



# Antimicrobial resistance. Some aspects of a big problem

**Title in Spanish:** *La resistencia antimicrobiana. Algunos aspectos de un grave problema*

M.<sup>a</sup> del Carmen Avendaño López<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Catedrática de Química Orgánica y Académica de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia.

**ABSTRACT:** We comment here the emergency, dissemination, characterization and treatment of several multidrug-resistant bacteria, the danger of antibiotics overuse and bad use, the challenges of antibacterial discovery, and the study of other approaches such as modulation of bacterial metabolism to combat antibiotic resistance.

**RESUMEN:** En esta mini-revisión se analiza la emergencia, diseminación, caracterización y tratamiento de las bacterias multirresistentes, el peligro del abuso y mal uso de los antibióticos, las dificultades para el descubrimiento de nuevos antibacterianos, y el estudio de otros enfoques como la modulación del metabolismo bacteriano para combatir la resistencia a los antibióticos.

\*Corresponding Author: [avendano@ucm.es](mailto:avendano@ucm.es)

Received: January 18, 2018 Accepted: January 19, 2018

An Real Acad Farm Vol. 83, N° 4 (2017), pp. 380-391

Language of Manuscript: Spanish

## 1. INTRODUCCIÓN

La **resistencia antimicrobiana (RAM)** se produce por evolución natural a través de mutaciones genéticas de los microorganismos. Los ciclos de replicación bacteriana facilitan la aparición de mutaciones *de novo* ya que una sola bacteria, por ejemplo *Staphylococcus aureus*, puede replicar a través de 10 generaciones y originar 1 millón de descendientes en menos de 12 horas. Cada ciclo de replicación es una oportunidad para la mutación y permite la aparición de factores genéticos que contribuyen a la RAM. La resistencia también puede adquirirse como consecuencia de la exposición de los microorganismos durante un tiempo a la acción de antibióticos u otros quimioterápicos. En su evolución, las bacterias han desarrollado múltiples mecanismos de resistencia: producción de enzimas inactivantes, mutación de lugares

de acción o dianas moleculares, sobreexpresión de bombas de eflujo, etc. La presión selectiva ejercida por el uso de antibióticos en los últimos 70 años ha acelerado el ritmo de su aparición y ha multiplicado sus mecanismos de actuación de una forma mucho más eficaz que la ocurrida a través de millones de años.

Actualmente, el arsenal de antibióticos disponible no nos protege frente a infecciones de bacterias Gram-negativas y de otras especies o subespecies de bacterias patógenas. La producción de carbapenemasas, enzimas inactivadoras de antibióticos carbapenémicos (Figura 1), es uno de los mecanismos ocurridos más recientemente y uno de los más preocupantes, ya que estas enzimas inactivan prácticamente el último escalón terapéutico frente a microorganismos Gram-negativos multirresistentes (1).

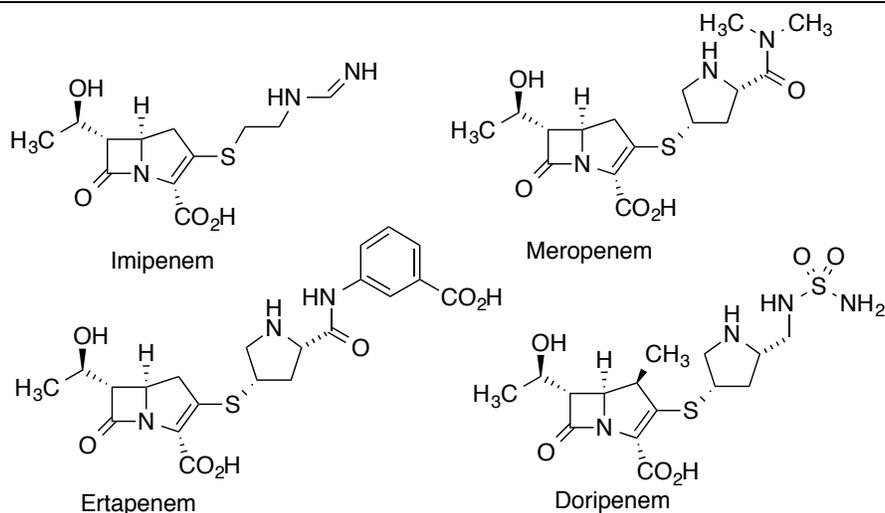


Figura 1. Ejemplos de antibióticos carbapenémicos.

La resistencia a los antibióticos se ha convertido en un problema tan grave para la salud mundial que, ya en el año 2011, fue el tema del *World Health Day*: “*Antimicrobial resistance: the today’s no action is the tomorrow’s no cure*” (2). Debido a que cuando una bacteria se hace multirresistente no suele haber alternativas terapéuticas, las consecuencias pueden ser fatales. Se ha asegurado que si no se frena este problema, en unas décadas podríamos volver a la era anterior al descubrimiento de los antibióticos y la medicina moderna se vería comprometida en su conjunto, ya que no se podrían realizar tratamientos anticáncer, trasplantes, cesáreas, o cirugías complejas porque no se podrá hacer frente a las bacterias.

En 1967, una visión optimista que menospreciaba la increíble capacidad que tienen las bacterias para intercambiar su material genético y adaptarse a situaciones adversas por selección natural (3), anunciaba que gracias a

los antibióticos y a otros agentes quimioterápicos, el problema de las infecciones bacterianas había terminado. Sin embargo, la evidencia demostraba lo contrario. Por ejemplo, el porcentaje de infecciones insensibles al tratamiento con penicilina causadas por *Staphylococcus aureus*, una bacteria anaerobia Gram-positiva que coloniza a una de cada tres personas y puede originar infecciones tan graves como la neumonía, la meningitis, o el shock tóxico, era en 1955 de un 13%. En 1988, esta cifra ascendió hasta un 91%. Además, muchas cepas de *S. aureus* son ahora resistentes también a otros antibióticos β-lactámicos (Figura 2) como oxacilina y amoxicilina, y han comenzado a desarrollar resistencias a meticilina (*methicillin resistant Staphylococcus aureus*, MRSA) y al glicopéptido vancomicina (Figura 3), antibióticos que en otros tiempos se consideraban como “último recurso” para las infecciones más serias (4).

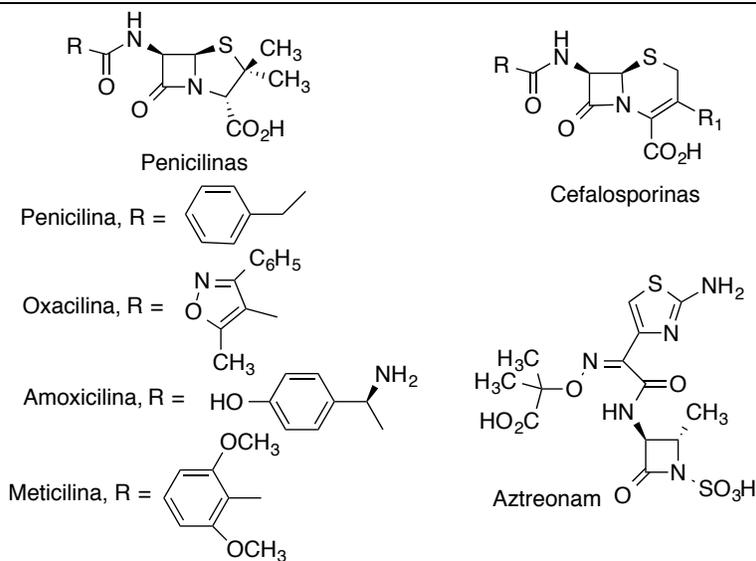


Figura 2. Ejemplos de antibióticos β-lactámicos.

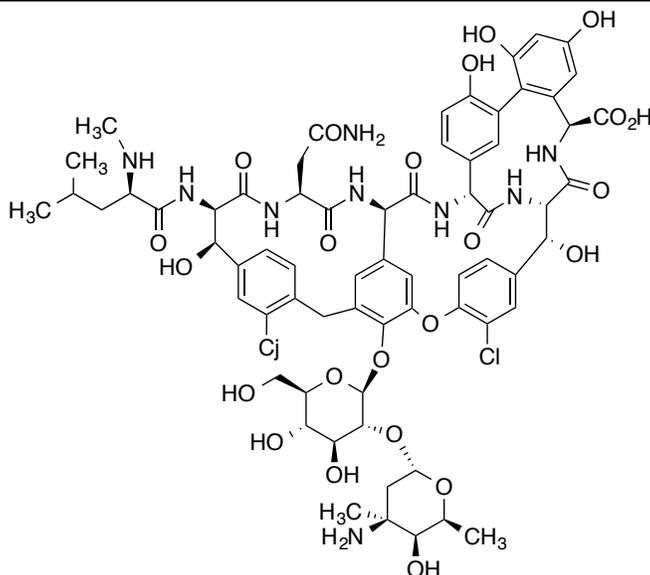


Figura 3. Estructura de vancomicina.

La RAM no es solo un peligro para la salud, sino que también lo es para la economía. Según Informes del Banco Mundial publicados en 2016 y 2017 se calcula que este problema es responsable de una caída del PIB mundial de al menos un 1,1%, lo que equivaldría a un billón de dólares al año hasta 2030 (5).

## 2. EMERGENCIA Y TRATAMIENTO DE LAS BACTERIAS MÁS PREOCUPANTES

De entre las bacterias que han evolucionado hasta desarrollar resistencias, unas de las más peligrosas son las **enterobacterias**, importantes patógenos nosocomiales debido a la dificultad de su tratamiento condicionada por su multiresistencia intrínseca y por la adquisición de nuevos genes de resistencia a través de plásmidos o transposones (6). Los genes responsables de la resistencia antimicrobiana, como los que codifican las bombas de eflujo a múltiples fármacos en la bacteria Gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa*, se encuentran en los cromosomas bacterianos y son generalmente inmóviles. Por el contrario, las transportados por plásmidos, pueden diseminarse rápidamente entre las bacterias de la misma o diferente especie. Los **plásmidos**, normalmente hebras circulares de ADN no cromosómico, suelen transportar múltiples genes de RAM que pueden pasar de una bacteria a otra a través de la conjugación (transferencia horizontal de genes a través de una breve conexión del citoplasma de 2 bacterias). A veces, estos genes se adquieren a través de elementos genéticos transponibles o **transposones**, secuencias de ADN móvil que pueden integrar un cromosoma bacteriano o un plásmido.

Las infecciones de las enterobacterias, especialmente las producidas por la bacteria Gram-positiva *Enterococcus faecalis*, son cada vez más frecuentes en los hospitales. Aunque los enterococos representan menos de un 0,1% de la **microbiota intestinal** de los humanos y de otros mamíferos, sus linajes (caracterizados por la secuenciación de sus genomas) (7), lideran el ranking de las resistencias a múltiples fármacos. Además de ser *multidrug resistant* (MDR), lo que les da una amplia ventaja frente a sus competidores presentes en el intestino de los pacientes tratados con agentes antimicrobianos, son resistentes a los protocolos de desinfección hospitalaria y, por tanto, son muy persistentes en dicho ambiente. Entre los enterococos, los fenotipos resistentes a múltiples fármacos (MDRs) parecen correlacionarse con la pérdida de los sistemas de defensa CRISPR (repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas). Es probable que esta circunstancia evolutiva tuviera como objetivo proteger a las bacterias de los fagos. Los genomas de los enterococos MDR son con frecuencia mayores que los de otras bacterias comensales por el aumento de sus elementos móviles, que se adquieren rápidamente y después se transmiten. Por ejemplo, la divergencia de *E. faecalis* respecto a *Melissococcus plutonius*, un género bacteriano muy próximo a los enterococos, supuso para el primero de estos microorganismos una ganancia de 335 genes, lo que le permitió metabolizar el ácido úrico y utilizarlo como fuente de carbono y nitrógeno en el

intestino de los insectos y otros animales que excretan la mayor parte de sus residuos nitrogenados convertidos en dicho ácido. Este cambio genético que permite la utilización de ácido úrico es uno de los muchos producidos en la especiación de los enterococos, que están relacionados en su mayoría con el metabolismo y la utilización de los hidratos de carbono o con la absorción y metabolismo de aminoácidos, unas características que podrían ser muy útiles para luchar contra las resistencias, como se verá más adelante.

Desde que en los años 1940 se introdujo la penicilina en la práctica clínica, los antibióticos han salvado la vida de millones de seres humanos, pero lo que no se sabía entonces y aún hoy resulta sorprendente, es que las bacterias estaban preparadas para luchar contra ellos mucho antes de que Alexander Fleming descubriera la penicilina. Algunas muestras de suelos permanentemente congelados (permafrost) han mostrado la presencia de estas bacterias 30.000 años antes del descubrimiento de los factores de resistencia a la penicilina, y también se han identificado estos factores en muestras extraídas de un ecosistema aislado durante más de 4 millones de años (8).

Aunque es difícil de probar, una gran cantidad de datos apoyan la propuesta de que la **especiación de los enterococos** fue paralela a la diversificación de sus hospedadores, emergiendo al final de la Extinción del Pérmico nuevas especies seleccionadas para sobrevivir a la desecación y a la falta de recursos que supuso el salto de los hospedadores acuáticos a los terrestres. Recientemente, científicos del MIT y de la Universidad de Harvard han estudiado la evolución de los enterococos patógenos *MDR* a través de varios siglos utilizando técnicas moleculares avanzadas, como la denominada *molecular clock*. Ésta calcula el tiempo prehistórico en el que divergieron dos o más formas de vida deduciéndolo de la velocidad a la que han mutado sus biomoléculas, generalmente secuencias de nucleótidos. Refinada con informaciones obtenidas a partir de restos fósiles, esta técnica ha permitido concluir que la resistencia a múltiples fármacos que caracteriza a estos enterococos comenzó a gestarse desde su aparición en nuestro planeta hace unos 425-500 millones de años, al mismo tiempo que los animales empezaron a pasar de los océanos a la tierra (9). La terrestrialización de los animales requirió que la flora intestinal se adaptara a ciclos de aislamiento y desecación hasta su reentrada en la cadena alimenticia, y parece que los enterococos se adaptaron a estas condiciones endureciendo su pared celular para hacer frente al estrés ambiental, una característica que les permite persistir en el ambiente hospitalario de nuestros días.

La Organización Mundial de la Salud elaboró en marzo de 2017 una lista de “**patógenos prioritarios**” RAM, que incluye las 12 familias de bacterias más peligrosas para la salud humana, transmitiendo a los gobiernos la imperiosa urgencia de desarrollar nuevos antibióticos para combatirlos. Estos patógenos se encuadran en tres categorías (prioridad crítica, elevada, o media), según la urgencia para encontrar nuevos antibióticos. El primer

grupo incluye bacterias que han adquirido resistencia a un elevado número de antibióticos: *Acinetobacter baumannii*, resistente a los carbapenémicos; *Pseudomonas aeruginosa*, también resistente a los carbapenémicos y varias enterobacteriáceas productoras de  $\beta$ -lactamasas, como *Klebsiella*, *E. coli*, *Serratia*, y *Proteus*. El aumento de la frecuencia con que aparecen en infecciones nosocomiales cepas de organismos Gram-negativos resistentes, en especial de *Pseudomonas aeruginosa*, es altamente preocupante porque las opciones para su tratamiento son extraordinariamente limitadas. El segundo y tercer grupo incluyen otras bacterias que exhiben una fármacorresistencia creciente. Dentro del segundo, de prioridad elevada, encontramos a *Enterococcus faecium*, resistente a la vancomicina; *Staphylococcus aureus*, resistente a la meticilina y a la vancomicina; *Helicobacter pylori*, resistente al antibiótico macrólido claritromicina (Figura 4); especies de los géneros *Campylobacter* y *Salmonellae*, resistentes a las fluoroquinolonas; y *Neisseria gonorrhoeae*, resistente a la cefalosporina y a las fluoroquinolonas. En el tercer grupo, de prioridad media, se incluyen *Streptococcus pneumoniae*, sin sensibilidad a la penicilina; *Haemophilus influenzae* resistente a la ampicilina, y especies del género *Shigella* resistentes a las fluoroquinolonas.

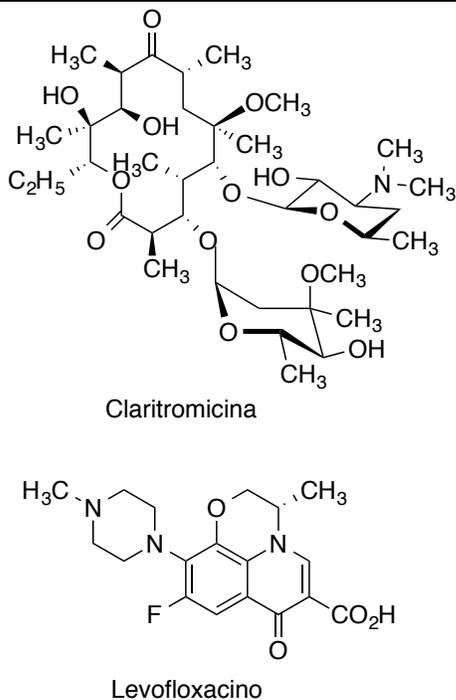


Figura 4. Estructuras de claritromicina y ejemplo de fluoroquinolona.

Se conocen varios genes asociados a la RAM, entre los que se encuentra al gen *aphA6*, que codifica la enzima 3'-aminoglicósido fosfotransferasa tipo VI y confiere resistencia al antibiótico aminoglicosídico amikacina (Figura 5) en diferentes especies de *Acinetobacter* (10).

Los genes que codifican  $\beta$ -lactamasas de amplio espectro y carbapenemasas, generalmente transportados

por plásmidos, son responsables de que las bacterias Gram-negativas sean resistentes a importantes clases de antibióticos. Las  $\beta$ -lactamasas son enzimas que hidrolizan los anillos  $\beta$ -lactámicos presentes en antibióticos comunes como las penicilinas, las cefalosporinas y el aztreonam, mientras que las carbapenemasas, que se clasifican en serinobetalactamasas (codificadas por genes como *KPC* u *OXA* entre otros) y metalobetalactamasas (MBLs, un subgrupo de  $\beta$ -lactamasas codificadas por genes como *VIM-1*, *SPM-1*, o *IMP-1*, entre otros), son capaces de hidrolizar antibióticos carbapenémicos, como imipenem, meropenem, ertapenem o doripenem, prácticamente el último escalón de tratamiento frente a bacilos Gram-negativos multirresistentes.

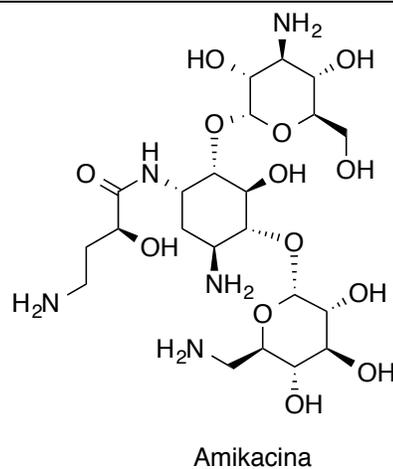


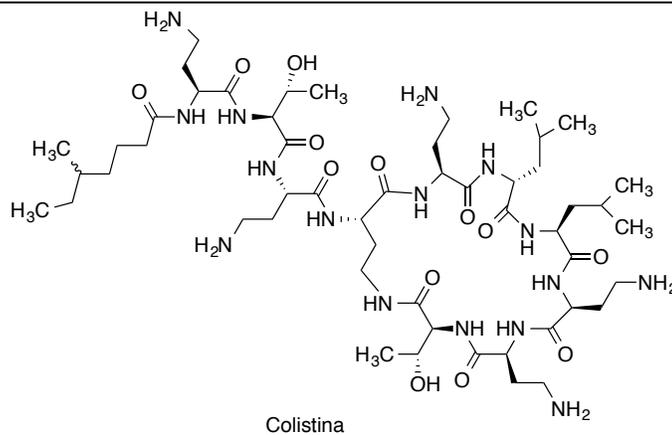
Figura 5. Estructura de amikacina.

En 1996 se aisló en un hospital de Carolina del Norte la primera cepa de *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas (*KPC*), generando una preocupación en el mundo científico que fue superada en el año 2001 por un brote de estas cepas detectado en hospitales de New York y New Jersey que se diseminó por gran parte de EEUU y muchos países iberoamericanos (11). En la primera década del 2000, empezó a observarse la presencia de carbapenemasas en el Sureste Asiático y en Europa. El gen *VIM-1*, que codifica la enzima *Verona integron encoded metallo- $\beta$ -lactamase*, se aisló en Italia en 1999 en cepas de *P. aeruginosa* (11). El gen *blaNDM-1* (*New Delhi metallo-beta-lactamase*) se identificó por primera vez en diciembre de 2009 en un paciente sueco hospitalizado en Nueva Delhi infectado por *Klebsiella pneumoniae* (13). Actualmente se suele encontrar en bacterias Gram-negativas, como la mencionada *Klebsiella pneumoniae* y en *Escherichia coli*, aunque puede llegar a otras cepas por transferencia horizontal de genes. La familia de genes *OXA-48* se descubrió en 2001 y actualmente se ha extendido por todo el mundo. Debido a estas nuevas resistencias, las infecciones causadas por organismos productores de carbapenemasas se tratan con combinaciones de antibióticos, pero como el uso desmedido de carbapenémicos es un factor importante en la generación y selección de organismos productores de carbapenemasas, lo idóneo sería limitar su uso para

prolongar su utilización futura.

El año 2016, se detectó en Pensilvania en una paciente de 49 años con infección urinaria una cepa de *E. coli* portadora del gen *mcr-1* (*mobilized colistin resistance*), que confiere **resistencia a colistina** (Figura 6). Este hallazgo perturbó a algunos científicos del Walter Reed Army Institute of Research y del Walter Reed National Military Medical Center, ya que anunciaba “la emergencia en EEUU de bacterias totalmente resistentes a los medicamentos” (14). El gen *mcr-1* se había descubierto el año anterior en varios cerdos y pacientes del Sur de China y, dado que se transporta por un plásmido, puede copiarse y transferirse fácilmente a otros tipos de bacterias. De hecho, se ha encontrado también en *Escherichia coli*, *Salmonella entérica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter*

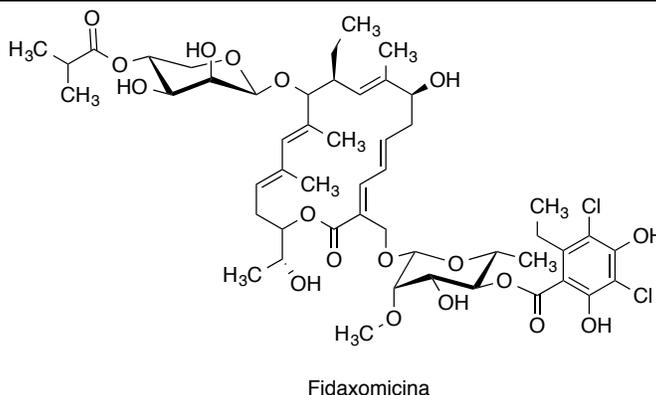
*aerogenes*, y *Enterobacter cloacae*, y en 2017 ya se ha detectado en más de 30 países de los 5 continentes. La colistina, también llamada polimixina E, es un antibiótico polipeptídico que se une a lipopolisacáridos y fosfolípidos de la membrana celular externa de bacterias Gram-negativas. Empezó a usarse en clínica en los años 1960, pero dejó de utilizarse en humanos en los años 1980 debido a su toxicidad renal, aunque se siguió utilizando mucho en ganadería. Cuando las bacterias empezaron a desarrollar resistencias frente a los antibióticos modernos y aparecieron las “bacterias de pesadilla”, como las enterobacterias resistentes a antibióticos carbapenémicos anteriormente mencionadas, la colistina se reutilizó como un antibiótico de último recurso (15).



**Figura 6. Estructura de colistina.**

La bacteria *Clostridium difficile* es la principal causa de infecciones asociadas a la atención de la salud y una de las causantes de infecciones nosocomiales. Sus esporas, diseminadas por los pacientes infectados o colonizados, persisten en las superficies de los objetos. Aunque esta bacteria no suele ser invasiva, elabora exotoxinas que dañan la mucosa del colon produciendo la infección y el desarrollo de complicaciones graves. Generalmente, las infecciones leves o moderadas se tratan con agentes antimicrobianos como el metronidazol oral, y las infecciones recurrentes se tratan con vancomicina oral o con agentes más novedosos como la fidaxomicina (Figura

7). Las infecciones graves o fulminantes, que no responden a la vancomicina o a la fidaxomicina, pueden tratarse quirúrgicamente, pero un método estándar muy eficaz para los pacientes con recaídas recurrentes es el **transplante de microbiota fecal** (TMF, que implica la transferencia de heces con un microbioma fecal sano). En el microbioma de la especie humana se encuentran unas 1.100 especies diferentes de bacterias, aunque en cada individuo existen unas 160 especies, de las cuales 57 se comparten por el 90% de las personas.



**Figura 7. Estructura de fidaxomicina.**

Otro microorganismo resistente cada vez más preocupante es *Neisseria gonorrhoeae*, causante de la gonorrea, que ha desarrollado resistencia a antibióticos orales como azitromicina, fluoroquinolonas y la cefalosporina oral cefixima. El aumento de resistencia a estos agentes orales dejó a la ceftriaxona (Figura 8) como

el último tratamiento fiable para la gonorrea, pero el inicio de resistencias ha indicado la necesidad de aumentar las dosis y establecer combinaciones de fármacos, como azitromicina combinada con ceftriaxona, con gentamicina, o con gemifloxacin.

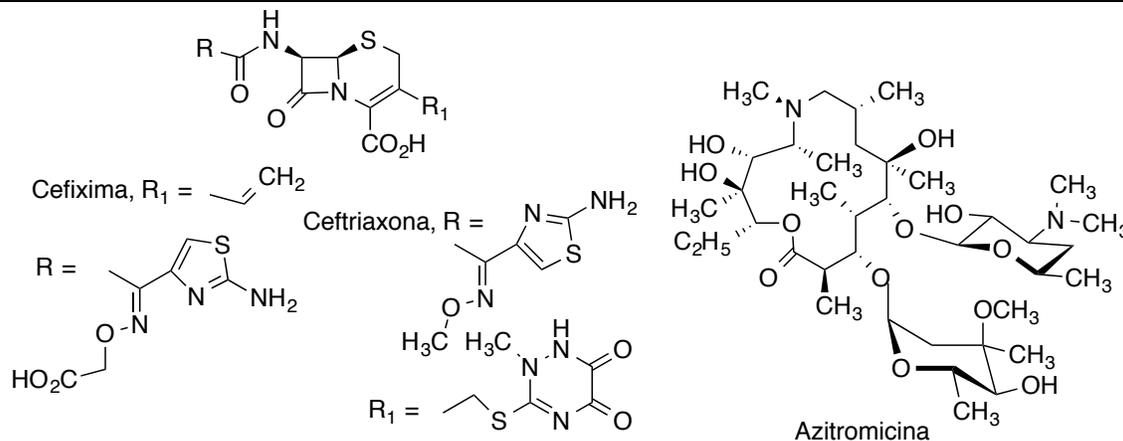


Figura 8. Estructura de azitromicina, cefixima y ceftriaxona.

Otra gran preocupación de salud pública en las últimas 2 décadas, que ha sido anteriormente mencionada, es *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina (MRSA). La resistencia a la metilina está conferida por el gen *mecA*, aunque muchos aislados de MRSA también contienen  $\beta$ -lactamasas y genes que confieren resistencia a la clindamicina. La vancomicina fue el único antimicrobiano disponible y útil durante décadas para la terapia intravenosa efectiva de las infecciones por MRSA. Las cepas de MRSA con menor sensibilidad a la vancomicina han adquirido el gen de resistencia *vanA* y tienen engrosadas las paredes celulares que contienen dipéptidos de unión a este fármaco, lo que bloquea su acción y provoca una menor concentración en el interior de la bacteria. Aunque desde hace unos años están disponibles nuevos fármacos que son una alternativa a la vancomicina, como linezolida (una 2-oxazolidona) y posteriormente el lipopéptido daptomicina y el glicolipopéptido oritavancina (con estructuras muy complejas), se recomiendan escasamente para las infecciones que afectan a órganos comprometedores como la endocarditis o la osteomielitis.

por lo que puede compararse en cierta forma al problema del cambio climático. Tenemos conocimientos y herramientas para enfrentarnos a ellos, pero son asuntos complejos y queremos creer que puede surgir de algún modo una solución providencial. La actividad humana, en especial el uso de antibióticos para promover el crecimiento de los animales, ha tenido un papel muy importante en la evolución de la RAM. La Food and Drug Administration (FDA) estima que este uso representa el 80% de todos los antibióticos consumidos, y de ellos, el 74% no se administra para tratar o prevenir una infección. Además del paso al hombre de las bacterias resistentes por el consumo de esta carne, entre un 50 y un 90% de los principios activos de los antimicrobianos (como las fluoroquinolonas) no sufren modificación alguna a su paso por el tracto intestinal, sea del hombre o del ganado, por lo que son excretados casi en estado puro. La depuración de aguas residuales urbanas degrada una parte importante de los antibióticos consumidos por el hombre, pero los destinados a uso animal llegan sin modificaciones a la naturaleza pudiendo pasar a la cadena humana a través de las frutas y hortalizas. Debido a la evidente asociación entre el consumo de antibióticos por los animales y la existencia de organismos comensales resistentes a las mismas clases de antibióticos en los seres humanos, la FDA publicó en 2016 su Final Rule on Antimicrobial Animal Drug Sales and Distribution Reporting. En ella se requiere que los productores de medicamentos veterinarios con actividad antimicrobiana envíen informes anuales sobre la cantidad que se vende, para mejorar la transparencia de su uso. La Unión Europea, por su parte, ha instado a que sus países miembros prohíban o eviten la utilización de los antibióticos para el crecimiento de los animales y fomenten el suministro voluntario de carne libre de antibióticos por los proveedores de alimentos.



Figura 9. Estructura de linezolida.

### 3. CONSECUENCIAS DEL ABUSO Y MAL USO DE LOS ANTIBIÓTICOS

El problema de la resistencia antimicrobiana es consecuencia de la conducta poco responsable del hombre y puede tener consecuencias drásticas para la humanidad,

Estas advertencias parecen poco eficaces. Según un

informe conjunto publicado a principios de 2017 por la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria, la Agencia de Medicamentos Europea y el Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades, en España se registró en 2014 un consumo de 3.291 toneladas de sustancias activas antimicrobianas, lo que la convertía en el país con mayor consumo de antibióticos en el conjunto de la Unión Europea, a pesar de que el Ministerio de Sanidad puso en marcha en 2013 un Plan Nacional de Resistencia Antibiótica muy completo. En el libro “Una historia verdaderamente fascinante: 75 años del descubrimiento de los antibióticos”, editado en 2004 para celebrar el 75 aniversario del descubrimiento de la penicilina y los 60 años de su utilización clínica en España, los profesores José Ángel García Rodríguez y José Prieto Prieto advertían que el consumo diario de antimicrobianos en España “debería disminuir porque si no se utilizan bien podría llegar a desaparecer”.

También es evidente que **la administración de antibióticos a humanos no siempre es adecuada**. Éstos se han dispensado y se dispensan en muchos países sin receta médica o con una selección o duración incorrectas. El uso inapropiado de los antibióticos en los hospitales se ha abordado con un gran esfuerzo, y se han aplicado programas para optimizar su selección y reducir el abuso de los antibióticos de amplio espectro. Este problema puede darse también en un amplio porcentaje de las consultas ambulatorias, y en la venta directa al consumidor (sobre todo fuera de EEUU y Europa).

Para mayor complejidad, la **duración adecuada de los tratamientos** con antibióticos no está bien determinada. La Organización Mundial de la Salud (OMS), durante la Semana Mundial de Concienciación sobre el Uso de Antibióticos realizada en 2016, recomendó que «se complete siempre el tratamiento aunque el paciente se encuentre mejor, ya que detenerlo antes de tiempo fomenta el crecimiento de bacterias resistentes». Sin embargo, un análisis publicado en julio de 2017 en la revista médica *British Medical Journal* (16), demostró que es necesario estudiar más profundamente a partir de qué momento es seguro dejar el tratamiento antibiótico, ya que el mensaje «profundamente arraigado» de tomarlo al completo para evitar la resistencia no se apoya en evidencias científicas y provoca justo lo contrario, lo que supone que los ciclos deberían ser más cortos.

Además del mal uso en humanos y en animales, algunos grupos de ecologistas han informado acerca de cómo en las fábricas de India y China, donde se genera la mayor cantidad de antibióticos del mundo, se arrojan vertidos o se da un **tratamiento inadecuado a sus residuos**, lo que está provocando la contaminación de los ríos y lagos disparando la proliferación de las superbacterias. No es casual que el gen *NDM-1* (*New Delhi metallo-beta-lactamase*) se identificara por primera vez, como hemos mencionado, en Nueva Delhi.

#### 4. ACTUACIONES PARA Luchar CONTRA EL PROBLEMA

La lucha contra la amenaza de los patógenos resistentes debería recibir el mismo impulso que la ONU dio a la lucha contra el sida en 1996. El Premio Nobel de Química del año 2009 Venkatraman Ramakrishnan, que dilucidó la estructura del ribosoma (la factoría fundamental de las proteínas en las células y una de las principales dianas de los antibióticos), resaltó en una visita a España en el año 2015 que la existencia de bacterias resistentes era un grave problema de Salud Pública que debe tomarse muy en serio por organizaciones y gobiernos. Cuando se generalice su capacidad para desarrollar nuevas mutaciones, no se podrán controlar las infecciones que provoquen con los antibióticos disponibles.

El Centro de Enfermedades Infecciosas de EEUU y su homólogo en Europa estimaron que en 2013 la resistencia a los antibióticos había producido 700.000 muertes en el mundo, 50.000 en Europa y 2.500 en España. La Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) también ha estimado que fallecen tres veces más personas por este problema global que por accidentes de tráfico.

En octubre de 2016, los 193 países miembros de la ONU firmaron un acuerdo global para hacer frente a la RAM. Hasta entonces, la Asamblea General de las Naciones Unidas solo había dedicado su atención a tres temas relacionados con la salud: el VIH, las enfermedades no transmisibles (como las cardiovasculares, las respiratorias crónicas y la diabetes), y el ébola. El citado acuerdo adoptó tres compromisos fundamentales que deberían cumplirse en un plazo de dos años: el desarrollo de sistemas regulatorios y de vigilancia para el uso de estos fármacos en humanos y animales, el fomento del desarrollo de nuevos productos, y la mejora de la formación de profesionales sanitarios y de la población en general. En un encuentro celebrado en Septiembre de 2017, dentro del marco de la 72<sup>a</sup> Asamblea de Naciones Unidas, se ha advertido que si no se toman medidas contundentes para atajarla, la RAM puede convertirse en 2050 en la primera causa de muerte, y se cobrará previsiblemente más de 10 millones de vidas, superando las muertes por cáncer. Esta advertencia dio pie a un artículo del periódico “El País” publicado el 25 de Septiembre de 2017 titulado: La “epidemia” que matará a más gente que el cáncer (si no lo remediamos”).

#### 5. ESTANCAMIENTO EN EL DESARROLLO DE NUEVOS ANTIBIÓTICOS

Las consecuencias de la RAM se agravan por el estancamiento que se ha producido en el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos. Éste se debe a múltiples factores. Por una parte, **los antibióticos sintéticos no han sido capaces de sustituir a los naturales**, que constituyen la fuente de la mayoría de los utilizados en terapéutica. Por otra parte, los antibióticos naturales se han aislado por cribado de cultivos que contienen diferentes especies de hongos y bacterias, pero **solo un pequeño porcentaje han**

podido cultivarse en los laboratorios.

Además, la innovación en este campo ha sido escasa en las últimas décadas porque **las empresas farmacéuticas no consideran la búsqueda de nuevos antibióticos una inversión muy atractiva** si se compara con la búsqueda de medicamentos para las enfermedades crónicas, en las que un paciente requiere la administración de un medicamento de por vida mientras que una infección se resuelve con un ciclo del antibiótico adecuado. Existen además otras razones: 1) se sabe que antes o después empezarán a aparecer mutaciones en las bacterias sensibles que las harán resistentes al tratamiento, por lo que se permanencia en el mercado es incierta; 2) que el desarrollo de antibióticos para las infecciones por bacterias Gram-negativas es particularmente difícil debido a la baja permeabilidad de su pared celular, a la variedad de bombas de eflujo de que disponen, y a una serie de enzimas capaces de inactivarlos; 3) que la inscripción de un paciente en los ensayos clínicos de nuevos candidatos para vencer las infecciones resistentes puede complicarse por la incidencia de infecciones esporádicas y la probabilidad de que dicho paciente esté expuesto a otros antibióticos en el hospital; 4) que el número de dianas reconocidas por los antibióticos disponibles es muy bajo. Esta última circunstancia subsiste a pesar de que se ha secuenciado el genoma de muchas bacterias y se han utilizado las herramientas bioinformáticas para proponer dianas específicas de bacterias patógenas de acuerdo con los estudios *in silico* (17).

El ritmo al que se han introducido antibióticos nuevos ha disminuido considerablemente desde 1987, tampoco se ha descubierto ninguna clase nueva de antibióticos para el tratamiento de infecciones sistémicas, y la mayoría de los aprobados no tienen nuevos mecanismos de acción o son combinaciones de antibióticos ya conocidos. Entre 1983 y 1987, la FDA aprobó 16 antimicrobianos, mientras que entre 2008 y 2012 se aprobaron solo 2 y desde finales de 2012 un total de 6. **Dalbavancin** (comercializado como Dalvance<sup>®</sup> o Xydalba<sup>®</sup>) es un lipoglicopéptido semejante a la vancomicina pero con una estructura más compleja que interrumpe la síntesis de la pared celular en bacterias

Gram-positivas susceptibles, como *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA). Está indicado en el tratamiento de infecciones de piel agudas en adultos. **Oritavancin** (Orbactive<sup>®</sup>) es otro glicopéptido derivado de vancomicina descubierto y desarrollado en un principio por Eli Lilly, cuyo mecanismo de acción es semejante a dalbavancin. **Tedizolida** (Sivextro<sup>®</sup>) es un derivado de oxazolidinona semejante a linezolida que inhibe la síntesis de proteínas y es útil para infecciones de la piel y de los tejidos blandos. Entre 2014 y 2015 resurgió el uso de cefalosporinas asociadas a un inhibidor de  $\beta$ -lactamasas, aprobándose una nueva cefalosporina, **ceftobiprol** (Zevtera<sup>®</sup>, Mabelio<sup>®</sup>, Figura 10), que es semejante a ceftarolina. Aunque estas dos cefalosporinas se hidrolizan por la mayoría de  $\beta$ -lactamasas, ceftobiprol tiene algunas ventajas y se aconseja en el tratamiento de neumonías cuando se sospecha que están producidas por MRSA. Como todas las cefalosporinas y penicilinas, ceftobiprol ejerce su actividad bactericida mediante la unión a las proteínas de unión a penicilinas (PBPs). En las bacterias Gram-positivas, incluyendo *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, el ceftobiprol se une a la PBP2a, a la PBP2b en el *Streptococcus pneumoniae*, a la PBP2x en *S. pneumoniae* resistente a penicilina, y a la PBP5 en *Enterococcus faecalis*. La combinación ceftazidima-avibactam (Avycaz<sup>®</sup>) se aprobó por la FDA en 2015 para el tratamiento de infecciones abdominales complicadas (en combinación con metronidazol) y en infecciones del tracto urinario. Ceftazidima se había aprobado en 1985, pero es vulnerable a una gran variedad de  $\beta$ -lactamasas. Avibactam es un inhibidor de estas enzimas, y su asociación permite una extensión del uso del antibiótico, aunque algunas metalo- $\beta$ -lactamasas como NDM, VIM, o IMP no se inhiben por avibactam. La estructura de **ceftolozano** se basa en el esqueleto de ceftazidima, y pretende aumentar su actividad frente a *Pseudomonas* (Figura 10). No es estable frente a  $\beta$ -lactamasas de las clases A, B o D (en su mayoría carbapenemasas), y la combinación con tazobactam (Zerbaxa<sup>®</sup>) aumenta su eficacia frente a enterobacteriaceas resistentes.

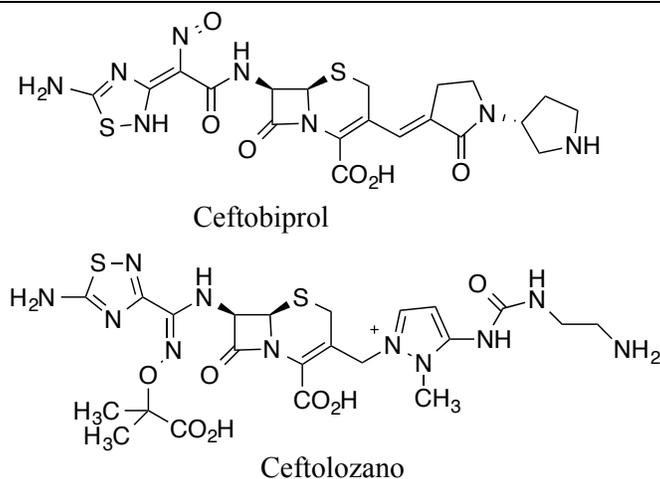
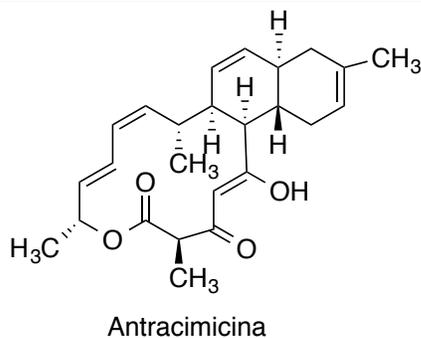


Figura 10: Estructuras de ceftobiprol y ceftolozano.

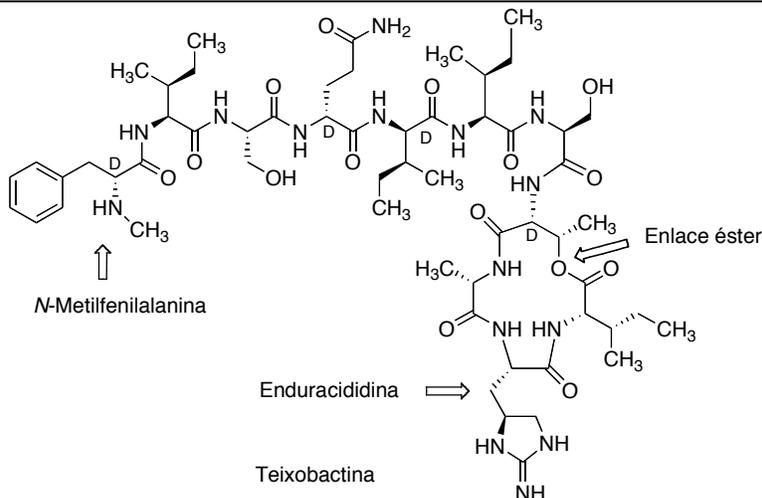
En la búsqueda de nuevos antibióticos de origen natural se ha recurrido al mar, ya que es uno de los lugares menos explorados de la naturaleza. De esta forma, se encontró en el año 2013 el macrólido **antracimicina**, que es producido por una actinobacteria marina (Figura 11). Es activo frente a *Bacillus Anthracis* (productor del ántrax) y frente a *S. aureus* MRSA, aunque todavía no se ha aprobado (18).



**Figura 11. Estructura de antracimicina.**

El desarrollo de nuevos antibióticos a partir de fuentes naturales está limitado, al menos en principio, porque los organismos que los producen han de ser cultivados en el laboratorio, y esto no siempre es posible. Muchos

microorganismos que viven en el suelo, el principal caladero de los antibióticos naturales conocidos hasta ahora, no han podido cultivarse. Tomaremos como ejemplo los esfuerzos realizados hasta el momento para el desarrollo del antibiótico **teixobactina**, un depsipéptido que se aisló en 2015 de una muestra de suelo y pudo cultivarse utilizando una nueva técnica (Figura 12). Se mostró muy potente frente a varios microorganismos patógenos Gram-positivos, incluidas sus cepas resistentes como *S. aureus* MRSA, y también fue activo frente a *Mycobacterium tuberculosis*. Su estructura incluye cuatro D-aminoácidos, *N*-metilfenilalanina, y un aminoácido raro denominado enduracididina. El mecanismo de acción de teixobactina es parecido al de vancomicina, pero los componentes de la pared celular sobre los que actúa no pueden modificarse sin causar un daño letal. Además, este compuesto se une a varios derivados del lípido bacteriano bactoprenol inhibiendo las vías de síntesis de péptidoglicano y de ácido teicoico, por lo que su actuación en dos vías metabólicas paralelas podría justificar la dificultad para generar resistencia ya que sería necesario rescatar las dos vías a la vez. Sin embargo, la teixobactina tiene el inconveniente de ser inactiva por vía oral y de carecer de actividad frente a bacterias Gram-negativas (19).



**Figura 12. Estructura de teixobactina.**

Muchos creyeron que por ser seguro y efectivo, la teixobactina sería el primer antibiótico natural que se aprobaría en los últimos años, pero para ello era obvio que había que producirlo a escala comercial. Dentro de la estructura compleja que posee, la síntesis del aminoácido L-enduracididina convenientemente protegido y su incorporación al macrociclo ha demostrado ser especialmente laboriosa y tiene lugar con rendimientos bajos, siendo el cuello de botella para la preparación de sus análogos. Seis de éstos, en los que este aminoácido se ha reemplazado por distintos Fmoc-aminoácidos, han mostrado retener la actividad frente a cepas AMR de *S. aureus* y *Enterococcus faecalis*, siendo especialmente

interesantes particularmente los que poseen un resto de guanidina (20).

Por otra parte, utilizando 7 análogos en los que se ha variado la configuración D/L, se ha establecido por RMN y cálculos de dinámica molecular el papel en la actividad biológica de teixobactina de cada residuo de D-aminoácido (21). Las moléculas simplificadas de teixobactina que retienen la actividad antibiótica contienen aminoácidos cargados positivamente (catiónicos) en una cadena lateral de la estructura, una circunstancia estructural que es fundamental para que se produzca el enlace con las dianas terapéuticas. En el compuesto natural, este aminoácido es la enduracididina que, como hemos dicho, es difícil de

sintetizar. Como vemos, el trabajo ha sido intenso, pero los ensayos clínicos, hasta lo que nosotros sabemos, no han comenzado todavía.

## 6. OTROS ENFOQUES

Aunque es muy necesario contar con antibióticos nuevos, también hay otros enfoques que tienen un papel importante. Las **mejoras en la salud pública** pueden prevenir las infecciones bacterianas y obviar la necesidad de un cierto uso de antibióticos. También lo hacen algunas estrategias de **vacunación**, como las dirigidas a *S. pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*, que han reducido la prevalencia de la neumonía, meningitis, y sepsis (22). Inmunizar al 100% de los niños del mundo sería más efectivo que cualquier otra cosa, ya que con las vacunas se evitaría un gran número de enfermedades bacterianas que son frecuentes y los antibióticos serían innecesarios. Se ha estimado que la cobertura de vacunación contra la neumonía pneumocócica podría evitar 11,4 millones de días de antibióticos por año en los niños menores de 5 años en todo el mundo. También en animales las vacunas tienen un papel crucial.

Sería fundamental en cuanto aparece la infección tener lo más rápidamente posible a un precio asequible un **diagnóstico sensible y específico**, así como disponer de información sobre la presencia y tipos de genes de resistencia. Las técnicas tradicionales de cultivo requieren entre 48 y 72 horas para aislar e identificar el agente patógeno y a qué antibióticos es sensible, pero las **técnicas de diagnóstico molecular** basadas en la detección y amplificación del material genético de la bacteria, han aumentado considerablemente la rapidez del diagnóstico, permitiendo tener un resultado en unas cuantas horas en vez de dos o tres días. La identificación de las bacterias de acuerdo a la masa de sus proteínas permite además distinguir entre diferentes linajes de una misma especie. Sin embargo, estas técnicas no tienen un precio asequible para generalizarse y requieren personal y equipo especializados.

La falta de nuevas dianas para tratar infecciones difíciles y combatir a las bacterias resistentes, ha despertado el interés por actuar sobre ciertas características bacterianas. Una de estas actuaciones trata de **modular su metabolismo**. Ya hemos comentado que para sobrevivir a la presión de los antimicrobianos las bacterias resistentes tienen alterado su metabolismo, induciendo la biosíntesis de enzimas que degradan a estos fármacos o sobreexpresando bombas de transporte para su eflujo. Por ello, estos agentes suelen alcanzar en las bacterias resistentes concentraciones inferiores a las que alcanzan en las bacterias sensibles. Algunas evidencias sugieren que el aumento de la fuerza motriz protónica (PMF) a través de la membrana celular estimula la absorción de antibióticos aminoglicósidos. Persuadidos de que el estado metabólico de una bacteria influye mucho en su susceptibilidad a los antibióticos, Peng y colaboradores han llevado a cabo un estudio con *Edwardsiella tarda* (*E. tarda*), un patógeno oportunista que puede ser devastador para el hombre, los peces y otras especies, en el que demostraron que las cepas

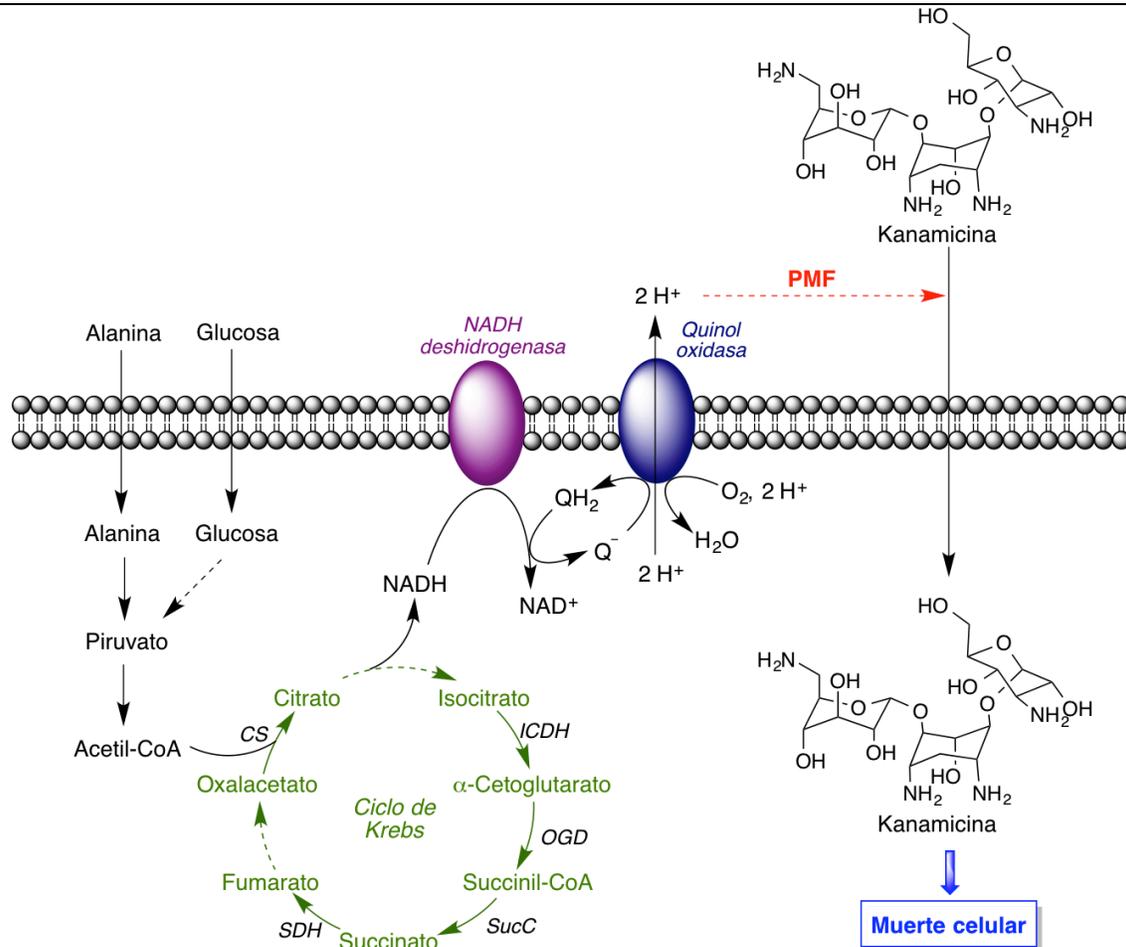
que se han hecho resistentes por la presión continuada del antibiótico aminoglicósido kanamicina tienen alteradas algunas rutas metabólicas y son muy deficientes en glucosa y alanina (23). Investigando si la adición *in vitro* de los metabolitos en los que las bacterias resistentes eran deficientes las haría más sensibles al antibiótico, demostraron que la adición de alanina y/o glucosa restaura la susceptibilidad a los antibióticos por un aumento en los niveles intracelulares de kanamicina, un hecho que está acoplado al mayor flujo de protones originado por una mayor expresión y actividad de las enzimas implicadas en el ciclo de los ácidos tricarbónicos (ciclo de Krebs) y por una mayor producción de NADH (Figura 13).

Ensayos *in vivo*, con ratones utilizados como modelo de infecciones del tracto urinario, demostraron que la adición de alanina y/o glucosa también aumenta los niveles de kanamicina e induce la muerte de cepas de *E. tarda* resistentes a  $\beta$ -lactamas, quinolonas y tetraciclinas por aumento de los niveles del antibiótico aminoglicósido. Este trabajo demuestra que la adición de metabolitos externos puede estimular el transporte de antibióticos extracelulares a través de la pared y de la membrana celulares, aumentando las concentraciones intracelulares de estos fármacos.

La necesidad de nuevos agentes antimicrobianos ha vuelto a despertar también el interés en los **bacteriófagos**, hasta ahora estudiados y utilizados principalmente en la antigua URSS y Europa del Este. Estos virus, que infectan y destruyen específicamente a bacterias, son eficientes en el laboratorio para combatir películas bacterianas (biofilms), y también se pueden usar en combinación con otros antibióticos. Sin embargo, su eficacia para tratar infecciones humanas todavía no se ha demostrado con ensayos clínicos controlados. Algunos **péptidos naturales**, como las **endolisinas** (enzimas derivadas de los bacteriófagos que degradan la pared celular de las bacterias), han tenido éxito en pruebas clínicas iniciales para tratar infecciones cutáneas.

Otra táctica prometedora para la que aún no hay moléculas en fase de estudios clínicos es **disminuir la virulencia de las bacterias** con moléculas que interfieran en la secreción de toxinas o en la infección del huésped. Los **pilicidas**, por ejemplo, interfieren en la formación de los pili, estructuras en forma de pelo más cortas y finas que los flagelos que se encuentran en la superficie de muchas bacterias y tienen distintas funciones (una de estas estructuras está implicada en la adhesión de *E. coli* a la célula huésped). Estas **moléculas antivirulencia** no ejercen una presión selectiva tan grande como los antibióticos, y la aparición de resistencias podría ralentizarse.

Finalmente, otra táctica totalmente distinta consiste en reemplazar unas bacterias por otras. Como ya hemos comentado, se han logrado resultados muy prometedores con simples **transplantes de microbiota fecal** de un individuo sano a un paciente con infecciones recurrentes por *Clostridium difficile*, una bacteria que causa diarreas graves.



**Figura 13. Aumento de la sensibilidad a kanamicina por modulación del metabolismo de la bacteria resistente *Edwardsiella tarda*.**

## 7. CONCLUSIÓN

Actualmente, los datos no apoyan una perspectiva optimista. Si no se cambia el escenario, el uso de los antibióticos seguirá creciendo y se doblará en los próximos 20 años por la intensificación de la ganadería y la acuicultura. A pesar de las distintas aproximaciones y hallazgos, se prevén muy pocos tratamientos nuevos que vengán a solucionarnos el problema, y éste puede convertirse en la mayor epidemia de los próximos años. En palabras del director de la OMS: “El reloj corre en contra de la salud global cuando hablamos de resistencia a los medicamentos. Las medidas tienen que tomarse ya”.

## 8. REFERENCIAS

1. Nordmann P, Poirel L. Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. *Clin Microbiol Infect* 2002; 8: 321-31.
2. Ver: Piddock LJ. The crisis of no new antibiotics-what is the way forward? *Lancet Infect Dis* 2012; 12: 249-53.
3. Touchon M, Hoede C, Tenaillon O, Barbe V, *et al.* Organised Genome Dynamics in the *Escherichia coli* Species Results in Highly Diverse Adaptive Paths. *PLOS Genet* 2009; 5: e1000344.
4. Dantes R, Mu Y, Belflower R, Aragon D, *et al.* National Burden of Invasive Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections United States 2011. *JAMA Intern Med* 2013; 173: 1970-8.
5. Adeil OO, Baris E, Jonas OB, Irwin A, *et al.* Drug-Resistant Infections: A Threat to Our Economic Future. The World Bank Documents & Reports 2017/03/01; Report Number 114679.
6. Cercenado E. *Enterococcus*: resistencias fenotípicas y genotípicas y epidemiología en España. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2011; 29: 59-65.
7. Raven KE, Reuter S, Gouliouris T, Reynolds R, *et al.* Genome-based characterization of hospital-adapted *Enterococcus faecalis* lineages. *Nat Microbiol* 2016; pii: 15033. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2015.33.
8. Marston HD, Dixon DM, Knisely JM, Palmore TN, *et al.* Antimicrobial Resistance. *JAMA* 2016; 316: 1193-1204.
9. Lebreton F, AL, Saavedra JT, TJ, *et al.* Tracing the Enterococci from Paleozoic Origins to the Hospital. *Cell* 2017; 169: 849-61.
10. Lamberte T, Gerbaud G, Bouvet GG, Vieu JF, Courvalin P. Dissemination of amikacin resistance

- gene *aphA6* in *Acinetobacter* spp. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 1244-8.
11. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, *et al.* Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 1151-61.
  12. Lauretti L, Riccio ML, Mazzariol A, Cornaglia G, *et al.* Cloning and characterization of blaVIM, a new integron-borne metallo-beta-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1584-90.
  13. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, *et al.* Characterization of a New Metallo- $\beta$ -Lactamase Gene, blaNDM-1, and a Novel Erythromycin Esterase Gene Carried on a Unique Genetic Structure in *Klebsiella pneumoniae* Sequence Type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 5046-54.
  14. McGann P, Snesrud E, Maybank R, Corey B, *et al.* *Escherichia coli* Harboring mcr-1 and blaCTX-M on a Novel Incl Plasmid: First report of mcr-1 in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60: 4420-1.
  15. Li J, Nation RL, Turnidge JD, Milne RW, Coulthard K, Rayner VR, Paterson DL. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Lancet Infect Dis* 2006; 6: 589-601.
  16. Llewelyn MJ, Fitzpatrick JM, Darwin E, Tonkin-Crine S, *et al.* The antibiotic course has had its day. *BMJ* 2017; 358: j3418.
  17. Payne DJ, Gwynn MN, Holmes DJ, Pompliano DL. Drugs for bad bugs: confronting the challenges of antibacterial discovery. *Nature Rev Drug Discov* 2007; 6: 29-40.
  18. Jang HJ, Nam SJ, Locke JB, Kauffman CA, *et al.* Anthracimycin, a potent anthrax antibiotic from a marine-derived actinomycete. *Angew Chem Int Ed* 2013; 52: 7822-4.
  19. a) Ling LL, Schneider T, Peoples AJ, Spoering AL, *et al.* A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. *Nature* 2015; 517: 455-9. b) Avendaño C. Teixobactin, a new antibiotic that would hardly produce resistance. *An Real Acad Farm* 2015; 81: 4-10.
  20. a) Schumacher CE, Harris PWR, Ding XB, Krause B, *et al.* Synthesis and biological evaluation of novel teixobactin analogues. *Org Biomol Chem* 2017; 15: 8755-60. b) Parmar A, Iyer A, Lloyd DG, Vincent CS, *et al.* Syntheses of potent teixobactin analogues against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) through the replacement of l-allo-enduracididine with its isosteres. *Chem Commun (Camb)* 2017; 53: 7788-91.
  21. Parmar A, Prior SH, Iyer A, Vincent ChS, *et al.* Defining the molecular structure of teixobactin analogues and understanding their role in antibacterial activities. *Chem Commun* 2017; 53: 2016-9.
  22. Ginsburg AS, Klugman KP. Vaccination to reduce antimicrobial resistance. *Lancet* 2017; 5: e1176-7.
  23. a) Bhargava P, Collins J. Boosting Bacterial Metabolism to Combat Antibiotic Resistance. *Cell Metabolism* 2015; 21: 154-5. b) Peng B, Su Y, Li H, Han Y, *et al.* Exogenous Alanine and/or Glucose plus Kanamycin Kills Antibiotic-Resistant Bacteria. *Cell Metabolism* 2015; 21, 249-61.