

Αντοχή στις αμινογλυκοσίδες



ΣΠΥΡΟΣ ΠΟΥΡΝΑΡΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

Αμινογλυκοσίδες

Αντιμικροβιακό φάσμα

Κλινικές ενδείξεις

Αντιμικροβιακό φάσμα αμινογλυκοσιδών:

- Gram-αρνητικά βακτηρίδια:

Escherichia coli

Salmonella spp

Shigella spp.

συγκεντρώσεις)

Enterobacter spp.

Citrobacter spp.

Acinetobacter spp.

Proteus spp.

Klebsiella spp.

Serratia spp.

Morganella spp.

Pseudomonas spp.

- Gram-θετικοί κόκκοι:

Staphylococcus aureus

Στρεπτόκοκκοι

Εντερόκοκκοι (υψηλές

Αμινογλυκοσίδες - μέλη

Παλαιότερα παράγωγα- στενότερο αντιμικροβιακό φάσμα :

**στρεπτομυκίνη (φυματίωση, εντερόκοκκοι)
καναμυκίνη**

Νεότερα παράγωγα - ευρύτερο αντιμικροβιακό φάσμα :

gentamicin (σερράτια)

tobramycin (ψευδομονάδα)

amikacin

netilmicin

isepamicin (εντεροβακτηριακά)

dibekacin

arbekacin (Ιαπωνία, άριστο φάσμα, ανθεκτικοί *S. aureus*)

Αμινογλυκοσίδες:

Πλεονεκτήματα στην κλινική πράξη I

Ταχεία μικροβιοκτόνος δράση

- **δοσοεξαρτώμενη**
- **σχετικά ανεξάρτητη από το μικροβιακό φορτίο**

Μετα-αντιβιοτική επίδραση



Χορήγηση μία φορά την ημέρα

Αμινογλυκοσίδες:

Πλεονεκτήματα στην κλινική πράξη II

Συνεργική μικροβιοκτόνος δράση με αντιβιοτικά κατά του κυτταρικού τοιχώματος:

*** ενδοκαρδίτιδα από εντεροκόκκους**

Ως μονοθεραπεία στις ουρολοιμώξεις

Χρήσιμες για την εμπειρική θεραπεία :

*** εμπύρετων ουδετεροπενιών**

*** σοβαρών λοιμώξεων από αερόβια Gram-αρνητικά**

◆ Ακατάλληλες σε αποστήματα (αναερόβιες συνθήκες)

Αμινογλυκοσίδες:

Πλεονεκτήματα στην κλινική πράξη III

- Στρεπτομυκίνη:

- ◆ Πολύ δραστική έναντι:

Mycobacterium tuberculosis, Yersinia pestis, Francisella tularensis, Brucella spp.

- ◆ Δραστική επί αντοχής στις νεότερες αμινογλυκοσίδες

Αμινογλυκοσίδες:

Άλλα πλεονεκτήματα, μειονεκτήματα

- Σχετικά χαμηλό κόστος
- Χημική σταθερότητα
- Απουσία αλλεργιών
- Μειονεκτήματα :
 - ◆ Νεφροτοξικότητα, ωτοτοξικότητα
 - ◆ Μη απορρόφησή σε λήψη per os
(χορήγηση per os για τοπική δράση στο έντερο -
απαλλαγή από
φορεία ανθεκτικών μικροβίων)

Πρόσληψη από το μικροβιακό κύτταρο

Πολυκατιονικές ουσίες, συνδέονται με αρνητικά φορτισμένες θέσεις στην εξωτερική μεμβράνη και το RNA

Τρία στάδια εισόδου στο μικροβιακό κύτταρο:

- 1. Ηλεκτροστατική σύνδεση με αρνητικά φορτισμένες θέσεις**
- 2. 1^η φάση εισόδου που απαιτεί ενεργειακό διαμεμβρανικό δυναμικό (ATP) → είσοδος μέρους του φαρμάκου → παραγωγή παθολογικών πρωτεϊνών → διαταραχή της εξωτερικής μεμβράνης →**
- 3. 2^η φάση εισόδου που απαιτεί ενέργεια → είσοδος μεγάλου μέρους του φαρμάκου → θάνατος του μικροβίου**

Αμινογλυκοσίδες: Μηχανισμός δράσης

1. Συνδέονται με την 30 S υπομονάδα του 16S rRNA και αναστέλλουν την πρωτεϊνοσύνθεση
2. Διαταράσσουν τη δομή της κυτταρικής μεμβράνης (διασπούν τις γέφυρες Mg^{++} και Ca^{++} μεταξύ των λιποπολυσακχαριτών)

Αμινογλυκοσίδες: Μηχανισμοί αντοχής

1. Ελαττωμένη πρόσληψη της αμινογλυκοσίδης
2. Ενεργή εξώθηση (efflux) της αμινογλυκοσίδης
3. Τροποποίηση του ριβοσώματος-στόχου
4. Ενζυμική τροποποίηση της αμινογλυκοσίδης

1. Ελαττωμένη πρόσληψη και συσσώρευση της αμινογλυκοσίδης

Ανάγκη για κυτταρική αναπνοή και παραγωγή ενέργειας



Ενδογενής αντοχή των αναεροβίων και των εντεροκόκκων στις αμινογλυκοσίδες

S. aureus → χρωμοσωμικές μεταλλάξεις → ελαττωμένο μεμβρανικό ηλεκτρικό δυναμικό → ελαττωμένοι ρυθμοί ανάπτυξης → αντοχή στις αμινογλυκοσίδες

2. Ενεργή εξώθηση (efflux) της αμινογλυκοσίδης

Ποικίλα συστήματα multidrug efflux προκαλούν τη χαμηλού επιπέδου, φυσική αντοχή στις αμινογλυκοσίδες των Gram-αρνητικών, όπως:

Pseudomonas aeruginosa

Acinetobacter baumannii

Escherichia coli

Burkholderia pseudomallei

3. Τροποποίηση του ριβοσώματος-στόχου

Μεταλλάξεις στις ριβοσωμικές πρωτεΐνες → αντοχή στη στρεπτομυκίνη (*Mycobacterium tuberculosis*)

Μεταλλάξεις στο 16S rRNA → αντοχή στη σπεκτινομυκίνη

Ενζυμική μεθυλίωση του rRNA → υψηλού επιπέδου αντοχή, όχι στα κλινικά σημαντικά βακτήρια

4. Ενζυμική τροποποίηση της αμινογλυκοσίδης

Ο κυριότερος μηχανισμός αντοχής, τόσο σε Gram-θετικά όσο και σε Gram-αρνητικά βακτήρια.

Οι τροποποιημένες αμινογλυκοσίδες

- i) δεσμεύονται πλημμελώς στο ριβόσωμα
- ii) δε διεγείρουν τη φάση II που απαιτεί ενέργεια και
- iii) επιτρέπουν την επιβίωση του βακτηρίου παρά την παρουσία του φαρμάκου

Ενζυμική τροποποίηση της αμινογλυκοσίδης

Τρεις οικογένειες ενζύμων τροποποιούν τις αμινογλυκοσίδες στο κυτταρόπλασμα:

1. αμινογλυκοσιδο-φωσφοτρανσφεράσες (APHs)
2. αμινογλυκοσιδο-ακετυλτρανσφεράσες (AACs)
3. αμινογλυκοσιδο-νουκλεοτιδυλτρανσφεράσες (ANTs)

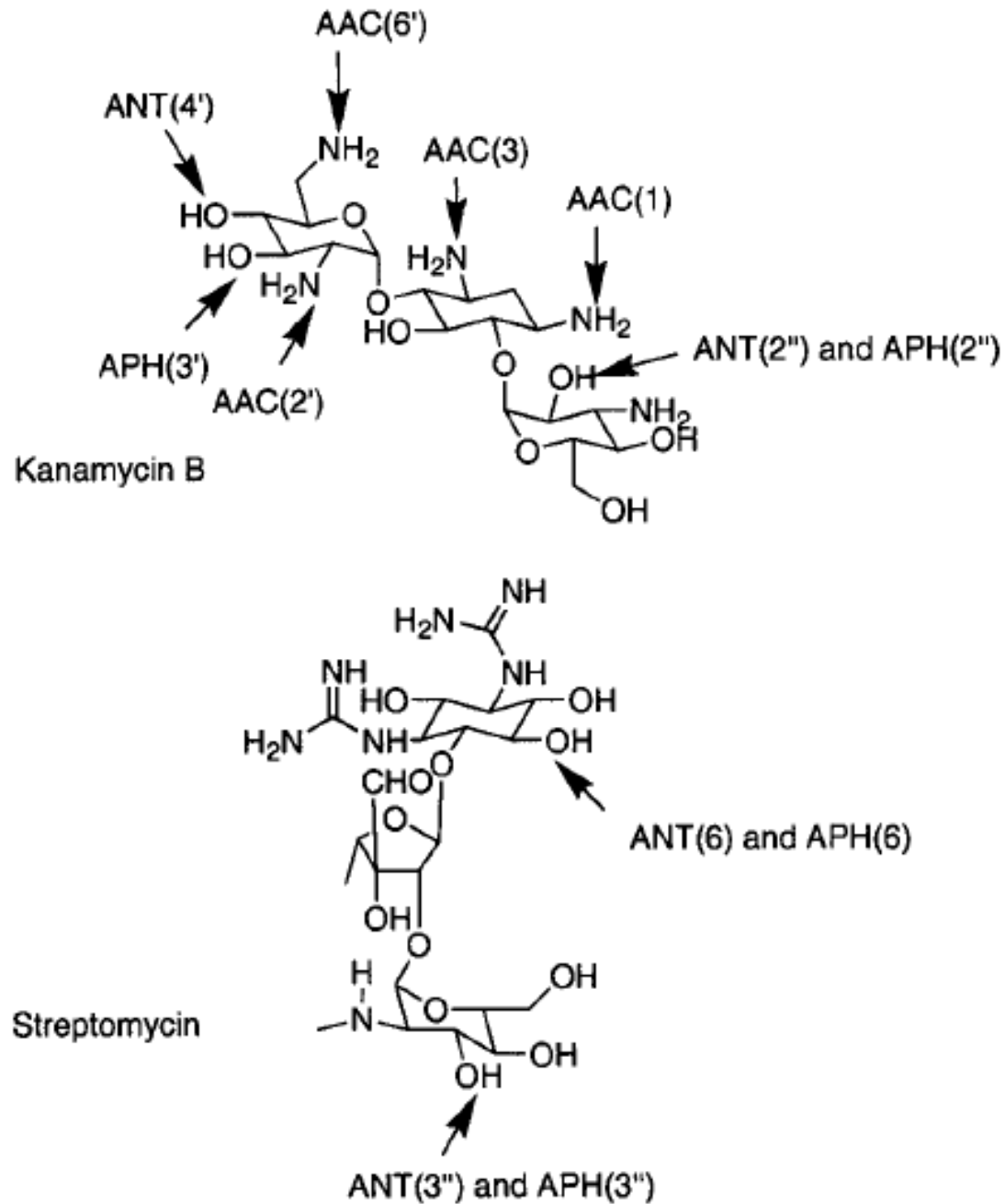


FIG. 1. Sites of modification by aminoglycoside-modifying enzymes.

Αμινογλυκοσιδο-τροποποιητικά ένζυμα

- Το επίπεδο της αντοχής από κάθε ένζυμο ποικίλει ανάλογα με το μικρόβιο και εξαρτάται από :
 - i) την ποσότητα του ενζύμου
 - ii) την καταλυτική του δραστηριότητα και
 - iii) τον τύπο της αμινογλυκοσίδης

Γενικά, μόνο οι φωσφοτρανσφεράσες προκαλούν υψηλή αντοχή

Αμινογλυκοσιδο-τροποποιητικά ένζυμα – Ονοματολογία των ενζύμων

- Τα αρχικά αντιστοιχούν στην ενζυμική οικογένεια
- Η θέση της τροποποίησης σε παρένθεση
- Ο τύπος του ενζύμου και ο ειδικός φαινότυπος αντοχής σε ρωμαϊκούς αριθμούς
- Διαφορετικό μικρό γράμμα με ίδιο ρωμαϊκό αριθμό, ίδιος φαινότυπος αντοχής από διαφορετικό γονίδιο
[π.χ. AAC(6)-I: AAC(6)-Ia, AAC(6)-Ib, AAC(6)-Ic, ακετυλτρανσφεράσες που ακετυλιώνουν στη θέση 6, προκαλούν ίδιο φαινότυπο (αντοχή σε tobramycin, amikacin, netilmicin, kanamycin) αλλά κωδικοποιούνται από διαφορετικά γονίδια]

Αμινογλυκοσιδο-φωσφοτρανσφεράσες (APHs)

- Φωσφορυλιώνουν, με χρήση ATP, ειδικές υδροξυλομάδες σε όλες τις αμινογλυκοσίδες
- Επτά ενζυμικές κλάσεις:
APH(3), APH(2), APH(3), APH(4), APH(7), APH(6), and APH(9)

Συχνότερα τα ένζυμα τύπου APH(3)

Ένζυμα τύπου APH:

- APH(3')-I, αντοχή σε:
kanamycin, neomycin

Βρέθηκε σε πολλά gram-αρνητικά βακτήρια

- *Klebsiella pneumoniae*,
- *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *Salmonella enterica*, *Proteus vulgaris*, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter jejuni*

Ένζυμα τύπου APH:

- APH(3')-III, αντοχή σε:-
kanamycin, neomycin, amikacin (χαμηλή αντοχή-απώλεια συνεργικής δράσης αμικασίνης)

Συχνό, μαζί με άλλα γονίδια αντοχής, στους gram-θετικούς κόκκους :

- *Staphylococcus aureus*
- *Enterococcus faecalis*

Ένζυμα τύπου APH:

- APH(2''), συχνό σε *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus spp*, μαζί με AAC(6') ως διλειτουργικό (bi-functional) ένζυμο:
αντοχή σε όλες τις κλινικά σημαντικές αμινογλυκοσίδες, πλην της στρεπτομυκίνης

TABLE 1. Substrate profiles of aminoglycoside phosphotransferases

Phosphotransferase	Substrate(s)
APH(3')	
I	Kanamycin, neomycin, lividomycin, paromomycin, ribostamycin
II	Kanamycin, neomycin, butirosin, paromomycin, ribostamycin
III	Kanamycin, neomycin, lividomycin, paromomycin, ribostamycin, butirosin, amikacin, isepamicin
IV	Kanamycin, neomycin, butirosin, paromomycin, ribostamycin
V	Neomycin, paromomycin, ribostamycin
VI	Kanamycin, neomycin, paromomycin, ribostamycin, butirosin, amikacin, isepamicin
VII	Kanamycin, neomycin
APH(2'')	
Ia (bifunctional enzyme)	Kanamycin, gentamicin, tobramycin, sisomicin, dibekacin
Ib, Id	Kanamycin, gentamicin, tobramycin, netilmicin, dibekacin
Ic	Kanamycin, gentamicin, tobramycin
APH(3'')-Ia, -Ib	Streptomycin
APH(7'')-Ia	Hygromycin
APH(4)-Ia, -Ib	Hygromycin
APH(6)-Ia, -Ib, -Ic, -Id	Streptomycin
APH(9)-Ia, -Ib	Spectinomycin

Αμινογλυκοσιδο-ακετυλτρανσφεράσες (AACs)

- Ακετυλιώνουν τις αμινογλυκοσίδες , με χρήση ακετυλοσυνενζύμου A
 - Τέσσερις ενζυμικές κλάσεις:
AAC(1), AAC(3), AAC(2'), AAC(6)
- Ένζυμα ευρέος φάσματος, τροποποιούν τις περισσότερες κλινικά σημαντικές αμινογλυκοσίδες

TABLE 2. Substrate profiles of aminoglycoside acetyltransferases

Acetyltransferase	Substrate(s)
AAC(6') I (at least 24 different enzymes) II	Tobramycin, amikacin, netilmicin, dibekacin, sisomicin, kanamycin, isepamicin Tobramycin, gentamicin, netilmicin, dibekacin, sisomicin, kanamycin
AAC(3) Ia, Ib IIa, IIb, IIc IIIa, IIIb, IIIc IV VII	Gentamicin, sisomicin, fortimicin Tobramycin, gentamicin, netilmicin, dibekacin, sisomicin Tobramycin, gentamicin, dibekacin, sisomicin, kanamycin, neomycin, paromomycin, lividomycin Tobramycin, gentamicin, netilmicin, dibekacin, sisomicin, apramycin Gentamicin
AAC(1)	Paromomycin, lividomycin, ribostamycin, apramycin
AAC(2')-Ia	Tobramycin, gentamicin, netilmicin, dibekacin, neomycin

Αμινογλυκοσιδο-νουκλεοτιδυλ- (αδενυλ)-τρανσφεράσες (ANTs)

- Τροποποιούν τις αμινογλυκοσίδες, με μεταφορά AMP (από το ATP) σε υδροξυλικές ομάδες
- Πέντε ενζυμικές κλάσεις:
ANT(2''), ANT(3''), ANT(4'), ANT(6), ANT(9)

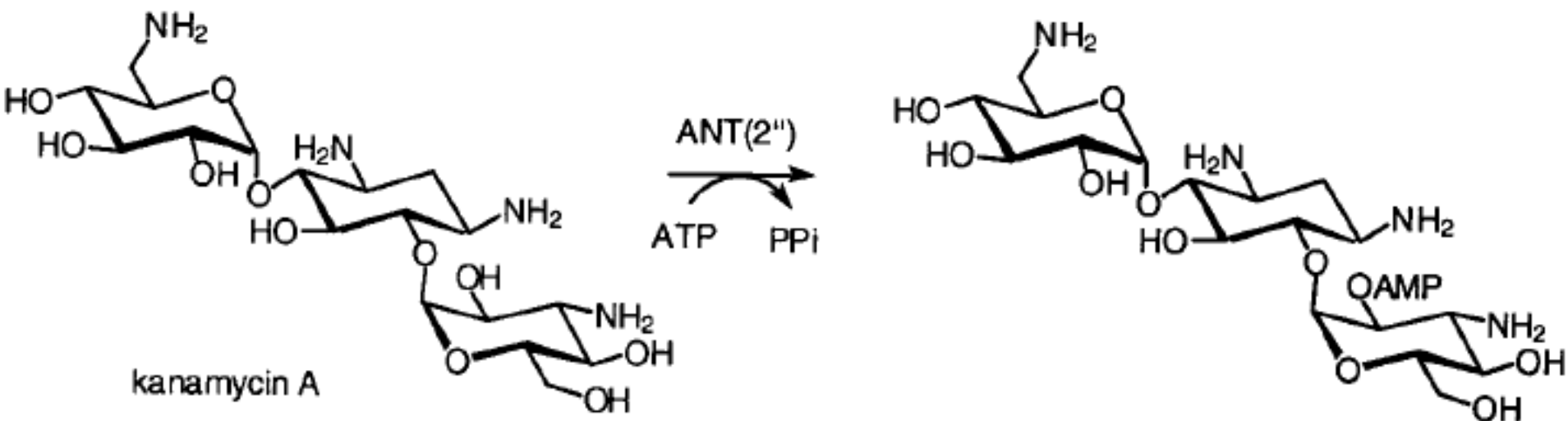


FIG. 4. Adenylation of kanamycin A by ANT(2'').

TABLE 3. Substrate profiles of aminoglycoside nucleotidyltransferases

Nucleotidyltransferase	Substrate(s)
ANT(2'')-I	Tobramycin, gentamicin, dibekacin, sisomicin, kanamycin
ANT(3')-I	Streptomycin, spectinomycin
ANT(4')-Ia	Tobramycin, amikacin, dibekacin, kanamycin, isepamicin
ANT(4')-IIa	Tobramycin, amikacin, kanamycin, isepamicin
ANT(6')-I	Streptomycin
ANT(9)-I	Spectinomycin

Επιδημιολογία της αντοχής στις Αμινογλυκοσίδες

Η αντοχή στις αμινογλυκοσίδες και η διασπορά της, οφείλεται κυρίως σε ενζυμικές τροποποιήσεις

[εξαιρέσεις: *Pseudomonas*-πορίνες, *Mycobacterium*-μεταλλάξεις, *Enterococci*–ενεργειακό δυναμικό]

Επιδημιολογία της αντοχής στις Αμινογλυκοσιδές στον Ελληνικό χώρο (*Staphylococcus aureus*)

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Feb. 2001, p. 779–781
0095-1137/01/\$04.00+0 DOI: 10.1128/JCM.39.2.779–781.2001
Copyright © 2001, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 39, No. 2

Nosocomial Spread of an Unusual Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clone That Is Sensitive to All Non-β-Lactam Antibiotics, Including Tobramycin

SPYROS POURNARAS,^{1,2} ARIS SLAVAKIS,¹ ALEKA POLYZOU,¹ DANAI SOFIANOU,¹
ANTONIOS N. MANIATIS,² AND ATHANASSIOS TSAKRIS^{3*}

“Tobramycin in particular is unlikely to be effective against MRSA because the gene *ant(4)-I*, encoding tobramycin resistance is present within plasmid pUB110, which is considered a stable part of the *mec* DNA”

Επιδημιολογία της αντοχής στις Αμινογλυκοσιδές στον Ελληνικό χώρο (*Staphylococcus aureus*)

- Polyzou A, Slavakis A, Pournaras S, Maniatis AN, Sofianou D, Tsakris A.

Predominance of a methicillin-resistant Staphylococcus aureus clone susceptible to erythromycin and several other non- β -lactam antibiotics in a Greek hospital.

***Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2001; 48: 231-234**

- “PCR was negative for the gene *ant(4)-I* but positive for the bi-functional gene *aac(6')-aph(2'')* in all the aminoglycoside resistant isolates”

Επιδημιολογία της αντοχής στις Αμινογλυκοσίδες στον Ελληνικό χώρο (*Enterococcus spp.*)

*Pournaras S, Tsakris A, Palepou M, Papa A, Douboyas J, Antoniadis A,
Woodford N.*

*Pheromone responses and high-level aminoglycoside resistance
of conjugative plasmids of *Enterococcus faecalis* from Greece.*

Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2000; 46:1013-1016.

High-level aminoglycoside-resistant *Enterococcus faecalis*
clinical isolates co-transferred pheromone response genes
in conjugative plasmids, together with the **bi-functional**
gene *aac(6')-aph(2'')*

Επιδημιολογία της αντοχής στις Αμινογλυκοσιδές διεθνώς (*Enterococcus* *spp.*)

Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2005) 56, 827–835

doi:10.1093/jac/dki347

Advance Access publication 26 September 2005

JAC

Molecular epidemiology of high-level aminoglycoside-resistant enterococci isolated from patients in a university hospital in southern Italy

Raffaele Zarrilli^{1*}, Marie-Francoise Tripodi², Anna Di Popolo¹, Rosaria Fortunato², Maria Bagattini¹, Margherita Crispino¹, Anna Florio³, Maria Triassi¹ and Riccardo Utili⁴

Results: In our strain collection, 44% of *E. faecalis* and 52% of *E. faecium* were high-level-resistant to gentamicin. Fifty-two PFGE profiles were identified for *E. faecalis* and 15 for *E. faecium*. Although the

genes responsible for resistance to amikacin were also isolated in *E. faecalis* and *E. faecium*. High-level resistance to gentamicin, along with the *aac(6′)-Ie-aph(2′)-Ia* gene, was transferred at a frequency of about 10^{-5} to 10^{-8} per recipient cell in 14 of 17 *E. faecalis* and 3 of 4 *E. faecium* different genotypes.

Conclusions: The spread of the *aac(6′)-Ie-aph(2′)-Ia* gene was responsible for high-level resistance to gentamicin and amikacin among enterococci isolated from patients in our geographical area.

Επιδημιολογία της αντοχής σε Αμινογλυκοσιδές-Γλυκοπεπτιδία διεθνώς (*Enterococcus spp.*)

- **Ρόλος των πλασμιδίων**

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Sept. 2002, p. 3326–3333
0095-1137/02/\$04.00+0 DOI: 10.1128/JCM.40.9.3326–3333.2002
Copyright © 2002, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 40, No. 9

Possible Connection between a Widely Disseminated Conjugative Gentamicin Resistance (pMG1-Like) Plasmid and the Emergence of Vancomycin Resistance in *Enterococcus faecium*

Haruyoshi Tomita,¹ Carl Pierson,² Suk Kyung Lim,^{1†} Don B. Clewell,^{3,4}
and Yasuyoshi Ike^{1,5*}

Επιδημιολογία της αντοχής στις Αμινογλυκοσίδες

Η αντοχή στις επιμέρους αμινογλυκοσίδες ανά περιοχή ποικίλει και εξαρτάται από την πολιτική χρήσης των αντιβιοτικών

% Ευαισθησία ανά αντιβιοτικό των μικροβίων που απομονώθηκαν από 1/1/2007 έως 17/6/2008 σε όλες τις Κλινικές του ΙΠΓΝΑ (πλην ΜΕΘ)

n (%) * (4.353)	573 (13.2)	317 (7.3)	1547 (35.5)	374 (8.6)	105 (2.4)	240 (5.5)	732 (16.8)	335 (7.7)	130 (3.0)
BACTERIAL SPECIES	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
ANTIBIOTIKO									
Amikacin	73	14	99	83	91	96			
Amoxicillin/Clavulanate			79	60	0	57			
Ampicillin			52	0	0	33		100	
Ampicillin/Sulbactam		53						100	
Aztreonam	55	0	92	68	61	99			
Cefepime	72	9	92	64	67	98			
Cefotaxime			92	61	57	70			
Cefoxitin			88	60	0	62			
Ceftazidime	68	2	92	61	54	63			
Ceftriaxone			92	61	57	66			
Cefuroxime sodium			85	58	15	62			
Ciprofloxacin	64	3	84	57	78	51	83	54	3
Clindamycine							70		
Colistin	98	99	100	94	99				
Erythromycin							67	17	
Gentamicin	70	22	93	85	78	97	89	46	46
Imipenem	72	19	100	87	96	96		99	
Levofloxacin		7	100				84	55	
Linezolid							100	99	93
Meropenem	74	27	100	92	97	100			
Netilmicin	65		93	61	68	63			
Nitrofurantoin			95	14	36	0	99	98	
Norfloxacin	69		84	60	86	59	82	42	
Oxacillin							48		
Piperacillin	76	2	72	40	58	50			
Piperacillin/Tazobactam	79	8	91	62	59	95			
Quinupristin/Dalfopristin							100		88
Rifampin							88	72	16
Teicoplanin							100	96	62
Tetracycline		4	66	74	74		56	23	66
Ticarcillin	59	0	59	1	53	41			
Ticarcillin/Clavulanate	62	0	82	58	54	72			
Tobramycin	71	18	91	57	67	65	87		
Trim/Sulfamethoxazole		10	76	56	72	41	100		
Vancomycin							100	96	62

*% των μικροβιακών αυτών παθογόνων

% Ευαισθησία ανά αντιβιοτικό των μικροβίων που απομονώθηκαν από 1/1/2008 έως 31/8/2008 στη ΜΕΘ του ΠΙΠΤΝΑ

<i>n (%)</i> * = 187	46 (24.6)	70 (37.4)	31 (16.6)	9 (4.8)	18 (9.6)	13 (6.9)
BACTERIAL SPECIES	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
ANTIBIOTIKO						
Amikacin	52	3	43			
Amoxicillin/Clavulanate			7			
Ampicillin			0	100	0	
Ampicillin/Sulbactam		34		100	0	
Aztreonam	42	0	23			
Cefamandole						
Cefepime	46	1	7			
Cefotaxime			7			
Cefoxitin			7			
Ceftazidime	37	0	7			
Ceftriaxone		0	7			
Ciprofloxacin	41	0	3	22	0	69
Clindamycine						54
Colistin	93	97	69			
Erythromycin				0		54
Gentamicin	70	47	77	11	22	77
Imipenem	28	10	43	100		
Linezolid				78	89	100
Meropenem	33	13	47			
Netilmicin	50		7			
Norfloxacin	47		3	11	0	69
Oxacillin						69
Penicillin G						
Piperacillin	59	0	3			
Piperacillin/Tazobactam	61	0	7			
Quinupristin/Dalfopristin					94	100
Rifampin				88	7	69
Teicoplanin				89	39	100
Tetracycline		0	100	56	56	77
Tigecycline		4	100			
Trimethoprim/Sulfamethoxazole			7			100
Vancomycin				89	39	100

*% των μικροβιακών αυτών παθογόνων

% Ευαισθησία ανά αντιβιοτικό των μικροβίων που απομονώθηκαν από 1/1/2008 έως 31/8/2008 στην Ορθοπεδική Κλινική του ΠΙΠΝΛ

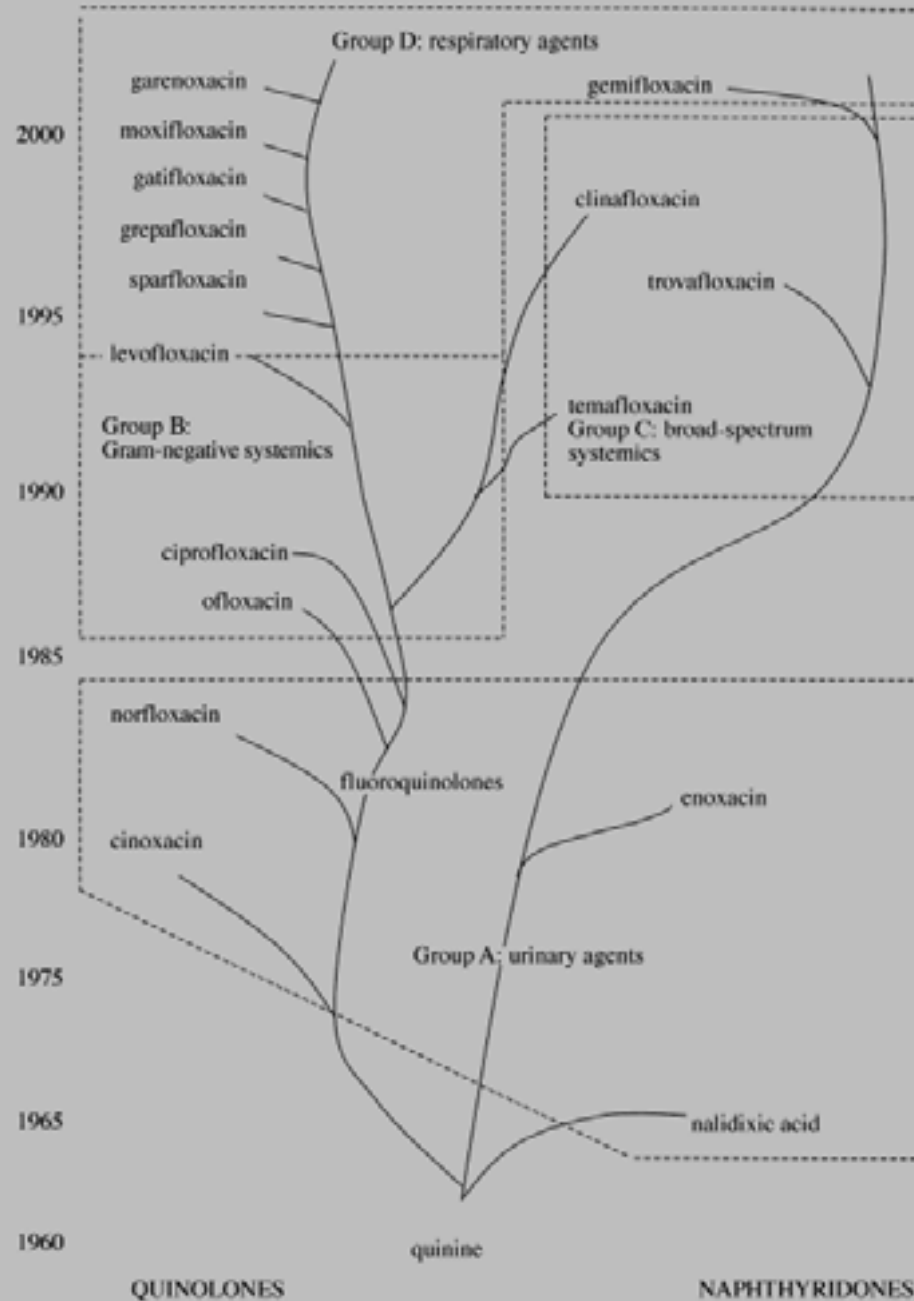
n (%) * = 131 *	17 (13.0)	22 (16.8)	8 (6.1)	57 (43.5)	17 (13.0)
BACTERIAL SPECIES	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (2007)	<i>Enterococcus faecalis</i>
ANTIBIOTIKO					
Amikacin	71	100	88		
Amoxicillin/Clavulanate		82	75		
Ampicillin		45	0		100
Ampicillin/Sulbactam					100
Aztreonam	59	95	88		
Cefepime	76	95	75		
Cefotaxime		95	75		
Cefoxitin		95	75		
Ceftazidime	82	95	75		
Ceftriaxone		95	75		
Ciprofloxacin	65	91	62	91 (84)	65
Clindamycine				82	
Colistin	100	100	100		
Erythromycin				79	
Gentamicin	71	95	88	96 (83)	59
Imipenem	82	100	100		100
Linezolid				100	100
Meropenem	82	100	100		
Netilmicin	71	100	75		
Norfloxacin	50	91	62	91	50
Oxacillin				54 (43)	
Piperacillin	82	77	50		
Piperacillin/Tazobactam	88	95	75		
Quinupristin/Dalfopristin				100	
Rifampin				95	62
Teicoplanin				100	94
Tetracycline		64	62	58 (49)	24
Trim/Sulfamethoxazole		64	75	100	
Vancomycin				100	94

*% των μικροβιακών αυτών παθογόνων

Αντοχή στις κινολόνες

ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ

Πορεία
ανάπτυξης των
κινολονών



Ταξινόμηση των κινολονών

1^η γενιά Χημειοθεραπευτικά ουροποιητικού	2^η γενιά Συστηματικές φθοριοκινολόνες	3^η γενιά Ευρέως φάσματος κινολόνες	4^η γενιά Αναπνευστικές κινολόνες
Ναλιδιξικό οξύ Πιπεμιδικό οξύ Οξολινικό οξύ Σινοξασίνη Πιρομιδικό	Νορφλοξασίνη Πεφλοξασίνη Οφλοξασίνη Σιπροφλοξασίνη Ενοξασίνη Ναδιφλοξασίνη	Λεβοφλοξασίνη Γκατιφλοξασίνη Σπαρφλοξασίνη	Τροβαφλοξασίνη Μοξιφλοξασίνη Προυλιφλοξασίνη

Κινολόνες: Καλή Φαρμακοκινητική και Φαρμακοδυναμική

Καλή απορρόφηση με χορήγηση per os (επίπεδα όμοια με i.v.)

Καλή βιοδιαθεσιμότητα (όχι η νορφλοξασίνη)

Μεταβολισμός στο ήπαρ - αποβολή από τα ούρα

Βακτηριοκτόνος δράση σε συγκέντρωση περίπου 30 φορές την MIC

Ικανότητα συγκέντρωσης στα πολυμορφοπύρρηνα και μακροφάγα

Μετα-αντιβιοτική επίδραση, όπως και οι αμινογλυκοσίδες.

ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ: ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ

Μικροβιοκτόνα αντιβιοτικά: αναστολή της σύνθεσης του μικροβιακού DNA, ταχύτατος θάνατος του κυττάρου

Στόχοι των κινολονών: DNA γυράση και τοποϊσομεράση IV

Οι φθοριοκινολόνες εισέρχονται στο κύτταρο με παθητική διάχυση, διαμέσου των πορινών της εξωτερικής μεμβράνης

Η δέσμευση της κινολόνης στο σύμπλοκο DNA-DNA γυράση ή DNA-DNA τοποϊσομεράση IV εμποδίζει τη συγκόλληση των ελίκων του DNA και την αναδίπλωση και υπερελίκωσή του

Προκαλείται αναστολή της διαιρέσεως του κυττάρου, σχηματίζονται νηματοειδείς μορφές, ρήξη του DNA, κυτταρικός θάνατος

ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ-ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ

- ❖ Είναι μικροβιοκτόνα αντιβιοτικά ευρέως φάσματος
- ❖ Οι κινολόνες είναι τα μόνα αντιβιοτικά που αναστέλλουν άμεσα τη σύνθεση του μικροβιακού DNA, μέσω σύνδεσης με το σύμπλοκο τοποϊσομερασών (γυράση και τοποϊσομεράση IV) και DNA.
- ❖ Το σύμπλοκο κινολόνης-τοποϊσομερασών-DNA μπλοκάρει την αντιγραφή του DNA.
- ❖ Η κυτταροτοξική δράση των κινολονών προκαλείται μέσω 2 σταδίων:
 - α. σταθεροποίησης του συμπλόκου κινολόνης-τοποϊσομεράσης-DNA
 - β. δημιουργίας τομών στη διπλή αλυσίδα του DNA λόγω μετουσίωσης των τοποϊσομερασών

Κινολόνες - Χρήση στην κλινική πράξη I:

- Ναλιδιξικό οξύ, κυρίως σε ουρολοιμώξεις από Gram αρνητικά

- Αρχικές φθοριοκινολόνες (σιπροφλοξασίνη - οφλοξασίνη):

- ◆ γρήγορη απορρόφηση

- ◆ Gram αρνητικά και άτυπα (χλαμύδια, λεγιονέλλα,

μυκόπλασμα)

- ◆ στενό φάσμα για Gram θετικά

- ◆ καμία δραστικότητα στα αναερόβια

- Νεότερες φθοριοκινολόνες (λεβοφλοξασίνη, τροβαφλοξασίνη):
Gram αρνητικά, άτυπα, αλλά και Gram θετικά

- Κινολόνες 4ης γενιάς (μοξιφλοξασίνη):

- ◆ Gram θετικά, αρνητικά, άτυπα, αναερόβια

- Καλή απορρόφηση από το στόμα και διαπερατότητα στους ιστούς

- Χαμηλό ενδεχόμενο παρενεργειών

Κινολόνες - Χρήση στην κλινική πράξη II:

- Λοιμώξεις ουροποιητικού
- Βακτηριακή προστατίτιδα
- Βακτηριακή διάρροια (όχι από *Clostridium difficile*)
- Γονόρροια, μαλακό έλκος, πνευμονία, λοιμώξεις δέρματος και μαλακών μορίων, εντερικές λοιμώξεις, οστεομυελίτιδα
- Προφύλαξη σε ουδετεροπενικούς ασθενείς, σε επεμβάσεις ή και για παρεμπόδιση βακτηριακής περιτονίτιδας σε κίρρωτικούς

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΙΣ ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ

- ❖ Μεταλλάξεις στα γονίδια *gyrA*, *gyrB*, *parC* και *parE* που κωδικοποιούν τα βακτηριακά ένζυμα DNA γυράση και DNA τοποϊσομεράση IV (συνήθης μηχανισμός)
- ❖ Πλασμιδιακά γονίδια αντοχής *qnr* [κωδικοποιούν την πρωτεΐνη *qnr*, η οποία προστατεύει τη DNA γυράση από τη δράση των κινολονών]
- ❖ Απορρύθμιση αντλιών ενεργητικής εκροής (efflux pumps) (κυρίως στις ψευδομονάδες, σχετικά σπάνια στις *E. coli*)
- ❖ Μειωμένη διαπερατότητα εξωτερικής μεμβράνης του βακτηριακού κυττάρου (σπάνια)

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΟΧΗΣ I

Μεταλλάξεις στα γονίδια της DNA γυράσης και τοποϊσομεράσης IV [Κύριος μηχανισμός]

Γονίδιο	Θέση κωδικωνίου	Αμινοξική υποκατάσταση
<i>gyrA</i>	Ala51	Val ^a
	Ala67	Ser ^a
	Gly81	Cys ^a , Asp
	Asp82	Gly
	Ser83	Leu, Trp, Ala, Val
	Ala84	Pro, Val
	Asp87	Asn, Gly, Tyr, His, Val
	Gln106	His ^a , Arg
	Ala196	Glu
<i>gyrB</i>	Asp426	Asn ^a
	Lys447	Glu

Μεταλλάξεις στα γονίδια *gyrA* - *gyrB* και *parC* – *parE* σε στελέχη ανθεκτικά στις κινολόνες

Γονίδιο	Θέση κωδικωνίου	Αμινοξική υποκατάσταση
<i>parC</i>	Ala56	Thr
	Ser57	Thr
	Gly78	Asp, Lys
	Ser80	Arg, Ile
	Ser83	Leu ^a
	Glu84	Gly, Lys, Val
	Ala108	Val
<i>parE</i>	Leu416	Phe
	Ile444	Phe
	Leu445	His
	Ser458	Thr
	Glu460	Asp
	Ile464	Phe
	Asp475	Glu
	Ile529	Leu

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΙΣ ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ (I)

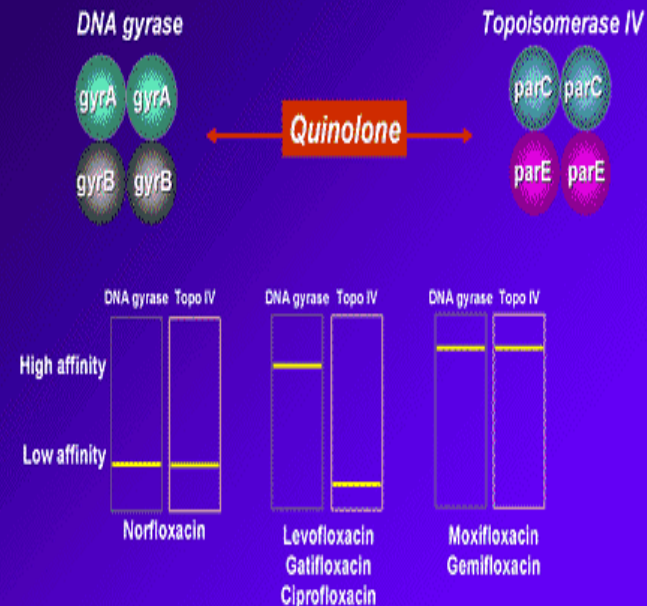
1. ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ ΣΤΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΙΣ ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ

❖ Οι μεταλλάξεις των γονιδίων που ευθύνονται για την αντοχή εντοπίζονται στην περιοχή καθορισμού αντοχής στις κινολόνες (QRDR)

❖ Οι μεταλλάξεις που επιφέρουν αντοχή στην *E. coli* συμβαίνουν πρωταρχικά στο γονίδιο *gyrA*

❖ Στην *E. coli*, χρειάζονται τουλάχιστον δύο σημειακές μεταλλάξεις στην περιοχή QRDR του γονιδίου *gyrA* για να προκληθεί αντοχή στις φθοριοκινολόνες.

Quinolones and Bacterial DNA Targets



ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΟΧΗΣ II

Μειωμένη συσσώρευση του αντιβιοτικού

α. Μειωμένη διαπερατότητα της μεμβράνης:

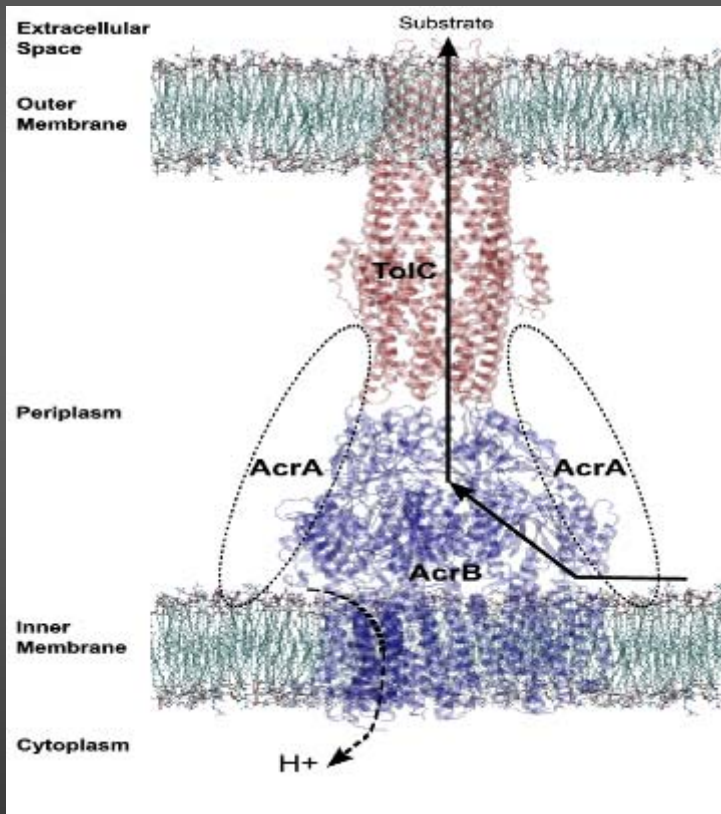
- ◆ Ελάττωση των πορινών, μόνο στα Gram-αρνητικά
- ◆ Στην *E. coli* υπάρχουν τρία είδη πορινών: OmpA, OmpC και OmpF
- ◆ Αντοχή χαμηλού επιπέδου, διασταυρούμενη με άλλα αντιβιοτικά

β. Υπερλειτουργία των συστημάτων αντλιών εκροής:

- ◆ Κυρίως στα Gram-αρνητικά βακτηρίδια, αντλίες τύπου RND (AcrAB)
- ◆ Οι αντλίες δε μπορούν μόνες τους να προσδώσουν αντοχή στις κινολόνες χωρίς να συνυπάρχουν χρωμοσωμικές μεταλλάξεις, αλλά προσδίδουν επιπρόσθετη αντοχή σε ένα ανθεκτικό στέλεχος με αύξηση της MIC του

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΙΣ ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ (II)

Απορρύθμιση αντλιών ενεργητικής εκροής
(efflux pumps)



Υπερέκφραση αντλιών

Poole K *et al.* Antimicrob Agents Chemother
2000; 44: 2233-2241

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΙΣ ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ (III) Πλασμιδιακά γονίδια αντοχής *qnr*

- ❖ Πρώτη αναφορά πλασμιδιακής αντοχής στις κινολόνες γίνεται το 1998 (Lancet 351: 797: 1998)
- ❖ Περιγραφή του γονιδίου *qnr* το 2002 [Proc Natl Acad Sci 99: 5638: 2002]
- ❖ Το γονίδιο *qnr* κωδικοποιεί την πρωτεΐνη QNR.
- ❖ Η QNR δεσμεύεται και στα δύο υποτμήματα της γυράσης στα πρώιμα στάδια της αλληλεπίδρασης μεταξύ γυράσης και DNA. Η DNA γυράση προστατεύεται άμεσα από την QNR.

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΙΣ ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ (III) Πλασμιδιακά γονίδια αντοχής *qnr*

- ❖ Η κλινική σημασία των *qnr* είναι ότι αυξάνουν την MIC των ευαίσθητων στελεχών κατά 4-8 φορές (από MIC < 0.01 για τα άγριου τύπου κολοβακτηρίδια, σε 0.25-0.5 µg/ml).
- ❖ Τα μικρόβια αυτά θανατώνονται μερικώς από την κινολόνη και στο ποσοστό που επιβιώνει είναι δυνατή, υπό την πίεση του αντιβιοτικού, η δημιουργία *gyrA/parC* μεταλλάξεων.
- ❖ Κίνδυνος διασποράς της αντοχής λόγω του πλασμιδίου.

Γονίδια τύπου *aac(6')-Ib-cr*

❖ Παράγωγα των γονιδίων *aac(6')-Ib*, που ακετυλιώνουν τη σιπροφλοξασίνη και αυξάνουν την MIC των στελεχών που φέρουν γονίδια *qnr* σε 1 µg/ml).

Τα γονίδια *aac(6)-Ib-cr*, όπως και τα *aac(6)-Ib*, βρίσκονται σε τάξης 1 ιντεγκρόνια και ιδίως σε πολύ διαδεδομένα πλασμίδια IncF11 που φέρουν επίσης CTX-M-15

Τα γονίδια *aac(6)-Ib-cr* έχουν σχετιστεί με άλλα πλασμιδιακά γονίδια αντοχής στις κινολόνες:

qnrA1/qnrB2/qnrB4/qnrB6/qnrB10/qnrS1/ qnrS2, qepA

και

με άλλες β-λακταμάσες (CTX-M-1/-14/-24, DHA-1, SHV-12, KPC-2)

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΙΣ ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ IV

Πλασμιδιακά συστήματα αντλιών εκροής:

- ◆ Τα συστήματα των αντλιών εκροής είναι συνήθως χρωμοσωμικά, έχουν όμως περιγραφεί και δύο πλασμιδιακά συστήματα, τα:

OqxAB, που ανήκει στις αντλίες τύπου RND και βρέθηκε σε στελέχη *E. coli* από χοίρους.

Αυξάνει 8-φορές την MIC του ναλιδιξικού και 16-φορές της σιπροφλοξασίνης

και, πιο πρόσφατα το

QepA, που βρέθηκε σε στέλεχος *E. coli* από την Ιαπωνία. Αυξάνει 2-φορές την MIC του ναλιδιξικού, 16-φορές της σιπροφλοξασίνης και 32-φορές της νορφλοξασίνης

Επιδημιολογία της πλασμιδιακής αντοχής στις Κινολόνες

Η αντοχή στις αμινογλυκοσίδες και η διασπορά της,
οφείλεται κυρίως σε ενζυμικές τροποποιήσεις
[εξαιρέσεις: *Pseudomonas*-πορίνες, *Mycobacterium*-
μεταλλάξεις, *Enterococci*–ενεργειακό δυναμικό]

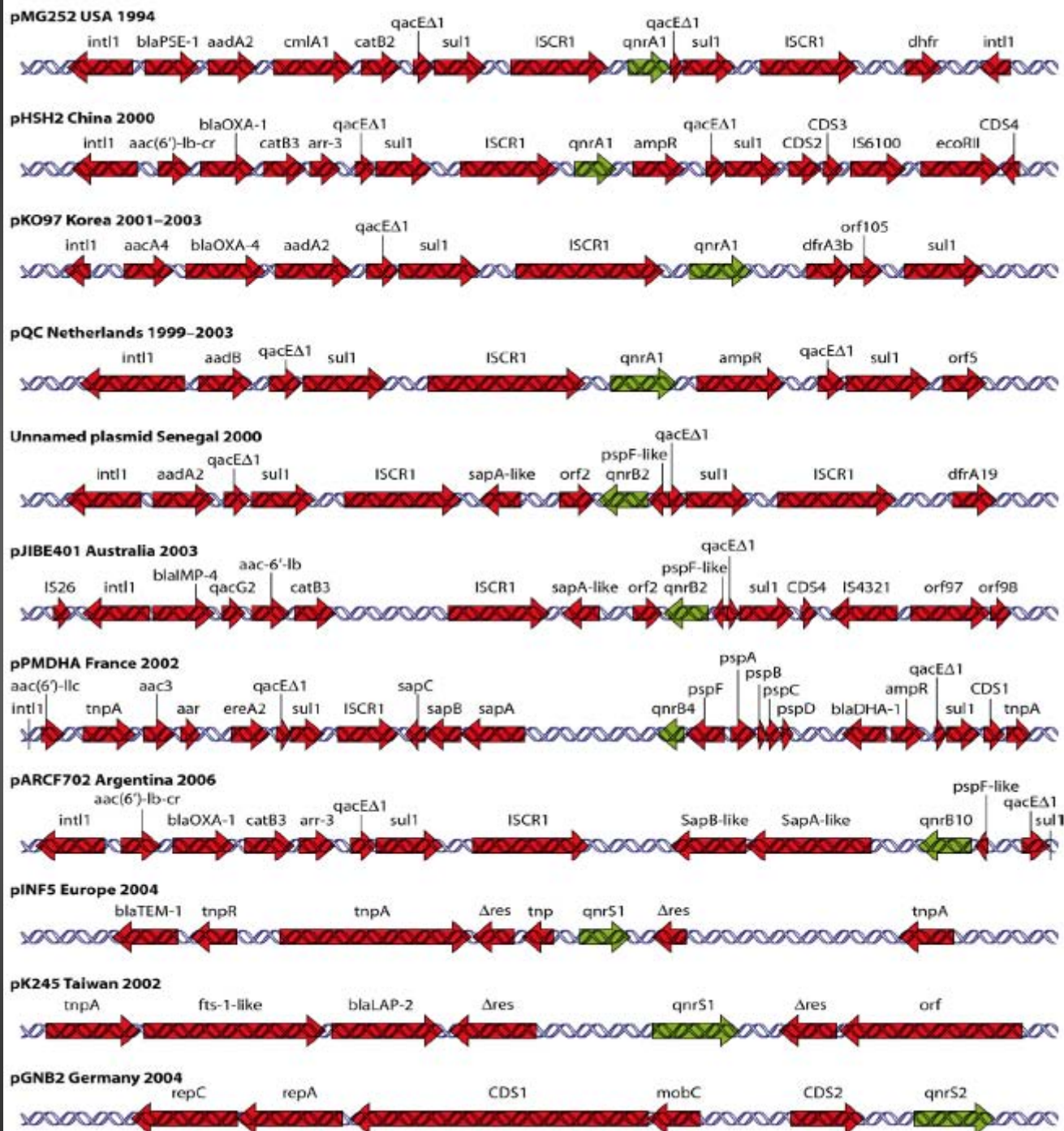


FIG. 3. Genetic environment of plasmid-determined *qnrA*, *qnrB*, and *qnrS* alleles. See Table 2 for references.

Επιδημιολογία της αντοχής στις κινολόνες στον Ελληνικό χώρο (*Escherichia coli*)

ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Aug. 2008, p. 2006–2007

0066-4804/08/508-00+0 doi:10.1128/AAC.00325-08

Copyright © 2008, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 52, No. 8

Emergence of the Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Gene *qnrS1* in *Escherichia coli* Isolates in Greece¹

The presence of the *qnr* genes in clinical isolates from Greece had not been reported previously. In this study, a considerably high proportion, 10%, of quinolone-resistant *E. coli* isolates were found to carry the gene *qnrS1*. The predominance in Greece of the *qnr* variant *qnrS1*, which was up to now detected mainly among salmonellae (4) and more rarely in *E. coli* (7) in Europe, indicates its possibly wide distribution. The carriage of *qnrS1* in unrelated isolates of *E. coli* indicates either the natural existence of this gene in microbial populations or its wide horizontal spread through plasmids or integrons.

Επιδημιολογία της αντοχής στις κινολόνες των *E. coli* στον Ελληνικό χώρο

- ❖ Η αντοχή της *E. coli* στη σιπροφλοξασίνη ανήρχετο σε 13% στο Νοσοκομείο ΑΧΕΠΑ, 15 % στο Νοσοκομείο Ιπποκράτειο, 21% στο Νοσοκομείο Παπανικολάου και 16 % στο Νοσοκομείο ΠΓΝ Λάρισας.
- ❖ Το 65,7 % των ανθεκτικών στελεχών παρουσίασαν υψηλού βαθμού αντοχή στη σιπροφλοξασίνη (MIC \geq 32 μ g/ml).
- ❖ Τα ανθεκτικά στη σιπροφλοξασίνη στελέχη βρέθηκαν επίσης ανθεκτικά σε σειρά αντιβιοτικών με υψηλότερα ποσοστό αντοχής 90,3% για την αμπικιλλίνη και χαμηλότερο 4,4% για την ιμιπενέμη.
- ❖ Η αντοχή στη σιπροφλοξασίνη συνοδεύεται σε ποσοστό 12,2% με παραγωγή β -λακταμασών.

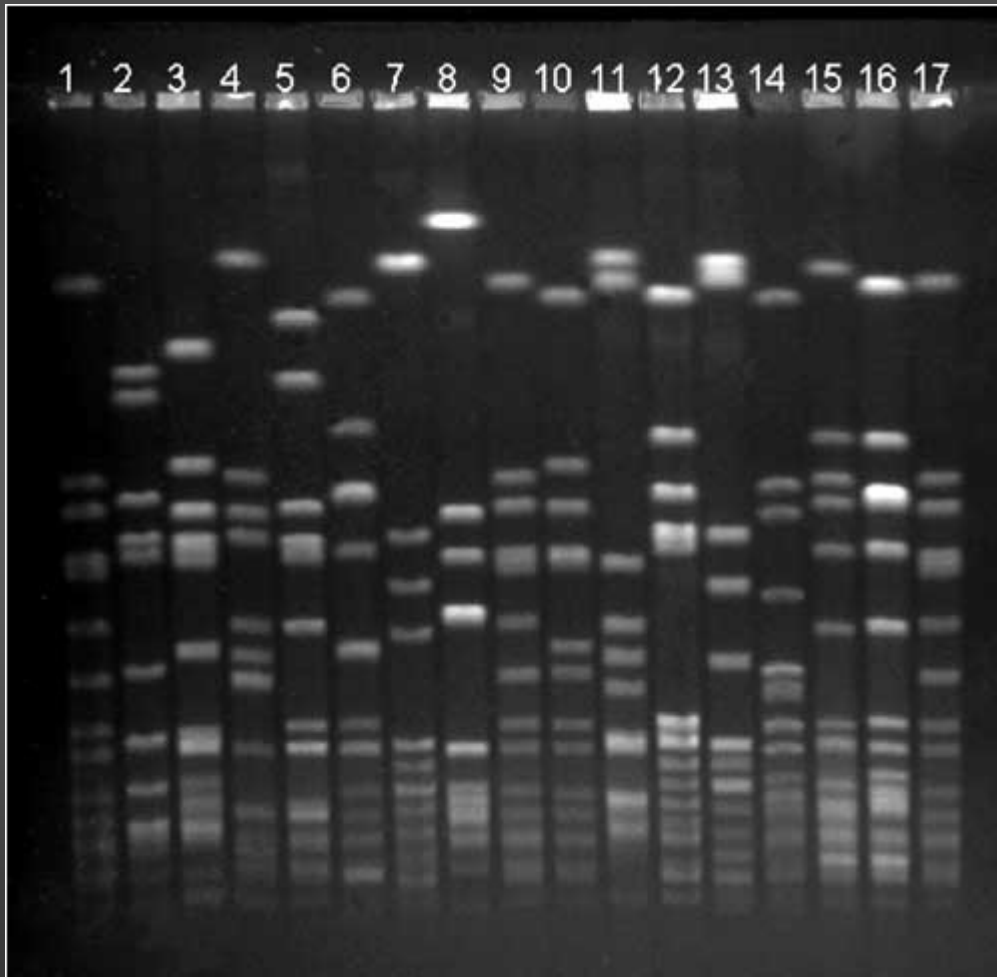
Επιδημιολογία της αντοχής στις κινολόνες των *E. coli* στον Ελληνικό χώρο

- ❖ Με PCR και sequencing, αποδείχθηκε ότι η αντοχή στη σιπροφλοξασίνη σε όλα τα στελέχη οφειλόταν σε τουλάχιστον δύο μεταλλάξεις των γονιδίων αντοχής *gyrA* και *parC*
- ❖ Η υπερέκφραση των αντλιών εκροής στα στελέχη της μελέτης δεν αποτελούσε βασικό μηχανισμό αντοχής στην *E. coli*
- ❖ Με PCR και sequencing αποδείχθηκε ότι η αντοχή στη σιπροφλοξασίνη, σε ποσοστό 9,64% οφειλόταν και στην ύπαρξη των πλασμιδιακών γονιδίων αντοχής *qnrS1*. Όλα τα θετικά *qnrS1* στελέχη είχαν υψηλή MIC που κυμαινόταν από 16 έως 128 mg/L
- ❖ Με τα πειράματα βακτηριακής σύζευξης αποδείχθηκε ότι είναι δυνατή η μεταφορά της αντοχής στη σιπροφλοξασίνη στους αποσυζεύκτες σε ποσοστό 45%

Επιδημιολογία της αντοχής στις κινολόνες των *E. coli* στον Ελληνικό χώρο

- ❖ Με την ERIC 2 PCR σε 114 στελέχη, βρέθηκαν επτά διακριτοί κλώνοι. Η διαφορετικότητα των κλώνων και η εμφάνιση τους σε όλα τα Νοσοκομεία υποδηλώνει ότι δεν πρόκειται για έναν επιδημικό κλώνο, δηλαδή δεν οφείλεται σε διασπορά ενός στελέχους
- ❖ Τα έντεκα *qnrS* θετικά στελέχη που αναλύθηκαν με PFGE, βρέθηκε ότι ανήκουν σε 9 κλώνους και όχι σε έναν επιδημικό *qnr* θετικό κλώνο που να έχει προσβάλλει διαφορετικά Νοσοκομεία
- ❖ Με τη δοκιμασία της PFGE σε 40 στελέχη *E. coli* της μελέτης, αναδείχθηκαν 13 επιδημικοί κλώνοι. Η πολυκλωνικότητα των στελεχών *E. coli* που ενδημούν στα ελληνικά Νοσοκομεία όπως προκύπτει από την παρούσα μελέτη, υποδηλώνει ότι τα ανθεκτικά στη σιπροφλοξασίνη στελέχη *E. coli* έχουν γίνει ενδημικά

PFGE (III)



Ηλεκτροφορητικά αποτυπώματα
των 13 επιδημικών κλώνων

Ηλεκτροφόρηση σε Παλλόμενο Ηλεκτρικό Πεδίο.