



RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

Ilenia Clavero Camacho

Elena Pérez Aranda

3º Grado de Bioquímica, Universidad de
Málaga

ON THE ANTIBACTERIAL ACTION OF CULTURES OF A
PENICILLIUM, WITH SPECIAL REFERENCE TO THEIR
USE IN THE ISOLATION OF *B. INFLUENZÆ*.

ALEXANDER FLEMING, F.R.C.S.

From the Laboratories of the Inoculation Department, St Mary's Hospital, London.

Received for publication May 10th, 1929.

Desde que Fleming publicase su descubrimiento de la penicilina en 1929 en el *British Journal of Experimental Pathology* se ha sucedido una ola de búsqueda de antibióticos capaces de eliminar las amenazas que los microorganismos llegan a provocar en la sociedad.

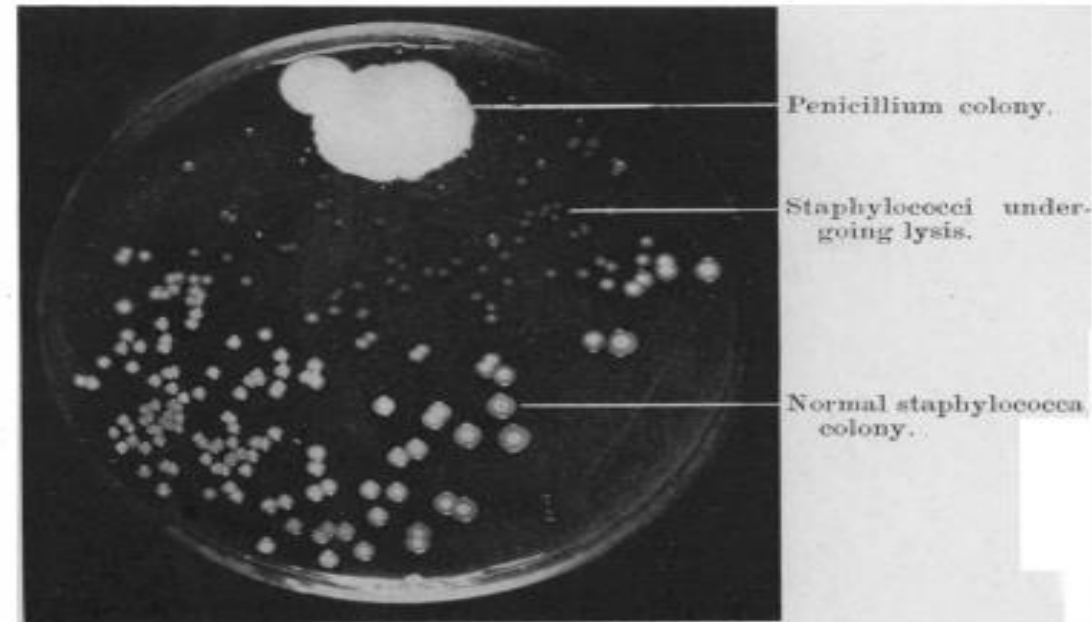


FIG. 1.—Photograph of a culture-plate showing the dissolution of staphylococcal colonies in the neighbourhood of a penicillium colony.

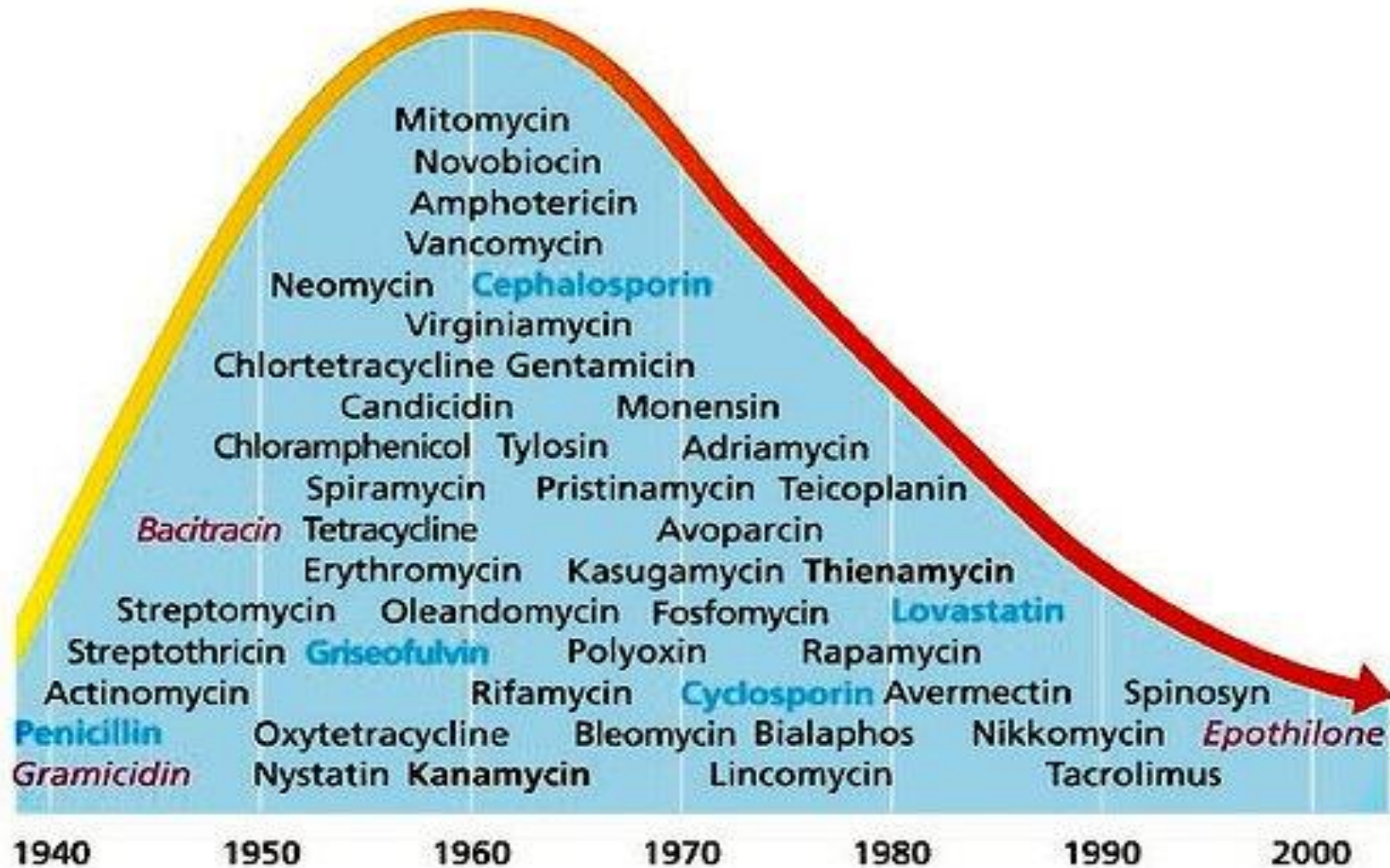
BREVE EVOLUCIÓN HISTÓRICA



| Año | Descubrimiento |
|------|--|
| 1928 | Alexandre Fleming, descubre la penicilina |
| S.XX | Louis Pasteur descubrió algunas bacterias saprofiticas |
| 1939 | René Bubs aisló la tirotricina, el primer antibiótico utilizado en enfermedades humanas. |
| 1940 | Florey y Chain utilizan por primera vez la penicilina en humanos |
| 1944 | Selmam Waksaman, descubre junto a sus colaboradores la eritromicina |



EL BOOM DE LOS ANTIBIÓTICOS

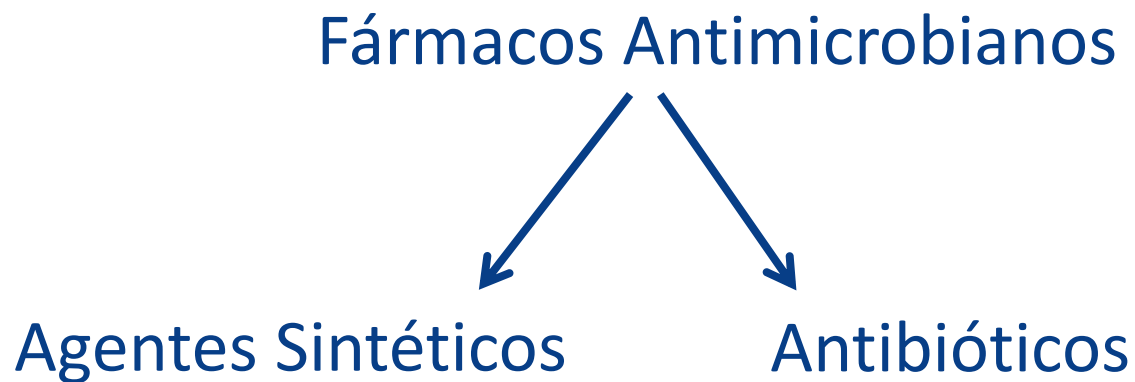


Cortesía de Sánchez-Jiménez, F.

FÁRMACOS ANTIMICROBIANOS

Se clasifican según:

- Estructura molecular
- Mecanismo de acción
- Espectro de acción microbiana



DEFINICIONES

- **AGENTE MICROBIANO:** Aquel compuesto químico que mata o inhibe el crecimiento de los microorganismos.
- **ANTIBIÓTICO:** Sustancia química producida por un microorganismo que mata o inhibe el crecimiento de otro microorganismo.

PRIMEROS PASOS

El desarrollo de fármacos antimicrobianos comenzó con Paul Ehrlich quién introdujo el concepto de TOXICIDAD SELECTIVA: como la capacidad de inhibir o matar microorganismos patógenos sin perjudicar al hospedador.

Persiguiendo este concepto se descubrieron nuevos fármacos como el Salvarsán, el cual se empleaba para la sífilis.



¿CÓMO ACTÚAN?

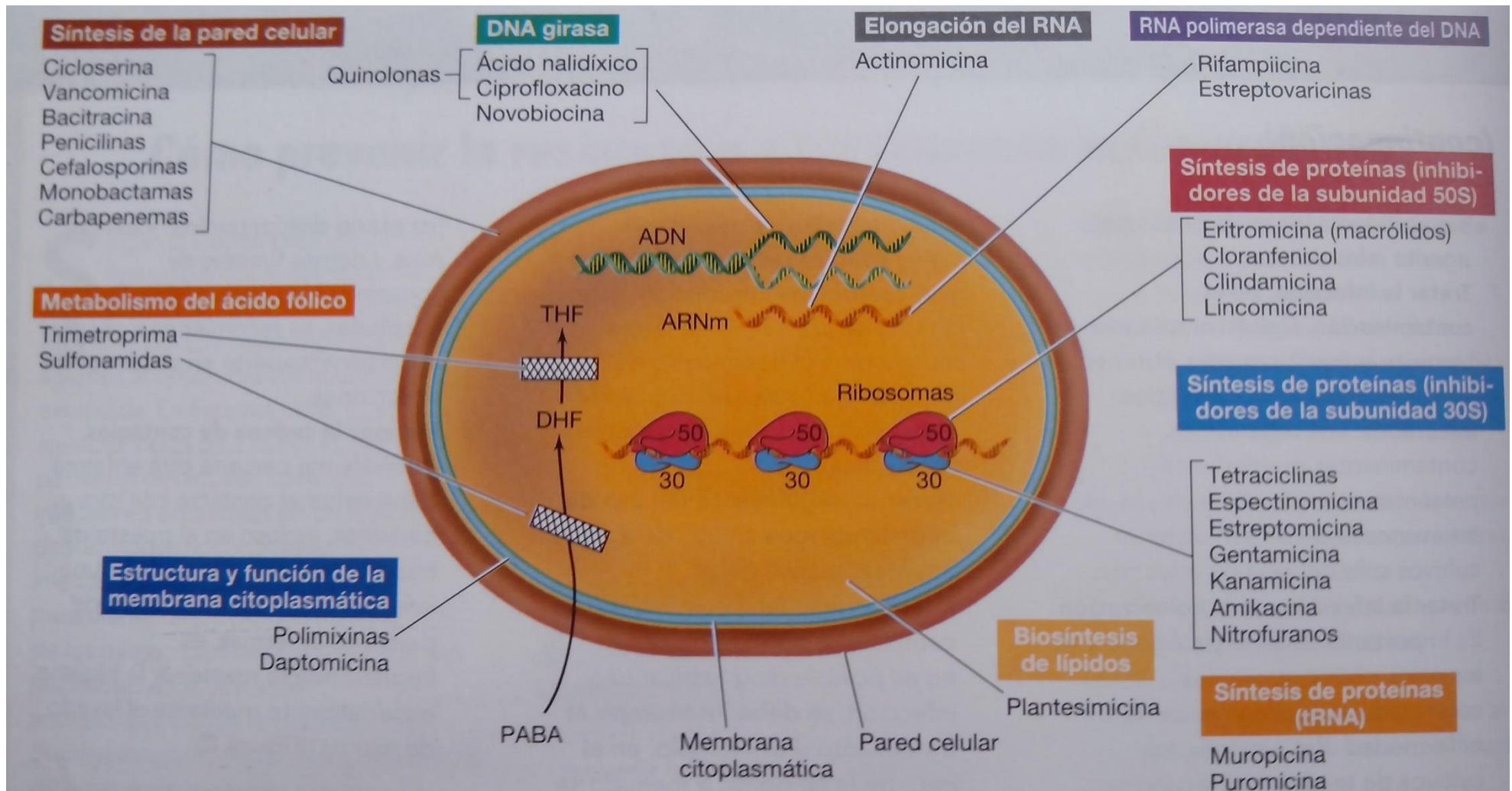
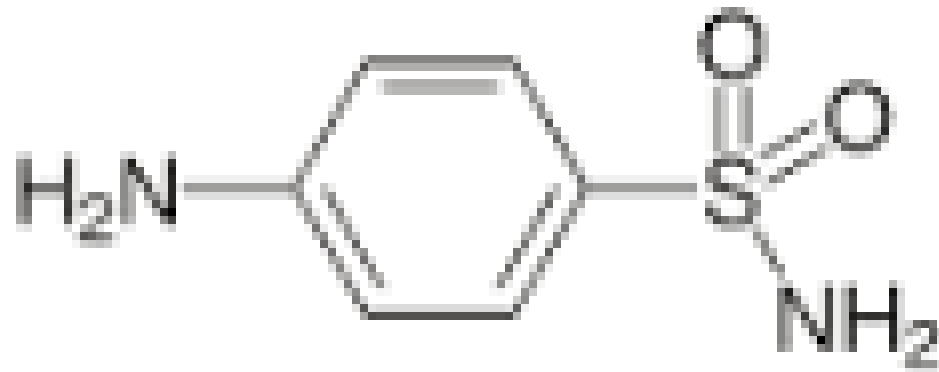


Figura 27.12 Modo de acción de los principales agentes quimioterapéuticos antimicrobianos. Los agentes se clasifican según sus estructuras diana en la célula bacteriana. THF, tetrahidrofolato; DHF, dihidrofolato; mRNA, RNA mensajero.

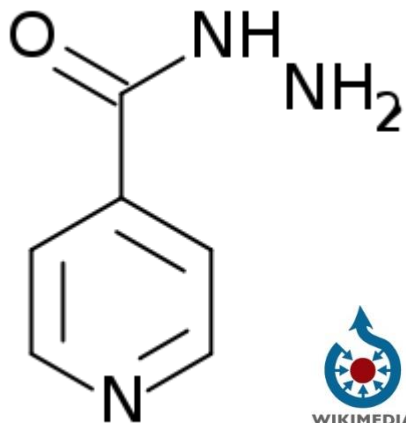
SULFAMIDAS

Son los primeros análogos a los factores de crecimiento que se descubrieron, inhiben el crecimiento. Un caso concreto es la sulfanilamida, un análogo del p-aminobenzoico, que a su vez, forma parte del ácido fólico, un precursor del ácido nucleico. La sulfanilamida actúa bloqueando la síntesis de ácido fólico e inhibe así la síntesis de ácido nucleico.



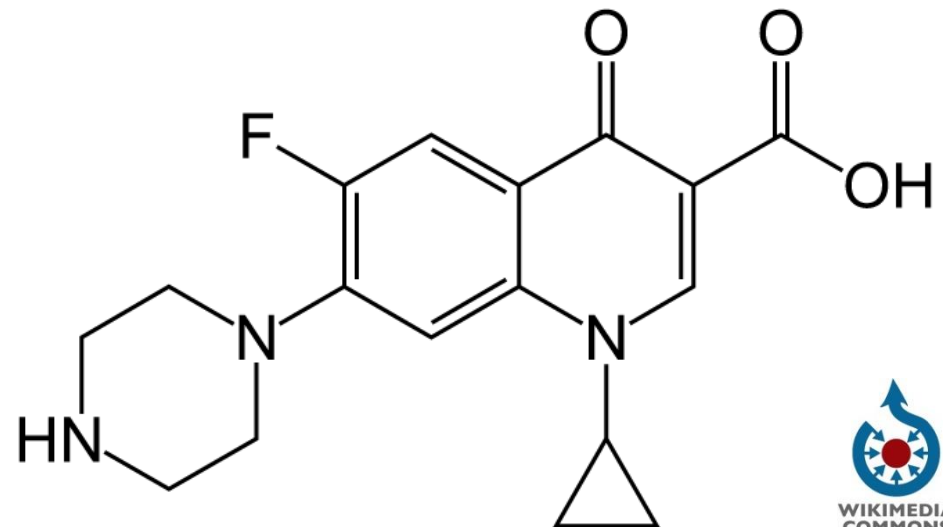
LA ISONIAZIDA

Es un importante análogo del factor de crecimiento con un espectro de acción muy reducido, sólo es eficaz frente a *Mycobacterium*, interfiere en la síntesis de ácido micólico, un material específico de la pared celular de las micobacterias. Es un análogo de la nicotinamida y es el fármaco más utilizado para el control y tratamiento de la tuberculosis.



LAS QUINOLONAS

Son compuestos antibacterianos que interaccionan con la DNA girasa bacteriana impidiendo que se produzca el superenrollamiento del DNA necesario para el empaquetamiento del DNA en la célula. Las fluoroquinolonas son eficaces en el tratamiento de las infecciones provocadas por bacterias gram positivas y gram negativas, muy usadas de forma rutinaria para infecciones del tracto urinario.

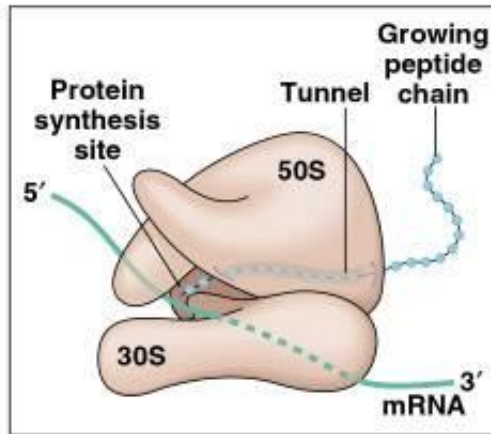


ANTIBIÓTICOS

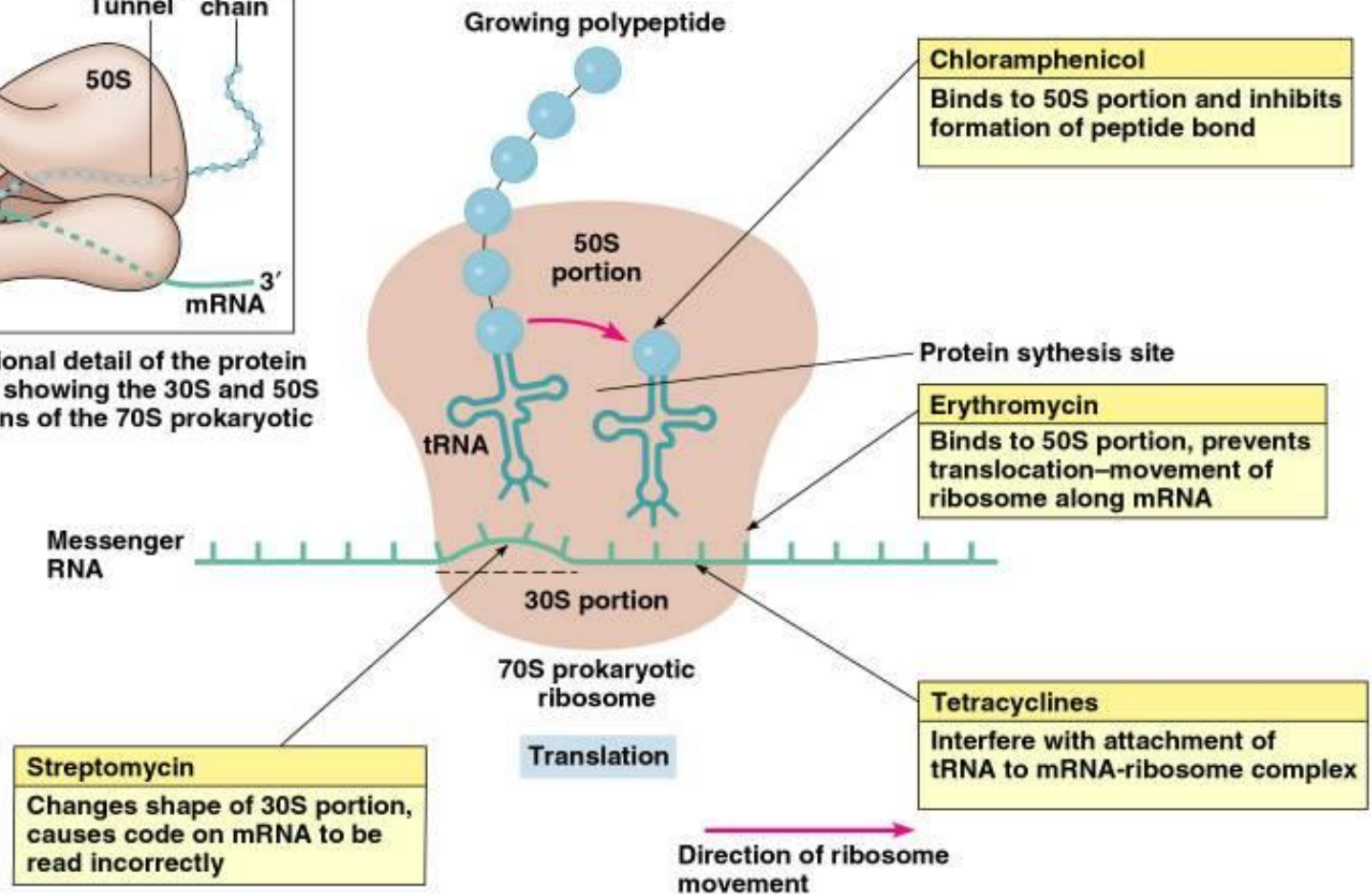
Tienen como diana los ribosomas, la pared celular, la membrana plasmática, la biosíntesis de lípidos y los elementos de replicación y transcripción de DNA.

Sólo el 1% de los miles de antibióticos conocidos tienen aplicación médica.

ANTIBIÓTICOS QUE INHIBEN LA SÍNTESIS PROTEÍCA



(a) Three-dimensional detail of the protein synthesis site showing the 30S and 50S subunit portions of the 70S prokaryotic ribosome.



(b) In the diagram the black arrows indicate the different points at which chloramphenicol, erythromycin, the tetracyclines, and streptomycin exert their activities.

- Estreptomicina: inhibe la iniciación de la cadena proteica
- Cloranfenicol, ciclohexamida y tetraciclina inhiben la elongación de la cadena proteica.

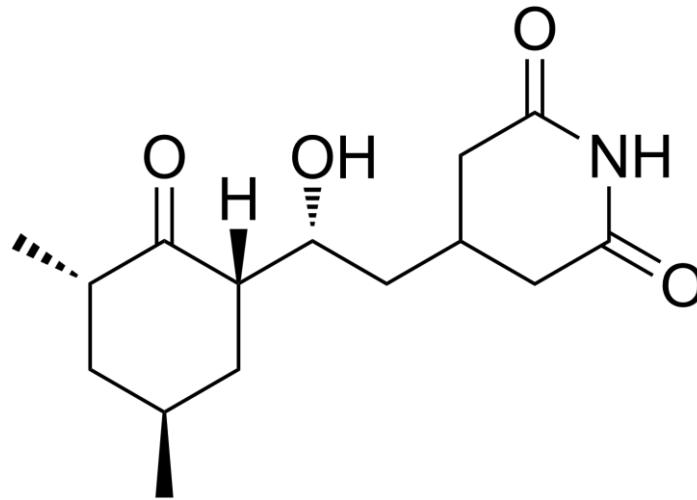


Imagen de la ciclohexamida

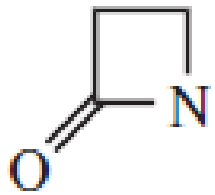
ANTIBIÓTICOS QUE AFECTAN A LA TRANSCRIPCIÓN

Antibióticos que actúan en la inhibición de síntesis de RNA y por tanto afectan a la transcripción. Son específicos de bacterias, cloroplastos y mitocondrias.

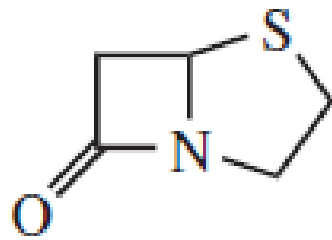
Rifamicinas y las estreptovaricinas inhiben la síntesis de RNA uniéndose a la subunidad β de la RNA polimerasa.

ANTIBIÓTICOS B-LACTÁMICOS

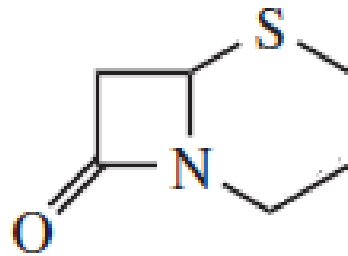
Estos comparten su estructura común, el anillo β -lactámico. Se encuentran en este grupo las penicilinas y cefalosporinas, que constituyen la mitad de todos los antibióticos que se producen y consumen en el mundo.



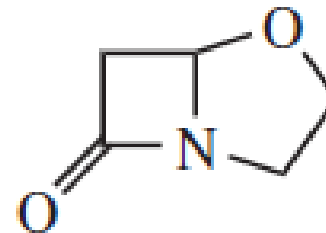
β -Lactama



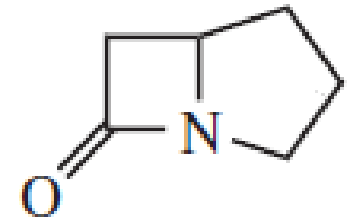
Tipo
penicilina



Tipo
cefalina

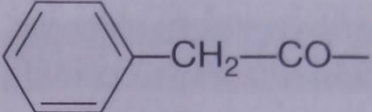
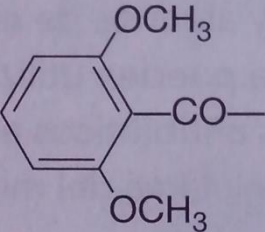
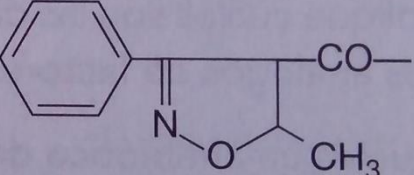
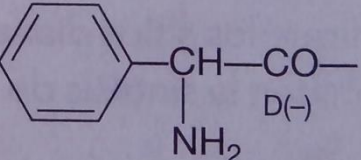
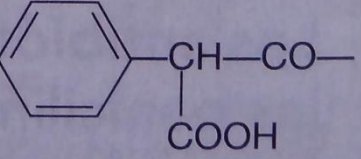


Tipo
clavulinato



Tipo
carbapenam

LAS PENICILINAS G

| Designación | Grupo N-acilo |
|--|---|
| PENILICINA NATURAL Benzilpenicilina (penicilina G) Actividad frente a las bacterias grampositivas Sensible a β -lactamasas |  |
| PENICILINAS SEMISINTÉTICAS | |
| Meticilina Estable en medio ácido Resistente a β -lactamasas |  |
| Oxacilina Estable en medio ácido Resistente a β -lactamasas |  |
| Ampicilina Espectro de acción ampliado (especialmente a bacterias gramnegativas) Sensible a β -lactamasas |  |
| Carbenicilina Espectro de acción ampliado (especialmente frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i>), estable en medio ácido pero ineficaz por vía oral Sensible a β -lactamasas |  |

Son las más utilizadas en la aplicación clínica, actúan contra bacterias grampositivas pero se han conseguido hacer modificaciones a sus grupos N-acilos creando así nuevas penicilinas semisintéticas que actúan con gramnegativas.

¿CÓMO ACTÚAN?

Los b-lactámicos actúan como inhibidores de la pared celular aprovechando la reacción de transpeptidación que tiene lugar durante su formación, el resultado son dos cadenas de peptidoglicano. Los antibióticos actúan evitando este entrecruzamiento debilitando así la pared celular y posteriormente liberando autolisinas que la digieren.

Son muy específicos y no son tóxicos, es por esto que son de los más utilizados.

ANTIBIÓTICOS PRODUCIDOS POR PROCARIOTAS

- Aminoglicósidos: inhiben la síntesis de la subunidad 30S del ribosoma, son kanamicina, gentamicina... y destacamos la estreptomina utilizado en los casos de tuberculosis, aunque en desuso por su toxicidad.
- Macrólidos: el más conocido es la eritromicina usado como sustituto a la penicilina. Constituyen un 11% de la producción mundial.
- Tetraciclinas: afectan a la síntesis de proteínas, es utilizado ya que su estructura básica, el anillo de naftaceno permite diferentes análogos y desarrollar tetraciclinas semisintéticas.

¿QUÉ ES LA RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS?

- La resistencia a los antibióticos es la capacidad de los patógenos de resistir la acción de uno o varios antibióticos concretos, de modo que esos antibióticos dejan de ser efectivos.
- Los microorganismos pueden ser resistentes de forma natural a determinados antibióticos, o pueden adquirir esa resistencia.
- Resistencia
 - Natural: Determinada genéticamente
 - Adquirida: Cambios en el DNA (mutaciones) o ganancia de DNA que confiere resistencia

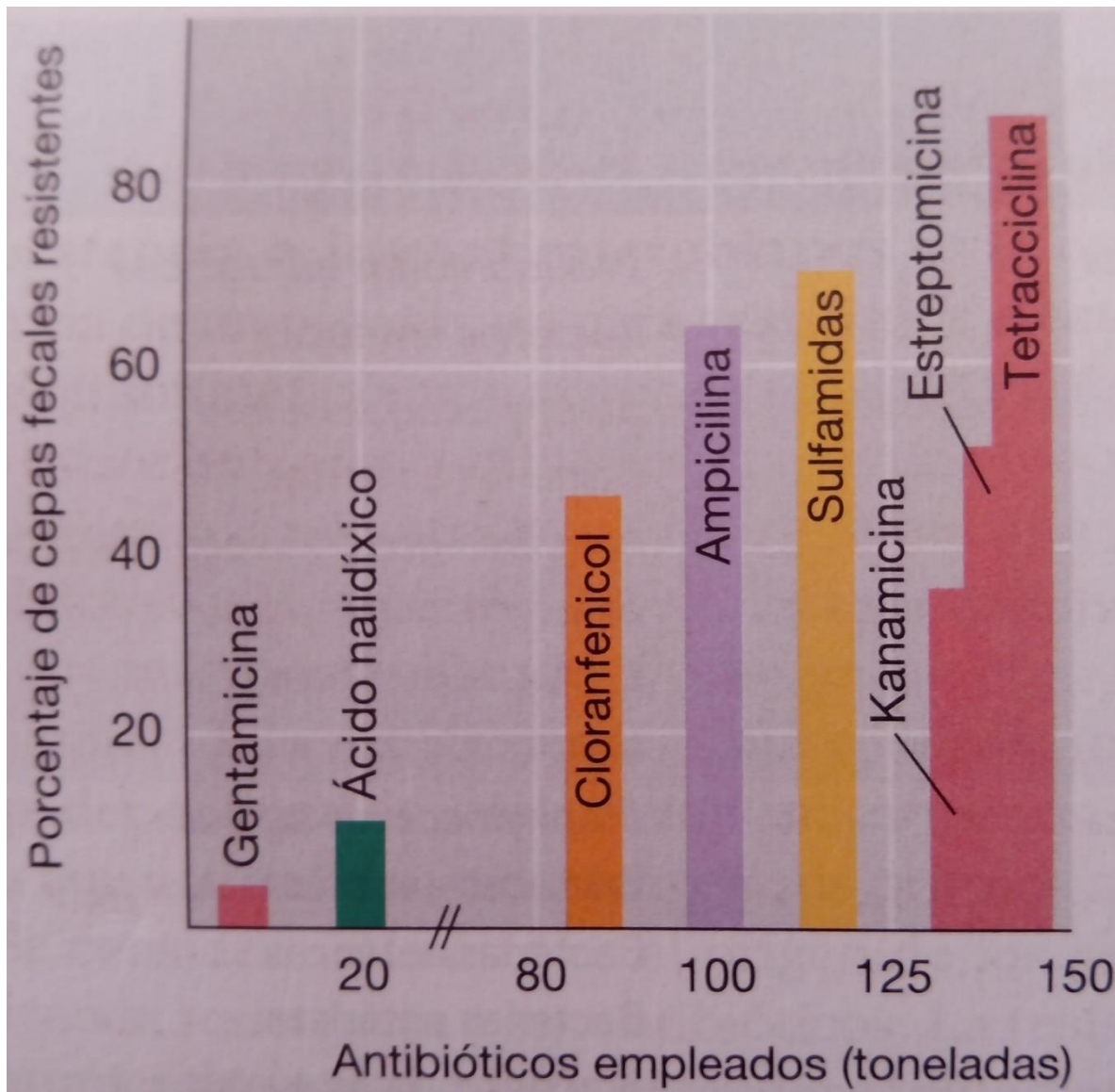
La resistencia adquirida ha aumentado desde el uso de antibióticos debido a que estos ejercen una presión selectiva sobre los patógenos. Este fenómeno se acentúa debido a:

- Un uso abusivo e inadecuado de los antibióticos
- Duración incorrecta del tratamiento
- Falta de control para evitar la propagación y el contagio de las enfermedades.
- Un uso indiscriminado de los antibióticos en agricultura y ganadería

USO ABUSIVO DE LOS ANTIBIÓTICOS



CORRELACIÓN ENTRE EL ABUSO DE LOS ANTIBIÓTICOS Y LA RESISTENCIA A ELLOS



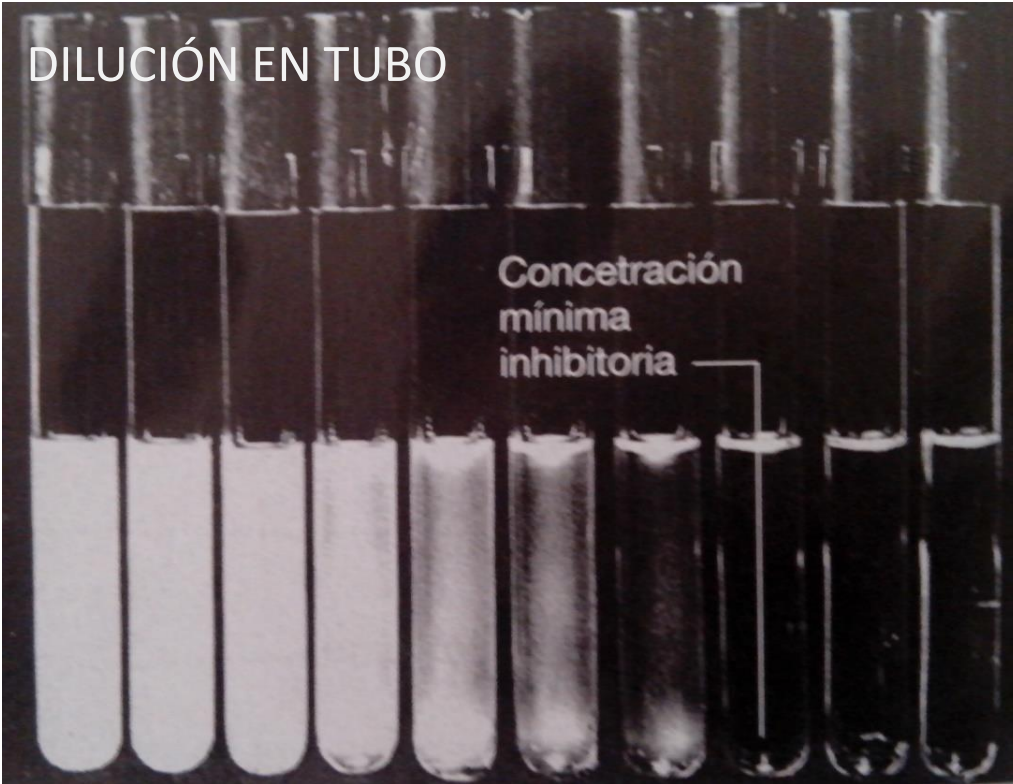
Los antibióticos que se han usado en mayor cantidad son los que presentan un mayor número de cepas resistentes a ellos. Esto muestra que el abuso de los antibióticos a tenido un efecto de presión selectiva sobre los microorganismos.

DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD: ANTIBIOGRAMA

- Antibiograma: prueba microbiológica empleada para determinar la sensibilidad de una bacteria a antibióticos concretos.
- Para medir la actividad antimicrobiana de un antibiótico se determina la concentración mínima inhibitoria (CMI)
- Existen diversas técnicas para determinar la sensibilidad de los microorganismos a los antibióticos, las técnicas de dilución proporcionan datos cuantitativos, y los métodos de difusión proporcionan datos cualitativos.

ANTIBIOGRAMA

DILUCIÓN EN TUBO



Tomada del Brock, 2009

DIFUSIÓN EN DISCO



http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e4/KB_test.jpg

MECANISMOS DE RESISTENCIA

1. Carecer de la estructura sobre la que actúa el antibiótico (ej.: micoplasma)
2. Impermeabilidad al antibiótico.
3. Inactivación enzimática del antibiótico.
4. Modificación de la diana del antibiótico.
5. Desarrollo de una ruta que le confiera resistencia.
6. Capacidad de expulsar un antibiótico que se haya introducido en el microorganismo (eflujo).

IMPERMEABILIDAD AL ANTIBIÓTICO

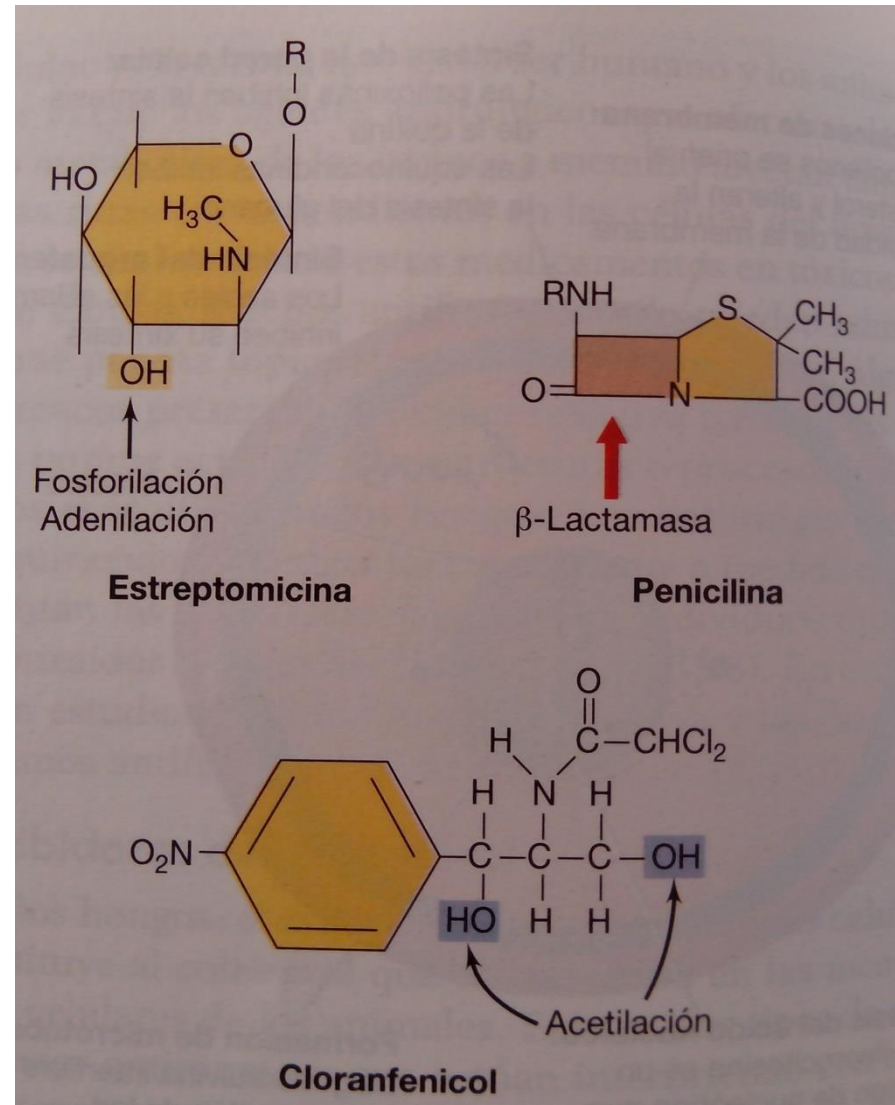
De forma natural las bacterias pueden ser impermeables a los antibióticos. Y debido a mutaciones de las proteínas presentes en la pared (porinas) que permiten la entrada de los antibióticos, las bacterias pueden adquirir este tipo de resistencia.

Si una mutación afecta a las porinas, las bacterias son menos sensibles al antibiótico, de modo que la CMI aumenta. En caso de que el antibiótico entre por un tipo de porina concreto, si el gen que la codifica muta y el antibiótico no puede acceder a la bacteria, esta se vuelve resistente.

INACTIVACIÓN DEL ANTIBIÓTICO

Las bacterias pueden producir enzimas capaces de destruir un fármaco concreto, (ej.: β -lactamasas), o enzimas que lo modifiquen. Este mecanismo puede estar presente de forma natural o adquirirse por transferencia de material genético.

Las β -lactamasas son capaces de hidrolizar el anillo β -lactámico de la penicilina. Y los antibióticos aminoglucósidos pueden ser inactivados por enzimas al sufrir reacciones de acetilación, fosforilación o adenilación.



MODIFICACIÓN DE LA DIANA DEL ANTIBIÓTICO

Las bacterias son capaces de alterar el blanco del antibiótico para impedir su acción. En el caso de la penicilina, esta se une a unas proteínas concretas (PBP), pero si estas se alteran o pierden su función, este fármaco deja de hacer efecto (caso de las Gram positivas).

Este mecanismo se debe principalmente a mutaciones cromosómicas que alteran la estructura de las dianas de los antibióticos provocando que la afinidad disminuya. Aunque recientemente se ha descubierto que esta resistencia en algunos casos puede deberse a genes transmitidos por plásmidos, en concreto los genes *qnr*, cuyos productos impiden la acción del antibiótico.

Por lo tanto este mecanismo está presente de forma natural en algunos microorganismos, y también puede ser adquirido.

DESARROLLO DE UNA RUTA QUE LE CONFIERA RESISTENCIA Y EFLUJO

- Desarrollo de una ruta que le confiera resistencia: Las bacterias son capaces de alterar su metabolismo. Si por ejemplo el fármaco actúa sobre la ruta de síntesis del ácido fólico, las bacterias capaces de captarlo directamente del medio y no tienen que realizar la ruta de síntesis de este, y el fármaco deja de ser efectivo, adquieren por tanto resistencia.
- Capacidad de expulsar un antibiótico que se haya introducido en el microorganismo (eflujo). Mediante bombas que consumen energía, el antibiótico es captado en el interior y expulsado, impidiendo así que este llegue a su diana. (Mecanismo frecuente en Gram negativas)

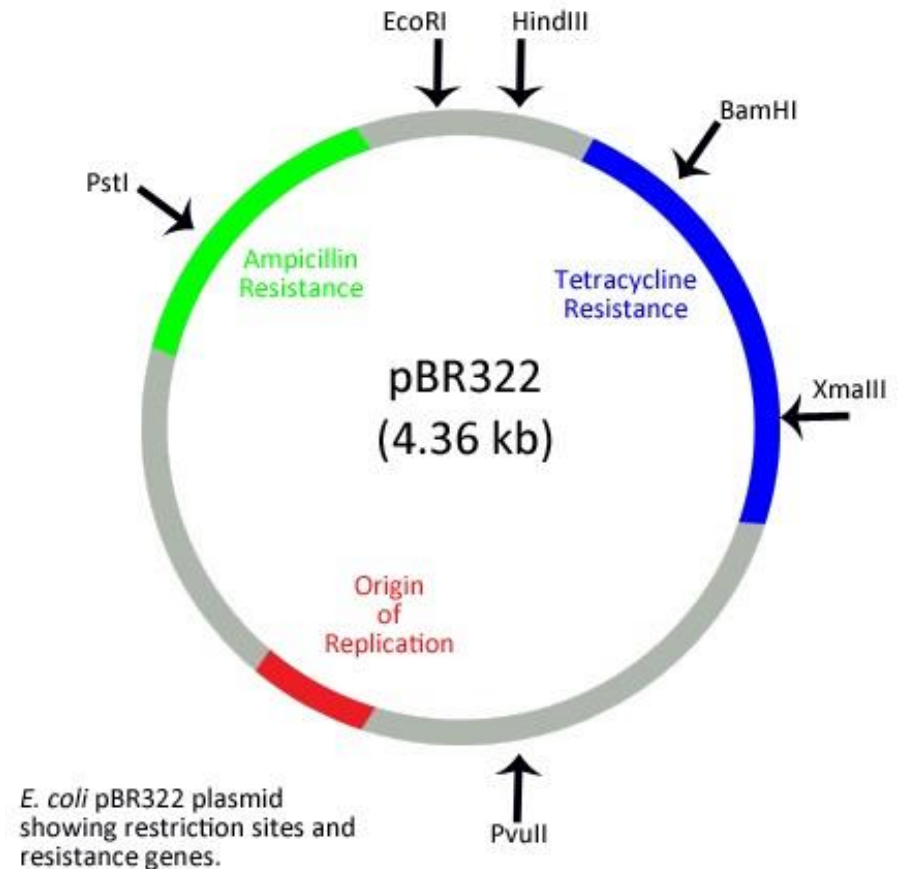
RESISTENCIA ADQUIRIDA: INTERCAMBIO GENÉTICO

PLÁSMIDO DE RESISTENCIA (PLÁSMIDO R): moléculas de DNA extracromosómico que portan genes de resistencia a antibióticos y a otros inhibidores del crecimiento. Pueden conferir resistencia a varios antibióticos a la vez. Se transfieren de una bacteria a otra por conjugación.

Los genes de los plásmidos R suelen codificar enzimas capaces de modificar el antibiótico e inactivarlo, o codificar enzimas que impiden la entrada del antibiótico o que lo expulsan.

Otros mecanismo de transferencia de material genético implicados en la ganancia de resistencia:

Transformación, transducción, plásmidos no conjugativos.



RESISTENCIA ADQUIRIDA

MUTACIONES CROMOSÓMICAS:

Las mutaciones son alteraciones en la secuencia de bases del DNA que implican cambios en la información genética. La resistencia a los antibióticos puede deberse a mutaciones cromosómicas que ocasionan una ventaja al microorganismo, de modo que este sobrevive a la acción del antibiótico y al replicarse transmite esa ventaja a sus descendientes. Las mutaciones confieren resistencia al afectar a la estructura de las dianas de los fármacos, por ejemplo al modificar la estructura de un receptor o de una proteína transportadora.

| Mecanismo de resistencia | Ejemplo de antibiótico | Base genética de la resistencia | Mecanismo presente en: |
|---|--|---------------------------------|---|
| Permeabilidad reducida | Penicilinas | Cromosómica | Pseudomonas aeruginosa Bacterias entéricas |
| Inactivación del antibiótico (por ejemplo, penicilasas; enzimas modificadoras como metilasas, acetilasas, fosforilasas y otras) | Penicilinas | Plasmídica y cromosómica | Staphylococcus aureus Bacterias entéricas Neisseria gonorrhoeae |
| | Cloranfenicol | Plasmídica y cromosómica | Staphylococcus aureus Bacterias entéricas |
| | Aminoglicósidos | Plasmídica | Staphylococcus aureus |
| Alteración de la diana (por ejemplo, RNA polimerasa, rifamicina; ribosoma, eritromicina y estreptomicina; DNA girasa, quinolonas) | Eritromicina Rifamicina Estreptomicina Norfloxacino | Cromosómica | Bacterias entéricas Staphylococcus aureus |
| Desarrollo de una ruta bioquímica resistente | Sulfamidas | Cromosómica | Bacterias entéricas Staphylococcus aureus |
| Eflujo (bombeo hacia el exterior de la célula) | Tetraciclinas Cloranfenicol | Plasmídica Cromosómica | Bacterias entéricas Staphylococcus aureus Bacillus subtilis |
| | Eritromicina | Cromosómica | Staphylococcus spp. |

CONSECUENCIAS DE LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS:

1. Infecciones comunes que antes podían ser tratadas, pasan a ser potencialmente mortales. El tratamiento se ralentiza y dificulta, pudiendo desencadenar en la muerte del paciente.
2. Dificulta el control de las enfermedades infecciosas. Al ser menos efectivo el tratamiento, este se prolonga aumentando así el riesgo de contagio.
3. Sin antibióticos efectivos muchas enfermedades infecciosas se volverían intratables e incontrolables.
4. Se encarecen los costes de atención sanitaria.
5. Supone una amenaza contra los avances sanitarios, dado que las infecciones ponen en peligro la eficacia de tratamientos como los trasplantes de órganos, cirugías,...

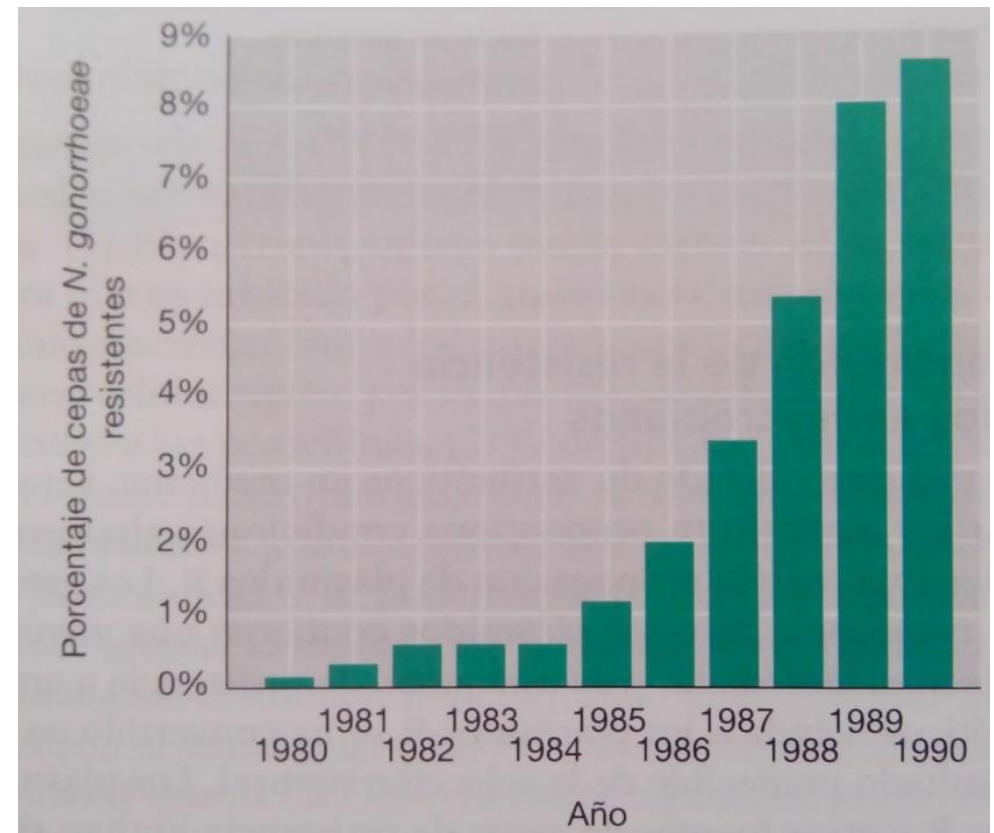
ENFERMEDADES RE-EMERGENTES

La resistencia a los antibióticos carbapenémicos, empleado para el tratamiento de infecciones por *Klebsiella pneumoniae* se ha extendido a todas las regiones del mundo. Esta bacteria es la causante de infecciones nosocomiales, como neumonías, infecciones de los recién nacidos y los pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos.

Según la OMS: las personas infectadas por *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina tienen una probabilidad de morir un 64% mayor que las infectadas por cepas no resistentes.

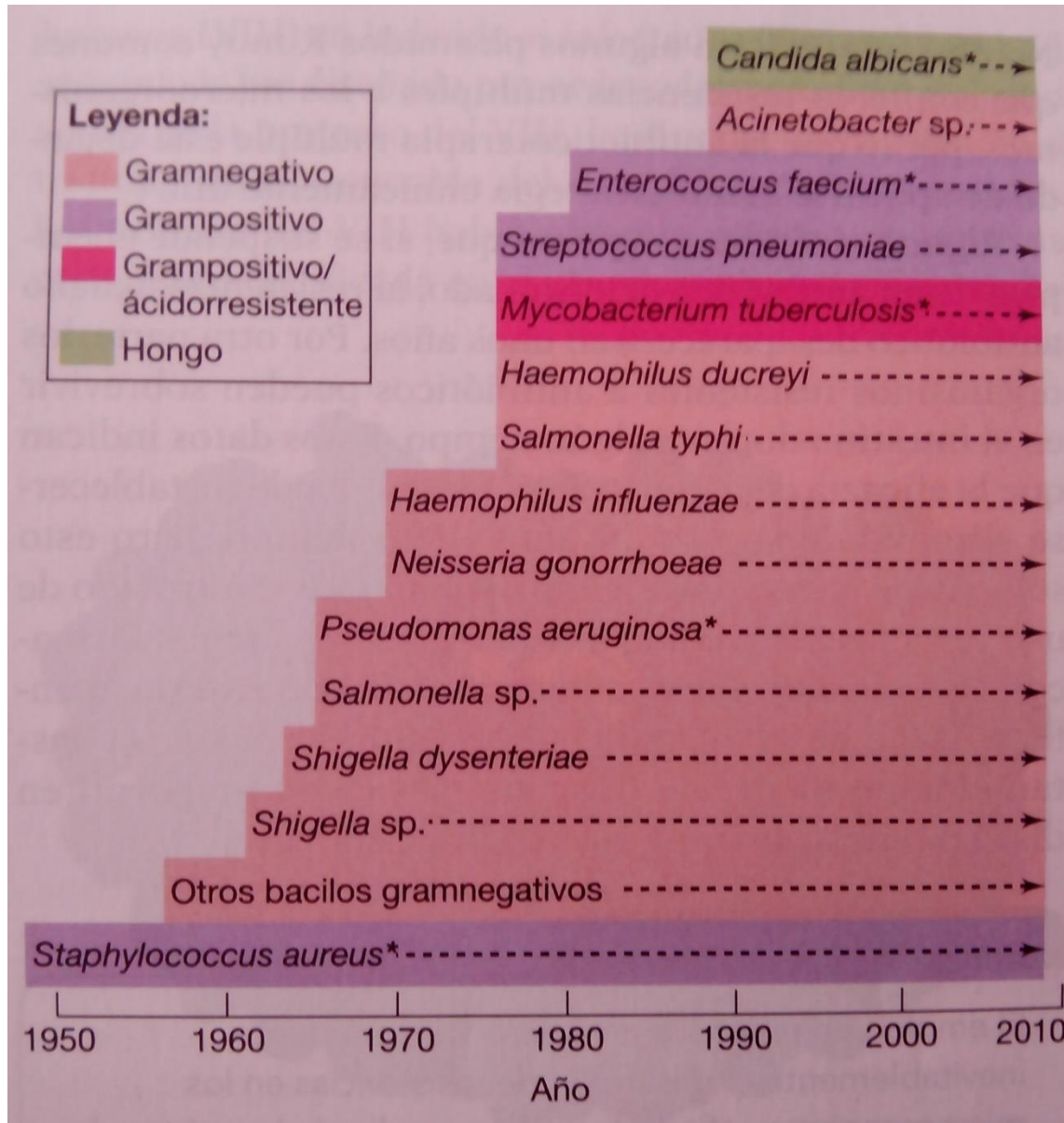
En muchos países el tratamiento contra la gonorrea con cefalosporinas ha fallado, debido a la resistencia adquirida por *Neisseria gonorrhoeae*.

Tomada del Brock, 2009



EJEMPLOS DE PATÓGENOS RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS

APARICIÓN DE RESISTENCIAS A FÁRMACOS ANTIMICROBIANOS:

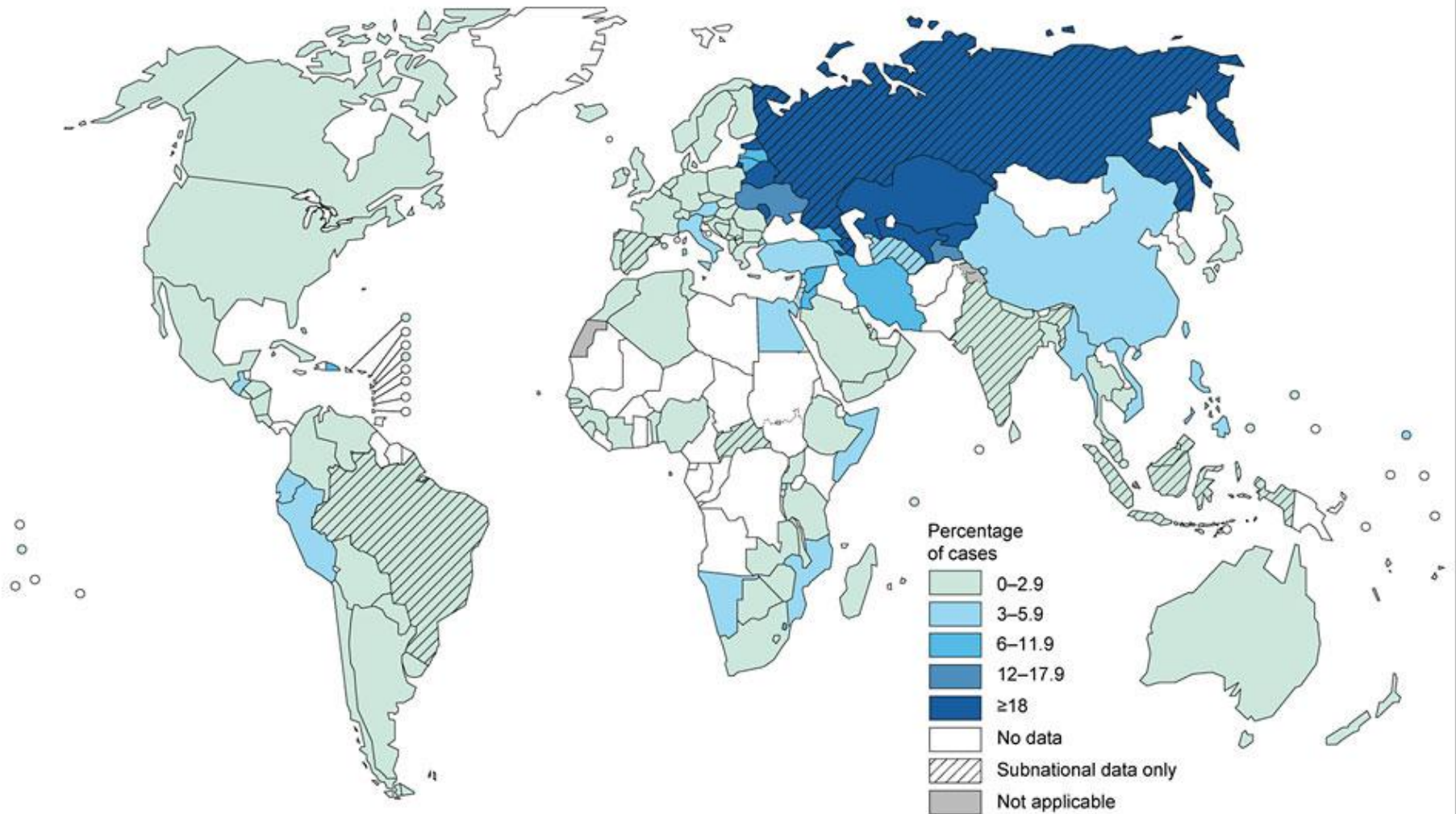


- *Enterococcus faecium*: meningitis neonatal
- *Streptococcus pneumoniae*: neumonías, meningitis,...
- *Mycobacterium tuberculosis*: tuberculosis
- *Staphylococcus aureus*: neumonía, meningitis, artritis séptica, infecciones cutáneas y de las mucosas,...
- *Neisseria gonorrhoeae*: gonorrea
- *Haemophilus influenzae*: meningitis, epiglotitis, neumonía, sepsis

Tomada del Brock, 2009

TUBERCULOSIS

Percentage of new TB cases with multidrug-resistant tuberculosis*



* Figures are based on the most recent year for which data have been reported, which varies among countries.

The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted and dashed lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement.

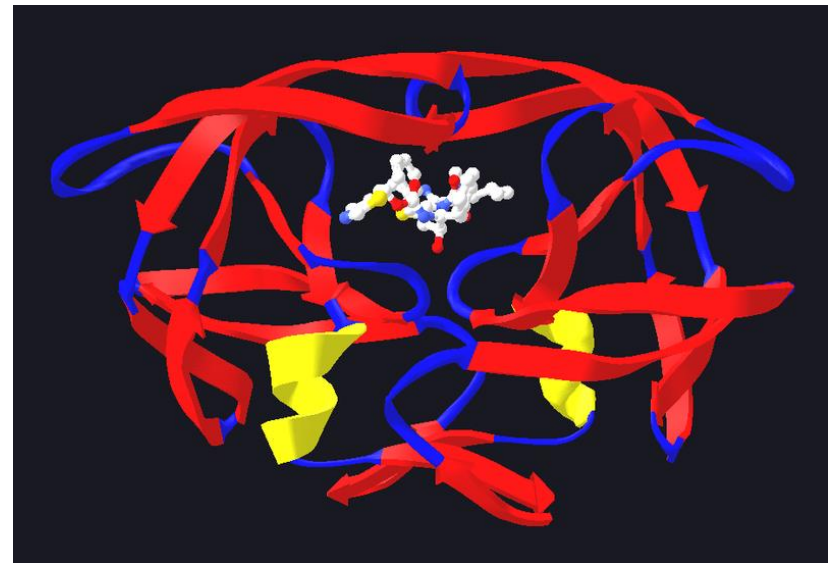
Data Source: *Global Tuberculosis Report 2013*. WHO, 2013.

© WHO 2013. All rights reserved.



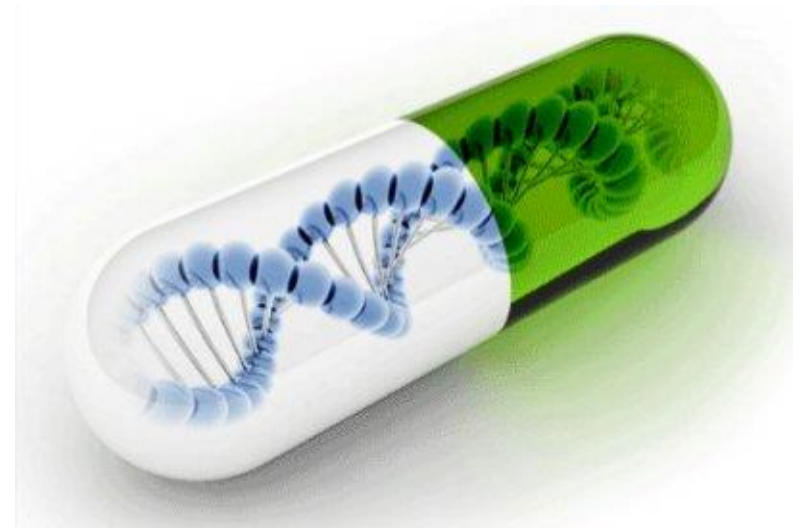
BÚSQUEDA DE NUEVOS ANTIBIÓTICOS

1. Una de las estrategias más utilizadas y eficaces es la construcción de análogos de los compuestos ya existentes. Mediante química combinatoria inician modificaciones sistemáticas de un producto conocido para la generación de análogos nuevos y diseño de medicamentos por ordenador.



BÚSQUEDA DE NUEVOS ANTIBIÓTICOS

2. Productores naturales utilizados como antibióticos. Utilizando el RNA antisentido e introduciendo déficit del gen que elijamos podemos aumentar la sensibilidad de antibióticos concretos a cepas elegidas.



BÚSQUEDA DE NUEVOS ANTIBIÓTICOS

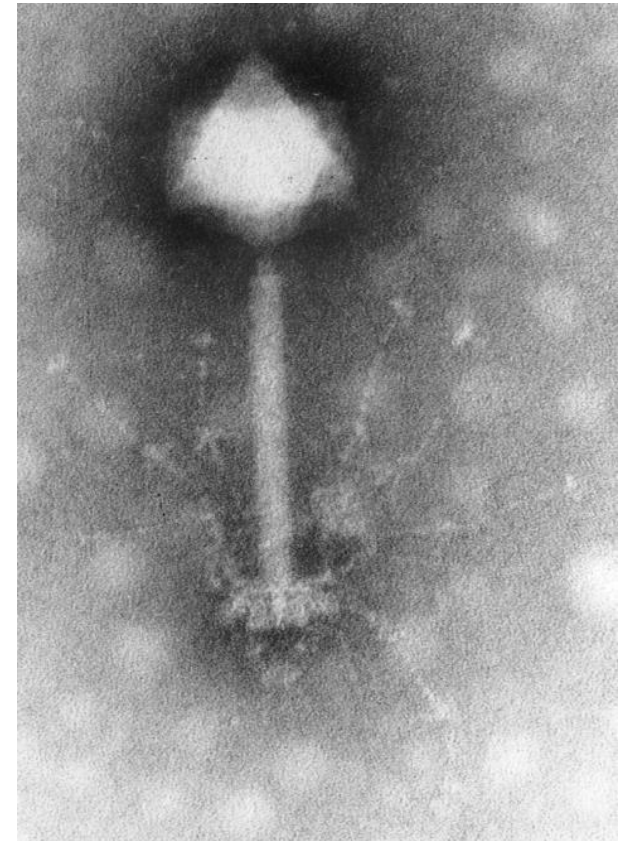
3. Combinaciones de fármacos.

Una terapia como la combinación de los fármacos sulfametoxazol (una sulfamida) con trimetoprima, la combinación de fármacos produce un bloqueo de la ruta de síntesis del ácido fólico. La resistencia a esta combinación farmacológica es más difícil que se de ya que deberían tener lugar dos mutaciones en genes diferentes de la misma ruta.

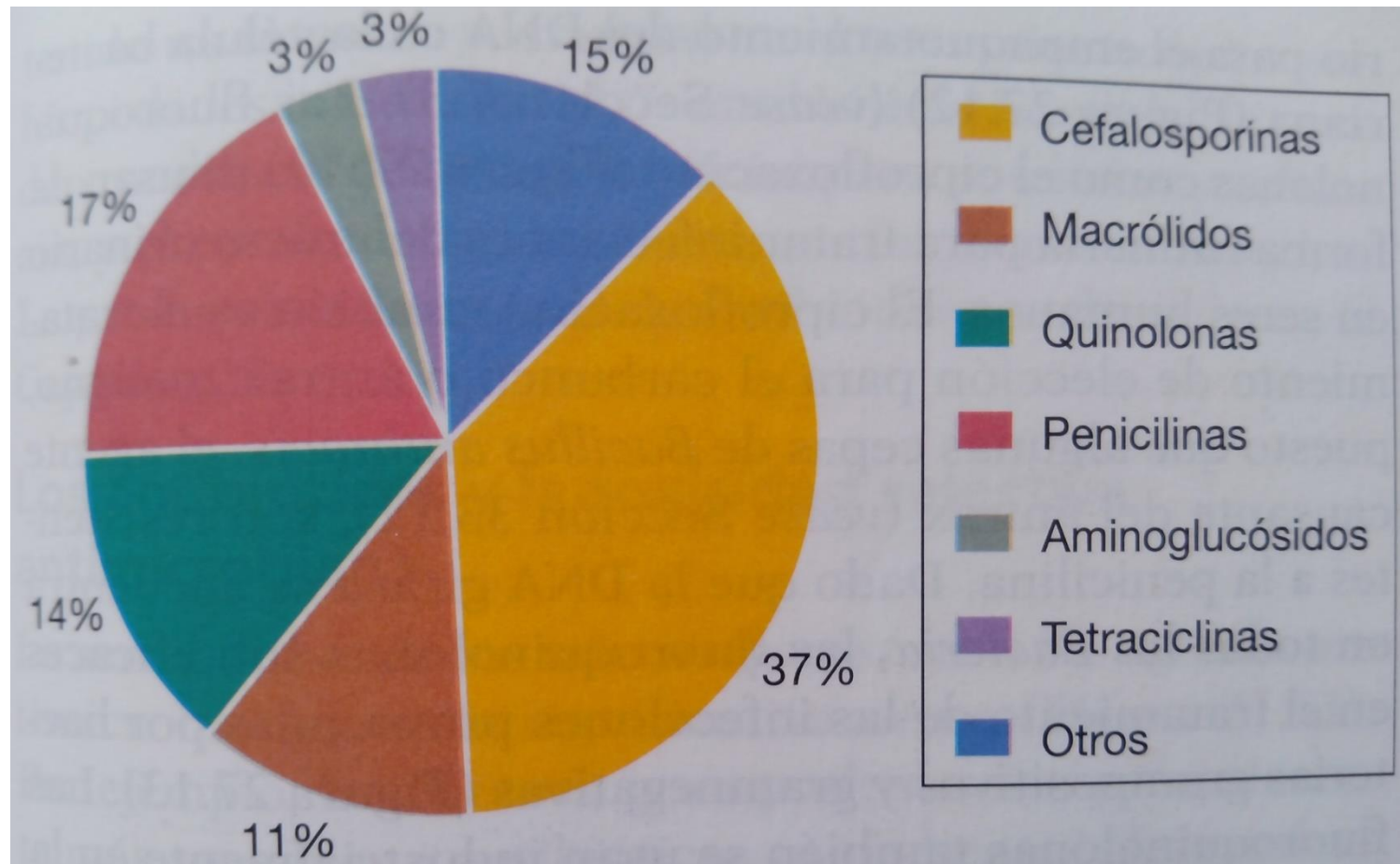
BÚSQUEDA DE NUEVOS ANTIBIÓTICOS

4. Terapia fágica: infectando bacteriófagos que interaccionen y penetren matando a la bacteria hospedadora.

Este método presenta ciertos inconvenientes. Algunos sólo son específicos de bacterias concretas, y su eficacia y efectividad en humanos está aún en debate.



PRODUCCIÓN Y CONSUMO



Cada año se producen más de 500 toneladas métricas de antibióticos

PRODUCCIÓN Y CONSUMO

Principales empresas farmacéuticas Año 2004

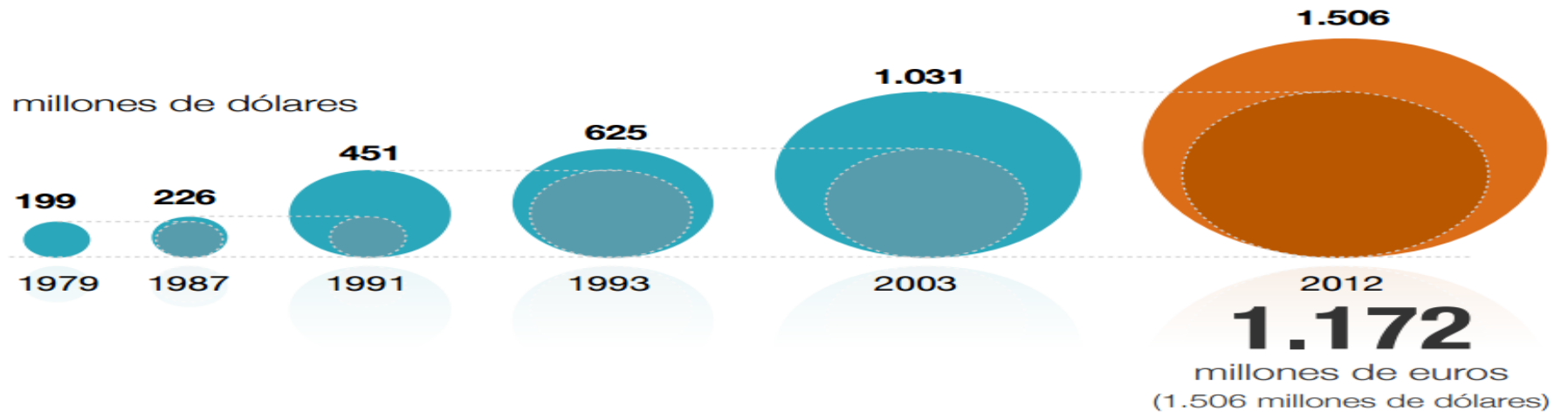


| Empresa | País | Ingresos <small>miles de millones \$</small> |
|-------------------|----------------|--|
| Pfizer | Estados Unidos | 46.1 |
| Glaxo Smith Kline | Reino Unido | 31.3 |
| Sanofi Aventis | Francia | 30.9 |
| Johnson&Johnson | Estados Unidos | 22.1 |
| Merck | Estados Unidos | 21.5 |
| Astra Zeneca | Reino Unido | 21.4 |
| Novartis | Suiza | 18.5 |
| Bristol-Myers | Estados Unidos | 15.4 |
| Wyeth | Estados Unidos | 13.9 |
| Abbott Labs | Estados Unidos | 13.7 |

PRODUCCIÓN Y CONSUMO

Inversión

En 2012 la investigación y desarrollo de un nuevo medicamento suponía un total de 1.172 millones de euros (1.506 millones de dólares), seis veces más que en 1979.



12-13
años

La industria farmacéutica tarda un total de entre 12 y 13 años en desarrollar y llevar al paciente un nuevo medicamento o vacuna.



7 millones
de horas

Para desarrollar un fármaco seguro, efectivo y de alto valor clínico se requieren siete millones de horas de trabajo.

farmaindustria

PREVENCIÓN

- Respetar el tiempo de tratamiento prescrito.
- Tomar antibióticos únicamente bajo prescripción médica.
- Mejora de la higiene, acceso a agua potable, control de las infecciones y vacunación para evitar el contagio y la propagación.
- Mejorar las medidas de prevención y el control de las infecciones.
- Prescribir los antibióticos adecuados para cada enfermedad.
- Reforzar el seguimiento de la resistencia y la capacidad de laboratorio.
- Fomentar la investigación y desarrollo de nuevos antibióticos

PUEDEN DEJAR DE CURAR

Antibiótico

500 mg

12 Cápsulas

Via oral

**Tómalos sólo cuando y como
te los recete tu médico.**

Usándolos bien hoy,
mañana nos protegerán.



REFERENCIAS

- On the Antibacterial Action of Cultures of a Penicillium, with Special Reference to their Use in the Isolation of B. influenzae. Alexander Fleming Br J Exp Pathol. 1929 Jun; 10(3): 226–236
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- Madigan M. T., Martinko J. M., Dunlap P. V., Clark D. P. Brock Biología de los microorganismos 12ª edición. Addison Wesley, 2009
- Microbiología 7ª Ed – Prescott, Harley, Klein
- Resistencia a los antimicrobianos. Nota descriptiva N°194. Mayo de 2013: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>
- Comunicado de prensa , © World Health Organization 2014: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/es/>
- <http://www.antibioticos.msc.es/general-resistencia.htm>
- Will we still have antibiotics tomorrow?, Dronda SB, Justribó MV. Arch Bronconeumol. 2007 Aug;43(8):450-9.
- <http://www.pmfarma.es>
- <http://www.farmaindustria.es>