidrofolato reductasa	FDA ¹ , EMA ²	Infecciones complicadas en piel y tejidos blandos ¹ , neumonía adquirida en el hospital, neumonía asociada al ventilador ² [66,67].
Nemonoxacina	Quinolona no fluorada	FDA	Neumonía adquirida en la comunidad [68].
Oritavancina	Glucopéptido	FDA	Infecciones complicadas en piel y tejidos blandos [69].
Prulifoxacina	Fluorquinolona	FDA ³ , EMA ⁴ (comercialmente disponible en Japón e Italia [70])	Diarrea del viajero ³ , rinosinusitis bacteriana aguda ⁴ , exacerbación aguda en bronquitis crónica [71-75].
Tedizolida	Oxazolidinona	FDA ⁵ , EMA ⁶ (en periodo de revisión)	Infecciones complicadas en piel y tejidos blandos ⁵ , neumonía adquirida en el hospital ⁶ [76,77].
Zabofloxacina	Fluorquinolona	FDA	Neumonía adquirida en la comunidad [78].

Tabla 4. Antibacterianos en fase II de desarrollo.

Droga	Familia terapéutica	Autoridad reguladora del estudio	Usos terapéuticos
Ceftarolina / Avibactam	Cefalosporina + inhibidor de beta lactamasas	FDA	Infecciones complicadas del tracto urinario [79].
Ceftolozano / Tazobactam	Cefalosporina + inhibidor de beta lactamasas	FDA	Infecciones intraabdominales complicadas [80].
Delafloxacin	Fluorquinolona	FDA	Infecciones complicadas en piel y tejidos blandos [81].
NXL 103	Streptogramina	FDA	Infecciones complicadas en piel y tejidos blandos, neumonía adquirida en la comunidad [82,83].
Radezolida	Oxazolidinona	FDA	Infecciones no complicadas en piel y tejidos blandos, neumonía adquirida en la comunidad [84,85].
Solitromicina	Macrólido	FDA	Neumonía adquirida en la comunidad, gonorrea urogenital no complicada [86,87].
TD-1792	Heterodímero: vancomicina + cefalosporina	FDA	Infecciones complicadas en piel y tejidos blandos [88].

ESTRATEGIAS EN INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO

Reactivación de la investigación de productos naturales

La técnica *high-throughput screening* (HTS) propone reactivar el estudio de fuentes naturales de antibióticos, considerando el aporte de metabolitos secundarios (sustancias producidas por los organismos que no comprometen su supervivencia) en la actividad antibacteriana [46]. Esta técnica, junto con la metagenómica, son herramientas que han permitido el estudio de fuentes, hasta hace poco, relegadas [1].

En este sentido, una opción ha sido el estudio de los actinomicetos de fuentes marinas [46]. Su contraparte terrestre ha sido utilizada por la industria farmacéutica y el estudio de fuentes marinas se ha intensificado identificándose numerosos compuestos con actividad antibacteriana, citotóxica y antiinflamatoria [89]. Se destacan como antibacterianos la abisomicina C,

carboxamicina, esrramicina, enterocina (bacteriostático), linamicinas, salinosporamida A, TP-1161, entre otros [46,89].

El desarrollo de lantibióticos es otro ejemplo en la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas. Estos son toxinas peptídicas producidas por bacterias grampositivas, en donde se produce una modificación post-translacional, que introduce los aminoácidos lantionina y metil-lantionina, inhibiendo el crecimiento de bacterias como SARM y ERV [1]. Actualmente, solo se encuentra comercializada la nisina como preservante de alimentos [90].

Desarrollo de la fusión de antibióticos

El estudio de la fusión de antibióticos no ha evidenciado resultados muy alentadores; esto se debe en gran medida a que los híbridos deben demostrar que su actividad es mayor que la de los agentes individuales [1].

En fase II se encuentra el heterodímero TD-1792, fusión de vancomicina con una



cefalosporina, para el tratamiento de infecciones complicadas de piel y tejidos blandos [88].

Se destacan además, las aminouracil-fluoroquinolonas (AU-FQ), las cuales tendrían actividad contra microorganismos grampositivos y gramnegativos [1].

Otro híbrido en desarrollo es la ciprofloxacina-neomicina B, no obstante, su incapacidad para penetrar en la célula ha limitado su actividad biológica [1].

Un enfoque alternativo a esta estrategia es desarrollar un híbrido en donde uno de los agentes tenga la actividad antibiótica y el otro la aumente o le permita penetrar en la célula; ejemplo de esto es la combinación de un antibiótico con un sideróforo quelante de hierro (III) [1].

Investigación de péptidos antimicrobianos

Según O'Connell et al [1], el desarrollo de péptidos antimicrobianos (PAM) es prometedor. Los PAM tienen la ventaja de que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, en los reinos Protista, Monera, Fungi, Plantae y Animalia [91].

Además de tener un amplio espectro de acción, tienen gran actividad a bajas concentraciones mínimas inhibitorias [91,92]. Su actividad farmacológica es mediada a través de la interferencia con la integridad de la membrana bacteriana; con la ventaja de que su afinidad por las células humanas es inferior [1,92]. Por otro lado, se reconoce su capacidad para atenuar la inducción de citoquinas proinflamatorias [91].

Empero, el desarrollo farmacéutico de estas sustancias no ha sido tan exitoso, debido a inconvenientes en cuanto a sus características químicas y farmacocinéticas, además de dudas acerca de su seguridad y el alto costo de producción [91,92].

Uno de los primeros fármacos desarrollados comercialmente fue el pexiganan, sin embargo, no

obtuvo la aprobación de la FDA para su comercialización, pues no mostró ventajas en comparación con los fármacos disponibles [92]. Otros fármacos de esta misma línea son el iseganan y el omiganan [92].

Algunos autores señalan a la daptomicina y las polimixinas (por ejemplo, la polimixina E o colistina) como PAM comercialmente disponibles [1,46].

Investigación de bacteriófagos

El uso de bacteriófagos en las enfermedades infecciosas es antiguo, Felix d'Herelle acuñó el concepto, dados sus estudios sobre el efecto de los bacteriófagos en diversas patologías [93]. Sin embargo, el inicio de la investigación en este tema se remonta a 1896, cuando Hankin descubrió la presencia de un componente biológico en muestras de agua tomadas del río Ganges, que inhibía el cultivo de *Vibrio cholerae* [93,94]. Luego, en 1915 Twort publica su investigación sobre la lisis bacteriana transmisible [93,94]. Posterior a este descubrimiento, desde 1916 hasta 1930, d'Herelle, Eliava y sus colaboradores empezaron a estudiar las posibilidades terapéuticas de estos fagos [94]. Sin embargo, los primeros estudios fueron fuertemente criticados por falta de controles apropiados y resultados inconsistentes [93].

A pesar de que el desarrollo comercial de bacteriófagos se dio en India, Brasil y Estados Unidos; la eficacia de los preparados fue controversial y, con el desarrollo de la era antibiótica, se suspendió su producción en el mundo occidental (la Unión Soviética continuó la investigación) [94]. Con la caída de la Unión Soviética, en Occidente resurge la investigación con fagos y, en 2009, se publica el primer ensayo clínico de fase I para el tratamiento de úlceras venosas crónicas en piernas [93,95]. Actualmente, se encuentran en estudio varias preparaciones de fagos [93,96].

Se han descrito más de 6000 fagos, en donde las familias más representativas, desde el

punto de vista terapéutico, son Siphoviridae, Myoviridae y Podoviridae [93,97].

Los fagos, al ser parásitos intracelulares obligatorios, muestran diferentes ciclos de vida en su hospedero: lítico, lisogénico, pseudo-lisogénico e infección crónica [93]. En la práctica clínica, los de tipo lítico son los más útiles, puesto que los otros ciclos de vida afectan a la bacteria, pero, no inducen su lisis a corto plazo [97].

En la Tabla 5 se describen las principales características de los bacteriófagos.

Investigación de la modificación de la virulencia

En este sentido, se formulan los siguientes objetivos terapéuticos:

- Inhibición de la función de las toxinas: puede ser de dos maneras: directa e indirecta. En la directa, se bloquea directamente la toxina (por ejemplo, el uso de antitoxinas); en la indirecta se modula la respuesta del hospedero ante la toxina (por ejemplo, la inhibición de los canales de cloruro en el tratamiento de la diarrea por *V. cholerae*) [2].
- Inhibición de la liberación de las toxinas: se podría decir que este mecanismo ha sido aplicado décadas atrás, utilizando colestiramina en la diarrea por *C. difficile* para disminuir la sintomatología en la enfermedad leve [99,100,101]. La colestiramina intercambia un ión cloruro y forma un complejo no absorbible con la toxina en el tracto intestinal [99,100]. Recientemente, el sistema de secreción tipo III (T3SS) ha cobrado interés, ya que es común a bacterias como *Yersinia* spp., *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp. y *Chlamydia* spp [2].
- Regulación de la expresión de los factores de virulencia: estos factores son expresados diferencialmente, dependiendo de aspectos ambientales y metabólicos en que se

encuentre la bacteria; su regulación está basada en señalizaciones célula-célula, llamadas *quorum sensing* (QS). Incluye la regulación de los factores de virulencia, la formación de biofilmes, la bioluminiscencia, la motilidad en enjambre y la esporulación.

De esta manera, una población de bacterias puede coordinar la expresión de genes a través de la difusión de moléculas de señalización [2]. Ejemplos de bacterias que utilizan QS son *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *A. baumannii* [1,102,103]. Una ventaja del desarrollo de inhibidores de QS es que, en teoría, prevalecería una menor presión selectiva para el desarrollo de resistencia y una eliminación más efectiva por parte del hospedero [13,45]. Sin embargo, estos supuestos se basan en resultados de laboratorio, las implicaciones de su inclusión en la práctica clínica no están del todo claras y algunos autores postulan la aparición de resistencia [1,104].

- Inhibición de la adhesión: se destacan los pilicidas, éstos inhiben la formación de pilis o fimbrias, inhibiendo la plataforma chaperonas-acomodador, vía importante en bacterias gramnegativas [2,105].

Tabla 5. Ventajas y desventajas del uso de bacteriófagos en la terapéutica.

Ventajas
<ul style="list-style-type: none"> • Su mecanismo de acción difiere del de los antibacterianos, esto le permite tener actividad contra bacterias multirresistentes (posiblemente, al interferir con los biofilmes bacterianos) [46,93,97,98]. • Considerando la especificidad en su espectro de acción, ocurre poca alteración de la flora normal [97]. Wittebole et al [93] señalan que esta ventaja tiene el potencial de convertirse en una desventaja si no se cuenta con las herramientas necesarias para la identificación del microorganismo. Al respecto se proponen las siguientes medidas: producir un cóctel de bacteriófagos con el consecuente costo en su manufactura [46,93,98]. • El efecto farmacológico del bacteriófago se extiende más allá de la dosis administrada, tomando en cuenta el carácter exponencial de su ciclo de vida [97]. • Las investigaciones realizadas señalan una baja incidencia de efectos adversos [93,97].
Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> • Es necesario su estudio a través de ensayos clínicos doble ciego, aleatorizados y controlados acerca de la dosis óptima, la ruta de administración y la duración del tratamiento [46,93,98]. • Existe la posibilidad de que el bacteriófago logre transferir, a través de transducción, ADN de una bacteria a otra (incluyendo factores de virulencia); por lo tanto, se deben buscar opciones terapéuticas que carezcan de esta posibilidad [93]. • Los fagos son virus que pueden ser reconocidos por el sistema inmune y, por tanto, eliminados. Esta dinámica podría dificultar la concentración del fármaco en el sitio de infección [93]. • Se conocen 4 mecanismos de resistencia a los fagos: pérdida, carencia o modificación estructural del receptor en el hospedero; prevención de la integración del ADN en el hospedero; degradación del ADN; y bloqueo de la replicación, transcripción, traducción o ensamblaje de los viriones [93].

CONCLUSIONES

La emergencia de infecciones multirresistentes está ocasionando una situación crítica en materia de salud pública.

La transmisión de genes de resistencia, en forma horizontal o vertical, ha puesto en evidencia las consecuencias evolutivas de ejercer presión selectiva sobre estos microorganismos.

En Costa Rica, el desarrollo de resistencia se ha reportado de los años 70 hasta la fecha. Diversos estudios, llevados a cabo en ensayos clínicos, hospitales y clínicas así lo demuestran.

El desarrollo de nuevos fármacos que combatan estas patologías se encuentra en un periodo en donde no se da un avance significativo,

debido a razones financieras, científicas y reglamentarias.

Ante esta situación, entes internacionales (IDSA, FDA, OMS) han adoptado medidas para contrarrestar este fenómeno. Pese a ello, hasta el momento, las posibilidades de tratamiento son limitadas.

Por tanto, es imperativo que se apoyen las medidas de contención y que se sigan propiciando incentivos para continuar en la búsqueda de nuevos fármacos antibacterianos.



REFERENCIAS

1. O'Connell KM, Hodgkinson JT, Sore HF, Welch M, Salmond GP, Spring DR. Combating Multidrug-Resistant Bacteria: Current Strategies for the Discovery of Novel Antibacterials. *Angew Chem Int Ed Engl* 2013;52:10706 – 10733.
2. Clatworthy AE, Pierson E, Hung DT. Targeting virulence: a new paradigm for antimicrobial therapy. *Nat Chem Biol* 2007;3(9):541–8.
3. Organización Mundial de la Salud. Estrategias de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2001.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2013. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention; 2013.
5. Lee CR, Cho IH, Jeong BJ, Lee SH. Strategies to Minimize Antibiotic Resistance. *Int J Environ Res Public Health* 2013;10:4274–4305
6. Rai J, Kaur G, Kaur M. Recent advances in antibacterial drugs. *International Journal of Applied and Basic Medical Research*. 2013;3(1):3–10.
7. Livermore D. Has the era of untreatable infections arrived?. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2009;64(1):29–36.
8. Theuretzbacher U. Future antibiotics scenarios: is the tide starting to turn? *Int J Antimicrob Agents*. 2009;34(1):15–20.
9. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, et al. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2009;48(1):1–12.
10. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antimicrobianos (RAM) [Internet]. 2012 Mar. [Accesada 2013 Nov 16]. Disponible en: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/
11. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18:268–281.
12. Organización Panamericana de la Salud. Tratamiento de las enfermedades infecciosas. 5 a ed. Washington: OPS; 2011.
13. Martinez L. The role of natural environments in the evolution of resistance traits in pathogenic bacteria. *Proc R Soc B*. 2009;276:2521–2530.
14. Opal SM, Pop-Vicas A. Molecular Mechanisms of Antibiotic Resistance in Bacteria. En Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editores. Principles and practice of infectious diseases. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2010. p 279–295.
15. Tenover FC. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *The American Journal of Medicine* 2006;119(6A):S3–S10
16. Southwick F. Anti-Infective Therapy. En Southwick F, editor. Infectious Diseases, A clinical Short Course. New York: McGraw-Hill; 2007. p. 1–56
17. Sutcliffe J, Tait-Kamrad A, Wondrack L. Streptococcus pneumoniae and Streptococcus pyogenes resistant to macrolides but sensitive to clindamycin: a common resistance pattern mediated by efflux system. *Antimicrob Agents Chemother*. 1996;40:1817–1824.
18. Nikolaidis I, Favini-Stabile S, Dessen A. Resistance to antibiotics targeted to the bacterial cell wall. *Protein Science* 2014;23:243–259.
19. Kitchel B, Rasheed JK, Patel JB, Srinivasan A, Navon-Venezia S, Carmeli Y, et al. Molecular Epidemiology of KPC-Producing Klebsiella pneumoniae Isolates in the United States: Clonal Expansion of Multilocus Sequence Type 258. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(8):3365–70.
20. Alós JI, Cantón R, Martínez L, Vila J. Atlas del Antibiograma. Madrid: Biomérieux, 2009.
21. Lambert PA. Bacterial resistance to antibiotics: Modified target sites. *Adv Drug Deliv Rev*. 2005;57:1471–1485.
22. Strateva T, Yordanov D. *Pseudomonas aeruginosa* – a phenomenon of bacterial resistance. *Journal of Medical Microbiology* 2009;58:1133–1148.
23. Bonomo RA, Szabo D. Mechanisms of Multidrug Resistance in Acinetobacter Species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis*



2006;43(2):49-56.

24. Lambert PA. Bacterial resistance to antibiotics: Modified target sites. *Adv Drug Deliv Rev.* 2005;57:1471-1485
25. Faingezicht OI, Brenes C, Guevara J, Kitzing W, León J. Infecciones intrahospitalarias por *Klebsiella* spp multirresistente. *Rev Méd Hosp Nal Niños.* 1978;13(2):79-84.
26. Salas JL, Guevara J, Herrera ML, Lizano C. Evolución del patrón de sensibilidad a agentes antimicrobianos en el Hospital Nacional de Niños. *Rev Méd Hosp Nal Niños (Costa Rica).* 1987;1(22):15-28.
27. Boza R, Barrantes E. Resistencia bacteriana en el hospital San Juan de Dios, 1995-1999. *Acta médica Costarricense.* 2001;43(3):119-127.
28. Herrera ML, Duarte MI. Primeros aislamientos de *Enterobacter cloacae* y *Klesiella pneumoniae* productores de B-lactamasa de efecto expandido (ESBL) en Costa Rica. *Rev Méd Hosp Nal Niños (Costa Rica).* 1998;33(1):43-47.
29. Arguedas A, Loaiza C, Perez A, et al. Microbiology of acute otitis media in Costa Rican children. *Pediatr Infect Dis J.* 1998;17:680-684.
30. Arguedas A, Dagan R, Soley C, Loaiza C, Knudsen K, Porat N, et al. Microbiology of otitis media in Costa Rican children, 1999 through 2001. *Pediatr Infect Dis J.* 2003;22(12):1063-8.
31. Williams DN, Sannes MR, Eckhoff AA, Peterson PK, Johnson JR, San Román M, et al. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* causing urinary tract infections in Costa Rica: a clinical dilemma [editorial]. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 2003;21:79-81.
32. Weber N. Estudio retrospectivo sobre la resistencia antibiótica en la población del área de salud de La Unión entre enero y diciembre 2010. *Revista médica de Costa Rica y Centroamérica.* 2012;69(600):41-45.
33. Mora M, Soto L, Salvador G. Diarreas asociadas a *Shigella* con un patrón de resistencia antimicrobiana alto en el cantón de Coto Brus, Costa Rica. *Rev costarric cienc méd.* 2003;14:55-60.
34. Ulloa-Gutierrez R, Avila-Aguero ML, Herrera ML, Herrera JF, Arguedas A. Invasive pneumococcal disease in Costa Rican children: a seven year survey. *Pediatr Infect Dis J.* 2003;22(12):1069-74.
35. Herrera ML, Moya T, Vargas A, Campos M, Marín JP. Cepas productoras de beta lactamasa de efecto expandido en el Hospital Nacional de Niños. *Rev Méd. Hosp Nac Niños (Costa Rica).* 2002;37(1):19-27.
36. Gamboa M, Rodríguez E, Rojas M. Bacterias de importancia clínica en respiradores y aires acondicionados de hospitales de San José, Costa Rica. *Rev Biomed* 2003;14(3):143-151.
37. Arguedas A, Sierra H, Soley C, Guevara S, Brilla E. Activity of trimethoprim-sulfamethoxazole against middle ear fluid pathogens obtained from Costa Rican children with otitis media. *Pediatr Infect Dis J.* 2005;24(9):839-41.
38. Aguilar L, Alvarado O, Soley C, Abdelnour A, Dagan R, Arguedas A. Microbiology of the middle ear fluid in Costa Rican children between 2002 and 2007. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2009;73(10):1407-11.
39. Pérez C, Gómez-Duarte OG, Arias ML. Diarrheagenic *Escherichia coli* in children from Costa Rica. *Am J Trop Med Hyg.* 2010;83(2):292-7.
40. Quirós M, Rodríguez C, Rodríguez E. Resistencia antimicrobiana en bacterias del grupo *Bacteroides fragilis* aisladas a partir de muestras diarreicas de pacientes pediátricos y geriátricos costarricenses. *Revista Médica de la Universidad de Costa Rica* 2008;2(2):Art 6.
41. Rodríguez E, Gamboa M, Rodríguez C, Vargas P. Grupo *Bacteroides fragilis* en heces humanas no diarreicas y su sensibilidad antimicrobiana. *Rev Esp Quimioter.* 2006;19(4):357-362.
42. Cordero E, Rodríguez LC, Rodríguez E, Gamboa M, Quesada C. Resistance of *Bacteroides* isolates recovered among clinical samples from a major Costa Rican hospital between 2000 and 2008 to β -lactams, clindamycin, metronidazole, and chloramphenicol. *Rev Esp Quimioter.* 2012;25(4):261-265.
43. Rivera D, Quesada C, Rodríguez E. Antimicrobial resistance of clinical isolates of anaerobic bacteria from a regional hospital in Costa Rica. *Revista Médica de la Universidad de Costa Rica.* 2010;4(1):79-83.
44. Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud. Alerta Primer hallazgo de carbapenemasas tipo Metalobetalactamasas New



- Delhi (MBL-NDM) en Costa Rica. Cartago: Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud; 2014.
45. Bjarnsholt T, Givskov M. Quorum-sensing blockade as a strategy for enhancing host defences against bacterial pathogens. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2007;362(1483):1213–22.
 46. Lewis K. Platforms for antibiotic discovery. *Nat Rev Drug Discov.* 2013;12(5):371–87.
 47. Porco TC, Lloyd-Smith JO, Gross KL, Galvani AP. The effect of treatment on pathogen virulence. *J Theor Biol.* 2005;233(1):91–102.
 48. So AD, Shah TA. New business models for antibiotic innovation. *Ups J Med Sci.* 2014;1:5.
 49. Bassetti M, Merelli M, Temperoni C, Astilean A. New antibiotics for bad bugs: where are we? *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2013;12:22.
 50. Brown ED. Is the GAIN Act a turning point in new antibiotic discovery? *Can J Microbiol.* 2013;59(3):153–6.
 51. Infectious Disease Society of America. Antibiotic Development: The 10 x '20 Initiative [Internet]. Arlington: Infectious Disease Society of America. [Accesado 2014 mar 10]. Disponible en: <http://www.idsociety.org/10x20/>
 52. European Medicines Agency. Questions and Answers: Refusal of the marketing authorisation for Zeftera (ceftobiprole). London: European Medicines Agency; 2010 Jun.
 53. Pfizer Receives Approvable Letter from FDA for Dalbavancin [Internet]. New York: Pfizer; 2007 Dic 21 [Accesado 2014 Abr 26]. <http://press.pfizer.com/press-release/pfizer-receives-approvable-letter-fda-dalbavancin#sthash.8AYhsjuy.dpuf>
 54. Basilea Pharmaceutica. A Randomized, Double-Blind, Multicenter Study of Ceftobiprole Medocaril Versus Placebo in the Treatment of Subjects Hospitalized With Community-Acquired Pneumonia. In: *ClinicalTrials.gov* [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). [Accesado 2014 mar 15]. Disponible en: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show?term=ceftobiprole&rank=9>. NLM Identifier: NCT00210964
 55. Basilea Pharmaceutica. A Randomized, Double-Blind, Multicenter Study of Ceftobiprole Medocaril Versus Placebo in the Treatment of Subjects Hospitalized With Community-Acquired Pneumonia. In: *ClinicalTrials.gov* [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). [Accesado 2014 mar 15]. Disponible en: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00326287?term=ceftobiprole&rank=15>. NLM Identifier: NCT00326287
 56. Pfizer Will Withdraw Global Marketing Applications for Dalbavancin to Conduct a New Trial [Internet]. New York: Pfizer; 2008 Sept 9 [Accesado 2014 Abr 26]. <http://press.pfizer.com/press-release/pfizer-will-withdraw-global-marketing-applications-dalbavancin-conduct-new-trial#sthash.XHCdHmyN.dpuf>
 57. U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. March 31, 2014: Anti-Infective Drugs Advisory Committee Meeting Announcement [Internet]. Silver Spring (MD): U.S. Food and Drug Administration. [Accesado el 2014 Abr 26]. Disponible en: <http://www.fda.gov/advisorycommittees/calendar/ucm385727.htm>
 58. European Medicines Agency. Applications for new human medicines under evaluation by the Committee for Medicinal Products for Human Use. London: European Medicines Agency; 2014 Mar.
 59. U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. FDA approved drug products [Internet]. Silver Spring (MD): U.S. Food and Drug Administration. . [Accesado 2014 Mar 15]. Disponible en: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm>
 60. European Medicines Agency. European public assessment reports [Internet]. London: European Medicines Agency. [Accesado 2014 Mar 15]. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/landing/epar_search.jsp&mid=WC0b01ac058001d124
 61. Astra Zeneca AB. A A Phase III, Randomized, Multicenter, Double Blind, Double-Dummy Parallel-Group, Comparative Study to Determine the Efficacy, Safety, and Tolerability of Ceftazidime Avibactam Plus Metronidazole Versus Meropenem in the Treatment of Complicated Intra Abdominal Infections in Hospitalized Adults. In: *EU Clinical Trials Register* [Internet]. London: European

- Medicines Agency. [Accesado 2014 Mar 15]. Disponible en: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search?query=ceftazidime+avibactam>. EudraCT Number: 2011-003895-35
62. Astra Zeneca AB. A Phase III, Randomized, Multicentre, Double-blind, Double-dummy, Parallel-group Comparative Study to Determine the Efficacy, Safety And Tolerability of Ceftazidime-Avibactam Versus Meropenem in the Treatment of Nosocomial Pneumonia Including Ventilator-Associated Pneumonia in Hospitalized Adults. In: EU Clinical Trials Register [Internet]. London: European Medicines Agency. [Accesado 2014 Mar 15]. Disponible en: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search?query=ceftazidime+avibactam>. EudraCT Number: 2012-004006-96
63. Astra Zeneca AB. A Phase III, Randomized, Multicenter, Double-Blind, Double Dummy, Parallel Group, Comparative Study to Determine the Efficacy, Safety, and Tolerability of Ceftazidime-Avibactam (CAZ-AVI, formerly CAZ104) Versus Doripenem Followed by Appropriate Oral Therapy in the Treatment of Complicated Urinary Tract Infections, Including Acute Pyelonephritis, With a Gram Negative Pathogen in Hospitalized Adults. In: EU Clinical Trials Register [Internet]. London: European Medicines Agency. [Accesado 2014 Mar 15]. Disponible en: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search?query=ceftazidime+avibactam>. EudraCT Number: 2011-005722-21
64. Advanced Life Sciences, Inc. A Double-Blinded, Randomized, Parallel Group, Multi-Center, Multi-National Comparative Study of the Safety and Efficacy of Cethromycin 300 mg QD to Clarithromycin (BIAXIN® Filmtab®) 250 mg BID for the Treatment of Community-Acquired Pneumonia in Adults. In: ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). [Accesado 2014 Mar 15]. Disponible en: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show?term=cethromycin&rank=1>. NLM Identifier: NCT00336505
65. Replidyne, Inc. Prospective, Randomized, Double-Blind Trial to Evaluate the Efficacy and Safety of Faropenem Medoxomil 600 mg PO, BID for 10 Days Versus Clarithromycin in the Treatment of Community-Acquired Pneumonia. In: EU Clinical Trials Register [Internet]. London: European Medicines Agency. [Accesado 2014 Mar 15]. Disponible en: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/trial/2007-003854-28/DE>. EudraCT Number: 2007-003854-28
66. Arpida AG. Phase 3, Randomized, Investigator-Blind, Multi-Center Study to Evaluate Efficacy and Safety of Intravenous Iclaprim Versus Linezolid in Complicated Skin and Skin Structure Infections. (ASSIST-1). In: ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). [Accesado 2014 Mar 15]. Disponible en: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00299520?term=iclaprim&rank=2>. NLM Identifier: NCT00299520
67. Arpida AG. Randomized, double-blind, multicenter study to evaluate efficacy and safety of intravenous iclaprim versus vancomycin in the treatment of hospital-acquired, ventilator-associated, or health-care-associated pneumonia suspected or confirmed to be due to Gram-positive pathogens. In: EU Clinical Trials Register [Internet]. London: European Medicines Agency. [Accesado 2014 Mar 15]. Disponible en: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/trial/2007-003109-28/EE>. EudraCT Number: 2007-003109-28
68. TaiGen Biotechnology Co., Ltd. A Randomized, Double-Blind, Comparative, Multi-Center Study of the Safety and Efficacy of TG-873870 (Nemonoxacin) Versus Levofloxacin in Adult Patients With Community-Acquired Pneumonia (CAP). In: ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). [Accesado 2014 Mar 15]. Disponible en: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01529476?term=nemonoxacin&rank=5>. NLM Identifier: NCT01529476
69. The Medicines Company. A Multicenter, Double-Blind, Randomized Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Single-Dose IV Oritavancin Versus IV Vancomycin for the Treatment of Patients With Acute Bacterial Skin and Skin Structure Infection (SOLO I). In: ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). [Accesado 2014 Mar 15]. Disponible en: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01252719?term=oritavancin&rank=3>. NLM Identifier: NCT01252719
70. Keam SJ, Perry CM. Prulifloxacin. *Drugs*. 2004;64(19):2221-34.
71. Optimer Pharmaceuticals. A Multicenter, Double-Blind, Randomized Study to Compare The Safety and Efficacy of Prulifloxacin Versus Placebo in the

- Treatment of Acute Gastroenteritis in Adult Travelers. In: ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). [Accesado 2014 Abr 26]. Disponible en: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00392574?term=prulifloxacin&rank=3>. NLM Identifier: NCT00392574
72. Optimer Pharmaceuticals. A Multicenter, Double-Blind, Randomized Study to Compare the Safety and Efficacy of Prulifloxacin Versus Placebo in the Treatment of Acute Gastroenteritis in Adult Travelers. In: ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). [Accesado 2014 Abr 26]. Disponible en: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00448422?term=prulifloxacin&rank=4>. NCT00448422
73. Centro Studi Fadoi. Randomized, single-blind, parallel groups, controlled study to compare levofloxacin and prulifloxacin in patients with exacerbations of COPD previously treated with different antibiotics and admitted to Internal Medicine Departments. In: EU Clinical Trials Register [Internet]. London: European Medicines Agency. [Accesado 2014 Abr 26]. Disponible en: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/trial/2008-003842-27/IT#A>. EudraCT Number: 2008-003842-27
74. Angelini. Prulifloxacin versus levofloxacin in patients with acute bacterial rhinosinusitis ABRS. In: EU Clinical Trials Register [Internet]. London: European Medicines Agency. [Accesado 2014 Abr 26]. Disponible en: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/trial/2006-001837-16/IT#A>. EudraCT Number: 2006-001837-16
75. Angelini. Prulifloxacin versus levofloxacin in the treatment of patients with Acute Exacerbations of Chronic Bronchitis AECB. In: EU Clinical Trials Register [Internet]. London: European Medicines Agency. [Accesado 2014 Abr 26]. Disponible en: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/trial/2006-004167-56/IT#A>. EudraCT Number: 2006-004167-56
76. Trius Therapeutics, Inc. A Phase 3 Randomized Double-blind Study Comparing TR-701 FA and Linezolid in Ventilated Gram-positive Nosocomial Pneumonia. In: EU Clinical Trials Register [Internet]. London: European Medicines Agency. [Accesado 2014 Mar 15]. Disponible en: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/trial/2013-004154-22/HU>. EudraCT Number: 2013-004154-22
77. Trius Therapeutics, Inc. A Phase 3 Randomized, Double-Blind, Multicenter Study Comparing the Efficacy and Safety of 6-Day Oral TR-701 Free Acid and 10-Day Oral Linezolid for the Treatment of Acute Bacterial Skin and Skin Structure Infections. In: ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). [Accesado 2014 Mar 15]. Disponible en: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01170221?term=tedizolid&rank=3>. NLM Identifier: NCT01170221
78. Dong Wha Pharmaceutical Co. Ltd. Clinical Trials to Evaluate Efficacy and Safety of Zabofloxacin Tablet 400mg and Moxifloxacin Tablet 400mg After Multi-dose Oral Administration in Patients With Acute Bacterial Exacerbation of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. In: ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). [Accesado 2014 Abr 22]. Disponible en: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01658020?term=zabofloxacin&rank=3>. NLM Identifier: NCT01658020
79. Cereza, Inc. A Phase 2, Multicenter, Randomized, Double-blind, Comparative Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Intravenous Coadministered Ceftaroline Fosamil and NXL104 Versus Intravenous Doripenem in Adult Subjects With Complicated Urinary Tract Infection. In: ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). [Accesado 2014 Mar 15]. Disponible en: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01281462?term=ceftaroline+avibactam&rank=3>. NLM Identifier: NCT01281462
80. Cubist Pharmaceuticals. A Multicenter, Double-Blind, Randomized, Phase 2 Study to Compare the Safety and Efficacy of Intravenous CXA 101/ Tazobactam and Metronidazole With That of Meropenem in Complicated Intraabdominal Infections. In: ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). [Accesado 2014 Mar 15]. Disponible en: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01147640?term=ceftolozane+tazobactam&rank=3>. NLM Identifier: NCT01147640
81. Melinta Therapeutics, Inc. A Phase 2 Exploratory Study of Objective Endpoints in Subjects With Acute Bacterial Skin and Skin Structure Infections Treated With Delafloxacin, Vancomycin, or Linezolid. In: ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). [Accesado 2014 Mar 15]. Disponible en:



<http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01283581?term=delafloxacin&rank=4>. NLM Identifier: NCT01283581

82. Novexel, Inc. A Double-Blind, Multicenter, Randomized, Double Dummy, Three-Arm Parallel-Group Comparative Study of the Efficacy, Safety and Tolerance of Oral NXL 103 Versus Oral Comparator in the Treatment of Community-Acquired Pneumonia in Adults. In: ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). [Accesado 2014 Mar 15]. Disponible en: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00653172?term=nxl+103&rank=1>. NLM Identifier: NCT00653172
83. Novexel, Inc. A Multicenter, Investigator-blinded, Randomized, Comparative Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Oral NXL103 Versus Oral Linezolid in the Treatment of Acute Bacterial Skin and Skin Structure Infections (ABSSSI). In: ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). [Accesado 2014 Mar 15]. Disponible en: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00949130?term=nxl+103&rank=2>. NLM Identifier: NCT00949130
84. Melinta Therapeutics, Inc. A Phase 2, Multicenter, Randomized, Double-Blind Study to Evaluate the Safety and Efficacy of RX-1741 in the Treatment of Adult Patients With Mild to Moderate Severity of Community-Acquired Pneumonia (CAP). In: ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). [Accesado 2014 Mar 15]. Disponible en: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00640926?term=radezolid&rank=1>. NLM Identifier: NCT00640926
85. Melinta Therapeutics, Inc. A Phase 2, Multicenter, Randomized, Open-Label, Comparative Study to Evaluate the Safety and Efficacy of RX-1741 Versus Linezolid in the Outpatient Treatment of Adult Patients With Uncomplicated Skin and Skin Structure Infection. In: ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). [Accesado 2014 Mar 15]. Disponible en: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show?term=radezolid&rank=2>. NLM Identifier: NCT00646958
86. Cempra Pharmaceuticals. A Randomized, Double-Blind, Multi-Center Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Oral CEM-101 Compared to Oral Levofloxacin in the Treatment of Patients With Community-Acquired Bacterial Pneumonia. In: ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). [Accesado 2014 Abr 12]. Disponible en: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01168713?term=solithromycin&rank=5>. NLM Identifier: NCT01168713
87. Cempra Pharmaceuticals. An Open-Label Study to Evaluate the Efficacy and Safety of a Single-Dose of Oral CEM-101 in the Treatment of Male and Female Patients With Uncomplicated Urogenital Gonorrhea. In: ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). [Accesado 2014 Abr 12]. Disponible en: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01591447?term=solithromycin&rank=3>. NLM Identifier: NCT01591447
88. Theravance, Inc. A Phase 2, Randomized, Double Blind, Study of Intravenous TD 1792 Versus Vancomycin for Treatment of Complicated Gram Positive Skin and Skin Structure Infections. In: ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). [Accesado 2014 Mar 15]. Disponible en: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00442832?term=td+1792&rank=1>. NLM Identifier: NCT00442832
89. Zotchev SB. Marine actinomycetes as an emerging resource for the drug development pipelines. *J Biotechnol.* 2012;158(4):168-75.
90. Willey JM, van der Donk WA. Lantibiotics: peptides of diverse structure and function. *Annu Rev Microbiol.* 2007;61:477-501.
91. Brogden NK, Brogden KA. Will new generations of modified antimicrobial peptides improve their potential as pharmaceuticals? *Int J Antimicrob Agents.* 2011; 38(3):217-25.
92. Kang SJ, Kim DH, Mishig-Ochir T, Lee BJ. Antimicrobial peptides: their physicochemical properties and therapeutic application. *Arch Pharm Res.* 2012;35(3):409-13.
93. Wittebole X, De Roock S, Opal SM. A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens. *Virulence.* 2014;5(1):226-35.
94. Chanishvili N. Phage therapy--history from Twort and d'Herelle through Soviet experience to current approaches. *Adv Virus Res.* 2012;83:3-40.
95. Rhoads DD, Wolcott RD, Kuskowski MA, Wolcott BM, Ward LS, Sulakvelidze A. Bacteriophage therapy of



venous leg ulcers in humans: results of a phase I safety trial. *J Wound Care* 2009;18:237-8, 40-3.

INFORMACION DE AUTOR:

Cano Segura, Sofía

Correo: sofiaelena.segura@ucr.ac.cr

96. Southwest Regional Wound Care Center. A Prospective, Randomized, Double-Blind Controlled Study of WPP-201 for the Safety and Efficacy of Treatment of Venous Leg Ulcers. In: *ClinicalTrials.gov* [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). [Accesado 2014 may 15]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00663091?term=phage+therapy&rank=5>. NLM Identifier: NCT00663091
97. Hanlon GW. Bacteriophages: an appraisal of their role in the treatment of bacterial infections. *Int J Antimicrob Agents*. 2007;30(2):118-28.
98. Knoll BM, Mylonakis E. Antibacterial bioagents based on principles of bacteriophage biology: an overview. *Clin Infect Dis*. 2014;58(4):528-34.
99. Weiss K. Toxin-binding treatment for *Clostridium difficile*: a review including reports of studies with tolevamer. *Int J Antimicrob Agents*. 2009;33(1):4-7.
100. Musgrave CR, Bookstaver PB, Sutton SS, Miller AD. Use of alternative or adjuvant pharmacologic treatment strategies in the prevention and treatment of *Clostridium difficile* infection. *Int J Infect Dis*. 2011;15(7):e438-48.
101. Khanna S, Pardi DS. *Clostridium difficile* infection: new insights into management. *Mayo Clin Proc*. 2012;87(11):1106-17.
102. Bjarnsholt T, Givskov M. The role of quorum sensing in the pathogenicity of the cunning aggressor *Pseudomonas aeruginosa*. *Anal Bioanal Chem*. 2007;387(2):409-14.
103. Rumbaugh KP, Diggle SP, Watters CM, Ross-Gillespie A, Griffin AS, West SA. Quorum sensing and the social evolution of bacterial virulence. *Curr Biol*. 2009;19(4):341-5.
104. Kalia VC, Wood TK, Kumar P. Evolution of Resistance to Quorum-Sensing Inhibitors. *Microb Ecol*. 2013.
105. Pinkner JS, Remaut H, Buelens F, Miller E, Aberg V, Pemberton N, et al. Rationally designed small compounds inhibit pilus biogenesis in uropathogenic bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(47):17897-902.

