



# Μηχανισμοί αντοχής των μικροβίων στα αντιβιοτικά

Λεμπέση Ευαγγελία

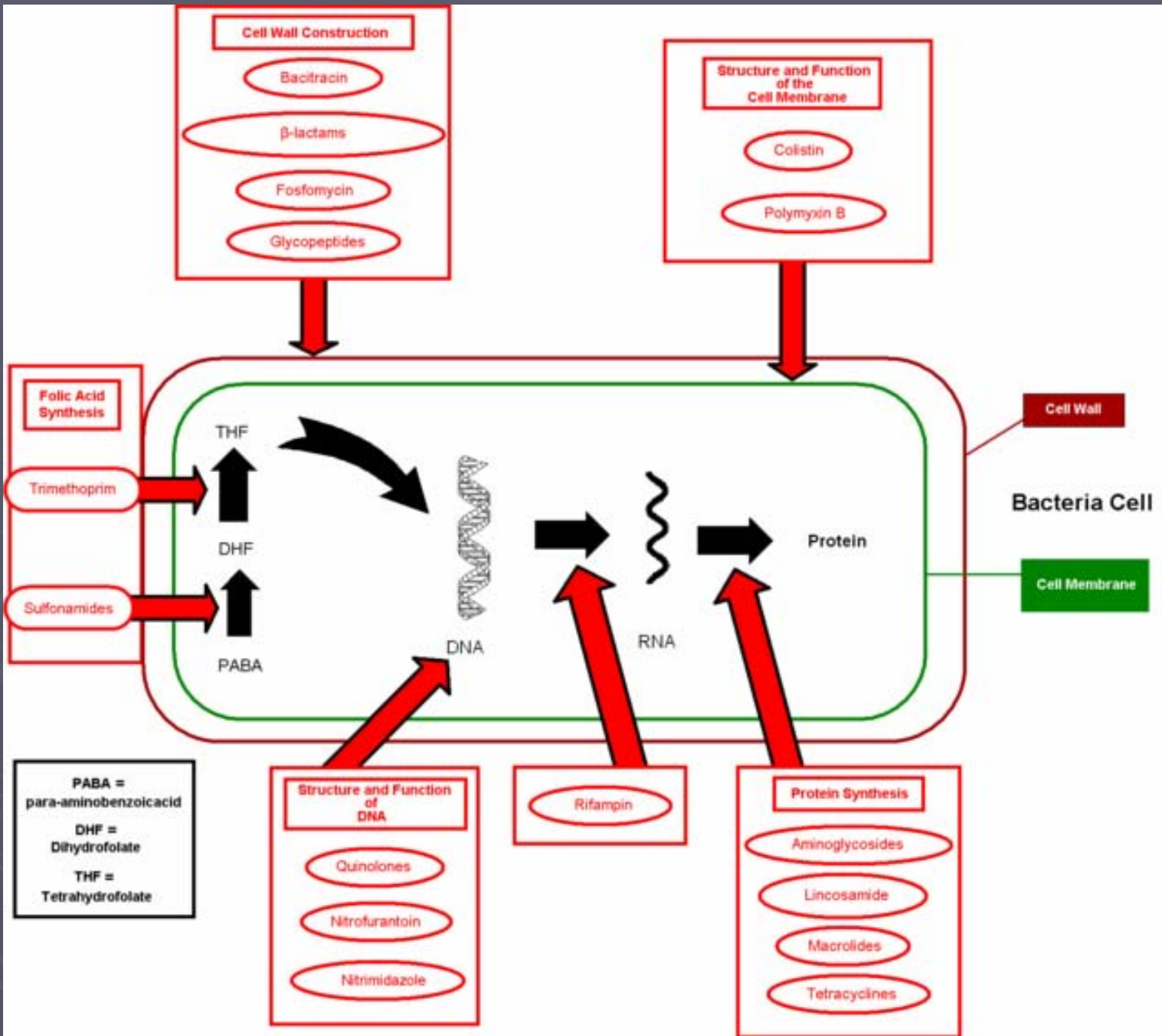
Αν. Διευθύντρια Μικροβιολογικού Εργαστηρίου Ν.  
Παιδων Αθηνών "Π. & Α. Κυριακού"

# Ταξινόμηση αντιβιοτικών

- ▶ β-λακταμικά
  - Πενικιλίνες
  - Κεφαλοσπορίνες
  - Μονοβακτάμες
  - Αναστολείς β-λακταμασών
- ▶ Αμινογλυκοσίδες και Αμινοκυκλιτόλες
- ▶ Κινολόνες
- ▶ Μακρολίδες
- ▶ Κετολίδες
- ▶ Τετρακυκλίνες και Γλυκυλκυκλίνες
- ▶ Λινκοσαμίδες
- ▶ Γλυκοπεπτίδια και Λιποπεπτίδια
- ▶ Στρεπτογραμμίνες
- ▶ Οχαζολιδινόνες
- ▶ Σουλφοναμίδες και τριμεθοπρίμη
- ▶ Πολυπεπτίδια
  - Πολυμυξίνες
  - Βακιτρακίνη
- ▶ Χλωραμφαινικόλη
- ▶ Μετρονιδαζόλη
- ▶ Ριφαμπικίνη
- ▶ Νιτροφουραντοΐνη
- ▶ Φωσφομυκίνη
- ▶ Μουπιροκίνη

# Μηχανισμοί δράσης των αντιβιοτικών

- ▶ Αναστολή της σύνθεσης του κυτταρικού τοιχώματος
  - β-λακταμικά
  - Γλυκοπεπτίδια και Λιποπεπτίδια
  - Φωσφομυκίνη
- ▶ Αναστολή πρωτεϊνοσύνθεσης
  - Αμινογλυκοσίδες
  - Τετρακυκλίνες
  - Μακρολίδες και Λινκοσαμίδες
  - Στρεπτογραμμίνες
  - Οξαζολιδινόνες
  - Χλωραμφαινικόλη
- ▶ Αναστολή σύνθεσης νουκλεϊνικών οξέων
  - Κινολόνες
  - Σουλφοναμίδες και τριμεθοπρίμη
- ▶ Διαταραχή της κυτταρικής μεμβράνης
  - Πολυμυξίνες



**Cell Wall Construction**

Bacitracin

$\beta$ -lactams

Fosfomycin

Glycopeptides

**Structure and Function of the Cell Membrane**

Colistin

Polymyxin B

**Folic Acid Synthesis**

Trimethoprim

Sulfonamides

THF

DHF

PABA

DNA

RNA

Protein

Cell Wall

Bacteria Cell

Cell Membrane

**Structure and Function of DNA**

Quinolones

Nitrofurantoin

Nitrimidazole

Rifampin

**Protein Synthesis**

Aminoglycosides

Lincosamide

Macrolides

Tetracyclines

**PABA =**  
para-aminobenzoic acid

**DHF =**  
Dihydrofolate

**THF =**  
Tetrahydrofolate

# Αντιμικροβιακή αντοχή

## ▶ Αντοχή

- Φυσική (intrinsic)
- Επίκτητη (acquired)

▶ Η επίκτητη αντοχή αποτελεί το καλύτερο παράδειγμα ταχύτατης προσαρμογής των βακτηρίων στο νέο οικοσύστημα

# Φυσική Αντοχή

## Εντεροβακτηριακά

- ▶ Πενικιλίνη G
- ▶ Γλυκοπεπτίδια
- ▶ Φουσιδικό οξύ
- ▶ Μακρολίδες
- ▶ Κλινδαμυκίνη
- ▶ Λινεζολιδίνη
- ▶ Στρεπτογραμμίνες
- ▶ Μουπιροσίνη

# Φυσική αντοχή

<i>Salmonella</i> spp	CFX
<i>Klebsiella</i> spp, <i>Citrobacter diversus</i>	AMP, AMX, TIC, CARB
<i>Proteus mirabilis</i>	COL, FUR, TIG
<i>Proteus vulgaris</i>	AMP, AMX, CFX, COL, FUR
<i>Yersinia enterocolitica</i>	AMP, AMX, CARB, TIC, CEF

# Φυσική αντοχή

<i>Enterobacter</i> spp, <i>Citrobacter freundii</i>	AMP, AMX, AMC, CEF, FOX
<i>Morganella morganii</i>	AMP, AMX, AMC, CEF, CFX, COL, FUR
<i>Providencia</i> spp	AMP, AMX, AMC, CEF, CFX, GN, NT, TB, COL, FUR
<i>Serratia</i> spp	AMP, AMX, AMC, CEF, CFX, COL



# Σχετική Διαπερατότητα Εξωτ Μεμβράνης των μη ζυμωτικών βακτηρίων

Είδος μικροβίου	Σχετική διαπερατότητα (%)
<i>E. coli</i>	100
<i>P. aeruginosa</i>	1-8
<i>A. baumannii</i>	1-3
<i>S. maltophilia</i>	3-5
<i>B. cepacia</i>	11

# Επίκτητη αντοχή Γενετικοί μηχανισμοί

- ▶ Η επίκτητη αντοχή των βακτηρίων στα αντιβιοτικά είναι αποτέλεσμα βιοχημικών διαδικασιών, οι οποίες οφείλονται σε:
  1. σημειακές μεταλλαγές του χρωμοσωματικού DNA (mutations) ή / και
  2. απόκτηση εξωγενούς γενετικού υλικού από άλλα βακτήρια (οριζόντια μεταβίβαση γονιδίων)

# Μεταλλαγές (mutations)

- ▶ Οι μεταλλαγές αφορούν το χρωμοσωματικό DNA
- ▶ Συμβαίνουν σπάνια ( $10^{-7}$ - $10^{-8}$ ) ως τυχαία συμβάματα και ελάχιστα συμβάλλουν στην απόκτηση αντοχής
- ▶ Επιλέγονται κάτω από την πίεση των αντιβιοτικών και προκαλούν ανθεκτικούς πληθυσμούς – κάθετη μεταβίβαση

# Απόκτηση εξωγενούς γενετικού υλικού - Μεταβίβαση γονιδίων

- ▶ Τα γονίδια αντοχής συχνά βρίσκονται σε εξωχρωμοσωματικά γενετικά στοιχεία ή σε τμήματα ενσωματωμένα στο χρωμόσωμα
- ▶ Η μεταβίβαση νέων γονιδίων στο βακτήριο μπορεί να γίνει με:
  - Μεταμόρφωση (transformation)
  - Σύζευξη (conjugation)
  - Μεταγωγή (transduction)

# 1. Μεταμόρφωση (transformation)

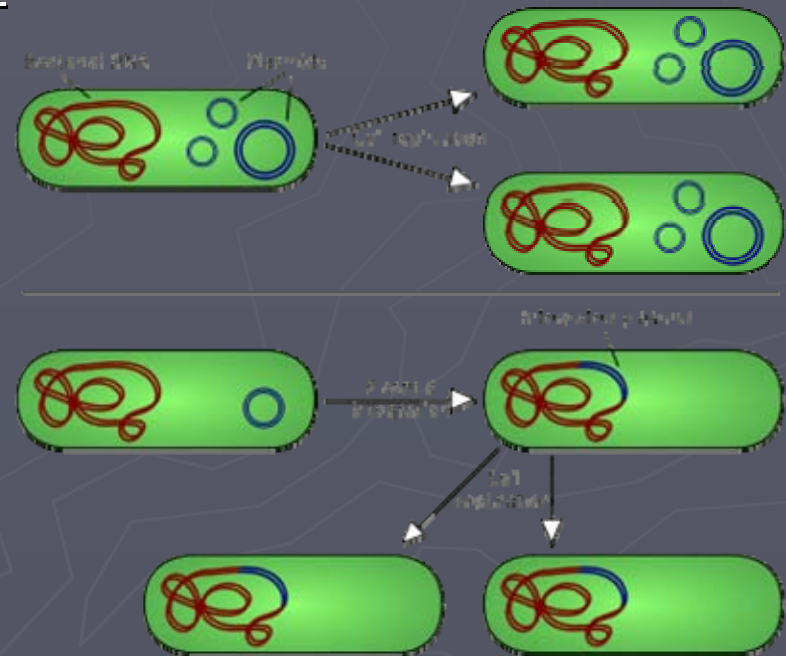
- ▶ Η διαδικασία πρόσληψης από ορισμένα βακτήρια μορίων χρωμοσωματικού DNA, το οποίο έχει προκύψει από τη λύση άλλων βακτηρίων και βρίσκεται “ελεύθερο” στο περιβάλλον.
- ▶ Το ξένο DNA εισέρχεται στο κύτταρο – δέκτη, όπου ενσωματώνεται στο χρωμόσωμα σχηματίζοντας με ανασυνδυασμό τα “μωσαϊκά” γονίδια
- ▶ Η ενσωμάτωση του DNA είναι εφικτή εφ’ όσον προέρχεται από “συγγενή” βακτήρια. Συνήθης σε Gram(+)κόκκους.
- ▶ Παράδειγμα: *S. pneumoniae* - viridans streptococci  
Τροποποιημένες PBPs: 1a, 1b, 2a, 2b, 2x, 3  
Κωδικοποιούνται από pbr “μωσαϊκά” γονίδια

## 2. Σύζευξη (conjugation)

- ▶ Ο κυριότερος μηχανισμός μεταβίβασης γονιδίων αντοχής στα Gram αρνητικά βακτήρια
- ▶ Η μεταβίβαση του γενετικού υλικού γίνεται με τα πλασμίδια, τα οποία μπορεί να φέρουν ένα ή περισσότερα γονίδια αντοχής (πλασμίδια πολλαπλής αντοχής)
- ▶ Απαιτείται άμεση επαφή μεταξύ δύο βακτηρίων (δότη και δέκτη), η οποία εξασφαλίζεται με ειδικά ινίδια (συζευκτικά – αυτομεταφερόμενα πλασμίδια)

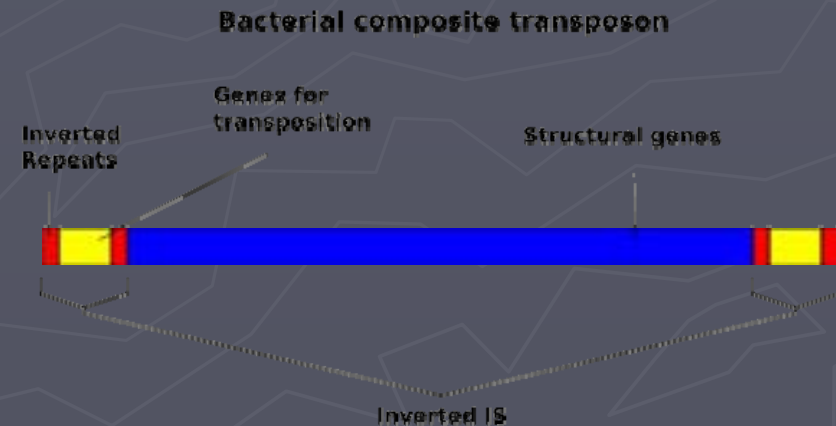
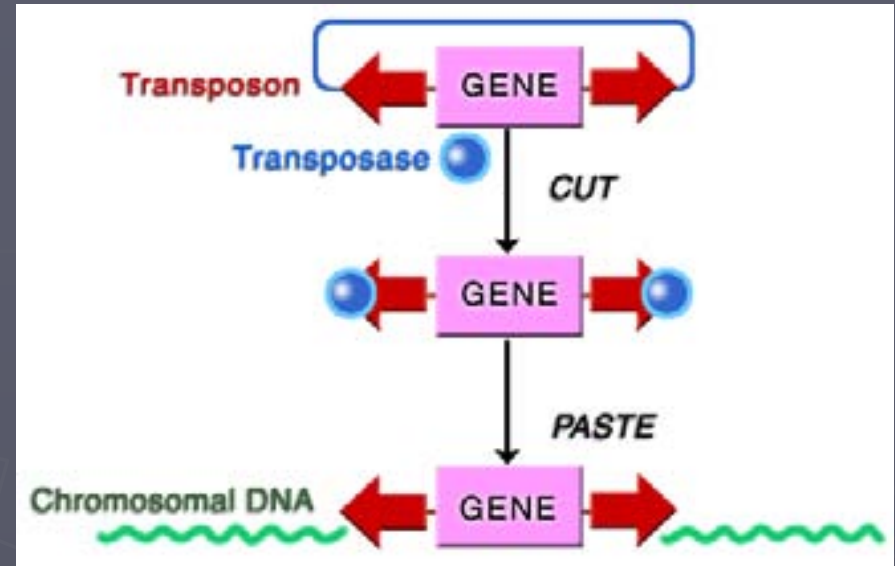
# Πλασμίδια

- ▶ Τα πλασμίδια είναι εξωχρωμοσωματικά, κυκλικά, διπλής έλικας μόρια DNA, τα οποία αντιγράφονται αυτόνομα σε σχέση με το βακτηριακό χρωμόσωμα.
- ▶ Ενίοτε ενσωματώνονται στο χρωμόσωμα (επισώματα)
- ▶ Ταξινομούνται σε 4 ομάδες "incompatibility groups" IncF, IncP, Ti, IncL
- ▶ Στα πλασμίδια αντοχής (R) μπορούν να ενσωματωθούν **μεμονωμένα γονίδια αντοχής, τρανσποζόνια ή ιντεγκρόνια**



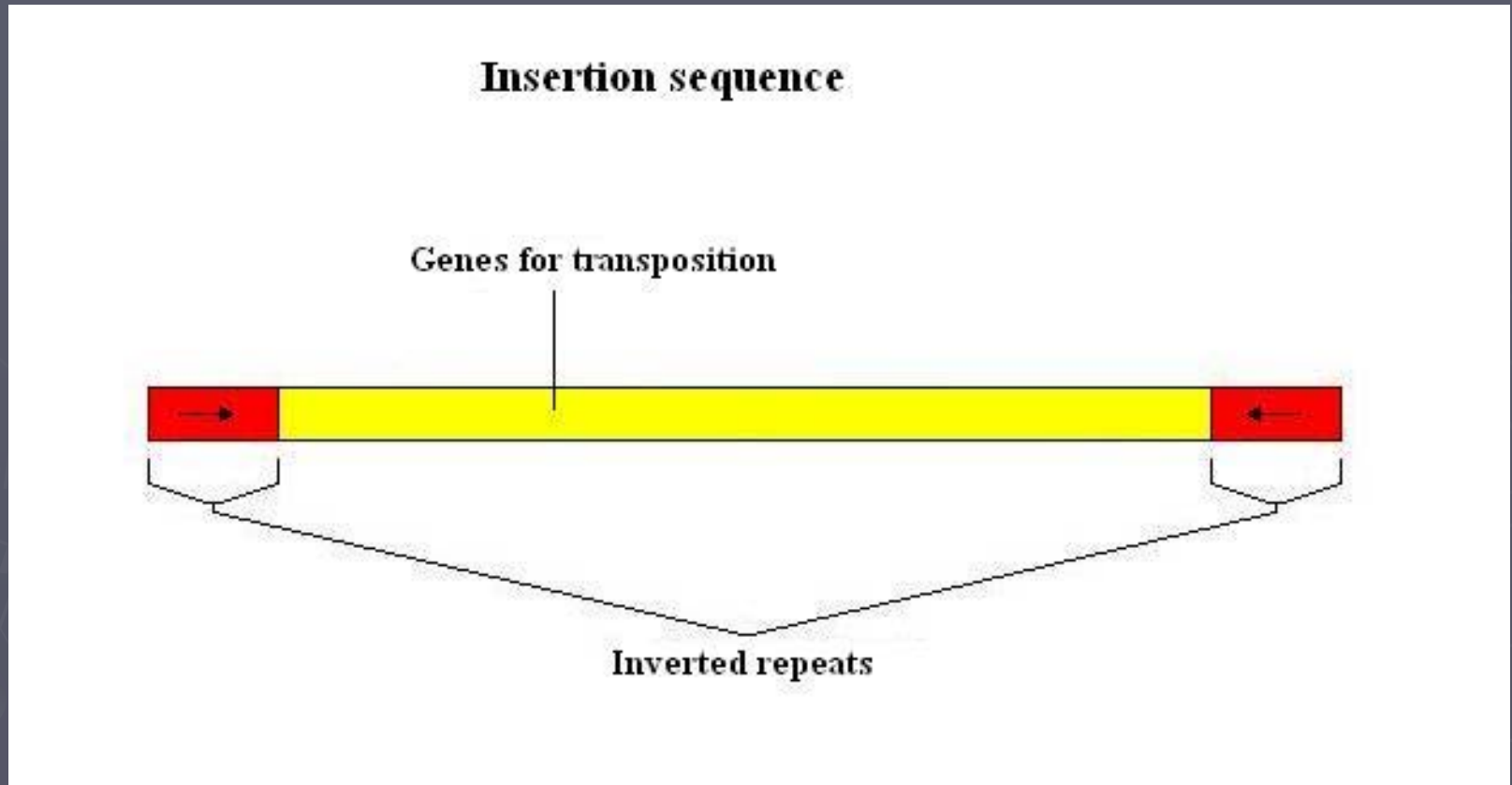
# Τρανσποζόνια

- ▶ Μεταθετά γενετικά στοιχεία τα οποία μπορούν από μόνα τους να μετακινηθούν από μια γενετική μονάδα σε μια άλλη (βακτηριακό χρωμόσωμα ή πλασμίδια), χάριν της τρανσποζάσης
- ▶ Φέρουν στα άκρα τους τις ανεστραμμένες επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες (IR), που καθορίζουν το τμήμα που θα μετατεθεί.



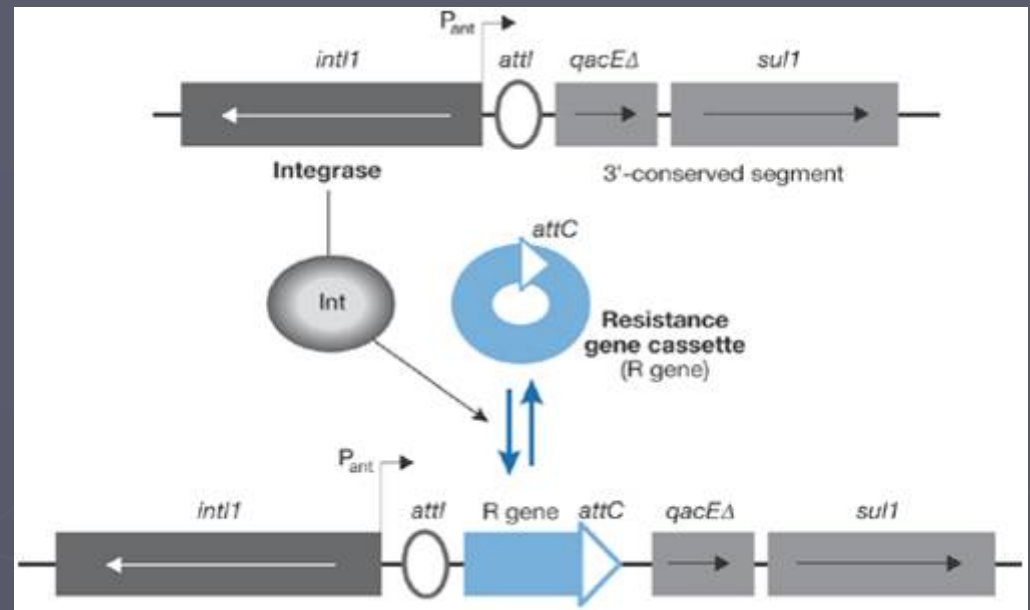


# Αλληλουχίες εισδοχής (IS)



Οι πιο απλές μορφές μεταθετού γενετικού στοιχείου.  
Φέρουν μόνο το γονίδιο της τρανσποζάσης

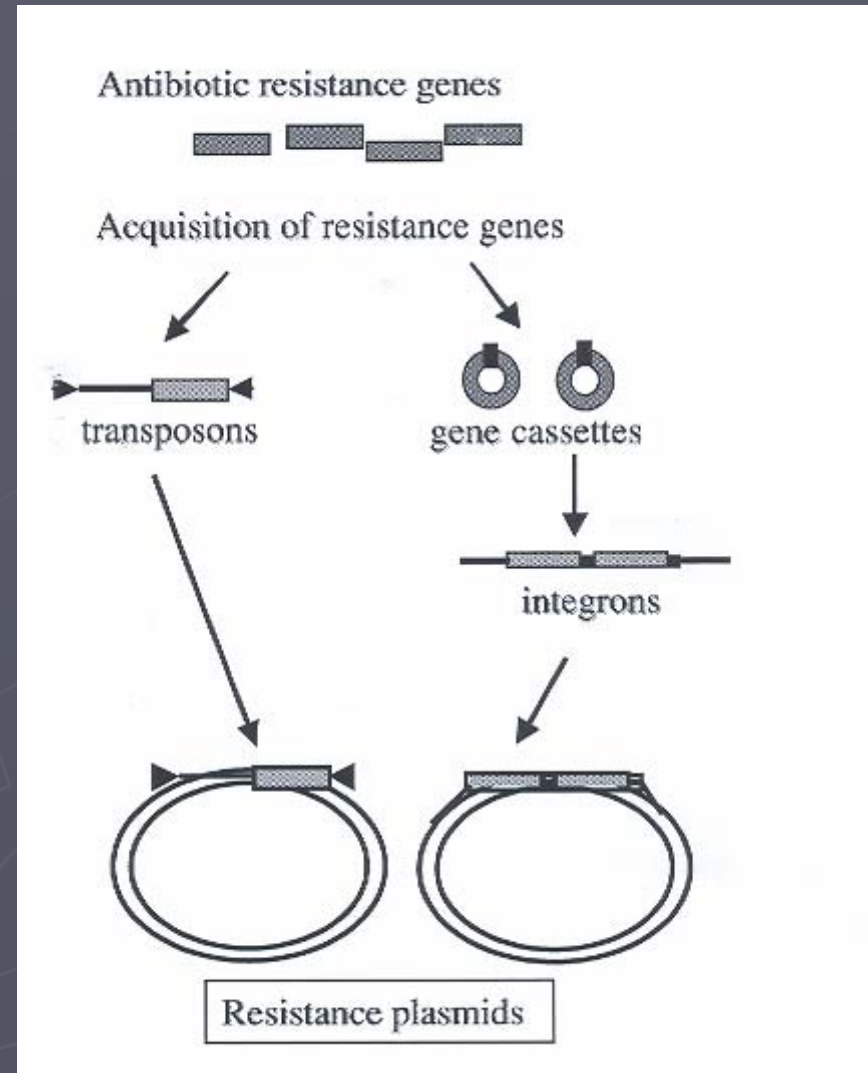
# Ιντεγκρόνια



- Μεταθετά γενετικά στοιχεία ικανά να αναγνωρίζουν και να ενσωματώνουν γονιδιακές κασέτες
- Χαρακτηρίζονται από την παρουσία τριών δομικών στοιχείων: την ιντεγκράση (intI), την ειδική θέση ανασυνδυασμού (attI) για την ενσωμάτωση της κασέτας, και τον κοινό υποκινητή (P) για την έκφραση των ενσωματωμένων γονιδιακών κασετών.
- Οι γονιδιακές κασέτες είναι μικρά μεταθετά στοιχεία, τα οποία περιλαμβάνουν ένα μόνο γονίδιο και μια θέση ανασυνδυασμού (attC), γνωστή ως 59-be.
- Τα ιντεγκρόνια μετακινούνται με πλασμίδια και τρανσποζόνια, ενώ έχουν βρεθεί και στο βακτηριακό χρωμόσωμα

# Μεταθετά γενετικά στοιχεία

- ▶ Πλασμίδια
- ▶ Τρανσποζόνια
- ▶ Ιντεγκρόνια
  - Επιτρέπουν στα γονίδια να μετακινούνται μέσα στο γονιδίωμα ενός βακτηρίου ή μεταξύ των γονιδιωμάτων διαφορετικών βακτηρίων

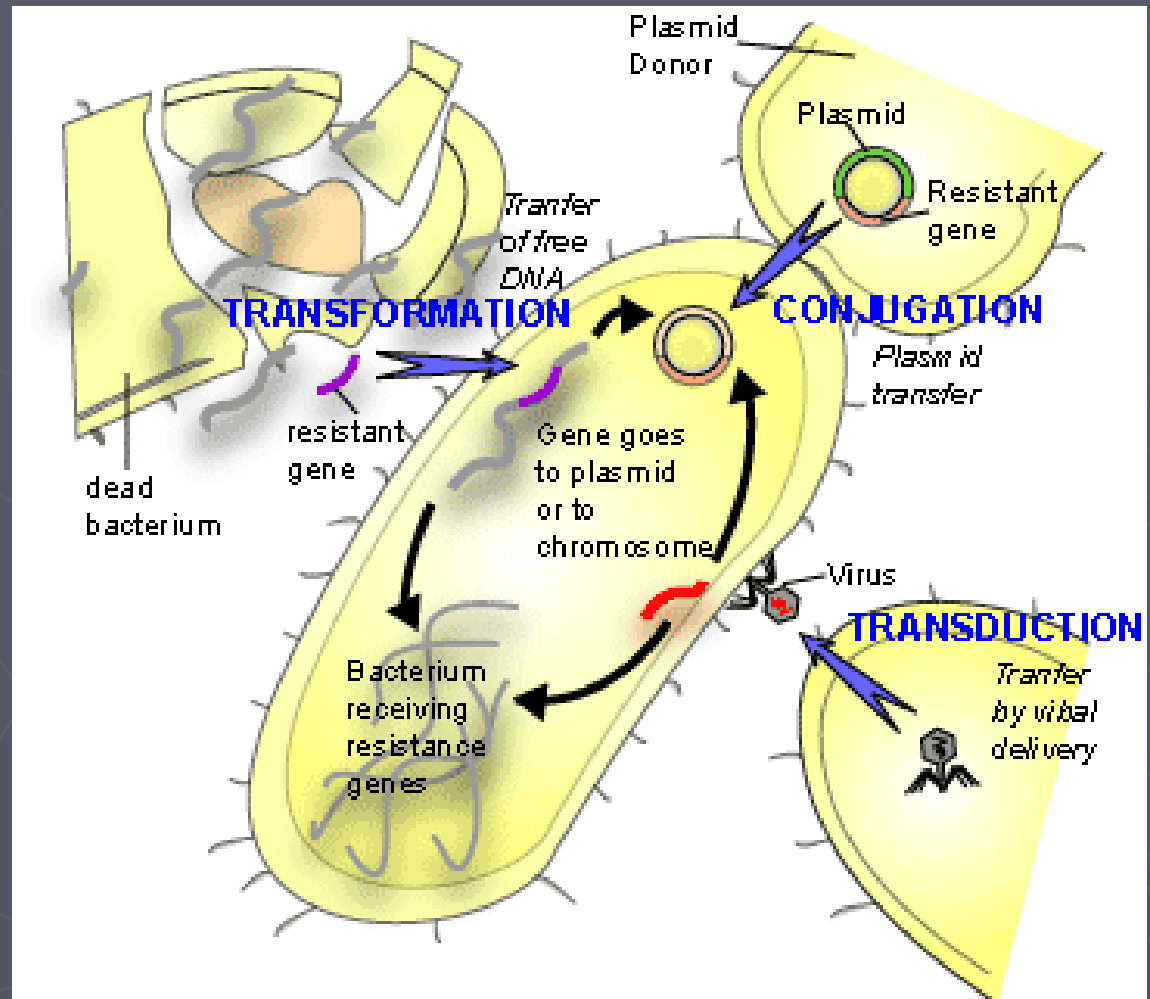


### 3. Μεταγωγή (transduction)

- ▶ Η μεταβίβαση γενετικού υλικού μέσω βακτηριοφάγων ανάμεσα σε δύο “συγγενή” βακτήρια
- ▶ Οι βακτηριοφάγοι είναι ιοί που προσβάλλουν τα βακτήρια
- ▶ Ο ρόλος των φάγων στη μεταβίβαση της αντοχής είναι περιορισμένος

# Απόκτηση εξωγενούς γενετικού υλικού

- Μεταμόρφωση
- Σύζευξη
- Μεταγωγή

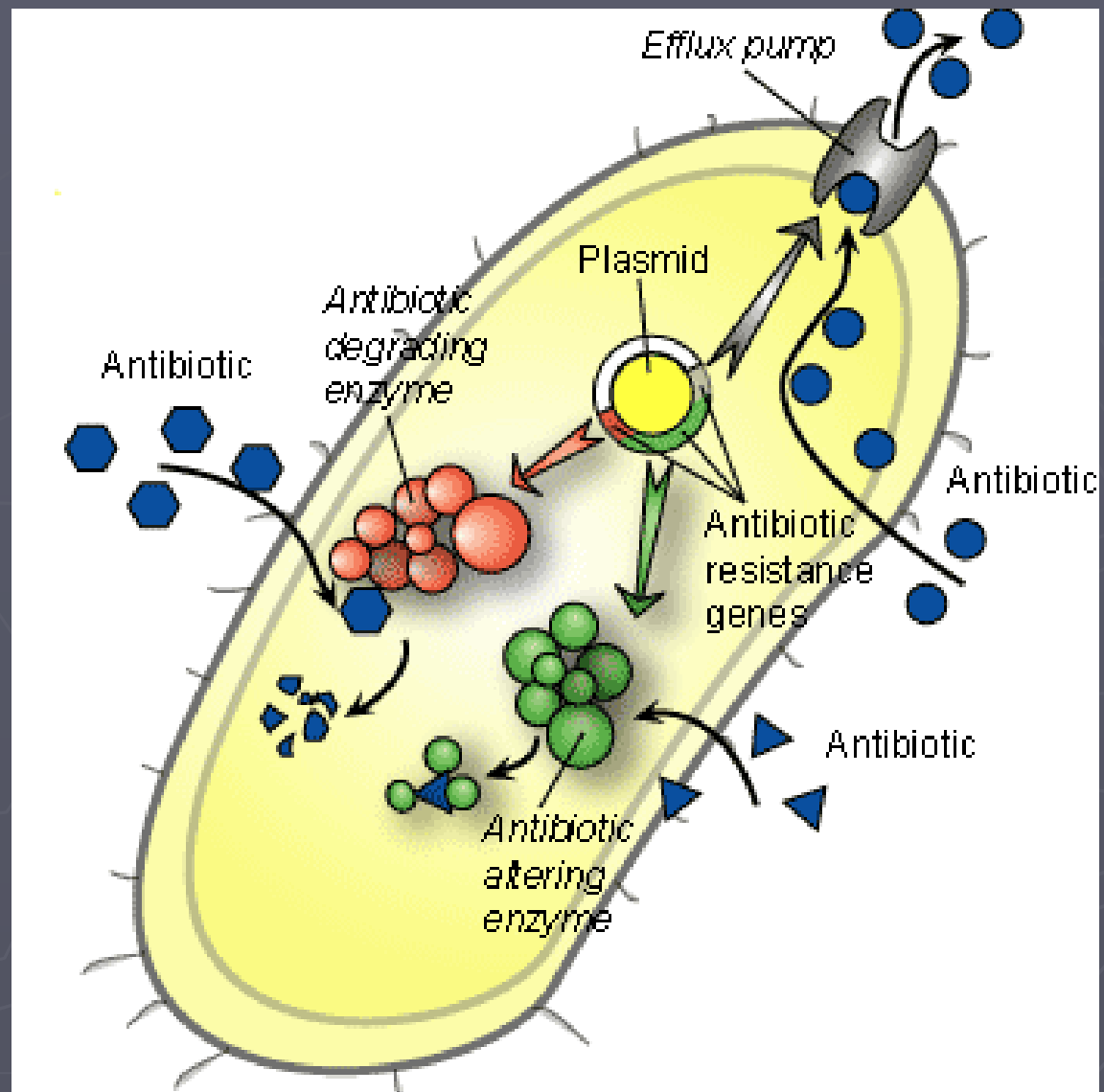


# Επίκτητη αντοχή στα αντιβιοτικά Βιοχημικοί μηχανισμοί

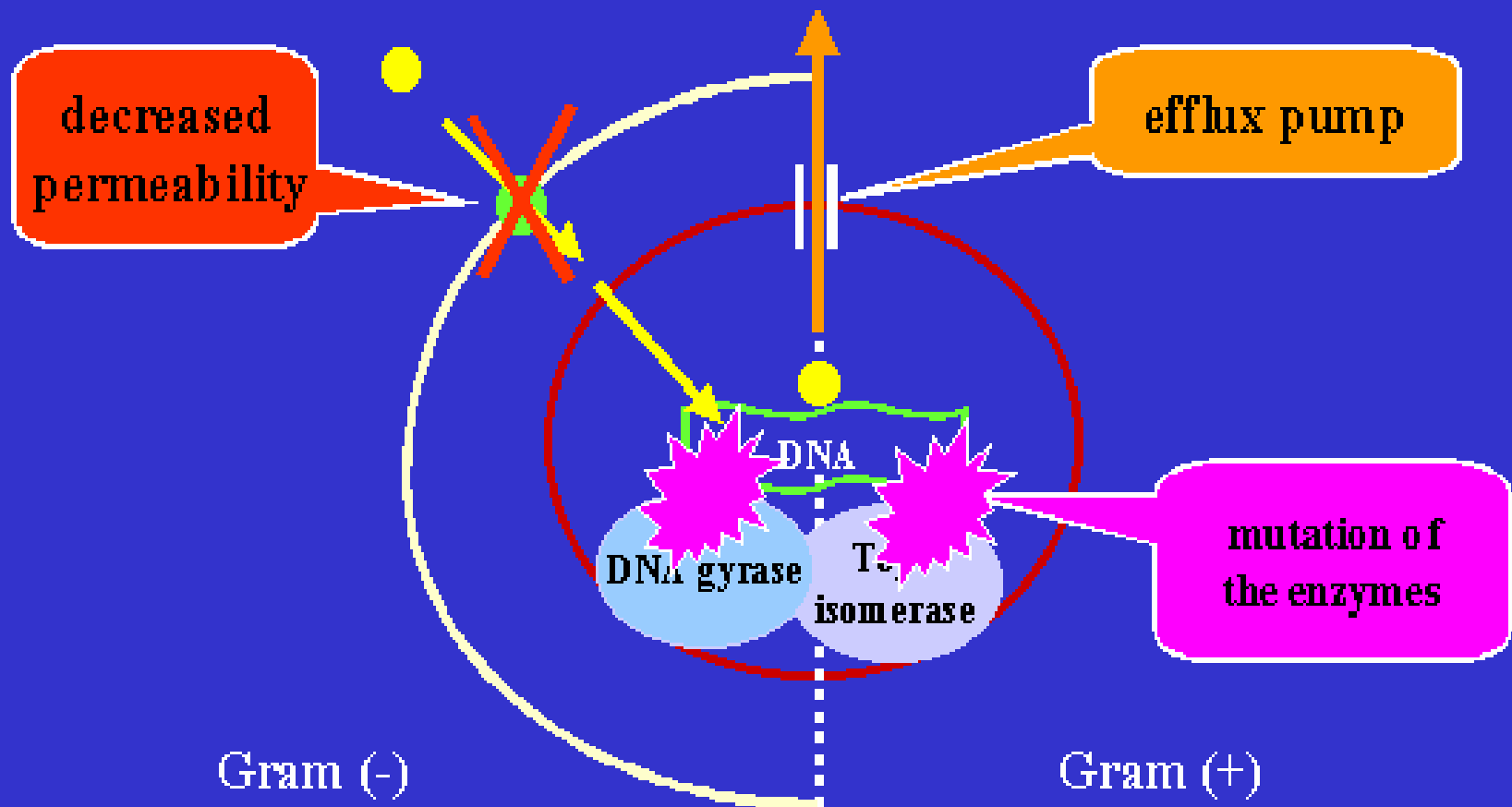
- ▶ Τροποποίηση - αδρανοποίηση του αντιβιοτικού μέσω ενζύμων
- ▶ Τροποποίηση του στόχου δράσης του αντιβιοτικού
- ▶ Μειωμένη συγκέντρωση του αντιβιοτικού
  - Μειωμένη είσοδος του αντιβιοτικού
  - Αντλία ενεργητικής αποβολής του αντιβιοτικού

Συχνά συνυπάρχουν

# Μηχανισμοί αντοχής στα αντιβιοτικά



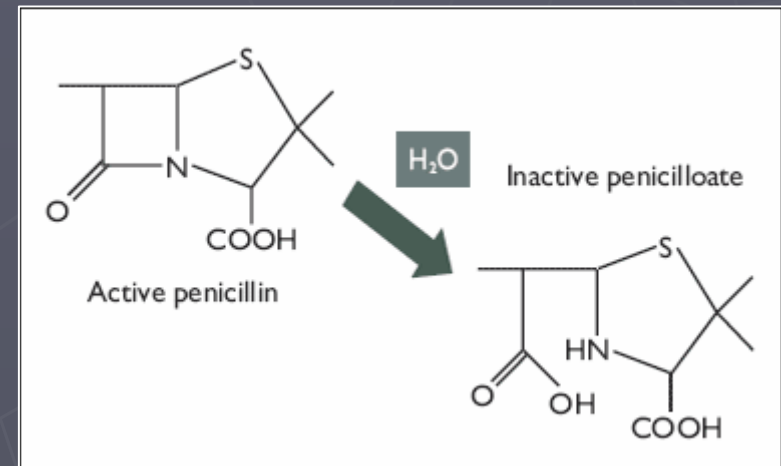
# Resistance to fluoroquinolones: the basics





# 1. Αδρανοποίηση του αντιβιοτικού μέσω ενζύμων

- β-λακταμάσες
- Αμινογλυκοσιδο-τροποποιητικά ένζυμα (AMEs)
- Ακετυλοτρανσφεράσες της Χλωραμφαινικόλης- (CATs)



- ▶ Συνήθως προκαλούν υψηλού επιπέδου αντοχή
- ▶ Συχνά είναι επίκτητα, αλλά και ενδογενή
- ▶ Μερικά αντιβιοτικά δεν αδρανοποιούνται από ένζυμα, πχ Vancomycin (1958)

## 2. Τροποποίηση του στόχου δράσης

- ▶ Μεθυλίωση ριβοσώματος → αντοχή σε MLS
- ▶ Τροποποίηση RBPs (πενικιλλινο-δεσμευτικές πρωτεΐνες) → αντοχή στα β-λακταμικά
- ▶ Μεταλλαγή της DNA γυράσης και τοποϊσομεράση IV → αντοχή στις φθοριοκινολόνες
- ▶ Αλλαγή του διπεπτιδίου D-Ala-D-Ala σε D-Ala-D-Ser ή D-Ala-D-Lys → αντοχή του *Enterococcus* spp στη Vancomycin και Teicoplanin

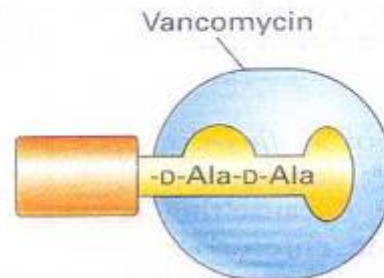
# Αντοχή στην βανκομυκίνη λόγω αλλαγής του στόχου δράσης

## Vancomycin-Susceptible Enterococci

Vancomycin-susceptible enterococci make cell-wall precursors that have high affinity for vancomycin.



Tripeptide containing intermediates in cell-wall synthesis



Inhibition of cell-wall synthesis



## Vancomycin-Resistant Enterococci

Vancomycin-resistant enterococci, in the presence of vancomycin, make cell-wall precursors that have low affinity for vancomycin.



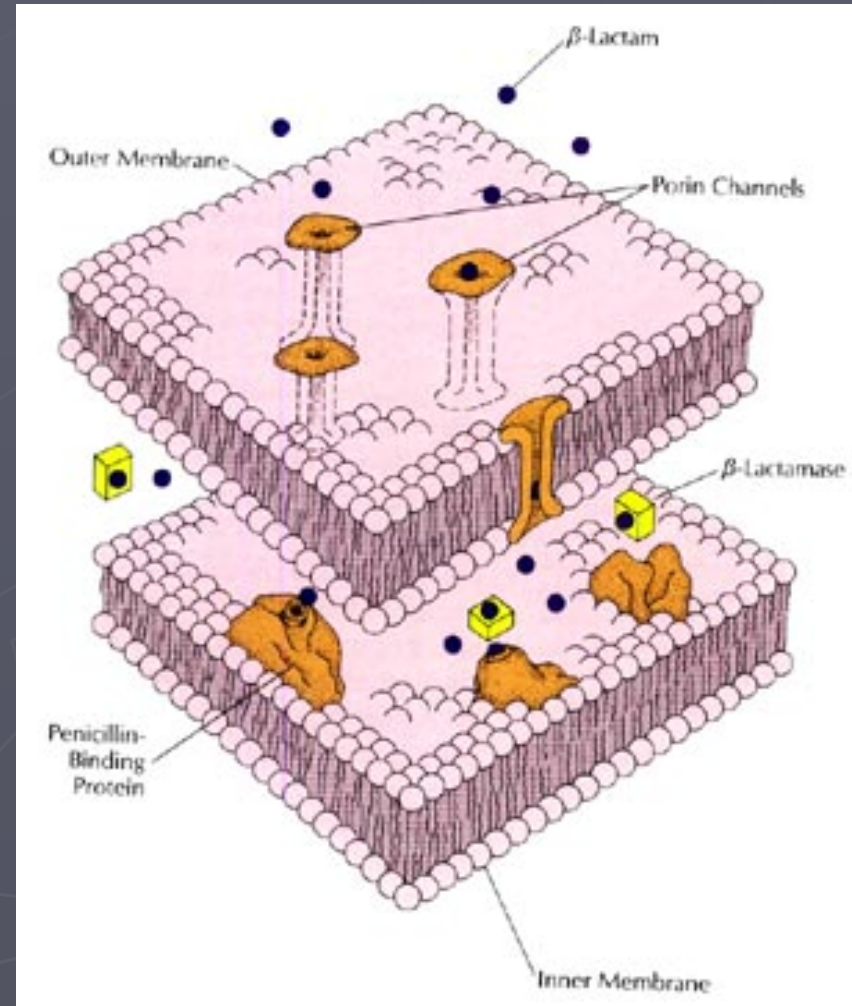
Vancomycin



Cell-wall synthesis

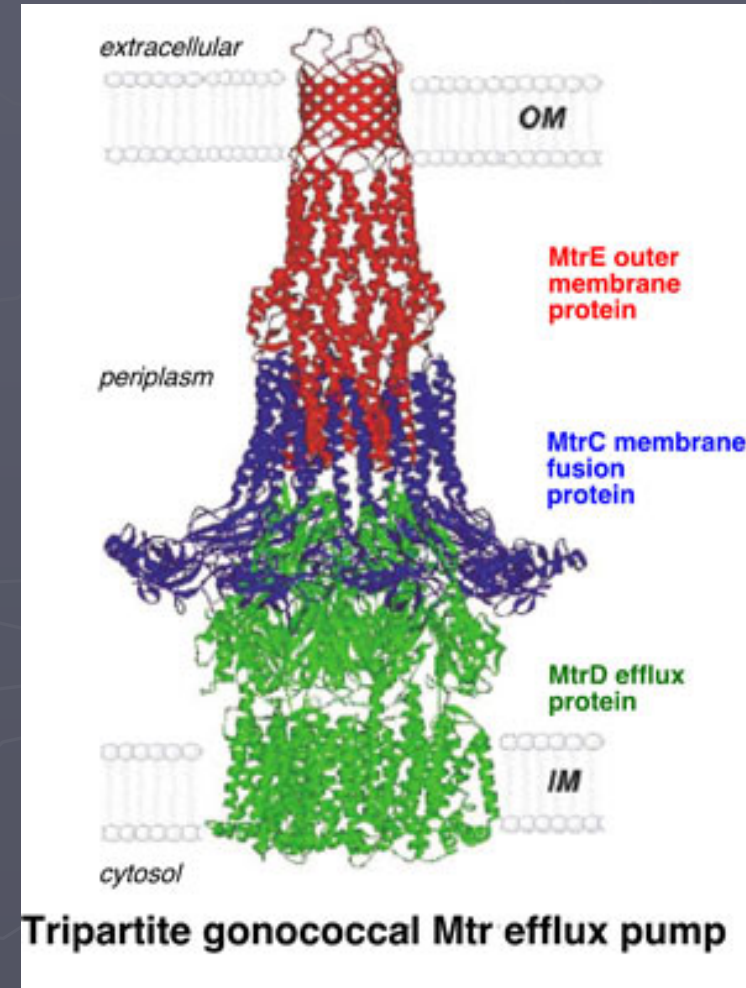
### 3. Μειωμένη είσοδος του αντιβιοτικού (φραγμοί στην EM και ΚΜ)

- ▶ Μείωση πορινών προκαλεί αντοχή σε:
  - IMP (*P. aeruginosa*),
  - FEP (*E. cloacae*),
  - FOX και CAZ (*K. pneumoniae*)
- ▶ Φραγμοί στην ΚΜ
  - Η είσοδος των AMGs μέσω της ΚΜ στο ΚΠ απαιτεί  $O_2$ , γι' αυτό τα αναερόβια είναι ανθεκτικά στις AMGs

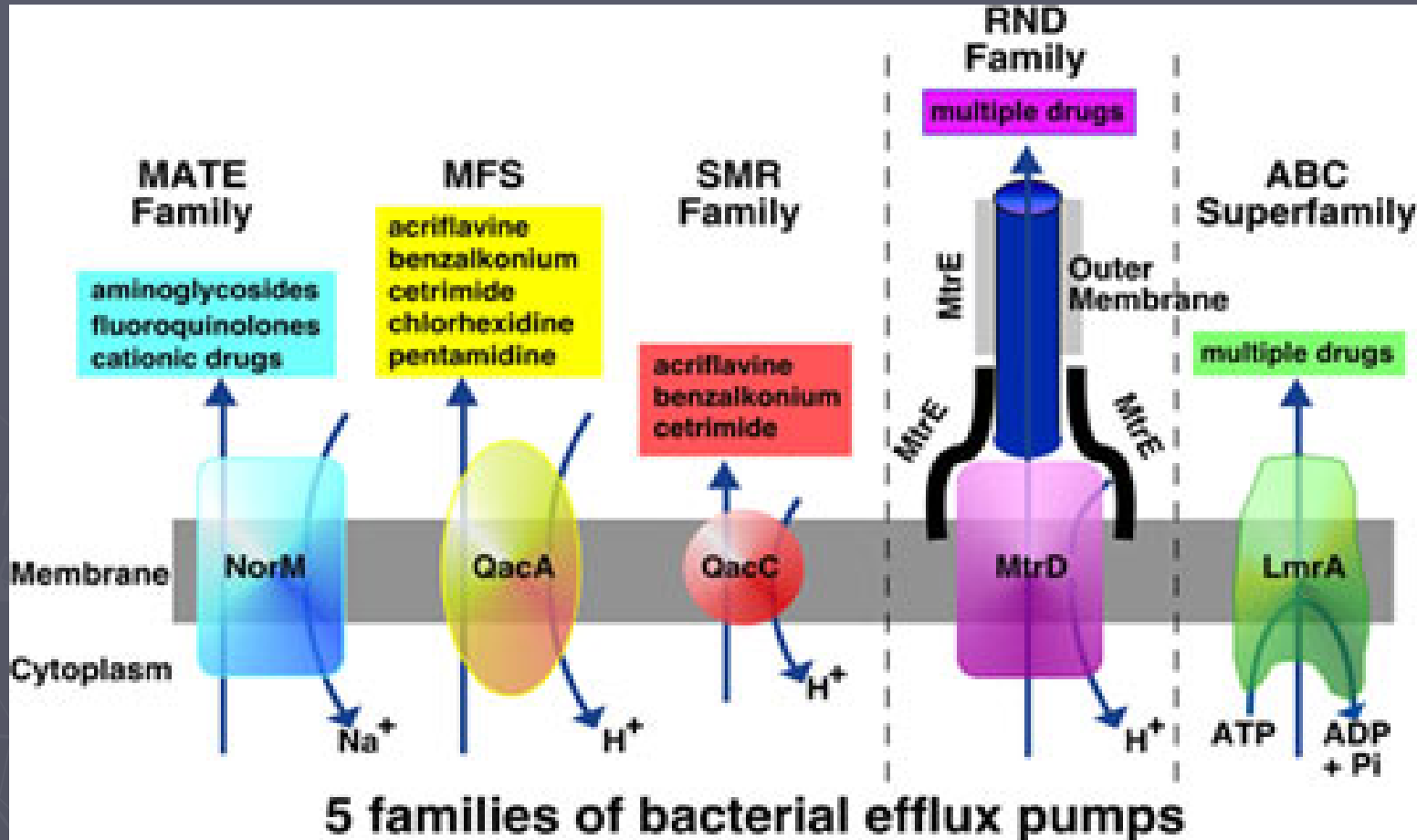


# 4. Συστήματα αντλιών ενεργητικής αποβολής

- ▶ Υπάρχουν σε όλα τα ζώντα κύτταρα για την αποβολή τοξικών ουσιών
- ▶ Είναι συστήματα πρωτεϊνών που εξωθούν ενεργητικά τα αντιβιοτικά από το κυτταρόπλασμα
- ▶ Κωδικοποιούνται από σύστημα γονιδίων οργανωμένων σε ένα οπερόνιο
- ▶ Η έκφραση τους είναι ιδιοσυστασιακή, επαγωγίμη ή σιωπηλή
- ▶ Συνήθως αφορούν πολλές τάξεις αντιβιοτικών
- ▶ Μπορεί να συνυπάρχουν διάφοροι τύποι αντλιών, οπότε προκαλείται υψηλού επιπέδου αντοχή



# Ταξινόμηση αντλιών ενεργητικής αποβολής

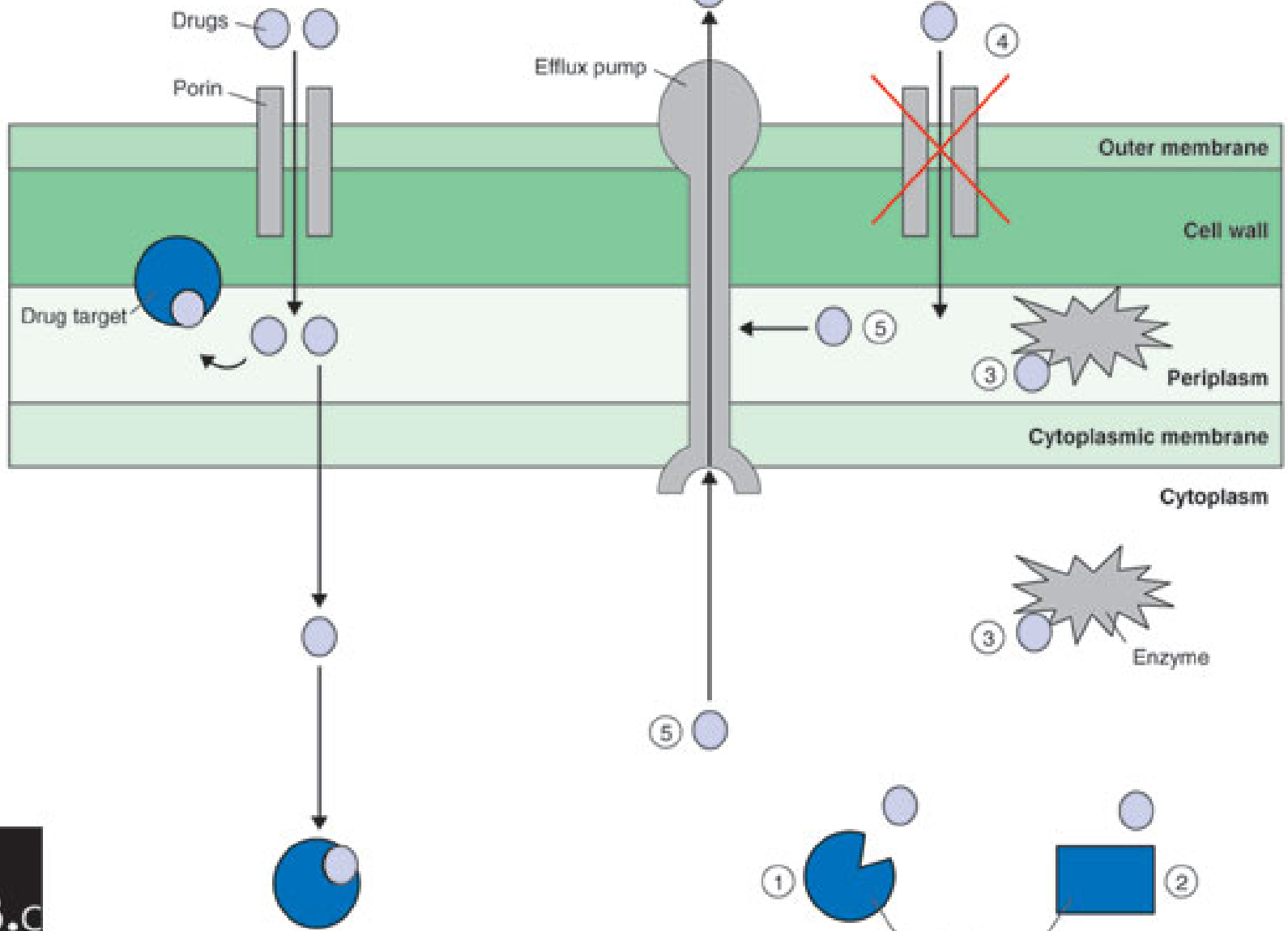


**MATE:** Multidrug and toxic compound extrusion,

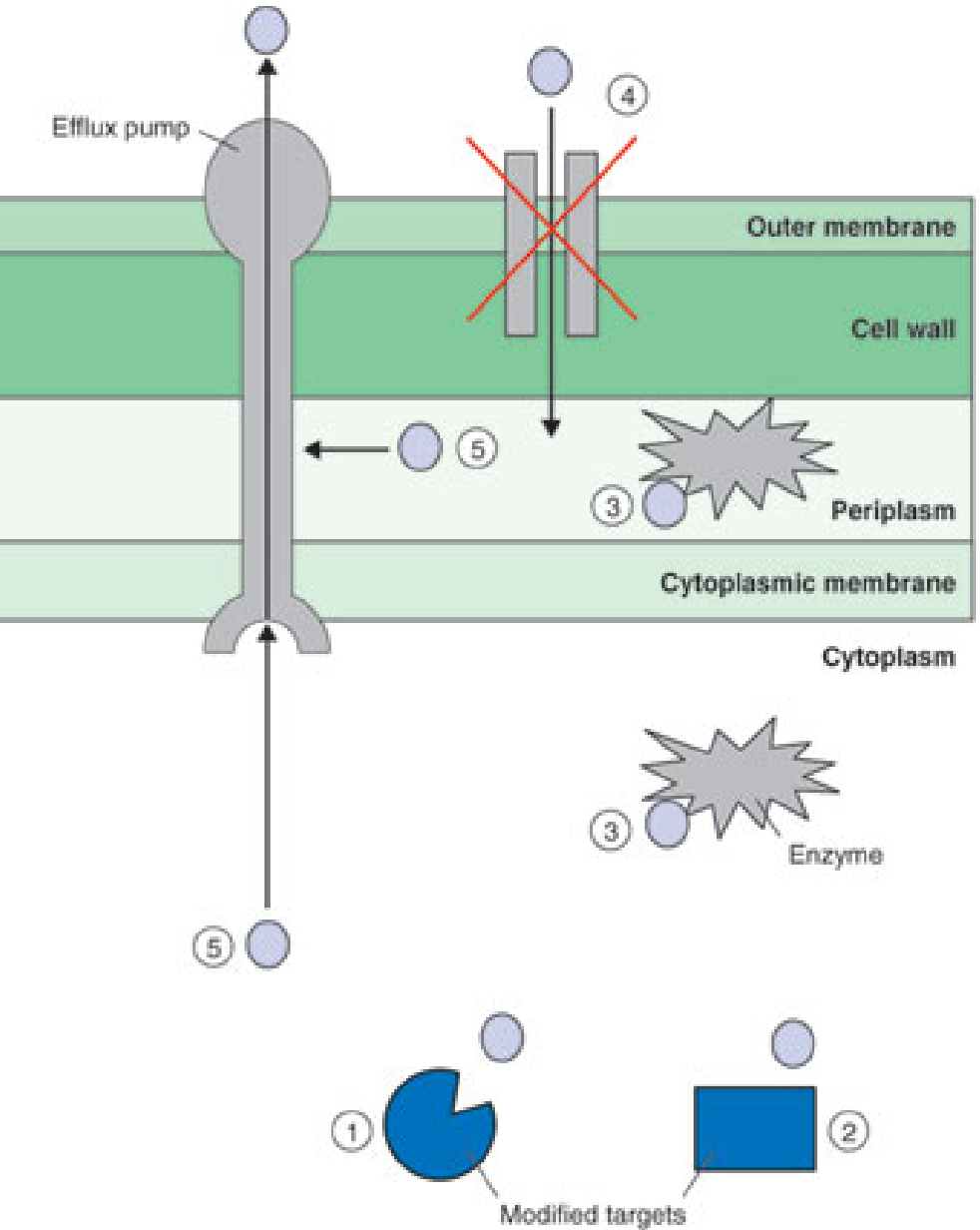
**MFS:** Major Facilitator Superfamily, **SMR:** Small Multidrug Resistance,

**RND:** Resistance Nodulation Division, **ABC:** ATP binding cassette

(a) Sensitive bacteria



(b) Resistant bacteria



# Βιομεμβράνες

