

ESPECIAL



Resistencia antibiótica

SCIENTIFIC
AMERICAN™

INVESTIGACIÓN
Y CIENCIA

Resistencia antibiótica

CONTENIDO



Una selección de nuestros mejores artículos para ahondar en la ciencia de la **resistencia antibiótica**.

Desarrollo de resistencia contra los antibióticos

K. C. Nicolaou y Christopher N. Boddy
Investigación y Ciencia, julio 2001

Películas bacterianas

J. W. Costerton y Philip S. Stewart
Investigación y Ciencia, septiembre 2001

Mutación y resistencia a los antibióticos

Fernando Baquero, Jesús Blázquez y José Luis Martínez
Investigación y Ciencia, diciembre 2002

Nuevas tácticas contra bacterias resistentes

Christopher T. Walsh y Michael A. Fischbach
Investigación y Ciencia, septiembre 2009

Vencer la resistencia a los antibióticos

Mónica Cartelle Gestal
Investigación y Ciencia, mayo 2013

Genética de la resistencia microbiana

Gautam Dantas y Morten O. A. Sommer
Investigación y Ciencia, agosto 2014

Un punto débil de la resistencia bacteriana

Carl Zimmer
Investigación y Ciencia, marzo 2015

EDITA

Prensa Científica, S.A.
Muntaner, 339 pral. 1ª, 08021 Barcelona (España)
precisa@investigacionyciencia.es
www.investigacionyciencia.es

Copyright © Prensa Científica, S.A. y Scientific American, una división de Nature America, Inc.

ESPECIAL n.º 16 ISSN: 2385-5657

En portada: Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de EE.UU. | Imagen superior: iStock/-aniaostudio-

Desarrollo de resistencia contra los antibióticos

*El estudio de los mecanismos que intervienen
en la adquisición bacteriana de resistencia contra los fármacos
nos enseña a diseñar medicinas más eficaces*

K. C. Nicolaou y Christopher N. C. Boddy



**1. LOS BIOQUIMICOS BUSCAN
la derrota de los enterococos res-
istentes a la vancomicina. Esas
bacterias medran ahora en pre-
sencia del antibiótico.**

Los responsables de la administración sanitaria y los médicos contemplan con temor fundado la creciente ineficacia de la farmacopea antibiótica. Uno tras otro, el doble centenar de antibióticos va quedando fuera de servicio, por inútil. Las bacterias que sobreviven se hacen más fuertes. Y se propagan. Cada vez hay más cepas resistentes a los antibióticos. La tuberculosis, la meningitis o la neumonía, infecciones que se combatían con antibiótico, no se curan con la facilidad de antaño. Aumenta el número de infecciones bacterianas de pronóstico quizá letal.

Las bacterias son agresores astutos. Además, les hemos dado, y les seguimos concediendo, lo que necesitan para su éxito asombroso. Con el uso inadecuado o abusivo de los antibióticos hemos fomentado la evolución de cepas superiores de bacterias. Así ocurre cuando no completamos una tanda de antibióticos, los usamos para una infección vírica o lo aplicamos a un mal inadecuado. Se calcula que entre un tercio y la mitad de los antibióticos recetados no eran necesarios. Un 70 por ciento de los antibióticos que se producen cada año en los Estados Unidos se administra al ganado. Agregamos antibióticos al líquido de las lavadoras y al jabón de manos. Con todo ello, lo único que conseguimos es que la bacteria débil muera y la fuerte se torne más vigorosa [véase “La resistencia contra los antibióticos”, por Stuart B. Levy; INVESTIGACIÓN Y CIENCIA, mayo de 1998].

Al margen de ese mal uso de la sociedad y de su abuso en clínica, el destino inevitable de los antibióticos es su presto envejecimiento. Las bacterias —que se multiplican a través de muchas divisiones celulares a lo largo del día— siempre aprenden algo nuevo; algunas de las más fuertes sobrevivirán y prosperarán. Buena razón ésta para ganarles en astucia.

En los últimos diez años, hemos salido por fin de la situación de complacencia en que nos hallábamos sobre el dominio de las infecciones. Laboratorios de titularidad pública y empresas farmacéuticas se han volcado en la investigación antibacteriana. Se ensayan todos los procedimientos imaginables para atacar a las bacterias y se multiplican los antibióticos que se preparan con la información obtenida en el estudio del genoma y de las proteínas.

Pero ni la investigación apasionante ni el desarrollo de fármacos constituyen ninguna panacea. Ahora bien, si se combinan con un uso razonable de los antibióticos pueden prestarnos ayuda. La oficina norteamericana sobre control de alimentación y fármacos (FDA) aprobó en abril del año 2000 el primer tipo

nuevo de antibiótico clínico en 35 años; el linezolid. En lista de espera, o en fases previas, hay varios agentes más.

El desmantelamiento de la pared bacteriana

Casi todos los antibióticos que se han desarrollado hasta la fecha proceden de la naturaleza. Los científicos los han identificado y los han refinado, pero no los han creado. Desde el comienzo de la vida en nuestro planeta, los organismos han luchado por los limitados recursos que tenían a su disposición. De esa pugna surgió la evolución de los antibióticos. La capacidad de producir tales compuestos poderosos confiere a un organismo —hongo, planta u otra especie bacteriana— una ventaja sobre las restantes bacterias sensibles al antibiótico. En esa presión de selección se esconde el motor natural del desarrollo de los antibióticos.

Nos integramos en semejante carrera armamentística de los organismos con el descubrimiento de la penicilina en 1928. Alexander Fleming, del hospital clínico Santa María de la Universidad de Londres, advirtió que el moho *Penicillium notatum* mataba las bacterias *Staphylococcus* que crecían cercanas en agar en una placa de petri. Se había inaugurado el campo de los antibióticos. El análisis al azar de otros compuestos, procedentes o no de mohos, para averiguar si destruían bacterias o retardaban su desarrollo, llevó a la identificación de una amplia gama de antibióticos.

Entre los que han conocido mayor éxito se cuenta la vancomicina, identificada por los laboratorios Eli Lilly en 1956. El comprender su mecanismo de operación —una proeza que ha llevado más de tres decenios culminar— nos ha permitido adentrarnos en el mecanismo de acción de los antibióticos glicopéptidos, una de las siete clases principales. Se trata de un avance importante, por cuanto la vancomicina se ha convertido en el último recurso, el único fármaco eficaz que nos queda frente a la infección más letal que puede contraerse en el hospital: la del *Staphylococcus aureus*, resistente a la metilicina. Pero el poder de la vancomicina se encuentra en peligro.

La vancomicina ataca la pared bacteriana; ciñe ésta a la célula y su membrana, confiriéndole estructura y sostén. Ni la vancomicina ni otros fármacos afines dañan las células de humanos y mamíferos, que carecen de tal pared (poseen en cambio un citoesqueleto, una estructura interna que les da consistencia). La pared bacteriana consta fundamentalmente de peptidoglicanos, un material que, de acuerdo con su nombre, contiene péptidos y azúcares. A medida que la célula organiza este material —un proceso constante, porque todo peptidoglicano necesita reemplazarse cuando se degrada—, las unidades glucídicas se unen entre sí mediante la acción de la enzima transglucosidasa y forman una suerte de malla. En esta estructura, una de cada dos unidades de azúcar porta enlazada una cadena peptídica corta. Cada cadena peptídica posee cinco aminoácidos, de los

Los autores

K. C. NICOLAOU y CHRISTOPHER N. C. BODDY han trabajado juntos en el Instituto Scripps de Investigación en La Jolla, California. Allí Nicolaou, autor de más de 500 publicaciones y poseedor de 50 patentes, dirige el departamento de química, donde Boddy se doctoró con una investigación sobre la síntesis de la vancomicina.

cuales los últimos son una L-lisina y dos D-alaninas. Se encarga la enzima transpeptidasa de reunir las cadenas peptídicas, eliminando la D-alanina final y uniendo la D-alanina penúltima a una L-lisina de una cadena de azúcares diferente. En razón de ello, las cadenas de glúcidos quedan amarradas mediante cadenas peptídicas. Todos estos enlaces cruzados tejen un material muy trenzado, esencial para la supervivencia de la célula; sin él, la célula estallararía por su propia presión interna.

La vancomicina se interpone en la formación de ese material decisivo. El antibiótico se halla cabalmente preparado para unirse a las cadenas peptídicas, antes de que éstas lo hagan entre sí por intervención de la transpeptidasa. El fármaco, al engarzarse en las D-alaninas terminales, evita que la enzima lleve a cabo su tarea. Sin la espesura de conexiones entrelazadas, el peptidoglicano se degrada, cual paño mal urdido. La célula se desgarra y muere.

Minando la resistencia

El encaje perfecto de la vancomicina en el extremo de la cadena peptídica resulta clave para su eficacia antibiótica. Por desgracia, su conexión peptídica es también decisiva para la resistencia bacteriana. En 1988 apareció un *S. aureus* resistente a la vancomicina en tres lugares distintos. Hay motivo para preocuparse de la posibilidad de expansión de las cepas, que dejarían sin tratamiento las infecciones letales de estafilococos.

Si conocemos el mecanismo de resistencia, podremos derrotarla. La investigación concentra ahora su atención en otra bacteria que, desde finales de los

años ochenta, se sabe que es resistente a este fármaco poderoso: el enterococo resistente a la vancomicina (VRE). En la mayoría de las bacterias enterocócicas, la vancomicina cumple con su misión de unirse a las dos D-alaninas terminales. En el plano molecular, tal unión comporta la formación de cinco enlaces o puentes de hidrógeno, a la manera de cinco dedos que aprietan una pelota. Pero en la VRE la cadena peptídica difiere ligeramente. Aquí, la D-alanina final está alterada por una sustitución simple: un oxígeno reemplaza al par de átomos constituido por un nitrógeno unido a un hidrógeno. En términos moleculares, esta sustitución determina que la vancomicina se una a la cadena peptídica con sólo cuatro enlaces de hidrógeno. La pérdida de uno de estos enlaces genera la diferencia. Si son sólo cuatro los dedos que aprietan la pelota, el fármaco no puede aferrarse bien; las enzimas consiguen entrometerse y posibilitar que las cadenas peptídicas se unan de nuevo. Una mera sustitución atómica reduce en un factor de 1000 la actividad del medicamento.

Se han estudiado también otros antibióticos glicopeptídicos con la esperanza de observar si los hay con una estrategia que la vancomicina pudiera adoptar frente a los VRE. Se da la circunstancia de que algunos miembros de ese grupo de antibióticos poseen largas cadenas hidrofóbicas, muy útiles. Estas cadenas prefieren rodearse de otras moléculas hidrofóbicas, como las que constituyen la membrana celular, oculta tras el escudo peptidoglicano protector. Los investigadores de Eli Lilly, trabajando sobre esa pauta, han unido cadenas hidrofóbicas a la vancomicina y creado el análogo LY333328. El fármaco se adhiere a la membrana celular en concentraciones

Resistencia creciente

MUCHOS ANTIBIOTICOS han dejado de ser eficaces contra determinadas cepas bacterianas. Ofrecemos algunos ejemplos recogidos en distintos hospitales a finales de los años noventa. Una cepa de *Staphylococcus aureus* encontrada en Corea es resistente hasta el 98 por ciento frente a la penicilina (arriba a la izquierda); otra, hallada en los Estados Unidos, es resistente hasta el 32 por ciento contra la meticilina (abajo a la izquierda). De momento, ninguna cepa de éstas es resistente a la vancomicina.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS
FRENTE A PENICILINA



ENTEROCOCCUS FAECIUM
FRENTE A CIPROFLOXACIN (CIPRO)



STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE
FRENTE A TETRACICLINA



STAPHYLOCOCCUS AUREUS
FRENTE A METICILINA



ENTEROCOCCUS FAECIUM
FRENTE A AMPICILINA



STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE
FRENTE A PENICILINA





elevadas, lo que permite un agarre más firme y, en consecuencia, un poder mayor contra el peptidoglicano. Este análogo es eficaz contra los VRE y se halla en fase de ensayo clínico.

Otros antibióticos glicopeptídicos emplean una estrategia diferente. Se trata de la dimerización, proceso en cuya virtud dos moléculas se unen entre sí para formar un complejo unitario. Al crear parejas, o dímeros de vancomicina, podemos reforzar la fuerza del fármaco. Una molécula de vancomicina se une al peptidoglicano y arrastra la aproximación de la otra mitad del par, la otra molécula de vancomicina. Aumenta así la eficacia del fármaco con su presencia mayor. En nuestro laboratorio nos proponemos facilitar el emparejamiento de la vancomicina; hemos logrado ya varias moléculas de vancomicina diméricas con una actividad excepcional frente a VRE.

Pese a todo, podríamos fracasar. Se acaba de descubrir un segundo mecanismo en virtud del cual la VRE engaña a la vancomicina. En vez de sustituir un átomo en la D-alanina terminal, la bacteria agrega un aminoácido mayor que la D-alanina en el extremo de la cadena peptídica; de ese modo, el aminoácido evita que la vancomicina llegue a su destino.

Comenzamos a desentrañar también el método que sigue el letal *S. aureus* para adquirir resistencia. La bacteria apelmaza la capa de peptidoglicano y relaja, a la vez, la unión entre los segmentos peptídicos. No importa, pues, que la vancomicina se engarce en la D-alanina; el espesor ha sustituido a la interconexión como fundamento de la fuerza del peptidoglicano. La inserción de la vancomicina carece de eficacia.

El filo de la navaja

Nos enseña la historia de la vancomicina que bastan alteraciones moleculares muy pequeñas para engendrar profundas diferencias. Y las bacterias encuentran múltiples estrategias para engañar a los fármacos, lo que obliga a la búsqueda de medicamentos, nuevos o regenerados. Tradicionalmente, el proceso de iden-

tificación de candidatos consistía en un muestreo con células íntegras: las moléculas de interés se aplicaban a células bacterianas vivas. Se trata de un método de probada utilidad, corroborado con el descubrimiento de muchos fármacos, la vancomicina incluida. Suma a su sencillez el rastreo de toda diana posible del fármaco en la célula. Pero la criba de numerosas dianas presenta también inconvenientes. El hombre y las bacterias comparten diversas dianas; los compuestos que actúan contra éstas resultan tóxicos para las personas. Con tal barrido no se saca ninguna información acerca del mecanismo de acción: se sabe que un agente actuó, pero no cómo. Sin ese conocimiento imprescindible, es casi imposible que un nuevo fármaco llegue al dispensario.

Los ensayos que se realizan en dominios moleculares ofrecen una alternativa poderosa. A través de ese muestreo se identifican sólo los compuestos que tienen una mecanismo de acción especificado. Pensemos, por ejemplo, en la búsqueda específica de inhibidores de la transpeptidasa. Pese a la dificultad que entraña el diseño de tales ensayos, descubre fármacos potenciales con modos de acción conocidos. El problema es que sólo se investiga una enzima cada vez. Se daría un gran paso si pudiéramos perseguir simultáneamente más de un objetivo (como ocurre en el proceso en que participan células íntegras) sin merma del conocimiento implícito del mecanismo de operación del fármaco. El gran paso se ha dado. Se ha reconstruido en el tubo de ensayo la vía multienzimática de una bacteria. Con este sistema se pueden identificar moléculas que degradan profundamente una de las enzimas o alteran de un modo sutil varias de ellas.

Con la automatización y la miniaturización se ha multiplicado la celeridad en el cribado de compuestos. La robótica permite estudiar los compuestos a millares. Al mismo tiempo, la miniaturización ha reducido el costo del proceso utilizando cantidades mínimas de reactivos. Con sistemas de cribado ultrarrápidos, podemos investigar cientos de miles de compuestos en un día. Merced a los nuevos métodos de la química combinatoria podemos diseñar cantidades inmensas de compuestos [véase "Química combinatoria y nuevos fármacos" por Matthew J. Plunkett y Jonathan A. Ellman; INVESTIGACIÓN Y CIENCIA, junio de 1997]. En el futuro, algunas de estas moléculas nuevas procederán de las mismas moléculas. Una vez que comprendamos la vía por la que estos organismos producen antibióticos, la ingeniería genética facilitará la síntesis de nuevas moléculas relacionadas con ellos.

La ventaja de la genómica

El diseño de fármacos y su muestreo se han beneficiado enormemente del desarrollo reciente de la genómica. Con el conocimiento de los genes y de la síntesis de las proteínas por ellos cifradas, la ciencia se ha adentrado en las propias entrañas moleculares del organismo. A la manera de un servicio de contraespionaje microbiano, importa ahora atender contra genes de importancia capital, bloquear

la síntesis de una proteína específica o alterar la capacidad de un organismo para infectar o desarrollar resistencia.

Muchos de los objetivos contra los que van dirigidos los antibióticos son genes esenciales, genes que provocan la muerte celular si dejan de funcionar. Apenas si cuesta la pronta identificación de dichos genes. Pensemos en un análisis sistemático de los 6000 genes de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Podemos alterar experimentalmente cada uno de estos genes y determinar el efecto en la levadura.

Las proteínas codificadas por los genes esenciales no son los únicos objetivos moleculares en la búsqueda de antibióticos. Importan también los genes que codifican factores de virulencia; eluden éstos la respuesta inmunitaria del huésped y de ese modo preparan el terreno para la colonización de la bacteria. Resultaba antaño harto difícil identificar tales genes porque se “activan” o transcriben por sucesos en el tejido del

huésped cuya reproducción *in vitro* se hacía muy compleja. Mas con la técnica actual de expresión *in vivo* (IVET) se puede insertar una secuencia singular de ADN, una forma de etiqueta que desactiva un gen, en cada gen bacteriano. Se aplican bacterias etiquetadas para infectar un organismo, se recuperan luego y se identifican las etiquetas. La desaparición de cualquier etiqueta significa que los genes a los que estaban unidas eran esenciales para la supervivencia de la bacteria, tan esenciales que la bacteria no podría sin ellos vivir en el huésped.

Desde hace tiempo se esperaba que la identificación e inhibición de los factores de virulencia permitieran al sistema inmunitario del organismo combatir las bacterias patogénicas antes de su instalación. Algo se ha avanzado. En un estudio reciente, una molécula experimental que inhibe el factor de virulencia de *S. aureus* ha servido para que los ratones de prueba resistieran la infección.

Además de investigar los genes esenciales y los factores de virulencia, los laboratorios empiezan a descubrir qué genes confieren resistencia a los antibióticos. La polarización en ellos del ataque nos ayudará a rejuvenecer antibióticos desechados por ineficaces. En esa línea laboran los antibióticos β -lactámicos como la penicilina. El mecanismo habitual de resistencia contra los antibióticos β -lactámicos estriba en la producción bacteriana de β -lactamasa, enzima que corta uno de los enlaces del antibiótico, cambiando su estructura y evitando la inhibición de la transpeptidasa. Si se silencia la β -lactamasa, el antibiótico permanece eficaz. Eso es justamente lo que hace el ácido clavulánico, un inhibidor de la β -lactamasa: se mezcla con la amoxicilina para crear el antibiótico Augmentine.

Cuando en un futuro próximo dominemos mejor la transcripción del ADN, será práctica rutinaria la identificación de determinantes de resistencia, como la β -lactamasa, y factores de virulencia. Habrá llegado entonces el momento de poder identificar los genes que intervienen en diferentes condiciones de desarrollo celular. Mediante la identificación de los genes bacterianos cuya expresión aumenta al infectar un huésped determinaremos los genes de virulencia. Estableceremos los genes de resistencia a los antibióticos mediante la comparación entre niveles de expresión en bacterias tratadas con antibióticos y los manifestados en bacterias sin tratar. Aunque en su infancia, esta técnica ha detectado cambios minúsculos en el número de episodios de transcripción. Con el dominio del perfil de transcripción del ADN, podrá establecerse si determinados fármacos aplican mecanismos de acción totalmente nuevos o tienen dianas celulares inéditas que podrían señalar caminos a la investigación antibiótica no transitados.

Sacrificio del mensajero

En otra línea interesante de la investigación genómica se busca la inoperancia del ARN bacteriano. En su mayor proporción, el ARN es ribosómico (ARNr), componente estructural principal de los ribosomas. Son

Mecanismo de acción de los antibióticos

LOS ANTIBIOTICOS combaten las infecciones impidiendo que la bacteria sintetice sustancias esenciales. La vancomicina y los antibióticos β -lactámicos obstaculizan la síntesis de la pared celular (1). La eritromicina y la tetraciclina alteran los ribosomas donde se sintetizan las proteínas (2). Los antibióticos quinolónicos inhiben enzimas que participan en la replicación del ADN (3), y los antibióticos de sulfonamida obstaculizan también la síntesis de ADN (no representados).

