

# Lib liberación de endotoxinas inducida por antibióticos.

## Revisión bibliográfica

**Palabras clave:** Antibióticos, endotoxinas, citoquinas, sepsis, infecciones, gramnegativos.

**Key words:** Antibiotics, endotoxin, cytokines, sepsis, infections, gramnegatives.

Recibido: 10/11/99  
Aceptado: 25/11/99

Raico Ernesto Laria Lamela\*

\* Licenciado en Bioquímica.  
Centro de Toxicología y Biomedicina (TOXIMED)

Correspondencia:  
Raico Ernesto Laria Lamela.  
Autopista Nacional Km 1 1/2, Aptdo. 4033,  
Santiago de Cuba, Cuba.  
CP 90400 Tel. 4 38 38  
E-mail: raico@toxi.scu.sld.cu

## Resumen

38

El uso de antibióticos para combatir los procesos infecciosos provocados por bacterias gramnegativas constituye una estrategia importante en el tratamiento de estas enfermedades. Sin embargo, investigaciones en las últimas décadas han revelado que existe liberación de endotoxinas inducida por la acción del antibiótico y que existe variación considerable entre las diferentes clases de antibióticos para inducir esta liberación de endotoxinas. Los lipopolisacáridos libres de las paredes celulares bacterianas pueden interactuar con los receptores de membrana de las células del sistema inmunológico como los neutrófilos y macrófagos, los que al ser excesivamente activados producen niveles deletéreos de citoquinas mediadoras de la inflamación como la IL-1, IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ , que pueden contribuir al agravamiento del estado del paciente. Esta liberación de endotoxinas está relacionada con la manera en la cual los antibióticos interactúan con proteínas presentes en las paredes celulares del microorganismo y los cambios morfológicos que se producen en las bacterias. Tanto los estudios *in vitro* como los experimentos en animales *in vivo* han brindado evidencias de este fenómeno, aunque la importancia clínica del mismo no está esclarecida.

## Summary

Antibiotic chemotherapy to treat infections with gramnegative microbes, is an important strategy. However, basic investigation over the past decade have revealed that such treatments may result in the release of endotoxin from bacterial cell wall and that antibiotic differs in their propensity to induce the releasing of endotoxin. This releasing of endotoxin can exacerbate the inflammatory answer of the host and produce deleterial levels of IL-6 and TNF $\alpha$ , and can contribute to the worse of the patient outcome. The endotoxin-released property of antibiotics is related to the interaction with penicillin binding proteins present in bacterial surface and morphological changes that take lace in the bacteria. Both *in vitro* studies and *in vivo* animal experiments have provided evidence in support of this concept, however the clinical importance of this phenomenon is unclear.

## Introducción

**E**s conocido que el uso de antibióticos para combatir los procesos infecciosos provocados por

bacterias del tipo gramnegativo, que son una de las principales causas de muerte en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI),<sup>1-4</sup> constituye una estrategia quimioterapéutica importante en el tra-

tamiento de estas enfermedades para reducir la morbilidad y/o mortalidad.<sup>5</sup> Sin embargo, desde la aparición de la era de los antibióticos se han reportado casos en que pacientes con un tratamiento adecuado de antibióticos, fundamentalmente de la familia de los beta-lactámicos, empeoraba su estado, siendo conocido esto como las reacciones de Jarisch-Herxheimer,<sup>6</sup> quienes fueron los primeros en describir este fenómeno. La aparición de este tipo de reacciones en pacientes con una infección bacteriana por gramnegativos que eran tratados con antibióticos, hizo sospechar que esta reacción era una manifestación sistémica de la respuesta inflamatoria del hospedero a constituyentes microbianos que eran liberados una vez que el microorganismo era destruido por los antibióticos.

En la actualidad existen suficientes evidencias que demuestran que los principales agentes mediadores de los procesos inflamatorios que se manifiestan durante una infección por microorganismos gramnegativos son los lipopolisacáridos bacterianos o LPS,<sup>1</sup> estructuras que se encuentran asociadas a la membrana celular externa de las bacterias gramnegativas y que han sido también identificadas como endotoxinas.<sup>7</sup> La liberación de las endotoxinas de las paredes celulares bacterianas facilita la interacción de éstas con los receptores de membrana de las células del sistema inmunológico, como los neutrófilos y macrófagos,<sup>8</sup> los que al ser excesivamente activados producen niveles deletéreos de citoquinas mediadoras de la inflamación, entre las que se mencionan la IL-1, IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ ,<sup>9-11</sup> entre otras, cuyas consecuencias más severas pueden ser la aparición del shock séptico, un síndrome caracterizado por la coagulación intravascular diseminada (CID) y la falla multiorgánica, que finalmente conduce a la muerte en la mayoría de los casos.<sup>12</sup>

El criterio usado para la selección de los antibióticos más apropiados a administrar a un paciente con una infección bacteriana usualmente incluye el espectro de sensibilidad de estos antibióticos y sus toxicidades relativas.<sup>13,14</sup> Bonne en 1994 planteó

que la terapia con antibióticos debe ser iniciada empíricamente y en dosis máxima, antes de disponer de los resultados de los cultivos, con una cobertura que abarque los microorganismos grampositivos y gramnegativos así como aquellos que son sugeridos por la situación clínica. Sin embargo, aún con el desarrollo y uso de antibióticos de amplio espectro y de última generación y otras estrategias en la terapéutica de esta entidad, la mortalidad asociada con la sepsis por microorganismos gramnegativos y shock séptico no ha disminuido significativamente en las últimas dos décadas.<sup>15</sup> Además, muchas bacterias incluyendo las especies gramnegativas, han adquirido resistencia a los diversos antibióticos una vez que pasan a controlar todas las infecciones.<sup>7,16</sup> Por esta razón cabe hacernos la pregunta:

### **¿Son los antibióticos la mejor estrategia para combatir las infecciones bacterianas?**

La literatura médica científica en los últimos 50 años ha recogido los trabajos llevados a cabo por varios investigadores que han realizado estudios tanto *in vitro* como *in vivo*, utilizando en este último caso modelos de infección por gramnegativos en animales experimentales, que han probado que los antibióticos causan la aparición de LPS solubles no asociados a microbios y que estos LPS manifiestan la mayoría de las actividades biológicas o endotóxicas de los LPS que han sido aislados de los microorganismos por técnicas de extracción química tradicional y técnicas de purificación.<sup>17,18</sup>

Sin embargo, la liberación de endotoxinas de las paredes celulares bacterianas provocadas por los antibióticos se debe sólo parcialmente a la lisis o muerte de las bacterias;<sup>3,9,13,19,20</sup> es decir, que la endotoxina puede ser liberada de la membrana externa no sólo en condiciones deletéreas para el microorganismo, sino también de células viables en crecimiento.<sup>5</sup> Las propiedades de los antibióti-

cos de inducir una liberación de endotoxinas de los microorganismos gramnegativos están relacionadas a la manera en la cual ellos ejercen su efecto bactericida y la manera en la cual afectan a la pared celular bacteriana.<sup>13</sup>

Investigaciones básicas en las últimas décadas han revelado una variación considerable entre los antibióticos y su propensión a liberar endotoxinas de las células bacterianas durante su acción antibacteriana. Hasta la fecha todas las clases de antibióticos estudiados (*cuadro I*) han demostrado que inducen la liberación de cantidades variables de endotoxinas.<sup>9</sup>

La clase de los antibióticos beta-lactámicos, en particular, ha sido responsable de la liberación de grandes cantidades de LPS más que otras clases de antibióticos. A este grupo de antibióticos pertenecen las familias de las penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos y monobactámicos.<sup>16</sup>

Sin embargo, se reconoce también que existe una variabilidad en la habilidad para liberar endotoxinas entre estas subclases; hasta ahora los estudios de liberación de LPS han incluido primeramente a la subclase de las cefalosporinas, monobactámicos y las penicilinas beta-lactámicas, pero no a la subclase de los carbapenémicos. Una serie de estudios han demostrado que los carbapenémicos liberan una cantidad significativamente menor de LPS que el resto de las subclases de los beta-lactámicos, pero esta disparidad puede apreciarse también dentro de la misma subclase de los carbapenémicos como es el caso del imipenem y el meropenem.<sup>8,9,21</sup>

La liberación de los LPS de las bacterias ha sido relacionada con la interacción de los antibióticos con un grupo de proteínas péptidoglicano-transpeptidasas, denominadas PBP (penicilin binding proteins), que se encuentran ubicadas en los espacios periplasmáticos de las membranas celulares de las bacterias gramnegativas y que participan en la síntesis de la pared celular.<sup>9</sup> Las PBP han sido agrupadas en tres amplias categorías: PBP I, PBP2 y PBP3, con base en los efectos que causa la unión del antibiótico y la inhibición enzimática sobre el crecimiento bacteriano y la forma y/o lisis de las bacterias.<sup>5,6,8,9</sup> De manera general se ha observado que aquellos antibióticos específicos para las PBP I causan una muerte bacteriana rápida con muy poca liberación de LPS; los antibióticos que se unen a PBP2 provocan la pérdida de la movilidad bacteriana y conversión de las bacterias a una forma de esferoplastos redondeados, pero sin una significativa lisis ni liberación de endotoxinas, mientras que aquellos antibióticos que se unen a PBP3 conllevan a la conversión de la bacteria hacia una forma filamentosa, la cual continúa su crecimiento anormal por un periodo de varias horas antes de la muerte celular y son los que producen las mayores cantidades de endotoxinas.<sup>8,21</sup>

Existen trabajos que plantean que la cantidad de endotoxinas liberadas de una bacteria expuesta a antibióticos puede ser variable, dependiendo de las especies bacterianas, debido a las diferentes sensibilidades de una misma cepa bacteriana a diferentes antibióticos, el tipo de blanco de los antibióticos,

**Cuadro I.** Algunos antibióticos que han sido estudiados en cuanto a sus propiedades de inducir la liberación de endotoxinas.

| Antibióticos                                                                         | Clase           | Subclase                        | Antibióticos                                                  | Clase                                         | Subclase                                       |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|---------------------------------|---------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Penicilina<br>Piperacilina<br>Ampicilina<br>Ceftriaxona<br>Cefotaxima<br>Ceftazidime | Beta-lactámicos | Penicilinas                     | Imipenem<br>Meropenem<br>Aztreonam                            | Beta-lactámicos                               | Carbapenémicos                                 |
|                                                                                      | Beta-lactámicos | Cefalosporinas<br>3ª generación | Ciprofloxacina<br>Tobramicina<br>Gentamicina<br>Cloranfenicol | Beta-lactámico<br>Quinolona<br>Aminoglucósido | Monobactámico<br>Fluroquinolonas<br>Kanamicina |

la concentración de los antibióticos y la duración de la exposición de la bacteria a los antibióticos.<sup>5</sup> De hecho, una bacteria puede tener más de un tipo PBP en su superficie, y por lo tanto un antibiótico puede unirse con diferente selectividad a varias de las PBP presentes, de manera que en estos casos resulta muy difícil poder predecir los efectos de liberación de endotoxinas inducidos por el antibiótico, teniendo en cuenta sus cambios morfológicos y su afinidad por las PBP. Un ejemplo de este hecho fue demostrado por Trautman *et al* trabajando con el meropenem en una cepa de *Pseudomonas spp* para la cual el meropenem se une tanto a PBP2 como a PBP3 en niveles cercanos a su mínima concentración inhibitoria (MIC), posibilitando la formación de formas celulares indeterminadas que pueden ser consideradas como una mezcla de esferoplastos y formas filamentosas con una consiguiente mayor liberación de endotoxinas.<sup>21</sup>

En cuanto a los cambios morfológicos de las bacterias en presencia de los antibióticos se ha asociado la mayor liberación de endotoxinas a la aparición de las formas celulares filamentosas, comportamiento observado tanto *in vitro* como *in vivo*, aunque en este último las evidencias han sido muy pocas.<sup>9</sup> Sin embargo, otros autores plantean que tales formas filamentosas no parecen predecir el efecto liberador de LPS, pues se ha observado que la ciprofloxacina induce bajos niveles de liberación de LPS aún provocando la formación de filamentos en cultivos de *E. coli*.<sup>12</sup>

Seguido a los estudios *in vitro*, se han llevado a cabo experimentos utilizando modelos experimentales de ratones sensibilizados a las endotoxinas, con el objetivo de extender estos hallazgos al comportamiento de las sepsis por gramnegativos *in vivo* y de esta forma poder dar respuesta a la pregunta de si estos antibióticos que difieren en su habilidad de interactuar con las bacterias y causar la liberación de endotoxinas además difieren en su eficacia protectora contra una infección.<sup>5,13,22,23</sup>

Un ejemplo de estos estudios es el llevado a cabo por Morrison y Bucklin (1996) quienes por

varios años desarrollaron un modelo en ratón sensible a los LPS mediante un tratamiento con la hepatotoxina D-galactosamina. Analizando la influencia de los antibióticos ceftazidima e imipenem sobre la letalidad que producía en estos modelos la inyección de una dosis de *E. coli* por vía intraperitoneal, encontraron que la quimioterapia con los antibióticos resultaba en niveles significativos de protección comparados con los animales controles no tratados, la sobrevivencia con el imipenem fue más reproducible y grande que la observada en los ratones tratados con ceftazidima aun cuando estudios *in vitro* habían establecido previamente que ambos antibióticos poseían una MIC equivalente frente a *E. coli*. Toda la evidencia que estaba disponible hasta ese momento sugirió que las diferencias encontradas eran atribuibles a la liberación de endotoxinas, aunque la evidencia definitiva para esta conclusión por medición directa de los niveles de endotoxinas circulantes, no se pudo desarrollar por razones técnicas.<sup>22</sup> Evidencias similares, pero aún más fuertes fueron encontradas por Nakano y Kirikae (1996)<sup>24</sup> quienes demostraron, en un modelo similar de sensibilización a las endotoxinas y con una infección por *Pseudomonas aeruginosa*, que el tratamiento con ceftazidima causó un incremento en la letalidad en comparación con los controles, mientras que el tratamiento con imipenem proporcionó una total protección de los animales infectados. Sin embargo, en estos estudios tampoco se llevaron a cabo las determinaciones de los niveles de endotoxinas circulantes, por lo que su papel debió ser inferido.<sup>8</sup>

Otro resultado arrojado por las pruebas *in vitro* e *in vivo* es la relación entre la liberación de endotoxinas inducidas por antibióticos y la función de los componentes del sistema inmune, sobre todo relacionado con los niveles de las moléculas mediadoras de la inflamación. Así se ha podido comprobar que aquellos antibióticos específicos para PBP3 y que causan la aparición de grandes cantidades de endotoxinas se encuentran relacionados con la aparición de niveles altos de IL-6 y TNFa

mientras que los específicos para PBP2 no elevan los niveles de estas citoquinas. Estos datos indican que las diferentes afinidades de los antibióticos beta-lactámicos para las PBP también afectan la respuesta de endotoxinas y citoquinas y se correlaciona con la eficacia protectora *in vivo* de estos antibióticos en modelos experimentales con bacterias gramnegativas.<sup>15,25-29</sup>

Como podemos apreciar, los estudios *in vitro* y en animales indican que el tratamiento con antibióticos puede inducir liberación de endotoxinas sistémica o local, dependiendo del tipo de interacción del antibiótico con las proteínas de unión, presentes en la superficie de las bacterias gramnegativas, y de los cambios morfológicos que en éstas se produzcan por su interacción con el antibiótico y que ésta, en varios casos, es acompañada por cambios en los mediadores de la respuesta inmunológica frente a una infección bacteriana, como la IL-6 y el TNFα con deterioro de los parámetros de la enfermedad. En cierto número de estudios en animales estas diferencias en el potencial de liberación de endotoxinas para cada tipo de antibiótico han resultado en diferencias en cuanto a la morbilidad y/o mortalidad.<sup>15</sup>

## Significación clínica del fenómeno

Actualmente, los estudios en humanos sobre el posible rol de los antibióticos asociado a la liberación de endotoxinas en el síndrome de sepsis han sido extremadamente limitados. Esto está relacionado principalmente con la determinación de los niveles de endotoxinas antes y después de la iniciación del tratamiento con antibióticos, en una variedad de infecciones. Además, debe tenerse en cuenta que en el ambiente clínico, como puede ser la unidad de cuidados intensivos (UCI), este fenómeno se hace más difícil de demostrar debido a que el espectro de organismos gramnegativos es diverso y las enfermedades de los pacientes varían considerablemente.<sup>13,15,30</sup>

La evidencia para la significación clínica de este fenómeno hasta el momento no ha sido relevante,

aunque se pueden mencionar algunos trabajos que han tratado el problema.<sup>17</sup> Tal es el caso de Prins y colaboradores quienes fueron capaces de demostrar que el uso del imipenem como un antibiótico primario redujo significativamente el tiempo de efervescencia comparado con la ceftazidima, antibióticos que tienen bajo y alto poder de liberación de endotoxinas, respectivamente, *in vitro*; además de encontrar que los niveles de endotoxinas estaban más elevados en los pacientes tratados con ceftazidima que en los que se administró imipenem.<sup>31</sup> También encontraron una tendencia hacia niveles bajos de los parámetros inflamatorios como el TNFα y la IL-1 en los tratados con imipenem. Estos resultados indicaron que la diferencia de los antibióticos en su propensión a provocar la liberación de endotoxinas puede afectar la respuesta inflamatoria durante el tratamiento.<sup>30</sup>

Holzheimer y colaboradores reportaron un estudio clínico de pacientes operados, admitidos en la unidad de cuidados intensivos de anestesiología y operatoria, donde no se presenta liberación de endotoxinas después del tratamiento con imipenem; sin embargo, la cefotaxima y la ceftriaxona mostraron pruebas de endotoxinas positivas en el plasma. La ciprofloxacina y la vancomicina fueron intermedias en la liberación de endotoxinas y la tobramicina no causó liberación de endotoxinas.<sup>30</sup>

Uno de los estudios más extensos en humanos sobre la liberación de endotoxinas inducida por antibióticos envolvió un análisis retrospectivo de 416 pacientes con trauma severo, tratados en nueve hospitales. De estos, 334 pacientes fueron agrupados en aquellos que recibían antibióticos con altos vs bajos potenciales de liberación de endotoxinas. Basándose en las investigaciones que demostraban alta afinidad por las PBP3, (alta liberación de LPS *in vitro* y alta producción de TNF *in vitro*) los tres antibióticos aztreonam, ceftazidima y cefotaxima fueron escogidos como el grupo PBP3/TNF. Si el paciente había recibido cualquiera de los tres antibióticos mencionados era clasificado como perteneciente al grupo PBP3/

TNF, mientras que si recibía cualquier otra combinación de antibióticos se clasificaba como no-PBP3/TNF. Los resultados de este estudio arrojaron un mayor porcentaje de mortalidad en los pacientes pertenecientes al grupo PBP3/TNF, al compararlo con los no-PBP3/TNF. Tales pacientes antes del estudio eran los que mostraban mayor daño, por eso se decidió aplicarles este grupo de antimicrobianos; además, los que presentaron en sangre cultivo positivo sólo fueron detectados después de comenzada la aplicación de los antibióticos, lo cual es un indicador de que la influencia de los antibióticos sobre la liberación de endotoxinas es un aspecto a tener muy en cuenta. Sin embargo, en este estudio se mostraron limitaciones que no permitieron confirmar las conclusiones acerca de la significación clínica de la liberación de endotoxinas inducida por los antibióticos aplicados. Primero, la categorización de los antibióticos en los grupos PBP3/TNF y no-PBP3/TNF no tuvo en cuenta el espectro completo de las propiedades de liberación de endotoxinas de todos los antibióticos; y segundo, el estudio no midió los niveles de endotoxinas y citoquinas circulantes.<sup>13</sup>

## Conclusión

Como podemos apreciar en los trabajos realizados en modelos *in vitro*, *in vivo* y en humanos descritos en la literatura más reciente, si bien no son concluyentes sobre el tema de la liberación de endotoxinas inducida por antibióticos, debido a las limitaciones que se pueden presentar en un estudio de este tipo, han permitido sugerir que diferentes tipos de antibióticos son capaces de inducir la liberación de diferentes niveles de endotoxinas, tanto en los cultivos *in vitro* como en los modelos animales de infección y durante el tratamiento de las infecciones bacterianas en humanos. Tal liberación de endotoxinas asociada a los antibióticos probablemente tiene consecuencias biológicas, relacionadas fundamentalmente con los procesos des-

encadenados por las defensas inmunológicas del organismo; esas consecuencias biológicas son posiblemente de relevancia clínica en términos de la evolución del paciente.<sup>1-32</sup>

Los estudios colectivos publicados por diferentes laboratorios sobre los mecanismos de la liberación de endotoxinas inducida por antibióticos, apoyan claramente el concepto de que este fenómeno debe tenerse en consideración durante el tratamiento de las sepsis por gramnegativos. Sin embargo, la evidencia de estos hallazgos sólo puede ser vista como sugestiva y no es suficiente para implementar cambios en la prescripción actual de antibióticos o en las decisiones de dosis.<sup>13</sup> Para ello se requiere de futuros estudios, incluyendo estudios clínicos prospectivos con determinación de los niveles de citoquinas y endotoxinas, antes y después de la instauración de diferentes regímenes de antibióticos, y la correlación de los hallazgos con la supervivencia y otros parámetros significativos como la falla multiorgánica, la bacteriemia y otras manifestaciones propias de una sepsis bacteriana.<sup>18,32</sup> Será necesario investigar, además, bajo qué condiciones de combinación de patógenos bacterianos, antibióticos y condiciones clínicas ocurre el fenómeno de liberación de endotoxinas inducida por antibióticos y su influencia en el advenimiento del estado grave del paciente.<sup>13,18,32</sup>

## Bibliografía

1. Talan DA. Recent development in our understanding of sepsis, evaluation of anti-endotoxin antibodies and biological response modifiers. *Ann Emerg Med* 1993; 22(12): 1871-1890.
2. Cometta A. Polyclonal intravenous immune globulin for prevention and treatment of infections in critically ill patients. *Clin Exp Immunol* 1994; 97: 60-70.
3. Horn KD. Evolving strategies in the treatment of sepsis and systemic inflammatory response syndrome (SIRS). *QJM. Monthly Journal of the Association of Physicians* 1998; 91(4): 265-277.
4. Castro BL. Trauma y sepsis. *Revista Cubana Medicina Militar* 1997; 26(2): 129-140.
5. Kirikae T, Nakano M, Morrison DC. Antibiotic-induced endotoxin release from bacteria and its clinical significance. *Microbial Immunol* 1997; 41(4): 285-294.
6. Morrison DC. Endotoxin and the septic patient-Differential contribution of antibiotic chemotherapy. *Infections in Oncology* 1997; 2-7.

7. Wyckoff TJO, Raetz CRH, Jackman JE. Antibacterial and anti-inflammatory agents that target endotoxin. *Trends in Microbiology* 1998; 6(4): 154-159.
8. Morrison DC. Antibiotic-Mediated release of endotoxin and the pathogenesis of gram-negative sepsis. *Progress in Clinical and Biological Res* 1996; 397: 199-207.
9. Jackson JJ, Kropp H. Differences in mode of action of beta-lactam antibiotics influence morphology, LPS release and *in vivo* antibiotic efficacy. *J Endotoxin Res* 1996; 3(3): 201-218.
10. Lechner AJ. A recombinant tumor necrosis factor- $\alpha$  p80 receptor. Fc fusion protein decreases circulating bioactive tumor necrosis factor- $\alpha$  but not lung injury or mortality during immunosuppression-related gram-negative bacteremia. *J Crit Care* 1997; 12(1): 28-38.
11. Mercer-Jones MA. Continuous antibiotic treatment for experimental abdominal sepsis: Effects on organ inflammatory cytokine expression and neutrophil sequestration. *British Journal of Surgery* 1998; 85(3): 385-389.
12. Morrison DC. Antibiotic-mediated endotoxin release. Contribution to pathogenesis in gram-negative sepsis. *J Endotoxin Res* 1996; 3(3): 110.
13. Mock CN. The clinical significance of endotoxin released by antibiotic: what is the evidence? *J of Endotoxin Res* 1996; 3(3): 253-259.
14. Xuan D. *In vitro* reduction of endotoxin concentrations with de 5s fragment of immunoglobulin G. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41(7): 1512-1516.
15. Holzheimer RG, Hirte JF, Reith B, Engelhardt W, Horak KH, Leppert R, Aasen A, Capel P, Urbaschek R, Karch H, Thiede A. Different endotoxin release and IL-6 plasma levels after antibiotic administration in surgical intensive care patients. *J Endotoxin Res* 1996; 3(3): 261-267.
16. Howard BJ. *Clinical and Pathogenic microbiology*. 2ed. Washington DC.: Mosby Tear Book Inc, 1994: 145-148.
17. Morrison DC. Endotoxin/Antibiotics and gram-negative sepsis. *J Endotoxin Res* 1996; 3(3): 171.
18. Neu HC. Aztreonam. El primer monobactámico. *Clínicas Médicas de Norteamérica* 1988; 3: 605-617.
19. Prins JM. No increase in endotoxin release during antibiotic killing of meningococci. *J Antimicrob Chemother* 1997; 39(1): 13-18.
20. Trautmann M. Antibiotic-induced release of endotoxin: *In-vitro*, comparison of meropenem and other antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 1998; 41(2): 163-169.
21. Trautmann M, Einermann M, Zick R, Moriche A, Seidelmann M, Berger D. Antibacterial activity of meropenem against *Pseudomonas aeruginosa* including antibiotic induced morphological changes and endotoxin-liberating effects. *Eur J Microbiol Infect Dis* 1998; 17: 754-760.
22. Morrison DC, Bucklin SE. Evidence for antibiotic mediated endotoxin release as a contributing factor to lethality in experimental gram-negative sepsis. *Scand J Infect Dis* 1996; Suppl 101: 3-8.
23. Morrison DC, Bucklin SE, Leeson MC, Norimatsu M. Contribution of soluble endotoxin released from gram-negative bacteria by antibiotics to the pathogenesis of experimental sepsis in mice. Antibiotic mediated endotoxin release contribution to pathogenesis in gram-negative sepsis. *J Endotoxin Res* 1996 3(3): 237-243.
24. Nakano M, Kirikae T. Biological characterization of *Pseudomonas aeruginosa* endotoxin released by antibiotic treatment *in vitro*. *J Endotoxin Res* 1996; 3(3): 195-200.
25. Healy DP, Verst-Brasch CL, Clendening CE, Neely AN, Holder IA. Influence of drug class and dose size on antibiotic-induced endotoxin/interleukin-6 release and impact on efficacy of anti-endotoxin antibody. *J Endotoxin Res* 1996; 3(3): 219-227.
26. Healy DP, Verst-Brasch CL, Clendening CE, Neely AN, Holder IA. Kinetics of endotoxin and interleukin-6 following multiple doses of antibiotics for experimental gram-negative bacterial sepsis. *J Endotoxin Res* 1996; 3(2): 93-101.
27. Arditi M, Zhan J. Differential antibiotic-induced endotoxin release and interleukin-6 production by human umbilical vein endothelial cells (HUVECs): amplification of the response by coinubation of HUVECs and blood cells. *J Infect Dis* 1997; 175(5): 1255-1258.
28. Norimatsu M, Morrison DC. Correlation of antibiotic-induced endotoxin release and cytokine production in *Escherichia coli*-inoculated mouse whole blood *in vivo*. *J Infect Dis* 1998; 177(5): 1302-1307.
29. Dofferhoff ASM, Esselink MT, De-Vries-Hospers HG, Zanten AF, Bom VJJ, Weits J, Vellenga E. The release of endotoxin from antibiotic-treated *Escherichia coli* and the production of tumor necrosis factor by human monocytes. *J Antimicrob Chemother* 1993; 31(3): 373-384.
30. Holzheimer RG. The significance of endotoxin release in experimental and clinical sepsis in surgical patients. Evidence for antibiotic-induced endotoxin release? *Infection* 1998; 26(2): 77-84.
31. Prins JM, Van-Agtmael MA, Kuijper EJ, Van-Poventer SJH, Speelman P. Antibiotic induced endotoxin release in patients with gram-negative urosepsis: A double blind study comparing imipenem and ceftazidime. *J Infect Dis* 1995; 172(3): 886-891.
32. Lipman B, Neu HC. Imipenem: un nuevo antibiótico carbapenémico. *Clínicas Médicas de Norteamérica* 1988; 3: 591-603.